

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-521042

(P2023-521042A)

(43)公表日 令和5年5月23日(2023.5.23)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z	4 C 0 8 6
C 1 2 N	15/864 (2006.01)	C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z	4 C 0 8 7
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全131頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-560272(P2022-560272)	(71)出願人	522387191	ミレキュール インコーポレイテッド アメリカ合衆国 メリーランド州 208 78 ゲイザースバーグ クインス オー チャード ロード 704 スイート 260 100094569 弁理士 田中 伸一郎 100103610 弁理士 ▲吉▼田 和彦 100109070 弁理士 須田 洋之 100119013 弁理士 山崎 一夫 100123777 弁理士 市川 さつき 最終頁に続く	
(86)(22)出願日	令和3年4月2日(2021.4.2)				
(85)翻訳文提出日	令和4年11月28日(2022.11.28)				
(86)国際出願番号	PCT/US2021/025639				
(87)国際公開番号	WO2021/203043				
(87)国際公開日	令和3年10月7日(2021.10.7)	(74)代理人	100094569		
(31)優先権主張番号	63/004,045	(74)代理人	弁理士 田中 伸一郎		
(32)優先日	令和2年4月2日(2020.4.2)	(74)代理人	100103610		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	弁理士 ▲吉▼田 和彦		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	100109070		
		(74)代理人	弁理士 須田 洋之		
		(74)代理人	100119013		
		(74)代理人	弁理士 山崎 一夫		
		(74)代理人	100123777		
		(74)代理人	弁理士 市川 さつき		

(54)【発明の名称】 操作されたオリゴヌクレオチドを使用する標的化された阻害

(57)【要約】

本明細書では、ポリペプチドの発現および活性を選択的に阻害するための操作されたオリゴヌクレオチドが開示される。また、本明細書では、操作されたオリゴヌクレオチドを、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと接触させて、ポリペプチドの発現および活性を選択的に阻害する方法が開示される。

Sequence (5' → 3')		
SEQ ID NO: 1	miR-30a-5p	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 2	miR-30b-5p	UGUAAACAUCUCCGACUCAGCG
SEQ ID NO: 3	miR-30c-5p	UGUAAACAUCUCCGACUCAGCG
SEQ ID NO: 4	miR-30d-5p	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 5	miR-30e-5p	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 39	G007-30	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 38	G006-30	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 40	G061-30	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 41	G062-30	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 42	G063-30	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG
SEQ ID NO: 43	G064-30	UGUAAACAUCUCCGACUCAGCG
SEQ ID NO: 44	G065-30	UGUAAACAUCUCCGACUCAGCG
SEQ ID NO: 45	G066-30	UGUAAACAUCUCCGACUCAGCG

FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ポリヌクレオチド配列を含む操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩であって、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、疾患または状態に関連する 2 種の遺伝子座に由来する少なくとも第 1 の RNA および第 2 の RNA の少なくとも一部と少なくとも部分的に相補的であり、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が第 1 の RNA に少なくとも部分的に結合する場合、操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 7 個の連続した塩基の第 1 の領域は、第 1 の RNA 内に含まれる連続した核酸に相補的であり、操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 5 個の連続した塩基の第 2 の領域は、第 1 の RNA 内に含まれる連続した核酸に相補的であり、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が第 2 の RNA に少なくとも部分的に結合する場合、操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 7 個の連続した塩基の第 1 の領域は、第 2 の RNA 内に含まれる連続したヌクレオチドに相補的であり、操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 5 個の連続した塩基の第 2 の領域は、第 2 の RNA 内に含まれる連続したヌクレオチドに相補的であり、操作されたオリゴヌクレオチドの第 1 の RNA および第 2 の RNA への結合の予測されるギブス自由エネルギー (ΔG) は、個別に、約 37 °C および約 7.2 ~ 約 7.6 の範囲の pH で約 -17 ~ 約 -36 kcal mol⁻¹ の範囲である、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項 2】

アンチセンスオリゴヌクレオチド、合成マイクロ RNA (miRNA)、または低分子干渉 RNA (siRNA) である、請求項 1 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

20

【請求項 3】

1 個または複数の他の同等な非コード RNA (ncRNA) に対して、1 個または複数のヌクレオチド挿入、ヌクレオチド欠失、ヌクレオチド置換、またはそのあらゆる組み合わせを含む、請求項 1 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 4】

第 1 の RNA または第 2 の RNA に少なくとも部分的に結合した場合、約 37 °C および約 7.2 ~ 約 7.6 の範囲の pH で、第 1 の RNA または第 2 の RNA に結合する他の同等な ncRNA の結合のギブス自由エネルギー (ΔG) と比較して、約 37 °C および約 7.2 ~ 約 7.6 の範囲の pH での結合の ΔG が少なくとも約 10 % 低い、請求項 3 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

30

【請求項 5】

約 5 ~ 約 50 ヌクレオチド長である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 6】

リボース糖を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 7】

デオキシリボース糖を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

40

【請求項 8】

ncRNA が、miR-30 マイクロ RNA (miRNA)、miR-29 miRNA、miR-26 miRNA、miR-27 miRNA、miR-101 miRNA、miR-145 miRNA、miR-205 miRNA、miR-338 miRNA、または miR-375 miRNA である、請求項 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 9】

BLAST ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 12、配列番号 13

50

、配列番号 14、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 100、配列番号 101、配列番号 102、配列番号 103、配列番号 104、配列番号 105、配列番号 106、配列番号 107、配列番号 108、配列番号 109、配列番号 110、配列番号 111、配列番号 112、配列番号 113、配列番号 114、配列番号 115、配列番号 116、配列番号 117、配列番号 118、配列番号 119、配列番号 120、配列番号 121、配列番号 122、配列番号 123、配列番号 124、配列番号 125、配列番号 126、配列番号 245、配列番号 246、配列番号 247、配列番号 248、配列番号 249、配列番号 250、配列番号 251、配列番号 252、配列番号 253、配列番号 254、配列番号 255、配列番号 256、配列番号 257、配列番号 258、配列番号 259、配列番号 260、配列番号 261、配列番号 262、配列番号 263、配列番号 465、配列番号 624、配列番号 625、配列番号 626、配列番号 627、配列番号 628、配列番号 629、配列番号 630、配列番号 631、配列番号 632、配列番号 633、配列番号 634、配列番号 635、配列番号 636、配列番号 637、配列番号 638、配列番号 639、配列番号 640、配列番号 641、配列番号 642、配列番号 643、配列番号 840、配列番号 841、配列番号 842、配列番号 843、配列番号 844、配列番号 845、配列番号 901、配列番号 902、配列番号 903、配列番号 904、配列番号 905、配列番号 906、配列番号 907、配列番号 908、配列番号 909、配列番号 910、配列番号 911、配列番号 912、配列番号 913、配列番号 914、配列番号 915、配列番号 916、配列番号 917、配列番号 918、配列番号 919、配列番号 920、配列番号 921、配列番号 922、配列番号 923、配列番号 924、配列番号 925、配列番号 926、配列番号 927、配列番号 928、配列番号 929、配列番号 930、配列番号 931、配列番号 932、配列番号 933、配列番号 934、配列番号 935、配列番号 936、配列番号 937、配列番号 938、配列番号 939、配列番号 940、配列番号 941、配列番号 942、配列番号 943、配列番号 944、配列番号 945、配列番号 946、配列番号 947、配列番号 948、または配列番号 949 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90% の配列同一性を有する、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

20

30

【請求項 10】

操作されたオリゴヌクレオチドが、約 6.5～約 7.6 の範囲の pH、約 15℃～約 37℃ の範囲の温度で、水溶液中にステムループを含む二次構造を形成する、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 11】

天然に存在する塩基、糖、骨格、またはリン酸結合に対して化学修飾された塩基、化学修飾された糖、化学修飾された骨格またはリン酸結合、またはそれらのあらゆる組み合わせを含む、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

40

【請求項 12】

化学修飾が、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、ヒドロキシメチル基、ホルミル基、架橋型核酸、ロックド核酸、カルボン酸またはその塩、ホスホチオネート修飾骨格、メチルホスホネート修飾骨格、アミノアルキル鎖修飾、およびこれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択される、請求項 11 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 13】

化学修飾された場合、
式：

$$(N)_a (mN)_b (N)_c N N ;$$

$$(N)_a (mN)_b (N)_c s f N s m N ; \text{または}$$

50

(fNmN)_h(mN)_i(fNmN)_js fNs mN (式中、
 各Nは独立して、ウラシル、グアニン、アデニン、シトシン、または他の天然ヌクレオチドであり；
 各mNは独立して2'-Oメチル修飾ウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであり；
 各sは独立して、ホスホチオネート修飾骨格であり；
 各fNは独立して、2'-フルオロ修飾ウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであり；
 各aは8～10であり、各bは7～10であり、各cは2～4であり、各hは5～7であり、各iは0または1であり、各jは3～4である)
 を含む、請求項11または12に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項14】

BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、配列番号62、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70、配列番号71、配列番号72、配列番号73、配列番号74、配列番号75、配列番号76、配列番号77、配列番号78、配列番号79、配列番号80、配列番号81、配列番号82、配列番号83、配列番号84、配列番号85、配列番号86、配列番号87、配列番号88、配列番号89、配列番号127、配列番号128、配列番号129、配列番号130、配列番号131、配列番号132、配列番号133、配列番号134、配列番号135、配列番号136、配列番号137、配列番号138、配列番号139、配列番号140、配列番号141、配列番号142、配列番号143、配列番号144、配列番号145、配列番号146、配列番号147、配列番号148、配列番号149、配列番号150、配列番号151、配列番号152、配列番号153、配列番号154、配列番号184、配列番号185、配列番号186、配列番号187、配列番号188、配列番号189、配列番号190、配列番号191、配列番号192、配列番号193、配列番号194、配列番号195、配列番号196、配列番号197、配列番号198、配列番号199、配列番号200、配列番号201、配列番号205、配列番号206、配列番号207、配列番号208、配列番号209、配列番号210、配列番号211、配列番号212、配列番号213、配列番号214、配列番号215、配列番号216、配列番号217、配列番号218、配列番号219、配列番号220、配列番号221、配列番号222、配列番号225、配列番号226、配列番号227、配列番号228、配列番号229、配列番号230、配列番号231、配列番号232、配列番号233、配列番号235、配列番号236、配列番号237、配列番号238、配列番号239、配列番号240、配列番号241、配列番号242、配列番号243、配列番号264、配列番号265、配列番号266、配列番号267、配列番号268、配列番号269、配列番号270、配列番号271、配列番号272、配列番号273、配列番号274、配列番号275、配列番号276、配列番号277、配列番号278、配列番号279、配列番号280、配列番号281、配列番号282、配列番号283、配列番号284、配列番号285、配列番号286、配列番号287、配列番号288、配列番号289、配列番号290、配列番号291、配列番号292、配列番号293、配列番号294、配列番号295、配列番号296、配列番号297、配列番号298、配列番号299、配列番号300、配列番号301、配列番号302、配列番号303、配列番号304、配列番号305、配列番号306、配列番号307、配列番号308、配列番号309、配列番号310、配列番号311、配列番号312、配列番号313、配列番号314、配列番号315、配列番号316、配列番号317、配列番号318、配列番号319、配列番号320、配列番号321、配列番号322、配列番号323、配列番号324、配列番号325、配列番号326、配列番号327、配列番号328、配列番号329、配列番号330、配列番号331、配列番号332、配列番号333、配

20

30

40

50

列番号334、配列番号335、配列番号336、配列番号337、配列番号338、配	
列番号339、配列番号340、配列番号341、配列番号342、配列番号343、配	
列番号344、配列番号345、配列番号346、配列番号347、配列番号348、配	
列番号349、配列番号350、配列番号351、配列番号352、配列番号353、配	
列番号354、配列番号355、配列番号356、配列番号357、配列番号358、配	
列番号359、配列番号360、配列番号361、配列番号362、配列番号363、配	
列番号364、配列番号365、配列番号366、配列番号367、配列番号368、配	
列番号369、配列番号370、配列番号371、配列番号372、配列番号373、配	
列番号374、配列番号375、配列番号376、配列番号377、配列番号378、配	
列番号379、配列番号380、配列番号381、配列番号382、配列番号383、配	10
列番号384、配列番号385、配列番号386、配列番号387、配列番号388、配	
列番号389、配列番号390、配列番号391、配列番号392、配列番号393、配	
列番号394、配列番号395、配列番号396、配列番号397、配列番号398、配	
列番号399、配列番号400、配列番号401、配列番号402、配列番号403、配	
列番号404、配列番号405、配列番号406、配列番号407、配列番号408、配	
列番号409、配列番号410、配列番号411、配列番号412、配列番号413、配	
列番号414、配列番号415、配列番号416、配列番号417、配列番号418、配	
列番号419、配列番号420、配列番号421、配列番号422、配列番号423、配	
列番号424、配列番号425、配列番号426、配列番号427、配列番号428、配	
列番号429、配列番号430、配列番号431、配列番号432、配列番号433、配	20
列番号434、配列番号435、配列番号436、配列番号437、配列番号438、配	
列番号439、配列番号440、配列番号441、配列番号442、配列番号443、配	
列番号445、配列番号446、配列番号447、配列番号448、配列番号449、配	
列番号450、配列番号451、配列番号452、配列番号453、配列番号455、配	
列番号456、配列番号457、配列番号458、配列番号459、配列番号460、配	
列番号461、配列番号462、配列番号463、配列番号620、配列番号644、配	
列番号645、配列番号646、配列番号647、配列番号648、配列番号649、配	
列番号650、配列番号651、配列番号652、配列番号653、配列番号654、配	
列番号655、配列番号656、配列番号657、配列番号658、配列番号659、配	
列番号660、配列番号661、配列番号662、配列番号663、配列番号664、配	30
列番号665、配列番号666、配列番号667、配列番号668、配列番号669、配	
列番号670、配列番号671、配列番号672、配列番号673、配列番号674、配	
列番号675、配列番号676、配列番号677、配列番号678、配列番号679、配	
列番号680、配列番号681、配列番号682、配列番号683、配列番号684、配	
列番号685、配列番号686、配列番号687、配列番号688、配列番号689、配	
列番号690、配列番号691、配列番号692、配列番号693、配列番号694、配	
列番号695、配列番号696、配列番号697、配列番号698、配列番号699、配	
列番号700、配列番号701、配列番号702、配列番号703、配列番号704、配	
列番号705、配列番号706、配列番号707、配列番号708、配列番号709、配	
列番号710、配列番号711、配列番号712、配列番号713、配列番号714、配	40
列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718、配列番号719、配	
列番号720、配列番号721、配列番号722、配列番号723、配列番号724、配	
列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号728、配列番号729、配	
列番号730、配列番号731、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配	
列番号735、配列番号736、配列番号737、配列番号738、配列番号739、配	
列番号740、配列番号741、配列番号742、配列番号743、配列番号744、配	
列番号745、配列番号746、配列番号747、配列番号748、配列番号749、配	
列番号750、配列番号751、配列番号752、配列番号753、配列番号754、配	
列番号755、配列番号756、配列番号757、配列番号758、配列番号759、配	
列番号760、配列番号761、配列番号762、配列番号763、配列番号764、配	50

列番号 7 6 5、配列番号 7 6 6、配列番号 7 6 7、配列番号 7 6 8、配列番号 7 6 9、配列番号 7 7 0、配列番号 7 7 1、配列番号 7 7 2、配列番号 7 7 3、配列番号 7 7 4、配列番号 7 7 5、配列番号 7 7 6、配列番号 7 7 7、配列番号 7 7 8、配列番号 7 7 9、配列番号 7 8 0、配列番号 7 8 1、配列番号 7 8 2、配列番号 7 8 3、配列番号 7 8 4、配列番号 7 8 5、配列番号 7 8 6、配列番号 7 8 7、配列番号 7 8 8、配列番号 7 8 9、配列番号 7 9 0、配列番号 7 9 1、配列番号 7 9 2、配列番号 7 9 3、配列番号 7 9 4、配列番号 7 9 5、配列番号 7 9 6、配列番号 7 9 7、配列番号 7 9 8、配列番号 7 9 9、配列番号 8 0 0、配列番号 8 0 1、配列番号 8 0 2、配列番号 8 0 3、配列番号 8 0 4、配列番号 8 0 5、配列番号 8 0 6、配列番号 8 0 7、配列番号 8 0 8、配列番号 8 0 9、配列番号 8 1 0、配列番号 8 1 1、配列番号 8 1 2、配列番号 8 1 3、配列番号 8 1 4、配列番号 8 1 5、配列番号 8 1 6、配列番号 8 1 7、配列番号 8 1 8、配列番号 8 1 9、配列番号 8 2 0、配列番号 8 2 1、配列番号 8 2 2、配列番号 8 2 3、配列番号 8 2 4、配列番号 8 2 5、配列番号 8 3 5、配列番号 8 3 6、配列番号 8 3 7、配列番号 8 4 6、配列番号 8 4 7、配列番号 8 4 8、配列番号 8 4 9、配列番号 8 5 0、配列番号 8 5 1、配列番号 8 5 2、配列番号 8 5 3、配列番号 8 5 4、配列番号 8 5 5、配列番号 8 5 6、配列番号 8 5 7、配列番号 8 5 8、配列番号 8 5 9、配列番号 8 6 0、配列番号 8 6 1、配列番号 8 6 2、配列番号 8 6 3、配列番号 8 6 4、配列番号 8 6 5、配列番号 8 6 6、配列番号 8 6 7、配列番号 8 6 8、配列番号 8 6 9、配列番号 8 7 0、配列番号 8 7 1、配列番号 8 7 2、配列番号 8 7 3、配列番号 8 7 4、配列番号 8 7 5、配列番号 8 7 6、配列番号 8 7 7、配列番号 8 7 8、配列番号 8 7 9、配列番号 8 8 0、配列番号 8 8 1、配列番号 8 8 2、配列番号 8 8 3、配列番号 8 8 4、配列番号 8 8 5、配列番号 8 8 6、配列番号 8 8 7、配列番号 8 8 8、配列番号 8 8 9、配列番号 8 9 0、配列番号 8 9 1、配列番号 8 9 2、配列番号 8 9 3、配列番号 8 9 4、配列番号 8 9 5、配列番号 8 9 6、配列番号 8 9 7、配列番号 8 9 8、または配列番号 8 9 9 のいずれか 1 つに対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する、請求項 1 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

20

【請求項 1 5】

操作されたオリゴヌクレオチド配列が、糖、塩基、または骨格の修飾を含む、請求項 1 1 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

30

【請求項 1 6】

修飾がリンカーを含む、請求項 1 5 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 1 7】

リンカーが共有結合性リンカーである、請求項 1 6 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 1 8】

リンカーが、切断可能なリンカーである、請求項 1 6 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 1 9】

リンカーは、コンジュゲートを含むようにさらに修飾されている、請求項 1 6 ～ 1 8 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

40

【請求項 2 0】

コンジュゲートが、抗体、天然に存在するリガンド、低分子、またはペプチドである、請求項 1 9 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 2 1】

コンジュゲートが、薬物またはその塩である、請求項 1 9 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 2 2】

操作されたオリゴヌクレオチドが、グリカンでグリコシル化されているヌクレオチドの塩基を含む、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまた

50

はその塩。

【請求項 23】

第1のRNAまたは第2のRNAが、mRNA配列を少なくとも部分的に含む、請求項1～22のいずれか1項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 24】

mRNA配列と接触させた場合、

- a. mRNA配列を含む第1の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、
 - b. mRNA配列を含む第2の単離された哺乳動物細胞に、ncRNAをトランスフェクトし、
 - c. 同じタイプの哺乳動物細胞である、第1の単離された哺乳動物細胞および第2の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドの量を測定すること
- により決定した時に、等量のncRNAをmRNA配列と接触させた場合と比較して、mRNA配列によりコードされるポリペプチドの発現が約1.2分の1以下となるように産生する、請求項23に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項 25】

mRNA配列と接触させた場合、

- a. mRNA配列を含む第1の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、
 - b. mRNA配列を含む第2の単離された哺乳動物細胞に、ncRNAをトランスフェクトし、
 - c. 同じタイプの哺乳動物細胞である、第1の単離された哺乳動物細胞および第2の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドからの活性量を測定すること
- により決定した時に、等量のncRNAをmRNA配列と接触させた場合と比較して、mRNA配列によりコードされるポリペプチドの活性が約1.2分の1以下となるように産生する、請求項23に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

20

【請求項 26】

mRNA配列と接触させた場合、

- a. mRNA配列を含む第1の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、
 - b. mRNA配列を含む第2の単離された哺乳動物細胞に、ncRNAをトランスフェクトし、
 - c. 第1の単離された哺乳動物細胞および第2の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドの量を測定すること
- により決定した時に、等量のncRNAを接触させた場合と比較して、mRNA配列によりコードされるポリペプチドの発現が約1.2分の1～約10分の1となるように産生する、請求項24に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

30

【請求項 27】

mRNA配列と接触させた場合、

- a. mRNA配列を含む第1の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、
 - b. mRNA配列を含む第2の単離された哺乳動物細胞に、ncRNAをトランスフェクトし、
 - c. 第1の単離された哺乳動物細胞および第2の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドからの活性量を測定すること
- により決定した時に、等量のncRNAを接触させた場合と比較して、mRNA配列によりコードされるポリペプチドの活性が約1.2分の1～約10分の1となるように産生する、請求項25に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

40

【請求項 28】

第1の単離された哺乳動物細胞および第2の単離された哺乳動物細胞が、ヒト細胞また

50

はマウス細胞である、請求項 24～27 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 29】

第 1 の単離された哺乳動物細胞がヒト細胞であり、ヒト細胞が、がん細胞、線維芽細胞、白血球、上皮細胞、扁平上皮細胞、筋芽細胞、筋肉細胞である、請求項 28 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 30】

約 23℃、相対大気湿度約 50% で少なくとも約 1 カ月の期間、閉鎖した保存容器中で保存する場合、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩の初期量の少なくとも約 80% が残存する、請求項 1～29 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項 31】

期間が約 1 カ月～約 1 年である、請求項 30 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 32】

疾患または状態ががんを含む、請求項 1～31 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 33】

第 1 の RNA または第 2 の RNA の少なくとも一部ががん遺伝子によってコードされている、請求項 32 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

20

【請求項 34】

がん遺伝子が、ABL1、ABL2、AKT1、AKT2、AKT3、ATF1、BCL11A、BCL2、BCL3、BCL6、BCR、BRAF、CARD11、CBLB、CBLC、CCND1、CCND2、CCND3、CDX2、CTNNB1、DDB2、BBIT3、BBX6、DEK、EGFR、ELK4、ERBB2、ERBB3、E2F1、ZEB1、ETV4、ETV6、EVI1、EWSR1、FEV、FGFR1、FGFR1OP、FGR2、FUS、GOLGA5、GOPC、HMGA1、HMGA2、HRAS、IRF4、ITGA6、JUN、KIT、KRAS、LCK、LMO2、MAF、MAFB、MAML2、MDM2、MET、MITF、MLL、MPL、MYB、MYC、MYCL1、MYCN、NCOA4、NFKB2、NRAS、NTRK1、NUP214、PAX8、PDGFB、PIK3CA、PIM1、PLAG1、PPARG、PTPN11、RAF1、REL、RET、ROS1、SETDB1、SERPINE1、SMO、SS18、TCL1A、TET2、TFG、CDK6、ATG9A、TLX1、TPR、USP6、CSNK1G、KLF17、ARHGAP26、RAB11FIP1、RBJ、SERBP1、CTBP1、CRKL、ITGA3、ITGAV、LAMC1、G6PC2、PPP2R5E またはそれらのあらゆる組み合わせを含む、請求項 33 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

30

【請求項 35】

がん遺伝子が、ITGA6、BCL2、DEK、PLAG1、SERPINE1、MYCN、LMO2、PIM1、EGFR、IRS1、NT5E、GLDC、SOCS1、STAT1、LOX、PDGFRB、WNT5A、CD80、CCNA1、THBS2、IGF1R、AFAP1L2、CTHRC1、MET、FAP、IL1A、GJA1、MYBL2 またはそれらのあらゆる組み合わせを含む、請求項 33 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

40

【請求項 36】

多数の RNA 配列のうち、ITGA6、SERPINE1、EGFR、MDTH またはそれらのあらゆる組み合わせをコードする RNA 配列に対して選択的である、請求項 33 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 37】

疾患または状態が線維症を含む、請求項 1～31 のいずれか 1 項に記載の操作されたオ

50

リゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 38】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部が、コラーゲンスーパーファミリー遺伝子、血小板由来成長因子遺伝子、TGF-βシグナル伝達遺伝子、コラーゲンリモデリング遺伝子、細胞外マトリックスリモデリング遺伝子、Wntシグナル伝達遺伝子、肝癌由来成長因子（HDGF）シグナル伝達遺伝子またはそれらのあらゆる組み合わせによってコードされている、請求項37に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 39】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がコラーゲンスーパーファミリー遺伝子によってコードされ、コラーゲンスーパーファミリー遺伝子がCOL1A1、COL11A1、COL2A1、COL5A3、COL5A2、COL4A4、COL21A1、COL7A1、COL9A1、COL19A1、COL5A1、COL22A1、COL8A1、COL4A2、COL6A2、COL24A1、COL4A3、COL4A6、COL25A1、COL16A1、COL15A1およびこれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択される、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 40】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部が血小板由来成長因子遺伝子によってコードされ、血小板由来成長因子遺伝子が、PDGFB、PDGFC、PDGFRB、およびそれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択される、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 41】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がTGF-βシグナル伝達遺伝子によってコードされ、TGF-βシグナル伝達遺伝子が、WISP1、TGFβ2、またはそれらのあらゆる組み合わせである、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 42】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がコラーゲンリモデリング遺伝子によってコードされ、コラーゲンリモデリング遺伝子がLOXL2である、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 43】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部が細胞外マトリックスリモデリング遺伝子によってコードされ、細胞外マトリックスリモデリング遺伝子がCOL1A1、COL11A1、COL2A1、COL5A3、COL5A2、COL4A4、COL21A1、COL7A1、COL9A1、COL19A1、COL5A1、COL22A1、COL8A1、COL4A2、COL6A2、COL24A1、COL4A3、COL4A6、COL25A1、COL16A1、COL15A1、LOXL2、エラスチン、およびそれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択される、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 44】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部が、Wntシグナル伝達遺伝子によってコードされ、Wntシグナル伝達遺伝子がWISP1を含む、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 45】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がHDGFシグナル伝達遺伝子によってコードされ、HDGFシグナル伝達遺伝子がHDGFを含む、請求項38に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 46】

疾患または状態がウイルス感染を含む、請求項1～31のいずれか1項に記載の操作さ

10

20

30

40

50

れたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 47】

ウイルス感染が H C V 遺伝子型 1 感染である、請求項 46 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 48】

第 1 の R N A または第 2 の R N A の少なくとも一部が H C V 遺伝子型 1 ゲノムにコードされている、請求項 47 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 49】

第 1 の R N A または第 2 の R N A が、B L A S T ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 587、配列番号 588、または配列番号 589 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を含む、請求項 47 または 48 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項 50】

ウイルス感染が、コロナウイルス感染である、請求項 46 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 51】

コロナウイルスが S A R S - C o V - 2 である、請求項 50 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 52】

第 1 の R N A または第 2 の R N A の少なくとも一部が S A R S - C o V - 2 ゲノムにコードされている、請求項 50 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

20

【請求項 53】

第 1 の R N A または第 2 の R N A が、配列番号 500 ~ 配列番号 531、配列番号 829、配列番号 830、または配列番号 831 のいずれか 1 つに対して少なくとも約 90% の配列同一性を含む、請求項 51 または 52 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 54】

第 1 の R N A または第 2 の R N A が、B L A S T ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 500、配列番号 513、または配列番号 518 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を含む、請求項 51 または 52 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

30

【請求項 55】

コロナウイルスが S A R S - C o V である、請求項 50 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 56】

第 1 の R N A または第 2 の R N A の少なくとも一部が S A R S - C o V ゲノムにコードされている、請求項 50 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 57】

第 1 の R N A または第 2 の R N A が、配列番号 474 ~ 配列番号 499、配列番号 826、配列番号 827、または配列番号 828 のいずれか 1 つに対して少なくとも約 90% の配列同一性を含む、請求項 55 または 56 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

40

【請求項 58】

第 1 の R N A または第 2 の R N A が、B L A S T ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 476、配列番号 481、または配列番号 495 に対して少なくとも約 90% の配列同一性を含む、請求項 55 または 56 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 59】

コロナウイルスが M E R S - C o V である、請求項 50 に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

50

【請求項 60】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がMERS-COVゲノムにコードされている、請求項50に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 61】

第1のRNAまたは第2のRNAが、配列番号532～配列番号554のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含む、請求項59または60に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 62】

コロナウイルスがCOV-HKU1である、請求項50に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 63】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がCOV-HKU1ゲノムにコードされている、請求項50に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 64】

第1のRNAまたは第2のRNAが、配列番号555～配列番号586のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含む、請求項62または63に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 65】

ウイルス感染がHIV感染である、請求項46に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 66】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部がHIVゲノムによってコードされている、請求項46に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 67】

第1のRNAまたは第2のRNAが、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号470に対して少なくとも約90%の配列同一性を含む、請求項65または66に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 68】

第1のRNAまたは第2のRNAが、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号471、配列番号472、または配列番号473に対して少なくとも約90%の配列同一性を含む、請求項65または66に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 69】

疾患または状態が、筋ジストロフィーまたはミオパチーを含む神経筋障害を含む、請求項1～31のいずれか1項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 70】

疾患または状態が、デュシェンヌ筋ジストロフィー（DMD）、筋緊張性ジストロフィー（MD）、顔面肩甲上腕筋ジストロフィー（FSHD）、肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）、ベッカー筋ジストロフィー、眼咽頭型筋ジストロフィー、エメリ・ドレフュス筋ジストロフィー、または遠位型筋ジストロフィーである、請求項69に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 71】

疾患または状態が、遺伝性または自然発生の常染色体優性突然変異に起因する、請求項69または70に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 72】

第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部が、ジストロフィン、DMPK、CLCN1、CNBP、D4Z4リピート、DUX4、SMCHD1、DBET、SVIL、GAL3ST2、FRG1、CAPN3、DYSF、LMNA、PABPN1、PYGM、MYOD1、MYH7、HNRNPC、HNRNPA2B1、ACVR1、ASIC2、ATG14、ATP1A1、B3GTNL1、BANF1、BPTF、CASP8A

10

20

30

40

50

P 2、C D X 4、C E L F 2、C H M P 7、C K M T 1 B、C L A S P 1、C N O T 3、C O L 1 5 A 1、C Y P 3 A 4、D C A F 1 5、D C N、D L X 5、D U S P 7、D U X 1、D U X 5、E M I L I N 1、E P G 5、F A M 1 3 A、F B X 0 3、F B X L 2 2、F M N L 3、F R E M 2、F R M P D 2、G A D D 4 5 A、G I D 4、G J D 3、G M P R、G N A T 1、G O S R 1、G P R C 6 A、H E R C 1、H G F、H O O K 3、H O X C 9、H S P 4 0、I R F 9、I R X 5、I T G A 1 0、I T G A 3、I T G A 9、K C N C 3、K L H L 3、K L K 6、L A R P 6、M A L T 1、M A P 3 K 4、M A P K 1 0、M I R 4 6 6 1、M I R 8 0 7 8、M T S S 1、N D U F A F 6、N E B L、N K X 2、N R 2 F 1、P C I D 2、P D E 1 0 A、P K D 1 L 2、P K H D 1、P P P 1 R 1 2 B、P T P R N 2、P Y Y、R A B G A P 1 L、R B C K 1、R F X 3、R H B D F 2、S C R I B、S E M A 3 B、S E T D 4、S H F L、S H H、S L C 3 7 A 4、S L C 9 A 8、S M A D 1、S P E F 1、S P R E D 3、S T 3 G A L 6、S T A G 1、S U P V 3 L 1、T B C 1 D 2 6、T C E A 2、T C F 3、T M 6 S F 1、T M E M 1 0 8、T M E M 2 5 9、T N F S F 4、T N I P 1、T R N P 1、U S H 1 G、W R N I P 1、X I A P、Z N F 5 7 4 遺伝子またはそれらのあらゆる組み合わせにコードされている、請求項 6 9 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項 7 3】

第 1 の R N A または第 2 の R N A が、B L A S T ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 9 0 1 ~ 配列番号 9 4 9 のいずれか 1 つに対して少なくとも約 9 0 % の配列同一性を含む、請求項 6 9 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

20

【請求項 7 4】

約 5 ヌクレオチド ~ 約 5 0 ヌクレオチドのポリヌクレオチド配列を含む操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩であって、

操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、第 1 の領域、第 1 の領域に隣接する第 2 の領域、および第 2 の領域に隣接する第 3 の領域を含み、領域が 5 ' から 3 ' まで次の順序：第 1 の領域、第 2 の領域、および第 3 の領域で配置されており；

操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が m R N A 配列に結合している場合、第 1 の領域および第 3 の領域は m R N A 配列に相補的であり、第 2 の領域は m R N A 配列に相補的ではない少なくとも一つの塩基を含み；

30

操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、3 7 ° C および約 7 . 2 の p H で m R N A 配列に結合する他の同等のオリゴヌクレオチドの結合のギブス自由エネルギー (ΔG) と比較して、約 3 7 ° C および約 7 . 2 の p H で m R N A 配列への結合について決定した時に、少なくとも約 1 0 % 低い結合の ΔG を含み、他の同等のオリゴヌクレオチドが、m R N A 配列と相補的でない操作されたオリゴヌクレオチド内で少なくとも 1 個の塩基を欠失している、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 7 5】

B L A S T ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 1 ~ 5、1 2 ~ 1 4、1 9 ~ 2 0、2 4 ~ 2 5、2 8、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8 ~ 4 5、5 2 ~ 8 9、1 0 0 ~ 1 5 4、1 8 4 ~ 2 0 1、2 0 5 ~ 2 2 2、2 2 5 ~ 2 3 3、2 3 5 ~ 2 4 3、2 4 5 ~ 4 4 3、4 4 5 ~ 4 5 3、4 5 5 ~ 4 6 3、4 6 5、6 2 0、6 2 4 ~ 8 2 5、8 3 5 ~ 8 3 7、8 4 0 ~ 8 9 9、および 9 0 1 ~ 9 4 9 のいずれか 1 つに対して少なくとも約 9 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩であって、m R N A 配列と接触させた場合、

40

a . m R N A 配列を含む第 1 の単離されたヒト細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、

b . m R N A 配列を含む第 2 の単離されたヒト細胞に、m i R - 2 9 または m i R - 3 0 オリゴヌクレオチドをトランスフェクトし、

c . 第 1 の単離されたヒト細胞および第 2 の単離されたヒト細胞中に発現するポリペプチドの量を測定すること

50

により決定した時に、ヒト細胞中に自然に存在する等量の *miR-29* もしくは *miR-30* オリゴヌクレオチド、またはその塩を接触させた場合と比較して、*mRNA* 配列によりコードされるポリペプチドの発現が約 1.2 分の 1 以下となるように産生する、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 76】

構造および化学が、未修飾配列または同等の *ncRNA* と比較して、天然ヌクレアーゼに対して 100 倍以上の安定性を付与するように最適化されている、請求項 1～75 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 77】

ポリヌクレオチド配列を含む操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩であって、請求項 1～76 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩の少なくとも一部と少なくとも部分的に相補的である、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 78】

約 5～約 50 ヌクレオチド長である、請求項 77 に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 79】

リボース糖を含む、請求項 77 または 78 に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 80】

デオキシリボース糖を含む、請求項 77～79 のいずれか 1 項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 81】

BLAST ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 33、配列番号 35、配列番号 37、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 155、配列番号 156、配列番号 157、配列番号 158、配列番号 159、配列番号 160、配列番号 161、配列番号 162、配列番号 163、配列番号 164、配列番号 165、配列番号 166、配列番号 167、配列番号 168、配列番号 169、または配列番号 466 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90% の配列同一性を有する、請求項 77～80 のいずれか 1 項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 82】

操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドが、ステムループを含む二次構造を形成する、請求項 77～81 のいずれか 1 項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 83】

天然に存在する塩基、糖、骨格、またはリン酸結合に対して化学修飾された塩基、化学修飾された糖、化学修飾された骨格またはリン酸結合、またはそれらのあらゆる組み合わせを含む、請求項 77～82 のいずれか 1 項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 84】

化学修飾が、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、ヒドロキシメチル基、ホルミル基、カルボン酸またはその塩、ホスホチオネート修飾骨格、メチルホスホネート修飾骨格、アミノアルキル鎖修飾、およびこれらのあらゆる組み合わせから選択される、請求項 83 に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項 85】

10

20

30

40

50

化学修飾された場合、

式：CAP-mNmNmN(N)_kmNmNmN(式中、CAPは、5'-末端メチル基(5'-Oメチル)またはアミノ炭素6鎖(5'-アミノC6)のようなアルキルアミノ基から選択され；

各Nは独立してウラシル、グアニン、アデニンまたはシトシンであり；

各mNは独立して2'-O-メチル修飾ウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであり；

各kは12～19である)

を含む、請求項83または84に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

10

【請求項86】

BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号90、配列番号91、配列番号92、配列番号93、配列番号94、配列番号95、配列番号96、配列番号97、配列番号98、配列番号99、配列番号170、配列番号171、配列番号172、配列番号173、配列番号174、配列番号175、配列番号176、配列番号177、配列番号178、配列番号179、配列番号180、配列番号181、配列番号182、配列番号183、配列番号202、配列番号203、配列番号204、配列番号223、配列番号224、配列番号234、配列番号244、配列番号444、配列番号454、配列番号464、配列番号838、配列番号839、または配列番号900のいずれか1つに対して少なくとも90%の配列同一性を有する、請求項83～85のいずれか1項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

20

【請求項87】

糖修飾を含む、請求項77～86のいずれか1項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項88】

糖修飾がグリコシル化塩基を含む、請求項87に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

【請求項89】

構造および化学が、未修飾配列または同等のncRNAと比較して、天然ヌクレアーゼに対して100倍以上の安定性を付与するように最適化されている、請求項77～88のいずれか1項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩。

30

【請求項90】

(a)請求項1～75のいずれか1項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む第1の鎖、および(b)第1の鎖の少なくとも一部に相補的な配列を有する請求項77～89のいずれか1項に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む第2の鎖を含む核酸構築物。

【請求項91】

請求項1～76のいずれか1項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、または請求項90に記載の核酸構築物を含むベクター。

40

【請求項92】

リボソーム、ナノ粒子、またはそれらのあらゆる組み合わせで存在する、請求項91に記載のベクター。

【請求項93】

ウイルスベクターである、請求項91に記載のベクター。

【請求項94】

ウイルスベクターがアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである、請求項93に記載のベクター。

【請求項95】

請求項1～76のいずれか1項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩

50

、請求項 90 に記載の核酸構築物、または請求項 91～94 のいずれか 1 項に記載のベクターを含む単離された細胞。

【請求項 96】

(a) 請求項 1～76 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、請求項 90 に記載の核酸構築物、または請求項 91～94 のいずれか 1 項に記載のベクターと、(b) 薬学的に許容される賦形剤、希釈剤または担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 97】

単位用量形態である、請求項 96 に記載の医薬組成物。

【請求項 98】

カプセル化されている、請求項 96 または 97 に記載の医薬組成物。

【請求項 99】

液体の形態である、請求項 96～98 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 100】

治療的有効量の請求項 1～76 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、請求項 90 に記載の核酸構築物、請求項 91～94 のいずれか 1 項に記載のベクター、または請求項 96～99 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を対象に投与する工程を含む、それを必要とする対象を処置する方法。

【請求項 101】

投与が、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射、眼窩内注射、皮下注射、またはそれらのあらゆる組み合わせによるものである、請求項 100 に記載の方法。

【請求項 102】

投与が、経口、耳介、眼球、直腸、またはそれらのあらゆる組み合わせである、請求項 100 に記載の方法。

【請求項 103】

対象への第 2 の療法を含む第 2 の投与をさらに含む、請求項 100～102 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 104】

投与および第 2 の投与が同時的である、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 105】

投与および第 2 の投与が逐次的である、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 106】

対象が、疾患または状態を有するか、または発症する危険性がある、請求項 100～105 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 107】

疾患または状態ががんである、請求項 106 に記載の方法。

【請求項 108】

がんが、頭部がん、頸部がん、皮膚がん、子宮頸がん、前立腺がん、またはそれらのあらゆる組み合わせである、請求項 107 に記載の方法。

【請求項 109】

疾患または状態がウイルス感染である、請求項 106 に記載の方法。

【請求項 110】

ウイルス感染が、SARS-CoV 感染、SARS-CoV-2 感染、MERS-CoV 感染、CoV-HKU1 感染、HIV 感染、または HCV 感染である、請求項 109 に記載の方法。

【請求項 111】

疾患または状態が線維症である、請求項 106 に記載の方法。

【請求項 112】

疾患または状態が筋ジストロフィーである、請求項 106 に記載の方法。

【請求項 113】

10

20

30

40

50

対象が哺乳動物である、請求項 100～112 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 114】

哺乳動物がヒトである、請求項 113 に記載の方法。

【請求項 115】

対象が、診断検査によって疾患または状態であると診断されている、請求項 100～114 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 116】

診断検査が、画像化法、血球数分析、組織病理学的分析、バイオマーカー分析、またはそれらのあらゆる組み合わせを含む、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 117】

請求項 1～76 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩、請求項 90 に記載の核酸構築物、または請求項 91～94 のいずれか 1 項に記載のベクターを、単離された細胞または単離された組織と接触させることを含む方法。

【請求項 118】

容器内の請求項 1～76 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩、容器内の請求項 90 に記載の核酸構築物、請求項 91～94 のいずれか 1 項に記載のベクター、または容器内の請求項 96～99 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を含むキット。

【請求項 119】

操作されたオリゴヌクレオチド中のヌクレオチドの少なくとも 1 個の塩基が、第 1 の RNA または第 2 の RNA と相補的でない、請求項 1～76 のいずれか 1 項に記載の操作されたオリゴヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

政府支援の陳述

本発明は、米国国立がん研究所により与えられた認可番号 U43CA221567 下の政府支援、および米国国立アレルギー感染症研究所により与えられた SBIR 契約番号 HHSN272201800034C からの支援を受けて行われたものである。政府は本発明における一定の権利を有する。

【0002】

関連出願の相互参照

本出願は、両出願に共通する全ての主題に対して、2020 年 4 月 2 日に出願された米国仮出願第 63/004,045 号の優先権および利益を主張する。前記仮出願の開示内容は参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0003】

本明細書では、ポリヌクレオチド配列を含み得る、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が開示される。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、疾患または状態に関連する 2 種の遺伝子座に由来する少なくとも第 1 の RNA および第 2 の RNA の少なくとも一部と少なくとも部分的に相補的であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が第 1 の RNA に少なくとも部分的に結合する場合：操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 7 個の連続した塩基の第 1 の領域は、第 1 の RNA 内に含まれる連続した核酸に相補的であり得、操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 5 個の連続した塩基の第 2 の領域は、第 1 の RNA 内に含まれる連続した核酸に相補的であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が第 2 の RNA に少なくとも部分的に結合する場合：操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 7 個の連続した塩基の第 1 の領域は、第 2 の RNA 内に含まれる連続したヌクレオチドに相補的であり得、操作されたオリゴヌクレオチド中の少なくとも 5 個の連続した塩基の第 2 の領域は、第 2 の RNA 内に含まれる連続

したヌクレオチドに相補的であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドの第1のRNAおよび第2のRNAへの結合の予測されるギブス自由エネルギー (ΔG) は、個別に、約37℃および約7.2~約7.6の範囲のpHで約-17~約-36 kcal mol⁻¹の範囲であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、アンチセンスオリゴヌクレオチド、合成マイクロRNA (miRNA)、または低分子干渉RNA (siRNA) であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、1個または複数の他の同等な非コードRNA (ncRNA) に対して、1個または複数のヌクレオチド挿入、ヌクレオチド欠失、ヌクレオチド置換、またはそのあらゆる組み合わせを含むことが可能である。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、第1のRNAまたは第2のRNAに少なくとも部分的に結合した場合、約37℃および約7.2~約7.6の範囲のpHで、第1のRNAまたは第2のRNAに結合する他の同等なncRNAの結合のギブス自由エネルギー (ΔG) と比較して、約37℃および約7.2~約7.6の範囲のpHでの結合の ΔG が少なくとも約10%低い可能性がある。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約50ヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、リボース糖を含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、デオキシリボース糖を含み得る。いくつかの実施形態では、ncRNAは、miR-30マイクロRNA (miRNA)、miR-29miRNA、miR-26miRNA、miR-27miRNA、miR-101miRNA、miR-145miRNA、miR-205miRNA、miR-338miRNA、またはmiR-375miRNAであり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号19、配列番号20、配列番号24、配列番号25、配列番号28、配列番号30、配列番号32、配列番号34、配列番号36、配列番号38、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号100、配列番号101、配列番号102、配列番号103、配列番号104、配列番号105、配列番号106、配列番号107、配列番号108、配列番号109、配列番号110、配列番号111、配列番号112、配列番号113、配列番号114、配列番号115、配列番号116、配列番号117、配列番号118、配列番号119、配列番号120、配列番号121、配列番号122、配列番号123、配列番号124、配列番号125、配列番号126、配列番号245、配列番号246、配列番号247、配列番号248、配列番号249、配列番号250、配列番号251、配列番号252、配列番号253、配列番号254、配列番号255、配列番号256、配列番号257、配列番号258、配列番号259、配列番号260、配列番号261、配列番号262、配列番号263、配列番号465、配列番号624、配列番号625、配列番号626、配列番号627、配列番号628、配列番号629、配列番号630、配列番号631、配列番号632、配列番号633、配列番号634、配列番号635、配列番号636、配列番号637、配列番号638、配列番号639、配列番号640、配列番号641、配列番号642、配列番号643、配列番号840、配列番号841、配列番号842、配列番号843、配列番号844、配列番号845、配列番号901、配列番号902、配列番号903、配列番号904、配列番号905、配列番号906、配列番号907、配列番号908、配列番号909、配列番号910、配列番号911、配列番号912、配列番号913、配列番号914、配列番号915、配列番号916、配列番号917、配列番号918、配列番号919、配列番号920、配列番号921、配列番号922、配列番号923、配列番号924、配列番号925、配列番号926、配列番号927、配列番号928、配列番号929、配列番号930、配列番号931、配列番号932、配列番号933、配列番号934、配列番号935、配列番号936、配列番号937、配列番号938、配列番号939、配列番号940、配列番号941、配列

10

20

30

40

50

番号 942、配列番号 943、配列番号 944、配列番号 945、配列番号 946、配列番号 947、配列番号 948、または配列番号 949 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドは、約 6.5 ～ 約 7.6 の範囲の pH、約 15 °C ～ 約 37 °C の範囲の温度で、水溶液中にステムループを含む二次構造を形成し得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、天然に存在する塩基、糖、骨格、またはリン酸結合に対して化学修飾された塩基、化学修飾された糖、化学修飾された骨格またはリン酸結合、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの実施形態では、化学修飾は、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、ヒドロキシメチル基、ホルミル基、架橋型核酸、ロックド核酸、カルボン酸またはその塩、ホスホチオネート修飾骨格、メチルホスホネート修飾骨格、アミノアルキル鎖修飾、およびこれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択することができる。いくつかの実施形態では、化学修飾された場合、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、式： $(N)_a(mN)_b(N)_cN N; (N)_a(mN)_b(N)_c s f N s m N$; または $(f N m N)_h(mN)_i(f N m N)_j s f N s m N$ (式中、各 N は独立して、ウラシル、グアニン、アデニン、シトシン、または他の天然ヌクレオチドであってもよく; 各 mN は独立して 2' - O メチル修飾ウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであってもよく; 各 s は、独立して、ホスホチオネート修飾骨格であってもよく; 各 f N は、独立して、2' フルオロ修飾ウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであってもよく; 各 a は 8 ～ 10 であってもよく、各 b は 7 ～ 10 であってもよく、各 c は 2 ～ 4 であってもよく、各 h は 5 ～ 7 であってもよく、各 i は 0 または 1 であってもよく、各 j は 3 ～ 4 であり得る) を含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、BLAST ペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、配列番号 62、配列番号 63、配列番号 64、配列番号 65、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 69、配列番号 70、配列番号 71、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85、配列番号 86、配列番号 87、配列番号 88、配列番号 89、配列番号 127、配列番号 128、配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131、配列番号 132、配列番号 133、配列番号 134、配列番号 135、配列番号 136、配列番号 137、配列番号 138、配列番号 139、配列番号 140、配列番号 141、配列番号 142、配列番号 143、配列番号 144、配列番号 145、配列番号 146、配列番号 147、配列番号 148、配列番号 149、配列番号 150、配列番号 151、配列番号 152、配列番号 153、配列番号 154、配列番号 184、配列番号 185、配列番号 186、配列番号 187、配列番号 188、配列番号 189、配列番号 190、配列番号 191、配列番号 192、配列番号 193、配列番号 194、配列番号 195、配列番号 196、配列番号 197、配列番号 198、配列番号 199、配列番号 200、配列番号 201、配列番号 205、配列番号 206、配列番号 207、配列番号 208、配列番号 209、配列番号 210、配列番号 211、配列番号 212、配列番号 213、配列番号 214、配列番号 215、配列番号 216、配列番号 217、配列番号 218、配列番号 219、配列番号 220、配列番号 221、配列番号 222、配列番号 225、配列番号 226、配列番号 227、配列番号 228、配列番号 229、配列番号 230、配列番号 231、配列番号 232、配列番号 233、配列番号 235、配列番号 236、配列番号 237、配列番号 238、配列番号 239、配列番号 240、配列番号 241、配列番号 242、配列番号 243、配列番号 264、配列番号 265、配列番号 266、配列番号 267、配列番号 268、配列番号 269、配列番号 270、配列番号 271、配列番号 272、配列番号 273、配列番号 274、配列番号 275、配列番号 276、配列番号 277、配列番号 278、配列番号 279、配列番号 280、配列番号 281、配列番号 282、配列番号 283、配列番号 284、配列番号 285

10

20

30

40

50

50

14、配列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718、配列番号719、配列番号720、配列番号721、配列番号722、配列番号723、配列番号724、配列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号728、配列番号729、配列番号730、配列番号731、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配列番号735、配列番号736、配列番号737、配列番号738、配列番号739、配列番号740、配列番号741、配列番号742、配列番号743、配列番号744、配列番号745、配列番号746、配列番号747、配列番号748、配列番号749、配列番号750、配列番号751、配列番号752、配列番号753、配列番号754、配列番号755、配列番号756、配列番号757、配列番号758、配列番号759、配列番号760、配列番号761、配列番号762、配列番号763、配列番号764、配列番号765、配列番号766、配列番号767、配列番号768、配列番号769、配列番号770、配列番号771、配列番号772、配列番号773、配列番号774、配列番号775、配列番号776、配列番号777、配列番号778、配列番号779、配列番号780、配列番号781、配列番号782、配列番号783、配列番号784、配列番号785、配列番号786、配列番号787、配列番号788、配列番号789、配列番号790、配列番号791、配列番号792、配列番号793、配列番号794、配列番号795、配列番号796、配列番号797、配列番号798、配列番号799、配列番号800、配列番号801、配列番号802、配列番号803、配列番号804、配列番号805、配列番号806、配列番号807、配列番号808、配列番号809、配列番号810、配列番号811、配列番号812、配列番号813、配列番号814、配列番号815、配列番号816、配列番号817、配列番号818、配列番号819、配列番号820、配列番号821、配列番号822、配列番号823、配列番号824、配列番号825、配列番号835、配列番号836、配列番号837、配列番号846、配列番号847、配列番号848、配列番号849、配列番号850、配列番号851、配列番号852、配列番号853、配列番号854、配列番号855、配列番号856、配列番号857、配列番号858、配列番号859、配列番号860、配列番号861、配列番号862、配列番号863、配列番号864、配列番号865、配列番号866、配列番号867、配列番号868、配列番号869、配列番号870、配列番号871、配列番号872、配列番号873、配列番号874、配列番号875、配列番号876、配列番号877、配列番号878、配列番号879、配列番号880、配列番号881、配列番号882、配列番号883、配列番号884、配列番号885、配列番号886、配列番号887、配列番号888、配列番号889、配列番号890、配列番号891、配列番号892、配列番号893、配列番号894、配列番号895、配列番号896、配列番号897、配列番号898、または配列番号899のいずれか1つに対して少なくとも90%の配列同一性を有し得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチド配列は、糖、塩基、または骨格の修飾を含み得る。いくつかの実施形態では、修飾は、リンカーを含み得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、共有結合性リンカーであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、切断可能なリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、コンジュゲートを含むようにさらに修飾され得る。いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、抗体、天然に存在するリガンド、低分子、またはペプチドであり得る。いくつかの実施形態では、コンジュゲートは、薬物またはその塩であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドは、グリカンでグリコシル化されているヌクレオチドの塩基を含み得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、mRNA配列を少なくとも部分的に含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、mRNA配列と接触させた場合、(a) mRNA配列を含む第1の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、(b) mRNA配列を含む第2の単離された哺乳動物細胞に、ncRNAをトランスフェクトし、(c) 同じタイプの哺乳動物細胞である、第1の単離された哺乳動物細胞および第2の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドの量を測定することにより決定した時に、等量のncRNA

10

20

30

40

50

を mRNA 配列と接触させた場合と比較して、mRNA 配列によりコードされるポリペプチドの発現が約 1.2 分の 1 以下となるように産生し得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、mRNA 配列と接触させた場合、(a) mRNA 配列を含む第 1 の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、(b) mRNA 配列を含む第 2 の単離された哺乳動物細胞に、ncRNA をトランスフェクトし、(c) 同じタイプの哺乳動物細胞である、第 1 の単離された哺乳動物細胞および第 2 の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドからの活性量を測定することにより決定した時に、等量の ncRNA を mRNA 配列と接触させた場合と比較して、mRNA 配列によりコードされるポリペプチドの活性が約 1.2 分の 1 以下となるように産生し得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、mRNA 配列と接触させた場合、(a) mRNA 配列を含む第 1 の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、(b) mRNA 配列を含む第 2 の単離された哺乳動物細胞に、ncRNA をトランスフェクトし、(c) 第 1 の単離された哺乳動物細胞および第 2 の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドの量を測定することにより決定した時に、等量の ncRNA を接触させた場合と比較して、mRNA 配列によりコードされるポリペプチドの発現が約 1.2 分の 1 ～約 10 分の 1 となるように産生し得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、mRNA 配列と接触させた場合、(a) mRNA 配列を含む第 1 の単離された哺乳動物細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、(b) mRNA 配列を含む第 2 の単離された哺乳動物細胞に、ncRNA をトランスフェクトし、(c) 第 1 の単離された哺乳動物細胞および第 2 の単離された哺乳動物細胞中に発現するポリペプチドからの活性量を測定することにより決定した時に、等量の ncRNA を接触させた場合と比較して、mRNA 配列によりコードされるポリペプチドの活性が約 1.2 分の 1 ～約 10 分の 1 となるように産生し得る。いくつかの実施形態では、第 1 の単離された哺乳動物細胞および第 2 の単離された哺乳動物細胞は、ヒト細胞またはマウス細胞であり得る。いくつかの実施形態では、第 1 の単離された哺乳動物細胞はヒト細胞であってもよく、ヒト細胞は、がん細胞、線維芽細胞、白血球、上皮細胞、扁平上皮細胞、筋芽細胞、筋肉細胞であり得る。いくつかの実施形態では、約 23℃、相対大気湿度約 50% で少なくとも約 1 カ月の期間、閉鎖した保存容器中で保存する場合、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩の初期量の少なくとも約 80% が残存し得る。いくつかの実施形態では、期間は約 1 カ月～約 1 年であり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態はがんを含み得る。いくつかの実施形態では、第 1 の RNA または第 2 の RNA の少なくとも一部はがん遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態では、がん遺伝子は、ABL1、ABL2、AKT1、AKT2、AKT3、ATF1、BCL11A、BCL2、BCL3、BCL6、BCR、BRAF、CARD11、CBLB、CBLC、CCND1、CCND2、CCND3、CDX2、CTNNB1、DDB2、BBIT3、BBX6、DEK、EGFR、ELK4、ERBB2、ERBB3、E2F1、ZEB1、ETV4、ETV6、EVI1、EWSR1、FEV、FGFR1、FGFR1OP、FGR2、FUS、GOLGA5、GOPC、HMGA1、HMGA2、HRAS、IRF4、ITGA6、JUN、KIT、KRAS、LCK、LMO2、MAF、MAFB、MAML2、MDM2、MET、MITF、MLL、MPL、MYB、MYC、MYCL1、MYCN、NCOA4、NFKB2、NRS、NTRK1、NUP214、PAX8、PDGFB、PIK3CA、PIM1、PLAG1、PPARG、PTPN11、RAF1、REL、RET、ROS1、SETDB1、SERPINE1、SMO、SS18、TCL1A、TET2、TFG、CDK6、ATG9A、TLX1、TPR、USP6、CSNK1G、KLF17、ARHGAP26、RAB11FIP1、RBJ、SERBP1、CTBP1、CRKL、ITGA3、ITGAV、LAMC1、G6PC2、PPP2R5E またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの実施形態では、がん遺伝子は、ITGA6、BCL2、DE

10

20

30

40

50

K、PLAG1、SERPINE1、MYCN、LMO2、PIM1、EGFR、IRS1、NT5E、GLDC、SOCS1、STAT1、LOX、PDGFRB、WNT5A、CD80、CCNA1、THBS2、IGF1R、AFAP1L2、CTHRC1、MET、FAP、IL1A、GJA1、MYBL2またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、多数のRNA配列のうち、ITGA6、SERPINE1、EGFR、MDTHまたはそれらのあらゆる組み合わせをコードするRNA配列に対して選択的であり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態は線維症を含み得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部は、コラーゲンスーパーファミリー遺伝子、血小板由来成長因子遺伝子、TGF- β シグナル伝達遺伝子、コラーゲンリモデリング遺伝子、細胞外マトリックスリモデリング遺伝子、Wntシグナル伝達遺伝子、肝癌由来成長因子(HDGF)シグナル伝達遺伝子またはそれらのあらゆる組み合わせによってコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はコラーゲンスーパーファミリー遺伝子によってコードすることができ、コラーゲンスーパーファミリー遺伝子はCOL1A1、COL11A1、COL2A1、COL5A3、COL5A2、COL4A4、COL21A1、COL7A1、COL9A1、COL19A1、COL5A1、COL22A1、COL8A1、COL4A2、COL6A2、COL24A1、COL4A3、COL4A6、COL25A1、COL16A1、COL15A1およびこれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部は血小板由来成長因子遺伝子によってコードされ、血小板由来成長因子遺伝子は、PDGFB、PDGFC、PDGFRB、およびそれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はTGF- β シグナル伝達遺伝子によってコードすることができ、TGF- β シグナル伝達遺伝子は、WISP1、TGF β 2、またはそれらのあらゆる組み合わせである。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はコラーゲンリモデリング遺伝子によってコードすることができ、コラーゲンリモデリング遺伝子はLOXL2である。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部は細胞外マトリックスリモデリング遺伝子によってコードすることができ、細胞外マトリックスリモデリング遺伝子は、COL1A1、COL11A1、COL2A1、COL5A3、COL5A2、COL4A4、COL21A1、COL7A1、COL9A1、COL19A1、COL5A1、COL22A1、COL8A1、COL4A2、COL6A2、COL24A1、COL4A3、COL4A6、COL25A1、COL16A1、COL15A1、LOXL2、エラスチン、およびそれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部は、Wntシグナル伝達遺伝子によってコードすることができ、Wntシグナル伝達遺伝子はWISP1を含む。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はHDGFシグナル伝達遺伝子によってコードすることができ、HDGFシグナル伝達遺伝子はHDGFを含む。いくつかの実施形態では、疾患または状態はウイルス感染を含み得る。いくつかの実施形態では、ウイルス感染はHCV遺伝子型1感染であり得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はHCV遺伝子型1ゲノムにコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号587、配列番号588、または配列番号589に対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、ウイルス感染はコロナウイルス感染であり得る。いくつかの実施形態では、コロナウイルスはSARS-CoV-2であり得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はSARS-CoV-2ゲノムにコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、配列番号500～配列番号531、配列番号829、配列番号830、または配列番号831のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含み

10

20

30

40

50

得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号500、配列番号513、または配列番号518に対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、コロナウイルスはSARS-CoVであり得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はSARS-CoVゲノムにコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、配列番号474～配列番号499、配列番号826、配列番号827、または配列番号828のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号476、配列番号481、または配列番号495に対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、コロナウイルスはMERS-CoVであり得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はMERS-CoVゲノムにコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、配列番号532～配列番号554のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、コロナウイルスはCoV-HKU1であり得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はCoV-HKU1ゲノムにコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、配列番号555～配列番号586のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、ウイルス感染はHIV感染であり得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部はHIVゲノムによってコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号470に対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号471、配列番号472、または配列番号473に対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態は、筋ジストロフィーまたはミオパチーを含む神経筋障害を含み得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態は、デュシェンヌ筋ジストロフィー（DMD）、筋緊張性ジストロフィー（MD）、顔面肩甲上腕筋ジストロフィー（FSHD）、肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）、ベッカー筋ジストロフィー、眼咽頭型筋ジストロフィー、エメリ・ドレフュス筋ジストロフィー、または遠位型筋ジストロフィーであり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態は、遺伝性または自然発生の常染色体優性突然変異に起因し得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAの少なくとも一部は、ジストロフィン、DMPK、CLCN1、CNBP、D4Z4リピート、DUX4、SMCHD1、DBET、SVIL、GAL3ST2、FRG1、CAPN3、DYSF、LMNA、PABPN1、PYGM、MYOD1、MYH7、HNRNPC、HNRNPA2B1、ACVR1、ASIC2、ATG14、ATP1A1、B3GTL1、BANF1、BPTF、CASP8AP2、CDX4、CELF2、CHMP7、CKMT1B、CLASP1、CNOT3、COL15A1、CYP3A4、DCAF15、DCN、DLX5、DUSP7、DUX1、DUX5、EMILIN1、EPG5、FAM13A、FBXO3、FBXL22、FMNL3、FREM2、FRMPD2、GADD45A、GID4、GJD3、GMPR、GNAT1、GOSR1、GPRC6A、HERC1、HGF、HOK3、HOXC9、HSP40、IRF9、IRX5、ITGA10、ITGA3、ITGA9、KCNC3、KLHL3、KLK6、LARP6、MALT1、MAP3K4、MAPK10、MIR4661、MIR8078、MTSS1、NDUFAF6、NEBL、NKX2、NR2F1、PCID2、PDE10A、PKD1L2、PKHD1、PPP1R12B、PTPRN2、PYY、RABGAP1L、RBCK1、RFX3、RHBDF2、SCRIB、SEMA3B、SETD4、SHFL、SHH、SLC37A4、SLC9A8、SMAD1、SPEF1、SPRED3、ST3GAL6、STA

10

20

30

40

50

G1、SUPV3L1、TBC1D26、TCEA2、TCF3、TM6SF1、TMM108、TMM259、TNFSF4、TNIP1、TRNP1、USH1G、WRNIP1、XIAP、ZNF574 遺伝子またはそれらのあらゆる組み合わせにコードされ得る。いくつかの実施形態では、第1のRNAまたは第2のRNAは、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号901～配列番号949のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチド中のヌクレオチドの少なくとも1個の塩基は、第1のRNAまたは第2のRNAに相補的でなくてもよい。

【0004】

また、本明細書では、約5ヌクレオチド～約50ヌクレオチドのポリヌクレオチド配列を含み得る、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が開示される。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、第1の領域、第1の領域に隣接する第2の領域、および第2の領域に隣接する第3の領域を含み得、領域が5'から3'まで次の順序：第1の領域、第2の領域、および第3の領域で配置されており；操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩がmRNA配列に結合している場合、第1の領域および第3の領域はmRNA配列に相補的であり、第2の領域はmRNA配列に相補的ではない少なくとも一つの塩基を含む。いくつかの実施形態では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、37℃および約7.2のpHでmRNA配列に結合する他の同等のオリゴヌクレオチドの結合のギブス自由エネルギー (ΔG) と比較して、約37℃および約7.2のpHでのmRNA配列への結合について決定した時に、少なくとも約10%低い結合の ΔG を含み得、他の同等のオリゴヌクレオチドは、mRNA配列と相補的でない操作されたオリゴヌクレオチド内で少なくとも1個の塩基を欠失している。

【0005】

また、本明細書ではBLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号1～5、12～14、19～20、24～25、28、30、32、34、36、38～45、52～89、100～154、184～201、205～222、225～233、235～243、245～443、445～453、455～463、465、620、624～825、835～837、840～899、および901～949のいずれか1つに対して少なくとも約90%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含み得る、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩であって、mRNA配列と接触させた場合、(a) mRNA配列を含む第1の単離されたヒト細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をトランスフェクトし、(b) mRNA配列を含む第2の単離されたヒト細胞に、miR-29またはmiR-30オリゴヌクレオチドをトランスフェクトし、(c) 第1の単離されたヒト細胞および第2の単離されたヒト細胞中に発現するポリペプチドの量を測定することにより決定した時に、ヒト細胞中に自然に存在する等量のmiR-29もしくはmiR-30オリゴヌクレオチド、またはその塩を接触させた場合と比較して、mRNA配列によりコードされるポリペプチドの発現が約1.2分の1以下となるように産生する、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩が開示される。いくつかの実施形態では、構造および化学は、未修飾配列または同等のncRNAと比較して、天然ヌクレアーゼに対して100倍以上の安定性を付与するように最適化され得る。

【0006】

また、本明細書では、ポリヌクレオチド配列を含み得る操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩であって、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩の少なくとも一部と少なくとも部分的に相補的であり得る、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩が開示される。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩は約5～約50ヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩はリボース糖を含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩はデオキシリボース糖を含み得る。いくつかの実施形

態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩は、B L A S Tペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号26、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号33、配列番号35、配列番号37、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号155、配列番号156、配列番号157、配列番号158、配列番号159、配列番号160、配列番号161、配列番号162、配列番号163、配列番号164、配列番号165、配列番号166、配列番号167、配列番号168、配列番号169、または配列番号466のいずれか1つに対して少なくとも90%の配列同一性を有し得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドは、ステムループを含む二次構造を形成し得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩は、天然に存在する塩基、糖、骨格、またはリン酸結合に対して化学修飾された塩基、化学修飾された糖、化学修飾された骨格またはリン酸結合、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの実施形態では、化学修飾は、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、ヒドロキシメチル基、ホルミル基、カルボン酸またはその塩、ホスホチオネート修飾骨格、メチルホスホネート修飾骨格、アミノアルキル鎖修飾、およびこれらのあらゆる組み合わせからなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩は、化学修飾された場合、式： $CAP-mNmNmN(N)_k mNmNmN$ （式中、CAPは、5'-末端メチル基（5'-Oメチル）またはアミノ炭素6鎖（5'-アミノC6）のようなアルキルアミノ基から選択することができ；各Nは独立してウラシル、グアニン、アデニンまたはシトシンであってもよく；各mNは独立して2'-Oメチル修飾ウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであってもよく；各kは12~19であり得る）を含み得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩は、B L A S Tペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号90、配列番号91、配列番号92、配列番号93、配列番号94、配列番号95、配列番号96、配列番号97、配列番号98、配列番号99、配列番号170、配列番号171、配列番号172、配列番号173、配列番号174、配列番号175、配列番号176、配列番号177、配列番号178、配列番号179、配列番号180、配列番号181、配列番号182、配列番号183、配列番号202、配列番号203、配列番号204、配列番号223、配列番号224、配列番号234、配列番号244、配列番号444、配列番号454、配列番号464、配列番号838、配列番号839、または配列番号900のいずれか1つに対して少なくとも90%の配列同一性を有し得る。いくつかの実施形態では、操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩は糖修飾を含み得る。いくつかの実施形態では、糖修飾はグリコシル化塩基を含み得る。いくつかの実施形態では、構造および化学は、未修飾配列または同等のncRNAと比較して、天然ヌクレアーゼに対して100倍以上の安定性を付与するように最適化され得る。

10

20

30

40

50

【0007】

また、本明細書では、(a) 本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む第1の鎖、および(b) 第1の鎖の少なくとも一部に相補的な配列を有する本明細書に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む第2の鎖を含み得る核酸構築物が開示される。

【0008】

また、本明細書では、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、または本明細書に記載の核酸構築物を含み得るベクターが開示される。いくつかの実施形態では、ベクターは、リポソーム、ナノ粒子、またはそれらのあらゆる組み合わせで存在し得る。いくつかの実施形態では、ベクターはウイルスベクターであり得る。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターはアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターであり得る

。

また、本明細書では、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、本明細書に記載の核酸構築物、または本明細書に記載のベクターを含み得る単離された細胞が開示される。

【0009】

また、本明細書では、(a) 本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、本明細書に記載の核酸構築物、または本明細書に記載のベクターと、(b) 薬学的に許容される賦形剤、希釈剤または担体とを含み得る、医薬組成物が開示される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は単位用量形態であり得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物はカプセル化され得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は液体の形態であり得る。

10

【0010】

また、本明細書では、治療的有効量の本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドもしくはその塩、本明細書に記載の核酸構築物、本明細書に記載のベクター、または本明細書に記載の医薬組成物を対象に投与する工程を含み得る、それを必要とする対象を処置する方法が開示される。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射、眼窩内注射、皮下注射、またはそれらのあらゆる組み合わせによるものであり得る。いくつかの実施形態では、投与は、経口、耳介、眼球、直腸、またはそれらのあらゆる組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、方法は、対象への第2の療法を含む第2の投与をさらに含み得る。いくつかの実施形態では、投与および第2の投与は同時的であり得る。いくつかの実施形態では、投与および第2の投与は逐次的であり得る。いくつかの実施形態では、対象は、疾患または状態を有するか、または発症する危険性があり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態はがんであり得る。いくつかの実施形態では、がんは、頭部がん、頸部がん、皮膚がん、子宮頸がん、前立腺がん、またはそれらのあらゆる組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態はウイルス感染であり得る。いくつかの実施形態では、ウイルス感染は、SARS-CoV感染、SARS-CoV-2感染、MERS-CoV感染、CoV-HKU1感染、HIV感染、またはHCV感染であり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態は線維症であり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態は筋ジストロフィーであり得る。いくつかの実施形態では、対象は哺乳動物であり得る。いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトであり得る。いくつかの実施形態では、対象が、診断検査によって疾患または状態であると診断され得る。いくつかの実施形態では、診断検査は、画像化法、血球数分析、組織病理学的分析、バイオマーカー分析、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。

20

30

【0011】

また、本明細書では、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩、本明細書に記載の核酸構築物、または本明細書に記載のベクターを、単離された細胞または単離された組織と接触させることを含み得る方法が開示される。

また、本明細書では、容器内の本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩、容器内の本明細書に記載の核酸構築物、容器内の本明細書に記載のベクター、または容器内の本明細書に記載の医薬組成物を含み得る、本明細書に記載のキットが開示される。

40

【0012】

参照による組込み

本明細書で言及されている全ての出版物、特許、および特許出願は、個々の出版物、特許、または特許出願が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されている場合と同じ程度に、参照により本明細書に組み込まれる。参照により組み込まれる出版物および特許または特許出願が、本明細書に含まれる開示と矛盾する範囲において、本明細書は、そのような矛盾する材料に取って代わることおよび／または優先することが意図される。

。

例示的な実施形態の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に具体的に説明されている。

50

特徴および利点のより良好な理解は、例示的な実施形態の原理が利用される例示的な実施形態を説明する以下の詳細な説明、およびその添付図面を参照することによって得られるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1A】天然のmiR-30ガイド鎖配列、および操作されたファミリーメンバーの例を示す図である。

【図1B】天然のmiR-30パッセンジャー鎖の配列、および操作されたファミリーメンバーの例を示す図である。

【図2A】ITGA6、SERPINE1、およびEGFR転写産物の3'UTRにおける天然miR-30a-5p配列と標的部位との間の自由エネルギー(ΔG)およびハイブリダイゼーションを示す図である。

10

【図2B】13位に「G」挿入を含む操作されたファミリーG007-30(配列番号39)とITGA6、SERPINE1、およびEGFR標的部位との間の自由エネルギー(ΔG)およびハイブリダイゼーションを示す図である。

【図2C】G007-30に見られるものと同じ「G」挿入を13位に含む模倣体が、選択された発がん性標的の改善されたノックダウンを実証し得ることを示す図である。

【図3】MTDH 3'UTRにおけるmiR-30-5p標的部位を模式的に可視化した図である。

【図4A】がん細胞株におけるmiR-30模倣体の抗腫瘍活性を示す図である。

20

【図4B】miR-30模倣体による、がん関連miR-30標的部位を含むルシフェラーゼレポーターを、その3'UTRでノックダウンすることを示す図である。

【図4C】異なる遺伝的背景を持つ追加の細胞株における、天然のmiR-30aおよび模倣的な操作された模倣体の抗腫瘍活性を示す図である。

【図4D】異なる組織学および遺伝的背景を有する追加のがん細胞株における、操作されたmiR-30模倣体のパネルの抗腫瘍活性を示す図である。

【図5A】核酸マーカー(M)と、模倣二重鎖、ガイド鎖、分解断片($\leq n-1$)Cからなるサンプルを分離した尿素-PAGEの一例を示す図である。

【図5B】ヒト血清中における、操作されたmiR-30 miRNA模倣体の二重鎖安定性を示す図である。

30

【図6A】パッセンジャー鎖の配列と、模倣構造を変化させる化学修飾を有する操作された模倣二重鎖の構造を示す図である。

【図6B】ヒト血清中における、操作されたmiR-30 miRNA模倣体の例示的な二重鎖安定性を示す図である。

【図7A】パッセンジャー鎖の配列、および模倣構造を変化させる化学修飾を有する操作された模倣二重鎖の模倣的な構造を示す図である。

【図7B】がん細胞株における典型的な操作されたmiR-30模倣体の抗腫瘍活性を示す図である。

【図7C】種々の構造を有するガイド鎖が同一である操作されたmiR-30模倣体によるルシフェラーゼレポーターのノックダウンを示す図である。

40

【図8A】ガイド鎖の5'末端に対して行うことができる2つの平滑末端化修飾の構造を示す図である。

【図8B】5'修飾された、平滑末端化したガイド鎖を有する模倣体の抗腫瘍活性を示す図である。

【図9A】典型的な操作されたmiR-30模倣体二重鎖の構造を示す図である。

【図9B】がん細胞株における典型的な操作されたmiR-30模倣体の抗腫瘍活性を示す図である。

【図9C】種々の構造を有するがガイド鎖が同一である典型的な操作されたmiR-30模倣体によるルシフェラーゼレポーターのノックダウンを示す図である。

【図10A】典型的な操作された模倣体M30-043の改善された抗がん活性およびサ

50

イレンシングを示す図である。

【図 1 0 B】典型的な操作された模倣体 M 3 0 - 0 4 3 によるルシフェラーゼ活性のノックダウンを示す図である。

【図 1 1 A】P B M C を操作された m i R - 3 0 模倣体に曝露した後に、T N F α の生得的産生が減少することを示す図である。

【図 1 1 B】P B M C を操作された m i R - 3 0 模倣体に曝露した後に、I F N α の生得的産生が減少することを示す図である。

【図 1 2 A】シスプラチン耐性がん細胞株の産生を示す図である。

【図 1 2 B】シスプラチン耐性がん細胞株における操作された m i R - 3 0 模倣体の活性の保存を示す図である。

【図 1 2 C】操作された m i R - 3 0 模倣体処理によるシスプラチンに対する耐性細胞株の再感受性を示す図である。

【図 1 2 D】操作された m i R - 3 0 模倣体処理による、E G F R 阻害剤セツキシマブに対するがん細胞株の感作を示す図である。

【図 1 3 A】操作された m i R - 3 0 模倣体による同所性 H N S C C 腫瘍における抗腫瘍活性のルシフェラーゼイメージを示す図である。

【図 1 3 B】操作された m i R - 3 0 模倣体による同所性 H N S C C 腫瘍におけるルシフェラーゼ活性の定量化を示す図である。

【図 1 3 C】皮下 H N S C C マウスモデルにおける、操作された m i R - 3 0 模倣体 M 3 0 - 0 4 0 の抗腫瘍活性を示す図である。

【図 1 4 A】局所的処置を伴う操作された m i R - 3 0 模倣体 M 3 0 - 0 4 8 による同所性 H N S C C 腫瘍における抗腫瘍活性のルシフェラーゼイメージを示す図である。

【図 1 4 B】局所的処置を伴う操作された m i R - 3 0 模倣体 M 3 0 - 0 4 8 による同所性 H N S C C 腫瘍におけるルシフェラーゼ活性の定量化を示す図である。

【図 1 5】天然の m i R - 2 9 ガイド鎖配列、および操作されたファミリーメンバーの例を示す図である。

【図 1 6】ヒト宿主細胞遺伝子 T E T - 1、および操作された m i R - 2 9 模倣体による改良された予測結合を模式的に可視化した図である。

【図 1 7】ルシフェラーゼ細胞株において、操作された m i R - 2 9 模倣体が天然の m i R - 2 9 b と比較して同等以上のノックダウン活性を有し得ることを示す図である。

【図 1 8 A】天然の m i R - 2 9 b - 1 二重鎖、および操作された m i R - 2 9 模倣体の配列および構造を示す図である。

【図 1 8 B】ヒト血清中における天然および操作された m i R - 2 9 m i R N A 模倣体の二重鎖安定性を示す図である。

【図 1 9 A】典型的な操作された m i R - 2 9 模倣体の配列および構造を示す図である。

【図 1 9 B】ヒト血清中の典型的な操作された m i R - 2 9 m i R N A 模倣体の二重鎖安定性を示す図である。

【図 2 0 A】天然の m i R - 2 9 a 二重鎖および典型的な操作された m i R - 2 9 a 模倣体の配列および構造を示す図である。

【図 2 0 B】天然の m i R - 2 9 b 二重鎖および典型的な操作された m i R - 2 9 b 模倣体の配列および構造を示す図である。

【図 2 0 C】m i R - 2 9 a および m i R - 2 9 b の典型的な操作された模倣体によるルシフェラーゼノックダウン活性の改善を示す図である。

【図 2 1】m i R - 2 9 の操作された模倣体が、自然免疫刺激を減少させることを示す図である。

【図 2 2 A】H I V - 1 N E F R N A に結合する天然および操作された m i R - 2 9 - 3 p ガイド鎖を模式的に可視化した図である。

【図 2 2 B】典型的な操作された m i R - 2 9 模倣体による H I V - 1 複製の阻害を示す図である。

【図 2 3 A - 2 3 C】m i R - 2 9 の操作された模倣体による H I V - 1 関連宿主 m R N

10

20

30

40

50

Aの改善されたノックダウンを示す図である。

【図24A】天然および操作されたmiR-29-3pガイド鎖による、SARS-CoVウイルスゲノムの予測される標的部位への結合の自由エネルギーの計算値を示す図である。

【図24B】天然および操作されたmiR-30-5pガイド鎖によるSARS-CoVウイルスゲノムの予測される標的部位への結合の自由エネルギーの計算値を示す図である。

【図25A】天然および操作されたmiR-29-3pガイド鎖による、SARS-CoV-2ウイルスゲノムの予測される標的部位への結合の自由エネルギーの計算値を示す図である。

【図25B】天然および操作されたmiR-30-5pガイド鎖によるSARS-CoV-2ウイルスゲノムの予測される標的部位への結合の自由エネルギーの計算値を示す図である。

【図25C】典型的な操作されたmiR-29およびmiR-30模倣体によるSARS-CoV-2ウイルス複製の阻害を示す図である。

【図26】天然および操作されたmiR-29-3pガイド鎖によるHCV-1ウイルスゲノムの予測される標的部位への結合の自由エネルギーの計算値を示す図である。

【図27】正常細胞株およびがん細胞株における抗がんの操作された人工miRNA模倣体ENG-miR-1の殺細胞活性を示す図である。

【図28】多標的化ASOによるF5HD患者の筋芽細胞におけるDUX4およびDBET RNA転写産物の同時ノックダウンを示す図である。

【図29】本明細書に開示される方法およびシステムを示す図である。

【図30】本明細書で提供される方法を実施するためにプログラムされるか、または他の方法で構成されるコンピュータ制御システムを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

配列表

本明細書または添付の配列表に記載された、あらゆる核酸およびアミノ酸の配列は、米国特許法施行規則1.822に定義されるように、ヌクレオチド塩基およびアミノ酸の標準文字略号を用いて表示される。

配列番号1～37は、典型的な成熟miRNAのヌクレオチド配列である。

配列番号38～45、52～89、および624～825は、修飾されたmiR-30ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号46～51、90～99、および900は、修飾されたmiR-30パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号100～154、620、および835～837は、修飾されたmiR-29ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号155～183および838～839は、修飾されたmiR-29パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号184～201は、修飾されたmiR-26ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号202～204は、修飾されたmiR-26パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号205～222は、修飾されたmiR-27ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号223～224は、修飾されたmiR-27パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号225～233は、修飾されたmiR-101ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号234は、修飾されたmiR-101パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列であ

10

20

30

40

50

る。

配列番号 2 3 5 ~ 2 4 3 は、修飾された m i R - 1 4 5 ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 2 4 4 は、修飾された m i R - 1 4 5 パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 2 4 5 ~ 4 4 3 および 8 4 0 ~ 8 9 9 は、修飾された m i R - 2 0 5 ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 4 4 は、修飾された m i R - 2 0 5 パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 4 5 ~ 4 5 3 は、修飾された m i R - 3 3 8 ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 5 4 は、修飾された m i R - 3 3 8 パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 5 5 ~ 4 6 3 は、修飾された m i R - 3 7 5 ガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 6 4 は、修飾された m i R - 3 7 5 パッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 6 5 は、操作されたガイド鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 4 6 6 は、操作されたパッセンジャー鎖ヌクレオチド配列である。

配列番号 9 0 1 ~ 9 4 9 は、アンチセンスヌクレオチド配列である。

配列番号 4 6 7 ~ 6 1 9、6 2 1 ~ 6 2 3、8 2 6 ~ 8 3 4、9 5 0 ~ 1 1 2 0 は、標的ヌクレオチド配列である。

【0015】

詳細な説明

定義

別途明示しない限り、非限定用語、例えば「含有する (c o n t a i n)」、「含有すること (c o n t a i n i n g)」、「含む (i n c l u d e)」、「含むこと (i n c l u d i n g)」等とは、「含むこと (c o m p r i s i n g)」を意味する。

【0016】

本明細書において使用される場合、単数形の「a」、「an」、および「the」は、文脈上明確に指示されない限り、複数の参照を含むように使用される。従って、反対の指示がない限り、本出願に記載された数値パラメータは、得ようとする所望の特性によって変化し得る近似値である。

本明細書で使用される場合、「約」または「およそ」という用語は、当業者によって決定される特定の値に対する許容誤差範囲内を意味し得、これは、値が測定または決定される方法、例えば、測定システムの限界に部分的に依存するであろう。例えば、「約」は、当技術分野における実施ごとに、プラスマイナス 10 % を意味し得る。あるいは、「約」は、所定の値のプラスもしくはマイナス 20 %、プラスもしくはマイナス 10 %、プラスもしくはマイナス 5 %、またはプラスもしくはマイナス 1 % の範囲を意味し得る。あるいは、特に生物システムまたはプロセスに関しては、この用語は、ある値の 1 桁以内、5 倍以内、または 2 倍以内を意味し得る。本出願および特許請求の範囲に特定の値が記載されている場合、特に示さない限り、特定の値について許容される誤差範囲内を意味する「約」という用語が想定されるべきである。また、値の範囲および／または部分的な範囲が提供される場合、範囲および／または部分的な範囲は、範囲および／または部分的な範囲の終点を含み得る。

【0017】

本明細書で使用される場合、「実質的に」という用語は、所定の値の 100 % に近づく値を意味し得る。いくつかの例では、この用語は、総量の少なくとも約 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、99.9 %、または 99.99 % であり得る量を意味し得る。いくつかの例では、この用語は、総量の約 1

10

20

30

40

50

00%であり得る量を意味し得る。

「相同性」という用語は、参照配列に対する配列の%同一性を意味し得る。実際問題として、あらゆる特定の配列が本明細書に記載のあらゆる配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一であり得るか（これは本明細書に記載の特定の核酸配列に対応し得る）、このような特定のポリペプチド配列は、伝統的な方法で、Bestfitプログラム（Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711）等の公知のコンピュータプログラムを使用して決定し得る。Bestfitまたは他の配列アラインメントプログラムを使用して、特定の配列が例えば参照配列と95%同一であるかどうかを決定する場合、パラメータは、同一性の割合が参照配列の全長にわたって計算され、参照配列全体の5%までの相同性のギャップが許容されるように設定し得る。

【0018】

例えば、特定の実施形態では、参照配列（クエリー配列、すなわち、本明細書に記載の配列）と対象配列との間の同一性は、グローバル配列アラインメントとも呼ばれ、Brutlagら（Comp. App. Biosci. 6:237-245 (1990)）のアルゴリズムに基づいてFASTDBコンピュータプログラムを使用して決定し得る。いくつかの例では、FASTDBアミノ酸アラインメントで使用される、同一性が狭く解釈される特定の実施形態のパラメータは、以下を含み得る：スコアリングスキーム＝PAM（認知変異率）0、k-タプル＝2、ミスマッチペナルティ＝1、連結ペナルティ＝20、ランダム化グループ長さ＝0、カットオフスコア＝1、ウィンドウサイズ＝配列長、ギャップペナルティ＝5、ギャップサイズペナルティ＝0.05、ウィンドウサイズ＝500または対象配列の長さのいずれか短い方。本実施形態によれば、対象配列が、内部欠失ではなく、N末端またはC末端の欠失によりクエリー配列より短い場合、FASTDBプログラムがグローバルな同一性パーセントを計算する際に対象配列のN末端およびC末端の切断について理由が説明されないことを考慮して、結果に手動補正を行い得る。クエリー配列に対してN末端およびC末端で切断された対象配列については、対応する対象残基と一致／アラインしない、対象配列のN末端およびC末端に横たわるクエリー配列の残基数を、クエリー配列の全塩基に対するパーセントとして計算することにより、同一性パーセントを修正し得る。残基が一致／アラインしているかどうかの判断は、FASTDB配列アラインメントの結果で判断し得る。次いで、このパーセントを、指定されたパラメータを使用してFASTDBプログラムによって計算された同一性パーセントから減算して、最終的な同一性パーセントスコアに到達させ得る。この最終的な同一性パーセントスコアは、本実施形態の目的に使用し得る。いくつかの例では、クエリー配列と一致／アラインしていない対象配列のN末端およびC末端に対する残基のみが、同一性パーセントスコアを手動で調整する目的のために考慮される。すなわち、対象配列の最も遠くにあるN末端およびC末端残基の外側のクエリー残基位置のみが、この手動補正のために考慮される。例えば、90個の残基の対象配列は、100残基のクエリー配列とアラインして、同一性パーセントを決定し得る。欠失は対象配列のN末端で発生するため、FASTDBアラインメントはN末端の最初の10個の残基の一致／アラインメントを示さない。この10個の対になっていない残基は配列の10%（N末端およびC末端の一致しない残基数／クエリー配列の総残基数）に相当するので、FASTDBプログラムにより計算された同一性パーセントスコアから10%を減算する。残りの90個の残基が完全に一致した場合、最終的な同一性パーセントは90%となる。別の例では、90個の残基の対象配列と100個の残基のクエリー配列を比較する。この場合には、欠失は内部欠失であるため、対象配列のN末端またはC末端には、クエリー配列と一致しない／アラインしない残基はない。この場合、FASTDBで計算された同一性パーセントは手動で補正されない。再度、FASTDBのアラインメントで表示される、対象配列のN末端およびC末端の外側で、クエリー配列と一致しない／アラインしない残基位置のみを手動で補正する。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 9 】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、本明細書に記載のあらゆる配列番号のオリゴヌクレオチドに対して、少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、本明細書に記載の配列番号のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドの少なくとも 10 個の連続した塩基に対して、少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有し得る。

【 0 0 2 0 】

【表 1】

表1-天然のヒトmiRNA

miRNA オリゴ	配列(5'-3')	配列番号
miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	1
miR-30b-5p	UGUAAACAUCCUACACUCAGCU	2
miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	3
miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	4
miR-30e-5p	UGUAAACAUCCUUGACUGGAAG	5
miR-30a-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	6
miR-30b-3p	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	7
miR-30c-1-3p	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	8
miR-30c-2-3p	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	9
miR-30d-3p	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	10
miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	11
miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	12
miR-29b-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU	13
miR-29c-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA	14
miR-29a-5p	ACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAG	15
miR-29b-1-5p	GCUGGUUUCAUUUGGUGGUUAGA	16
miR-29b-2-5p	CUGGUUUCACAUGGUGGCUUAG	17
miR-29c-5p	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	18
miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	19
miR-26b-5p	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	20
miR-26a-1-3p	CCUAUUCUUGGUUACUUGCACG	21
miR-26a-2-3p	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	22
miR-26b-3p	CCUGUUCUCCAUAUACUUGGCUC	23
miR-27a-5p	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	24
miR-27b-5p	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	25
miR-27a-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCGCG	26
miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	27
miR-101-3p	UACAGUACUGUGAUUACUGAA	28
miR-101-5p	CAGUUAUCACAGUGCUGAUGCU	29
miR-145-5p	GUCCAGUUUUCUCCAGGAAUCCCU	30
miR-145-3p	GGAUUCUGGAAAUACUGUUCU	31
miR-205-5p	UCCUUCAUUCCACCGAGUCUG	32
miR-205-3p	GAUUUCAGUGGAGUGAAGUUC	33
miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUGAUUUUGUUG	34
miR-338-5p	AACAAUAUCCUGGUGCUGAGUG	35
miR-375-3p	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	36
miR-375-5p	GCGACGAGCCCCUCGCACAAACC	37

10

20

30

40

50

【 0 0 2 1 】

【 表 2 】

表2-天然のmiRNA模倣体組成物

miRNA名称	ガイド鎖	パッセンジャー鎖
miR-30a	miR-30a-5p(配列番号1)	miR-30a-3p(配列番号6)
miR-30b	miR-30b-5p(配列番号2)	miR-30b-3p(配列番号7)
miR-30c-1	miR-30c-5p(配列番号3)	miR-30c-1-3p(配列番号8)
miR-30c-2	miR-30c-5p(配列番号3)	miR-30c-2-3p(配列番号9)
miR-30d	miR-30d-5p(配列番号4)	miR-30d-3p(配列番号10)
miR-30e	miR-30e-5p(配列番号5)	miR-30e-3p(配列番号11)
miR-29a	miR-29a-3p(配列番号12)	miR-29a-5p(配列番号15)
miR-29b-1	miR-29b-3p(配列番号13)	miR-29b-1-5p(配列番号16)
miR-29b-2	miR-29b-3p(配列番号13)	miR-29b-2-5p(配列番号17)
miR-29c	miR-29c-3p(配列番号14)	miR-29c-5p(配列番号18)
miR-26a-1	miR-26a-5p(配列番号19)	miR-26a-1-3p(配列番号21)
miR-26a-2	miR-26a-5p(配列番号19)	miR-26a-2-3p(配列番号22)
miR-26b	miR-26b-5p(配列番号20)	miR-26b-3p(配列番号23)
miR-27a	miR-27a-5p(配列番号24)	miR-27a-3p(配列番号26)
miR-27b	miR-27b-5p(配列番号25)	miR-27b-3p(配列番号27)
miR-101	miR-101-3p(配列番号28)	miR-101-5p(配列番号29)
miR-145	miR-145-5p(配列番号30)	miR-145-3p(配列番号31)
miR-205	miR-205-5p(配列番号32)	miR-205-3p(配列番号33)
miR-338	miR-338-3p(配列番号34)	miR-338-5p(配列番号35)
miR-375	miR-375-3p(配列番号36)	miR-375-5p(配列番号37)

10

20

30

40

50

【 0 0 2 2 】

【表 3】

表 3-操作された miRNA

オリゴ	配列(5'-3')	配列番号
G006-30	UGUAAACAUCUCCUGCGACUGGAA	38
G007-30	UGUAAACAUCUCCUGCGACUGGAAG	39
G061-30	UGUAAACAUCCCGCGACUGGAAG	40
G062-30	UGUAAACAUCUCCUGUGACUGGAAG	41
G063-30	UGUAAACAUCCCGUGACUGGAAG	42
G064-30	UGUAAACAUCUCCUGACACUCUCAGC	43
G065-30	UGUAAACAUCUCCUGACACUCUCAG	44
G066-30	UGUAAACAUCUCCUGACACUCUCA	45
G075-30	UGUAAACAUCUCCUGACACUCAGCU	624
G076-30	UGUAAACAUCCCGUGACAGGAAG	625
G077-30	UGUAAACAUCUCCUGCGACUAGGAA	626
G078-30	UGUAAACAUCUCCUGCGACUGGUAA	627
G079-30	UGUAAACAUCCCGUGACUGGAAG	628
G080-30	UGUAAACAUCUCCUGACUCAGCU	629
G081-30	UGUAAACAUCUCCUGACUCUCAGC	630
G082-30	UGUAAACAUCUCCUUCACUCAGCU	631
G083-30	UGUAAACAUCUCCUUCACUCUCAGC	632
G084-30	UGUAAACAUCCACACUCUCAGCU	633
G085-30	UGUAAACAUCCACACUCUCAGC	634
G086-30	UGUAAACAUCCUCACUCUCAGCU	635
G087-30	UGUAAACAUCCUCACUCUCAGC	636
G088-30	UGUAAACAUCUCCUGCGACUCAGCU	637
G089-30	UGUAAACAUCUCCUGCAGGAAG	638
G090-30	UGUAAACAUCUCCUGCGACAGGAAG	639
G091-30	UGUAAACAUCUCCUGACAUGGAAG	640
G092-30	UGUAAACAUCUCCUGAACUGGAAG	641
G093-30	UGUAAACAUCUCCUGCGAACUGGAA	642
G094-30	UGUAAACAUCCUGCAGGAAG	643
P001-30	CCAGUCGAGGAUGUUUACA	46
P002-30	CCAGUCGCAGGAUGUUUACA	47
P003-30	UCCAGUCGAGGAUGUUUACA	48
P004-30	UCCAGUCGCAGGAUGUUUACA	49
P005-30	UCCAGUCGGAUGUUUACA	50
P125-30	UUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	51
G008-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUmGfCmGfAmCfUmGfGmA AymG	52
G009-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUmGfCmGfAmCfUmGfGmA AymG	53
G010-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUmGsfCmGfAmCfUmGfGmA fAsmG	54
G011-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUmGGAAG	55
G012-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUmGyfCmGfAmCfUmGfGmA fAsmG	56
G014-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUsmGfCmGfAmCfUmGfGmA fAsmG	57
G025-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUsmGsfCmGfAmCfUmGfGmA sfAsmG	58

10

20

30

40

50

G026-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUymGfCmGfAmCfUmGfGmAsfAsmG	59
G027-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUGGfAymA	60
G028-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUGGsAsmA	61
G029-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGAfAymG	62
G030-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGfAymA	63
G031-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGsAsmA	64
G032-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUmGfCmGfAmCfUmGfGmAsfAsmG	65
G033-30	UGUAAACAUCmCmUmGsmCmGmAmCmUmGGAsfAsmA	644
G034-30	UGUAAACAUCmCmUmGymCmGmAmCmUmGGAsfAsmA	66
G035-30	mUsmGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGAsfAsmG	67
G038-30	UGUAAACAUCmCmUsmGmCmGmAmCmUmGGsAsmA	645
G039-30	fUmGUAAACAfUmCfCmUfCmGfAmCfUmGfGmAsfAsmG	68
G042-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUfCmGfAmCfUmGfGmAsfAsmG	69
G056-30	UGUAAACAUCmCmUsmGsmCmGmAmCmUmGGsAsmA	70
G057-30	UGUAAACAUCmCmUymGmCmGmAmCmUmGGsAsmA	71
G058-30	UGUAAACAUCfCmCfUmGfCmGfAmCfUGGsAsmA	72
G059-30	UGUAAACAUCfCmCfUmGmCfGmAfCmUGGsAsmA	73
G060-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUGGsAsmA	74
G067-30	UGUAAACAUCmCmUmsGmCmGmAmCmUmGGsAsmA	75
G068-30	UGUAAACAUCmCmUmGmsCmGmAmCmUmGGAsfAsmA	76
G069-30	UGUAAACAUCmCmUmAmCmAmCmUmCAGsfCsmU	77
G070-30	UGUAAACAUCmCmCmCmGmAmCmUmGGAsfAsmG	78
G071-30	UGUAAACAUCmCmCmGmCmGmAmCmUmGGAsfAsmG	79
G072-30	mUsmGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGmAsfAsmG	80
G073-30	mUsmGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGmAsfAsmG	81
G074-30	mUsmGsmUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGmAsfAsmG	82
G095-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCmAmGGApfApmG	646
G096-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCmAGGApfApmG	647
G097-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCAGGApfApmG	648
G098-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCmAmGGApfApmG	649
G099-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCmAGGApfApmG	650
G100-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCAGGApfApmG	651
G101-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmGmAmCmAmGGApfApmG	652
G102-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmGmAmCmAGGApfApmG	653
G103-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmGmAmCAGGApfApmG	654
G104-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	655
G105-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	656
G106-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	657
G107-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	658
G108-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	659
G109-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	660
G110-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	661
G111-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	662
G112-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmAmCmUGGpfApmA	663
G113-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmAmCmUmGGApfApmG	664
G114-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmAmCmUGGApfApmG	665
G115-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmAmCmUGGApfApmG	666
G116-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmAmCmUmGGApfApmG	667

10

20

30

40

50

G117-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmAmCmUGGApfApmG	668
G118-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmAmCUGGApfApmG	669
G119-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmAmCmUmGGApfApmG	670
G120-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmAmCmUGGApfApmG	671
G121-30	fUmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUfCmGfAmCfUmGfGmAdAymG	83
G122-30	fUmGfUAAACAfUmCfCmUfCGACUGfGmAsfAsmG	84
G123-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmAmCUGGApfApmG	672
G124-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmAmUmGGApfApmG	673
G125-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmAmUGGApfApmG	674
G126-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmAUGGApfApmG	675
G127-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAmUmGGApfApmG	676
G128-30	OMe-dTmGfUmAfAmAfCmAfUmCfCmUmGfCmGfAmCfUmGfGmAsfAsmG	85
G129-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUmGGAsfAsmG	86
G130-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGAAG	87
G131-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAmUGGApfApmG	677
G132-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGAsfAsmG	88
G133-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGAA	89
G134-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAUGGApfApmG	678
G135-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAmUmGGApfApmG	679
G136-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAmUGGApfApmG	680
G137-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAUGGApfApmG	681
G138-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmAmGGApfApmG	682
G139-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmAGGApfApmG	683
G140-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCAGGApfApmG	684
G141-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmAmGGApfApmG	685
G142-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmAGGApfApmG	686
G143-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCAGGApfApmG	687
G144-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmAmGGApfApmG	688
G145-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmAGGApfApmG	689
G146-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCAGGApfApmG	690
G147-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmAmGGApfApmG	691
G148-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmAGGApfApmG	692
G149-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCAGGApfApmG	693
G150-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAmGGApfApmG	694
G151-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAGGApfApmG	695
G152-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCAGGApfApmG	696
G153-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAmGGApfApmG	697
G154-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmAGGApfApmG	698
G155-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCAGGApfApmG	699
G156-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmCAGpfCpmU	700
G157-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUCAGpfCpmU	701
G158-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCUCAGpfCpmU	702
G159-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUmCAGpfCpmU	703
G160-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUCAGpfCpmU	704
G161-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCUCAGpfCpmU	705
G162-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUmCAGpfCpmU	706
G163-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUCAGpfCpmU	707
G164-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCUCAGpfCpmU	708
G165-30	UGUAAACAUCmCmCmUmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	709

10

20

30

40

50

G166-30	UGUAAACAUCmCmCmUmCmAmCmUmCUCApfGpmC	710
G167-30	UGUAAACAUCmCmCmUmCmAmCmUCUCApfGpmC	711
G168-30	UGUAAACAUmCmCmCmUmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	712
G169-30	UGUAAACAUmCmCmCmUmCmAmCmUmCUCApfGpmC	713
G170-30	UGUAAACAUmCmCmCmUmCmAmCmUCUCApfGpmC	714
G171-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	715
G172-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmCmAmCmUmCUCApfGpmC	716
G173-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmCmAmCmUCUCApfGpmC	717
G174-30	UGUAAACAUCmCmCmUmCmAmCmUmCAGpfCpmU	718
G175-30	UGUAAACAUCmCmCmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	719
G176-30	UGUAAACAUCmCmCmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	720
G177-30	UGUAAACAUmCmCmCmUmCmAmCmUmCAGpfCpmU	721
G178-30	UGUAAACAUmCmCmCmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	722
G179-30	UGUAAACAUmCmCmCmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	723
G180-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmCmAmCmUmCAGpfCpmU	724
G181-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	725
G182-30	UGUAAACAmUmCmCmCmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	726
G183-30	UGUAAACAUCmCmCmAmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	727
G184-30	UGUAAACAUCmCmCmAmCmAmCmUmCUCApfGpmC	728
G185-30	UGUAAACAUCmCmCmAmCmAmCmUCUCApfGpmC	729
G186-30	UGUAAACAUmCmCmCmAmCmAmCmUmCUCApfGpmC	730
G187-30	UGUAAACAUmCmCmCmAmCmAmCmUmCUCApfGpmC	731
G188-30	UGUAAACAUmCmCmCmAmCmAmCmUCUCApfGpmC	732
G189-30	UGUAAACAmUmCmCmCmAmCmAmCmUmCUCApfGpmC	733
G190-30	UGUAAACAmUmCmCmCmAmCmAmCmUmCUCApfGpmC	734
G191-30	UGUAAACAmUmCmCmCmAmCmAmCmUCUCApfGpmC	735
G192-30	UGUAAACAUCmCmCmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	736
G193-30	UGUAAACAUCmCmCmAmCmAmCmUCAGpfCpmU	737
G194-30	UGUAAACAUCmCmCmAmCmAmCmUCAGpfCpmU	738
G195-30	UGUAAACAUmCmCmCmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	739
G196-30	UGUAAACAUmCmCmCmAmCmAmCmUCAGpfCpmU	740
G197-30	UGUAAACAUmCmCmCmAmCmAmCmUCAGpfCpmU	741
G198-30	UGUAAACAmUmCmCmCmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	742
G199-30	UGUAAACAmUmCmCmCmAmCmAmCmUCAGpfCpmU	743
G200-30	UGUAAACAmUmCmCmCmAmCmAmCmUCAGpfCpmU	744
G201-30	UGUAAACAUCmCmUmUmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	745
G202-30	UGUAAACAUCmCmUmUmCmAmCmUmCUCApfGpmC	746
G203-30	UGUAAACAUCmCmUmUmCmAmCmUCUCApfGpmC	747
G204-30	UGUAAACAUmCmCmUmUmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	748
G205-30	UGUAAACAUmCmCmUmUmCmAmCmUmCUCApfGpmC	749
G206-30	UGUAAACAUmCmCmUmUmCmAmCmUCUCApfGpmC	750
G207-30	UGUAAACAmUmCmCmUmUmCmAmCmUmCmUCApfGpmC	751
G208-30	UGUAAACAmUmCmCmUmUmCmAmCmUmCUCApfGpmC	752
G209-30	UGUAAACAmUmCmCmUmUmCmAmCmUCUCApfGpmC	753
G210-30	UGUAAACAUCmCmUmUmCmAmCmUmCAGpfCpmU	754
G211-30	UGUAAACAUCmCmUmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	755
G212-30	UGUAAACAUCmCmUmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	756
G213-30	UGUAAACAUmCmCmUmUmCmAmCmUmCAGpfCpmU	757
G214-30	UGUAAACAUmCmCmUmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	758
G215-30	UGUAAACAUmCmCmUmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	759
G216-30	UGUAAACAmUmCmCmUmUmCmAmCmUmCAGpfCpmU	760
G217-30	UGUAAACAmUmCmCmUmUmCmAmCmUCAGpfCpmU	761

10

20

30

40

50

G218-30	UGUAAACAmUmCmCmUmUmCmAmCUCAGpfCpmU	762
G219-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUmCmUCApfGpmC	763
G220-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUmCUCApfGpmC	764
G221-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUCUCApfGpmC	765
G222-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmUmCmUCApfGpmC	766
G223-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmUmCUCApfGpmC	767
G224-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmUCUCApfGpmC	768
G225-30	UGUAAACAmUmCmCmUmCmGmAmCmUmCmUCApfGpmC	769
G226-30	UGUAAACAmUmCmCmUmCmGmAmCmUmCUCApfGpmC	770
G227-30	UGUAAACAmUmCmCmUmCmGmAmCmUCUCApfGpmC	771
G228-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUmCAGpfCpmU	772
G229-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCmUCAGpfCpmU	773
G230-30	UGUAAACAUCmCmUmCmGmAmCUCAGpfCpmU	774
G231-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmUmCAGpfCpmU	775
G232-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCmUCAGpfCpmU	776
G233-30	UGUAAACAUmCmCmUmCmGmAmCUCAGpfCpmU	777
G234-30	UGUAAACAmUmCmCmUmCmGmAmCmUmCAGpfCpmU	778
G235-30	UGUAAACAmUmCmCmUmCmGmAmCmUCAGpfCpmU	779
G236-30	UGUAAACAmUmCmCmUmCmGmAmCUCAGpfCpmU	780
G237-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCmUmGGApfApmG	781
G238-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCmUGGApfApmG	782
G239-30	UGUAAACAUCmCmCmUmGmAmCUGGApfApmG	783
G240-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmAmCmUmGGApfApmG	784
G241-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmAmCmUGGApfApmG	785
G242-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmAmCUGGApfApmG	786
G243-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmAmCmUmGGApfApmG	787
G244-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmAmCmUGGApfApmG	788
G245-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmAmCUGGApfApmG	789
G246-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGUpfApmA	790
G247-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUGGUpfApmA	791
G248-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCUGGUpfApmA	792
G249-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGUpfApmA	793
G250-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUGGUpfApmA	794
G251-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCUGGUpfApmA	795
G252-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmCmUmGGUpfApmA	796
G253-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmCmUGGUpfApmA	797
G254-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmCUGGUpfApmA	798
G255-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUmAGGpfApmA	799
G256-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCmUAGGpfApmA	800
G257-30	UGUAAACAUCmCmUmGmCmGmAmCUAGGpfApmA	801
G258-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUmAGGpfApmA	802
G259-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCmUAGGpfApmA	803
G260-30	UGUAAACAUmCmCmUmGmCmGmAmCUAGGpfApmA	804
G261-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmCmUmAGGpfApmA	805
G262-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmCmUAGGpfApmA	806
G263-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmCmGmAmCUAGGpfApmA	807
G264-30	UGUAAACAUCmCmCmGmUmGmAmCmAmGGApfApmG	808
G265-30	UGUAAACAUCmCmCmGmUmGmAmCmAGGApfApmG	809
G266-30	UGUAAACAUCmCmCmGmUmGmAmCAGGApfApmG	810
G267-30	UGUAAACAUmCmCmCmGmUmGmAmCmAmGGApfApmG	811
G268-30	UGUAAACAUmCmCmCmGmUmGmAmCmAGGApfApmG	812
G269-30	UGUAAACAUmCmCmCmGmUmGmAmCAGGApfApmG	813

10

20

30

40

50

G270-30	UGUAAACAmUmCmCmCmGmUmGmAmCmAmGGApfApmG	814
G271-30	UGUAAACAmUmCmCmCmGmUmGmAmCmAmAGGApfApmG	815
G272-30	UGUAAACAmUmCmCmCmGmUmGmAmCmAmCAGGApfApmG	816
G273-30	UGUAAACAUCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	817
G274-30	UGUAAACAUCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	818
G275-30	UGUAAACAUCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	819
G276-30	UGUAAACAUCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	820
G277-30	UGUAAACAUCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	821
G278-30	UGUAAACAUCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	822
G279-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	823
G280-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	824
G281-30	UGUAAACAmUmCmCmUmGmAmCmAmCmUmCAGpfCpmU	825
P008-30	アミ / C6-mCmUmGGGAGGUGGAUGUUUACmUmUmC	90
P009-30	アミ / C6-mCmUmUUCAGUCAGAUGUUUGCmUmGmC	91
P010-30	アミ / C6-mUsmCsmCAGUCmGmAGGAUGUUUmAsmCsmA	92
P011-30	アミ / C6-mUsmCsmCAGUmCmGmAmGGAUGUUUmAsmCsmA	93
P013-30	アミ / C6-mUsmCsmCAGUmCmGmAmGmGmAmUmGmUmUmUmAsmCs mA	94
P014-30	アミ / C6-mUmCmCAGUCGGAUGUUUmAmCmA	95
P015-30	アミ / C6-mUsmCsmCAGUmCfGmAmGGAUGUUUmAsmCsmA	900
P123-30	アミ / C6-mUmCmCAGUCGAGGAUGUUUmAmCmA	96
P126-30	アミ / C6-mUmCmCAGUCGAGGAUGUUUmAmCmA	97
P128-30	アミ / C6-mCmCmAGUCGAGGAUGUUUmAmCmA	98
P131-30	アミ / C6-mCmCmAGUCGAGGAUGUUUmAmCmA	99
G001-29	UAGCACCAUCUGAAAAGCAGUGUU	100
G002-29	UAGCACCAUCUGAAAUCAGUGU	101
G003-29	UAGCACCAUCUGAAAUCAGUGUU	102
G004-29	UAGCACCAUUUGAAGGUCAGUGUU	103
G005-29	UAGCACCAUUUGAAGGUCAGUGU	104
G006-29	UAGCACCAUCUGAAGGUCAGUGUU	105
G007-29	UAGCACCAUCUGAAGGUCAGUGU	106
G008-29	UAGCACCAUCUGAAGGCAGUGU	107
G013-29	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGU	108
G019-29	UAGCACCAUCUGAAGGCAGUGUU	109
G020-29	UAGCACCAUCUGAAGGUCAGUGUU	110
G021-29	UAGCACCAUUUGAAAAGCAGUGU	111
G022-29	UAGCACCAUUUGAAAAGCAGUGUU	112
G023-29	UAGCACCAUUUGAAAAGUCAGU	113
G024-29	UAGCACCAUUUGAAAAGUCAGUGU	114
G025-29	UAGCACCAUUUGAAGGCAGUGU	115
G026-29	UAGCACCAUUUGAAGGUCAGUG	116
G027-29	UAGCACCAUUUGAAGGUCAGUGUU	117
G028-29	UAGCACCAUUUGAAGGUCAGUGU	118
G029-29	UAGCACCAUUUGAAAAGUCAGUGUU	119
G030-29	UAGCACCAUUUGAAAAGUCAGUG	120
G031-29	UAGCACCAUUUGAAGGCAGUGUU	121
G032-29	UAGCACCAUCUGAAGGUCAGUG	122

10

20

30

40

50

G033-29	UAGCACCAUCUGAAGGUCAGU	123
G034-29	UAGCACCAUCUGAAGUCAGUGU	124
G035-29	UAGCACCAUCUGAAAGCAGUGU	125
G036-29	UAGCACCAUCUGAAAGCAGUG	126
P001-29	ACUGAUUUUCUUUUGGUGUUAG	155
P002-29	ACCGAUUUUCUUUUGGUGUUA	156
P003-29	ACCGAUUUUCAGAUGGUGUUA	157
P010-29	CGCUGGUUUCAUAUGGUGUUAGA	158
P015-29	GCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUA	159
P016-29	GCUGGUUUUCAGAUGGUGGUUUA	160
P017-29	GCUGGUUUUCAGAUGGUGUUA	161
P018-29	ACUGAUUUUCAGAUGGUGUUA	162
P019-29	CACUGAUUUUCAGAUGGUGUUA	163
P020-29	CACUGACUUUCAGAUGGUGUUA	164
P021-29	ACUGACUUUCAGAUGGUGUUA	165
P022-29	ACUGACCUUCAGAUGGUGUUA	166
P023-29	CUGACUUUCAGAUGGUGUUA	167
P024-29	ACUGCUUUUCAGAUGGUGUUA	168
P025-29	ACUGACUUCAGAUGGUGUUA	169
G009-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfUmUfGmAfAmAfUmCfAmGfUmGyfUymU	127
G010-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmAfUmCfAmGfUmGyfUymU	128
G011-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmGfUmCfAmGfUmGyfUymU	129
G012-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmGfGmCfAmGfUymGyfU	130
G014-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmGfUmCfAmGfUymGyfU	131
G015-29	UAGCACCAUUmUmGmAmAmAmUmCmAmGUGyfUymU	620
G016-29	UAGCACCAUCmUmGmAmAmAmUmCmAmGUGyfUymU	835
G017-29	UAGCACCAUCmUmGmAmAmGmGmUmCmAGUyfGymU	836
G018-29	UAGCACCAUCmUmGmAmAmGmGmCmAmGUGyfGymU	837
G037-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfUmUfGmAfAmAfUmCfAmGfUmGsUsmU	132
G038-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmAfUmCfAmGfUmGsUsmU	133
G039-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmGfUmCfAmGfUmGsUsmU	134
G040-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmGfGmCfAmGfUsmGsUfU	135
G041-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmGfUmCfAmGfUsmGsUfU	136
G042-29	UAGCACCAUmUmUmGmAmAmGmGmUmCAGUGU	137
G043-29	UAGCACCAUmUmUmGmAmAmGmGmUmCAGUsfGsmU	138
G044-29	UAGCACCAUmUmUmGmAmAmGmGmUCAGUG	139
G045-29	UAGCACCAUmUmUmGmAmAmGmGmUCAGsfUsmG	140
G046-29	UAGCACCAUmCmUmGmAmAmGmGmUmCAGUsfGsmU	141
G047-29	UAGCACCAUmCmUmGmAmAmGmGmUCAGsfUsmG	142
G048-29	UAGCACCAUmUmUmGmAmAmAmUmCAGUGUU	143
G049-29	UAGCACCAUmUmUmGmAmAmAmUmCAGUGsfUsmU	144
G050-29	UAGCACCAUmCmUmGmAmAmAmUmCAGUGUU	145

10

20

30

40

50

G051-29	UAGCACCAUmCmUmGmAmAmAmUmCAGUGsfUsmU	146
G052-29	UAGCACCAUmCmUmGmAmAmGmUmCAGUGUU	147
G053-29	UAGCACCAUmCmUmGmAmAmGmUmCAGUGsfUsmU	148
G054-29	UAGCACCAUmUfUmGfAmAfAmUfCAGUGsfUsmU	149
G055-29	UAGCACCAUmCfUmGfAmAfAmUfCAGUGsfUsmU	150
G056-29	UAGCACCAUmCfUmGfAmAfGmUfCAGUGsfUsmU	151
G057-29	UAGCACCAUmCfUmGfAmAfGmGfCAGUsgsmU	152
G058-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfUmUfGmAfAmAfUmCfAmGfUsmGs fU	153
G059-29	mUfAmGfCmAfCmCfAmUfCmUfGmAfAmAfUmCfAmGfUsmGs fU	154
P004-29	アミ / C6-mGmCmUGGUUUCAUAUGGUGGUmUmUmA	170
P005-29	アミ / C6-mGmCmUGGUUUCAGAUGGUGGUmUmUmA	171
P006-29	アミ / C6-mGmCmUGGUUUCAGAUGGUGmUmUmA	172
P007-29	アミ / C6-mAmCmUGAUUUCAGAUGGUGmUmUmA	173
P008-29	アミ / C6-mAmCmCGAUUUCUUUUGGUGmUmUmA	174
P009-29	アミ / C6-mAmCmCGAUUUCAGAUGGUGmUmUmA	175
P011-29	アミ / C6-mCmAmCUGAUUUCAGAUGGUGmUmUmA	176
P012-29	アミ / C6-mCmAmCmUGAUUUCAGAUmGGmUGmUmUmA	838
P013-29	アミ / C6-mAmCmUGACUUUCAGAUGGUGmUmUmA	177
P014-29	アミ / C6-mCmAmCmUGCUUUCAGAUGGUGmUmUmA	839
P026-29	アミ / C6-mCmAmCUGAUUUCAGAUGGUGmUmUA	178
P027-29	アミ / C6-mCmAmCUGACUUCAGAUGGUGmUmUmA	179
P028-29	アミ / C6-mAmCmUGACCUUCAGAUGGUGmUmUmA	180
P029-29	アミ / C6-mCmUmGACUUUCAGAUGGUGmUmUmA	181
P030-29	アミ / C6-mAmCmUGCUUUCAGAUGGUGmUmUmA	182
P031-29	アミ / C6-mAmCmUGACUUCAGAUGGUGmUmUmA	183
G001-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAmUmAGGsfCsmU	184
G002-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGmAmUAGsfGsmU	185
G003-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAmUAGGsfCsmU	186
G004-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAUAGGsfCsmU	187
G005-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAmUmAGGsfCsmU	188
G006-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAmUAGGsfCsmU	189
G007-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAUAGGsfCsmU	190
G008-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAmUmAGGsfCsmU	191
G009-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAmUAGGsfCsmU	192
G010-26	UUCAAGUAAUmCmCmAmGmGmAUAGGsfCsmU	193
G011-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGmAUAGsfGsmU	194
G012-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGAUAGsfGsmU	195
G013-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGmAmUAGsfGsmU	196
G014-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGmAUAGsfGsmU	197
G015-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGAUAGsfGsmU	198
G016-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGmAmUAGsfGsmU	199
G017-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGmAUAGsfGsmU	200
G018-26	UUCAAGUAAUmUmCmAmGmGAUAGsfGsmU	201
P001-26	アミ / C6-mCmCmUAUUCUUGGUUACUUGCmAmCmG	202
P002-26	アミ / C6-mCmCmUAUUCUUGAUUACUUGUmUmUmC	203
P003-26	アミ / C6-mCmCmUGUUCUCCAUAUACUUGGmCmUmC	204

10

20

30

40

50

G002-27	AGGGCUUAGCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	205
G003-27	AGGGCUUAGCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	206
G004-27	AGGGCUUAGCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	207
G005-27	AGGGCUUAGmCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	208
G006-27	AGGGCUUAGmCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	209
G007-27	AGGGCUUAGmCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	210
G008-27	AGGGCUUAmGmCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	211
G009-27	AGGGCUUAmGmCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	212
G010-27	AGGGCUUAmGmCmUmGmCmUmUmGmUmGAGsfCsmA	213
G011-27	AGAGCUUAGCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	214
G012-27	AGAGCUUAGCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	215
G013-27	AGAGCUUAGCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	216
G014-27	AGAGCUUAGmCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	217
G015-27	AGAGCUUAGmCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	218
G016-27	AGAGCUUAGmCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	219
G017-27	AGAGCUUAmGmCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	220
G018-27	AGAGCUUAmGmCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	221
G019-27	AGAGCUUAmGmCmUmGmAmUmUmGmGmUGAsfAsmC	222
P001-27	アミノ C6-mUmUmCACAGUGGCUAAGUUCmCmGmC	223
P002-27	アミノ C6-mUmUmCACAGUGGCUAAGUUCmUmGmC	224
G001-101	UACAGUACUGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	225
G002-101	UACAGUACUGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	226
G003-101	UACAGUACUGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	227
G004-101	UACAGUACUmGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	228
G005-101	UACAGUACUmGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	229
G006-101	UACAGUACUmGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	230
G007-101	UACAGUACmUmGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	231
G008-101	UACAGUACmUmGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	232
G009-101	UACAGUACmUmGmUmGmAmUmAmAmCUGsfAsmA	233
P001-101	アミノ C6-mCmAmGUUAUCACAGUGCUGAUmGmCmU	234
G001-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	235
G002-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	236
G003-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	237
G004-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	238
G005-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	239
G006-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	240
G007-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	241
G008-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	242
G009-145	GUCCAGUUUmCmCmCmAmGmGmAmAmUCCsfCsmU	243
P001-145	アミノ C6-mGmGmAUUCCUGGAAAUACUGUmUmCmU	244
G001-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	245
G002-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUCUG	246
G003-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUCUG	247
G004-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	248
G005-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	249
G006-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	250
G007-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	251
G008-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	252
G009-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	253
G010-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUCUG	254
G011-205	UCCUUCAUACCCACCGGAGUGUG	255

10

20

30

40

50

G012-205	UCCUUCAUCUCCACCGGAGUGCU	256
G013-205	UCCUUCAUCUCCACCGGAGUGUG	257
G014-205	UCCUUCAUCUCCUCCGGAGUGCU	258
G015-205	UCCUUCAUCCACCGGAGUGCUG	259
G016-205	UCCUUCAUCCACCGGAGUGUG	260
G017-205	UCCUUCAUCCAUCGGAGUGCUG	261
G018-205	UCCUUCAUCCUCCGGAGUCUG	262
G019-205	UCCUUCAUCCUCCGGAGUGUG	263
G200-205	UCCUUCAUACCACCGGAGUCUG	840
G201-205	UCCUUCAUCCACCGGAGUCUG	841
G202-205	UCCUUCAUAUCCACCGGAGUCUG	842
G203-205	UCCUUCAUCUCCACCGGAGUCUG	843
G204-205	UCCUUCAUCACCACCGGAGUCUG	844
G205-205	UCCUUCAUAUCCUCCGGAGUCUG	845
G020-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	264
G021-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	265
G022-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	266
G023-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	267
G024-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	268
G025-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	269
G026-205	UCCUUCAUmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	270
G027-205	UCCUUCAUmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	271
G028-205	UCCUUCAUmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	272
G029-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	273
G030-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	274
G031-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	275
G032-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	276
G033-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	277
G034-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	278
G035-205	UCCUUCAUmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	279
G036-205	UCCUUCAUmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	280
G037-205	UCCUUCAUmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	281
G038-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	282
G039-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	283
G040-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	284
G041-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	285
G042-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	286
G043-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	287
G044-205	UCCUUCAUmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	288
G045-205	UCCUUCAUmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	289
G046-205	UCCUUCAUmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	290
G047-205	UCCUUCAUACmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	291
G048-205	UCCUUCAUACmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	292
G049-205	UCCUUCAUACmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	293
G050-205	UCCUUCAUAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	294
G051-205	UCCUUCAUAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	295
G052-205	UCCUUCAUAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	296
G053-205	UCCUUCAUmAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	297
G054-205	UCCUUCAUmAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	298
G055-205	UCCUUCAUmAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	299
G056-205	UCCUUCAUACmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	300

10

20

30

40

50

G057-205	UCCUUCAUACmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	301
G058-205	UCCUUCAUACmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	302
G059-205	UCCUUCAUAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	303
G060-205	UCCUUCAUAmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	304
G061-205	UCCUUCAUAmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	305
G062-205	UCCUUCAUmAmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	306
G063-205	UCCUUCAUmAmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	307
G064-205	UCCUUCAUmAmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	308
G065-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	309
G066-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	310
G067-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	311
G068-205	UCCUUCAUAmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	312
G069-205	UCCUUCAUAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	313
G070-205	UCCUUCAUAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	314
G071-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	315
G072-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	316
G073-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	317
G074-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	318
G075-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	319
G076-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	320
G077-205	UCCUUCAUAmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	321
G078-205	UCCUUCAUAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	322
G079-205	UCCUUCAUAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	323
G080-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	324
G081-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	325
G082-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	326
G083-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	327
G084-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	328
G085-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	329
G086-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	330
G087-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	331
G088-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	332
G089-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	333
G090-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	334
G091-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	335
G092-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	336
G093-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	337
G094-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	338
G095-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	339
G096-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	340
G097-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	341
G098-205	UCCUUCAUAmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	342
G099-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	343
G100-205	UCCUUCAUmAmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	344
G101-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	345
G102-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	346
G103-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	347
G104-205	UCCUUCAUCmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	348
G105-205	UCCUUCAUCmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	349
G106-205	UCCUUCAUCmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	350

10

20

30

40

50

G107-205	UCCUUCAUmCmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	351
G108-205	UCCUUCAUmCmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	352
G109-205	UCCUUCAUmCmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	353
G110-205	UCCUUCAUCCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	354
G111-205	UCCUUCAUCCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	355
G112-205	UCCUUCAUCCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	356
G113-205	UCCUUCAUCmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	357
G114-205	UCCUUCAUCmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	358
G115-205	UCCUUCAUCmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	359
G116-205	UCCUUCAUmCmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	360
G117-205	UCCUUCAUmCmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	361
G118-205	UCCUUCAUmCmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	362
G119-205	UCCUUCAUCCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	363
G120-205	UCCUUCAUCCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	364
G121-205	UCCUUCAUCCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	365
G122-205	UCCUUCAUCmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	366
G123-205	UCCUUCAUCmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	367
G124-205	UCCUUCAUCmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	368
G125-205	UCCUUCAUmCmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	369
G126-205	UCCUUCAUmCmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	370
G127-205	UCCUUCAUmCmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	371
G128-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	372
G129-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	373
G130-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	374
G131-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	375
G132-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	376
G133-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	377
G134-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	378
G135-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	379
G136-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	380
G137-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	381
G138-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	382
G139-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	383
G140-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	384
G141-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	385
G142-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	386
G143-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	387
G144-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	388
G145-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	389
G146-205	UCCUUCAUCUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	390
G147-205	UCCUUCAUCUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	391
G148-205	UCCUUCAUCUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	392
G149-205	UCCUUCAUCUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	393
G150-205	UCCUUCAUCUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	394
G151-205	UCCUUCAUCUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	395
G152-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfCsmU	396
G153-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	397
G154-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfCsmU	398
G155-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	399
G156-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	400
G157-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAGUGCsfUsmG	401
G158-205	UCCUUCAUUmCmCmAmCmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	402

10

20

30

40

50

G159-205	UCCUUCAUUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	403
G160-205	UCCUUCAUUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGCsfUsmG	404
G161-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	405
G162-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	406
G163-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGCsfUsmG	407
G164-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	408
G165-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	409
G166-205	UCCUUCAUUCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	410
G167-205	UCCUUCAUUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	411
G168-205	UCCUUCAUUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	412
G169-205	UCCUUCAUUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	413
G170-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	414
G171-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	415
G172-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	416
G173-205	UCCUUCAUUCmCmAmUmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	417
G174-205	UCCUUCAUUCmCmAmUmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	418
G175-205	UCCUUCAUUCmCmAmUmCmGmGmAGUGCsfUsmG	419
G176-205	UCCUUCAUUmCmCmAmUmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	420
G177-205	UCCUUCAUUmCmCmAmUmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	421
G178-205	UCCUUCAUUmCmCmAmUmCmGmGmAGUGCsfUsmG	422
G179-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmUmCmGmGmAmGmUGCsfUsmG	423
G180-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmUmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	424
G181-205	UCCUUCAUUmUmCmCmAmUmCmGmGmAGUGCsfUsmG	425
G182-205	UCCUUCAUUCmCmUmCmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	426
G183-205	UCCUUCAUUCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	427
G184-205	UCCUUCAUUCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	428
G185-205	UCCUUCAUUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGCsfUsmG	429
G186-205	UCCUUCAUUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	430
G187-205	UCCUUCAUUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	431
G188-205	UCCUUCAUUmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCsfUsmG	432
G189-205	UCCUUCAUUmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	433
G190-205	UCCUUCAUUmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCsfUsmG	434
G191-205	UCCUUCAUUCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	435
G192-205	UCCUUCAUUCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	436
G193-205	UCCUUCAUUCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	437
G194-205	UCCUUCAUUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	438
G195-205	UCCUUCAUUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	439
G196-205	UCCUUCAUUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	440
G197-205	UCCUUCAUUmUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUGsfUsmG	441
G198-205	UCCUUCAUUmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	442
G199-205	UCCUUCAUUmUmCmCmUmCmCmGmGmAGUGsfUsmG	443
G206-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	846
G207-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	847
G208-205	UCCUUCAUACmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	848
G209-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	849
G210-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	850
G211-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	851
G212-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	852
G213-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	853
G214-205	UCCUUCAUAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	854

10

20

30

40

50

G215-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	855
G216-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	856
G217-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	857
G218-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	858
G219-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	859
G220-205	UCCUUCAUCCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	860
G221-205	UCCUUCAUmCmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	861
G222-205	UCCUUCAUmCmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	862
G223-205	UCCUUCAUmCmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	863
G224-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	864
G225-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	865
G226-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	866
G227-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	867
G228-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	868
G229-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	869
G230-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	870
G231-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	871
G232-205	UCCUUCAUAUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	872
G233-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	873
G234-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	874
G235-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	875
G236-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	876
G237-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	877
G238-205	UCCUUCAUCUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	878
G239-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	879
G240-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	880
G241-205	UCCUUCAUmCmUmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	881
G242-205	UCCUUCAUCAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	882
G243-205	UCCUUCAUCAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	883
G244-205	UCCUUCAUCAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	884
G245-205	UCCUUCAUCAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	885
G246-205	UCCUUCAUCAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	886
G247-205	UCCUUCAUCAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	887
G248-205	UCCUUCAUmCmAmCmCmAmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	888
G249-205	UCCUUCAUmCmAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	889
G250-205	UCCUUCAUmCmAmCmCmAmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	890
G251-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	891
G252-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	892
G253-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	893
G254-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	894
G255-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	895
G256-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	896
G257-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAmGUCpfUpmG	897
G258-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	898
G259-205	UCCUUCAUAUmCmCmUmCmCmGmGmAGUCpfUpmG	899
P001-205	アミノ C6-mGmAmUUUCAGUGGAGUGAAGmUmUmC	444
G001-338	UCCAGCAUCAmGmUmGmAmUmUmUmUGUsfUsmG	445
G002-338	UCCAGCAUCAmGmUmGmAmUmUmUmUGUsfUsmG	446
G003-338	UCCAGCAUCAmGmUmGmAmUmUmUmUGUsfUsmG	447
G004-338	UCCAGCAUCAmGmUmGmAmUmUmUmUGUsfUsmG	448
G005-338	UCCAGCAUCAmGmUmGmAmUmUmUmUGUsfUsmG	449

10

20

30

40

50

G006-338	UCCAGCAUCmAmGmUmGmAmUmUUUGUsfUsmG	450
G007-338	UCCAGCAUmCmAmGmUmGmAmUmUmUmUGUsfUsmG	451
G008-338	UCCAGCAUmCmAmGmUmGmAmUmUmUUUGUsfUsmG	452
G009-338	UCCAGCAUmCmAmGmUmGmAmUmUUUGUsfUsmG	453
P001-338	アミノ C6-mAmAmCAAUAUCCUGGUGCUGAmGmUmG	454
G001-375	UUUGUUCGUUmCmGmGmCmUmCmGmCGUsfGsmA	455
G002-375	UUUGUUCGUUmCmGmGmCmUmCmGCGUsfGsmA	456
G003-375	UUUGUUCGUUmCmGmGmCmUmCGCGUsfGsmA	457
G004-375	UUUGUUCGUUmUmCmGmGmCmUmCmGmCGUsfGsmA	458
G005-375	UUUGUUCGUUmUmCmGmGmCmUmCmGCGUsfGsmA	459
G006-375	UUUGUUCGUUmUmCmGmGmCmUmCGCGUsfGsmA	460
G007-375	UUUGUUCGmUmUmCmGmGmCmUmCmGmCGUsfGsmA	461
G008-375	UUUGUUCGmUmUmCmGmGmCmUmCmGCGUsfGsmA	462
G009-375	UUUGUUCGmUmUmCmGmGmCmUmCGCGUsfGsmA	463
P001-375	アミノ C6-mGmCmGACGAGCCCCUCGCACAAmAmCmC	464
G001-E1	UUGAGAAGGAGGCUGCUGAGA	465
P001-E1	UCAGCAGCCUCCUUCUAA	466

10

20

30

40

50

【 0 0 2 3 】

【表 4】

表4-模倣体/模倣体組成物

模倣体名称	ガイド鎖	パッセンジャー鎖
M30-021	G039-30 (配列番号67)	P014-30 (配列番号95)
M30-025	G032-30 (配列番号65)	P014-30 (配列番号95)
M30-033	G042-30 (配列番号69)	P014-30 (配列番号95)
M30-034	G042-30 (配列番号69)	P123-30 (配列番号96)
M30-035	G121-30 (配列番号83)	P123-30 (配列番号96)
M30-036	G122-30 (配列番号84)	P123-30 (配列番号96)
M30-037	G011-30 (配列番号55)	P123-30 (配列番号96)
M30-038	G121-30 (配列番号83)	P014-30 (配列番号95)
M30-039	G039-30 (配列番号67)	P123-30 (配列番号96)
M30-040	G032-30 (配列番号65)	P123-30 (配列番号96)
M30-042	G128-30 (配列番号85)	P123-30 (配列番号96)
M30-043	G129-30 (配列番号86)	P123-30 (配列番号96)
M30-044	G032-30 (配列番号65)	P126-30 (配列番号97)
M30-046	G130-30 (配列番号87)	P123-30 (配列番号96)
M30-047	G130-30 (配列番号87)	P126-30 (配列番号97)
M30-048	G132-30 (配列番号88)	P123-30 (配列番号96)
M30-049	G133-30 (配列番号89)	P131-30 (配列番号99)
M29-002	miR-29a-3p (配列番号12)	P009-29 (配列番号175)
M29-004	miR-29b-3p (配列番号13)	P004-29 (配列番号170)
M29-005	miR-29b-3p (配列番号13)	P005-29 (配列番号171)
M29-006	miR-29b-3p (配列番号13)	P006-29 (配列番号172)
M29-007	miR-29b-3p (配列番号13)	P007-29 (配列番号173)
M29-008	miR-29b-3p (配列番号13)	P011-29 (配列番号176)
M29-009	G013-29 (配列番号108)	P007-29 (配列番号173)
M29-010	G013-29 (配列番号108)	P006-29 (配列番号172)
M29-011	G003-29 (配列番号102)	P007-29 (配列番号173)
M29-012	G003-29 (配列番号102)	P011-29 (配列番号176)
M29-013	G004-29 (配列番号103)	P011-29 (配列番号176)
M29-014	G004-29 (配列番号103)	P007-29 (配列番号173)
M29-015	G005-29 (配列番号104)	P011-29 (配列番号176)
M29-016	G005-29 (配列番号104)	P007-29 (配列番号173)
M29-017	G006-29 (配列番号105)	P011-29 (配列番号176)
M29-018	G006-29 (配列番号105)	P007-29 (配列番号173)
M29-019	G007-29 (配列番号106)	P011-29 (配列番号176)
M29-020	G007-29 (配列番号106)	P007-29 (配列番号173)
M29-023	miR-29a-3p (配列番号12)	P008-29 (配列番号174)
M29-024	G009-29 (配列番号127)	P007-29 (配列番号173)

10

20

30

40

50

M29-025	G009-29 (配列番号127)	P011-29 (配列番号176)
M29-026	G009-29 (配列番号127)	P005-29 (配列番号171)
M29-027	G010-29 (配列番号128)	P007-29 (配列番号173)
M29-028	G010-29 (配列番号128)	P011-29 (配列番号176)
M29-029	G011-29 (配列番号129)	P007-29 (配列番号173)
M29-030	G011-29 (配列番号129)	P011-29 (配列番号176)
M29-031	G012-29 (配列番号130)	P007-29 (配列番号173)
M29-032	G012-29 (配列番号130)	P011-29 (配列番号176)
M29-033	G014-29 (配列番号131)	P007-29 (配列番号173)
M29-034	G014-29 (配列番号131)	P011-29 (配列番号176)
M29-035	G015-29 (配列番号620)	P011-29 (配列番号176)
M29-036	G015-29 (配列番号620)	P012-29 (配列番号838)
M29-037	G016-29 (配列番号835)	P011-29 (配列番号176)
M29-038	G016-29 (配列番号835)	P012-29 (配列番号838)
M29-039	G007-29 (配列番号106)	P013-29 (配列番号177)
M29-040	G017-29 (配列番号836)	P013-29 (配列番号177)
M29-041	G018-29 (配列番号837)	P014-29 (配列番号839)
E1-001	G001-E1 (配列番号465)	P001-E1 (配列番号466)

10

20

【 0 0 2 4 】

例えば、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 1 ～ 5、1 2 ～ 1 4、1 9 ～ 2 0、2 4 ～ 2 5、2 8、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8 ～ 4 5、5 2 ～ 8 9、1 0 0 ～ 1 5 4、1 8 4 ～ 2 0 1、2 0 5 ～ 2 2 2、2 2 5 ～ 2 3 3、2 3 5 ～ 2 4 3、2 4 5 ～ 4 4 3、4 4 5 ～ 4 5 3、4 5 5 ～ 4 6 3、4 6 5、6 2 0、6 2 4 ～ 8 2 5、8 3 5 ～ 8 3 7、8 4 0 ～ 8 9 9、および 9 0 1 ～ 9 4 9 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、少なくとも約 8 0 % の配列同一性を有し得る。例えば、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 1 ～ 5、1 2 ～ 1 4、1 9 ～ 2 0、2 4 ～ 2 5、2 8、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8 ～ 4 5、5 2 ～ 8 9、1 0 0 ～ 1 5 4、1 8 4 ～ 2 0 1、2 0 5 ～ 2 2 2、2 2 5 ～ 2 3 3、2 3 5 ～ 2 4 3、2 4 5 ～ 4 4 3、4 4 5 ～ 4 5 3、4 5 5 ～ 4 6 3、4 6 5、6 2 0、6 2 4 ～ 8 2 5、8 3 5 ～ 8 3 7、8 4 0 ～ 8 9 9、および 9 0 1 ～ 9 4 9 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、少なくとも約 9 0 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 1 ～ 5、1 2 ～ 1 4、1 9 ～ 2 0、2 4 ～ 2 5、2 8、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8 ～ 4 5、5 2 ～ 8 9、1 0 0 ～ 1 5 4、1 8 4 ～ 2 0 1、2 0 5 ～ 2 2 2、2 2 5 ～ 2 3 3、2 3 5 ～ 2 4 3、2 4 5 ～ 4 4 3、4 4 5 ～ 4 5 3、4 5 5 ～ 4 6 3、4 6 5、6 2 0、6 2 4 ～ 8 2 5、8 3 5 ～ 8 3 7、8 4 0 ～ 8 9 9、および 9 0 1 ～ 9 4 9 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、約 8 0 % ～ 1 0 0 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 1 ～ 5、1 2 ～ 1 4、1 9 ～ 2 0、2 4 ～ 2 5、2 8、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8 ～ 4 5、5 2 ～ 8 9、1 0 0 ～ 1 5 4、1 8 4 ～ 2 0 1、2 0 5 ～ 2 2 2、2 2 5 ～ 2 3 3、2 3 5 ～ 2 4 3、2 4 5 ～ 4 4 3、4 4 5 ～ 4 5 3、4 5 5 ～ 4 6 3、4 6 5、6 2 0、6 2 4 ～ 8 2 5、8 3 5 ～ 8 3 7、8 4 0 ～ 8 9 9、および 9 0 1 ～ 9 4 9 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、約 8 5 % ～ 1 0 0 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 1 ～ 5、1 2 ～ 1 4、1 9 ～ 2 0、2 4 ～ 2 5、2 8、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8 ～ 4 5、5 2 ～ 8 9、1 0 0 ～ 1 5 4、1 8 4 ～ 2 0 1、2 0 5 ～ 2 2 2、2 2 5 ～ 2 3 3、2 3 5 ～ 2 4 3、2 4 5 ～ 4 4 3、4 4 5 ～ 4 5 3、4 5 5 ～ 4 6 3、4 6 5、6 2 0、6 2 4 ～ 8 2 5、8 3 5 ～ 8 3 7、8 4 0 ～ 8 9 9、および 9 0 1 ～ 9 4 9 のいずれか 1 つの少なくとも約 1 0 個の連続した塩基に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有し得る

30

40

50

。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 1～5、12～14、19～20、24～25、28、30、32、34、36、38～45、52～89、100～154、184～201、205～222、225～233、235～243、245～443、445～453、455～463、465、620、624～825、835～837、840～899、および 901～949 のいずれか 1 つの少なくとも約 10 個の連続した塩基に対して少なくとも 85 % の配列同一性を有し得る。

【0025】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、配列番号 1～5、12～14、19～20、24～25、28、30、32、34、36、38～45、100～126、245～263、465、624～643、840～845、および 901～949、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか 1 つに対して、少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % の配列同一性を有し得る。

10

【0026】

いくつかの例では、第 2 の鎖は、配列番号 6～11、15～18、21～23、26～27、29、31、33、35、37、46～51、90～99、155～183、202～204、223～224、234～244、444、454、464、466、838～839、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか 1 つに対して、少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、第 2 の鎖は、配列番号 51、95～99、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか 1 つに対して、少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % の配列同一性を有し得る。

20

【0027】

例えば、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 587、配列番号 588、配列番号 589、配列番号 500、配列番号 513、配列番号 518、配列番号 476、配列番号 481 または配列番号 495 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、少なくとも約 80 % の配列同一性を有し得る。例えば、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 587、配列番号 588、配列番号 589、配列番号 500、配列番号 513、配列番号 518、配列番号 476、配列番号 481、または配列番号 495 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、少なくとも約 90 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 587、配列番号 588、配列番号 589、配列番号 500、配列番号 513、配列番号 518、配列番号 476、配列番号 481、または配列番号 495 のいずれか 1 つのオリゴヌクレオチドに対して、約 80 %～100 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 587、配列番号 588、配列番号 589、配列番号 500、配列番号 513、配列番号 518、配列番号 476、配列番号 481、または配列番号 495 のいずれか 1 つの少なくとも約 10 個の連続した塩基に対して、少なくとも約 80 % の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号 587、配列番号 588、配列番号 589、配列番号 500、配列番号 513、配列番号 518、配列番号 476、配列番号 481 または配列番号 495 のいずれか 1 つの少なくとも約 10 個の連続した塩基に対して、少なくとも 85 % の配列同一性を有し得る。

30

40

【0028】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約 37 °C および約 7.2 の pH で、RNA 配列への結合の少なくとも約 1 %、2 %、5 %、7 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、または 20 % 低いギブス自由エネルギー (ΔG) を有し得る。いくつかの例では、操作され

50

たオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 または 40 °C で RNA 配列に結合し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約 6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、または 7.8 の pH で RNA 配列と結合し得る。

【0029】

本明細書で使用される場合、「投与する」、「投与すること」、「投与」等の用語は、生物学的作用の所望の部位への化合物または組成物の送達を可能にするために使用し得る方法を意味し得る。送達は、身体の影響する組織または領域に直接適用することを含み得る。送達は、実質内注射、くも膜下腔内注射、心室内注射、または嚢内注射を含み得る。本明細書で提供される組成物は、あらゆる方法によって投与され得る。投与方法は、吸入、動脈内注射、脳室内注射、嚢内注射、筋肉内注射、眼窩内注射、実質内注射、腹腔内注射、髄腔内注射、くも膜下腔内注射、静脈内注射、脳室内注射、定位注射、皮下注射、またはこれらのあらゆる組み合わせによることが可能である。送達としては、非経口投与（静脈内、皮下、くも膜下腔内、腹腔内、筋肉内、血管内または注入を含む）、経口投与、吸入投与、十二指腸内投与、直腸投与等が挙げられる。送達は、皮膚等の表面の外表面への局所投与（ローション、クリーム、軟膏等）を含み得る。いくつかの例では、対象は、管理者が存在しない場合でも組成物を投与され得る。いくつかの例では、対象は、医療専門家（例えば、医師、看護師、医師助手、用務員、ホスピス職員等）の監督下で組成物を投与し得る。いくつかの例では、医療専門家が組成物を投与し得る。いくつかの例では、美容の専門家が組成物を投与し得る。

【0030】

「対象」、「宿主」、「個体」、および「患者」という用語は本明細書において互換的に使用され、動物、典型的には哺乳動物を意味する。あらゆる適切な哺乳動物は、本明細書に記載の組成物（例えば、操作されたオリゴヌクレオチド）を投与され得るか、または本明細書に記載の方法によって処置され得る。哺乳動物の非限定的な例としては、ヒト、非ヒト霊長類（例えば、類人猿、テナガザル、チンパンジー、オランウータン、サル、マカク等）、飼育動物（例えば、イヌおよびネコ）、家畜（例えば、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）および実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、モルモット）が挙げられる。哺乳動物は、あらゆる年齢またはあらゆる発達段階であってもよく、例えば、哺乳動物は、新生児、乳児、思春期、成人または子宮内胎児であってもよい。いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトであってもよい。ヒトは、約 1、2、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または 100 歳超であり得る。ヒトは、約 1、2、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または 100 歳未満であり得る。哺乳動物は、オスであってもメスであってもよい。いくつかの実施形態では、対象はヒトであり得る。いくつかの実施形態では、対象は、疾患または状態を有することが疑われている可能性がある。対象は、がん、線維症の状態、またはウイルス感染症患者等の状態または疾患の処置を受けている患者等であり得る。対象は、がん等の状態または疾患を発症する危険性がある素因を有している場合がある。対象は、がん患者等の状態または疾患から寛解している場合がある。対象は、健康であってもよい。

【0031】

「哺乳動物細胞」という用語は、あらゆる哺乳動物細胞、典型的には、ヒト細胞を意味し得る。いくつかの実施形態では、ヒト細胞は、頭頸部の細胞、皮膚細胞、子宮頸部細胞、前立腺細胞、幹細胞、骨細胞、血液細胞、筋肉細胞、脂肪細胞、神経細胞、内皮細胞、精子細胞、卵細胞、がん細胞、バリア細胞、ホルモン分泌細胞、外分泌細胞、上皮細胞、口腔細胞、感覚伝達細胞、自律神経細胞、末梢神経細胞、中枢神経細胞、分泌細胞、バリア細胞、筋肉細胞、心筋細胞、白血球細胞、生殖細胞、ナース細胞、腎細胞、またはそれらのあらゆる組み合わせであり得る。

【0032】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、がんとは、身体の一部で異常な細胞が無秩序に分裂すること起因する疾患を意味する。それらの細胞は、国立がん研究所 (<https://www.cancer.gov/types>) により維持されているリストから選択された種々のタイプののものであってもよい。

【0033】

本明細書で使用される場合、がんの「処置」は、症状の頻度および／または重症度の低減、症状および／またはその根本原因の除去、ならびに損傷の改善または矯正の1種または複数種を含み得る。例えば、がんの処置としては、例えば、がんに罹患している哺乳動物が経験する疼痛を緩和すること、および／またはがんの退行または消失を引き起こすことを含み得る。また、処置することは、倦怠感の軽減、がんの副作用を止めること、腫瘍の軽減、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。処置は、配列番号1～5、12～14、19～20、24～25、28、30、32、34、36、38～45、52～89、100～154、184～201、205～222、225～233、235～243、245～443、445～453、455～463、465、620、624～825、835～837および840～899の操作されたオリゴヌクレオチド、またはこれらのあらゆる組み合わせを投与することを含み得る。本明細書で使用される場合、線維症、瘢痕化、またはその両方の「処置」は、症状の頻度および／または重症度の低減、症状および／またはその根本原因の除去、ならびに損傷の改善または矯正の1種または複数種を含み得る。例えば、線維症の処置としては、例えば、肺線維症に罹患している哺乳動物が経験する息切れを緩和すること、および／または線維症の退行もしくは消失を引き起こすことを含み得る。また、処置することは、倦怠感の軽減、線維化または瘢痕化の副作用を止めること、線維化組織の軽減、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。処置は、配列番号1～5、12～14、19～20、38～45、52～89、100～154、184～201、620、624～825、および835～837の操作されたオリゴヌクレオチド、またはこれらのあらゆる組み合わせを投与することを含み得る。本明細書で使用される場合、ウイルス感染の「処置」は、症状の頻度および／または重症度の低減、症状および／またはその根本原因の除去、感染性疾患の除去、ならびに損傷の改善または矯正の1種または複数種を含み得る。例えば、ウイルス感染症の処置は、例えば、ウイルス感染症に罹患している哺乳動物が経験する咳を緩和すること、および／またはウイルス感染症の退行または消失を引き起こすことを含み得る。処置としては、倦怠感の軽減、ウイルス感染症の副作用を止めること、ウイルス感染症の軽減、またはそれらのあらゆる組み合わせも挙げられ得る。処置は、配列番号1～5、12～14、19～20、38～45、52～89、100～154、184～201、620、624～825、および835～837の操作されたオリゴヌクレオチド、またはこれらのあらゆる組み合わせを投与することを含み得る。

【0034】

本明細書で使用される場合、筋ジストロフィーの「処置」は、症状の頻度および／または重症度の低減、症状および／またはその根本原因の除去、ならびに損傷の改善または矯正の1種または複数種を含み得る。例えば、筋ジストロフィーの処置としては、例えば、筋ジストロフィーに罹患した哺乳動物が経験する筋力低下を緩和すること、および／または筋力低下の退行もしくは消失を引き起こすことを含み得る。また、処置としては、倦怠感の軽減、筋緊張を止めること、筋肉痛の軽減、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。処置は、配列番号12～14、30、100～154、235～243、620、835～837、および901～949の操作されたオリゴヌクレオチド、またはこれらのあらゆる組み合わせを投与することを含み得る。

【0035】

10

20

30

40

50

【表 5】

表 5- ASOs

オリゴ	配列(5'-3')	配列 番号:	標的とされる mRNA の 配列番号:
AS-DX-003	TCCAAACGAGTCTCCG	901	954, 1017, 1046, 1112
AS-DX-004	GATTCTGAAACCAGA	902	958, 994, 1004, 1040, 1057, 1111
AS-DX-005	GCGGGCGCCCTGCCAC	903	1030, 1047, 1104
AS-DX-006	TCATCCAGCAGCAGGC	904	981, 1025, 1068, 1069, 1113
AS-DX-007	TAGCCAGCCAGGTGTT	905	966, 967, 997, 1056
AS-DX-008	CAGCGTCGGAAGGTGG	906	955, 999, 1071, 1092, 1118
AS-DX-009	TAGACAGCGTCGGAAG	907	1021, 1051, 1094
AS-DX-010	ATAGGATCCACAGGGA	908	1032, 1065, 1107
AS-DX-011	TCTATAGGATCCACAG	909	1032, 1067, 1075, 1106
AS-DX-012	GCACTAATCATCCAGG	910	957, 1035, 1042
AS-DX-014	CAGCGTCGGAAGGTG	911	955, 999, 1071, 1092, 1118
AS-DX-015	CCTAGACAGCGTCGGAAGGT	912	955, 999, 1071, 1092, 1118
AS-DX-018	ATAGGATCCACAGGGAGG	913	1012, 1065
AS-DX-019	CGGCTCTGGGATCCCCGG	914	973, 1011
AS-DX-021	GGGGCGGAGACACGCCC	915	986, 1028
AS-DX-022	AGAAGGCAGGAATCCCAG	916	976, 1019
AS-DX-023	GCAGGAATCCCAGGCCGG	917	972, 1010
AS-DX-025	GGAGTCTCTCACCGGGCC	918	984, 1026, 1076
AS-DX-036	GCGAGGCGGCCTCTTCCG	919	964, 989, 1033, 1064
AS-DX-037	GCCTCCAGCTCCCCCGGG	920	980, 992, 1024
AS-DX-038	GGTGTCGGGAGGGCCAT	921	1006, 1039, 1108
AS-DX-055	CGGTATTCTTCCTCGCTG	922	952, 963, 991, 1036, 1082
AS-DX-060	GGGCATTTTAATATATCTCTGAA CT	923	1003, 1074, 1085

10

20

30

40

50

AS-DX-061	TATCTTCTGAACTAATCATCCA	924	957, 1035, 1042
AS-DX-062	CAGGAGATGTAACTCTAATCCAG	925	1018, 1059, 1090, 1101, 1105, 1119
AS-DX-063	CTCTCACCGGGCCTAGACCTAGAAG	926	987, 1034, 1077, 1109
AS-DX-064	TGCGCACTGCGCGCAGGTCTAGCCA	927	1014, 1043, 1091, 1103
AS-DX-065	ACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAG	928	1031, 1001, 1072, 1084, 1089
AS-DX-066	CGGGGTGCGCACTGCGCGCAGGTCT	929	998, 1048, 1049, 1050, 1097, 1102
AS-DX-067	TGCGCACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAG	930	960, 978, 1001
AS-DX-068	ACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAGCGGGC	931	974, 1031, 1089, 1110
AS-DX-069	ACCCGACCCCGTCCCAACCCCGCGT	932	968, 1000, 1081, 1095
AS-DX-070	TGGGCTGGTGGAGAGGCAG	933	975, 1013, 1054, 1120
AS-DX-074	TTCCCTGCATGTTTCCGGGTGCCCCG	934	983, 1061
AS-DX-075	CTTCCCTGCATGTTTCCGG	935	971, 1063
AS-DX-076	TGTGGCTCTCGTTCATTTC	936	977, 1096
AS-DX-077	CTCCGTGGGAGTCTTGAGTGTGCA	937	950, 961, 982, 1070, 1073
AS-DX-078	TGGAAGTGAACCTCCGTGG	938	965, 988, 1066
AS-DX-080	CACCCCTTCATGAATGGCGCC	939	979, 995, 1052, 1083
AS-DX-081	ACAGGCTCCACCCCTTCATG	940	970, 1044, 1045, 1088, 1114
AS-DX-082	TTCCGCTCAAAGCAGGCCTC	941	953, 1022, 1116
AS-DX-083	AAAGCGATCCTTCTCAAAGGCTC	942	993, 1023, 1041, 1078
AS-DX-084	CCTGCGCGGGCGCCCTGCCGC	943	951, 1030, 1098, 1115
AS-DX-085	TATCTCTGAACTAATCATC	944	956, 1005, 1053
AS-DX-086	AGCGCTGGCGGCGGAACGCAGACC	945	990, 1058, 1093
AS-DX-087	ATCTCTGCCCGCCTTCCCTCCCGC	946	985, 1087, 1100
AS-DX-088	AAACCAGATCTGAATCCTGGAC	947	959, 962, 1029, 1055, 1060
AS-DX-089	TTTCTAGGAGAGGTTGCGCCTG	948	969, 1008, 1079
AS-DX-097	CCTAGACAGCGTCGGAAGGTAG	949	955, 999, 1071, 1092, 1118

10

20

30

40

【 0 0 3 6 】

調節性非コードRNA (ncRNA) は、ゲノム中で発現する短い非コードRNA配列を含み、哺乳動物細胞における他の生体分子の発現または機能を調節する。ncRNAは一般的に200ヌクレオチド未満の長さであり、一本鎖または二本鎖であり得、非線形の二次構造または三次構造を形成し得る。ncRNAは、外因性由来の低分子干渉RNA (siRNA)、マイクロRNA (miRNA)、小核RNA (U-RNA)、核内低分子RNA (snRNA)、Piwi相互作用RNA (piRNA)、反復関連低分子干渉RNA (rasiRNA)、低分子rDNA由来RNA (srRNA)、トランスファーRNA由来低分子RNA (tsRNA)、リボソームRNA由来低分子RNA (rsRNA)

50

A)、長鎖非コードRNA由来低分子RNA (lnc s RNA)、またはメッセンジャーRNA由来低分子RNA (ms RNA)を含み得る。

【0037】

操作されたオリゴヌクレオチドは、DNAまたはRNAを含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、複数のヌクレオチドを含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、人工核酸類似体を含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、DNAを含み得、無細胞DNA、cDNA、胎児DNA、ウイルスDNA、または母体DNAを含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、shRNA、またはsiRNA、ncRNA模倣体、小ヘアピンRNA (shRNA)、ダイサー依存性siRNA (di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO)、ギャップマー、ミックスマー、二本鎖RNA (dsRNA)、一本鎖RNA i、(ssRNA i)、DNA指向性RNA干渉 (ddRNA i)、RNA活性化オリゴヌクレオチド (RNA a)、またはエクソンスキッピングオリゴヌクレオチドを含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、完全合成miRNAを含み得る。完全合成miRNAは、ncRNAに由来しない、またはncRNAをベースとしないものである。代わりに、完全合成miRNAは、複数の潜在的な標的配列の分析に基づくか、またはncRNAではない単離された天然の非コード配列に基づく場合がある。完全合成miRNAの一例は、E1-001である (表4)。

10

【0038】

診断検査は、画像化法、血球数解析、組織病理学的解析、バイオマーカー解析、生検、磁気共鳴画像法、理学的検査、尿検査、超音波検査、遺伝子検査、肝機能検査、陽電子放出断層撮影法、X線検査、血清検査、血管造影法、心電図検査、内視鏡検査、診断用ポリメラーゼ連鎖反応検査 (PCR)、パップスメア、ヘマトクリット検査、皮膚アレルギー検査、尿検査、大腸検査、酵素免疫測定法 (ELISA)、顕微鏡分析、骨髄検査、迅速診断検査、妊娠検査、内臓機能検査、毒性検査、感染症検査、体液検査またはそれらの組み合わせを含み得る。

20

【0039】

医薬組成物は、第1の有効成分を含み得る。第1の有効成分は、本明細書に記載されるような操作されたオリゴヌクレオチドを含み得る。医薬組成物は、単位用量形態で製剤化し得る。医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体を含み得る。医薬組成物は、第2の操作されたオリゴヌクレオチドのような、第2、第3、または第4の有効成分を含み得る。

30

【0040】

本明細書に記載される組成物は賦形剤を含み得る。賦形剤は、pH剤 (組成物の成分の酸化または劣化を最小限に抑制するため)、安定化剤 (組成物の成分の改変または分解を防ぐため)、緩衝剤 (温度安定性を高めるため)、可溶化剤 (タンパク質可溶性を高めるため)、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。賦形剤は、界面活性剤、糖、アミノ酸、酸化防止剤、塩、非イオン性界面活性剤、可溶化剤、トリグリセリド、アルコール、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。賦形剤は、炭酸ナトリウム、酢酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、ポリエチレングリコール (PEG)、ヒト血清アルブミン (HSA)、ソルビトール、スクロース、トレハロース、ポリソルベート80、リン酸ナトリウム、スクロース、リン酸二ナトリウム、マンニトール、ポリソルベート20、ヒスチジン、クエン酸塩、アルブミン、水酸化ナトリウム、グリシン、クエン酸ナトリウム、トレハロース、アルギニン、酢酸ナトリウム、酢酸塩、HCl、エデト酸二ナトリウム、レシチン、グリセリン、キサンタンゴム、大豆イソフラボン、ポリソルベート80、エチルアルコール、水、テブレノンまたはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。賦形剤は、Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association (1986)に記載されている賦形剤であり得る。

40

【0041】

本明細書に開示される組成物の投与または処理は、少なくとも約1、2、3、4、5、

50

6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、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100日連続して、または連続しない処置期間の間実施し得る。いくつかの例では、処置期間は、約1～約30日、約2～約30日、約3～約30日、約4～約30日、約5～約30日、約6～約30日、約7～約30日、約8～約30日、約9～約30日、約10～約30日、約11～約30日、約12～約30日、約13～約30日、約14～約30日、約15日～約30日、約16日～約30日、約17日～約30日、約18日～約30日、約19日～約30日、約20日～約30日、約21日～約30日、約22日～約30日、約23日～約30日、約24日～約30日、約25日～約30日、約26日～約30日、約27日～約30日、約28日～約30日または約29日～約30日であってもよい。

10

【0042】

本明細書に開示される組成物の投与または処理は、少なくとも約1週間、少なくとも約1カ月、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、少なくとも約5年、少なくとも約6年、少なくとも約7年、少なくとも約8年、少なくとも約9年、少なくとも約10年、少なくとも約15年、少なくとも約20年またはそれ以上の処置期間の間実施し得る。投与は、対象の生涯にわたって繰り返し行ってもよく、例えば、対象の生涯にわたって1カ月に1回または1年に1回行い得る。投与は、少なくとも約1年、5年、10年、15年、20年、25年、30年、またはそれ以上、月に1回または年に1回等、対象の生涯のかなりの期間にわたって繰り返して実施し得る。

20

【0043】

本明細書に開示される組成物の投与または処理は、1日に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24回実施し得る。いくつかの例では、本明細書に開示される組成物の投与または処理は、週に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、または21回実施し得る。いくつかの例では、本明細書に開示される組成物の投与または処理は、1カ月に少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、83、84、85、86、87、88、89または90回実施し得る。

30

【0044】

いくつかの例では、組成物は、単回投与として、または分割投与として投与／処理され得る。いくつかの例では、本明細書に記載される組成物は、第1の時点および第2の時点で投与され得る。いくつかの例では、組成物は、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、16時間、20時間、1日、2日、4日、7日、2週間、4週間、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、1年またはそれ以上の投与期間の差で第1の投与を他方に先行して投与するよう投与し得る。

40

【0045】

いくつかの例では、mRNA配列と接触させた場合に修飾を含む操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、修飾を欠く等量の他の同等のオリゴヌクレオチドをmRNA配列に接触させた場合と比較して、mRNA配列によってコードされるポリペプチド活性が

50

低くなるように產生し得る。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.5 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.7 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 2.0 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2 分の 1～約 2.0 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.1 分の 1～約 1.5 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.1 分の 1～約 2.5 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2 分の 1～約 3.0 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2 分の 1～約 10 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 14 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い発現は、約 18 分の 1 以下となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2 分の 1～約 14 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.1 分の 1～約 20 分の 1 となる可能性がある。いくつかの例では、より低い活性は、約 1.2 分の 1～約 30 分の 1 となる可能性がある。

10

20

30

40

50

【0046】

いくつかの例では、室内に置かれた密閉容器に一定期間貯蔵された場合、修飾体を含む操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩の初期量の少なくとも約 80% が残存しているであろう。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、初期量の少なくとも約 70% が残存する。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、初期量の少なくとも約 90% が残存する。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも約 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99% が残存する。いくつかの例では、操作されたヌクレオチドは、少なくとも約 60%～少なくとも約 80% であり得る。いくつかの例では、操作されたヌクレオチドは、少なくとも約 80%～少なくとも約 99% であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも 1 カ月であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも約 3 カ月であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも約 1 年であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも約 1、2、4、6、8、12、18、24、36、48 または 60 カ月であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも約 1 カ月～少なくとも約 1 年であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも約 6 カ月～少なくとも約 2 年であり得る。いくつかの例では、貯蔵期間は、少なくとも約 1 カ月～少なくとも約 5 年であり得る。

【0047】

本明細書で使用される場合、「組織」という用語は、あらゆる組織のサンプルであり得る。組織は、疾患または状態を有することが疑われるか、または有することが確認された組織であり得る。組織は、実質的に健康であるか、実質的に良性であるか、または実質的に疾患または状態を有しないサンプルであり得る。組織は、組織生検、組織切除、吸引（細針吸引等）、組織洗浄、細胞診標本、体液、またはそれらの組み合わせのような、対象から除去された組織であり得る。組織は、がん細胞、腫瘍細胞、非がん性細胞、またはそれらの組み合わせを含み得る。組織は、血液サンプル（無細胞 DNA サンプル等）を含み得る。組織は、遺伝子組換えされ得るサンプルであり得る。

【0048】

いくつかの例では、疾患または状態は、ウイルス感染、線維症の状態、がん、筋ジストロフィー、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、疾患または状態は、ウイルス感染を含み得る。ウイルス感染は、SARS-CoV 感染、SARS-CoV-2 感染、MERS-CoV 感染、CoV-HKU1 感染、HIV 感染、HCV

感染、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。ウイルス感染はコロナウイルス感染を含み得る。コロナウイルスは、SARS-CoV、SARS-CoV-2、CoV-HKU1、またはMERS-CoVであり得る。いくつかの例では、ウイルス感染は、HCV遺伝子型1感染を含み得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、SARS-CoVゲノム、MERS-CoVゲノム、CoV-HKU1ゲノム、HIVゲノム、またはそれらのあらゆる組み合わせによってコードされ得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、RNA配列に対して選択的であり得る。いくつかの例では、RNA配列は、配列番号500～531、829～831（表6）、配列番号474～499、826～828（表6）、配列番号532～554（表6）、配列番号555～586（表6）のRNA配列、またはそれらのあらゆる組み合わせに対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、対象はSARS-CoV-2感染に罹患する可能性があり、RNA配列は、配列番号500～531、829～831（表6）のRNA配列に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、対象はSARS-CoV感染に罹患する可能性があり、RNA配列は、配列番号474～499、826～828（表6）のRNA配列に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、対象はMERS-CoV感染に罹患する可能性があり、RNA配列は、配列番号532～554（表6）のRNA配列に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、対象はCoV-HKU1感染に罹患する可能性があり、RNA配列は、配列番号555～586（表6）のRNA配列に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、HIVゲノムにコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列は、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号470に対して、少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、ウイルス感染は、HIV感染であり得る。いくつかの例では、RNA配列は、BLASTペアワイズ配列アラインメントアルゴリズムによって決定した時に、配列番号471、配列番号472、または配列番号473に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の配列同一性を有し得る。

10

20

30

40

50

【0049】

【表 6】

表6-標的配列

名称	配列	配列番号
ITGA6 3'UTR	AUUCUUAGUCACAAAAUAUAUUUUGUUUAA CAA	467
SERPINE1 3'UTR	AUUUUGGAGUGUAGGUGACUUGUUUACU	468
EGFR 3'UTR	UAGACCCACAGACUGGUUUUGCAACGUUU ACAC	469
HIV-1 NEF部位	UCCACUGACCUUUGGAUGGUGCUA	470
TET1 3' UTR部位01	UCACUCAGUUUGGUGCUU	471
TET1 3' UTR部位02	ACUCUACACAGCUUCUGGUGCUU	472
TET1 3' UTR部位03	GUAUGGAAAACCUAAUGGUGCUU	473
SARS-CoV部位01	CUCAUGGAAAGUGAACUUGUCAUUGGUGC UG	474
SARS-CoV部位02	UCCUUCCCACAAGCAGCCCCGCAUGGUGU UG	475
SARS-CoV部位03	ACUGCCACUGCUGGAUGGACAUUUGGUGC UG	476
SARS-CoV部位04	AUUGUGGCUUAUACUAUGUCUUUAGGUGC UG	477
SARS-CoV部位05	AGACAAAUAGCGCCAGGACAAACUGGUGU UA	478
SARS-CoV部位06	UACAACAUGAGAGUUAUUCACUUUGGUGC UG	479
SARS-CoV部位07	GACCUUUUUAGAAACGCCCGUAAUGGUGU UU	480
SARS-CoV部位08	UGUAUUACACGAUGCAAUUUAGGUGGUGC UG	481
SARS-CoV部位09	ACACAUCACGAUAAAUUCACUGAUGGUGU UU	482
SARS-CoV部位10	CCACAUACAGUCUUGCAGGCUGUAGGUGC UU	483
SARS-CoV部位11	CUAGUAAGAAAAUAUUUGUAGAUGGUGU UC	484
SARS-CoV部位12	AACAUGGACCAAGAGUCCUUUGGUGGUGC UU	485
SARS-CoV部位13	CUUAAACAACCUAAAUAAGAGGUAUGGUGC UG	486
SARS-CoV部位14	UUGUCUGUUUUGCUAUCCAUGCAGGGUGC UG	487

10

20

30

40

50

SARS-CoV部位15	AACCGUUACUUCAGGCUUACUCUUGGUGU UU	488
SARS-CoV部位16	UUUGAUGUUGUUAGACAAUGCUCUGGUGU UA	489
SARS-CoV部位17	GCAUGCUACAAUGGUUCACCAUCUGGUGU UU	490
SARS-CoV部位18	GCUCUAAAUGACUUUAGCAACUCAGGUGC UG	491
SARS-CoV部位19	UUUACUCCUCUUGUGCAACCUGUGGGUGC UU	492
SARS-CoV部位20	UUUGGUGUACUCUUAUCUAAUUUUGGUGC UC	493
SARS-CoV部位21	AGACAACGUUCAAAACCAAACACUUGGUGU UU	494
SARS-CoV部位22	CACUAUUCAGCGAGUUUCAAGAAAGGUGC UA	495
SARS-CoV部位23	CAGUUUGGUCCAACAUAUCUUGGAUGGUGC UG	496
SARS-CoV部位24	CCAUUGUUGUCAGCAGGCAUAAUUUGGUGC UA	497
SARS-CoV部位25	UGUGGUUUUCCCUCACAGGCUGCUGGUGU UA	498
SARS-CoV部位26	GUUACCAAGGGAAAAGCCCGUAAAAGGUGC UU	499
SARS-CoV部位27	AUUUUAGAAGAUGAGUUUACA	826
SARS-CoV部位28	AUUUAGGUGGUGCUGUUUGCA	827
SARS-CoV部位29	CUUCCUUCAGGCUGUUUGC	828
SARS CoV-2部位01	GGGCCAGAAGCUGGACUUCCCUAUGGUGC UA	500
SARS CoV-2部位02	UCAACUCAAUUGAGUACAGACACUGGUGU UG	501
SARS CoV-2部位03	ACUUCUGGUUGGACCUUUGGUGCAGGUGC UG	502
SARS CoV-2部位04	UCAUAUGGUUUCCAACCCACUAAUGGUGU UG	503
SARS CoV-2部位05	CAGGCCGGUAGCACACCUUGUAAUGGUGU UG	504
SARS CoV-2部位06	GAUUCUUCUUCAGGUUGGACAGCUGGUGC UG	505
SARS CoV-2部位07	AACCCUGUCCUACCAUUUAAUGAUGGUGU UU	506

10

20

30

40

50

SARS CoV-2部位08	GCAUACACUAAUUCUUUCACACGUGGUGU UU	507
SARS CoV-2部位09	UAUAAUAUGAGAGUUAUACAUUUUGGUGC UG	508
SARS CoV-2部位10	UUCAAUUAUUUAUAAGAAAGUUGAUGGUGU UG	509
SARS CoV-2部位11	GACUUAUUUAGAAAUGCCCGUAAUGGUGU UC	510
SARS CoV-2部位12	GCUCCAGCACAUUAUUCUACUAUUGGUGU UU	511
SARS CoV-2部位13	AACACUGUUUACACAAAAGUUGAUGGUGU UG	512
SARS CoV-2部位14	UGUAUAACACGUUGCAAUUUAGGUGGUGC UG	513
SARS CoV-2部位15	AAUUCACAGACUUCAUUAAGAUGGUGGUGC UU	514
SARS CoV-2部位16	CUAGUGAGAAAAUAUUUGUUGAUGGUGU UC	515
SARS CoV-2部位17	CUUUCUGUUUUGCUUCCAUGCAGGGUGC UG	516
SARS CoV-2部位18	AACCGCUACUUUAGACUGACUCUUGGUGU UU	517
SARS CoV-2部位19	ACAGCAAGAACUGUGUAUGAUGAUGGUGC UA	518
SARS CoV-2部位20	GCUUGUUACAAUGGUUCACCAUCUGGUGU UU	519
SARS CoV-2部位21	CUAAAGAGACGUGUAGUCUUUAAUGGUGU UU	520
SARS CoV-2部位22	ACACCAGUUUACUCAUUCUUACCUGGUGU UU	521
SARS CoV-2部位23	UUUACACCACUAAUUCAACCUAUUGGUGC UU	522
SARS CoV-2部位24	GGCACUUGUGAAAGAUCAGAAGCUGGUGU UU	523
SARS CoV-2部位25	GAAAACAUGACACCCCGUGACCUUGGUGC UU	524
SARS CoV-2部位26	GUCGAAUGUACAACUAUUGUUAUUGGUGU UA	525
SARS CoV-2部位27	AAACCAGUUACUUAUAAAUUGGAUGGUGU UG	526

10

20

30

40

50

SARS CoV-2部位28	AAAGAAACUUUGUAUUGCAUAGACGGUGC UU	527
SARS CoV-2部位29	AUACAAGAGGGUGUGGUUGAUUAUGGUGC UA	528
SARS CoV-2部位30	CCAUAUAUAUCAGCUGGUAUUUUUGGUGC UG	529
SARS CoV-2部位31	GUUGUAAUGGCCUACAUAACAGGUGGUGU UG	530
SARS CoV-2部位32	AACUGGAACACUAAACAUAAGCAGUGGUGU UA	531
SARS CoV-2部位33	ACCAUCUGGUGUUUAC	829
SARS CoV-2部位34	GUCAGUUAGGUGGUUUACA	830
SARS CoV-2部位35	UUUGUGCUUGCUGCUGUUUACA	831
MERS-CoV部位01	AUUAUAUGUGUGGUCCAAAAGGAUGGUGU UG	532
MERS-CoV部位02	CUUAAGCAUGGCGGUGGUAUCGCUGGUGC UA	533
MERS-CoV部位03	CAGCUUGGAUGCGUUUUCUUUAAUGGUGC UG	534
MERS-CoV部位04	AUGGCUUAUGGCAAUUGCACAUAUGGUGC UC	535
MERS-CoV部位05	CAAACCGUUCUGCAAUGUGUAAUUGGUGC UU	536
MERS-CoV部位06	CAAAUUGUCUUGCGUAAUUCUAAUGGUGC UU	537
MERS-CoV部位07	UUCACUGCUAACAAAAUUGUUGGUGGUGC UC	538
MERS-CoV部位08	GUUGCAGUAAUUGCUGGAGUUGCUGGUGC UC	539
MERS-CoV部位09	UUUAACAAGUAUAAGUACUUCUCUGGUGC UA	540
MERS-CoV部位10	CAUAUAGAACAUCCUGAUGUCUCUGGUGU UU	541
MERS-CoV部位11	UUUGUUGAAAAUCCAGUGUUAUUGGUGU UU	542
MERS-CoV部位12	UCGCUUGGCAAUAGAGUGUGCUCAGGUGC UA	543
MERS-CoV部位13	ACUGCUAAUGUCAGUGCACUUAUGGGUGC UA	544
MERS-CoV部位14	AGCUGGAUAGGCUUCGAUGUUGAGGGUGC UC	545

10

20

30

40

50

MERS-CoV部位15	GUGAACUUUGUUGUUCAGCCAGUUGGUGU UG	546
MERS-CoV部位16	UCUCUGCAUCAGGUUUCGCCUUUGGUGU UA	547
MERS-CoV部位17	GUUGUAAAACAAGGCCAUUUUAUUGGUGU UG	548
MERS-CoV部位18	GGUCCUGAUUAUGCUUACUUCAAUGGUGC UA	549
MERS-CoV部位19	ACUAUAAAAGAAAAUAUAGAUGGUGGUGC UA	550
MERS-CoV部位20	AAUUGCGUGGAAUAUUCGCCUUAUGGUGU UU	551
MERS-CoV部位21	UCCCUUAUGGUGUUUCGGGCCGUGGUGU UU	552
MERS-CoV部位22	GCUAGCGAGCUAUCUAAUACUUUUGGUGC UA	553
MERS-CoV部位23	CUCAAAAUGGCUGGCAUGCAUUUCGGUGC UU	554
CoV-HKU1部位01	AGUGAAGUUAAGCCCAAUCAUCUGGUGU UA	555
CoV-HKU1部位02	AAUCUUGAACAAAAUCAUAUUCUUGGUGU UA	556
CoV-HKU1部位03	UUGAUUUAAUGCGUAUGCUAAUUGGUGU UG	557
CoV-HKU1部位04	AUAGAUGUUUUGCUUACUGUAGAUGGUGU UA	558
CoV-HKU1部位05	GGUAUAAAACAAGAAAGUCGUGUUGGUGU UG	559
CoV-HKU1部位06	GAUUUAGGUGUUCUUAUACAGAAUGGUGC UA	560
CoV-HKU1部位07	GCUAGUUUAAAAGUUAUUGAUAAUGGUGU UG	561
CoV-HKU1部位08	CCACAUCCUUAUUGUUAUUCAGAUGGUGU UA	562
CoV-HKU1部位09	CAUUUGCAAUGGAUUGUUAUGUAUGGUGC UA	563
CoV-HKU1部位10	UUAUUUUCAUAUUGUAGGAAAAUUGGUGU UA	564
CoV-HKU1部位11	CCUUACACUCCAAAAUAUACUUUUGGUGU UG	565

10

20

30

40

50

CoV-HKU1部位12	UCUGACGUUUAUCAACAAUUGGCUGGUGU UA	566
CoV-HKU1部位13	AUGUAUAUAAAACACAUAUGAUUGGUGU UA	567
CoV-HKU1部位14	UCUUCAACAAUUAGAUUGCAGGCUGGUGU UG	568
CoV-HKU1部位15	UAUUAUGAGUUGACUAAAAGUUGUGGUGU UG	569
CoV-HKU1部位16	ACUUUAGUAAAAGUAGGUUUAGUUGGUGU UU	570
CoV-HKU1部位17	CUUGUUAGACAAAUUUUUGUAGAUGGUGU UC	571
CoV-HKU1部位18	UUGAAGAGUAUAGCAGCUACUCGUGGUGU UC	572
CoV-HKU1部位19	AGUAUGAUGAUUUUGAGUGAUGAUGGUGU UG	573
CoV-HKU1部位20	UUUUGAUAAAUGAAUUAACUAAUGGUGU UU	574
CoV-HKU1部位21	CCAUGCAAAUAGGUUUUCAAACUGGUGU UG	575
CoV-HKU1部位22	UGUAUCACACGAUGUAAUUUAGGUGGUGC UG	576
CoV-HKU1部位23	GUACUUUUUGAUGGUCGUGACAAUGGUGC UU	577
CoV-HKU1部位24	GAAGCUUUUAGAAAAGCAAGAAAUGGUGU UU	578
CoV-HKU1部位25	AGAAAUAGUACAACAUGGAAUGGUGGUGC UU	579
CoV-HKU1部位26	UUUACAGGUUAUUUCCUAAAUCUGGUGC UA	580
CoV-HKU1部位27	UAUUUUCAUUUUUAUCAAGAACGUGGUGU UU	581
CoV-HKU1部位28	ACUCAAUCUUUUGCACCUAUUACUGGUGU UU	582
CoV-HKU1部位29	UAUUCUAACACUGAAGUUUCUACUGGUGU UU	583
CoV-HKU1部位30	UUACAACAAUUAUUUAAUAAAUUUGGUGC UA	584
CoV-HKU1部位31	GACACCUCUCAUAAGAAUAAUUUUGGUGU UA	585

10

20

30

40

50

CoV-HKU1部位32	CUUGCUGAAUUAGCCCCUACACCAGGUGC UU	586
HCV-1部位01	GAUGUAUGGAGAAAAGUAUCCAGUGGUGU UG	587
HCV-1部位02	GAAGGCAAAGACAGCUAUUGAAAUGGUGU UA	588
HCV-1部位03	GCAUCUUGUCUGGAGAGACAAUUUGGUGU UU	589
ZEB1 3' UTR	UGUUUGAAUAUGUGGUAACAUAUGAAGGA	590
E2F1 3' UTR	UGUGCAUGUACCGGGGAAUGAAGGU	591
HER3 3' UTR	UUCACAGGCACUCCUGGAGAU AUGAAGGA	592
SHIP2 3' UTR	GGGGCGGGUGUCCGUCCGAAAUGAAGGA	593
CSNK1G1 3' UTR部位01	UGAAUUUUCAUUCAUCUUCUCAG	594
CSNK1G1 3' UTR部位02	AAGGUCUGAAAUAUCUUCUCAA	595
CSNK1G1 3' UTR部位03	AUGUGUGGAGUUACUCUUCUCAU	596
CSNK1G1 3' UTR部位04	AAGCAUGGCUUGCAUUUCUCAA	597
CSNK1G1 3' UTR部位05	CAGCCAAGAAAACGUCUUCUCAG	598
CSNK1G1 3' UTR部位06	GGUAGUUGACAU AUUUUCUCAA	599
ARHGAP26 3' UTR部位01	CGAGUUUUUGUCUUUCUUCUCAG	600
ARHGAP26 3' UTR部位02	GAGAUACAAUCCAGUCUUCUCAU	601
ARHGAP26 3' UTR部位03	UCUUAGAAUGUUCAGUUCUCAAU	602
ARHGAP26 3' UTR部位04	UCACAUACUAUUACGCUUCUCAA	603
ARHGAP26 3' UTR部位05	AAGUCAGCAGGAUGUCUUCUCAC	604
RAB11FIP1 3' UTR部位01	UGGGACCACUGUAAAACUUCUCAG	605
RAB11FIP1 3' UTR部位02	UGUAAACCUACCCAGCUUCUCAG	606

10

20

30

40

50

RAB11FIP1 3' UTR部位03	AGACACAGGCAUGUGCUUCUCAG	607
RBJ 3' UTR部位01	GAAGAGAGGUUCGUACUUCUCAU	608
RBJ 3' UTR部位02	UUCUCAUAUAUUGAAUUCUCAAC	609
SERBP1 3' UTR部位01	AAAAAUCUUUUUCACUUCUCAU	610
SERBP1 3' UTR部位02	CUACUCAAAACACAACUUCUCAG	611
CTBP1 3' UTR	GAGGCAGUUGGCAAACUUCUCAG	612
CRKL 3' UTR	AUGGAAAGGGUCUCCUUCUCAU	613
ITGA3 3' UTR	UUCUUUGUAUAUAGGCUUCUCAC	614
ITGAV 3' UTR	UGUUUUUUGUCAUUGUUCUCAAG	615
LAMC1 3' UTR	GAGUUCCUAGUGGGCUUCUCAA	616
G6PC2 3' UTR	AUGUUUUAUGUAAACUCUUCUCAG	617
PPP2R5E 3' UTR	UGGACAGUAGAUGGACUUCUCAG	618
KLF17 3' UTR	GUCAGGGAAGAAAGACUUCUCAA	619
MTDH 3' UTR部位01	UUAACAACAGUGCCCUGUUUACA	621
MTDH 3' UTR部位02	AGGAACAUGGCAGUAUGUUUAC	622
MTDH 3' UTR部位03	AACUGUCAUGGUUUAGUUUACAA	623
IGF1R 3' UTR 部位	UUUUUUUUUUUUUUUUUAGGACACCUUUU ACU	832
MET 3' UTR 部位	AAAGUGUUAUAUUUUUUAUAAAAAUGUUU AUU	833
IRS1 3' UTR 部位	UGGUACGAUGCAUCCAUUUCAGUUUGUUU ACG	834
ACVR1	ACUCAAGACUCCACUGUG	950
ASIC2	CGGGCGGGCGCCCGCGGAGG	951
ATG14	CAGCGAUGAAGAAACCG	952
ATP1A1	GAGGCCUGCUUUUGAGAGGAA	953
B3GTLN1	UGGAGACUGUUUGGA	954
BANF1	ACUCCGGCGCUGUCUCGG	955
BPTF	AUGAUUGUUCAGAAUA	956
CASP8AP2	UGGAUGAUUGUUCAAAGA	957
CDX4	AUCUGGUUUCAGAAUC	958
CELF2	AGGAUUCAGAUUCGUUUU	959
CHMP7	GCCACCUGCCGCGCAGGCGCA	960
CKMT1B	ACUCAAGAUUCCCAGGAG	961
CLASP1部位01	AUAGGAUUAGAUCGGUUU	962
CLASP1部位02	CAGCCAGGAAGAAUACCU	963
CNOT3	UGGAAGAGGCCGCCUGGC	964
COL15A1	CACGGAGGUCAGUUCAA	965

10

20

30

40

50

CYP3A4	AACAGCCUGUGCUGGCUA	966
DBET部位01	AACACCUGGCUGGCUA	967
DBET部位02	ACGCGGGGUUGGGACGGGGUCGGGU	968
DBET部位03	CAGGCGCAACCUCUCCUAGAAA	969
DBET部位04	CAUGAAGGGGUGGAGCCUG	970
DBET部位05	CCGGAACAUGCAGGGAAG	971
DBET部位06	CCGGCCUGGGAUUCUGC	972
DBET部位07	CCGGGGAUCCAGAGCCG	973
DBET部位08	CUCCUGGCUGCACCUGCCGCAGU	974
DBET部位09	CUGCCUCUCCACCAGCCCA	975
DBET部位10	CUGGGAUUCUGCCUUCU	976
DBET部位11	GAAAUGAACGAGAGCCACA	977
DBET部位12	GCACCUGCCGCAGUGCACA	978
DBET部位13	GCCAUUCAUGAAGGGGUG	979
DBET部位14	GCCCCGGGGGAGCUGGAG	980
DBET部位15	GCCUGCUGCUGGAUGA	981
DBET部位16	GGCACACUCAAGACUCCACGGAG	982
DBET部位17	GGCACCCGGAACAUGCAGGGAA	983
DBET部位18	GGCCGGUGAGAGACUCC	984
DBET部位19	GGCGGGAGGGAAGGCGGGCAGAGAU	985
DBET部位20	GGGCGUGUCUCCGCCCC	986
DBET部位21	UCCAGGCCGGUGAGAGACUC	987
DBET部位22	UCCACGGAGGUUCAGUCCA	988
DBET部位23	UCGGAAGAGGCGCCUCGC	989
DBET部位24	UGCGUUCGCGCCAGGCGCU	990
DBET部位25	CAGCGAGGAAGAAUACCG	991
DCAF15	GCCCCGGGGGAGCCGGAG	992
DCN	GUCUUUGAGAGGAUCCCUUU	993
DLX5	AUCUGGUUUCAGAAC	994
DUSP7	GGGCCCUCUUGAAGGGGUG	995
DUX1	GAUGGCCUCCUGACA	996
DUX4部位01	AACACCUGGCUGGCUA	997
DUX4部位02	ACCUGCGCGCAGUGCGCACCCCG	998
DUX4部位03	ACCUCCGACGCUGUCUAGG	999
DUX4部位04	ACGCGGGGUUGGGACGGGGUCGGGU	1000
DUX4部位05	AGCAGACCUGCGCGCAGUGCGCA	1001
DUX4部位06	AGCUCGCUGGCCUCUCUG	1002
DUX4部位07	AGUUCAGAGAUUAUUAUAAAUGCCC	1003
DUX4部位08	AUCUGGUUUCAGAAUC	1004
DUX4部位09	AUGAUUAGUUCAGAGAU	1005

10

20

30

40

50

DUX4部位10	AUGGCCCUCCGACACCC	1006
DUX4部位11	CAGACCUGCGCGCAGU	1007
DUX4部位12	CAGGCGCAACCUCUCCUAGAAA	1008
DUX4部位13	CCACCUUCCGACGCUG	1009
DUX4部位14	CCGGCCUGGGAUUCUGC	1010
DUX4部位15	CCGGGGAUCCAGAGCCG	1011
DUX4部位16	CCUCCUGUGGAUCCUAU	1012
DUX4部位17	CCUGCCUCUCCACCAGCCC	1013
DUX4部位18	CCUGCGCGCAGUGCGCACCCCGGCUGACGU GC	1014
DUX4部位19	CCUGGAUGAUUAGUUC	1015
DUX4部位20	CGACACCCUCGGACAGCA	1016
DUX4部位21	CGGAGACUCGUUUGGA	1017
DUX4部位22	CUGGAUUAGAGUUACAUCUCCUG	1018
DUX4部位23	CUGGGAUUCUGCCUUCU	1019
DUX4部位24	CUGUGGAUCCUAUAG	1020
DUX4部位25	CUUCCGACGCUGUCUA	1021
DUX4部位26	GAGCCUGCUUUGAGCGGAA	1022
DUX4部位27	GAGCCUUUGAGAAGGAUCGCUUU	1023
DUX4部位28	GCCCCGGGGGAGCUGGAG	1024
DUX4部位29	GCCUGCUGCUGGAUGA	1025
DUX4部位30	GGCCCGGUGAGAGACUCC	1026
DUX4部位31	GGGAGCUCGCUGGCCUCU	1027
DUX4部位32	GGGCGUGUCUCCGCCCC	1028
DUX4部位33	GUCCAGGAUUCAGAUCUGGUUU	1029
DUX4部位34	GUGGCAGGGCGCCCGCGCAGG	1030
DUX4部位35	UACCAGCAGACCUGCGCGCAGU	1031
DUX4部位36	UCCUGUGGAUCCUAU	1032
DUX4部位37	UCGGAAGAGGCCGCCUCG	1033
DUX4部位38	UCUAGGCCCGGUGAGAGACU	1034
DUX4部位39	UGGAUGAUUAGUUCAGAG	1035
DUX4部位40	CAGCGAGGAAGAAUACCG	1036
DUX5部位01	AUCUGGUUUCAGAAUC	1037
DUX5部位02	GAUGGCCCUCCUGACA	1038
EMILIN1	AUGGCCCCCGCACCCUC	1039
EPG5	CUGUGGUUUCAGAAUC	1040
FAM13A	ACUUUGAAAAGGAUCUCUUU	1041
FBX03	UGGAGAUUAGAUCAGAGUG	1042
FBXL22	CCUGCGCGCACUGCGCCU	1043
FMNL3	CAGAGGGGUGGAGCCUGU	1044

10

20

30

40

50

FREM2	CAUAAAAGGGGUGGAACCUGU	1045
FRMPD2	CGGAGACUUUUGGA	1046
GADD45A	GUGGCAGGAGCAGCCCCG	1047
GID4	CCACCCCGCGCGUGCGCCCCG	1048
GJD3	UGAGGCGGCGGCGCAGUGCGCCCCG	1049
GMPR	CGCCGCCCCGCGCAGGCGCCCCG	1050
GNAT1	CUUCGACGCUGUCA	1051
GOSR1	GCCAUUCAUGAUGGUGUG	1052
GPRC6A	AUGUUAGUUCAGAGAA	1053
HERC1	CUGGCCUCUCCACCAGCCCUU	1054
HGF	AGGAUCAGAUCUGGUUU	1055
HOOK3	ACCACCAUGGCUGGCUA	1056
HOXC9	AUCUGGUUUCAGAAUC	1057
HSP40部位01	GCCUACCGCCGCCAGGCGCU	1058
HSP40部位02	GGUUUGAGUUACAUCUA	1059
HSP40部位03	UGGAGUCAGAUCUGGUUU	1060
IRF9部位01	CCUGGAAACAUGCAGGCAA	1061
IRF9部位02	CGACAGCCUGGACAGCAAC	1062
IRF9部位03	CUGGAAACAUGCAGGCAAG	1063
IRX5	UCGGAGGGCCGCCUCGAC	1064
ITGA10	UCUCCUGUGGAUCCUCAU	1065
ITGA3部位01	CACUGAGGUCCAGUCCA	1066
ITGA9	CUGUGGAAUCCUAUAA	1067
KCNC3	GCCUGCUGCUGGAUGA	1068
KLHL3	GCCUUUGCUGCUGGAUGA	1069
KLK6	ACUCAAGAAUCCCCGGAG	1070
LARP6	ACCUUCCUACGUGCUAGG	1071
MALT1	CAGUUGCCUAGACCUGGAGCAGU	1072
MAP3K4	ACUCAAGCCCCACGGAG	1073
MAPK10	CACAGAGAUUUUUAAAAUUCUU	1074
MIR4661	CUGUGGAUCCUGACAGA	1075
MIR8078部位01	GGCCCGGUGAGAGACUCC	1076
MIR8078部位02	UCUAGGCCCGGUGAGAGACU	1077
MTSS1	UUUGAGAAGGAUGUUUU	1078
NDUFAF6	CUCACCUCUCCUAGAAA	1079
NEBL	AAGAUGCAGAUUCUGGUUU	1080
NKX2-3	GGUAGGGACGGGGCGGGU	1081
NR2F1	CAGCGAGGAAGAAUGCCU	1082
PCID2	GCCAUUCAUGAGGGGUC	1083
PDE10A	CUGACCUGCCGCAGU	1084
PKD1L2	AACAGAGAUUAUGUAAAAUUGCCA	1085

10

20

30

40

50

PKHD1	GUCCAGGACUCACAGCUGGUUU	1086
PPP1R12B	GGAGGGAAGCGGGCAGAGU	1087
PTPRN2	CAGAAGGGGGGAGCCUG	1088
PYY	CAGCAGACCUGCGCGCAGU	1089
RABGAP1L	GGAGAUAGAGUUACAUCUU	1090
rbck1	CCUGCGCCCAGUGCGGACCU	1091
RFX3	UACCUUCGACACUGUCAGG	1092
RHBDF2	UGGCUUCCGCCGCCAGGCCU	1093
SCRIB	CUUCCAGACCUGUCUA	1094
SEMA3B	UGGGACGGGGUCGCGU	1095
SETD4	GAAAUGUACCAGAGCCACA	1096
SHFL	GGCUGAGCCGCGCAGUGCGGACCCUCGC	1097
SHH	GGGGGCGCCCGCGCAGG	1098
SLC37A4	AUGAUUAUUUUAGAGUA	1099
SLC9A8	GGCUGGGAGGGGAAGGCGGGUCAGAGAU	1100
SMAD1	GGAUUGAGAUACAUCUG	1101
SPEF1	AGAUCGCGCAGUGCGCCCCAG	1102
SPRED3	CCUGCGCGCGUGCCAC	1103
ST3GAL6	GUGGCAGGCGCCGC	1104
STAG1	GGUUUAGAGUUACAUCU	1105
SUPV3L1部位01	CUGUGGAUCCUAUAA	1106
SUPV3L1部位02	GGCCUGUGGAUCCUAU	1107
TBC1D26	AUGGCCUUCUGACACCC	1108
TCEA2	UCUGGGCCGGGUGAGAGAC	1109
TCF3	CUGGCUGCCCUGCGUGCAGU	1110
TM6SF1	GGCUGGUUUCAGAAUC	1111
TMEM108	CUGAGACUCGUUGGA	1112
TMEM259	GCCUGCUGCUGGAUGA	1113
TNFSF4	CAGGAAGGGUGGAGCCUGC	1114
TNIP1	GCGGCAAGGCGCCGCGCAGG	1115
TRNP1	GAGGCCUGUUUGAGGGAA	1116
USH1G	CAUCCAGGGGUGGAGCCUG	1117
WRNIP1	ACCUUCAGACGUGUCUGAGG	1118
XIAP	AGAUUAGAGUUAUCUCCC	1119
ZNF574	UUGCCUCUCCAGCAGCCCU	1120

10

20

30

40

50

【 0 0 5 0 】

本明細書に開示されるような状態または疾患としては、がん、神経障害、線維症疾患、癥痕化疾患、または自己免疫疾患を挙げることができる。

【 0 0 5 1 】

いくつかの例では、疾患または状態は、神経障害を含み得る。いくつかの例では、神経障害は、後天性てんかん様失語症、急性散在性脳脊髄炎、副腎白質ジストロフィー、脳梁欠損症、認知障害、アイカルディ症候群、アレキサンダー病、アルパース病、交互片麻痺、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（運動ニューロン疾患を参照）、無脳症、アンジェルマン症候群、血管腫症、無酸素症、失語症、失行症、くも膜嚢胞、くも膜炎、アーノルド・キアリ奇形、動静脈形成異常、アスペルガー症候群、血管拡張性運動失調症、注

意欠陥多動性障害、自閉症、聴覚処理障害、自律神経失調症、背部痛、バッテン病、ベージェット病、ベル麻痺、良性本態性眼瞼痙攣、良性巣状筋萎縮症、良性頭蓋内圧亢進症、両側前頭頂多裂症、ピンズワングー病、眼瞼痙攣、ブロッホ・サルツベルガー症候群、腕神経叢損傷、脳膿瘍、脳障害、脳損傷、脳腫瘍、ブラウン・セカール症候群、カナバン病、手根管症候群（CTS）、灼熱痛、中枢性疼痛症候群、橋中心髄鞘融解、中心核ミオパシー、頭部の障害、脳動脈瘤、脳動脈硬化、脳萎縮、脳巨大症、脳性麻痺、シャルコー・マリー・トゥース病、キアリ奇形、舞蹈病、慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CISDP）、慢性疼痛、慢性局所疼痛症候群、コフィン・ローリー症候群、持続性植物状態を含む昏睡、先天性顔面神経麻痺、大脳皮質基底膜変性症、頭蓋動脈炎、頭蓋骨癒合症、クロイツフェルト・ヤコブ病、累積外傷障害、クッシング症候群、細胞質性封入体症（CIBD）、サイトメガロウイルス感染症、ダンディ・ウォーカー症候群、ドーソン病、ド・モルシア症候群、デジェリン・クランブケ麻痺、デジェリン・ソッタス病、睡眠相後退症候群、認知症、皮膚筋炎、神経性運動障害、糖尿病性神経障害、びまん性硬化症、自律神経障害、計算障害、書字障害、難読症、ジストニア、早期小児てんかん性脳症、エンブティセラ症候群、脳炎、脳瘤、脳三叉神経領域血管腫症、便失禁、てんかん、アープ麻痺、紅痛症、本態性振戦、ファブリー病、ファール症候群、失神、家族性痙攣性麻痺、熱性けいれん、フィッシャー症候群、フリードライヒ失調症、FART症候群、ゴーシェ病、ゲルストマン症候群、巨大細胞動脈炎、巨大細胞封入体症、グロバイド細胞白質ジストロフィー、灰白質異所形成、ギランバレー症候群、HTLV-1関連脊髄症、ハラールホルデン・スパッツ病、頭部外傷、頭痛、半顔面痙攣、遺伝性痙攣性対麻痺、遺伝性多発神経炎性失調、耳性帯状疱疹、帯状疱疹、平山症候群、全前脳胞症、ハンチントン病、水無脳症、水頭症、コルチゾン過剰症、低酸素症、免疫介在性脳脊髄炎、封入体筋炎、色素失調症、小児フィタン酸蓄積病、小児レファム病、乳児けいれん、炎症性ミオパシー、頭蓋内嚢胞、頭蓋内圧亢進症、ジュベール症候群、カーンズ・セイル症候群、ケネディ病、キンズボーン症候群、クリペル・フェイル症候群、クラッペ病、クーゲルベルグ・ウェランダー病、クル病、ラフォラ病、ランバート・イトン筋無力症候群、ランドー・クレフナー症候群、外側髄（ワレンバーク）症候群、学習障害、リー病、レノックス・ガストー症候群、レッシューナイハン症候群、白質ジストロフィー、レビー小体型認知症、滑脳症、ロックイン症候群、ルー・ゲーリッグ病、腰部椎間板症、ライム病-神経学的後遺症、マッハ・ド・ジョセフ病（脊髄小脳失調症3型）、大脳髄症、メイプルシロップ尿症、巨大脳髄症、メルカーソン-ローゼンタール症候群、メニエール病、髄膜炎、メンケス病、異染性白質ジストロフィー、小頭症、片頭痛、ミラー・フィッシャー症候群、軽度の脳卒中、ミトコンドリア筋症、メビウス症候群、モノメリック筋萎縮症、運動ニューロン疾患、運動能力障害、モヤモヤ病、ムコ多糖症、多発脳梗塞性認知症、多巣性運動ニューロパチー、多発性硬化症、多系統萎縮症、筋ジストロフィー、筋痛性脳脊髄炎、重症筋無力症、ミエリン破砕性びまん性硬化症、乳幼児のミオクロニー性脳症、ミオクロヌス、ミオパシー、筋管ミオパシー、先天性筋硬直症、ナルコレプシー、神経線維腫症、神経遮断薬悪性症候群、AIDSの神経症状、狼瘡の神経学的後遺症、神経筋強直症、神経細胞セロイドリポフスチン症、神経細胞移動障害、ニーマン・ピック病、非24時間睡眠覚醒症候群、非言語性学習障害、オシュリ・ヴァン・マクロード症候群、後頭神経痛、潜在性脊椎癒合不全、大田原症候群、オリーブ端小脳萎縮症、眼球クロヌス・ミオクロヌス症候群、視神経炎、起立性低血圧、使いすぎ症候群、反復視、知覚過敏、パーキンソン病、先天性筋緊張症、腫瘍随伴性疾患、発作性攻撃、パリーロンバーグ症候群、ロンバーグ症候群、ペリザエウス-メルツバッハー病、周期性麻痺、末梢性ニューロパシー、持続性植物状態、汎発性神経疾患、光くしゃみ反射、フィタン酸貯蔵病、ピック病、圧迫された神経、下垂体腫瘍、PMG、ポリオ、多少脳回、多発性筋炎、孔脳症、ポリオ後症候群、帯状疱疹後神経痛（PHN）、麻疹後脳脊髄炎、起立性低血圧、プラダー・ウィリー症候群、原発性側索硬化症、プリオン病、ロンバーグ症候群としても知られている進行性片側顔面萎縮症、進行性多巣性白質脳症、進行性硬化性ポリジオジストロフィー、進行性核上性麻痺、偽脳腫瘍、ラムゼイ・ハント症候群（I型およびII型）、ラスムッセン脳炎、反射性交感神経性ジストロ

10

20

30

40

50

フィー症候群、レフス病、反復運動障害、反復性ストレス傷害、下肢静止不能症候群、レトロウイルス関連脊髄症、レット症候群、ライ症候群、ロンバーグ症候群、狂犬病、舞踏病、サンドホフ病、統合失調症（Schizophrenia）、シルダー病、裂脳症、感覚統合機能障害、中隔視神経異形成症、揺さぶられっ子症候群、带状疱疹、シャイ・ドレーガー症候群、シェーグレン症候群、睡眠時無呼吸症候群、睡眠病、スナチエーション（Snatiation）、ソトス症候群、痙性、二分脊椎、脊髄損傷、脊髄腫瘍、脊髄性筋萎縮症、脊柱管狭窄症、スティール・リチャードソン・オルゼウスキー症候群、進行性核上性麻痺を参照、脊髄小脳性運動失調、全身硬直症候群、脳卒中、スタージ・ウェバー症候群、亜急性硬化性全脳炎、皮質下動脈硬化性脳症、表在性鉄沈着症、シデナム舞踏病、失神、共感覚、脊髄空洞症、遅発性ジスキネジア、テイ・サックス病、側頭動脈炎、脊髄切断症候群、トムセン病、胸郭出口症候群、疼痛性チック、トッド麻痺、トゥレット症候群、一過性虚血発作、感染性海綿状脳症、横断性脊髄炎、外傷性脳損傷、振戦、三叉神経痛、熱帯性痙性対麻痺、トリパノソーマ症、結節性硬化症、側頭動脈炎を含む血管炎、フォン・ヒッペル・リンドウ病（VHL）、Villuisck脊髄炎（VE）、フレンベルグ症候群、ウェルドニッヒ・ホフマン病、ウエスト症候群、むち打ち症、ウィリアムズ症候群、ウィルソン病、X連鎖性脊椎・球筋萎縮症、およびゼルウィガー症候群を含み得る。神経障害は、運動障害、例えば多系統萎縮症（MSA）を含み得る。

10

【0052】

いくつかの例では、疾患または状態は、自己免疫疾患を含み得る。いくつかの例では、自己免疫疾患は、急性播種性脳脊髄炎（ADEM）、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM／抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群（APS）、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全症、自己免疫性内耳炎（AIED）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性脾臓炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病（ATP）、自己免疫性甲状腺疾患、軸索性および神経性の神経障害、バロ病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャッスルマン病、セリアック病（非熱帯性）、シャーガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー（CIDP）、慢性再発性多巣性骨髄炎（CRMO）、チャグ・ストラウス症候群、癰疽性類天疱瘡／良性粘膜類天疱瘡、クロン病、コーガン症候群、寒冷凝集素病、先天性心ブロック、コックスサック性心筋炎、クレスト病、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性神経障害、皮膚筋炎、デービック病（視神経脊髄炎）、円板状狼瘡、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エヴァン症候群、線維筋痛症、線維索性肺胞炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレイブ病、ギランバレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノック・ショナイン紫斑病、妊娠性ヘルペス、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、IgA腎症、免疫調節性リポ蛋白質、封入体筋炎、インスリン依存性糖尿病（1型）、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性糖尿病、川崎症候群、ランバート・イートン症候群、白血球破碎性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線状IgA病（LAD）、ループス（SLE）、ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発性血管炎、混合性結合組織病（MCTD）、ムーレン潰瘍、ミュシャ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎（デビック病）、好中球減少症、眼球癰疽性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS（連鎖球菌に関連した小児自己免疫性精神神経疾患）、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、パーリ・ロンベルグ症候群、パーソンナージ・ターナー症候群、pars plantaris（末梢性ぶどう膜炎）、天疱瘡、末梢神経障害、動静脈性脳脊髄炎、悪性貧血、POEMSシンドローム、結節性多発動脈炎、I型、II型およびIII型多腺性自己免疫症候群、リウマチ性多発筋痛、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、純粹赤血球無形成症、レイノー現象、反射性交感神経性ジストロフィ

20

30

40

50

一、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜の線維化、リウマチ熱、リウマチ性関節炎、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、スロッグレン症候群、精子および精巣自己免疫症、スティッフパーソン症候群、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、交感神経性眼症、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞動脈、血小板減少性紫斑病（TPP）、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織病（UCTD）、ぶどう膜炎、血管炎、小水疱性皮膚症、白斑、もしくはヴェゲナー肉芽腫症、または、慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、カドミウム性心筋症、心筋炎、自己免疫性多発性内分泌症候群Ⅰ型（APS-I）、嚢胞性線維症血管炎、後天性副甲状腺機能低下症、冠動脈疾患、落葉状天疱瘡、尋常性天疱瘡、ラスムッセン脳炎、自己免疫性胃炎、インスリン低血糖症候群（平田病）、B型インスリン抵抗性、表皮肥厚、全身性エリテマトーデス（SLE）、悪性貧血、治療抵抗性ライム関節炎、多発ニューロパシー、脱髓病、アトピー性皮膚炎、自己免疫性甲状腺機能低下症、白斑、甲状腺関連眼症、自己免疫性セリアック病、ACTH欠乏症、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、全身性硬化症、進行性全身性硬化症、限局性強皮症、原発性抗リン脂質症候群、慢性特発性蕁麻疹、結合組織症候群、壊死性糸球体腎炎、および半月体形成性糸球体腎炎（NCGN）、全身性血管炎、レイノー症候群、慢性肝疾患、臓器リーシュマニア症、自己免疫性C1欠乏症、膜増殖性糸球体腎炎（MPGN）、凝固時間の延長、免疫不全症、アテローム性動脈硬化症、神経障害、腫瘍随伴性天疱瘡、腫瘍随伴性スティッフマン症候群、腫瘍随伴性脳脊髄炎、亜急性自律神経障害、がん関連網膜症、傍腫瘍性オプソクロノス・ミオクロノス失調症、下部運動ニューロン症候群、およびランバート・イートン筋無力症候群を含み得る。

10

20

【0053】

いくつかの例では、疾患または状態は、エイズ、炭疽菌、ボツリヌス中毒、ブルセラ症、軟性下疳、クラミジア感染症、コレラ、コクシジオイデス症、クリプトスポリジウム症、サイクロスポリア症、ジフテリア、エーリキア症、アルボウイルス脳炎、腸管出血性大腸菌、ジアルジア症、淋病、デング熱、ヘモフィルス・インフルエンザ、ハンセン病（らい病）、ハンタウイルス肺症候群、溶血性尿毒症症候群、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、ヒト免疫不全ウイルス、レジオネラ症、リステリア症、ライム病、マラリア、麻疹髄膜炎菌感染症、おたふくかぜ、百日ぜき（百日ぜき）、ペスト、麻痺性小児骨髄炎、鸚鵡病、Q熱、狂犬病、ロッキー山発疹熱、風疹、先天性風疹症候群、赤痢、天然痘、溶連菌感染症（侵襲性A群）、溶連菌性毒性ショック症候群、溶連菌性肺炎、梅毒、破傷風、毒素ショック症候群、旋毛虫症、結核、野兔病、腸チフス熱、バンコマイシン中間耐性黄色ブドウ球菌、水痘、黄熱病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（vCJD）、エボラ出血熱、エキノコックス症、ヘンドラウイルス感染、ヒトサル痘、A型インフルエンザ、B型インフルエンザ、H5N1、ラッサ熱、マール出血熱、ニパウイルス、オニオン熱、リフトバレー熱、ヘルペス、HIV、HCV遺伝子型1、HCV遺伝子型2、HCV遺伝子型3、HCV遺伝子型4、HCV遺伝子型5、HCV遺伝子型6、SARS-CoV-2（COVID-19）、SARS-CoV（SARS）、MERS-CoV（MERS）、229Eコロナウイルス、NL63コロナウイルス、OC43コロナウイルス、CoV-HKU1（HKU1）、アルファコロナウイルス、ベータコロナウイルス、ベネズエラ馬脳炎、およびウエストナイルウイルスを含み得る。

30

40

【0054】

いくつかの例では、疾患または状態は、線維化疾患、瘢痕化疾患またはその両方を含み得る。いくつかの例では、線維症疾患または瘢痕化疾患は、肺線維症、嚢胞性線維症、特発性肺線維症、放射線誘発性線維症、心筋線維症、橋渡し線維症、肝硬変、グリオーシス、動脈硬化、関節線維症、クローン病、デュプイトレン拘縮、ケロイド、縦隔線維症、骨髄線維症、パイロニー病、腎性全身線維症、進行性巨大線維症、後腹膜線維症、強皮症／全身性硬化症、癒着性被膜炎を含み得る。

【0055】

いくつかの例では、疾患または状態はがんを含み得る。いくつかの例では、がんは、甲

50

状腺がん、副腎皮質がん、肛門がん、再生不良性貧血、胆管がん、膀胱がん、骨がん、骨転移、中枢神経系（CNS）がん、末梢神経系（PNS）がん、乳がん、キャスルマン病、子宮頸がん、小児非ホジキンリンパ腫、リンパ腫、結腸および直腸がん、子宮内膜がん、食道がん、ユーイングファミリー腫瘍（例えば、ユーイング肉腫）、眼球がん、胆嚢がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛膜疾患、毛様細胞白血病、ホジキン病、カボジ肉腫、腎臓がん、喉頭がんおよび下咽頭がん、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、小児白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、肝臓がん、肺がん、肺カルチノイド腫瘍、非ホジキンリンパ腫、男性乳がん、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、骨髄増殖性疾患、鼻腔および副鼻腔がん、鼻咽頭がん、神経芽腫、口腔および中咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、陰茎がん、下垂体腫瘍、前立腺がん、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺がん、肉腫（成人の軟部組織がん）、メラノーマ皮膚がん、非黒色腫皮膚がん、胃がん、精巣がん、胸腺がん、子宮がん（例えば、子宮肉腫）、膣がん、外陰部がん、またはワルデンシュトレーム・マクログロブリン血症を含み得る。いくつかの例では、がんは、米国国立がん研究所（National Cancer Institute）（<https://www.cancer.gov/types>）が維持するリストから選択し得る。

10

【0056】

本明細書に開示されるような状態または疾患は、過増殖性障害を含み得る。悪性過増殖性障害は、低リスク群および中～高リスク群のようなリスク群に層別化し得る。過増殖性障害としては、がん、過形成、または腫瘍が挙げられ得るが、これらに限定されない。いくつかの例では、過増殖性がんは、乳腺の管状組織内の腺管癌、髄様癌、コロイド癌腫、管状癌、および炎症性乳がん等の乳がん；卵巣内腺癌、および卵巣から腹腔内へ移行した腺癌等の卵巣上皮性腫瘍を含む卵巣がん；子宮がん；扁平上皮癌や腺癌等の上皮性子宮頸癌等の子宮頸がん；腺癌、または骨に浸潤している腺癌から選択される前立腺がん等の前立腺がん；膵管組織中の類上皮癌腫、および膵管中の腺癌等の膵臓がん；膀胱の移行細胞癌、尿路上皮癌（移行細胞の癌腫）、膀胱を覆っている尿路上皮細胞の腫瘍、扁平上皮細胞癌、腺癌、および小細胞がん等の膀胱がん；急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、毛球性白血病、骨髄異形成、骨髄増殖性疾患、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、肥満細胞症、慢性リンパ性白血病（CLL）、多発性骨髄腫（MM）、および骨髄異形成症候群（MDS）等の白血病；骨がん；扁平上皮細胞癌、腺癌、大細胞未分化癌に分類され得る非小細胞肺がん（NSCLC）、および小細胞肺がん等の肺がん；基底細胞癌、黒色腫、扁平上皮癌に発展することもある皮膚疾患であり得る扁平上皮細胞癌および光線性角化症等の皮膚がん；眼球網膜芽細胞腫；皮膚または眼内（眼球）黒色腫；原発性肝がん（肝臓で始まるがん）；腎臓がん；びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、B細胞性免疫芽球性リンパ腫、小型非切れ込み細胞性リンパ腫等の自己免疫不全症候群（AIDS）関連リンパ腫；カボジ肉腫；B型肝炎ウイルス（HBV）、C型肝炎ウイルス（HCV）、肝細胞癌等のウイルス誘発性がん；ヒトリンパ球向性ウイルス1型（HTLV-1）と成人T細胞白血病／リンパ腫；およびヒト乳頭腫ウイルス（HPV）と子宮頸がん；グリオーマ（星細胞腫、退形成性星細胞腫、多形性膠芽腫）、オリゴデンドログリオーマ、上衣腫、髄膜腫、リンパ腫、神経鞘腫、髄芽腫を含む、原発性脳腫瘍等の中枢神経系（CNS）がん；音響神経腫、神経線維腫や神経鞘腫等の悪性末梢神経鞘腫瘍（MPNST）、悪性線維性細胞腫、悪性線維性組織球腫、悪性髄膜腫、悪性中皮腫、悪性混合ミューラー腫瘍等の末梢神経系（PNS）がん；下咽頭がん、喉頭がん、上咽頭がん、中咽頭がん等の口腔がんおよび中咽頭がん；リンパ腫、胃間葉系腫瘍、カルチノイド腫瘍等の胃がん；セミノーマと非セミノーマを含む胚細胞腫瘍（GCT）、ライディッヒ細胞腫瘍とセルトリ細胞腫瘍を含む生殖腺間質腫瘍等の精巣がん；胸腺腫、胸腺癌腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、カルチノイド、カルチノイド腫瘍等の胸腺がん；直腸がん；および結腸がんであり得る。いくつかの例では、本開示の方法によって層別化、分類、特徴付け、または診断される疾患は、例えば濾胞腺腫、ヒュルトレ細胞腺腫、リンパ球性甲状腺炎、および甲状腺過形成が挙げら

20

30

40

50

れるがこれらに限定されない良性甲状腺障害等の甲状腺障害を含むが、これに限定されない可能性がある。いくつかの例では、本開示の方法によって層別化、分類、特徴付け、または診断される疾患は、例えば濾胞癌、甲状腺乳頭癌の濾胞変異体、髄質癌、および乳頭癌等の悪性甲状腺障害を含むが、これらに限定されない可能性がある。

【0057】

本開示の状態または疾患は、遺伝的障害を含み得る。遺伝的障害は、遺伝子または染色体の異常に起因する疾患であり得る。遺伝的障害は、単一遺伝的障害と多因子性および多遺伝的（複合）障害の2つのカテゴリーに分類され得る。単一遺伝的障害は、1種の変異した遺伝子の結果である可能性がある。単一遺伝的障害の遺伝としては、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝、X連鎖優性遺伝、X連鎖劣性遺伝、Y連鎖遺伝、ミトコンドリア遺伝等が挙げられ得るが、これらに限定されるものではない。いくつかの例では、常染色体優性障害に罹患するためには、遺伝子の変異したコピーが1個必要である。常染色体優性障害の例としては、ハンチントン病、神経線維腫症1、マルファン症候群、遺伝性非ポリポーシス結腸直腸がん、または遺伝性多発性外骨腫が挙げられるが、これらに限定されない。常染色体劣性障害では、対象が常染色体劣性障害に罹患するために、遺伝子の2個のコピーが変異し得る。この種の障害の例としては、嚢胞性線維症、鎌状赤血球症（部分鎌状赤血球症でもある）、テイサックス病、ニーマンピック病、または脊髄性筋萎縮症を挙げることができるが、これらに限定されない。X連鎖性優性疾患は、X連鎖性低リン血症くる病等の、X染色体上の遺伝子の変異に起因する疾患である。レット症候群、2型脳下垂体、アイカルディ症候群等のX連鎖性優性疾患は、致死性である可能性がある。また、X連鎖性劣性疾患も、X染色体上の遺伝子の変異に起因する。この種の障害の例としては、血友病A、デュシェンヌ筋ジストロフィー、赤緑色覚異常、筋ジストロフィー、男性型脱毛症を挙げることができるが、これらに限定されない。Y連鎖障害は、Y染色体の変異に起因する。例としては、男性不妊症および耳介多毛症を挙げることができるが、これらに限定されない。ミトコンドリア遺伝の遺伝的障害は、母性遺伝としても知られており、レーバー遺伝性視神経症のようなミトコンドリアDNAの遺伝子に適用され得る。

10

20

【0058】

また、遺伝的障害は、複合型、多因子型、多遺伝子型の場合がある。多因子遺伝性疾患は、複数の遺伝子の影響に加え、生活習慣および環境因子との組み合わせと関連している可能性がある。複雑な遺伝的障害は、家族内で群発することがあるが、明確な遺伝のパターンを有していない。多因子性または多遺伝性疾患としては、心臓病、糖尿病、喘息、自閉症、多発性硬化症等の自己免疫疾患、がん、纖毛虫症、口蓋裂、高血圧、炎症性腸疾患、精神遅滞、肥満を挙げることができる。

30

【0059】

他の遺伝的障害は、1p36欠失症候群、21-ヒドロキシラーゼ欠損症、22q11.2欠失症候群、無セルロプラスミン血症、軟骨無発生症、II型、軟骨無形成症、急性間欠性ポルフィリン症、アデニルコハク酸リアーゼ欠損症、副腎白質ジストロフィー、アレキサンダー病、アルカプトン尿症、アルファ-1アンチトリプシン欠損症、アルストレム症候群、アルツハイマー病（1型、2型、3型および4型）、エナメル質形成不全症、筋萎縮性側索硬化症、筋萎縮性側索硬化症2型、筋萎縮性側索硬化症4型、筋萎縮性側索硬化症4型、アンドロゲン不応症、貧血、アンジェルマン症候群、アペール症候群、失調性-血管拡張症、ベア・スティーブンソン・カティスジロータ症候群、ベンジャミン症候群、ベータサラセミア、ピオチミダーゼ欠損症、バート・ホッグ・デュベ症候群、膀胱がん、ブルーム症候群、骨疾患、乳がん、弯曲肢異形成症、カナバン病、がん、セリアック病、慢性肉芽腫性疾患（CGD）、シャルコー・マリー・トゥース病、シャルコー・マリー・トゥース病1型、シャルコー・マリー・トゥース病4型、シャルコー・マリー・トゥース病2型、シャルコー・マリー・トゥース病4型、コケイン症候群、コフィン・ローリー症候群、コラーゲン異常症II型およびXI型、結腸直腸がん、先天性精索静脈瘤欠如症、先天性両側性精管欠乏症、先天性糖尿病、先天性赤芽球性ポルフィリン症、先天性心疾患、先天性甲状腺機能低下症、結合組織病、カウデン症候群、猫鳴き症候群、クローン

40

50

病、線維硬化症、クルーゾン症候群、クルーゾン皮膚骨格症候群、嚢胞性線維症、デ・グルーチー症候群、退行性神経疾患、デント病、発達障害、ディ・ジョージ症候群、遠位型脊髄性筋萎縮症Ⅴ型、ダウン症候群、小人症、エーラスダンロス症候群、エーラスダンロス症候群関節軟骨症型、エーラスダンロス症候群古典型、エーラスダンロス症候群皮膚鞘胞型、エーラスダンロス症候群脊椎側彎症型、血管型、骨髄性ロトポルフィリン症、ファブリー病、顔面の傷害・障害、第Ⅴ因子ライデン血栓症、家族性腺腫性ポリポーシス、家族性自律神経障害、ファンコニー貧血、FG症候群、脆弱X症候群、フリードライヒ失調症、フリードライヒ失調症、G6PD欠損症、ガラクトース血症、ゴーシェ病（1型、2型および3型）、遺伝性脳障害、グリシン脳症、2型ヘモクロマトーシス、4型ヘモクロマトーシス、ハーレクイン魚鱗癬、頭部および脳の奇形、聴覚障害と聴覚消失、小児の聴覚障害、ヘモクロマトーシス（新生児、2型、3型）、血友病、骨髄肝性ポルフィリン症、遺伝性コプロポルフィリン症、遺伝性多発性外骨腫、圧迫性神経麻痺の遺伝性神経障害、遺伝性非ポリポーシス結腸直腸がん、ホモシスチン尿症、ハンチントン病、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群、高シュウ酸尿、原発性、高フェニルアラニン血症、低軟骨形成症、軟骨低形成、idic15、色素失調症、幼児性ゴーシェ病、小児期発症の上行性遺伝性痙攣性麻痺、不妊症、ジャクソン・ワイズ症候群、ジュベール症候群、若年性原発性側索硬化症、ケネディ病、クラインフェルター症候群、クニースト異形成、クラッペ病、学習障害、レッシュ・ナイハン症候群、白質ジストロフィー、リ・フラウメニ症候群、リポ蛋白リパーゼ欠損症、家族性男性生殖器障害、マルファン症候群、マクローン・オルブライト症候群、マクラウド症候群、地中海熱、家族性メンケス病、メンケス症候群、代謝異常、メトヘモグロビン血症ベータグロビン型、メトヘモグロビン血症、先天性メトヘモグロビン血症、メチルマロン酸血症、ミクロ症候群、小頭症、運動障害、モワット・ウィルソン症候群、ムコ多糖症（MPSⅠ）、ミューンケ症候群、筋ジストロフィー、デュシェンヌ型およびベッカー型筋ジストロフィー（Muscular dystrophy, Duchenne and Becker type）、デュシェンヌ型およびベッカー型筋ジストロフィー（muscular dystrophy, Duchenne and Becker types）、筋緊張性ジストロフィー、筋緊張性ジストロフィー1型および2型、新生児ヘモクロマトーシス、神経線維腫症、神経線維腫症1、神経線維腫症2、神経線維腫症Ⅰ型、神経線維腫症Ⅱ型、神経系疾患、神経筋障害、ニーマン・ピック病、非ケトン性高グリシン血症、非症候性難聴、非症候性難聴常染色体劣性遺伝、ヌーナン症候群、骨形成不全症（Ⅰ型およびⅡ型）、耳介骨格系形成不全症、パントテン酸キナーゼ関連神経変性症、パタウ症候群（トリソミー13）、ペンドレッド症候群、ポイツ・イエガース症候群、ファイファー症候群、フェニルケトン尿症、ポルフィリン症、晩発性皮膚ポルフィリン症、プラダー・ウィリー症候群、原発性肺高血圧症、プリオン病、早老症、プロピオン酸血症、プロテインC欠損症、プロテインS欠損症、疑似ゴーシェ病、弾性線維性仮性黄色腫、網膜の障害、網膜芽細胞腫、網膜芽細胞腫FAフリードライヒ運動失調症、レット症候群、ルビンシュタイン・タイビ症候群、サンドホフ病、感覚・自律神経障害Ⅲ型、鎌状赤血球貧血、骨格筋の再生、皮膚の色素沈着障害、スミス・レムリ・オピッツ症候群、言語障害、コミュニケーション障害、脊髄性筋萎縮症、脊髄球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳性運動失調症、脊椎骨端骨異形成症、ストラドウィック型、先天性棘突起骨格異形成症、スティクラー症候群、スティクラー症候群COL2A1、ティーサックス病、テトラヒドロピオプテリン欠損症、チアミン反応性巨赤芽球性貧血、糖尿病、感音性難聴を伴う致死性異形成、甲状腺の疾患、トゥレット症候群、トリーチャー・コリンズ症候群、トリプルX症候群、結節性硬化症、ターナー症候群、アッシャー症候群、異型ポルフィリン症、フォン・ヒッペル・リンドウ病、ヴァールデンブルグ症候群、ヴァイセンバッハ・ツヴァイミューラー症候群、ウィルソン病、ウォルフ・ヒルシュホーン症候群、色素性乾皮症、X連鎖性重症複合免疫不全症、X連鎖性鉄芽球性貧血、またはX連鎖性脊髄球筋萎縮症を含み得るが、これらに限定されない可能性がある。

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、第2の療法としては、化学療法、放射線、骨髄移植、免疫療法、ホルモン療法、凍結療法、外科的処置（腫瘍切除等）またはそれらのあらゆる組み合わせを挙げることができる。第2の療法は、低分子等の医薬組成物の投与を含み得る。第2の療法は、例えば、インターフェロン、オセルタミビル、リバビリン、ダクラタスビル、ソホスブビル、ベルパタスビル、ボキシラプレスビル、レンデシビル、インドメタシン、またはそれらのあらゆる組み合わせのような1種または複数種の抗ウイルス剤等の医薬組成物の投与を含み得る。第2の療法は、1種または複数種の抗生物質等の医薬組成物の投与を含み得る。第2の療法は、筋弛緩剤、抗うつ剤、ステロイド、オピオイド、大麻ベースの治療薬、アセトアミノフェン、非ステロイド性抗炎症剤、神経障害性薬剤、大麻、プロゲスチン、プロゲステロン、またはそれらのあらゆる組み合わせの投与を含み得る。神経障害性薬剤は、ガバペンチンを含み得る。非ステロイド性抗炎症剤は、ナプロキセン、イブプロフェン、COX-2阻害剤、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。第2の療法は、生物学的薬剤の投与、細胞療法、再生医療療法、組織工学的アプローチ、幹細胞移植、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。第2の療法は、医療処置を含み得る。医療処置は、硬膜外注射（ステロイド注射等）、鍼治療、運動、理学療法、超音波、外科的療法、カイロプラクティック操作、整骨操作、化学的髄核融解術、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。第2の療法は、呼吸補助装置または操作された呼吸器の使用を含み得る。第2の療法は、タンパク質、幹細胞、臍帯血細胞、臍帯組織、組織、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の再生療法または免疫療法を実施することを含み得る。第2の療法はバイオシミラーを含み得る。

10

20

【0061】

本明細書で使用される場合、「断片」という用語は、配列の一部であり、完全長配列よりも短くなってもよい部分集合であり得る。断片は、遺伝子の一部であり得る。断片は、ペプチドまたはタンパク質の一部であり得る。断片は、アミノ酸配列の一部であり得る。断片は、オリゴヌクレオチド配列の一部であり得る。断片は、長さが約20、30、40、50アミノ酸未満であり得る。断片は、長さが約2、5、10、20、30、40、50オリゴヌクレオチド未満であり得る。

【0062】

本明細書に記載される組成物および方法は、1種または複数種の標的の改善されたノックダウン（少なくとも部分的または完全に）を通じて治療効果を改善し得るガイド鎖に対する変異または修飾を特定する方法を含む。パッセンジャー鎖に対する配列修飾も、本明細書に記載される。1つまたは複数の両鎖に対する化学修飾も、本明細書に記載される。本明細書に記載の構築物または模倣体は、複数のmRNA標的のうち好ましいmRNA標的に対する標的認識を抑制し得る、ガイド鎖における1つまたは複数の配列変更を含み得る。そのような構築物または模倣体は、安定性を高め、免疫刺激を少なくとも部分的に低減または排除し、薬理活性を改善し、1つまたは複数のポリ標的効果を保持し、またはそれらのあらゆる組み合わせであり得る。

30

【0063】

本明細書に記載の組成物および方法は、同等のmiR（例えば、miR-30、miR-29、miR-26、miR-27、miR-101、miR-145、miR-205、miR-338、およびmiR-375等）と比較して、安定性、安全性、および/または活性が改善されたmiR模倣体（例えば、miR-30、miR-29、miR-26、miR-27、miR-101、miR-145、miR-205、miR-338、およびmiR-375模倣体）を含み得る。

40

【0064】

模倣体は、知能設計、1種または複数種の化学修飾パターンのテスト、模倣体の相補性を向上させ、または模倣体の二重鎖構造を変更し得るパッセンジャー鎖の配列変異、および活性に利益をもたらし得るガイド鎖への配列変異を用いて特定し得る。いくつかの例では、ガイド鎖の配列変異は、天然のガイド配列の使用を超えて、模倣体を使用することに移行し得る。例えば、配列の変更により、臨床標的等の好ましい下流標的に向けてガイド

50

鎖の活性を調整し得る。

miRNAは配列類似性に基づいてファミリーに分類されるため、変異配列は「非天然」または「人工」のmiRNAファミリーメンバーであり得る。

【0065】

マイクロRNA (miRNA) のmiR-30ファミリーは、ヒトでは5種のファミリーメンバー (すなわち、miR-30a、miR-30b、miR-30c-1、miR-30c-2、miR-30d、およびmiR-30e) を含み得る。このファミリーは、いくつかのタイプのがんにおいて腫瘍抑制活性を有しており、線維化、瘢痕化、またはその両方を抑制し得る。例えば、miR-30の発現制御は、再発性頭頸部がん患者の予後不良と関連する可能性がある。このように、miR-30ファミリーは、miRNA補充療法のための理想的な候補である。しかしながら、miR-30模倣体を新規薬剤候補として開発するには、治療的適用のための薬理学的障壁、すなわち (i) 生体液中に存在する様々なヌクレアーゼによって容易に分解されてしまうという、もともと有している代謝不安定性； (ii) インビボで毒性をもたらし得る自然免疫応答を引き起こす細胞受容体 (すなわちTLRファミリー、RIG-I様受容体、その他のRNAセンサー) の天然のリガンドとなりうる配列パターン (例えばCpGモチーフ) および構造を含んでいること； (iii) 天然のmiRNA配列が模倣体に本質的に最適化されていない可能性があるため、効力および／または有効性に関する薬理作用が乏しいこと； (iv) 病的または標的組織へのインビボでの送達； (v) またはそれらのあらゆる組み合わせを克服することを含み得る。

10

20

【0066】

マイクロRNA (miRNA) のmiR-29ファミリーは、ヒトでは4種のファミリーメンバー (すなわち、miR-29a、miR-29b-1、miR-29b-2、およびmiR-29c) を含み得る。このファミリーは、何種類かのがんにおける腫瘍抑制活性、抗ウイルス活性と、線維化抑制活性、瘢痕化抑制活性またはその両方の抑制活性とを有し得る。例えば、miR-29の過剰発現は、細胞培養におけるC型肝炎ウイルスの存在量を減少させることと関連し得る。このように、miR-29ファミリーはmiRNA補充療法にとって理想的な候補である。しかしながら、miR-29模倣体を新規薬剤候補として開発するには、治療的適用のための薬理学的障壁、すなわち (i) 生体液中に存在する様々なヌクレアーゼによって容易に分解されてしまうという、もともと有している代謝不安定性； (ii) インビボで毒性をもたらし得る自然免疫応答を引き起こす細胞受容体 (すなわちTLRファミリー、RIG-I様受容体、その他のRNAセンサー) の天然のリガンドとなりうる配列パターン (例えばCpGモチーフ) および構造を含んでいること； (iii) 天然のmiRNA配列が模倣体に本質的に最適化されていない可能性があるため、効力および／または有効性に関する薬理作用が乏しいこと； (iv) 病的または標的組織へのインビボでの送達； (v) またはそれらのあらゆる組み合わせを克服することを含み得る。

30

【0067】

さらに、高度な化学修飾および／またはsiRNA設計に基づく従来の修飾パターンの導入により、複数の転写産物をサイレンシングする多面的効果が低下し、miRNA模倣活性に悪影響を及ぼすことがある。化学修飾は、下流の天然標的の配列認識を変化させ得る。「miRNAのような」オフターゲット効果を低減し、意図した標的に対するsiRNAの特異性を向上させるためには望ましいことであるが、複数の転写産物を意図的に標的として開発されたmiRNA模倣体には望ましくない場合がある。

40

オリゴヌクレオチドは糖修飾を含み得る。オリゴヌクレオチドは、複数の糖修飾を含み得る。糖修飾は、グルコースまたはその誘導体を含み得る。糖修飾は、リボースまたはデオキシリボースを含み得る。糖修飾は、単糖、二糖、三糖、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。

【0068】

オリゴヌクレオチドは、化学修飾を含み得る。オリゴヌクレオチドは、複数の化学修飾

50

を含み得る。オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの一部、例えば末端に複数の化学修飾を含み得る。化学修飾は、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、アミド基、エステル基、これらのうちのいずれか1種以上、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。化学修飾は、1-メチル-アデノシン、1-メチル-グアノシン、1-メチル-イノシン、2, 2-ジメチル-グアノシン、2, 6-ジアミノプリン、2'-アミノ-2'-デオキシアデノシン、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン、2'-アミノ-2'-デオキシグアノシン、2'-アミノ-2'-デオキシウリジン、2-アミノ-6-クロロプリンリボシド、2-アミノプリンリボシド、2'-アラアデノシン、2'-アラシチジン、2'-アラウリジン、2'-アジド-2'-デオキシアデノシン、2'-アジド-2'-デオキシシチジン、2'-アジド-2'-デオキシグアノシン、2'-アジド-2'-デオキシウリジン、2-クロロアデノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシアデノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシシチジン、2'-フルオロ-2'-デオキシグアノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシウリジン、2'-フルオロチミジン、2-メチル-アデノシン、2-メチル-グアノシン、2-メチル-チオ-N6-イソペネニル-アデノシン、2'-O-メチル-2'-アミノアデノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシアデノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシシチジン、2'-O-メチル-2'-デオキシグアノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシウリジン、2'-O-メチル-5-メチルウリジン、2'-O-メチルイノシン、2'-O-メチルプソイドウリジン、2-チオシチジン、2-チオシチジン、3-メチル-シチジン、4-アセチル-シチジン、4-チオウリジン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)-ウリジン、5, 6-ジヒドロウリジン、5-アミノア 20
 リルシチジン、5-アミノアリル-デオキシウリジン、5-ブロモウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオ-ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウラシル、5-クロロ-a r a-シトシン、5-フルオロ-ウリジン、5-ヨードウリジン、5-メトキシカルボニルメチル-ウリジン、5-メトキシ-ウリジン、5-メチル-2-チオ-ウリジン、6-アザシチジン、6-アザウリジン、6-クロロ-7-デアザ-グアノシン、6-クロロプリンリボシド、6-メルカプト-グアノシン、6-メチル-メルカプトプリンリボシド、7-デアザ-2'-デオキシ-グアノシン、7-デアザアデノシン、7-メチル-グアノシン、8-アザアデノシン、8-ブロモ-アデノシン、8-ブ 30
 ロモ-グアノシン、8-メルカプト-グアノシン、8-オキソグアノシン、ベンズイミダゾールリボシド、ベータ-D-マンノシル-ケオシン、ジヒドロウリジン、イノシン、N 1-メチルアデノシン、N6-([6-アミノヘキシル] カルバモイルメチル)-アデノシン、N6-イソペンテニルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N7-メチルキサントシン、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ピューロマイシン、ケオシン、ウラシル-5-オキシ酢酸、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ワイプトキソシン、キサントシン、キシロアデノシンまたはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。

【0069】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、天然の塩基または糖に対して、操作されたオリゴヌクレオチドの塩基または糖への化学修飾のような化学修飾を含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、複数の化学修飾のような、1以上の化学修飾を含み得る。操作されたオリゴヌクレオチドの塩基の一部または糖の一部は、1個または複数の化学修飾を含み得る。いくつかの例では、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%またはそれ以上の、操作されたオリ 40
 ゴヌクレオチドの塩基または糖を化学修飾し得る。

【0070】

いくつかの例では、リボヌクレオチド（または、いくつかの例ではデオキシヌクレオチド）は、本明細書に記載の化学修飾によって、操作されたオリゴヌクレオチドの骨格を形成する塩基成分、糖（リボース）成分、リン酸成分、またはそれらのあらゆる組み合わせ等を修飾し得る。

【0071】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、複数のRNA配列のうちのRN 50

A 配列に対する特異性を増大させるように操作または修飾し得る。操作されたオリゴヌクレオチドは、複数の RNA 配列のうちの RNA 配列に対する特異性を著しく増大させるように修飾し得る。増大した特異性は、操作されていない同等のオリゴヌクレオチドと比較し、または異なる方法で操作または修飾された同等のオリゴヌクレオチドと比較し得る。特異性は、同等のオリゴヌクレオチドと比較して、少なくとも約 2 %、5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % またはそれ以上で増大し得る。操作されたオリゴヌクレオチドは、第 2 の RNA 配列と比較して第 1 の RNA 配列に対する特異性を増大させるように操作または修飾し得る。

【0072】

10

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載の疾患または状態に関与する遺伝子、例えば、がん遺伝子をコードする RNA 配列に対して選択的であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、複数の RNA 配列のうち、がん遺伝子をコードする RNA 配列に対して選択的であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、複数の RNA 配列のうち、がん遺伝子等の遺伝子をコードする RNA 配列に対して特異性が増大している場合がある。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、複数の RNA 配列のうち、ITGA6、SERPINE1、EGFR、またはそれらのあらゆる組み合わせをコードする RNA 配列に対して選択的であり得る。

【0073】

20

本明細書で使用される化学修飾ヌクレオチドは、グアノシン、ウリジン、アデノシン、チミジンまたはシトシンであり得、限定を意味するものではないが、例えばアセチル化、メチル化、ヒドロキシル化等によって化学的に変化した、あらゆる天然に存在し、または天然に存在しないグアノシン、ウリジン、アデノシン、チミジンまたはシチジン、例えば、1-メチル-アデノシン、1-メチル-グアノシン、1-メチル-イノシン、2,2-ジメチル-グアノシン、2,6-ジアミノプリン、2'-アミノ-2'-デオキシアデノシン、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン、2'-アミノ-2'-デオキシグアノシン、2'-アミノ-2'-デオキシウリジン、2'-アミノ-6-クロロプリンリボシド、2'-アミノプリンリボシド、2'-アラアデノシン、2'-アラシチジン、2'-アラウリジン、2'-アジド-2'-デオキシアデノシン、2'-アジド-2'-デオキシシチジン、2'-アジド-2'-デオキシグアノシン、2'-アジド-2'-デオキシウリジン、2-クロロアデノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシアデノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシシチジン、2'-フルオロ-2'-デオキシグアノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシウリジン、2'-フルオロチミジン、2-メチル-アデノシン、2-メチル-グアノシン、2-メチル-チオ-N6-イソペネニル-アデノシン、2'-O-メチル-2'-アミノアデノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシアデノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシシチジン、2'-O-メチル-2'-デオキシグアノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシウリジン、2'-O-メチル-5-メチルウリジン、2'-O-メチルイノシン、2'-O-メチルブソイドウリジン、2-チオシチジン、2-チオ-シチジン、3-メチル-シチジン、4-アセチル-シチジン、4-チオウリジン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)-ウリジン、5,6-ジヒドロウリジン、5-アミノアシルシチジン、5-アミノアシル-デオキシウリジン、5-プロモウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオ-ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウラシル、5-クロロ-a r a-シトシン、5-フルオロ-ウリジン、5-ヨードウリジン、5-メトキシカルボニルメチル-ウリジン、5-メトキシ-ウリジン、5-メチル-2-チオ-ウリジン、6-アザシチジン、6-アザウリジン、6-クロロ-7-デアザ-グアノシン、6-クロロプリンリボシド、6-メルカプト-グアノシン、6-メチル-メルカプトプリンリボシド、7-デアザ-2'-デオキシ-グアノシン、7-デアザアデノシン、7-メチル-グアノシン、8-アザアデノシン、8-プロモ-アデノシン、8-プロモ-グアノシン、8-メルカプト-グアノシン、8-オキソグアノシン、ベンズイミダゾールリボシド、ベータ-D

40

50

ーマンノシルーケオシン、ジヒドロウリジン、イノシン、N1-メチルアデノシン、N6-（〔6-アミノヘキシル〕カルバモイルメチル）-アデノシン、N6-イソペンテニルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N7-メチル-キサントシン、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ピューロマイシン、ケオシン、ウラシル-5-オキシ酢酸、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウィプトキソシン、キサントシンまたはキシローアデノシンであり得る。このようなバリエーションの調製は、例えば米国特許第4,373,071号、同第4,401,796号、同第4,415,732号、同第4,458,066号、同第4,500,707号、同第4,668,777号、同第4,973,679号、同第5,047,524号、同第5,132,418号、同第5,153,319号、同第5,262,530号または同第5,700,642号から当業者に周知である。

10

【0074】

いくつかの例では、操作されたヌクレオチドは、2-アミノ-6-クロロプリンリボシド-5'-三リン酸、2-アミノプリンリボシド-5'-三リン酸、2-アミノアデノシン-5'-トリホスフェート、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン-トリホスフェート、2-チオシチジン-5'-トリホスフェート、2-チオウリジン-5'-トリホスフェート、2'-フルオロチミジン-5'-トリホスフェート、2'-O-メチル-イノシン-5'-トリホスフェート、4-チオウリジン-5'-トリホスフェート、5-アミノアリルシチジン-5'-トリホスフェート、5-アミノアリルウリジン-5'-トリホスフェート、5-ブロモシチジン-5'-トリホスフェート、5-ブロモウリジン-5'-トリホスフェート、5-ブロモ-2'-デオキシシチジン-5'-トリホスフェート、5-ブロモ-2'-デオキシウリジン-5'-トリホスフェート、5-ヨードシチジン-5'-トリホスフェート、5-ヨード-2'-デオキシシチジン-5'-トリホスフェート、5-ヨードウリジン-5'-トリホスフェート、5-ヨード-2'-デオキシウリジン-5'-トリホスフェート、5-メチルシチジン-5'-トリホスフェート、5-メチルウリジン-5'-トリホスフェート、5-プロピニル-2'-デオキシシチジン-5'-トリホスフェート、5-プロピニル-2'-デオキシウリジン-5'-トリホスフェート、6-アザシチジン-5'-トリホスフェート、6-アザウリジン-5'-トリホスフェート、6-クロロプリネリボシド-5'-トリホスフェート、7-デアザアデノシン-5'-トリホスフェート、7-デアザグアノシン-5'-トリホスフェート、8-アザアデノシン-5'-トリホスフェート、8-アジドアデノシン-5'-トリホスフェート、ベンゾイミダゾール-リボシド-5'-トリホスフェート、N1-メチルアデノシン-5'-トリホスフェート、N1-メチルグアノシン-5'-トリホスフェート、N6-メチルアデノシン-5'-トリホスフェート、O6-メチルグアノシン-5'-トリホスフェート、プソイドウリジン-5'-トリホスフェート、ピューロマイシン-5'-トリホスフェート、キサントシン-5'-トリホスフェート、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の化学修飾ヌクレオチドを含み得る。

20

30

【0075】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、ピリジン-4-オンリボヌクレオシド、5-アザ-ウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオウリジン、4-チオ-プソイドウリジン、2-チオ-プソイドウリジン、5-ヒドロキシウリジン、3-メチルウリジン、5-カルボキシメチル-ウリジン、1-カルボキシメチル-プソイドウリジン、5-プロピニル-ウリジン、1-プロピニル-プソイドウリジン、5-タウリノメチルウリジン、1-タウリノメチル-プソイドウリジン、5-タウリノメチル-2-チオ-ウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-ウリジン、5-メチル-ウリジン、1-メチル-プソイドウリジン、4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、ジヒドロウリジン、ジヒドロプソイドウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-プソイドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の化学修

40

50

飾ヌクレオチドを含み得る。

【0076】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、5-アザ-シチジン、シュードイソシチジン、3-メチル-シチジン、N4-アセチルシチジン、5-ホルミルシチジン、N4-メチルシチジン、5-ヒドロキシメチルシチジン、1-メチル-プソイドイソシチジン、ピロロ-シチジン、ピロロ-プソイドイソシチジン、2-チオ-シチジン、2-チオ-5-メチル-シチジン、4-チオ-プソイドイソシチジン、4-チオ-1-メチル-プソイドイソシチジン、4-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドイソシチジン、1-メチル-1-デアザ-プソイドイソシチジン、ゼブラリン、5-アザ-ゼブラリン、5-メチル-ゼブラリン、5-アザ-2-チオ-ゼブラリン、2-チオ-ゼブラリン、2-メトキシ-シチジン、2-メトキシ-5-メチル-シチジン、4-メトキシ-プソイドイソシチジン、4-メトキシ-1-メチル-プソイドイソシチジン、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の化学修飾ヌクレオチドを含み得る。

10

【0077】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、2-アミノプリン、2,6-ジアミノプリン、7-デアザ-アデニン、7-デアザ-8-アザ-アデニン、7-デアザ-2-アミノプリン、7-デアザ-8-アザ-2-アミノプリン、7-デアザ-2,6-ジアミノプリン、7-デアザ-8-アザ-2,6-ジアミノプリン、1-メチルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N6-イソペンテニルアデノシン、N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、2-メチルチオ-N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、N6-グリシニルカルバモイルアデノシン、N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、2-メチルチオ-N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、N6,N6-ジメチルアデノシン、7-メチルアデニン、2-メチルチオ-アデニン、2-メトキシ-アデニン、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の化学修飾ヌクレオチドを含み得る。

20

【0078】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、イノシン、1-メチル-イノシン、ワイオシン、ワイプトシン、7-デアザグアノシン、7-デアザ-8-アザグアノシン、6-チオ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-8-アザ-グアノシン、7-メチル-グアノシン、6-チオ-7-メチル-グアノシン、7-メチルイノシン、6-メトキシ-グアノシン、1-メチルグアノシン、N2-メチルグアノシン、N2,N2-ジメチルグアノシン、8-オキソ-グアノシン、7-メチル-8-オキソ-グアノシン、1-メチル-6-チオ-グアノシン、N2-メチル-6-チオ-グアノシン、N2,N2-ジメチル-6-チオ-グアノシン、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の化学修飾ヌクレオチドを含み得る。

30

【0079】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、6-アザ-シチジン、2-チオ-シチジン、アルファ-チオ-シチジン、プソイド-イソ-シチジン、5-アミノアリル-ウリジン、5-ヨード-ウリジン、N1-メチル-プソイドウリジン、5,6-ジヒドロウリジン、アルファ-チオ-ウリジン、4-チオ-ウリジン、6-アザ-ウリジン、5-ヒドロキシ-ウリジン、デオキシ-チミジン、5-メチル-ウリジン、ピロロ-シチジン、イノシン、アルファ-チオ-グアノシン、6-メチル-グアノシン、5-メチル-シトジン、8-オキソ-グアノシン、7-デアザ-グアノシン、N1-メチル-アデノシン、2-アミノ-6-クロロ-プリン、N6-メチル-2-アミノ-プリン、プソイド-イソ-シチジン、6-クロロ-プリン、N6-メチル-アデノシン、アルファ-チオ-アデノシン、8-アジド-アデノシン、7-デアザ-アデノシン、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の化学修飾ヌクレオチドを含み得る。

40

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、2'位で化学修飾され得る、化学修飾されたヌクレオチドを含み得る。化学修飾されたオリゴヌクレオチドは、2'炭素原子において置換基を含むことが可能であり、この置換基は、ハロゲン、アルコキシ基、

50

水素、アリールオキシ基、アミノ基またはアミノアルコキシ基、例えば 2'-水素 (2'-デオキシ)、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル、2'-フルオロ、2'-メトキシエチル、2'-フルオロ、ロックド核酸またはそのあらゆる組み合わせを含み得る。

【0080】

別の化学修飾 (ヌクレオチドの 2' 位を含むもの等) は、ロックド核酸 (LNA) ヌクレオチド、エチレン架橋核酸 (ENA) ヌクレオチド、(S) 拘束エチル c Et ヌクレオチド、架橋核酸 (BNA) またはそれらのあらゆる組み合わせであり得る。骨格の修飾は、修飾ヌクレオチドの糖を好ましいノーザンコンフォメーションに固定し得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドの標的配列におけるそのタイプの修飾の存在は、標的配列の標的部位へのより強く、かつより速い結合を可能にする。

10

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 個の化学修飾ヌクレオチドを含む場合があり、操作されたオリゴヌクレオチドに組み込まれ得るリン酸骨格が修飾され得る。骨格の 1 個または複数のリン酸基は、例えば、1 個または複数の酸素原子を異なる置換基で置換することによって、修飾され得る。さらに、修飾ヌクレオチドは、本明細書に記載されるように、非修飾リン酸部分の修飾リン酸への完全な置換を含み得る。修飾リン酸基の例としては、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、ホスホセレネート、ボラノホスフェート、ボラノホスフェートエステル、ホスホン酸水素、ホスホロアミデート、アルキルホスホネート、アリールホスホネートまたはホストリエステルを含み得る。リン酸リンカーは、連結酸素を窒素 (架橋ホスホロアミデート)、硫黄 (架橋ホスホロチオエート) および炭素 (架橋メチレンホスホネート) に置換することによって

20

【0081】

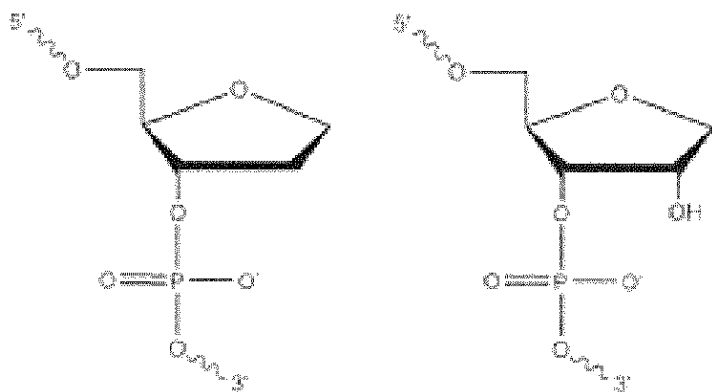
いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、糖修飾を含み得る。糖修飾は、リンカーのようなコンジュゲートを含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、1 個または複数のリンカー基を含み得る。操作されたオリゴヌクレオチドは、抗体、タンパク質、脂質、アプタマー、低分子、薬物、またはそれらのあらゆる組み合わせに連結し得る。リンカーは、共有結合を形成し得る。操作されたオリゴヌクレオチドは、リンカーを介して第 2 の操作されたオリゴヌクレオチド等の 1 個または複数の操作されたオリゴヌクレオチドに連結し得る。いくつかの例では、リンカーは、切断可能なリンカーであってもよい。いくつかの例では、リンカーは、アジドリンカーを含み得る。操作されたオリゴヌクレオチドは、グリカンでグリコシル化されたヌクレオチドの塩基を含み得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、有機塩基を欠失するヌクレオチド等の脱塩基部位を含み得る。いくつかの例では、脱塩基ヌクレオチドは、リボースの 2' 位等において、本明細書に記載の化学修飾を含み得る。いくつかの例では、リボースの 2' C 原子は、ハロゲン、アルコキシ基、水素、アリールオキシ基、アミノ基またはアミノアルコキシ基等の置換基で置換される可能性があり、いくつかの例では、2'-水素 (2'-デオキシ)、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチルまたは 2'-フルオロから選択される。いくつかの例では、脱塩基部位ヌクレオチドは、構造 1 A または構造 1 B を含み得る。

30

【0082】

40

【化 1】



10

【0083】

d スペース (d Spacer) (1A) r スペース (r Spacer) (1B)

【0084】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドは、「5'-CAP」構造の付加によって修飾され得る。5'-キャップは、成熟miRNAの5'-末端に「キャップ」し得る、修飾ヌクレオチドの実体等の実体であってもよい。5'-キャップは、典型的には、修飾ヌクレオチド、特にグアニンヌクレオチドの誘導体によって形成され得る。いくつかの例では、5'-キャップは、5'-5'トリホスフェート結合を介して、操作されたオリゴヌクレオチドの5'-末端に連結し得る。5'-キャップは、例えばm⁷GpppN（式中、Nは、RNAの5'-末端等、5'-キャップを輸送する核酸の末端5'-ヌクレオチドであり得る）のようにメチル化し得る。5'-キャップ構造は、グリセリル、逆位デオキシ脱塩基残基（部分）、4', 5'メチレンヌクレオチド、1-（ベータ-D-エリスロフラノシル）ヌクレオチド、4'-チオヌクレオチド、炭素環式ヌクレオチド、1, 5-アンヒドロヘキシトールヌクレオチド、L-ヌクレオチド、アルファ-ヌクレオチド、修飾塩基ヌクレオチド、スレオペンチフラノシルヌクレオチド、非環式3', 4'-セコヌクレオチド、非環式3, 4-ジヒドロキシブチルヌクレオチド、非環状3, 5-ジヒドロキシペンチルヌクレオチド、3'-3'-逆位ヌクレオチド部分、3'-3'-逆位脱塩基部分、3'-2'-逆位ヌクレオチド部分、3'-2'-逆位脱塩基部分、1, 4-ブタンジオールホスフェート、3'-ホスホルアミダイト、ヘキシルホスフェート、アミノヘキシルホスフェート、3'-ホスフェート、3'-ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、または架橋もしくは非架橋メチルホスホン酸部分を含み得る。いくつかの例では、修飾された5'-CAP構造は、CAP1（m⁷Gの隣接ヌクレオチドのリボースのメチル化）、CAP2（m⁷Gの下流の第2のヌクレオチドのリボースのメチル化）、CAP3（m⁷Gの下流の第3のヌクレオチドのリボースのメチル化）、CAP4（m⁷Gの下流の第4のヌクレオチドのリボースのメチル化）、ARCA（アンチリバーSCAP類似体、修飾ARCA（例えば、ホストチオエート修飾ARCA）、イノシン、N¹-メチルグアノシン、2'-フルオログアノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソグアノシン、2-アミノグアノシン、LNA-グアノシン、または2-アジドグアノシンを含み得る。

40

【0085】

本明細書で使用される場合、「後成的マーカー」という用語は、核酸塩基のあらゆる共有結合修飾であり得る。いくつかの例では、共有結合修飾は、核酸配列の1または複数の塩基にメチル基、ヒドロキシメチル基、炭素原子、酸素原子、またはそれらのあらゆる組み合わせを付加することを含み得る。いくつかの例では、共有結合修飾は、酸素原子等の核酸配列に関連する分子の酸化状態を変更すること、またはそれらの組み合わせを含み得る。共有結合修飾は、シトシン、チミン、ウラシル、アデニン、グアニン、またはそれらの組み合わせ等の、あらゆる塩基で起こり得る。いくつかの例では、後成的修飾は、酸化または還元を含み得る。核酸配列は、1個または複数の後成的に修飾された塩基を含み得る。後成的に修飾された塩基は、シトシン、ウラシル、チミン、アデニン、またはグアニ

50

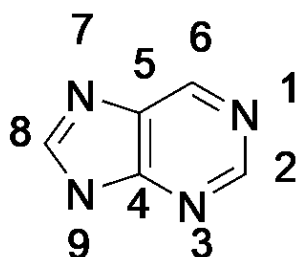
ン等のあらゆる塩基を含み得る。後成的に修飾された塩基は、メチル化塩基、ヒドロキシメチル化塩基、ホルミル化塩基、もしくはカルボン酸含有塩基、またはその塩を含み得る。後成的に修飾された塩基は、5-メチル化塩基、例えば、5-メチル化シトシン（5-mC）を含み得る。後成的に修飾された塩基は、5-ヒドロキシメチル化シトシン（5-hmC）のような5-ヒドロキシメチル化塩基を含み得る。後成的に修飾された塩基は、5-ホルミル化シトシン（5-fC）のような5-ホルミル化塩基を含み得る。後成的に修飾された塩基は、5-カルボキシル化シトシン（5-caC）のような5-カルボキシル化塩基またはその塩を含み得る。いくつかの例では、後成的に修飾された塩基は、活性化基のメチルトランスフェラーゼ指向性転移（mTAG）を含み得る。

【0086】

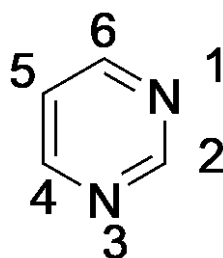
後成的に修飾された塩基は、1個もしくは複数の塩基またはプリン（例えば、構造1）、または1個もしくは複数のピリミジン塩基（例えば、構造2）を含み得る。後成的修飾は、あらゆる位置のうちの1または複数の位置で起こり得る。例えば、後成的修飾は、構造1に示されるように、位置1、2、3、4、5、6、7、8、9を含むプリン（1または複数の位置で起こり得る。いくつかの例では、後成的修飾は、構造2に示されるように、位置1、2、3、4、5、6を含むピリミジンの1または複数の位置で起こり得る。

【0087】

【化2】



構造1



構造2

【0088】

核酸配列は、後成的に修飾された塩基を含んでいてもよい。核酸配列は、複数の後成的に修飾された塩基を含んでいてもよい。核酸配列は、CGサイト、CpGアイランド、またはそれらの組み合わせの中に配置された後成的修飾塩基が含まれる場合がある。核酸配列は、メチル化塩基、ヒドロキシメチル化塩基、ホルミル化塩基、カルボン酸含有塩基またはその塩等の種々の後成的修飾塩基、これらのいずれかの複数、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、化学修飾された場合、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、表7に示すような、式のガイドパターン1、ガイドパターン2、またはガイドパターン3であり得る。

【0089】

10

20

30

40

50

【表 7】

Table 7 -表7-化学修飾のパターン

パターン	配列(5'-3')
ガイドパターン 1	$(N)_a(mN)_b(N)_cNN$
ガイドパターン 2	$(N)_a(mN)_b(N)_c s f N s m N$
ガイドパターン 3	$(f N m N)_h(m N)_i(f N m N)_j s f N s m N$
パッセンジャーパターン1	$CAP-m N m N m N(N)_k m N m N m N$

Nは、天然または非天然のあらゆるヌクレオチドであり得る;mNは、2'-O-メチル修飾されたウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであり得る;sは、ホスホチオネートで修飾された骨格であり得る;fNは、2'フルオロ修飾されたウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンであり得る;CAPは、5'-末端メチル基(5'-Oメチル)またはアミノ炭素6鎖(5'-アミノC6)のようなアルキルアミノ基であり得る;aは8~10であり得る;bは7~10であり得る;cは2~4であり得る;hは5~7であり得る;iは0または1であり得る;jは3~4であり得る;kは12~19であり得る。

【0090】

化学修飾された場合、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号52~89、127~154、184~201、205~222、225~233、235~243、264~443、445~453、455~463、620、644~825、835~837および846~899のいずれか1つに対して、少なくとも90%の配列同一性を有し得る。

【0091】

いくつかの例では、ベクターは、インビトロ設定、インビボ設定、またはそれらのあらゆる組み合わせで、miR送達に使用され得る。いくつかの例では、ベクターは、哺乳動物、または特定の器官、または特定の細胞、またはそれらのあらゆる組み合わせに標的化し得るが、それらに限定されない。ベクターは、本明細書に記載されるあらゆる組成物を含み得る。いくつかの例では、ベクターは、miR-30ファミリー構築物および第2のmiR-29ファミリー構築物、またはmiR-30ファミリー構築物および第2のmiR-30ファミリー構築物、またはmiR-29ファミリー構築物および第2のmiR-29ファミリー構築物、またはそれらのあらゆる組み合わせ等、2種以上の組成物を含み得る。いくつかの例では、ベクターは、リポソーム、ナノ粒子またはそれらのあらゆる組み合わせで構成され得る。リポソームは、単層リポソーム、多層リポソーム、アーキオソーム、ニオソーム、ノバソーム、クリプトソーム、エマルソーム、ベソソーム、またはこれらのいずれかの誘導体、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得るが、これらに限定されない。ナノ粒子は、生体高分子ナノ粒子、アルギン酸ナノ粒子、キサンタンガムナノ粒子、セルロースナノ粒子、デンドリマー、高分子ミセル、ポリプレックス、無機ナノ粒子、ナノクリスタル、金属ナノ粒子、量子ドット、タンパク質ナノ粒子、多糖類ナノ粒子、またはこれらのいずれかの誘導体、またはこれらの組み合わせを含み得るが、これらに限定されない。いくつかの例では、ベクターは、レトロウイルス、レンチウイルス、コロナウイルス、アルファウイルス、フラビウイルス、ラブドウイルス、モービルウイルス、ピコルナウイルス、コクサッキーウイルス、もしくはピコルナウイルスまたはこれらのいずれかの部分、もしくはこれらのいずれかの断片、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得るが、これらに限定されないRNAウイルスベクターであり得る。いくつかの例では、ベクターは、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター、アデノウイルス、ハイブリッドアデノウイルス系、ヘパドナウイルス、パルボウイルス、パピローマウイルス、ポリオマウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、これらのいずれかの部分、もしくはこれらのいずれかの断片、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得るが、これらに限定されない、DNAウイルスベクターであり得る。

【0092】

組成物および方法は、本明細書に記載され、miR模倣体を含み得る。そのようなmiR模倣体は、miR模倣体の安定性を高め；免疫刺激（例えば、自然免疫応答を介する）を実質的に低減または消失し；miR模倣体の薬理活性を改善し；miR模倣体のポリ標的効果を保持し；またはそれらのあらゆる組み合わせを可能にする、1または複数の配列修飾、1または複数の化学修飾、またはそれらの組み合わせを含み得る。ガイド鎖の配列変化を含む、操作されたmiRファミリーメンバーは、2つ以上の臨床標的に対して標的認識を偏らせ得る。

【0093】

本明細書で使用される場合、「バイオシミラー」または「バイオシミラー製剤」は、基準製剤として知られるFDA承認済みの生物学的製剤と実質的に類似しており、基準製剤との安全性および有効性の点で臨床的に意味のある差異がないことの提示に基づいて認可された生物学的製剤を意味し得る。バイオシミラー製剤においては、臨床的に不活性な成分におけるわずかな差異のみが許容される場合がある。承認された基準製剤／生物学的製剤の「バイオシミラー」とは、（a）臨床的に不活性な成分におけるわずかな差異にかかわらず、生物学的製剤が基準製剤と非常に類似していることを示す分析試験、（b）動物試験（毒性評価を含む）、および／または（c）基準製剤が認可され、使用が意図され、生物学的製剤の認可が求められる1以上の適切な使用条件における安全性、純度および効力を示すのに十分な臨床試験（免疫原性、薬物動態または薬力学の評価を含む）から得られたデータに基づいて基準製剤と類似する生物学的製剤を意味する。いくつかの実施形態では、バイオシミラー生物学的製剤および基準製剤は、提案された添付文書において処方、推奨、または提案された使用条件について同じ作用機序を利用するが、その作用機序が基準製剤について知られている範囲に限られる。いくつかの実施形態では、生物学的製剤について提案された添付文書で処方、推奨、または提案されている使用の条件は、基準製剤について以前に承認されているものである。いくつかの実施形態では、生物学的製剤の投与経路、剤形、および／または力価は、基準製剤のものと同一である。いくつかの実施形態では、生物学的製剤が製造、加工、包装、または保持される施設は、生物学的製剤が安全であり、純粋であり、かつ効力を有し続けることを保証するように設計された基準を満たしている場合がある。基準製剤は、米国、欧州、または日本のうちの少なくとも1ヶ国で承認されていればよい。いくつかの実施形態では、バイオシミラー製剤を投与されたヒト対象の応答率は、基準製剤を投与されたヒト対象の応答率の50%～150%であり得る。例えば、バイオシミラー製剤を投与されたヒト対象の応答率は、基準製剤を投与したヒト対象の応答率の50%～100%、50%～110%、50%～120%、50%～130%、50%～140%、50%～150%、60%～100%、60%～110%、60%～120%、60%～130%、60%～140%、60%～150%、70%～100%、70%～110%、70%～120%、70%～130%、70%～140%、70%～150%、80%～100%、80%～110%、80%～120%、80%～130%、80%～140%、80%～150%、90%～100%、90%～110%、90%～120%、90%～130%、90%～140%、90%～150%、100%～110%、100%～120%、100%～130%、100%～140%、100%～150%、110%～120%、110%～130%、110%～140%、110%～150%、120%～130%、120%～140%、120%～150%、130%～140%、130%～150%、または140%～150%であり得る。いくつかの実施形態では、バイオシミラー製剤および基準製剤は、提案された添付文書で処方、推奨、または提案された使用条件に対して同じメカニズムまたは作用メカニズムを利用し得るが、そのメカニズムまたは作用メカニズムは基準製剤について知られている範囲のみに限定される。バイオシミラー医薬品の承認を得るためには、構造、機能、動物毒性、薬物動態、薬力学、免疫原性、臨床安全性および有効性の試験およびデータが必要となる場合がある。バイオシミラーは、フォローオン生物学的製剤または後発生物学的製剤としても公知であり得る。いくつかの実施形態では、バイオシミラー製剤は、臨床的に不活性

10

20

30

40

50

な成分がわずかに異なっているにもかかわらず、基準製剤と実質的に類似している場合がある。

【0094】

本明細書で使用される場合、「互換性のある生物学的製剤」は、FDA承認された基準製剤のバイオシミラーを意味する場合があります。互換性のための追加の基準を満たす場合があります。いくつかの実施形態では、互換性のある生物学的製剤は、例えば、あらゆる所与の対象において基準製剤と同じ臨床結果をもたらし得る。いくつかの実施形態では、互換性のある製剤は、同じ量の同じ活性成分を含んでいてもよく、同等の薬物動態特性を有していてもよく、同じ臨床的に重要な特性を有していてもよく、基準化合物と同じ方法で投与されてもよい。いくつかの実施形態では、互換性のある製剤は、互換性に関する追加の基準を満たすバイオシミラー製剤であり得る。いくつかの実施形態では、互換性のある製剤は、基準製剤の全ての認可された使用条件において、基準製剤と同じ臨床結果をもたらし得る。いくつかの実施形態では、互換性のある製剤は、基準製剤を処方した医療提供者の介入なしに、薬剤師によって基準製剤に置換され得る。いくつかの実施形態では、個体に複数回投与される場合、生物学的製剤および基準製剤の使用を交互に実施すること、または切り替えることの安全性または効能の低下という観点でのリスクは、そのような交互または切り替えなしに基準製剤を使用するリスクより大きくはない。いくつかの実施形態では、互換性のある製剤は、規制当局が承認した製剤であり得る。いくつかの実施形態では、互換性のある製剤を投与されたヒト対象の応答率は、基準製剤を投与されたヒト対象の応答率の80%~120%であり得る。例えば、互換性のある製剤を投与されたヒト対象の応答率は、基準製剤を投与されたヒト対象の応答率の80%~100%、80%~110%、80%~120%、90%~100%、90%~110%、90%~120%、100%~110%、100%~120%、または110%~120%であり得る。

10

20

【0095】

いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、がん遺伝子によってコードされ得る。がん遺伝子は、ABL1、ABL2、AKT1、AKT2、AKT3、ATF1、BCL11A、BCL2、BCL3、BCL6、BCR、BRAF、CARD11、CBLB、CBLC、CCND1、CCND2、CCND3、CDX2、CTNNB1、DDB2、BBIT3、BBX6、DEK、EGFR、ELK4、ERBB2、ERBB3、E2F1、ETV4、ETV6、EVI1、EWSR1、FEV、FGFR1、FGFR1OP、FGR2、FUS、GOLGA5、GOPC、HMGA1、HMGA2、HRAS、IRF4、ITGA6、JUN、KIT、KRAS、LCK、LMO2、MAF、MAFB、MAML2、MDM2、MET、MITF、MLL、MPL、MYB、MYC、MYCL1、MYCN、NCOA4、NFKB2、NRAS、NTRK1、NUP214、PAX8、PDGFB、PIK3CA、PIM1、PLAG1、PPARG、PTPN11、RAF1、REL、RET、ROS1、SERPINE1、SMO、SS18、TCL1A、TET2、TFG、TLX1、TPR、USP6、またはそのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、がん遺伝子は、ITGA6、BCL2、DEK、PLAG1、SERPINE1、MYCN、LMO2、PIM1、EGFR、IRS1、NT5E、EGFR、GLDC、SOCS1、STAT1、LOX、PDGFRB、WNT5A、CD80、CCNA1、THBS2、IGF1R、AFAP1L2、CTHRC1、MET、FAP、SERPINE1、IL1A、GJA1、MYBL2、CDK6、ATG9A、SETDB1またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、本明細書に記載されるような操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、複数のRNA配列のうちの1または複数の特定のRNA配列に対して選択的であり得る。例えば、本明細書に記載されるような操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、複数の他のRNA配列と比較して、ABL1、ABL2、AKT1、AKT2、ATF1、BCL11A、BCL2、BCL3、BCL6、BCR、BRAF、CARD11、CBLB、CBLC、CCND1、CCND2、CCND3、CDX2、CTNNB1、DDB2、BBIT3、BBX6、DEK、EGFR、ELK4、ERBB2、ETV4、ETV6、

30

40

50

EVI1、EWSR1、FEV、FGFR1、FGFR1OP、FGR2、FUS、GOLGA5、GOPC、HMGA1、HMGA2、HRAS、IRF4、ITGA6、JUN、KIT、KRAS、LCK、LMO2、MAF、MAFB、MAML2、MDM2、MET、MITF、MLL、MPL、MYB、MYC、MYCL1、MYCN、NCOA4、NFKB2、NRAS、NTRK1、NUP214、PAX8、PDGFB、PIK3CA、PIM1、PLAG1、PPARG、PTPN11、RAF1、REL、RET、ROS1、SERPINE1、SMO、SS18、TCL1A、TET2、TFG、TLX1、TPR、USP6の1種または複数種に対して選択的であり得る。

【0096】

RNA配列の一部は、RNA配列の塩基の少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%であり得る。

10

【0097】

いくつかの例では、疾患または状態は線維症を含み得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、コラーゲンスーパーファミリー遺伝子、血小板由来成長因子遺伝子、TGF- β シグナル伝達遺伝子、コラーゲンリモデリング遺伝子、細胞外マトリックスリモデリング遺伝子、Wntシグナル伝達遺伝子、肝細胞腫由来成長因子(HDGF)シグナル伝達遺伝子、またはこれらのあらゆる組み合わせによってコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、COL1A1、COL11A1、COL2A1、COL5A3、COL5A2、COL4A4、COL21A1、COL7A1、COL9A1、COL19A1、COL5A1、COL22A1、COL8A1、COL4A2、COL6A2、COL24A1、COL4A3、COL4A6、COL25A1、COL16A1、COL15A1、またはこれらのあらゆる組み合わせによってコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、PDGFB、PDGFC、またはPDGFRB等の血小板由来成長因子遺伝子によってコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、TGF- β シグナル伝達遺伝子(例えば、WISP1またはTGFB2)によりコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、コラーゲンリモデリング遺伝子(例えば、LOXL2)によりコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、細胞外マトリックスリモデリング遺伝子(例えば、COL1A1、COL11A1、COL2A1、COL5A3、COL5A2、COL4A4、COL21A1、COL7A1、COL9A1、COL19A1、COL5A1、COL22A1、COL8A1、COL4A2、COL6A2、COL24A1、COL4A3、COL4A6、COL25A1、COL16A1、COL15A1、LOXL2またはエラスチン)によりコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、Wntシグナル伝達遺伝子(例えば、WISP1)によりコードされ得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、HDGFシグナル伝達遺伝子(例えば、HDGF)によりコードされ得る。一部は、RNA配列塩基の少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%であり得る。

20

30

【0098】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約50ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約40ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約30ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約25ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約60ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約80ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約100ヌクレオチド長であり得る。いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約5~約200ヌクレオチド長であり得る。

40

【0099】

50

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、mRNA配列と接触させた場合、等量の他の同等のオリゴヌクレオチドをmRNA配列と接触させた場合と比較して、mRNA配列によってコードされるポリペプチドの発現が、約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、3、4、5、6、7、8、9、10分の1以下となるように産生し得る。より低い発現は、約1.2分の1～約10分の1の発現であり得る。

【0100】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、mRNA配列と接触させた場合、等量の他の同等のオリゴヌクレオチドをmRNA配列と接触させた場合と比較して、mRNA配列によってコードされるポリペプチドの活性が、少なくとも約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、3、4、5、6、7、8、9、10分の1以下となるように産生し得る。より低い活性は、約1.2分の1～約10分の1の活性であり得る。

【0101】

いくつかの例では、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩を、約21～約25℃（例えば、約21、22、23、24、25℃）で、約45%～約55%（例えば、約45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%）の相対大気湿度で、少なくとも約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、室内に置かれた密閉容器内に貯蔵し得る場合、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩の初期量の少なくとも約70%、7%、80%、85%、90%、95%が残存する。いくつかの例では、期間は、約1カ月～約1年であり得る。いくつかの例では、期間は、約1カ月～約2年であり得る。いくつかの例では、期間は、約1カ月～約3年であり得る。いくつかの例では、期間は、約1カ月～約9カ月であり得る。

【0102】

疾患または状態は、SARSウイルス感染、Covid-19ウイルス感染、またはHCV遺伝子型1感染等のウイルス感染を含み得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、コロナウイルスゲノム（例えば、SARS-CoV、SARS-CoV2、MERS-CoV、またはCoV-HKU1ゲノム）中にコードされ得る。RNA配列は、配列番号500～531、829～831（表6）、配列番号474～499、826～828（表6）、配列番号532～554（表6）または配列番号555～586（表6）に記載の配列に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。いくつかの例では、RNA配列は、配列番号476、配列番号481、または配列番号495に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。RNA配列は、配列番号476、配列番号481、または配列番号495に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有する、少なくとも約5、10、15、20個の連続した塩基を含み得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、HCV遺伝子型1ゲノムにコードされ得る。RNA配列は、配列番号：587、配列番号：588、または配列番号：589に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。RNA配列は、配列番号587、配列番号588、または配列番号589に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有する、少なくとも約5、10、15、20個の連続した塩基を含み得る。いくつかの例では、RNA配列の少なくとも一部は、SARS-CoV-2ウイルスゲノムにコードされる。RNA配列は、配列番号500、配列番号513、または配列番号518に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有し得る。RNA配列は、配列番号500、配列番号513、または配列番号518に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%の配列同一性を有する、少なくとも約5、10、15、20個の連続した塩基を含み得る。

。

10

20

30

40

50

【0103】

操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号1～5、12～14、19～20、24～25、28、30、32、34、36、38～45、52～89、100～154、184～201、205～222、225～233、235～243、245～443、445～453、455～463、465、620、624～825、835～837、840～899および901～949、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか1つに対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の配列同一性を有し得る。操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号1～5、12～14、19～20、24～25、28、30、32、34、36、38～45、52～89、100～154、184～201、205～222、225～233、235～243、245～443、445～453、455～463、465、620、624～825、835～837、840～899、および901～949、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか1つに対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の配列同一性を有する、少なくとも約5、10、15、20個の連続した塩基を含み得る。

10

【0104】

ポリペプチド発現の変化、例えば、より低い発現またはより高い発現は、本明細書に記載の方法によって測定し得る。例えば、操作されたオリゴヌクレオチドまたはその塩をmRNA配列と接触させ、細胞内に自然に存在する等量のmiR-29またはmiR-30オリゴヌクレオチドを接触させて比較し得る。発現の変化は、(a) mRNA配列を含む第1の単離された細胞に、操作されたオリゴヌクレオチドをトランスフェクトし、(b) mRNA配列を含む第2の単離された細胞に、miR-29またはmiR-30オリゴヌクレオチドをトランスフェクトし、(c) 第1の単離された細胞および単離された第2の細胞中で発現したポリペプチドの量を測定することにより、測定し得る。

20

【0105】

核酸構築物は、操作されたオリゴヌクレオチドを含む第1の鎖と、操作されたオリゴヌクレオチドの少なくとも一部に相補的な配列を含む第2の鎖とを含み得る。第2の鎖は、第1の鎖の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%またはそれ以上と相補的であり得る。第2の鎖は、第1の鎖の少なくとも約5、10、15、または20個の連続した塩基と相補的であり得る。核酸構築物は、5'末端または3'末端のような末端オーバーハングを含み得る。第1の鎖、第2の鎖、またはそれらの組み合わせは、1個または複数の化学修飾を含み得る。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせの塩基の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%は、化学修飾を含み得る。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせは、1個または複数の糖修飾を含み得る。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせの塩基の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%は、糖修飾を含み得る。糖修飾は、グリコシル化された塩基を含み得る。いくつかの例では、ヌクレオチドの塩基は、グリカンでグリコシル化され得る。第1の鎖、第2の鎖、またはそれらの組み合わせは、化学修飾を有する塩基、および糖修飾を有する塩基の組み合わせを含み得る。

30

40

【0106】

いくつかの例では、本明細書に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドは、配列番号6～11、15～18、21～23、26～27、29、31、33、35、37、46～51、90～99、155～183、202～204、223～224、234、244、444、454、464、466、838～839および900、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか1つに対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上の配列同一性を有し得る。本明細書に記載の操作されたパッセンジャーオリゴヌクレオチドは、配列番号6～11、15～18、21～23、26～27、29、31、33、35、37、46～51、90～99、155～183、202～204、223～224、234、244、444、454、46

50

4、466、838～839、および900、またはそれらのあらゆる組み合わせのいずれか1つに対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはそれ以上の配列同一性を有する、少なくとも約5、10、15、20個の連続した塩基を有し得る。

【0107】

いくつかの例では、第2の鎖は、ヌクレオチドの化学修飾された塩基を含み得る。いくつかの例では、第2の鎖の塩基のサブセットは、約1%～約5%の塩基、約1%～約10%の塩基、約1%～約20%の塩基、約1%～約30%の塩基、約1%～約40%の塩基、約1%～約50%の塩基、約1%～約60%の塩基、約1%～約70%の塩基、約1%～約80%の塩基、もしくは約1%～約90%、またはそれ以上の塩基等を、化学修飾し得る。

10

本明細書に記載の第2の鎖は、操作されたオリゴヌクレオチドについて本明細書に記載の方法と同じ方法で化学修飾し得る。いくつかの例では、第2の鎖は、化学修飾される場合、配列番号51、95～99のいずれか1つに対して、少なくとも90%の配列同一性を有し得る。

【0108】

操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、またはそれらのあらゆる組み合わせを送達するために、ベクターを使用し得る。ベクターは、二本鎖DNAまたは一本鎖DNA等のDNAを含み得る。ベクターはRNAを含み得る。いくつかの例では、RNAは塩基修飾を含み得る。ベクターは、組換えベクターを含み得る。ベクターは、天然に存在するベクターから修飾されたベクターであり得る。ベクターは、天然に存在しないベクターの少なくとも一部を含み得る。あらゆるベクターを利用し得る。いくつかの例では、ベクターは、ウイルスベクター、リポソーム、ナノ粒子、エキソソーム、細胞外小胞、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、ウイルスベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、これらのいずれかの一部、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、ナノ粒子ベクターは、ポリマー系ナノ粒子、アミノ脂質系ナノ粒子、金属ナノ粒子(金系ナノ粒子等)、これらのいずれかの一部、またはこれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、ベクターは、AAVベクターを含み得る。ベクターは、修飾されたVP1タンパク質を含むように修飾し得る(例えば、VP1タンパク質を含むように修飾されたAAVベクター)。AAVは、AAV1血清型、AAV2血清型、AAV3血清型、AAV4血清型、AAV5血清型、AAV6血清型、AAV7血清型、AAV8血清型、AAV9血清型、これらのいずれかの誘導体、またはこれらのあらゆる組み合わせ等の血清型を含み得る。

20

30

【0109】

医薬組成物は、操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤または担体をさらに含み得る。医薬組成物は、単位用量形態で製剤化し得る。医薬組成物は、単一の活性成分で製剤化し得る。医薬組成物は、カプセル化し得る。医薬組成物は、液体として、またはゲル等の半固体として、または固体として製剤化し得る。医薬組成物は、溶液として製剤化し得る。医薬組成物は、注射剤として製剤化し得る。医薬組成物は、皮下インプラントとして製剤化し得る。医薬組成物は、移植可能なものとし得る。医薬組成物は、経口送達用として製剤化し得る。

40

【0110】

処置を必要とする対象は、疾患または状態のために処置される場合がある。処置は、前処置、予防処置、または予防的処置であってもよい。処置は、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物を、処置を必要とする対象に投与することを含み得る。投与は、経口、耳介、眼球、直腸、またはそれらのあらゆる組み合わせ等の1種以上の送達経路を介した送達を含み得る。投与としては、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射、眼窩内注射、皮下注射、またはそれらのあらゆる組み合

50

わせによる送達が挙げられる。処置は、単一の用量で送達される２種以上の操作されたオリゴヌクレオチドを含み得る。送達は、１回の注射で、または同時に２回の別々の注射で２種以上の操作されたオリゴヌクレオチドを送達するような同時的送達であり得る。送達は、分、時間、日、週、または月等の期間によって分離され得る第１の用量および第２の用量の送達等、逐次的であり得る。

【０１１１】

処置は、第２の療法または併用療法を含み得る。がんの処置の場合、第２の療法は、放射線療法、化学療法、免疫療法、手術、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。ウイルス感染症の処置の場合、第２の療法は、免疫療法、抗ウイルス剤、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。線維症の処置の場合、第２の療法は、ライフスタイルの
10
変更、臓器移植、酸素療法、臓器リハビリテーション、医薬組成物、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。第２の療法の投与は、同時的であり得るか、または分、時間、日、週、もしくは月等の期間によって分離される等逐次的であり得る。

【０１１２】

いくつかの例では、対象は、以前に疾患または状態であると診断されたことがない可能性がある。いくつかの例では、対象は、疾患または状態であると診断されている可能性がある。いくつかの例では、対象は、疾患または状態の確定診断を受けていない可能性がある。いくつかの例では、対象は、以前に疾患または状態に罹患していた可能性がある。対象は寛解している可能性がある。対象は、疾患または状態を発症するリスクがある（例えば、少なくとも部分的に以前の状態、
20
ライフスタイル要因、遺伝子変異、またはそれらのあらゆる組み合わせに基づく）可能性がある。対象は、診断検査を受けたことがある可能性がある。診断検査は、画像化法、血球数分析、組織病理学的分析、バイオマーカー分析、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。いくつかの例では、疾患または状態は、線維症または関連する状態であり得る。場合によっては、疾患または状態は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ感染、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ２感染、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ感染、ＣｏＶ－ＨＫＵ１感染、ＨＩＶ感染、ＨＣＶ感染、またはそれらのあらゆる組み合わせ等のウイルス感染症であり得る。いくつかの例では、疾患または状態は、頭部がん、頸部がん、皮膚がん、子宮頸がん、前立腺がん、またはそれらのあらゆる組み合わせ等のがんであり得る。

【０１１３】

方法は、インビボまたはインビトロ送達方法を含み得る。方法は、インビボの細胞等の細胞を、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物と接触させることを含み得る。方法は、単離され精製された細胞（例えば、
30
インビトロの細胞）等の細胞を、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物と接触させることを含み得る。方法は、インビボ組織または単離されたインビトロ組織等の組織を、本明細書に記載の操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物と接触させることを含み得る。

【０１１４】

キットは、容器内の操作されたオリゴヌクレオチド、容器内の核酸構築物、容器内のベクター、容器内の医薬組成物を含み得る。キットは、容器内の２種以上の操作されたオリゴヌクレオチド、容器内の２種以上のベクター、容器内の２種以上の核酸構築物、または
40
容器内の２種以上の医薬組成物を含み得る。キットは、複数の容器を含み得、各容器は、１種または複数種の操作されたオリゴヌクレオチド、または核酸構築物、またはベクター、または医薬組成物を含む。キットは、操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物を保存するための賦形剤、または希釈剤、または緩衝剤、または液体、またはゲル状の媒体を含み得る。キットは、操作されたオリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物の対象へのインビボ送達のための賦形剤、または希釈剤、または緩衝剤、または液体、またはゲル状の媒体を含み得る。賦形剤、または希釈剤、または緩衝液、または液体、またはゲル状の媒体は、操作されたオリゴヌクレオチド（または核酸構築物、またはベクター、または医薬組成物）を収容する容器に含有させてもよく、または別の容器に収容してもよい。キットは、注射器または針等の送達用ベ
50

クルを含み得る。キットは、下流分析のための1種または複数種の試薬を含み得る。

【0115】

図1A～1Bを参照すると、この図は、天然のmiR-30ガイド鎖およびパッセンジャー鎖配列、ならびに操作されたファミリーメンバーの例を示す。図1Aは、HNSCCにおいて腫瘍抑制活性を有し得る、ヒトにおいて見出される全ての天然のmiR-30ファミリーメンバー（すなわち、miR-30a-e-5p）の配列を示す。miR-30a-5pと比較して、異なるファミリーメンバー間の配列の変動を、薄い灰色で強調している。13位のグアニジン塩基（濃い灰色で強調）は、操作されたファミリーメンバーのサブセットを含む非天然配列の付加であり、医薬品開発において天然配列よりも有益である可能性があることが示されている。本発明者らは、この配列修飾をオリゴヌクレオチドのサブセットで実施した。図1Bは、ヒトmiR-30a二重鎖に見出される成熟miR-30a-3pパッセンジャー鎖の配列を示す。ガイド鎖と組み合わせて使用して、部分的にmiR-30a模倣体二重鎖のライブラリーを作出し得る、非天然のパッセンジャー鎖配列（配列番号6および46～51）の例を列挙する。miR-30a-3pからの配列の変化を、灰色で強調している。操作された配列の修飾は、二重鎖の構造、ならびにヌクレアーゼに対する安定性および効力等の生化学的特性を変更するために実施し得る。

10

【0116】

図2A～2Cを参照すると、この図は、発がん性mRNAの3'UTRにおける同族標的部位とのガイド鎖相互作用の模式的な視覚化を示す。図2Aは、ITGA6、SERPINE1、およびEGFR転写産物の3'UTRにおける天然miR-30a-5p配列と標的部位との間の自由エネルギー（ ΔG ）およびハイブリダイゼーションを、ソフトウェアRNA hybrid 2.2を使用して予測し得ることを示す。図2Bは、13位に「G」挿入を含む操作されたファミリーG007-30（配列番号39）とITGA6、SERPINE1、およびEGFR標的部位との間の自由エネルギー（ ΔG ）およびハイブリダイゼーションを示す。予測される自由エネルギーが低く、相補性が高いことから、標的認識が向上すると推測され得ることに留意されたい。図2Cは、G007-30に見られるような、13位に同じ「G」挿入を含む模倣体が、選択された発がん性標的の改善されたノックダウンを示し得ることを示す。M30-021およびM30-037二重鎖は、それぞれガイド鎖G039-30（配列番号68）およびG011-30（配列番号55）から構成され、特定の化学修飾を有する天然miR-30a配列を含む。M30-040は操作されたガイド鎖G032-30（配列番号65）から構成され、M30-048はガイド鎖G132-30（配列番号88）から構成され、それらはいずれもG007-30「G」の挿入を有するが化学修飾のパターンが異なっている。UM-SCC-47細胞を6ウェルプレートにプレーティングし、15nMの指定された操作されたmiR-30模倣体で72時間トランスフェクトした。処理後、ウェルから総RNAを収集し、RT-qPCRを実施して、ITGA6、SERPINE1、およびEGFRの発現を確認した。HPRT1は内因性標準化対照として機能し、発現レベルを陰性対照（Neg Con）トランスフェクションに対して標準化した。いずれの場合も、「G」を挿入したM30-040は、M30-021およびM30-037（天然ガイド鎖配列）よりも標的とされるがん遺伝子のノックダウン効果が高く、同様に「G」を挿入したM30-048と同等以上の標的とされるがん遺伝子のノックダウン効果を示した。

20

30

40

【0117】

図3を参照すると、この図は、MTDH 3'UTR内のmiR-30-5p標的部位の模式的な視覚化を示す。そのコーディングドメインおよびその3'UTR内の3個の実験的に検証されたmiR-30-5p標的部位（灰色で示す）を含むMTDH mRNAの説明を示す。天然のmiR-30a-5pおよびMTDH標的部位のハイブリダイゼーション、ならびにmiR-30-5pについて、および示された全ての操作されたガイド鎖の自由エネルギー（ ΔG ）の計算値は、ソフトウェアRNA hybrid 2.2 (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid>) を用いて計算した。また、3個の標的部位全てにわたる自由エネルギーの純和（NET）およびそれらの平均化され

50

た ΔG (Avg.) を示す。全ての人工ガイド鎖は、天然の $miR-30-5p$ ファミリーメンバーよりもハイブリダイゼーションに対する正味の計算自由エネルギーと平均自由エネルギーが低く、標的認識が向上していると推測されることに留意されたい。

【0118】

表8を参照すると、この表は、EGFR、IGF1R、METおよびIRS1遺伝子転写産物の3'UTR部位への天然および模倣 $miR-30$ ファミリーガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値を示す。 $miR-30$ 模倣体の例示的なガイド鎖構築物は、これらのがん遺伝子の改善された塩基対形成および低G標的化を予測したG007-30（配列番号39）およびG064-30（配列番号43）を含むことが示されている。

【0119】

10

20

30

40

50

【表 8】

表8: miR-30下流転写産物に対する模倣ガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー (ΔG)* [kcal/モル]			
		EGFR	IGF1R	MET	IRS1
1	miR-30a-5p	-15.0	-16.4	-10.6	-19.8
2	miR-30b-5p	-13.6	-17.0	-11.6	-13.6
3	miR-30c-5b	-11.8	-17.0	-11.6	-13.6
4	miR-30d-5p	-14.8	-14.9	-10.6	-19.8
5	miR-30e-5p	-15.8	-16.4	-11.6	-19.8
628	G079-30	-15.5	-16.5	-10.6	-21.0
629	G080-30	-15.2	-15.3	-10.6	-14.0
630	G081-30	-14.2	-15.3	-10.6	-14.0
631	G082-30	-13.6	-15.3	-10.6	-13.0
632	G083-30	-12.3	-15.3	-10.6	-13.0
633	G084-30	-13.7	-13.9	-10.8	-12.1
634	G085-30	-11.8	-13.9	-10.8	-12.1
635	G086-30	-13.6	-13.9	-10.6	-12.1
636	G087-30	-11.8	-13.9	-10.6	-12.1
39	G007-30	-18.1	-17.4	-10.6	-21.1
624	G075-30	-14.1	-18.0	-14.1	-17.9
44	G065-30	-13.0	-18.0	-14.1	-17.8
40	G061-30	-16.4	-14.5	-10.6	-19.4
41	G062-30	-17.1	-17.4	-12.4	-21.1
42	G063-30	-16.2	-16.4	-11.0	-19.4
637	G088-30	-18.5	-16.7	-10.6	-16.1
638	G089-30	-13.0	-17.2	-10.6	-17.3
639	G090-30	-17.3	-18.2	-10.6	-18.8
640	G091-30	-13.4	-15.6	-11.1	-21.6
626	G077-30	-19.6	-17.2	-10.6	-18.7
627	G078-30	-19.8	-16.7	-10.6	-18.3
641	G092-30	-16.1	-17.3	-10.6	-21.4
642	G093-30	-19.3	-17.5	-10.6	-21.0

*自由エネルギー(ΔG)は、EGFR(配列番号469)、IGF1R(配列番号832)、MET(配列番号833)、およびIRS2(配列番号834)遺伝子の転写産物の3'UTRにおいて示された模倣ガイド鎖配列および標的部位について、RNAhybrid 2.2を用いて計算した。予測される自由エネルギー(ΔG)が低いほど、標的認識が向上していると推測する。

【0120】

図4A～4Dを参照すると、この図は、新規miR-30-5p模倣体を形成するためにハイブリダイズした操作されたオリゴヌクレオチドが、がん細胞株において同等または改善された抗腫瘍活性を有し得ることを示す。図4Aは、UM-SCC-1、UM-SCC-47、およびUM-SCC-109細胞を96ウェルプレートにプレーティングし、プレーティングの6時間後にRNAimax剤を使用して15nMの模倣体で5日間トランスフェクションしたことを示す。処理後、細胞生存率をXTTアッセイにより評価した。全てのデータは、模倣体の非存在下で処理した細胞（100%生存率と指定）に対する平均±SEMを表す。全ての模倣体は独特の化学修飾パターンを有し得、修飾されたパッ

センジャー鎖のうちの1種を有し得る。模倣体は、*m i R - 3 0 a - 5 p* (天然) または *m i R - G - 3 0 - 5 p* 誘導体 (操作された) を含むガイド配列に基づいて分離される。各模倣体の抗腫瘍活性は、統計学的に、各細胞系で細胞生存度または等価物を自然な二重 *m i R - 3 0 a* に下げることの改良であり得る ($P < 0.05$)。図4Bは、その3'非翻訳領域 (UTR) 内にがん関連 *m i R - 3 0* 標的部位を含むルシフェラーゼレポーターを過剰発現するように遺伝的に操作した *U M - S C C - 1* のサブライン (*U M - S C C - 1^{luc}*) の処理後のルシフェラーゼ活性を示す。*U M - S C C - 1^{luc}* 細胞を96ウェルプレートにプレーティングし、プレーティングの6時間後に *R N A i m a x* 剤を用いて15 nMの模倣体で3日間トランスフェクトしてから、細胞溶解およびルシフェラーゼアッセイを行った。図4Cは、種々の遺伝的背景を有する追加の細胞株における、天然の *m i R - 3 0 a* および模範的な操作された模倣体、*M 3 0 - 0 4 3* および *M 3 0 - 0 4 6* の抗腫瘍活性を示す。示されたがん細胞株を96ウェルプレートにプレーティングし、プレーティングの6時間後に *R N A i m a x* 剤を用いて25 nMの模倣体で5日間トランスフェクトした。処理後、XTTアッセイにより細胞生存率を評価した。*N e g C o n* 処理と比較した統計的有意性 ($P < 0.01$) を示す。図4Dは、種々の組織学および遺伝的背景を有する追加のがん細胞株における、操作された *m i R - 3 0* 模倣体のパネルのさらなる抗腫瘍活性を示す。示されたがん細胞株を96ウェルプレートにプレーティングし、プレーティングの6時間後に *R N A i m a x* 剤を用いて25 nMの模倣体で5日間トランスフェクトした。処理後、細胞生存率をXTTアッセイにより評価した。*N e g C o n* 処理と比較した統計的有意性 ($P < 0.01$) を示す。全てのデータは、最低3回の独立した実験からの平均 $\pm$ S E M として表す。

10

20

【0121】

図5A~5Bを参照すると、この図は、操作された模倣体二重鎖の化学修飾および構造的修飾が、生物学的ヌクレアーゼに対するガイド鎖および二重鎖の安定性を改善し得ることを示す。図5Aは、核酸マーカー (M) と、模倣体二重鎖、ガイド鎖および分解断片 ($\leq n - 1$) を含むサンプルとを分離する尿素PAGEの例を示す。図5Bは、10%ヒト血清中、37℃で指示された時間の長さだけインキュベートした10 uMの操作された *m i R - 3 0 - 5 p* 模倣体を示す。各時点における二重鎖安定性は、変性尿素PAGEによって可視化した。例外的な例として、*M 3 0 - 0 4 0* の1ヌクレオチドの内部バルジを除去すると、7日間 (168時間) まで生物学的ヌクレアーゼに対して *M 3 0 - 0 4 4* 模倣体二重鎖が安定化することが示された。

30

【0122】

図6A~6Bを参照すると、この図は、模倣体の配列および構造の改変が安定性を改善し得ることを示す。図6Aは、同一の高安定性の操作されたガイド鎖、*G 0 3 2 - 3 0* (配列番号65) を、模倣体の構造を変化させる配列および化学修飾を有するパッセンジャー鎖とともに二重鎖中に有する操作された模倣体、*M 3 0 - 0 2 5*、*M 3 0 - 0 4 0*、および *M 3 0 - 0 4 4* を示す。*M 3 0 - 0 4 4* の設計図は、模倣体安定性をさらに高め得る設計上の特徴を組み入れたものであることが示されている。太字の塩基は2'-O-メチル修飾を含み、小文字の塩基は2'-フルオロ置換を含み、「ps」はホスホチオエート骨格を示し、(アミノC6)はアミノ炭素6鎖の付加を示す。図6Bは、模倣体を10%ヒト血清中、37℃で、指示された時間、インキュベートしたことを示す。各時点における二重鎖安定性は、変性尿素PAGEによって可視化した。安定性が向上した模倣体は、模倣体が生物学的流体中のヌクレアーゼに直接曝露される場合があり、送達が増加の遮蔽利益をもたらさない、コンジュゲーションベース送達システムでの使用に好ましく用いられ得る。*M 3 0 - 0 4 0* は、図4Bで以前に示されたように、*M 3 0 - 0 2 5* または *M 3 0 - 0 4 4* と比較して、抗腫瘍活性に優れている。

40

【0123】

図7A~7Cを参照すると、この図は、模倣体の構造および活性に対する配列変化の影響を示す。図7Aは、模倣体；*M 3 0 - 0 3 3*、*M 3 0 - 0 3 4*、および *M 3 0 - 0 4 0* の配列を示す。全てのガイド鎖は、同様の化学修飾を有する (図示せず)。パッセンジャー

50

一鎖についても同様である。M30-033およびM30-034は、天然のmiR-30a-5pガイド配列を含む高安定なガイド鎖G042-30（配列番号69）から構成されている。M30-040は、G042-30と同一の化学修飾を有するG032-30（配列番号65）から構成されるが、13位（灰色で強調）に「G」が挿入されている。M30-033はM30-040と同様の構造（すなわち、内部バルジ）を保持しており、M30-034はM30-040と同じパッセンジャー鎖を有する。図7Bは、上記のように、15 nMのM30-033、M30-034、M30-040、または陰性対照（Neg Con）で5日間トランスフェクトした6種のHNSCC細胞株のパネルを示す。細胞生存率は、XTTアッセイによって評価した。モック処理は、模倣体の非存在下でトランスフェクトした。全てのデータは、3回の独立した実験からの平均±SEMで表す。M30-033（*）およびM30-043（#）と比較した細胞生存率のM30-040減少における統計的改善（ $P < 0.01$ ）を、二元的t検定により判定した。図7Cは、その3'UTR内にmiR-30標的部位を含むルシフェラーゼレポーターを過剰発現するように遺伝的に操作したUM-SCC-1^{Luc}の15 nM処理後のルシフェラーゼ活性を示す。全てのデータは、3回の独立した実験からの平均±SEMで表す。まとめると、M30-040は、細胞生存率およびルシフェラーゼノックダウン活性が、大幅に低下していることを示す。

10

【0124】

図8A～8Bを参照すると、この図は、miR-30模倣体、M30-040の抗腫瘍活性が、RNA誘導サイレンシング複合体（RISC）へのガイド鎖の組み込みに依存することを示す。図8Aは、ガイド鎖の5'末端に対してなされ得る2種の修飾の構造を示す。図8Aは、ガイド鎖の5'末端に対してなされ得る2種の修飾の構造を示す。この実験では、ガイド鎖の5'末端メチル基（5'-OMe）またはアミノ炭素6鎖（5'-Amino C6）修飾のいずれかでM30-040の2種のバリエーションを合成し、それぞれ模倣体5'-OMe M30-040および5'-Amino C6 M30-040と呼ぶ。細胞内リン酸化およびその後のRISCエフェクターによる認識を遮断することで、ガイド鎖中の5'-ヒドロキシル末端の化学修飾により、少なくともsiRNA二重鎖との関連において活性が減弱し得る。図8Bは、15 nMの各模倣体で処理したUM-SCC-1およびA431がん細胞を示し、細胞生存率は、上記のように5日目にXTTアッセイによって評価した。いずれの5'-末端修飾も、インビトロでのM30-040の抗がん剤細胞活性を妨害する。

20

30

【0125】

図9A～9Cを参照すると、この図は、活性が改善された操作されたmiR-30模倣体の開発経路の一例を示す。図9Aでは、模倣体M30-037およびM30-043の配列および構造は、それぞれガイド鎖G011-30（配列番号55）およびG129-30（配列番号86）から構成され、図示されるように化学修飾を受けた天然miR-30aの配列を含む。ガイド鎖G130-30（配列番号87）およびG132-30（配列番号88）からそれぞれ構成され、操作された配列を含む操作された模倣体M30-046およびM30-048についても配列および構造が示されている。その化学修飾パターンは、下流転写産物の多標的化活性を保持するように設計された。3'末端修飾パターンおよび模倣体のバルジ構造等、活性向上をもたらす特性の積み重ねを組み入れたM30-048の設計図が示されている。太字の塩基は2'-O-メチル修飾を含み、小文字の塩基は2'-フルオロ置換を含み、「ps」はホスホチオエート骨格を示し、（Amino C6）はアミノ炭素6鎖の付加を示す。図9Bは、15 nMの指示された模倣体または陰性対照（Neg Con）で5日間トランスフェクトされたがん細胞株のパネルにおける抗腫瘍活性を示す。細胞生存率は、XTTアッセイによって評価した。モック処理は、模倣体の非存在下でトランスフェクトした。全てのデータは、少なくとも3回の独立した実験からの平均±SEMで表す。図9Cは、上記のようなUM-SCC-1^{Luc}の15 nM処理後のルシフェラーゼ活性を示す。全てのデータは、3回の独立した実験からの平均±SEMで表す。

40

50

【0126】

図10A～10Bを参照すると、図10Aは、化学修飾された天然のmiR-30a配列を含むmiR-30模倣体であるガイド鎖G129-30（配列番号86）から構成される操作された模倣体M30-043の抗がん活性およびサイレンシングが改善されたことを示す。未修飾の天然miR-30aと比較して、M30-043は7種のHNSCC細胞株のパネルにおいて、インビトロで7.5nMで細胞生存率に対する活性が改善した。miR-30a処置と比較した統計的有意性（ $P < 0.05$ ）が示されている。図10Bは、その3'UTR内にmiR-30標的部位を含むルシフェラーゼレポーターを過剰発現するように遺伝子操作されたUM-SCC-1のサブライン（UM-SCC-1^{Luc}）の15nM処理後のルシフェラーゼ活性を示す。モックサンプルはAPI非存在下でトランスフェクトした。全てのデータは、3回の独立した実験からの平均±SEMで表す。

10

【0127】

図11A～11Bを参照すると、この図は、操作されたmiR-30模倣体の自然免疫賦活が低下したことを示す。ヒト末梢血単核細胞（PBMC）（約 $2 \sim 6 \times 10^5$ 細胞）を丸底96ウェルプレートにプレーティングし、RNAiMAX試薬で48時間、133nM濃度の指示された模倣体でトランスフェクトした。上清培地中のTNF- α （図11A）およびIFN- α （図11B）のレベルを、ELISAによって定量した。ポリ（dA:dT）オリゴヌクレオチドは、免疫賦活のための陽性対照として機能した。化学修飾されていないRNA二重鎖（Non-mod）のトランスフェクションは、模倣体の免疫賦活の可能性を示した。ベースラインを確立するために、模倣体非存在下で処理した細胞を使用した。

20

【0128】

図12A～12Dを参照すると、この図は、インビトロで組み合わせて操作された模倣体、M30-040で処理した場合の、承認された治療薬、シスプラチンおよびセツキシマブに対してがん細胞が感作されたことを示す。図12Aは、UM-SCC-1および-46がん細胞を、シスプラチンに対して耐性のサブラインを作出するために、3カ月以上、段階的に増大するマイクロ用量のシスプラチンの存在下で培養したことを示す。細胞毒性を評価する用量反応曲線は、親細胞株と比較して、シスプラチンに対する耐性が強化されていることを示した。図12Bは、親細胞株およびシスプラチン耐性細胞株を、15nMのM30-040または非特異的対照模倣体（Neg Con）で、上記のように5日間トランスフェクトしたことを示す。相対的細胞数は、XTTによって定量した。データは、モックトランスフェクション処理に対して標準化されている。図12Cは、15nMのM30-040で48時間トランスフェクトされ、その後、それぞれのIC50濃度（Cis IC50）のシスプラチンで処理された親UM-SCC-1および-46細胞を組み合わせた処理を示す。相対的細胞数は、トランスフェクション後5日目にXTTによって定量化した。図12Dは、別のがん細胞株、UM-SCC-47を、15nMのM30-040で48時間トランスフェクトし、その後、指示された濃度のセツキシマブで処置したことを示す。M30-040の前処理により、UM-SCC-47細胞がセツキシマブに対して感作されている可能性がある。

30

【0129】

図13A～13Cを参照すると、この図は、同所性HNSCC腫瘍における抗腫瘍活性を示す。図13Aは、雌のSCIDマウスの口腔の左側の口底にUM-SCC-1^{Luc}サブラインを移植したことを示す。腫瘍を移植した14日後、IP注射によりD-ルシフェリンを150mg/kgで投与することにより、インビボ画像化システム（IVIS）を使用して、生きた動物における生物発光をモニタリングした。動物を、NOV340（PMID: 24832107）LNP調合模倣体M30-037およびM30-040または空のNOV340 LNP対照とともに、3mg/kgで3用量、週2回の静脈内注射（IV）によって処置した。画像は、最初の投与前の0日目および試験の13日目における、各処置群の一对の麻酔をかけた動物からの腫瘍生物発光を示す。図13Bは、生物発光を、示された時点で各動物について定量し、平均輝度±SEMをプロットして、腫瘍成

40

50

長曲線を生成したことを示す。図に示すように、処方された模倣体を、週2回の投与で3回連続投与した。図13Cでは、雌SCIDマウスの右脇腹にUM-SCC-109腫瘍を移植し、約150mm³に成長させ、その後、週2回投与のスケジュールで6回投与するために、NOV340配合M30-040または空NOV340 LNP対照を3mg/kgで静脈内注射（IV）で処置した。腫瘍成長曲線は、各時点での腫瘍体積を計算することによってプロットした。有意な成長遅延が、M30-040処理で観察された。

【0130】

図14A～14Bを参照すると、この図は、操作された模倣体M30-048により腫瘍を局所的処置したことを示す。図14Aは、雌のSCIDマウスの口腔の左側の口底にUM-SCC-1^{Luc}サブラインを移植したことを示す。腫瘍を移植した14日後、IP注射によりD-ルシフェリンを150mg/kgで投与することにより、インビボ画像化システム（IVIS）を使用して、生きた動物における生物発光をモニタリングした。Atelogene（登録商標）ローカルキット（koken）を用いて、操作された模倣体、M30-048または陰性対照模倣体（Neg. Con.）をアテロコラーゲンゲルに処方した。動物に、1.5mg/kgまたは3mg/kgのM30-048または3mg/kgの陰性対照模倣体の単回処理で処理し、ルシフェラーゼのサイレンシングを96時間モニターした。図14Bは、両方の用量で96時間までに完全にサイレンシングされているルシフェラーゼシグナルの定量化を示す。

【0131】

図15を参照すると、この図は、天然のmiR-29ガイド鎖配列、および操作されたファミリーメンバーの例を示す。ヒトに見出される天然のmiR-29ファミリーメンバー（すなわち、miR-29a-c-3p）の配列を示す。miR-29c-3pと比較して、異なるファミリーメンバー間の配列の違いを灰色で強調している。操作されたファミリーメンバーのサブセットを含む天然に存在しない配列の例としては、（i）miR-29a-3pとmiR-29b-3pの間にもとから存在する差異を組み合わせたハイブリッド配列（Hybrid）；（ii）14位および／または15位にそれぞれAからGおよび／またはUからG塩基への変異（Mutation）；（iii）15位へのグアニジン塩基挿入（Insert）；および（iv）変異および塩基挿入を組み合わせた配列でmiR-29b-3p（Mut.+Insert.）またはハイブリッド配列（Hybrid+Mut.+Insert.）を挙げることができる。天然に存在しない配列変化は薄い灰色で強調している。3'末端を1-2ntトリミングして、追加のバリエーションを構成していることも示している。

【0132】

図16を参照すると、この図は、後成的修飾因子であり、潜伏HIVウイルスのがんおよび再活性化に関与するヒト宿主細胞遺伝子の概略的視覚化を示す。そのコーディングドメインと、その3'UTR内の3つの実験的に検証されたmiR-29標的部位（灰色で示される）を含むTET1 mRNAの図を示す。天然のmiR-29b-3pおよびTET1標的部位とのハイブリダイゼーション、ならびにmiR-29-3pおよび示された人工ガイド鎖の自由エネルギー（ΔG）の計算値は、ソフトウェアRNAhybrid 2.2 (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid>) を用いて計算した。3個全ての標的部位の自由エネルギーの正味の合計（NET）、および平均したΔG（Avg.）も示している。全ての人工ガイド鎖は、天然のmiR-29b-3pよりもハイブリダイゼーションに対する正味の自由エネルギーと平均の自由エネルギーの計算値が低くなり、標的認識が向上していると推測され得ることに留意されたい。図22に示すNEFの例と同様に、図16に示す操作されたmiR-29ガイド鎖は、対応する本明細書に記載の修飾を欠く天然miRNA配列よりも低い予測自由エネルギー（ΔG）、高い特異性、および高い相補性で、TET1宿主タンパク質を発現するmRNAを結合および阻害するために使用することが可能である。TET1は、がんおよびウイルス感染症等多くの疾患において重要な役割を果たしているため、操作されたmiR-29ガイド鎖は、TET1への標的化を向上させることにより、治療薬としての特性が向上する可能性が

あることを示す。

【0133】

図17を参照すると、この図は、miR-29模倣体が天然のmiR-29b-1と比較して同等またはより大きなノックダウン活性を有し得ることを示す。その3'UTR内にmiR-29標的部位を含むルシフェラーゼレポーターを過剰発現するように遺伝子操作したHEK細胞()の安定サブラインのルシフェラーゼ活性。HEK^{luc}細胞を96ウェルプレートにプレATINGし、プレATINGの6時間後にRNAimax剤を用いて15nMの模倣体を3日間トランスフェクトした後、細胞溶解およびルシフェラーゼアッセイを行った。モック処理を、模倣体の非存在下でトランスフェクトした。全てのデータは、トランスフェクションの72時間後の3回の独立した実験からの平均±SEMとして表す。

10

【0134】

図18A~18Bを参照すると、この図は、パッセンジャー鎖の修飾が、ガイド鎖に対する化学修飾がない場合の模倣体の安定性に影響を与えることを示す。図18Aは、天然のmiR-29b-1二重鎖と、それらのパッセンジャー鎖(トップ鎖)がアミノ炭素6鎖(アミノC6)5'-キャップを有する両端に3つの末端2'-O-メチルヌクレオチド(太字)を含む模倣体M29-004およびM29-012の配列の比較を示す。M29-012では、配列を変えることにより二重鎖の相補性が向上した。いくつかの例では、化学修飾は、ガイド鎖のいずれに対しても実施し得る。図18Bは、パッセンジャー鎖の化学修飾パターンと組み合わせた二重鎖バルジが減少することにより、ガイド鎖の追加の化学修飾がない場合、二重鎖安定性の改善に寄与することを示す。5μMのmiR-29b-1およびmiR-29模倣体を、10%ヒト血清中、37℃で、指示された時間インキュベートした。二重鎖安定性について、指定された時点で、変性尿素PAGEにより可視化した。

20

【0135】

図19A~19Bを参照すると、この図は、化学修飾によりmiR-29模倣体の安定性を向上し得ることを示す。図19Aは、ヒトヌクレアーゼに対して安定化させるための化学修飾を有する例示的な操作されたmiR-29模倣体の配列および構造を示す。図19Bは、miR-29模倣体を、10%ヒト血清中、37℃で、指示された時間インキュベートしたことを示す。各時点での二重鎖安定性を、変性尿素PAGEによって可視化した。バンドがない時点、または顕著に不鮮明である時点は、それぞれ、サンプル時点の欠落または使用者のローディングエラーである。

30

【0136】

図20A~20Cを参照すると、この図は、天然のmiR-29a-3pおよびmiR-29b-3pのノックダウン活性を改善し得るパッセンジャー鎖の修飾を示す。図20Aは、パッセンジャー鎖組成によって異なる、天然のmiR-29a二重鎖と、模倣体M29-023およびM29-002との配列比較を示す。3種全ての二重鎖は、修飾されていない、天然のmiR-29a-3pガイド鎖配列を含む。太字の塩基は2'-O-メチルを含む。示されたパッセンジャー鎖についての5'末端のアミノ炭素6鎖(アミノC6)修飾についても示される。図20Bは、天然のmiR-29b二重鎖と模倣体M29-007およびM29-008との配列比較を示す。3種全ての二重鎖は、同じ未修飾の天然のmiR-29b-3pガイド鎖配列を含む。図20Cは、その3'UTR内にmiR-29標的部位を含むルシフェラーゼレポーターを過剰発現するように遺伝子操作したHEK細胞(HEK^{luc})の安定サブラインを15nMの天然のmiR-29a、天然のmiR-29b、およびmiR-29模倣体で処理した後のルシフェラーゼ活性を示す。全てのデータは、トランスフェクション後72時間の細胞をアッセイした3回の独立した実験からの平均±SEMとして表す。天然のmiR-29a-3p(29a-3p)またはmiR-29b-3p(29b-3p)のいずれかを含む模倣体のノックダウン活性は、ガイド鎖を修飾したパッセンジャー鎖とハイブリダイズすることによって、天然のmiR-29aおよびmiR-29b二重鎖よりも改善され得る。

40

50

【0137】

図21を参照すると、この図は、操作されたmiR-29模倣体に対する自然免疫賦活
が低下したことを示す。ヒト末梢血単核細胞（PBMC）（約 2×10^5 細胞）を丸底9
6ウェルプレートにプレATINGし、133nM濃度の示された模倣体を、RNAiM
AX試薬で48時間トランスフェクトした。上清中のIFN- α およびTNF- α のレベ
ルは、ELISAによって定量した。ポリ（dA:dT）オリゴヌクレオチドおよび強い
刺激効果が知られている非修飾RNA二重鎖（Pos Con）は、免疫賦活の陽性対照
として機能した。化学修飾されていないmiR-29aおよびmiR-29b二重鎖（N
on-mod）を用いたトランスフェクションは、化学修飾を含む表示例の模倣体の比較
対照として機能した。模倣体の非存在下で処理した細胞は、ベースラインを確立するよう
に機能した。

10

【0138】

図22A～22Bを参照すると、この図は、ウイルスタンパク質（NEF）をコードし
、HIVの抗ウイルス標的であり得るHIVウイルスRNA転写産物の概略的な視覚化を
示す。図22Aは、ソフトウェアRNAhybrid 2.2 ([https://bibiserv.ceb
itec.uni-bielefeld.de/rnahybrid](https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid)) を用いて計算した、自由エネルギー（ ΔG ）、
およびNEFのウイルス転写産物におけるその同族標的部位と天然miR-29b-3p
との間のハイブリダイゼーションを示す。例えば、ハイブリッド配列（G003-29）
および／または他の非天然の変化（G004-29、G020-29、G027-29、
およびG031-29）からなる人工miR-29ガイド鎖は、予測自由エネルギー（ ΔG ）
がより低く、相補性がより高くなり、標的認識が向上したことが推測され得る。本明
細書で示されるように、向上した標的認識は、標的RNAに対する操作されたオリゴヌク
レオチドの結合のギブス自由エネルギーの減少をもたらし得、複数の他のRNA配列のう
ち標的RNAに対する操作されたオリゴヌクレオチドの特異性の増加をもたらし得、また
はこれらの特徴の組合せをもたらし得る。したがって、図22Aに示す操作されたmiR
-29ガイド鎖は、対応する本明細書に記載の修飾を欠く天然miRNA配列よりも低い
予測自由エネルギー（ ΔG ）、高い特異性、および高い相補性で、NEFウイルスタンパ
ク質を発現するmRNAを結合し阻害するために使用し得る。したがって、操作されたm
iR-29ガイド鎖は、図22Bに示されるように、HIVウイルスまたはNEFウイル
スタンパク質を表示する他のウイルスに対して強力な抗ウイルス活性を示し得る。 3×10^4
個のCD4+ヒトT細胞を、100nMの対照、M29-012またはM29-0
28模倣体のいずれかでトランスフェクトした。トランスフェクションの24時間後の細
胞を、NEF遺伝子にクロニングされたGFPレポーター巢を含むpNL4-HIVに
感染させた。フローサイトメトリーにより感染後36時間目に測定した相対的なGFP発
現は、M29-012およびM29-028で前処理した細胞で有意に減少していた。

20

30

【0139】

図23A～23Cを参照すると、この図は、miR-29a-3p、miR-29b-
3p、M29-002、M29-023、およびM29-028によるHIV複製および
潜伏に関連するmRNAのノックダウンを示す。 1×10^5 個のJurkat T細胞
を6ウェルプレート中の1mLの培地にプレATINGし、直ちに100nMの対照、天
然のmiR-29a、天然のmiR-29b、またはmiR-29模倣体で72時間処理
し、トランスフェクション剤に処方した。細胞を回収し、総RNAをdirectzol
キットにより精製した。逆転写後、miR-29標的遺伝子Tet3（図23A）、サイ
クリンT1（図23B）、およびDNMT3A（図23C）の相対的発現を定量RT-P
CRにより評価した。値は、3回の生物学的複製の平均を表し、エラーバーはSEMを表
す。*は、両側スチューデントT検定によるp値<0.05を示す。全ての場合におい
て、操作された模倣体miR-29は、天然のmiRNAよりも標的とされるmRNAの
ノックダウンが改善されている。

40

【0140】

図24A～24Bを参照すると、この図は、SARSウイルス転写産物に対する模倣体

50

m i R - 2 9 (図 2 4 A) および m i R - 3 0 (図 2 4 B) ファミリーガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値を示す。m i R - 2 9 模倣体の例示的なガイド鎖構築物を示す。m i R - 2 9 ガイド配列、例えば配列番号 1 2 または配列番号 1 0 3、および m i R - 3 0 ガイド配列、例えば配列番号 8 6 または配列番号 8 8 は、S A R S ウイルスに対する抗ウイルス活性を有し得る。

【 0 1 4 1 】

図 2 5 A ~ 2 5 C を参照すると、この図は、S A R S - C o V - 2 ウイルス転写産物に対する模倣体 m i R - 2 9 (図 2 5 A) および m i R - 3 0 (図 2 5 B) ファミリーガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値を示す。選択したガイド鎖および 3 種の予測される標的との間のハイブリダイゼーションおよび結合自由エネルギー (ΔG) は、ソフトウェア R N A h y b r i d 2 . 2 (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid>) を用いて計算した。3 個の標的部位全てにわたる自由エネルギーの純和 (N E T) およびそれらの平均化された ΔG (A v g .) をも示す。図 2 5 C は、S A R S - C o V - 2 - 誘導細胞死に対する例示的な操作された m i R - 2 9 (M 2 9 - 0 2 8) および m i R - 3 0 模倣体 (M 3 0 - 0 4 3 および M 3 0 - 4 8) の保護効果を実証する。5 x 1 0 ³ の V e r o 細胞を 2 9 ウェルプレートにプレATINGし、プレATINGの 6 時間後に 2 5 n M の対照、M 2 9 - 0 2 8、M 3 0 - 0 4 3 または M 3 0 - 0 4 8 模倣体でトランスフェクトし、2 4 時間後に S A R S - C o V - 2 (M O I 0 . 0 3) に感染させた。さらに 7 2 時間後、細胞を、ウイルス t o x g l o アッセイ (P r o m e g a) を用いて、ウイルス誘発性細胞変性効果についてアッセイした。M 2 9 - 0 2 8、M 3 0 - 4 3 または M 3 0 - 0 4 8 のいずれかでの前処置により、ウイルス誘導性細胞死が約 3 0 ~ 4 0 % 減少するという結果が得られた。m i R - 2 9 ガイド配列、例えば配列番号 1 0 2 または配列番号 1 0 9、および m i R - 3 0 ガイド配列、例えば配列番号 8 6 または配列番号 8 8 は、S A R S - C o V - 2 ウイルスに対する抗ウイルス活性を有し得る。

【 0 1 4 2 】

図 2 6 を参照すると、この図は、H C V 遺伝子型 1 転写産物に対する模倣体 m i R - 2 9 ファミリーガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値を示す。m i R - 2 9 模倣体の例示的なガイド鎖構築物を示す。m i R - 2 9 ガイド配列、例えば配列番号 1 2、1 3、1 0 2、1 0 3、1 1 2、1 1 5、1 1 9、1 1 7、1 0 5、1 1 0、1 0 9、1 0 0 は、H C V 遺伝子型 1 に対して抗ウイルス活性を有し得る。

【 0 1 4 3 】

m i R - 2 9、m i R - 3 0、または m i R - 2 6 ファミリーの抗ウイルス特性は、そのゲノム内に標的部位を含むか、または類似の宿主遺伝子転写産物 (例えば T E T 1、T E T 2、T E T 3 等) に依存する他の R N A ベースのウイルス間でも保存されている可能性もある。シード配列の相補性に基づき、S A R S および S A R S - C o V - 2 コロナウイルスのゲノム転写産物中には、それぞれ 2 6 個および 3 2 個の標的部位の候補になる。3 種の例示的な標的とされる部位に関する自由エネルギー (ΔG) の計算値は、人工ファミリーメンバーの多くが、S A R S (図 2 4) および S A R S - C o V - 2 (図 2 5) の両方のゲノム転写産物において天然の m i R - 2 9 a - 3 p、m i R - 2 9 b - 3 p または m i R - 3 0 a - 5 p よりも結合能が改善され得ることを示した。同様に、人工ファミリーメンバーもまた、C 型肝炎ウイルス (H C V) ゲノムにおける 3 種の候補標的部位にわたって計算上の結合が改善されたことを示した (図 2 6)。人工ファミリーメンバーを含む模倣体は、R N A ベースのウイルスの感染を治療または予防する際に、幅広い作用の抗ウイルス特性を有し得る。

配列番号 5 0 0 ~ 5 3 1、8 2 9 ~ 8 3 1 (表 6) は、C O V I D - 1 9 コロナウイルス (S A R S - C o V - 2) ゲノム R N A 中の m i R - 2 9 標的配列を示す。例えば、配列番号 5 0 0 または配列番号 5 0 2 で示される C O V I D - 1 9 ゲノムの標的配列は、1 種以上の m i R - 2 9 構築物等、本明細書に記載される 1 種または複数種の構築物によって標的とされ得る。

10

20

30

40

50

【0144】

配列番号474～499、826～828（表6）は、SARSコロナウイルス（SARS-CoV）ゲノムRNA中のmiR-29標的配列を示している。例えば、配列番号474または配列番号475で示されるSARSゲノムの標的配列は、1種以上のmiR-29構築物等、本明細書に記載される1種または複数種の構築物によって標的とされ得る。

配列番号532～554（表6）は、MERSコロナウイルス（MERS-CoV）ゲノムRNAにおけるmiR-29の標的配列を示す。例えば、配列番号535または配列番号537で示されるMERSゲノムの標的配列は、1種以上のmiR-29構築物等、本明細書に記載される1種または複数種の構築物によって標的とされ得る。

【0145】

配列番号555～586（表6）は、HKU1コロナウイルス（CoV-HKU1）ゲノムRNA中のmiR-29標的配列を示す。例えば、配列番号556または配列番号566で示されるHKU1ゲノムの標的配列は、1種以上のmiR-29構築物等、本明細書に記載される1種または複数種の構築物によって標的とされ得る。

【0146】

表9および図27を参照すると、この図は、類似の天然ncRNAを有しない、操作された人工抗がんmiRNA模倣体E1-001を示す。E1-001、G001-E1のガイド鎖は、いくつかの発がん性mRNAの3'UTRにおける単一および複数の部位を標的とするように操作されている。表9は、発がん性mRNAにおける標的とされる部位に対するG001-E1ガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値を示している。ハイブリダイゼーションおよび結合自由エネルギー（ ΔG ）は、ソフトウェアRNAhybrid 2.2 (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid>)を使用して計算した。図27は、線維芽細胞、網膜色素上皮細胞株（RPE-1）またはヒト口腔ケラチノサイト（HOK）細胞を含む正常な非がん性細胞における、操作された人工miRNA E1-001の活性を示す。また、遺伝的背景の異なる種々のがん細胞株の処理も行った。示された細胞株を96ウェルプレートにプレーティングし、プレーティングの6時間後にRNAi max剤を用いて7.5 nM E1-001で5日間トランスフェクトした。処理後、細胞生存率をXTTアッセイで評価した。陰性対照miRNA処理と比較した統計的有意性（ $P < 0.01$ ）が示される。全てのデータは、最低3回の独立した実験からの平均±SEMとして表す。がん細胞株は、非がん細胞よりも有意に感受性が高い。

【0147】

10

20

30

40

50

【表 9】

表9: ENG-miR-1ガイド鎖と様々な標的との結合自由エネルギーの計算値

配列番号	標的	ΔG	配列番号	標的	ΔG
594	CSNK1G1部位1	-17.4	608	RAB11FIP1部位4	-18
595	CSNK1G1部位2	-19.1	608	RBJ部位1	-19.6
596	CSNK1G1部位3	-20.5	609	RBJ部位2	-18
597	CSNK1G1部位4	-21.7	610	SERBP1部位1	-17.4
598	CSNK1G1部位5	-21.3	611	SERBP1部位2	-18
599	CSNK1G1部位6	-20.1	612	CTBP1	-18.8
600	ARHGAP26部位1	-20.3	613	CRKL	-24.7
601	ARHGAP26部位2	-21.8	614	ITGA3	-24.2
602	ARHGAP26部位3	-17.6	615	ITGAV	-18.4
603	ARHGAP26部位4	-20.1	616	LAMC1	-17.1
604	ARHGAP26部位5	-18.1	617	G6PC2	-19.9
605	RAB11FIP1部位1	-27.3	618	PPP2R5E	-17.5
606	RAB11FIP1部位2	-17.2	619	KLF17	-23.9
607	RAB11FIP1部位3	-17.2			

10

【0148】

20

表10を参照すると、この表は、ZEB1（配列番号590）、E2F1（配列番号591）、HER3（配列番号592）、およびSHIP2（配列番号593）遺伝子転写産物の3'UTRにおけるがん関連RNAに対する操作されたmiR-205ガイド鎖と予測される結合の自由エネルギーとを示す。予測される自由エネルギー（ ΔG ）が低いほど、標的認識が向上していると推測する。標的HER3（PMID:19276373）はがんの成長を促進するがん遺伝子であり、SHIP2（PMID:19033458）はがんの成長を抑制するがん抑制因子である。例示的なガイド鎖G016-205（配列番号260）およびG011-205（配列番号255）を操作し、HER3の標的化が強く、SHIP2の標的化が弱いと予測される。

【0149】

30

40

50

【表 10】

表10. miR-205下流転写産物に対する模倣ガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー(ΔG)* [kcal/mol]			
		ZEB1	E2F1	HER3	SHIP2
32	miR-205-5p	-20.6	-29.3	-28	-30.2
840	G200-205	-22	-24.9	-27.5	-27.5
841	G201-205	-19.4	-24.9	-26.8	-29.3
262	G018-205	-19.1	-29.3	-30.4	-30.2
260	G016-205	-20.6	-32.7	-31.8	-24.6
247	G003-205	-19.9	-24.9	-32.6	-27.5
254	G010-205	-18.4	-24.9	-31.1	-29.3
245	G001-205	-22	-28.3	-31.3	-23.4
253	G009-205	19.4	-28.3	-30.6	-23.4
263	G019-205	-19.1	-32.7	-34.4	-27.2
248	G004-205	-19.9	-28.3	-36.6	-25.4
255	G011-205	-18.4	-28.3	-34.9	-25.4
842	G202-205	-22.6	-25.5	-30.7	-31.4
843	G203-205	-20.1	-25.5	-31.8	-31.4
259	G015-205	-20.6	-33.9	-34.7	-27
249	G005-205	-22.4	-30.1	-36.7	-27.5
256	G012-205	-20.1	-30.1	-37.8	-27.5
250	G006-205	-22.6	-28.9	-34.5	-25.3
257	G013-205	-20.1	-28.9	-35.6	-25.3
246	G002-205	-21.1	-23.1	-28	-28.8
844	G204-205	-21.2	-23	-26.5	-28.9
845	G205-205	-21.4	-25.5	-33.4	-31.4
261	G017-205	-19.6	-30.9	-34.7	-27.7
251	G007-205	-20.4	-30.1	-39.6	-27.5
258	G014-205	-17.6	-30.1	-36.9	-27.5
252	G008-205	-21.4	-28.9	-37.4	-25.3

*自由エネルギー(ΔG)は、ZEB1(配列番号590)、E2F1(配列番号591)、HER3(配列番号592)およびSHIP2(配列番号593)遺伝子転写産物の3'UTR中に示された模倣ガイド鎖配列と標的部位との間でRNAhybrid 2.2を用いて計算した。予測される自由エネルギー(ΔG)が低いほど、標的認識が向上していると推測する。

【0150】

表11を参照すると、この表は、組織の瘢痕化および線維化に関連する可能性のあるmiR-29模倣体標的遺伝子を示す。ヒトゲノム内の下流標的遺伝子候補の分析により、コラーゲンスーパーファミリー内のほとんどのメンバーを含む、組織の瘢痕化と線維化に関与し得る多くの遺伝子の濃縮が同定された。miR-29模倣体は、さらに線維化／瘢痕化病態の治療薬としての可能性を有している。

【0151】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表11 - 組織の癒痕化や線維化に関連するmiR-29模倣体標的遺伝子
標的遺伝子

標的遺伝子	遺伝子オントロジー	参考(PMID)
COL1A1, COL11A1, COL2A1, COL5A3, COL5A2, COL4A4, COL21A1, COL7A1, COL9A1, COL19A1, COL5A1, COL22A1, COL8A1, COL4A2, COL6A2, COL24A1, COL4A3, COL4A6, COL25A1, COL16A1, COL15A1	コラーゲンスーパーファミリー; 細胞外マトリックスリモデリング	25785236; 31231509; 22772564
PDGFB, PDGFC, PDGFRB	血小板由来成長因子(PDGF)シグナル伝達	29155002; 28983598; 27816607; 25678385
WISP1	TGF- β /Wntシグナル伝達	26867691
LOXL2	コラーゲン/細胞外マトリックスリモデリング	30986934; 28073888; 23821193
エラスチン	細胞外マトリックスリモデリング	10761639; 30944168
TGFB2	形質転換成長因子ベータ(TGF- β)シグナル伝達	26704519; 31992593; 31939600; 29615587
HDGF	肝細胞腫由来成長因子(HDGF)シグナル伝達	19913322

10

20

【0152】

図28を参照すると、この図は、多標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)によるFSDH患者の筋芽細胞におけるDUX4およびDBET RNA転写産物の同時ノックダウンを示す。AS-DX-10はDUX4転写産物のみを標的とし、一方、AS-DX-25、-37、-55はDUX4およびDBETの両転写産物を標的としている。不死化した15Abic筋芽細胞を12ウェルプレートにプレーティングし、その翌日に、トランスフェクション剤RNAiMAXを用いて、対照または標的化ASOを50nMでトランスフェクトした。プレーティングの1日後に分化培地を加え、筋芽細胞形成およびDUX4の発現を誘導した。トランスフェクションの72時間後に細胞を溶解し、ウェルから全RNAを採取し、RT-qPCRを行い、DUX4またはDBET転写産物の発現を検出した。ASOのAS-DX-25、-37、-55はDUX4およびDBETの両転写産物をノックダウンし、AS-DX-10はDUX4のみをノックダウンした。

30

【0153】

いくつかの例では、図30に示すように、遺伝物質を含むサンプル202は、ヒト対象等の対象201から取得し得る。サンプル202は、アッセイを行う等、本明細書に記載の1種または複数種の方法に供され得る。いくつかの例では、アッセイは、配列決定(例えば、ナノポア配列決定)、ジェノタイピング、ハイブリダイゼーション、増幅、標識、またはそれらのあらゆる組み合わせを含み得る。方法から得られた1または複数の結果を、プロセッサ204に入力し得る。サンプルの識別、対象の識別、サンプルのタイプ、基準物、または他の情報等の1または複数の入力パラメータをプロセッサ204に入力し得る。アッセイからの1または複数の測定基準は、プロセッサが変性椎間板疾患の診断または治療に対する推奨等の結果を生成し得るように、プロセッサ204に入力され得る。プロセッサは、結果、入力パラメータ、測定基準、基準物、またはそれらのあらゆる組み合わせを、ビジュアルディスプレイまたはグラフィカルユーザーインターフェース等のディスプレイ205に送信し得る。プロセッサ204は、(i)結果、入力パラメータ、測定基準、またはそれらのあらゆる組み合わせをサーバ207に送信し、(ii)結果、入力

40

50

パラメータ、測定基準、またはそれらのあらゆる組み合わせをサーバ 207 から受信し、
(iii) またはそれらを送信および受信し得る。

【0154】

コンピュータ制御システム

本開示は、本開示の方法を実施するようにプログラムされたコンピュータ制御システムを提供する。図 29 は、がん治療薬または抗ウイルス治療薬等の治療効果に対する種々の構築物の有効性を予測または確認するようにプログラムされるか、または他の方法で構成されたコンピュータシステム 101 を示す。コンピュータシステム 101 は、例えば、種々の治療標的に対する構築物のモデリングまたは同定、構築物の有効性または安定性のモデリング、またはそれらのあらゆる組み合わせ等、本開示の種々の態様を調節し得る。コンピュータシステム 101 は、ユーザーの電子デバイス、または電子デバイスに関して遠隔に位置するコンピュータシステムであり得る。電子デバイスは、モバイル電子デバイスであり得る。

10

【0155】

コンピュータシステム 101 は、中央処理ユニット（CPU、本明細書では「プロセッサ」および「コンピュータプロセッサ」とも称される）105 を備え、それはシングルコアもしくはマルチコアプロセッサ、または並列処理のための複数のプロセッサであり得る。コンピュータシステム 101 は、メモリまたはメモリ場所 110（例えば、ランダムアクセスメモリ、リードオンリーメモリ、フラッシュメモリ）、電子記憶装置 115（例えば、ハードディスク）、1 または複数の他のシステムと通信するための通信インターフェース 120（例えば、ネットワークアダプター）、および周辺機器 125、例えばキャッシュ、他のメモリ、データストレージおよび／または電子ディスプレイアダプター類をも備える。メモリ 110、記憶装置 115、インターフェース 120 および周辺機器 125 は、コミュニケーションバス（実線）、例えばマザーボードを介して CPU 105 と通信している。記憶装置 115 は、データを記憶するためのデータ記憶装置（またはデータリポジトリ）であり得る。コンピュータシステム 101 は、通信インターフェース 120 の支援によりコンピュータネットワーク（「ネットワーク」）130 に動作可能に連結され得る。ネットワーク 130 は、インターネット、インターネットおよび／またはエクストラネット、またはインターネットと通信しているイントラネットおよび／またはエクストラネットであり得る。ネットワーク 130 は、ある例では、電気通信および／またはデータネットワークである。ネットワーク 130 は、1 種または複数種のコンピュータサーバーを含み得、それによって、分散コンピューティング、例えばクラウドコンピューティングが可能となり得る。ネットワーク 130 は、ある例では、コンピュータシステム 101 によって支援されて、ピアツーピアネットワークを実行し得、それによって、コンピュータシステム 101 に接続された機器がクライアントまたはサーバとして動作することが可能となり得る。

20

30

【0156】

CPU 105 は、プログラムまたはソフトウェアで具現化し得る一連の機械可読命令を実行し得る。命令は、メモリ場所、例えばメモリ 110 に記憶され得る。命令は CPU 105 に出すことができ、それは次に、本開示の方法を実行するように CPU 105 をプログラムまたは他の形で構成し得る。CPU 105 によって行われる操作の例としては、フェッチ、デコード、実行、およびライトバック等があり得る。

40

CPU 105 は、回路、例えば集積回路の一部であり得る。システム 101 の 1 または複数の他のコンポーネントを回路に含み得る。いくつかの例では、回路は、特定用途向け集積回路（ASIC）である。

【0157】

記憶装置 115 は、ファイル、例えばドライバー、ライブラリーおよび保存プログラムを記憶し得る。記憶装置 115 は、ユーザーデータ、例えば、ユーザー選択およびユーザープログラムを記憶し得る。コンピュータシステム 101 は、いくつかの例では、コンピュータシステム 101 に対して外部である、例えばイントラネットまたはインターネット

50

を介してコンピュータシステム 101 と通信しているリモートサーバー上にある 1 個または複数の追加のデータ記憶装置を含み得る。

コンピュータシステム 101 は、ネットワーク 130 を介して 1 または複数のリモートコンピュータシステムと通信し得る。例えば、コンピュータシステム 101 は、ユーザーのリモートコンピュータシステムと通信し得る。リモートコンピュータシステムの例には、パーソナルコンピュータ（例えば、ポータブル PC）、スレートもしくはタブレット PC（例えば、Apple（登録商標）iPad、Samsung（登録商標）Galaxy Tab）、電話、スマートフォン（例えば、Apple（登録商標）iPhone、Android 対応機器、BlackBerry（登録商標））、または携帯情報端末等が挙げられる。ユーザーは、ネットワーク 130 を介してコンピュータシステム 101 にアクセスし得る。

10

【0158】

本明細書に記載の方法は、コンピュータシステム 101 の電子記憶場所に、例えばメモリ 110 または電子記憶装置 115 等に記憶された機械（例えば、コンピュータプロセッサ）実行可能コードによって実行し得る。機械実行可能コードもしくは機械可読コードは、ソフトウェアの形で提供し得る。使用時に、そのコードはプロセッサ 105 によって実行し得る。場合により、そのコードは、記憶装置 1115 から検索し、プロセッサ 105 によって即時にアクセスできるようにメモリ 110 に記憶させ得る。状況によっては、電子記憶装置 115 を除外し得、機械実行可能命令をメモリ 110 に記憶させる。

【0159】

そのコードは、コードを実行するように調整されたプロセッサを有する機械によって使用するために、プリコンパイルおよび構成し得るか、または実行時間中にコンパイルし得る。当該コードは、そのコードがプレコンパイル方式またはアズコンパイルド（*as-compiled*）方式で実行することを可能にするように選択可能なプログラミング言語で供給され得る。

20

【0160】

コンピュータシステム 101 等、本明細書で提供されるシステムおよび方法の態様は、プログラミングに具体化し得る。本技術の各種態様は、代表的には機械（またはプロセッサ）実行可能コードおよび／またはある種の機械可読媒体に保持されたもしくはその中に具体化された関連データの形態をとる、「製品」または「製造品」と考えられ得る。機械実行可能コードは、メモリ（例えば、読み出し専用メモリ、ランダムアクセスメモリ、フラッシュメモリ）またはハードディスク等の電子記憶装置に記憶され得る。

30

【0161】

「記憶」タイプの媒体は、コンピュータ、プロセッサ等の有形メモリ、または様々な半導体メモリ、テープドライブ、ディスクドライブ等のその関連モジュールのいずれかまたは全てを含み得、これらは、ソフトウェアプログラミングのためにいつでも非一時的記憶を提供し得る。ソフトウェアの全てまたは一部は時には、インターネットまたは他の様々な電気通信ネットワークを通じて通信され得る。例えば、そのような通信は、あるコンピュータまたはプロセッサから別のコンピュータまたはプロセッサへの、例えば、管理サーバまたはホストコンピュータからアプリケーションサーバのコンピュータプラットフォームへの、ソフトウェアのロードを可能にし得る。したがって、ソフトウェア要素を保持し得る別の種類の媒体は、ローカルデバイス間の物理的インターフェースにわたって、有線および光地上ネットワークを通じて、ならびに、各種エアリンクにわたって使用されているような光波、電波および電磁波を含む。このような波を保持する物理的要素、例えば有線または無線リンク、光リンク等もまた、ソフトウェアを保持する媒体とみなされ得る。本明細書で使用される場合、非一時的で有形の「記憶」媒体に限定されていない限り、コンピュータまたは機械「可読媒体」等の用語は、実行のためにプロセッサに命令を与えることに関与するあらゆる媒体を意味する。

40

【0162】

それゆえに、コンピュータ実行可能コード等の機械可読媒体は、有形記憶媒体、搬送波

50

媒体、または物理的伝送媒体を含むがこれらに限定されない、多くの形態を取り得る。不揮発性の記憶媒体としては、例えば、図面に示されるデータベース等を実装するために使用され得るもの等、コンピュータ等の記憶装置のいずれか等の光ディスクまたは磁気ディスクが挙げられる。揮発性の記憶媒体としては、そのようなコンピュータプラットフォームのメインメモリ等のダイナミックメモリが挙げられる。有形の伝送媒体としては、同軸ケーブル；コンピュータシステム内のバスを構成するワイヤを含む、銅線および光ファイバーが挙げられる。搬送波伝送媒体は、電気信号もしくは電磁信号の形態、または、無線（RF）データ通信および赤外線（IR）データ通信時に発生するもの等の、音波もしくは光波の形態を取り得る。したがって、コンピュータ可読媒体の一般的な形態としては、例えばフロッピーディスク、フレキシブルディスク、ハードディスク、磁気テープ、あらゆる他の磁気媒体、CD-ROM、DVDもしくはDVD-ROM、あらゆる他の光媒体、パンチカード紙テープ、孔パターンを有するあらゆる他の物理的記憶媒体、RAM、ROM、PROMおよびEPROM、FLASH-EPROM、あらゆる他のメモリチップもしくはカートリッジ、データもしくは命令を搬送する搬送波、そのような搬送波を搬送するケーブルもしくはリンク、または、コンピュータがプログラミングコードおよび／もしくはデータを読み取ることができるあらゆる他の媒体等がある。これらの形態のコンピュータ可読媒体の多くが、実行のために、1またはそれ以上の命令の1またはそれ以上のシーケンスをプロセッサに搬送することに関与し得る。

10

【0163】

コンピュータシステム101は、例えば、1つまたは複数の結果（即時結果または以前の方法からのアーカイブされた結果）、1つまたは複数のユーザー入力、ライブラリーまたはデータベースからの基準値またはその派生物、またはそれらのあらゆる組み合わせを提供するためのユーザーインターフェース（UI）140を構成する電子ディスプレイ135を含むか、またはそれと通信可能である。UIの例としては、グラフィカルユーザーインターフェース（GUI）およびウェブベースユーザーインターフェースが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

20

【0164】

本開示の方法およびシステムは、1またはそれ以上のアルゴリズムによって実行され得る。アルゴリズムは、中央処理ユニット105による実行時にソフトウェアによって実行され得る。アルゴリズムは、例えば、1個または複数の構築物の治療効果、安定性、または他の属性を最適化するために、教師あり学習を介して最適化された構築物を決定し得る。

30

【0165】

本明細書では、例示的な実施形態を示し、説明してきたが、そのような実施形態は、例示的なものにすぎない。例示的な実施形態に対して、多数の変形、変更、および置換を行い得る。本明細書に記載された実施形態に対する様々な代替案を採用し得ることを理解すべきである。

【図面】

【図1A】

		配列(5' -> 3')
配列番号 1	miR-30a-5p	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 2	miR-30b-5p	UGUAAACAUCU- <u>ACACUCUAGC</u>
配列番号 3	miR-30c-5p	UGUAAACAUCU- <u>ACACUCUAGC</u>
配列番号 4	miR-30d-5p	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 5	miR-30e-5p	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
天然		
配列番号 39	G007-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 38	G006-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 40	G061-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 41	G062-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 42	G063-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUGGAAG</u>
配列番号 43	G064-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUCUAGC</u>
配列番号 44	G065-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUCUAGC</u>
配列番号 45	G066-30	UGUAAACAUCU- <u>CGACUCUAGC</u>
操作された		

FIG. 1A

【図1B】

		配列(5' -> 3')
配列番号 6	* miR-30a-3p	CUUUCAGUC---GGAUGUUUGCAGC
配列番号 51	P125-30	---UUCAGUC---GGAUGUUUGCAGC
配列番号 50	P005-30	---UUCAGUC---GGAUGUUUACA--
配列番号 48	P003-30	---UUCAGUCG--GGAUGUUUACA--
配列番号 49	P004-30	---UUCAGUCGCGGGAUGUUUACA--
配列番号 47	P002-30	---CCAGUCGCGGGAUGUUUACA--
配列番号 46	P001-30	---CCAGUCG--GGAUGUUUACA--
操作された		
*天然		

FIG. 1B

40

50

【図 2 A】

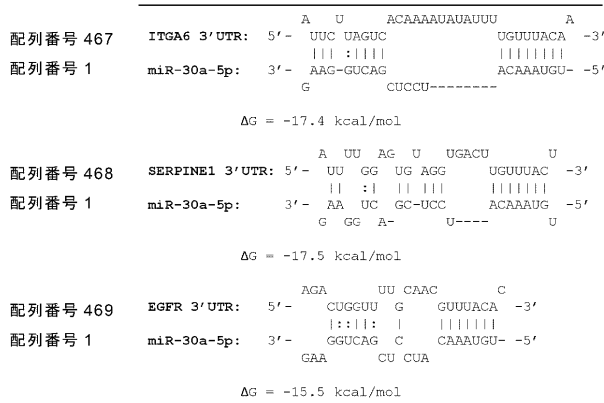


FIG. 2A

【図 2 B】

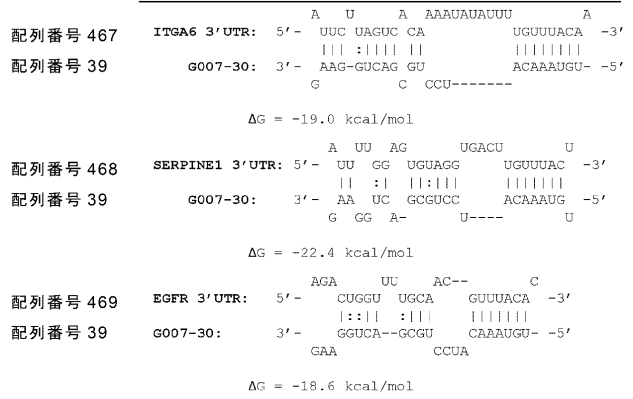


FIG. 2B

【図 2 C】

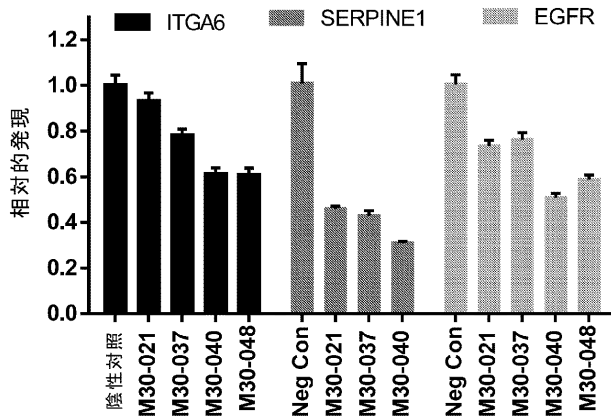


FIG. 2C

【図 3】

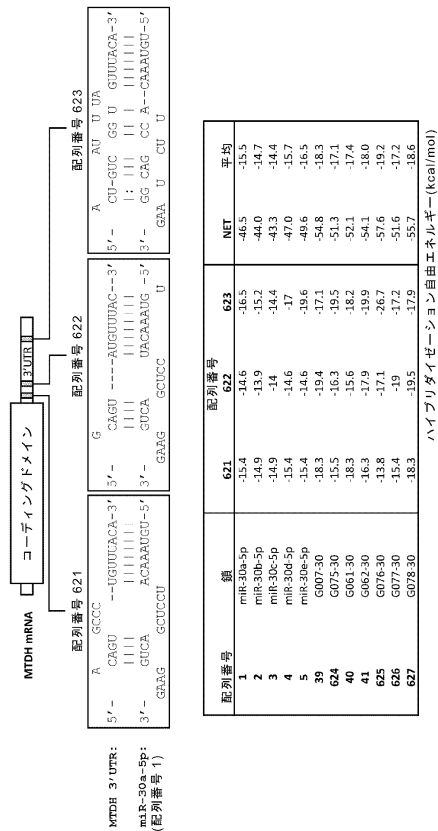


FIG. 3

10

20

30

40

50

【図 4 A】

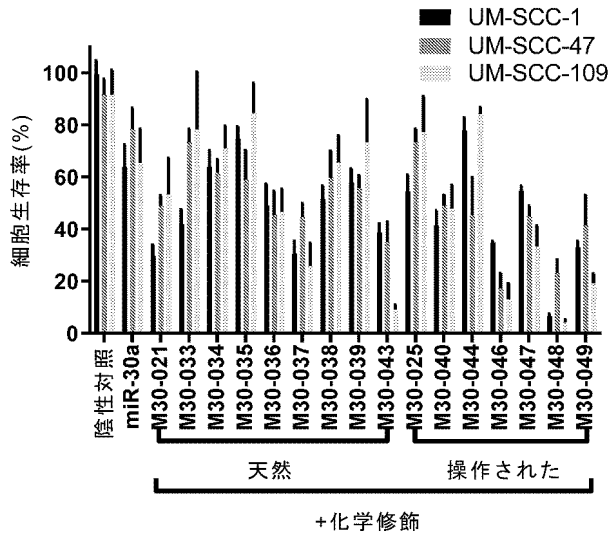


FIG. 4A

【図 4 B】

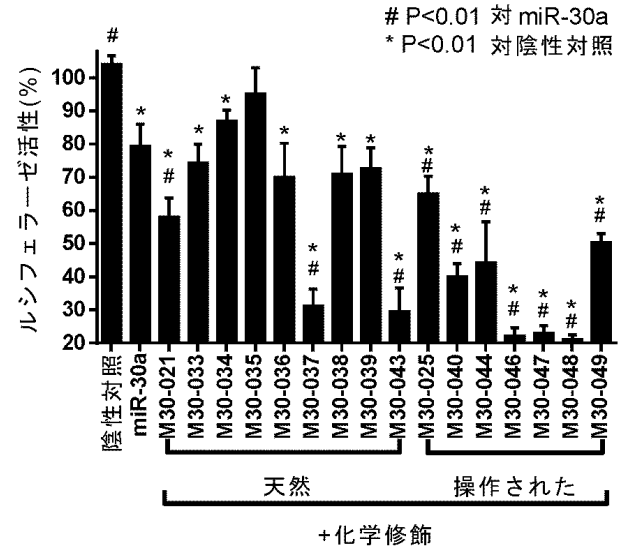


FIG. 4B

【図 4 C】

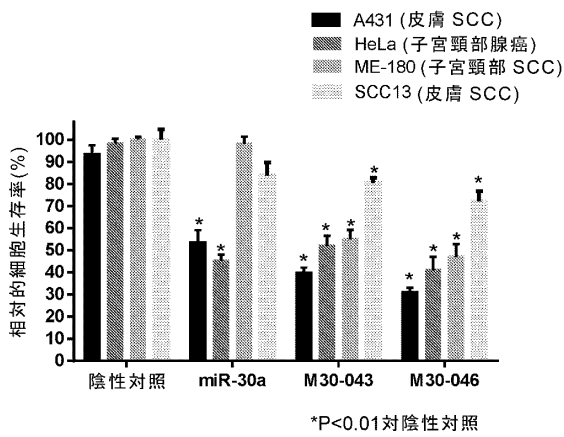


FIG. 4C

【図 4 D】

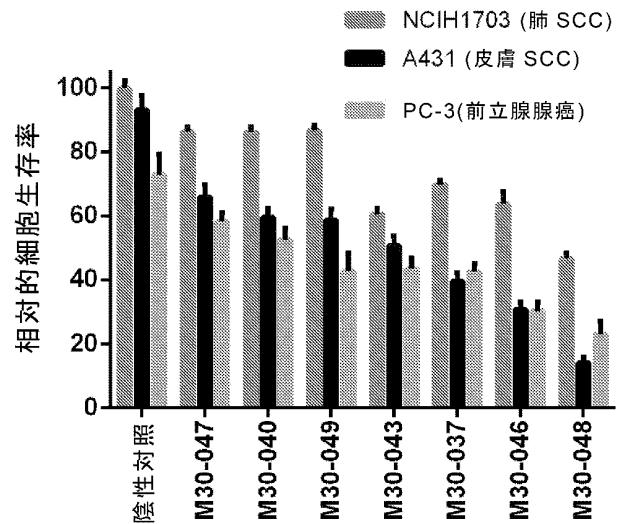


FIG. 4D

10

20

30

40

50

【図 5 A】

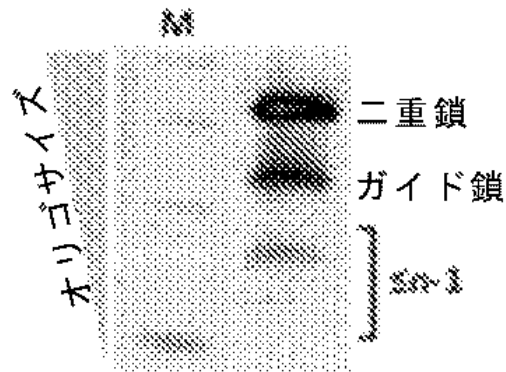


FIG. 5A

【図 5 B】

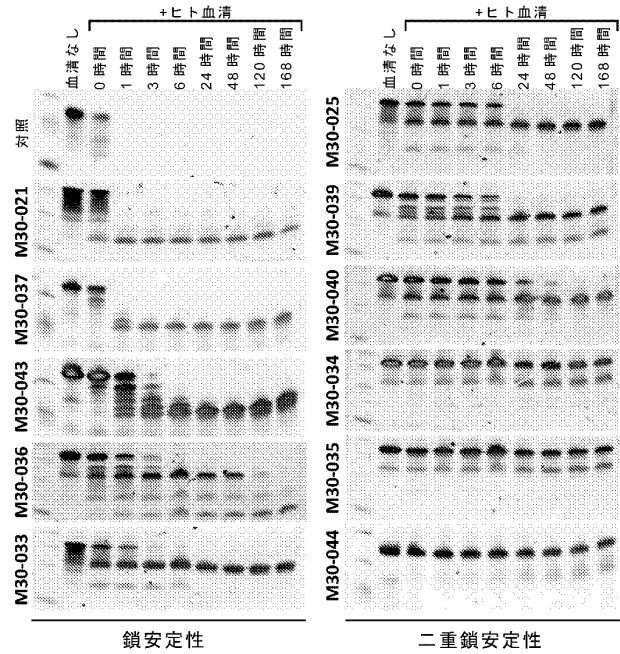


FIG. 5B

【図 6 A】

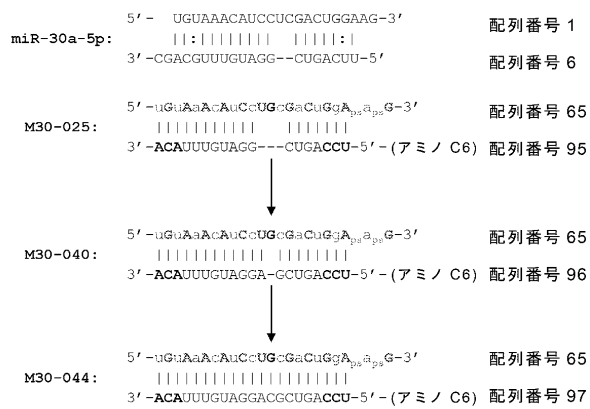


FIG. 6A

【図 6 B】

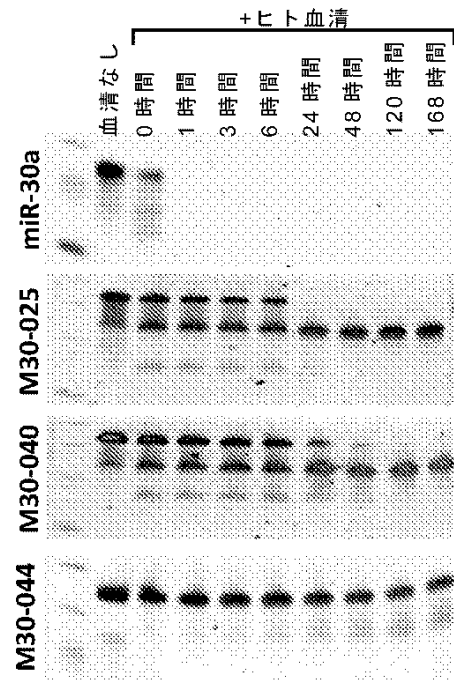


FIG. 6B

10

20

30

40

50

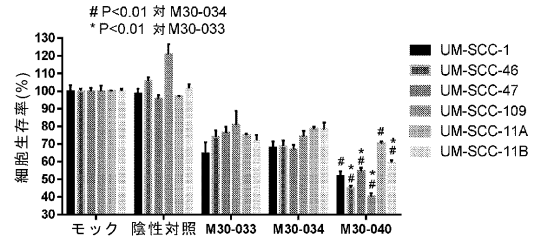
【図 7 A】

FIG. 7A

M30-033:	配列番号 69	G042-30:	5'-UGUAAACAUCUUGGACUGGAAG-3'
	配列番号 95	P014-30:	3'-ACAUUUGUAGG--CUGACCU-5'
M30-034:	配列番号 69	G042-30:	5'-UGUAAACAUCUUGGACUGGAAG-3'
	配列番号 96	P123-30:	3'-ACAUUUGUAGGAGCUGACCU-5'
M30-040:	配列番号 65	G032-30:	5'-UGUAAACAUCUUGGACUGGAAG-3'
	配列番号 96	P123-30:	3'-ACAUUUGUAGGA-CCUGACCU-5'

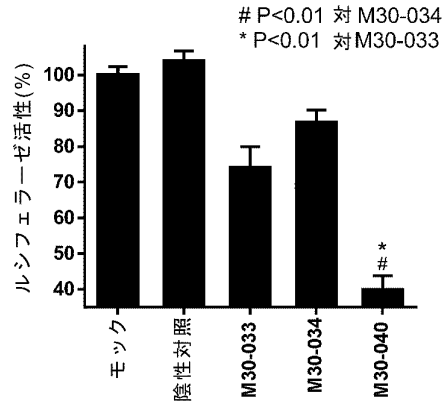
【図 7 B】

FIG. 7B



【図 7 C】

FIG. 7C



【図 8 A】

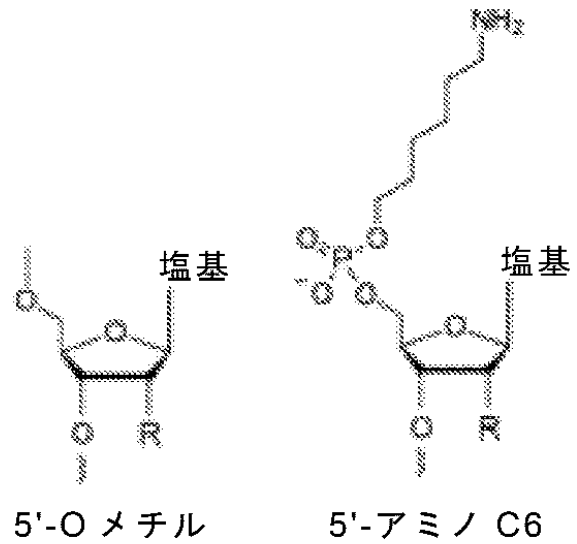


FIG. 8A

10

20

30

40

50

【図 10 A】

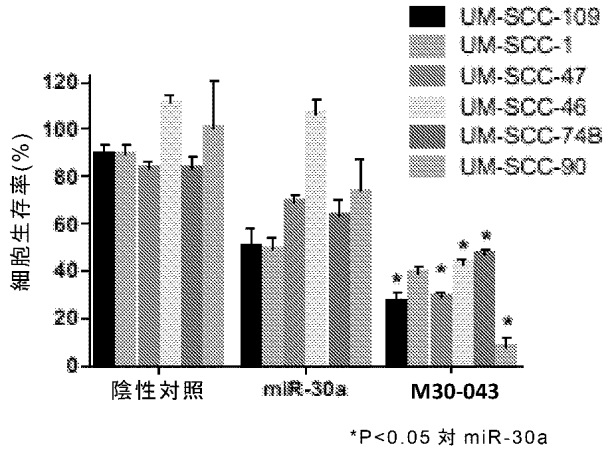


FIG. 10A

【図 10 B】

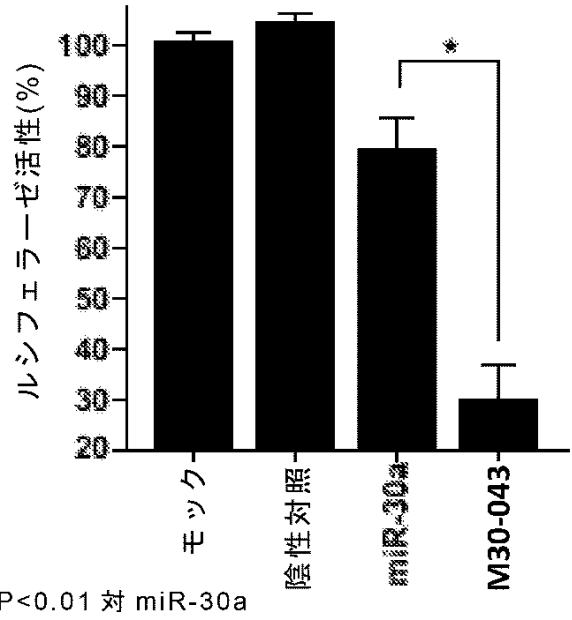


FIG. 10B

【図 11 A】

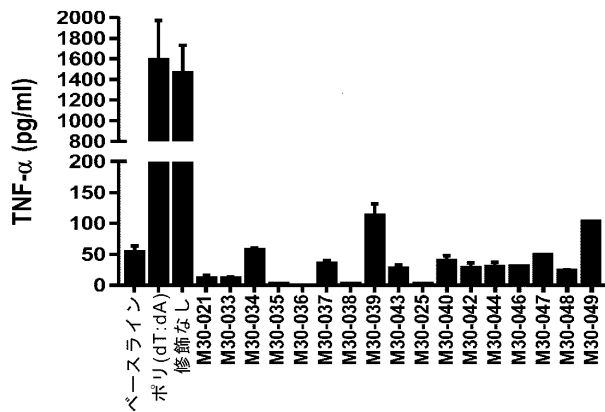


FIG. 11A

【図 11 B】

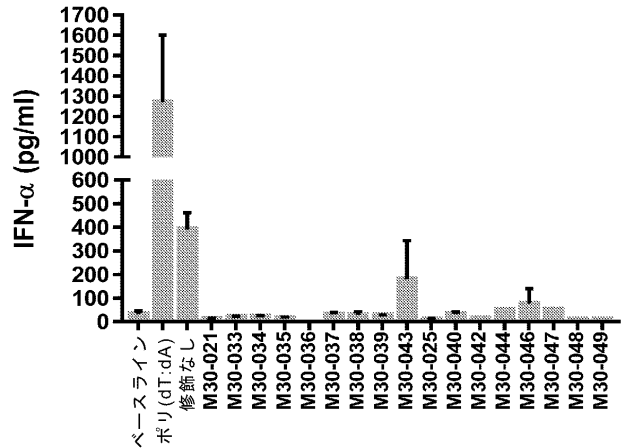


FIG. 11B

10

20

30

40

50

【図 12 A】

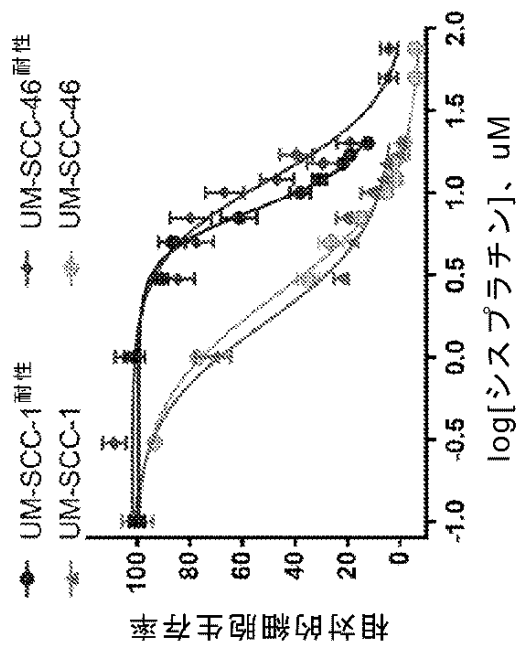


FIG. 12A

【図 12 B】

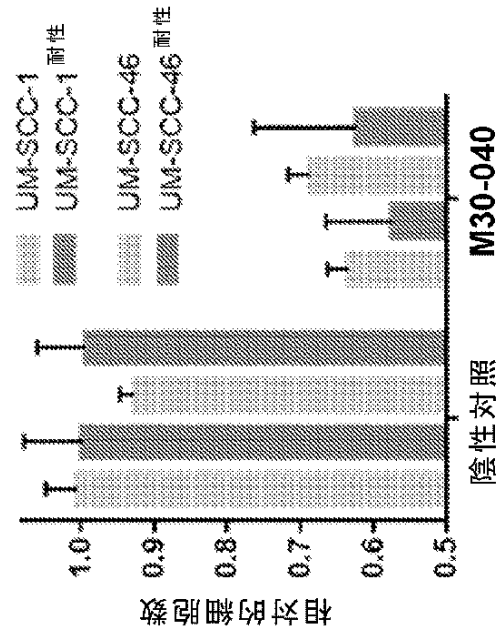


FIG. 12B

【図 12 C】

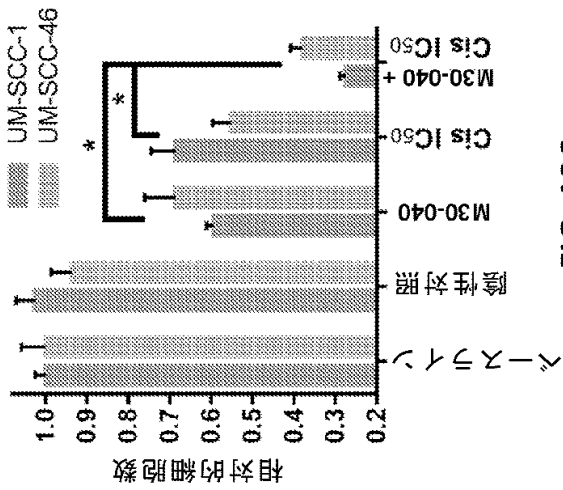


FIG. 12C

【図 12 D】

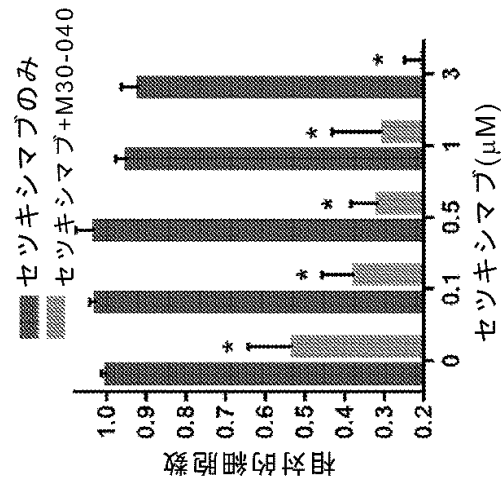


FIG. 12D

10

20

30

40

50

【図 13 A】

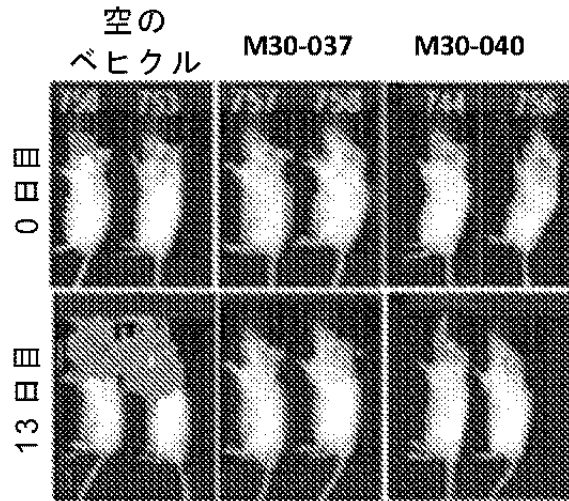


FIG. 13A

【図 13 B】

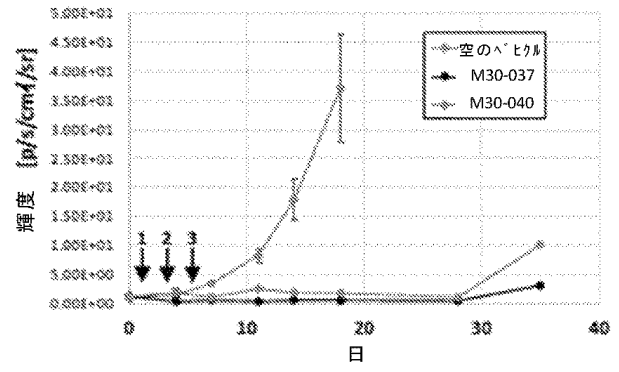


FIG. 13B

10

20

【図 13 C】

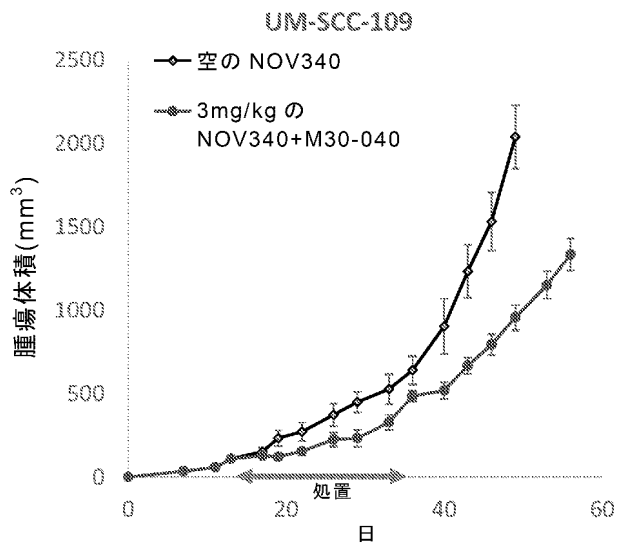


FIG. 13C

【図 14 A】

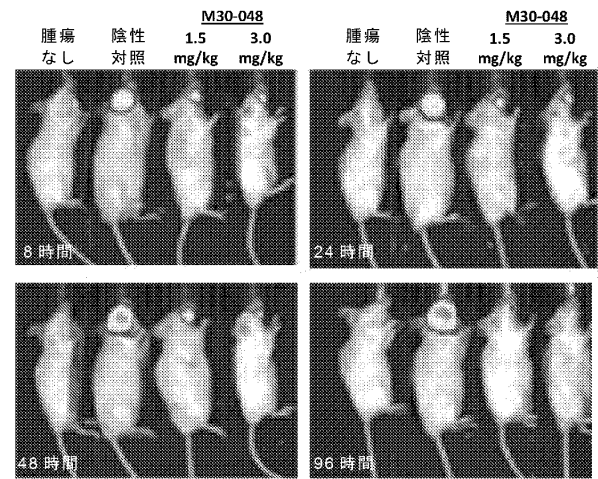


FIG. 14A

30

40

50

【図 14 B】

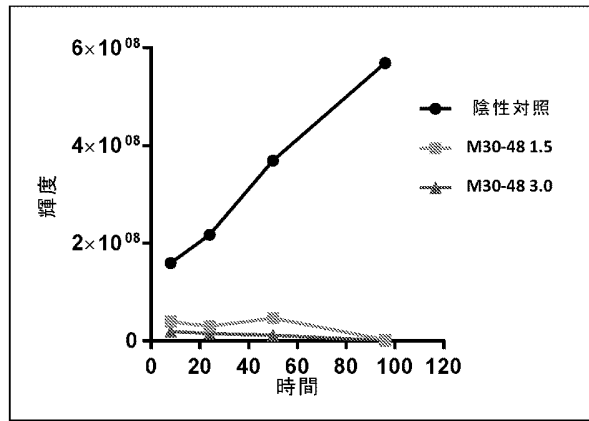


FIG. 14B

【図 15】

		配列 (5' → 3')	
配列番号 12	天然	miR-29a-3p	UAGCACCAUUGAAAUCGUGUA
配列番号 13		miR-29b-3p	UAGCACCAUUGAAAUCGUGUA
配列番号 14		miR-29c-3p	UAGCACCAUUGAAAUCGUGUA
配列番号 102	操作された	G003-29	UAGCACCAUUGAAAUCGUGUA
配列番号 101		G002-29	UAGCACCAUUGAAAUCGUGUA
配列番号 103	変異	G004-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 118		G028-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 112		G022-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 111		G021-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 115		G025-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 119	挿入	G029-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 120		G030-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 117	変異 + 挿入	G027-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 116		G026-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 105	ハイブリッド + 変異 + 挿入	G006-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 110		G020-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 109		G019-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
配列番号 100		G001-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA
		G001-29	UAGCACCAUUGAAGUCAGUGUA

FIG. 15

【図 16】

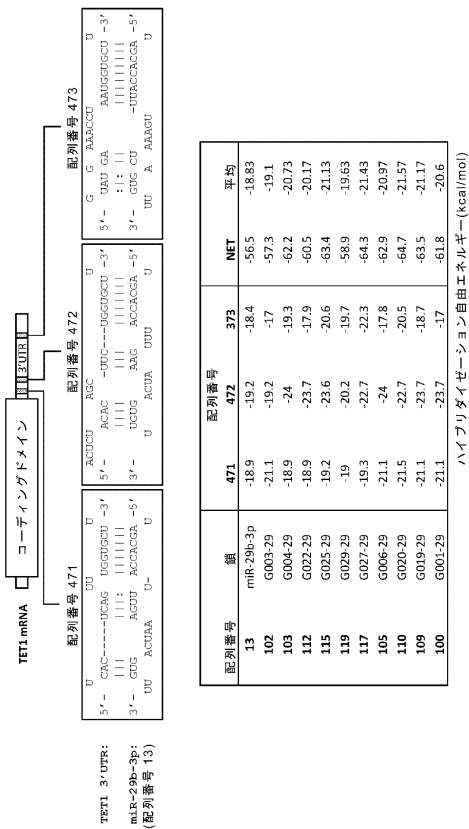


FIG. 16

【図 17】

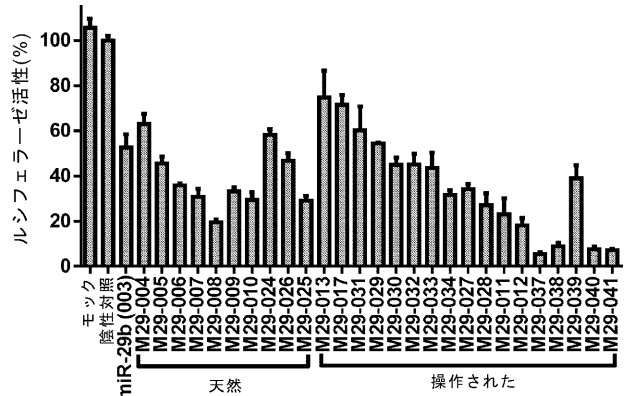


FIG. 17

10

20

30

40

50

【図 18 A】

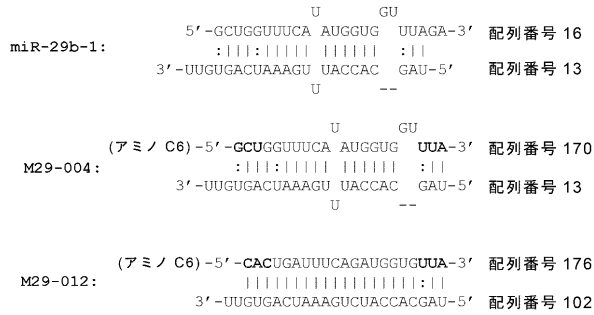


FIG. 18A

【図 18 B】

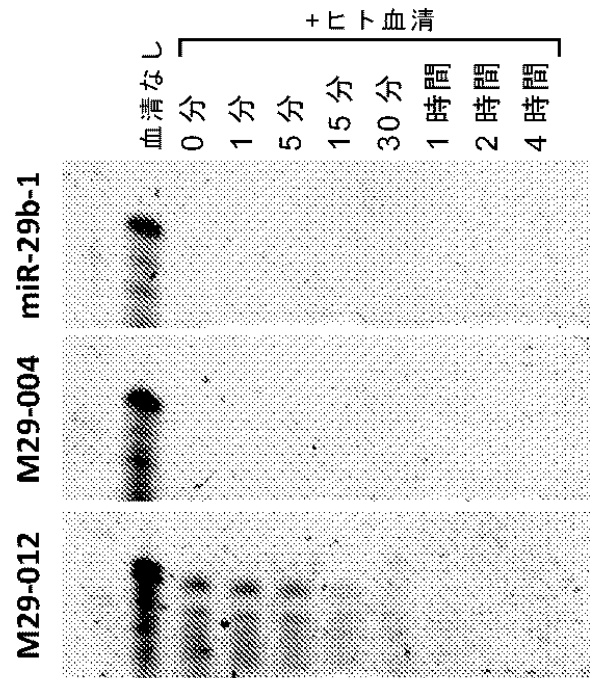


FIG. 18B

【図 19 A】

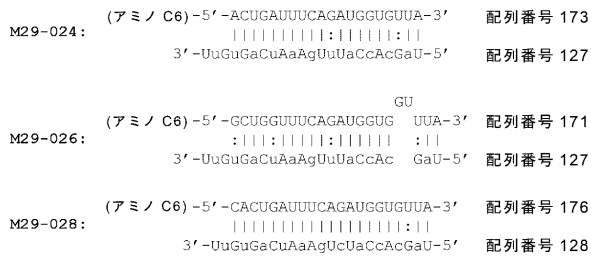


FIG. 19A

【図 19 B】

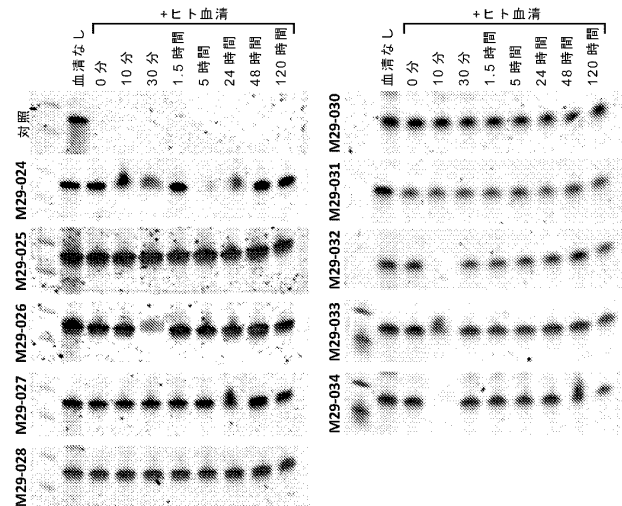


FIG. 19B

10

20

30

40

50

【図 20 A】

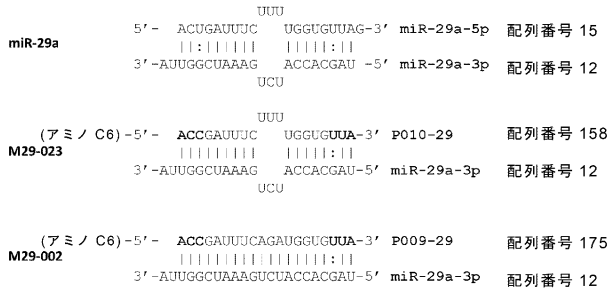


FIG. 20A

【図 20 B】

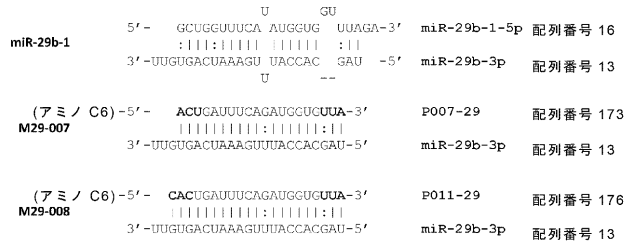


FIG. 20B

【図 20 C】

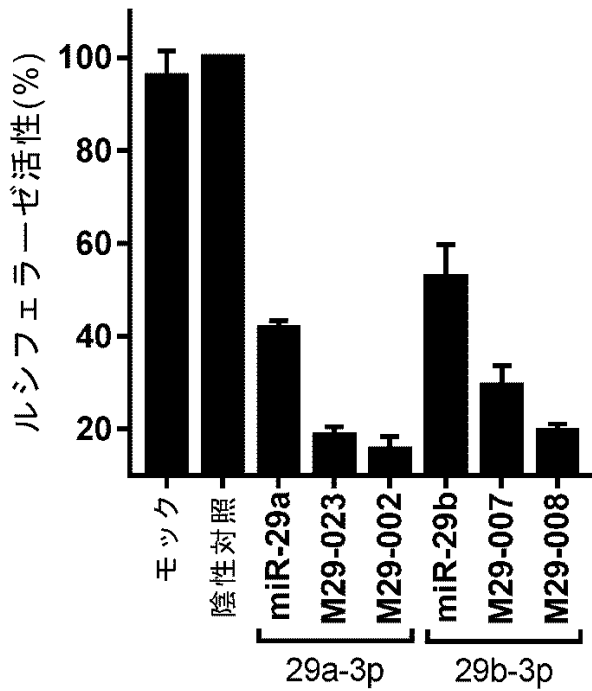


FIG. 20C

【図 21】

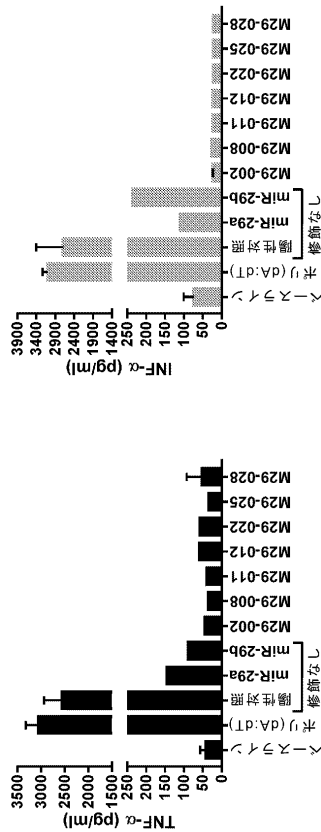


FIG. 21

10

20

30

40

50

【 図 2 2 A 】

UC		CC	
HIV-1 NEF 部位: 5'-	CACUGA	UUUGGAUGGUGCUA	-3' 配列番号 470
miR-29b-3p: 3'-	GUGACU	-AAGUUUACCACGAU	-5' 配列番号 13
	UU	A	
ΔG = -29.9 kcal/mol			
UC		C	
HIV-1 NEF 部位: 5'-	CACUGA	CUUUGGAUGGUGCUA	-3' 配列番号 470
g004-29: 3'-	GUGACU	-GAAUUUACCACGAU	-5' 配列番号 103
	UU		
ΔG = -33.6 kcal/mol			
UC		CC	
HIV-1 NEF 部位: 5'-	CACUGACCUUUGGAUGGUGCUA	-3' 配列番号 470	
g027-29: 3'-	GUGACUGGAAUUUACCACGAU	-5' 配列番号 117	
	UU		
ΔG = -40.6 kcal/mol			

FIG. 22A

【 図 2 2 A - 1 】

UC		CC	
HIV-1 NEF 部位: 5'-	CACUGA	UUUGGAUGGUGCUA	-3' 配列番号 470
g003-29: 3'-	GUGACU	-AAGUCUACCACGAU	-5' 配列番号 102
	UU	A	
ΔG = -32.6 kcal/mol			
UC		A	
HIV-1 NEF 部位: 5'-	CACUG	CCUUUGGAUGGUGCUA	-3' 配列番号 470
g031-29: 3'-	GUGAC	-GGAAGUUUACCACGAU	-5' 配列番号 121
	UU		
ΔG = -35.7 kcal/mol			
UC		C	
HIV-1 NEF 部位: 5'-	CACUGACCUUUGGAUGGUGCUA	-3' 配列番号 470	
g020-29: 3'-	GUGACUGGAAUUUACCACGAU	-5' 配列番号 110	
	UU		
ΔG = -43.4 kcal/mol			

【 図 2 2 B 】

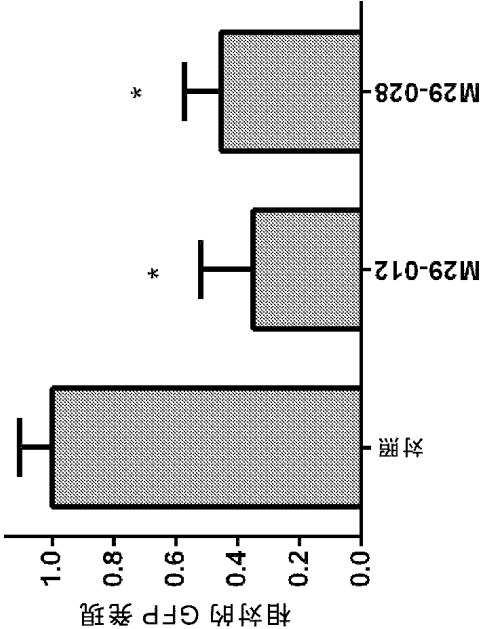
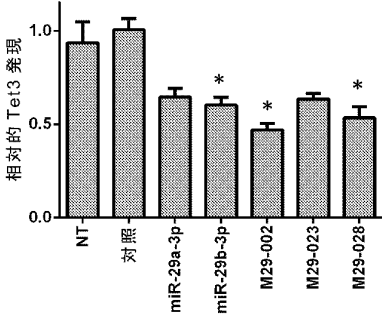


FIG. 22B

【 図 2 3 A 】

FIG. 23A



10

20

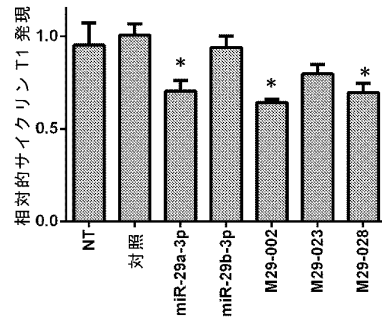
30

40

50

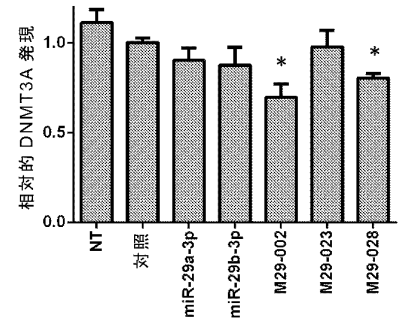
【図 2 3 B】

FIG. 23B



【図 2 3 C】

FIG. 23C



10

【図 2 4 A】

SARS ウイルス転写産物に対する模倣ガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー(ΔG)*[kcal/mol]				
		24077	19385	6114	Net	平均
12	miR-29a-3p	-21.2	-28.7	-21.8	-71.7	-23.9
13	miR-29b-3p	-23.1	-27.2	-22.2	-72.5	-24.2
102	G003-29	-22.9	-29.7	-21.8	-74.4	-24.8
103	G004-29	-24.9	-27.5	-21.3	-73.7	-24.6
112	G022-29	-28.9	-28.2	-22.4	-79.5	-26.5
115	G025-29	-28.9	-28.8	-22.1	-79.8	-26.6
119	G029-29	-25.1	-28.1	-24.4	-77.6	-25.9
117	G027-29	-25.1	-28.1	-24.1	-77.3	-25.8
105	G006-29	-25.3	-30.0	-20.3	-75.6	-25.2
110	G020-29	-25.5	-30.6	-23.1	-79.2	-26.4
109	G019-29	-29.3	-31.4	-21.1	-81.8	-27.3
100	G001-29	-29.3	-30.7	-21.4	-81.4	-27.1

SARS ゲノムのヌクレオチド位置 24077(配列番号 476)、19385(配列番号 481)および 6114(配列番号 495)の同族標的部位との自由エネルギー(ΔG)は、RNA hybrid 2.2 を用いて計算した。

FIG. 24A

【図 2 4 B】

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー(ΔG)*[kcal/mol]				
		10840	19401	26687	Net	平均
86	G129-30	-18.4	-17.9	-22.0	-58.3	-19.4
88	G132-30	-16.1	-19.1	-23.5	-58.7	-19.6

SARS ゲノムのヌクレオチド位置 10840(配列番号 826)、19401(配列番号 827)および 26687(配列番号 828)の同族標的部位との自由エネルギー(ΔG)は、RNA hybrid 2.2 を用いて計算した。

FIG. 24B

20

30

40

50

【図 25 A】

SARS-CoV-2 ウイルス転写産物に対する模倣ガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー(ΔG)*[kcal/mol]				
		28648	19455	11350	Net	平均
12	miR-29a-3p	-23.6	-27.5	-25.6	-76.7	-25.6
13	miR-29b-3p	-24.4	-26.4	-26.0	-76.8	-25.6
102	G003-29	-23.7	-28.9	-27.8	-80.4	-26.8
103	G004-29	-29.4	-27.5	-26.6	-83.5	-27.8
112	G022-29	-23.7	-29.0	-27.3	-80.0	-26.7
115	G025-29	-27.8	-28.9	-27.4	-84.1	-28.0
119	G029-29	-27.0	-26.8	-26.8	-80.6	-26.9
117	G027-29	-29.0	-27.8	-28.4	-85.2	-28.4
105	G006-29	-28.7	-30.0	-28.4	-87.1	-29.0
110	G020-29	-28.3	-30.3	-28.6	-87.2	-29.1
109	G019-29	-27.1	-32.2	-30.2	-89.5	-29.8
100	G001-29	-23.3	-31.5	-29.1	-83.9	-28.0

SARS-CoV-2 ゲノムのヌクレオチド位置 28648(配列番号 500)、19455(配列番号 513)および 11350(配列番号 518)の同族標的部位との自由エネルギー(ΔG)は、RNA hybrid 2.2 を用いて計算した。

FIG. 25A

【図 25 C】

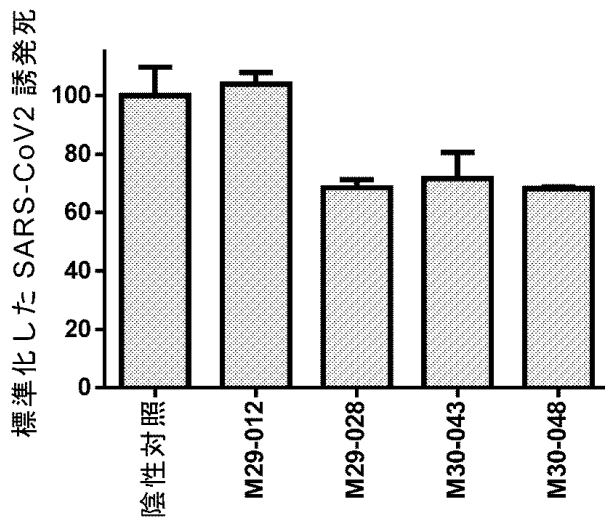


FIG. 25C

【図 25 B】

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー(ΔG)*[kcal/mol]				
		10415	20344	26714	Net	平均
86	G129-30	-17.7	-20.4	-16.7	-54.8	-18.3
88	G132-30	-17.3	-20.4	-18.9	-56.6	-18.9

SARS-CoV-2 ゲノムのヌクレオチド位置 10415(配列番号 829)、20344(配列番号 830)および 26714(配列番号 831)の同族標的部位との自由エネルギー(ΔG)は、RNA hybrid 2.2 を用いて計算した。

FIG. 25B

【図 26】

HCV 遺伝子型 1 転写産物に対する模倣ガイド鎖の標的認識に関する自由エネルギー要求量の計算値

配列番号	ガイド鎖	自由エネルギー(ΔG)*[kcal/mol]				
		3020	2791	240	Net	平均
12	miR-29a-3p	-18.7	-18.3	-15.3	-52.3	-17.4
13	miR-29b-3p	-19.0	-21.5	-16.2	-56.7	-18.9
102	G003-29	-18.6	-19.7	-16.0	-54.3	-18.1
103	G004-29	-19.0	-24.7	-17.3	-61.0	-20.3
112	G022-29	-19.0	-24.8	-15.2	-59.0	-19.7
115	G025-29	-19.8	-24.0	-17.5	-61.3	-20.4
119	G029-29	-19.0	-21.7	-17.5	-58.2	-19.4
117	G027-29	-19.0	-23.9	-17.9	-60.8	-20.3
105	G006-29	-18.6	-22.5	-17.1	-58.2	-19.4
110	G020-29	-18.6	-23.5	-17.5	-59.6	-19.9
109	G019-29	-20.0	-21.0	-19.9	-60.9	-20.3
100	G001-29	-18.9	-21.3	-14.9	-55.1	-18.4

HCV 遺伝子型 1 ゲノムのヌクレオチド位置 3020(配列番号 587)、2791(配列番号 588)および 240(配列番号 589)の同族標的部位との自由エネルギー(ΔG)は、RNA hybrid 2.2 を用いて計算した。

FIG. 26

10

20

30

40

50

【図 2 7】

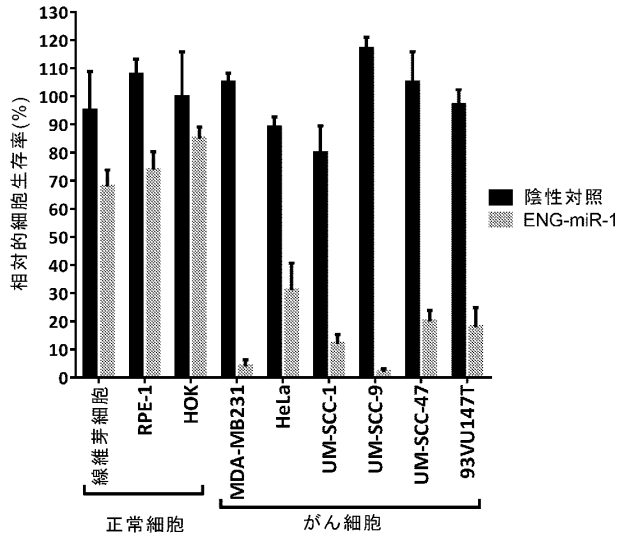


FIG. 27

【図 2 8】

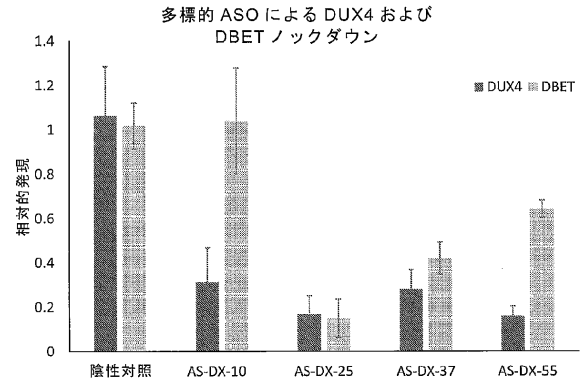


FIG. 28

【図 2 9】

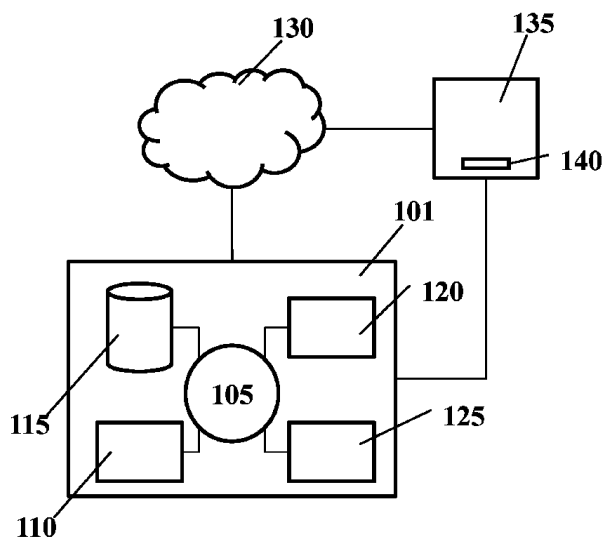


FIG. 29

【図 3 0】

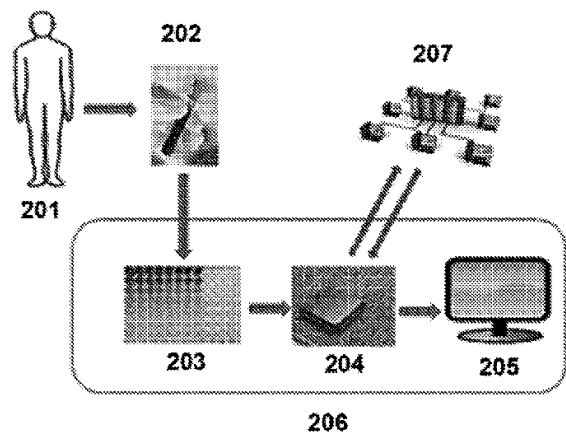


FIG. 30

【配列表】

2023521042000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/25639

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - C12N 15/113; A61K 31/7088; A61K 31/7105; A61K 31/7111; A61K 31/7115; A61K 31/712; A61K 31/7125 (2021.01) CPC - C12N 15/113; A61K 31/7088; A61K 31/7105; A61K 31/7111; A61K 31/7115; A61K 31/712; A61K 31/7125		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	(SIMOES-WUST, AP et al.) A Functionally Improved Locked Nucleic Acid Antisense Oligonucleotide Inhibits Bcl-2 and Bcl-xL Expression and Facilitates Tumor Cell Apoptosis. Oligonucleotides. 2004, Vol. 14, No. 3; pages 199-209; abstract; page 199, 1st column, 1st paragraph; page 200, 2nd column, 1st paragraph; DOI: 10.1089/oli.2004.14.199	1-5, 74
Y	(GRUBER, AR et al.) The Vienna RNA Websuite. Nucleic Acids Research. 1 July 2008, Vol. 36; pages W70-74; page W72, 1st column, 2nd-3rd paragraphs; DOI: 10.1093/nar/gkn188	1-5, 74
Y	(BOISE, LH et al.) H.sapiens bcl-xL mRNA. Genbank entry (online). National Center for Biotechnology Information. 7 October 2008 [retrieved on 24 August 2021]. Retrieved from the Internet: [URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/Z23115.1]; pages 1-2	1-5, 74
Y	(LYU, M et al.) Homo sapiens BCL2 apoptosis regulator (BCL2), transcript variant alpha, mRNA. Genbank entry (online). National Center for Biotechnology Information. 29 March 2020 [retrieved on 24 August 2021]. Retrieved from the Internet: [URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/72198188?sat=48&satkey=58656529]; pages 1-6	1-5, 74
A	US 2012/0015351 A1 (LEE, I et al.) 19 January 2012; entire document	1-5, 74
A	(ZENG, Y et al.) Both Natural and Designed Micro RNAs Can Inhibit the Expression of Cognate mRNAs When Expressed in Human Cells. Molecular Cell. June 2002, Vol. 9, No. 6; pages 1327-1333; DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00541-5	1-5, 74
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 24 August 2021 (24.08.2021)		Date of mailing of the international search report SEP 20 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/25639

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US21/25639
Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1. ☐	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	
2. ☐	Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:	
3. ☒	Claims Nos.: 6-73, 76-119 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box No. III	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: -***Please See Supplemental Page-***.		
1. ☐	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.	
2. ☐	As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.	
3. ☐	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:	
4. ☒	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Group I, Claims 1-5, and 74	
Remark on Protest	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/25639

-***Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-***

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, Claims 1-5, and 74 are directed toward engineered oligonucleotides at least partially complementary to at least a first portion of a first and a second RNA.

Groups II+, Claim 75 and SEQ ID NO: 1 (oligonucleotide sequence) are directed toward engineered oligonucleotides which produces at least about a 1.2-fold lower expression of a polypeptide encoded by the mRNA sequence, as compared to contacting an equivalent amount of an miR-29 or miR-30 oligonucleotide.

The oligonucleotides can be searched to the extent they encompass SEQ ID NO: 1 (first exemplary oligonucleotide sequence). Applicant is invited to elect additional oligonucleotide(s) with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO: such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable nucleobases or substituents), and where available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional oligonucleotide sequence(s) can be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claim 75 (in-part) encompasses this first named invention of Groups II+ and thus this claim can be searched with payment of a fee for the search of Groups II+, to the extent that it encompasses SEQ ID NO: 1 (oligonucleotide sequence). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) can result in only the first claimed invention of groups II+ to be searched/examined. An exemplary election would be SEQ ID NO: 2 (oligonucleotide sequence).

The inventions listed as Groups I and II+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include oligonucleotides at least partially complementary to at least a first portion of a first and a second RNA, not present in any of Groups II+; the special technical features of Groups II+ include wherein an engineered oligonucleotide, when contacted with an mRNA sequence, produces at least about a 1.2-fold lower expression of a polypeptide encoded by the mRNA sequence, not present in Group I.

Groups I and II+ share the technical features including: engineered oligonucleotides; and an mRNA sequence.

However, these shared technical features are previously disclosed by the article 'Both Natural and Designed Micro RNAs Can Inhibit the Expression of Cognate mRNAs When Expressed in Human Cells' by Zeng, et al. (hereinafter 'Zeng').

Zeng discloses engineered oligonucleotides (designed miRNAs (engineered oligonucleotides); abstract); and an mRNA sequence (an mRNA sequence; abstract).

No technical features are shared between the oligonucleotide sequences of Groups II+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Groups II+ share the technical features including: an engineered oligonucleotide or salt thereof comprising a polynucleotide sequence, wherein the engineered oligonucleotide or salt thereof when contacted with an mRNA sequence produces at least about a 1.2-fold lower expression of a polypeptide encoded by the mRNA sequence, as compared to contacting an equivalent amount of an miR-29 or miR-30 oligonucleotide or salt thereof naturally present in a human cell; as determined by: a. transfecting the engineered oligonucleotide or salt thereof into a first isolated human cell comprising the mRNA sequence, b. transfecting the miR-29 or miR-30 oligonucleotide into a second isolated human cell comprising the mRNA sequence, and c. measuring an amount of the polypeptide expressed in the first isolated human cell and the isolated second human cell.

However, these shared technical features are previously disclosed by Zeng, as above.

Zeng discloses an engineered oligonucleotide or salt thereof comprising a polynucleotide sequence (an engineered oligonucleotide or salt thereof comprising a polynucleotide sequence; page 1329, second column, second paragraph - page 1330, first column, first paragraph), wherein the engineered oligonucleotide or salt thereof when contacted with an mRNA sequence produces at least about a 1.2-fold lower expression of a polypeptide encoded by the mRNA sequence (wherein the engineered oligonucleotide or salt thereof when contacted with an mRNA sequence produces at least about a 7-fold (1.2-fold) lower expression of a polypeptide encoded by the mRNA sequence Figure 3D, page 1330, first column, third paragraph); as determined by: a. transfecting the engineered oligonucleotide or salt thereof into a first isolated human cell comprising the mRNA sequence (as determined by: a. transfecting the engineered oligonucleotide or salt thereof into a first isolated human cell comprising the mRNA sequence; page 1329, second column, second paragraph - page 1330, first column, third paragraph), and measuring an amount of the polypeptide expressed in the human cell (measuring an amount of the polypeptide expressed in the human cell; Figure 3D, page 1329, second column, second paragraph - page 1330, first column, third paragraph). Zeng further discloses an oligonucleotide comprising SEQ ID NO: 1 (miR-30 precursor (an oligonucleotide comprising SEQ ID NO: 1); Figure 1A, wherein the sequence disclosed for the upper strand is 100% identical to Applicant's SEQ ID NO: 1).

Zeng does not disclose as compared to contacting an equivalent amount of an miR-29 oligonucleotide or salt thereof naturally present in a human cell, as determined by transfecting the miR-29 oligonucleotide into a second isolated human cell comprising the mRNA sequence, and measuring an amount of the polypeptide expressed in the cell. However, it would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time the invention was made to have used a non-complementary miRNA sequence, such as miR-29, as a control for the expression modulation disclosed by Zeng, in order to ensure that the binding of the engineered oligonucleotide to the complementary sequence provided the lower expression of the target mRNA.

Since none of the special technical features of the Groups I and II+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Zeng reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105
A 6 1 K	31/7113(2006.01)	A 6 1 K	31/7113
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14
A 6 1 P	31/18 (2006.01)	A 6 1 P	31/18
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P	21/00
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68
A 6 1 K	47/55 (2017.01)	A 6 1 K	47/55
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	47/62
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. アンドロイド

(74)代理人 100111796

弁理士 服部 博信

(74)代理人 100123766

弁理士 松田 七重

(72)発明者 ブレイス ロバート

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 7 8 ゲイザースバーグ クインス オーチャード ロード
7 0 4 スイート 2 6 0 ミレキユール インコーポレイテッド内

(72)発明者 サレ アンソニー

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 7 8 ゲイザースバーグ クインス オーチャード ロード
7 0 4 スイート 2 6 0 ミレキユール インコーポレイテッド内

(72)発明者 ウィリアムズ ティシャン

アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 7 8 ゲイザースバーグ クインス オーチャード ロード
7 0 4 スイート 2 6 0 ミレキユール インコーポレイテッド内

F ターム (参考)

4B065 AA93X AB01 AC20 BA02 CA23 CA44 CA46

4C076 AA11 AA53 AA95 BB01 BB24 BB26 BB29 CC26 CC27 CC35
CC41 EE59

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA16 MA37 MA52 MA55 MA58
MA60 NA14 ZA94 ZB21 ZB26 ZB33

4C087 BC83 CA12 MA16 MA37 NA14 ZA94 ZB21 ZB26 ZB33