(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-528417
(P2024-528417A)
(43)公表日　令和6年7月30日(2024.7.30)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）	
Ｃ１２Ｎ	*15/113(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	ＺＺＮＡ	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*31/7105(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7105		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*47/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/04		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ	*47/12 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/12		
Ａ６１Ｋ	*47/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/02		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全220頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-577564(P2023-577564)
(86)(22)出願日　令和4年6月23日(2022.6.23)
(85)翻訳文提出日　令和5年12月15日(2023.12.15)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/034765
(87)国際公開番号　WO2022/271972
(87)国際公開日　令和4年12月29日(2022.12.29)
(31)優先権主張番号　63/214,220
(32)優先日　令和3年6月23日(2021.6.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/274,248
(32)優先日　令和3年11月1日(2021.11.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　505369158
アルナイラム ファーマシューティカルズ， インコーポレイテッド
ＡＬＮＹＬＡＭ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ， ＩＮＣ．
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100122301
弁理士　冨田 憲史
(74)代理人　100170520
弁理士　笹倉 真奈美
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　フィラミンＡ（ＦＬＮＡ）をサイレンシングするためのＩＲＮＡ組成物および方法

(57)【要約】
本開示は、フィラミンＡ（ＦＬＮＡ）遺伝子を標的とする二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡｉ）剤および組成物に関し、ならびに当該ｄｓＲＮＡｉ剤および組成物を使用して、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する方法、および例えばアルツハイマー病である、ＦＬＮＡ関連疾患または障害がある対象を治療する方法に関する。
【選択図】なし

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
フィラミンＡ（ＦＬＮＡ）の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、
前記センス鎖が、配列番号１のヌクレオチド配列と３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含み、前記アンチセンス鎖が、配列番号２のヌクレオチド配列と３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む、二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤。
【請求項２】
ＦＬＮＡの発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、
前記アンチセンス鎖が、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡに対する相補性領域を含み、前記相補性領域が、配列番号２のヌクレオチド配列と３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む、二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤。
【請求項３】
ＦＬＮＡの発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、
前記アンチセンス鎖が、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡに対する相補性領域を含み、前記相補性領域が、表３、４、５、または６における前記アンチセンスヌクレオチド配列のいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む、二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤。
【請求項４】
前記センス鎖が、配列番号１のヌクレオチド１００－１２０、１７６－１９６、２４４－２６４、３７５－３９５、４０４－４２４、４２５－４４５、４７３－４９３、５００－５２０、５４５－５６５、５９８－６１８、６４１－６６１、６６５－６８５、６８９－７０９、７１４－７３４、８７１－８９１、９０６－９２６、９３３－９５３、１００２－１０２２、１０７７－１０９７、１１２７－１１４７、１１５１－１１７１、１１８９－１２０９、１２３５－１２５５、１２５８－１２７８、１３０５－１３２５、１３２８－１３４８、１３５５－１３７５、１３９１－１４１１、１４２７－１４４７、１４４８－１４６８、１４８８－１５０８、１５３０－１５５０、１５６３－１５８３、１６６０－１６８０、１７４９－１７６９、１７９０－１８１０、１８５４－１８７４、１８８８－１９０８、１９２６－１９４６、１９５６－１９７６、２０２３－２０４３、２０６８－２０８８、２１０３－２１２３、２１３２－２１５２、２１８７－２２０７、２２１９－２２３９、２２５８－２２７８、２３１７－２３３７、２３４０－２３６０、２３７６－２３９６、２３９９－２４１９、２４２１－２４４１、２４６８－２４８８、２５５３－２５７３、２６１５－２６３５、２６５４－２６７４、２７００－２７２０、２７２１－２７４１、２７４２－２７６２、２７８３－２８０３、２８４１－２８６１、２９００－２９２０、２９３０－２９５０、２９５４－２９７４、２９７５－２９９５、３０１７－３０３７、３０３８－３０５８、３０８０－３１００、３１２４－３１４４、３１５５－３１７５、３１８９－３２０９、３２１４－３２３４、３２４９－３２６９、３３２３－３３４３、３３７５－３３９５、３４３８－３４５８、３５０３－３５２３、３５６９－３５８９、３６０１－３６２１、３６４７－３６６７、３７１４－３７３４、３７８２－３８０２、３８２６－３８４６、３８５４－３８７４、３８７６－３８９６、３９３０－３９５０、３９９９－４０１９、４０４１－４０６１、４０６６－４０８６、４１２２－４１４２、４１４５－４１６５、４１７０－４１９０、４１９１－４２１１、４２１７－４２３７、４３３６－４３５６、４３６７－４３８７、４４４２－４４６２、４４９１－４５１１、４５１６－４５３６、４５４７－４５６７、４５６９－４５８９、４６２２－４６４２、４６５２－４６７２、４６９４－４７１４、４７４６－４７６６、４８１２－４８３２、４８６９－４８８９、４９４３－４９６３、４９７７－４９９７、５０２２－５０４２、５０６０－５０８０、５０８８－５１０８、５１８０－５２００、５２０

５－５２２５、５２５５－５２７５、５２９０－５３１０、５３１４－５３３４、５３４３－５３６３、５３６４－５３８４、５４０５－５４２５、５５２１－５５４１、５５８２－５６０２、５６１２－５６３２、５６３９－５６５９、５７０３－５７２３、５７７２－５７９２、５８１１－５８３１、５８４７－５８６７、５８７６－５８９６、５９１０－５９３０、５９６７－５９８７、５９９２－６０１２、６０３８－６０５８、６１０７－６１２７、６１２８－６１４８、６１６３－６１８３、６２４３－６２６３、６２７２－６２９２、６３００－６３２０、６３５８－６３７８、６３９１－６４１１、６４４１－６４６１、６４７９－６４９９、６５０９－６５２９、６５４５－６５６５、６５８１－６６０１、６７１１－６７３１、６７４１－６７６１、６７９８－６８１８、６８２６－６８４６、６８４９－６８６９、６８７３－６８９３、６９８７－７００７、７０１４－７０３４、７０８８－７１０８、７１２５－７１４５、７１５２－７１７２、７１７３－７１９３、７２０６－７２２６、７２５３－７２７３、７２８８－７３０８、７３８６－７４０６、７４０８－７４２８、７４４５－７４６５、７４６６－７４８６、７５３７－７５５７、７５６０－７５８０、７５８６－７６０６、７６５７－７６７７、７７２８－７７４８、７８３２－７８５２、７９７８－７９９８、８００２－８０２２、８０４８－８０６８、８０８１－８１０１、８１２０－８１４０、８３５９－８３７９、８４０４－８４２４、８４４７－８４６７、８４８３－８５０３、１７１－１９１、１７３－１９３、３７５－３９５、５４２－５６２、１４４２－１４６２、１４４９－１４６９、１７５１－１７７１、１７５２－１７７２、１７５３－１７７３、１８５４－１８７４、１８５５－１８７５、１８５６－１８７６、２７２２－２７４２、２７３０－２７５０、３０８０－３１００、３０８１－３１０１、３０８２－３１０２、３０８３－３１０３、３０８４－３１０４、３２１２－３２３２、３２１７－３２３７、３４４５－３４６５、３４４６－３４６６、３４４７－３４６７、４０６８－４０８８、５１８２－５２０２、５１８３－５２０３、５９７８－５９９８、６０４６－６０６６、６４３２－６４５２、６５８５－６６０５、６５８６－６６０６、６５８７－６６０７、７０７９－７０９９、７１６１－７１８１、７１６３－７１８３、７１６５－７１８５、７１６６－７１８６、７３７６－７３９６、７３７７－７３９７、７３７８－７３９８、７３９０－７４１０、７３９１－７４１１、７３９２－７４１２、７３９３－７４１３、７３９４－７４１４、７３９８－７４１８、７４３５－７４５５、７４３６－７４５６、７４３７－７４５７、７４４６－７４６６、７６５４－７６７４、７６５５－７６７５、７６５７－７６７７、７７２６－７７４６、８４０４－８４２４、８４７４－８４９４、８４７５－８４９５、８４７６－８４９６、または８４７７－８４９７のヌクレオチド配列のいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含み、および前記アンチセンス鎖が、配列番号２の対応するヌクレオチド配列から少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む、請求項１～３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項５】

前記アンチセンス鎖が、

ＡＤ－１６１５３７８、ＡＤ－１６１５４３３、ＡＤ－１６１５４５４、ＡＤ－１６１５５１１、ＡＤ－１６１５５４０　ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１５６０４、ＡＤ－１６１５６３１、ＡＤ－１６１５６７６、ＡＤ－１６１５７２９、ＡＤ－１６１５７７２、ＡＤ－１６１５７９６、ＡＤ－１６１５８２０、ＡＤ－１６１５８４３、ＡＤ－１６１５９３０、ＡＤ－１６１５９６４、ＡＤ－１６１５９９１、ＡＤ－１６１６００７、ＡＤ－１６１６０４４、ＡＤ－１６１６０８７、ＡＤ－１６１６１１１、ＡＤ－１６１６１４９、ＡＤ－１６１６１８２、ＡＤ－１６１６２０５、ＡＤ－１６１６２２２、ＡＤ－１６１６２４５、ＡＤ－１６１６２５２、ＡＤ－１６１６２８８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１６３６４、ＡＤ－１６１６３８６、ＡＤ－１６１６３９９、ＡＤ－１６１６４７１、ＡＤ－１６１６５３１、ＡＤ－１６１６５５４、ＡＤ－１６１６５７９、ＡＤ－１６１６５９３、ＡＤ－１６１６６１３、ＡＤ－１６１６６４３、ＡＤ－１６１６６８２、ＡＤ－１６１６７０７、ＡＤ－１６１６７４２、ＡＤ－１６１６７７１、ＡＤ－１６１６８２１、ＡＤ－１６１６８３３、ＡＤ－１６１６８５２、ＡＤ

－１６１６９１１、ＡＤ－１６１６９３４、ＡＤ－１６１６９５０、ＡＤ－１６１６９７２、ＡＤ－１６１６９９４、ＡＤ－１６１７０４１、ＡＤ－１６１７０６１、ＡＤ－１６１７１０３、ＡＤ－１６１７１１７、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６１７１８６、ＡＤ－１６１７２１９、ＡＤ－１６１７２６８、ＡＤ－１６１７２９８、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１７４２９、ＡＤ－１６１７４５５、ＡＤ－１６１７４８６、ＡＤ－１６１７５２０、ＡＤ－１６１７５４５、ＡＤ－１６１７５８０、ＡＤ－１６１７６１２、ＡＤ－１６１７６４４、ＡＤ－１６１７６５７、ＡＤ－１６１７６７９、ＡＤ－１６１７７０３、ＡＤ－１６１７７１７、ＡＤ－１６１７７４３、ＡＤ－１６１７７９０、ＡＤ－１６１７８１５、ＡＤ－１６１７８４３、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７８９９、ＡＤ－１６１７９３９、ＡＤ－１６１７９８１、ＡＤ－１６１８００６、ＡＤ－１６１８０４９、ＡＤ－１６１８０５２、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１８１２４、ＡＤ－１６１８１８７、ＡＤ－１６１８２１４、ＡＤ－１６１８２３７、ＡＤ－１６１８２８６、ＡＤ－１６１８３１１、ＡＤ－１６１８３４２、ＡＤ－１６１８３６４、ＡＤ－１６１８４０４、ＡＤ－１６１８４３４、ＡＤ－１６１８４５６、ＡＤ－１６１８５０８、ＡＤ－１６１８５７２、ＡＤ－１６１８６０１、ＡＤ－１６１８６４５、ＡＤ－１６１８６６１、ＡＤ－１６１８７０６、ＡＤ－１６１８７４４、ＡＤ－１６１８７７２、ＡＤ－１６１８８１０、ＡＤ－１６１８８３５、ＡＤ－１６１８８５１、ＡＤ－１６１８８８６、ＡＤ－１６１８９１０、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６１８９７９、ＡＤ－１６１９０１４、ＡＤ－１６１９０３４、ＡＤ－１６１９０６４、ＡＤ－１６１９０７１、ＡＤ－１６１９１１６、ＡＤ－１６１９１７８、ＡＤ－１６１９１９７、ＡＤ－１６１９２３３、ＡＤ－１６１９２６２、ＡＤ－１６１９２９６、ＡＤ－１６１９３３３、ＡＤ－１６１９３５８、ＡＤ－１６１９３８５、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６１９４７０、ＡＤ－１６１９５２９、ＡＤ－１６１９５４０、ＡＤ－１６１９５４９、ＡＤ－１６１９５８６、ＡＤ－１６１９６０１、ＡＤ－１６１９６５１、ＡＤ－１６１９６８９、ＡＤ－１６１９６９９、ＡＤ－１６１９７３５、ＡＤ－１６１９７５１、ＡＤ－１６１９８４９、ＡＤ－１６１９８７９、ＡＤ－１６１９９３６、ＡＤ－１６１９９４６、ＡＤ－１６１９９６９、ＡＤ－１６１９９９３、ＡＤ－１６２００３３、ＡＤ－１６２００６０、ＡＤ－１６２０１１３、ＡＤ－１６２０１５０、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６２０２１１、ＡＤ－１６２０２４４、ＡＤ－１６２０２７９、ＡＤ－１６２０３３０、ＡＤ－１６２０３５２、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６２０４２６、ＡＤ－１６２０４４９、ＡＤ－１６２０４７５、ＡＤ－１６２０５２５、ＡＤ－１６２０５７４、ＡＤ－１６２０６１６、ＡＤ－１６２０７０７、ＡＤ－１６２０７３１、ＡＤ－１６２０７３７、ＡＤ－１６２０７６７、ＡＤ－１６２０７８７、ＡＤ－１６２０８３７、ＡＤ－１６２０８７９、ＡＤ－１６２０８９１、およびＡＤ－１６２０９２７、ＡＤ－１６１５４２８．１、ＡＤ－１６１５４３０．１、ＡＤ－１６１５５１１．２、ＡＤ－１６１５６７３．１、ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３３．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７６６４．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１８００８．１、ＡＤ－１６１８８１２．１、ＡＤ－１６１８８１３．１、ＡＤ－１６１９３４４．１、ＡＤ－１６１９３９３．１、ＡＤ－１６１９６４２．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１０４．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－

１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０５２２．１、ＡＤ－１６２０５２３．１、ＡＤ－１６２０５２５．２、ＡＤ－１６２０５７２．１、ＡＤ－１６２０８７９．２、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、およびＡＤ－１６２０９２１．１からなる群から選択される二重鎖の前記アンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる、少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む、請求項１～４のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項６】

前記センス鎖およびアンチセンス鎖の前記ヌクレオチド配列が、表３、４、５、または６における前記センス鎖およびアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか一つを含む、請求項１または２に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項７】

前記センス鎖、前記アンチセンス鎖、または前記センス鎖および前記アンチセンス鎖の両方が、一つまたは複数の親油性部分にコンジュゲートされる、請求項１～６のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項８】

前記親油性部分が、前記ｄｓＲＮＡ剤の前記二本鎖領域における一つまたは複数の内側位置にコンジュゲートされる、請求項７に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項９】

前記親油性部分が、リンカーまたは担体を介してコンジュゲートされる、請求項７または８に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１０】

ｌｏｇＫｏｗによって測定された前記親油性部分の親油性が０を超える、請求項７～９のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１１】

二本鎖ＲＮＡ剤の疎水性であって、前記二本鎖ＲＮＡ剤の血漿タンパク質結合アッセイにおいて非結合画分によって測定される二本鎖ＲＮＡ剤の疎水性が、０．２を超える、請求項１～１０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１２】

前記血漿タンパク質結合アッセイが、ヒト血清アルブミンタンパク質を使用する電気泳動移動度シフトアッセイである、請求項１１に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１３】

前記ｄｓＲＮＡ剤が、少なくとも一つの修飾ヌクレオチドを含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１４】

前記センス鎖ヌクレオチドの５以下および前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの５以下が、未修飾ヌクレオチドである、請求項１３に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１５】

前記センス鎖のヌクレオチドの全て、および前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが、修飾ヌクレオチドである、請求項１３に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１６】

前記修飾ヌクレオチドのうちの少なくとも一つが、デオキシ－ヌクレオチド、３’－末端デオキシ－チミン（ｄＴ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチド、２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－デオキシ－修飾ヌクレオチド、ロックヌクレオチド、アンロックヌクレオチド、立体配座的に制限されたヌクレオチド、拘束されたエチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ－修飾ヌクレオチド、２’－Ｏ－アリル－修飾ヌクレオチド、２’－Ｃ－アルキル－修飾ヌクレオチド、２’－ヒドロキシル修飾ヌクレオチド、２’－メトキシエチル修飾ヌクレオチド、２’－Ｏ－アルキル－修飾ヌクレオチド、

モルホリノヌクレオチド、ホスホロアミダート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾ヌクレオチド、１，５－アンヒドロヘキシトール修飾ヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾ヌクレオチド、５’－ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、５’－メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、５’ホスフェートまたは５’ホスフェート模倣体を含むヌクレオチド、ビニルホスホネートを含むヌクレオチド、グリコール核酸（ＧＮＡ）を含むヌクレオチド、グリコール核酸Ｓ異性体（Ｓ－ＧＮＡ）を含むヌクレオチド、２－ヒドロキシメチル－テトラヒドロフラン－５－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシチミジン－３’ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシグアノシン－３’－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－５’－連結リボヌクレオチド（３’－ＲＮＡ）およびコレステリル誘導体に連結する末端ヌクレオチド、およびドデカン酸ビスデシルアミド基、およびそれらの組み合わせである群から選択される、請求項１３～１５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１７】

前記修飾ヌクレオチドが、２’－デオキシ－２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－デオキシ－修飾ヌクレオチド、３’－末端デオキシ－チミンヌクレオチド（ｄＴ）、ロックヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ－修飾ヌクレオチド、２’－アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホロアミダート、および非天然塩基を含むヌクレオチドからなる群から選択される、請求項１６に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１８】

前記修飾ヌクレオチドが、３’－末端デオキシ－チミンヌクレオチド（ｄＴ）の短い配列を含む、請求項１６に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項１９】

前記ヌクレオチドにおける前記修飾が、２’－Ｏ－メチル修飾、ＧＮＡ修飾、および２’フルオロ修飾である、請求項１６に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２０】

少なくとも一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに含む、請求項１～１９のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２１】

前記ｄｓＲＮＡ剤が、６～８のホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、請求項２０に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２２】

各鎖が、３０ヌクレオチド以下の長さである、請求項１～２１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２３】

少なくとも一つの鎖が、少なくとも１ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む、請求項１～２２のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２４】

少なくとも一つの鎖が、少なくとも２ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む、請求項１～２３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２５】

前記二本鎖領域が、１５～３０ヌクレオチド対の長さである、請求項１～２４のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２６】

前記二本鎖領域が、１７～２３ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２７】

前記二本鎖領域が、１７～２５ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項２８】

前記二本鎖領域が、２３～２７ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓ

ＲＮＡ剤。
【請求項２９】
前記二本鎖領域が、１９～２１ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３０】
前記二本鎖領域が、２１～２３ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３１】
各鎖が、１９～３０ヌクレオチドを有する、請求項１～３０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３２】
各鎖が、１９～２３ヌクレオチドを有する、請求項１～３０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３３】
各鎖が、２１～２３ヌクレオチドを有する、請求項１～３０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３４】
一つまたは複数の親油性部分が、少なくとも一つの鎖における一つまたは複数の内側位置にコンジュゲートされる、請求項８～３３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３５】
前記一つまたは複数の親油性部分が、リンカーまたは担体を介して少なくとも一つの鎖における一つまたは複数の内側位置にコンジュゲートされる、請求項３４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３６】
前記内側位置が、前記少なくとも一つの鎖の各末端から末端の二つの位置を除く全ての位置を含む、請求項３５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３７】
前記内側位置が、前記少なくとも一つの鎖の各末端から末端の三つの位置を除く全ての位置を含む、請求項３５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３８】
前記内側位置が、前記センス鎖の切断部位領域を除く、請求項３５～３７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３９】
前記内側位置が、前記センス鎖の５’末端から数えて９～１２位を除く全ての位置を含む、請求項３８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４０】
前記内側位置が、前記センス鎖の３’末端から数えて１１～１３位を除く全ての位置を含む、請求項３８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４１】
前記内側位置が、前記アンチセンス鎖の切断部位領域を除く、請求項３５～３７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４２】
前記内側位置が、前記アンチセンス鎖の５’末端から数えて１２～１４位を除く全ての位置を含む、請求項４１に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４３】
前記内側位置が、３’末端から数えて前記センス鎖上の１１～１３位および５’末端から数えて前記アンチセンス鎖上の１２～１４位を除く全ての位置を含む、請求項３５～３７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４４】
前記一つまたは複数の親油性部分が、各鎖の５’末端から数えて、前記センス鎖上の４

～８位および１３～１８位ならびに前記アンチセンス鎖上の６～１０位および１５～１８位からなる群から選択される前記内側位置のうちの一つまたは複数にコンジュゲートされる、請求項８～４３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４５】
前記一つまたは複数の親油性部分が、各鎖の５’末端から数えて、前記センス鎖上の５、６、７、１５および１７位ならびに前記アンチセンス鎖上の１５および１７位からなる群から選択される前記内側位置のうちの一つまたは複数にコンジュゲートされる、請求項４４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４６】
前記二本鎖領域における前記内側位置が、前記センス鎖の切断部位領域を除く、請求項８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４７】
前記センス鎖が、２１ヌクレオチドの長さであり、前記アンチセンス鎖が、２３ヌクレオチドの長さであり、また前記親油性部分が、前記センス鎖の２１位、２０位、１５位、１位、７位、６位もしくは２位、または前記アンチセンス鎖の１６位にコンジュゲートされる、請求項７～４６のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４８】
前記親油性部分が、前記センス鎖の２１位、２０位、１５位、１位、または７位にコンジュゲートされる、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４９】
前記親油性部分が、前記センス鎖の２１位、２０位、または１５位にコンジュゲートされる、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５０】
前記親油性部分が、前記センス鎖の２０位、または１５位にコンジュゲートされる、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５１】
前記親油性部分が、前記アンチセンス鎖の１６位にコンジュゲートされる、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５２】
前記親油性部分が、脂肪族化合物、脂環式化合物、または多脂環式（ｐｏｌｙａｌｉｃｙｃｌｉｃ）化合物である、請求項７～５１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５３】
前記親油性部分が、脂質、コレステロール、レチノイン酸、コール酸、アダマンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキサノール、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジンからなる群から選択される、請求項５２に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５４】
前記親油性部分が、飽和または不飽和Ｃ４～Ｃ３０炭化水素鎖と、ヒドロキシル、アミン、カルボン酸、スルホネート、ホスフェート、チオール、アジド、およびアルキンからなる群から選択される任意の官能基とを含有する、請求項５２に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５５】
前記親油性部分が、飽和または不飽和Ｃ６～Ｃ１８炭化水素鎖を含有する、請求項５４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５６】
前記親油性部分が、飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖を含有する、請求項５４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５７】

前記飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖が、前記鎖の５’末端から数えて６位にコンジュゲートされる、請求項５６に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５８】
前記親油性部分が、前記内側位置または前記二本鎖領域における一つまたは複数のヌクレオチドに置き換わる担体を介してコンジュゲートされる、請求項７～５７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５９】
前記担体が、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される環式基であるか、またはセリノール骨格もしくはジエタノールアミン骨格系の非環式部分である、請求項５８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６０】
前記親油性部分が、エーテル、チオエーテル、尿素、炭酸塩、アミン、アミド、マレイミド－チオエーテル、ジスルフィド、ホスホジエステル、スルホンアミド連結、クリック反応の生成物、またはカルバメートを含有するリンカーを介して二本鎖ｉＲＮＡ剤にコンジュゲートされる、請求項７～５７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６１】
前記親油性部分が、核酸塩基、糖部分、またはヌクレオシド間連結にコンジュゲートされる、請求項７～６０のいずれか一項に記載の二本鎖ｉＲＮＡ剤。
【請求項６２】
前記親油性部分または標的化リガンドが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ジスルフィド、アミド、およびガラクトサミン、グルコサミン、グルコース、ガラクトース、マンノースの官能化された単糖またはオリゴ糖、ならびにそれらの組合せからなる群から選択される生物切断可能な（ｂｉｏ－ｃｌｅｖａｂｌｅ）リンカーを介してコンジュゲートされる、請求項７～６１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６３】
前記センス鎖の３’末端が、アミンを有する環状基であるエンドキャップを介して保護され、前記環状基が、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される、請求項７～６２のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６４】
神経細胞を標的化する標的化リガンドをさらに含む、請求項７～６１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６５】
前記標的化リガンドが、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートである、請求項７～６１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６６】
Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の３’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、前記センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結で生じる末端のキラル修飾と、をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６７】
Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の３’末端における第一

および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、前記センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６８】
Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の３’末端における第一、第二および第三のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、前記センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６９】
Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の３’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の３’末端における第三のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、前記センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７０】
Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の３’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、前記アンチセンス鎖の５’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、
Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、前記センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端のキラル修飾と、をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７１】
前記アンチセンス鎖の５’末端においてホスフェートまたはホスフェート模倣体をさらに含む、請求項１～７０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７２】
前記ホスフェート模倣体が、５’－ビニルホスホネート（ＶＰ）である、請求項７１に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７３】
前記二重鎖の前記アンチセンス鎖の５’末端の一つの位置における塩基対が、ＡＵ塩基対である、請求項１～７０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７４】
前記センス鎖が、合計２１ヌクレオチドを有し、また前記アンチセンス鎖が、合計２３ヌクレオチドを有する、請求項１～７０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７５】
前記ｄｓＲＮＡ剤が、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡのホットスポット領域を標的とする、請求項１～７４のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ。
【請求項７６】
前記ホットスポット領域が、配列番号１のヌクレオチド１４３７－１４６９、１７５０－１７７３、３０７８－３１０４、３２１０－３２３７、２７２０－２７５０、３０８１

－３１０４、３４４４－３４６７、６５８３－６６０７、７１５９－７１８６、７３７４－７４１８、１４４０－１４６９、１８５２－１８７６、３０７８－３１０１、７３７４－７３９８、７３８９－７４１８、７４３３－７４６６、８４７２－８４９７、７３９０－７４１８、８４７２－８４９６、７１６３－７１８６、３８５２－３８９６、２６９８－２７６２、７４４３－７４８６、４０２－４４５、２９５２－２９９５、４１６８－４２１１、６１０５－６１４８、７１５０－７１９３、１４２５－１４６８、３０１５－３０５８、２６９８－２７４１、５３４１－５３８４、または７３８４－７４２８を含む、請求項７５に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項７７】

ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、ＡＤ－１６２０９２１．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６１５５４０、ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６２０３３０、およびＡＤ－１６２０３５２からなる群から選択される、請求項７６に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項７８】

アクチン結合フィラミンＡ（ＦＬＮＡ）ｍＲＮＡのホットスポット領域を標的とするｄｓＲＮＡ剤。

【請求項７９】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤を含有する、細胞。

【請求項８０】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤を含む、ＦＬＮＡをコードする遺伝子の発現を阻害する、医薬組成物。

【請求項８１】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤と脂質製剤とを含む、医薬組成物。

【請求項８２】

ｄｓＲＮＡ剤が、非緩衝溶液中にある、請求項８０または８１に記載の医薬組成物。

【請求項８３】

前記非緩衝溶液が、生理食塩水または水である、請求項８２に記載の医薬組成物。

【請求項８４】

前記ｄｓＲＮＡ剤が、緩衝溶液中にある、請求項８０または８１に記載の医薬組成物。

【請求項８５】

前記緩衝溶液が、酢酸塩、クエン酸塩、プロラミン、炭酸塩、またはリン酸塩、または

それらのいずれかの組合せを含む、請求項８４に記載の医薬組成物。
【請求項８６】
前記緩衝溶液が、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）である、請求項８４に記載の医薬組成物。
【請求項８７】
細胞内でＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する方法であって、前記方法が、前記細胞を請求項１～７７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項７０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物と接触させて、それによって前記細胞内で前記ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害することを含む、方法。
【請求項８８】
前記細胞は、対象内にある、請求項８７に記載の方法。
【請求項８９】
前記対象が、ヒトである、請求項８８に記載の方法。
【請求項９０】
前記対象が、ＦＬＮＡ関連障害を有する、請求項８９に記載の方法。
【請求項９１】
前記ＦＬＮＡ関連障害が、神経変性障害である、請求項９０に記載の方法。
【請求項９２】
前記神経変性障害がアルツハイマー病である、請求項９１に記載の方法。
【請求項９３】
前記細胞を前記ｄｓＲＮＡ剤と接触させることにより、ＦＬＮＡの発現を少なくとも３０％阻害する、請求項８７～９２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９４】
ＦＬＮＡの発現を阻害することにより、前記対象の血清中のＦＬＮＡタンパク質レベルを少なくとも３０％減少させる、請求項８７～９３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９５】
ＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる障害がある対象を治療する方法であって、請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物の治療有効量を前記対象に投与し、それによってＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる前記障害がある前記対象を治療することを含む、方法。
【請求項９６】
ＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる障害がある対象における少なくとも一つの症状を予防する方法であって、請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物の予防有効量を前記対象に投与し、それによってＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる前記障害がある前記対象における少なくとも一つの症状を予防することを含む、方法。
【請求項９７】
前記障害が、ＦＬＮＡ関連障害である、請求項９５または９６に記載の方法。
【請求項９８】
前記ＦＬＮＡ関連障害が、アルツハイマー病、タウオパチー、前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）、１７番染色体に連鎖した前頭側頭型認知症およびパーキンソニズム（ＦＴＤＰ－１７）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）。大脳皮質基底核変性症（ＣＢＤ）、慢性外傷性脳症（ＣＴＥ）、ピック病（ＰｉＤ）、球状グリアタウオパチー（ＧＧＴ）、嗜銀顆粒病（ＡＧＤ）、および原発性年齢関連タウオパチー（ＰＡＲＴ）からなる群から選択される、請求項９７に記載の方法。
【請求項９９】
前記障害が、アルツハイマー病である、請求項９８に記載の方法。
【請求項１００】
前記対象が、ヒトである、請求項９８または９９に記載の方法。

【請求項１０１】
前記対象への前記剤の投与が、ＦＬＮＡタンパク質の蓄積の減少を引き起こす、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０２】
前記ｄｓＲＮＡ剤が、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇの用量で前記対象に投与される、請求項９５～１０１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０３】
前記ｄｓＲＮＡ剤が、前記対象に髄腔内投与される、請求項９５～１０２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０４】
前記対象からの試料中のＦＬＮＡレベルを判定することをさらに含む、請求項９５～１０３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０５】
前記対象の試料中のＦＬＮＡレベルが、血液、血清、または脳脊髄液試料中のＦＬＮＡタンパク質レベルである、請求項１０４に記載の方法。
【請求項１０６】
追加の治療薬を、前記対象に施与することをさらに含む、請求項９５～１０５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０７】
請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、キット。
【請求項１０８】
請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、バイアル。
【請求項１０９】
請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、シリンジ。
【請求項１１０】
請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤、または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、髄腔内ポンプ。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２１年６月２３日に出願された米国仮特許出願第６３／２１４，２２０号、および２０２１年１１月１日に出願された米国仮特許出願第６３／２７４，２４８号に対する優先権の利益を主張する。先述の出願の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
本願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された配列表を含んでおり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。２０２２年６月２３日に作成された先述のＡＳＣＩＩコピーは、Ａ１０８８６８＿１２５０ＷＯ＿ＳＬ．ｔｘｔという名称で、サイズは３４６，８１２バイトである。
【背景技術】
【０００３】
フィラミンＡタンパク質をコードするフィラミンＡ（ＦＬＮＡ）遺伝子は、染色体領域Ｘｑ２８に位置する。ＦＬＮＡは、フィラミンファミリーのアクチン結合タンパク質であり、細胞骨格リモデリング中のアクチンフィラメントの架橋に関与する。
【０００４】

アルツハイマー病は、アミロイドベータおよびタウタンパク質の異常によって特徴付けられる神経変性疾患であり、アミロイド斑および神経原線維変化の形成をもたらす。ＦＬＮＡの変化した立体配座型、またはミスフォールド型は、アルツハイマー病の脳に見出されており、アミロイドベータによって誘発されると考えられる。この改変ＦＬＮＡは凝集しないが、アルツハイマー病におけるアミロイドベータおよびタウシグナル伝達経路の両方に連結される。

【０００５】

現在、アルツハイマー病に対する疾患修飾療法はなく、治療は、神経変性疾患が進行するにつれて、疾患の症状を軽減し、患者の生活の質を改善することのみを目的としている。したがって、アルツハイマー病の進行を治療、予防、および／または阻害することができる薬剤に対するニーズがある。

【発明の概要】

【０００６】

本開示は、ＦＬＮＡ遺伝子のＲＮＡ転写物のＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）媒介切断を行うＲＮＡｉ組成物を提供する。当該ＦＬＮＡ遺伝子は、細胞内に、例えば、ヒトなどである対象内の細胞内にあり得る。これらｉＲＮＡの使用は、哺乳動物における対応する遺伝子（ＦＬＮＡ遺伝子）のｍＲＮＡの標的分解を可能にする。

【０００７】

本発明のｉＲＮＡは、アルツハイマー病を有し、ヌクレオチド修飾の組み合わせを有する対象において、ＦＬＮＡ遺伝子、例えば、遺伝子のエクソンにミスセンスおよび／または欠失変異を有するＦＬＮＡ遺伝子、および／または野生型遺伝子を標的とするように設計されている。本発明のｉＲＮＡは、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を少なくとも約３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９９％阻害する。理論に拘束されることを意図するものではないが、前述の特徴と、これらｉＲＮＡにおける特定の標的部位または特定の修飾との組み合わせまたは下位の組み合わせが、本発明のｉＲＮＡの有効性、安定性、効力、耐久性、および安全性を向上させると考えられる。一態様においては、本発明は、ＦＬＮＡの発現を阻害する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤を提供し、当該ｄｓＲＮＡ剤が、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、該センス鎖が、配列番号１のヌクレオチド配列と３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含み、該アンチセンス鎖は、配列番号２のヌクレオチド配列と３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。

【０００８】

別の態様においては、本発明は、ＦＬＮＡの発現を阻害する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤を提供し、当該ｄｓＲＮＡ剤が、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、該アンチセンス鎖が、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡに対して相補的な領域を含み、該相補的な領域が、配列番号２のヌクレオチド配列と３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。

【０００９】

さらに別の態様においては、本発明は、ＦＬＮＡの発現を阻害する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤を提供し、当該ｄｓＲＮＡ剤が、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、該アンチセンス鎖が、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡに対して相補的な領域を含み、該相補的な領域が、表３～８におけるアンチセンスヌクレオチド配列のいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。

【００１０】

一実施形態では、センス鎖が、配列番号１のヌクレオチド１００－１２０、１７６－１９６、２４４－２６４、３７５－３９５、４０４－４２４、４２５－４４５、４７３－４９３、５００－５２０、５４５－５６５、５９８－６１８、６４１－６６１、６６５－６８５、６８９－７０９、７１４－７３４、８７１－８９１、９０６－９２６、９３３－９

53、1002－1022、1077－1097、1127－1147、1151－1171、1189－1209、1235－1255、1258－1278、1305－1325、1328－1348、1355－1375、1391－1411、1427－1447、1448－1468、1488－1508、1530－1550、1563－1583、1660－1680、1749－1769、1790－1810、1854－1874、1888－1908、1926－1946、1956－1976、2023－2043、2068－2088、2103－2123、2132－2152、2187－2207、2219－2239、2258－2278、2317－2337、2340－2360、2376－2396、2399－2419、2421－2441、2468－2488、2553－2573、2615－2635、2654－2674、2700－2720、2721－2741、2742－2762、2783－2803、2841－2861、2900－2920、2930－2950、2954－2974、2975－2995、3017－3037、3038－3058、3080－3100、3124－3144、3155－3175、3189－3209、3214－3234、3249－3269、3323－3343、3375－3395、3438－3458、3503－3523、3569－3589、3601－3621、3647－3667、3714－3734、3782－3802、3826－3846、3854－3874、3876－3896、3930－3950、3999－4019、4041－4061、4066－4086、4122－4142、4145－4165、4170－4190、4191－4211、4217－4237、4336－4356、4367－4387、4442－4462、4491－4511、4516－4536、4547－4567、4569－4589、4622－4642、4652－4672、4694－4714、4746－4766、4812－4832、4869－4889、4943－4963、4977－4997、5022－5042、5060－5080、5088－5108、5180－5200、5205－5225、5255－5275、5290－5310、5314－5334、5343－5363、5364－5384、5405－5425、5521－5541、5582－5602、5612－5632、5639－5659、5703－5723、5772－5792、5811－5831、5847－5867、5876－5896、5910－5930、5967－5987、5992－6012、6038－6058、6107－6127、6128－6148、6163－6183、6243－6263、6272－6292、6300－6320、6358－6378、6391－6411、6441－6461、6479－6499、6509－6529、6545－6565、6581－6601、6711－6731、6741－6761、6798－6818、6826－6846、6849－6869、6873－6893、6987－7007、7014－7034、7088－7108、7125－7145、7152－7172、7173－7193、7206－7226、7253－7273、7288－7308、7386－7406、7408－7428、7445－7465、7466－7486、7537－7557、7560－7580、7586－7606、7657－7677、7728－7748、7832－7852、7978－7998、8002－8022、8048－8068、8081－8101、8120－8140、8359－8379、8404－8424、8447－8467、8483－8503、171－191、173－193、375－395、542－562、1442－1462、1449－1469、1751－1771、1752－1772、1753－1773、1854－1874、1855－1875、1856－1876、2722－2742、2730－2750、3080－3100、3081－3101、3082－3102、3083－3103、3084－3104、3212－3232、3217－3237、3445－3465、3446－3466、3447－3467、4068－4088、5182－5202、5183－5203、5978－5998、6046－6066、6432－6452、6585－6605、6586－6606、6587－6607、7079－7099、7161－7181、7163－7183、7165－7185、7166－

７１８６、７３７６－７３９６、７３７７－７３９７、７３７８－７３９８、７３９０－７４１０、７３９１－７４１１、７３９２－７４１２、７３９３－７４１３、７３９４－７４１４、７３９８－７４１８、７４３５－７４５５、７４３６－７４５６、７４３７－７４５７、７４４６－７４６６、７６５４－７６７４、７６５５－７６７５、７６５７－７６７７、７７２６－７７４６、８４０４－８４２４、８４７４－８４９４、８４７５－８４９５、８４７６－８４９６、および８４７７－８４９７のヌクレオチド配列のいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含み、ならびにアンチセンス鎖が、配列番号２の対応するヌクレオチド配列から少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。

【００１１】

一実施形態では、センス鎖が、配列番号１３５７のヌクレオチド９２３－９４３、１５６９－１５８９、１５７０－１５９０、１５７２－１５９２、１９８７－２００７、２２２２－２２４２、２５６０－２５８０、２５６１－２５８１、２７４５－２７６５、３３３９－３３５９、３３４０－３３６０、４０２３－４０４３、４７１６－４７３６、５４９１－５５１１、５９４０－５９６０、６０８８－６１０８、６７０４－６７２４、６７０５－６７２５、６７０７－６７２７、６８６４－６８８４、６８６５－６８８５、６８６６－６８８６、６９４９－６９６９、６９６５－６９８５、７３７６－７３９６、７５１９－７５３９、７９６１－７９８１、８１００－８１２０、８１０１－８１２１、８５４１－８５６１のヌクレオチド配列のうちのいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖が、配列番号１３５８の対応するヌクレオチド配列から少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。

【００１２】

一実施形態では、アンチセンス鎖が、ＡＤ－１６１５３７８、ＡＤ－１６１５４３３、ＡＤ－１６１５４５４、ＡＤ－１６１５５１１、ＡＤ－１６１５５４０、ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１５６０４、ＡＤ－１６１５６３１、ＡＤ－１６１５６７６、ＡＤ－１６１５７２９、ＡＤ－１６１５７７２、ＡＤ－１６１５７９６、ＡＤ－１６１５８２０、ＡＤ－１６１５８４３、ＡＤ－１６１５９３０、ＡＤ－１６１５９６４、ＡＤ－１６１５９９１、ＡＤ－１６１６００７、ＡＤ－１６１６０４４、ＡＤ－１６１６０８７、ＡＤ－１６１６１１１、ＡＤ－１６１６１４９、ＡＤ－１６１６１８２、ＡＤ－１６１６２０５、ＡＤ－１６１６２２２、ＡＤ－１６１６２４５、ＡＤ－１６１６２５２、ＡＤ－１６１６２８８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１６３６４、ＡＤ－１６１６３８６、ＡＤ－１６１６３９９、ＡＤ－１６１６４７１、ＡＤ－１６１６５３１、ＡＤ－１６１６５５４、ＡＤ－１６１６５７９、ＡＤ－１６１６５９３、ＡＤ－１６１６６１３、ＡＤ－１６１６６４３、ＡＤ－１６１６６８２、ＡＤ－１６１６７０７、ＡＤ－１６１６７４２、ＡＤ－１６１６７７１、ＡＤ－１６１６８２１、ＡＤ－１６１６８３３、ＡＤ－１６１６８５２、ＡＤ－１６１６９１１、ＡＤ－１６１６９３４、ＡＤ－１６１６９５０、ＡＤ－１６１６９７２、ＡＤ－１６１６９９４、ＡＤ－１６１７０４１、ＡＤ－１６１７０６１、ＡＤ－１６１７１０３、ＡＤ－１６１７１１７、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６１７１８６、ＡＤ－１６１７２１９、ＡＤ－１６１７２６８、ＡＤ－１６１７２９８、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１７４２９、ＡＤ－１６１７４５５、ＡＤ－１６１７４８６、ＡＤ－１６１７５２０、ＡＤ－１６１７５４５、ＡＤ－１６１７５８０、ＡＤ－１６１７６１２、ＡＤ－１６１７６４４、ＡＤ－１６１７６５７、ＡＤ－１６１７６７９、ＡＤ－１６１７７０３、ＡＤ－１６１７７１７、ＡＤ－１６１７７４３、ＡＤ－１６１７７９０、ＡＤ－１６１７８１５、ＡＤ－１６１７８４３、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７８９９、ＡＤ－１６１７９３９、ＡＤ－１６１７９８１、ＡＤ－１６１８００６、ＡＤ－１６１８０４９、ＡＤ－１６１８０５２、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１８１２４、ＡＤ－１６１８１８７、ＡＤ－１６１８２１４、ＡＤ－１６１８２３７、ＡＤ－１６１８２８６、ＡＤ－１６１８３１１、ＡＤ－１６１８３４２、ＡＤ

－１６１８３６４、ＡＤ－１６１８４０４、ＡＤ－１６１８４３４、ＡＤ－１６１８４５６、ＡＤ－１６１８５０８、ＡＤ－１６１８５７２、ＡＤ－１６１８６０１、ＡＤ－１６１８６４５、ＡＤ－１６１８６６１、ＡＤ－１６１８７０６、ＡＤ－１６１８７４４、ＡＤ－１６１８７７２、ＡＤ－１６１８８１０、ＡＤ－１６１８８３５、ＡＤ－１６１８８５１、ＡＤ－１６１８８８６、ＡＤ－１６１８９１０、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６１８９７９、ＡＤ－１６１９０１４、ＡＤ－１６１９０３４、ＡＤ－１６１９０６４、ＡＤ－１６１９０７１、ＡＤ－１６１９１１６、ＡＤ－１６１９１７８、ＡＤ－１６１９１９７、ＡＤ－１６１９２３３、ＡＤ－１６１９２６２、ＡＤ－１６１９２９６、ＡＤ－１６１９３３３、ＡＤ－１６１９３５８、ＡＤ－１６１９３８５、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６１９４７０、ＡＤ－１６１９５２９、ＡＤ－１６１９５４０、ＡＤ－１６１９５４９、ＡＤ－１６１９５８６、ＡＤ－１６１９６０１、ＡＤ－１６１９６５１、ＡＤ－１６１９６８９、ＡＤ－１６１９６９９、ＡＤ－１６１９７３５、ＡＤ－１６１９７５１、ＡＤ－１６１９８４９、ＡＤ－１６１９８７９、ＡＤ－１６１９９３６、ＡＤ－１６１９９４６、ＡＤ－１６１９９６９、ＡＤ－１６１９９９３、ＡＤ－１６２００３３、ＡＤ－１６２００６０、ＡＤ－１６２０１１３、ＡＤ－１６２０１５０、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６２０２１１、ＡＤ－１６２０２４４、ＡＤ－１６２０２７９、ＡＤ－１６２０３３０、ＡＤ－１６２０３５２、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６２０４２６、ＡＤ－１６２０４４９、ＡＤ－１６２０４７５、ＡＤ－１６２０５２５、ＡＤ－１６２０５７４、ＡＤ－１６２０６１６、ＡＤ－１６２０７０７、ＡＤ－１６２０７３１、ＡＤ－１６２０７３７、ＡＤ－１６２０７６７、ＡＤ－１６２０７８７、ＡＤ－１６２０８３７、ＡＤ－１６２０８７９、ＡＤ－１６２０８９１、ＡＤ－１６２０９２７、ＡＤ－１６１５４２８．１、ＡＤ－１６１５４３０．１、ＡＤ－１６１５５１１．２、ＡＤ－１６１５６７３．１、ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３３．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７６６４．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１８００８．１、ＡＤ－１６１８８１２．１、ＡＤ－１６１８８１３．１、ＡＤ－１６１９３４４．１、ＡＤ－１６１９３９３．１、ＡＤ－１６１９６４２．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１０４．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０５２２．１、ＡＤ－１６２０５２３．１、ＡＤ－１６２０５２５．２、ＡＤ－１６２０５７２．１、ＡＤ－１６２０８７９．２、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、ＡＤ－１６２０９２１．１、ＡＤ－１６８７６０６．１、ＡＤ－１６８８１２４．１、ＡＤ－１６８８１２５．１、ＡＤ－１６８８１２７．１、ＡＤ－１６８８４３１．１、ＡＤ－１６８８６２６．１、ＡＤ－１６８８８９７．１、ＡＤ－１６８８８９８．１、ＡＤ－１６８９０４１．１、ＡＤ－１６８９５２７．１、ＡＤ－１６８９５２８．１、ＡＤ－１６９００３２．１、ＡＤ－１６９０５５４．１、ＡＤ－１６９１１３３．１、ＡＤ－１６９１４３７．１、ＡＤ－１６９１５５９．１、ＡＤ－１６９２１０８．１、ＡＤ－１６９２１０９．１、ＡＤ－１６９２１１１．１、ＡＤ－１６９２２４２．１、ＡＤ－１６９２２４３．１、ＡＤ－１６９２２４４．１、ＡＤ－１６９２３１７．１、ＡＤ－１６９２３３３．１、ＡＤ－１６９２６１６．１、ＡＤ－１６９２７１８．１、ＡＤ－１

６９３００４．１、ＡＤ－１６９３１０３．１、ＡＤ－１６９３１０４．１、およびＡＤ－１６９３４５０．１、からなる群から選択される二重鎖のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のうちのいずれか一つと３ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。

【００１３】

一部の実施形態では、センス、およびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列は、表３～８のセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか一つを含む。

【００１４】

一実施形態では、センス鎖、アンチセンス鎖、またはセンス鎖およびアンチセンス鎖の両方が、一つまたは複数の親油性部分にコンジュゲートされる。

【００１５】

一実施形態では、親油性部分は、ｄｓＲＮＡ剤の二本鎖領域内の一つまたは複数の内側位置にコンジュゲートされる。

【００１６】

一実施形態では、親油性部分は、リンカーまたは担体を介してコンジュゲートされる。

【００１７】

一実施形態では、親油性部分の親油性は、ｌｏｇＫｏｗで測定されて、０を超える。

【００１８】

一実施形態では、二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性は、二本鎖ＲＮＡｉ剤の血漿タンパク質結合アッセイにおける非結合画分で測定され、０．２を超える。

【００１９】

一実施形態においては、血漿タンパク質結合アッセイは、ヒト血清アルブミンタンパク質を使用する電気泳動移動度シフトアッセイである。

【００２０】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、少なくとも一つの修飾ヌクレオチドを含む。

【００２１】

一実施形態では、５以下のセンス鎖ヌクレオチドおよび５以下のアンチセンス鎖ヌクレオチドは、未修飾ヌクレオチドである。

【００２２】

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

【００２３】

一実施形態では、修飾ヌクレオチドのうちの少なくとも一つは、デオキシ－ヌクレオチド、３’－末端デオキシ－チミジン（ｄＴ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチド、２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－デオキシ－修飾ヌクレオチド、ロックヌクレオチド、アンロックヌクレオチド、立体配座的に制限されたヌクレオチド、拘束されたエチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ－修飾ヌクレオチド、２’－Ｏ－アリル－修飾ヌクレオチド、２’－Ｃ－アルキル－修飾ヌクレオチド、２’－ヒドロキシル－修飾ヌクレオチド、２’－メトキシエチル修飾ヌクレオチド、２’－Ｏ－アルキル－修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホロアミダート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾ヌクレオチド、１，５－アンヒドロヘキシトール修飾ヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾ヌクレオチド、５’－ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、５’－メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、５’ホスフェートまたは５’ホスフェート模倣体を含むヌクレオチド、ビニルホスホネートを含むヌクレオチド、グリコール核酸（ＧＮＡ）（例えば、アデノシン－グリコール核酸）を含むヌクレオチド、グリコール核酸Ｓ異性体（Ｓ－ＧＮＡ）（例えば、チミジングリコール核酸Ｓ異性体）を含むヌクレオチド、２－ヒドロキシメチル－テトラヒドロフラン－５－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシチミジン－３’ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシグアノシン－３’－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－５’－連結リボヌクレオチド（３’－ＲＮＡ）、およびコレステリル誘導体に連結する末端ヌクレオチド、お

よびドデカン酸ビスデシルアミド基、ならびにそれらの組み合わせである群から選択される。

【００２４】

一実施形態では、修飾ヌクレオチドは、２’－デオキシ－２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－デオキシ－修飾ヌクレオチド、３’－末端デオキシ－チミンヌクレオチド（ｄＴ）、ロックヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ修飾ヌクレオチド、２’－アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホロアミダート、および非天然塩基を含むヌクレオチドからなる群から選択される。

【００２５】

一実施形態では、修飾ヌクレオチドは、３’－末端デオキシ－チミンヌクレオチド（ｄＴ）の短い配列を含む。

【００２６】

一実施形態では、ヌクレオチドにおける修飾は、２’－Ｏ－メチル修飾、ＧＮＡ修飾、および２’フルオロ修飾である。

【００２７】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、少なくとも一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに含む。

【００２８】

一実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、６～８のホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む。

【００２９】

一実施形態では、各鎖は、３０ヌクレオチド以下の長さである。

【００３０】

一実施形態では、少なくとも一つの鎖が、少なくとも１ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。別の実施形態では、少なくとも一つの鎖が、少なくとも２ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。

【００３１】

二本鎖領域は、１５～３０ヌクレオチド対の長さ、１７～２３ヌクレオチド対の長さ、１７～２５ヌクレオチド対の長さ、２３～２７ヌクレオチド対の長さ、１９～２１ヌクレオチド対の長さ、または２１～２３ヌクレオチド対の長さであり得る。

【００３２】

各鎖は、１９～３０ヌクレオチド、１９～２３ヌクレオチド、または２１～２３ヌクレオチドを有し得る。

【００３３】

一実施形態では、一つまたは複数の親油性部分は、例えばリンカーまたは担体を介して、少なくとも一本の鎖上の一つまたは複数の内側位置にコンジュゲートされる。

【００３４】

一実施形態では、内側位置は、少なくとも一本の鎖の各末端から末端の二つの位置を除く全ての位置を含む。

【００３５】

別の実施形態では、内側位置は、少なくとも一本の鎖の各末端から末端の三つの位置を除く全ての位置を含む。

【００３６】

一実施形態では、内側位置は、センス鎖の切断部位領域を除く。

【００３７】

一実施形態では、内側位置は、センス鎖の５’末端から数えて９～１２位を除く全ての位置を含む。

【００３８】

別の実施形態では、内側位置は、センス鎖の３’末端から数えて１１～１３位を除く全ての位置を含む。

【００３９】
一実施形態では、内側位置は、アンチセンス鎖の切断部位領域を除く。
【００４０】
一実施形態では、内側位置は、アンチセンス鎖の５’末端から数えて１２～１４位を除く全ての位置を含む。
【００４１】
一実施形態では、内側位置は、３’末端から数えてセンス鎖上の１１～１３位と、５’末端から数えてアンチセンス鎖上の１２～１４位とを除く全ての位置を含む。
【００４２】
一実施形態では、一つまたは複数の親油性部分は、各鎖の５’末端から数えて、センス鎖上の４～８位および１３～１８位ならびにアンチセンス鎖上の６～１０位および１５～１８位からなる群から選択される内側位置のうちの一つまたは複数にコンジュゲートされる。
【００４３】
別の実施形態では、一つまたは複数の親油性部分は、各鎖の５’末端から数えて、センス鎖上の５、６、７、１５、および１７位ならびにアンチセンス鎖上の１５および１７位からなる群から選択される内側位置のうちの一つまたは複数にコンジュゲートされる。
【００４４】
一実施形態では、二本鎖領域における内側位置は、センス鎖の切断部位領域を除く。
【００４５】
一実施形態では、センス鎖は、２１ヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、２３ヌクレオチドの長さであり、また親油性部分は、センス鎖の２１位、２０位、１５位、１位、７位、６位、もしくは２位またはアンチセンス鎖の１６位にコンジュゲートされる。
【００４６】
一実施形態では、親油性部分は、センス鎖の２１位、２０位、１５位、１位、または７位にコンジュゲートされる。
【００４７】
別の実施形態では、親油性部分は、センス鎖の２１位、２０位または１５位にコンジュゲートされる。
【００４８】
さらに別の実施形態では、親油性部分は、センス鎖の２０位または１５位にコンジュゲートされる。
【００４９】
一実施形態では、親油性部分は、アンチセンス鎖の１６位にコンジュゲートされる。
【００５０】
一実施形態では、親油性部分は、脂肪族化合物、脂環式化合物、または多脂環式化合物である。
【００５１】
一部の実施形態では、親油性部分は、脂質、コレステロール、レチノイン酸、コール酸、アダマンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキサノール（ｇｅｒａｎｙｌｏｘｙｈｅｘｙａｎｏｌ）、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸（Ｏ３－（ｏｌｅｏｙｌ）ｃｈｏｌｅｎｉｃａｃｉｄ）、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジンからなる群から選択される。
【００５２】
一実施形態では、親油性部分は、飽和または不飽和Ｃ４～Ｃ３０炭化水素鎖と、ヒドロキシル、アミン、カルボン酸、スルホネート、ホスフェート、チオール、アジド、およびアルキンからなる群から選択される随意の官能基とを含有する。

【００５３】
一実施形態では、親油性部分は、飽和または不飽和Ｃ６～Ｃ１８炭化水素鎖を含有する。
【００５４】
一実施形態では、親油性部分は、飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖を含有する。
【００５５】
一実施形態では、飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖は、一方の鎖の５’末端から数えて６位にコンジュゲートされる。
【００５６】
一実施形態では、親油性部分は、内側位置または二本鎖領域における一つまたは複数のヌクレオチドに置き換わる担体を介してコンジュゲートされる。
【００５７】
一実施形態では、担体は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される環式基であるか、またはセリノール骨格またはジエタノールアミン骨格系の非環式部分である。
【００５８】
一実施形態では、親油性部分は、エーテル、チオエーテル、尿素、炭酸塩、アミン、アミド、マレイミド－チオエーテル、ジスルフィド、ホスホジエステル、スルホンアミド連結、クリック反応の生成物、またはカルバメートを含有するリンカーを介して二本鎖ｉＲＮＡ剤にコンジュゲートされる。
【００５９】
一実施形態では、親油性部分は、核酸塩基、糖部分、またはヌクレオシド間連結にコンジュゲートされる。
【００６０】
一実施形態では、親油性部分または標的化リガンドは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ジスルフィド、アミド、およびガラクトサミン、グルコサミン、グルコース、ガラクトース、マンノースの官能化された単糖またはオリゴ糖、ならびにそれらの組合せからなる群から選択される生物切断可能なリンカーを介してコンジュゲートされる。
【００６１】
一実施形態では、センス鎖の３’末端は、アミンを有する環式基であるエンドキャップを介して保護され、該環式基は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される。
【００６２】
一実施形態では、標的リガンドは、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートである。
【００６３】
一実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾をさらに含む。
【００６４】
別の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端キ

ラル修飾と、Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾とをさらに含む。

【００６５】

さらに別の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第一、第二および第三のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾とをさらに含む。

【００６６】

別の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第三のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾とをさらに含む。

【００６７】

別の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置での連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第一および第二のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾と、Ｒｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかでの連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第一のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾とをさらに含む。

【００６８】

一実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、アンチセンス鎖の５’末端におけるホスフェートまたはホスフェート模倣体をさらに含む。

【００６９】

一実施形態では、ホスフェート模倣体は、５’－ビニルホスホネート（ＶＰ）である。

【００７０】

一実施形態では、二重鎖のアンチセンス鎖の５’－末端の１位置における塩基対が、ＡＵ塩基対である。

【００７１】

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

【００７２】

別の態様では、本発明は、細胞中のフィラミンＡ（ＦＬＮＡ）の発現を阻害する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤を提供し、ｄｓＲＮＡ剤は二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含む。センス鎖が、表３～８における剤のうちのいずれか一つのヌクレオチド配列を含み、アンチセンス鎖が、表３～８における剤のうちのいずれか一つのヌクレオチド配列を含む。センス鎖の実質的に全てのヌクレオチド、およびアンチセンス鎖の実質的に全てのヌクレオチドは、修飾ヌクレオチドであり、ｄｓＲＮＡ剤はリガンドにコンジュゲートされる。

【００７３】

前述のｄｓＲＮＡ剤の様々な実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡのホットスポット領域を標的とする。一実施形態では、ホットスポット領域は、配列番号１のヌクレオチド１４３７－１４６９、１７５０－１７７３、３０７８－３１０４

、３２１０－３２３７、２７２０－２７５０、３０８１－３１０４、３４４４－３４６７、６５８３－６６０７、７１５９－７１８６、７３７４－７４１８、１４４０－１４６９、１８５２－１８７６、３０７８－３１０１、７３７４－７３９８、７３８９－７４１８、７４３３－７４６６、８４７２－８４９７、７３９０－７４１８、８４７２－８４９６、７１６３－７１８６、３８５２－３８９６、２６９８－２７６２、７４４３－７４８６、４０２－４４５、２９５２－２９９５、４１６８－４２１１、６１０５－６１４８、７１５０－７１９３、１４２５－１４６８、３０１５－３０５８、２６９８－２７４１、５３４１－５３８４、または７３８４－７４２８を含む。ｄｓＲＮＡ剤は、ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、ＡＤ－１６２０９２１．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６１５５４０、ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６２０３３０、およびＡＤ－１６２０３５２からなる群から選択され得る。

【００７４】

別の態様では、本発明は、フィラミンＡ（ＦＬＮＡ）ｍＲＮＡのホットスポット領域を標的とするｄｓＲＮＡ剤を提供する。

【００７５】

本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤を含む、ＦＬＮＡをコードする遺伝子の発現を阻害するための細胞と医薬組成物とをさらに提供する。

【００７６】

一実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、生理食塩水または水などの非緩衝溶液中にある。

【００７７】

別の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、酢酸塩、クエン酸塩、プロラミン、炭酸塩、もしくはリン酸、もしくはそれらの任意の組み合わせを含む緩衝液、またはリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）などの緩衝液中にある。

【００７８】

一態様では、本発明は、細胞内のＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する方法を提供し、方法は、細胞を本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物と接触させ、それによって細胞内のＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害することを含む。

【００７９】

一実施形態では、細胞は、対象内にある。

【００８０】

一実施形態においては、対象はヒトである。

【００８１】

一実施形態では、対象はＦＬＮＡ関連障害を有する。
【００８２】
一実施形態では、対象におけるＦＬＮＡ関連障害は、神経変性障害である。
【００８３】
一実施形態では、神経変性障害はアルツハイマー病である。
【００８４】
一実施形態では、ＦＬＮＡ関連障害は、アルツハイマー病、タウオパチー、前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）、１７番染色体に連鎖した前頭側頭型認知症およびパーキンソニズム（ＦＴＤＰ－１７）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）。大脳皮質基底核変性症（ＣＢＤ）、慢性外傷性脳症（ＣＴＥ）、ピック病（ＰｉＤ）、球状グリアタウオパチー（ＧＧＴ）、嗜銀顆粒病（ＡＧＤ）、および原発性年齢関連タウオパチー（ＰＡＲＴ）からなる群から選択される。
【００８５】
一実施形態では、細胞をｄｓＲＮＡ剤と接触させることにより、ＦＬＮＡの発現が少なくとも３０％阻害される。
【００８６】
一実施形態では、ＦＬＮＡの発現を阻害することで、対象の血清中のＦＬＮＡタンパク質レベルが少なくとも３０％減少する。
【００８７】
一態様では、本発明は、ＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる障害のある対象を治療する方法であって、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物の治療有効量を対象に投与し、それによってＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる障害がある対象を治療することを含む方法を提供する。
【００８８】
別の態様では、本発明は、ＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる障害のある対象における少なくとも一つの症状を予防する方法であって、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物の予防有効量を対象に投与し、それによってＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる障害がある対象における少なくとも一つの症状を予防することを含む方法を提供する。
【００８９】
一実施形態では、障害はＦＬＮＡ関連障害である。
【００９０】
一実施形態では、ＦＬＮＡ関連障害は、アルツハイマー病、タウオパチー、前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）、１７番染色体に連鎖した前頭側頭型認知症およびパーキンソニズム（ＦＴＤＰ－１７）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）。大脳皮質基底核変性症（ＣＢＤ）、慢性外傷性脳症（ＣＴＥ）、ピック病（ＰｉＤ）、球状グリアタウオパチー（ＧＧＴ）、嗜銀顆粒病（ＡＧＤ）、および原発性年齢関連タウオパチー（ＰＡＲＴ）からなる群から選択される。
【００９１】
一実施形態では、ＦＬＮＡ関連障害は、アルツハイマー病である。
【００９２】
一実施形態では、対象はヒトである。
【００９３】
一実施形態では、対象への剤の投与は、ＦＬＮＡタンパク質蓄積の減少を引き起こす。別の実施形態では、対象への剤の投与は、変化したＦＬＮＡタンパク質蓄積の減少を引き起こす。
【００９４】
一実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇの用量で対象に投与される。
【００９５】

一実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、対象に皮下投与される。
【００９６】
別の実施形態では、ｄｓＲＮＡ剤は、対象に髄腔内投与される。
【００９７】
一実施形態では、本発明の方法は、対象からの試料中のＦＬＮＡのレベルを決定することをさらに含む。
【００９８】
一実施形態では、対象の試料中のＦＬＮＡレベルは、血液、血清、または脳脊髄液試料中のＦＬＮＡタンパク質レベルである。
【００９９】
一実施形態では、本発明の方法は、追加の治療薬を対象に投与することをさらに含む。
【０１００】
一態様では、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物を含むキットを提供する。
【０１０１】
別の態様では、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物を含むバイアルを提供する。
【０１０２】
さらに別の態様では、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物を含むシリンジを提供する。
【０１０３】
別の態様では、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物を含む髄腔内ポンプを提供する。
【０１０４】
一実施形態では、ＲＮＡｉ剤はその薬学的に許容可能な塩である。本明細書のＲＮＡｉ剤の各々の「薬学的に許容可能な塩」としては、これに限定されないが、ナトリウム塩、カルシウム塩、リチウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩、マグネシウム塩、それらの混合物が含まれる。当業者であれば、ＲＮＡｉ剤は、ポリカチオン性塩として提供される場合、随意に修飾されるホソホジエステル（ｐｈｏｓｏｐｈｏｄｉｅｓｔｅｒ）骨格および／または任意の他の酸性修飾（例えば、５’末端のホスホネート基）の遊離酸基当たり一つのカチオンを有することを理解するであろう。例えば、長さが「ｎ」ヌクレオチドであるオリゴヌクレオチドは、ｎ－１の随意に修飾されるホソホジエステルを含有し、その結果、長さ２１ｎｔのオリゴヌクレオチドは、最大２０のカチオン（例えば、２０のナトリウムカチオン）を有する塩として提供され得る。同様に、長さ２１ｎｔのセンス鎖と長さ２３ｎｔのアンチセンス鎖とを有するＲＮＡｉ剤は、最大４２のカチオン（例えば、４２のナトリウムカチオン）を有する塩として提供され得る。前述の実施例では、ＲＮＡｉ剤はまた、５’末端のホスフェート基または５’末端のビニルホスホネート基も含む場合、ＲＮＡｉ剤は、最大４４のカチオン（例えば、４４のナトリウムカチオン）を有する塩として提供され得る。
【発明を実施するための形態】
【０１０５】
本開示は、ＦＬＮＡ遺伝子のＲＮＡ転写物のＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）媒介切断を行うＲＮＡｉ組成物を提供する。当該ＦＬＮＡ遺伝子は、細胞内に、例えば、ヒトなどである対象内の細胞内にあり得る。これらｉＲＮＡの使用は、哺乳動物における対応する遺伝子（ＦＬＮＡ遺伝子）のｍＲＮＡの標的分解を可能にする。
【０１０６】
本発明のｉＲＮＡは、ＦＬＮＡ遺伝子、例えば、ヌクレオチド修飾を有するＦＬＮＡ遺伝子、またはヌクレオチド修飾を有さないＦＬＮＡ遺伝子を標的とするように設計されている。本発明のｉＲＮＡは、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を少なくとも約３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０

％、９５％、または９９％阻害する。理論に拘束されることを意図するものではないが、前述の特徴と、これらｉＲＮＡにおける特定の標的部位または特定の修飾との組み合わせまたは下位の組み合わせが、本発明のｉＲＮＡの有効性、安定性、効力、耐久性、および安全性を向上させると考えられる。

【０１０７】

したがって、本開示は、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害するために、またはＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害または減少させることから恩恵を受けることとなる障害、例えば、ＦＬＮＡ関連疾患、例えばアルツハイマー病などの神経変性疾患を有する対象を治療するために、本開示のＲＮＡｉ組成物を使用する方法も提供する。

【０１０８】

本開示のＲＮＡｉ剤は、約３０ヌクレオチド長以下、例えば、１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２ヌクレオチド長の領域を有するＲＮＡ鎖（アンチセンス鎖）を含み、その領域は、ＦＬＮＡ遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部、例えば、ＦＬＮＡエクソンに対し実質的に相補的である。特定の実施形態においては、本開示のＲＮＡｉ剤は、約２１～２３ヌクレオチドの長さである領域を有するＲＮＡ鎖（アンチセンス鎖）を含み、該領域が、ＦＬＮＡ遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部に対して実質的に相補的である。

【０１０９】

特定の実施形態においては、本開示のＲＮＡｉ剤は、例えば長さが最大６６ヌクレオチド、例えば３６～６６、２６～３６、２５～３６、３１～６０、２２～４３、２７～５３ヌクレオチドであるより長い長さを含み得るＲＮＡ鎖（アンチセンス鎖）を含み、これが、ＦＬＮＡ遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部に対して実質的に相補的である少なくとも１９の連続するヌクレオチドの領域を伴う。より長い長さのアンチセンス鎖をもつこれらＲＮＡｉ剤は、好ましくは、長さが２０～６０ヌクレオチドの第二のＲＮＡ鎖（センス鎖）を含み、ここでセンス鎖およびアンチセンス鎖が、１８～３０の連続するヌクレオチドの二重鎖を形成する。

【０１１０】

これらＲＮＡｉ剤の使用は、哺乳動物におけるＦＬＮＡ遺伝子のｍＲＮＡの標的分解および／または阻害を可能にする。したがって、これらＲＮＡｉ剤を含む方法および組成物は、ＦＬＮＡタンパク質のレベルまたは活性の減少によって恩恵を受けることとなる対象の、例えばアルツハイマー病などのＦＬＮＡ関連疾患を有する対象などの治療に有用である。

【０１１１】

以下の詳細な説明は、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害するＲＮＡｉ剤を含有する組成物を作製および使用する方法、ならびに遺伝子の発現の阻害または減少から恩恵を受けることとなる疾患および障害を有する対象を治療するための組成物および方法を開示する。

【０１１２】

Ｉ．定義

本開示がさらに容易に理解され得るために、最初に特定の用語を定義する。加えて、パラメータの値または値の範囲が列記される場合にはいつでも、列記された値の中間の値および範囲も、本開示の一部であることが意図されることが意図される。

【０１１３】

冠詞「ａ」および「ａｎ」は、本明細書において、冠詞の文法上の対象の一つまたは二

つ以上（すなわち、少なくとも一つ）を意味するために使用する。例えば、「ある要素（ａｎ　ｅｌｅｍｅｎｔ）」は、一つの要素または二つ以上の要素、例えば、複数の要素を意味する。

【０１１４】

用語「～を含むこと（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」は、語句「～を含むが、これらに限定されない（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ　ｂｕｔ　ｎｏｔ　ｌｉｍｉｔｅｄ　ｔｏ）」を意味するために本明細書において使用され、また当該語句と区別なく使用する。用語「または」は、文脈において別途明示しない限り、用語「および／または」を意味するために本明細書において使用され、また当該用語と区別なく使用する。

【０１１５】

用語「約」は、当技術分野において、典型的な許容誤差の範囲内であることを意味するために本明細書で使用する。例えば、「約」は、平均から約２の標準偏差として理解され得る。特定の実施形態では、約は、±１０％を意味する。特定の実施形態では、約は、±５％を意味する。一連の数字または範囲の前に約がある場合、「約」は、その連続する数字または範囲のそれぞれを修飾し得ることが理解される。

【０１１６】

数または一連の数の前の用語「少なくとも」は、文脈から明白な場合、用語「少なくとも」に隣接する数、および論理的に含まれ得るその後の全ての数または整数を含むと理解される。例えば、ある核酸分子内のヌクレオチドの数は、整数であるはずである。例えば、「２１ヌクレオチド核酸分子の少なくとも１８ヌクレオチド」は、１８、１９、２０、または２１ヌクレオチドが、示された特性を有することを意味する。連続する数字または範囲の前に少なくともがある場合、「少なくとも」は、その連続する数字または範囲のそれぞれを修飾し得ることが理解される。

【０１１７】

本明細書において使用する場合、「～以下」または「未満」は、その語句に隣接する値と、文脈から論理的である場合はゼロまでのその値より論理的により小さい値または整数として理解される。例えば、「２ヌクレオチド以下」のオーバーハングを有する二重鎖は、２、１、または０ヌクレオチドのオーバーハングを有する。連続する数字または範囲の前に「～以下」がある場合、「～以下」は、その連続する数字または範囲のそれぞれを修飾し得ることが理解される。

【０１１８】

本明細書において使用する場合、検出の方法は、存在する分析物の量がその方法の検出レベルを下回る判定を含み得る。

【０１１９】

示した標的部位と、センス鎖またはアンチセンス鎖に関するヌクレオチド配列と矛盾する場合には、示した配列を優先する。

【０１２０】

化学構造と化学名称が一致しない場合、化学構造を優先する。

【０１２１】

本明細書で使用される場合、「フィラミンＡ」という用語は、「ＦＬＮＡ」という用語と互換的に使用され、当技術分野では「フィラミンＡ」、「ＦＬＮＡ」、「ＦＬＮ－Ａ」、「内皮アクチン結合タンパク質」、「アクチン結合タンパク質２８０」、「ＡＢＰ－２８０」、「アルファ－フィラミン」、「フィラミン－１」、「ＦＬＮ１」、および「非筋肉フィラミン」としても知られている、周知の遺伝子およびその遺伝子によってコードされるポリペプチドを指す。ＦＬＮＡ遺伝子は、脳および全身の他の組織で活性である。ＦＬＮＡは、中枢神経系を含む様々な組織で発現される。

【０１２２】

ＦＬＮＡは、細胞骨格再構成に関与するアクチン結合タンパク質であるフィラミンＡとして知られるタンパク質をコードする。ＦＬＮＡはホモ二量体として機能し、Ｎ末端アクチン結合ドメインおよび２４個の免疫グロブリン様ドメインを有する。細胞内のネットワ

ークおよびストレスファイバーにフィラメント状アクチンを組織化することにおけるその役割に加えて、ＦＬＮＡは、膜貫通タンパク質をアクチン細胞骨格に固定することによって、ある範囲のシグナル伝達タンパク質に足場も提供する。ＦＬＮＡは、シグナル伝達分子および膜貫通受容体の多様なレパートリーと相互作用し、細胞シグナル伝達において重要な役割を果たしていることを示唆する。

【０１２３】

変化した立体配座を有するＦＬＮＡタンパク質は、アルツハイマー病に関与している。理論に束縛されることを望むものではないが、アミロイドベータ１－４２（Ａβ４２）は、ＦＬＮＡの立体配座変化を誘導し、これにより、ＦＬＮＡがα７－ニコチンアセチルコリン受容体（α７ｎＡＣｈＲ）およびｔｏｌｌ様受容体４（ＴＬＲ４）と会合することが可能になる。これにより、Ａβ４２はα７ｎＡＣｈＲを介してシグナル伝達され、タウタンパク質を過剰リン酸化して神経原線維変化を引き起こすキナーゼの活性化をもたらす。さらに、ＦＬＮＡのＴＬＲ４との異常な会合は、炎症性サイトカインの放出および神経性炎症を誘発するＴＬＲ４のＡβ４２活性化を促進する。（Ｂｕｒｎｓ，ｅｔ　ａｌ．，２０１７，Ｎｅｕｒｏｉｍｍ．ａｎｄ　Ｎｅｕｒｏｉｎｆｌａｍ．４：２６３－７１）。

【０１２４】

小分子阻害剤であるＰＴＩ－１２５（シムフィラム）は、変化したＦＬＮＡに結合し、ＦＬＮＡを天然型に戻し、アルツハイマー病に関連する病態を低減することができる。アルツハイマー病のマウスモデルでは、ＰＴＩ－１２５投与は、シナプス可塑性を改善し、空間的および作業的記憶を改善し、タウ過剰リン酸化を低減し、神経性炎症を低減し、神経原線維変化を低減した。（Ｗａｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，２０１７，Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．Ａｇｉｎｇ　５５：９９－１１４）。

【０１２５】

ＦＬＮＡのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列の例としては、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ寄託番号ＮＭ＿００１１１０５５６．２（ホモサピエンスＦＬＮＡ、配列番号１、逆相補体、配列番号２）、およびＸＭ＿００６５２７９１１．５（ハツカネズミＦＬＮＡ、配列番号１３５７、逆相補体、配列番号１３５８）に見出すことができる。

【０１２６】

ＦＬＮＡ遺伝子を保有するヒト染色体のゲノム領域のヌクレオチド配列は、例えば、ＧｅｎＢａｎｋで利用可能なＧｅｎｏｍｅ　Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ　Ｃｏｎｓｏｒｔｉｕｍ　Ｈｕｍａｎ　Ｂｕｉｌｄ　３８（Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｏｍｅ　ｂｕｉｌｄ　３８またはＧＲＣｈ３８とも呼ばれる）に見出され得る。また、ＦＬＮＡ遺伝子を保有するヒト染色体Ｘのゲノム領域のヌクレオチド配列は、例えば、ヒト染色体Ｘのヌクレオチド　１５４３４８５３１－１５４３７４６３４に対応するＧｅｎＢａｎｋ寄託番号ＮＣ＿００００２３．１１にも見出され得る。ヒトＦＬＮＡ遺伝子のヌクレオチド配列は、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ寄託番号ＮＣ＿０００００２３．１１に見出され得る。

【０１２７】

ＦＬＮＡ配列のさらなる例としては、公的に利用可能なデータベース、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ、ＯＭＩＭ、およびＵｎｉＰｒｏｔで見出され得る。

【０１２８】

ＦＬＮＡに関する追加情報は、例えば、ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｇｅｎｅ／２３１６で見出すことができる。本明細書で使用する場合、用語ＦＬＮＡは、例えば、ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｃｌｉｎｖａｒ／？ｔｅｒｍ＝ＮＭ＿００１１１０５５６．２で、臨床バリアントデータベースに提供されるバリアントを含むＦＬＮＡ遺伝子のバリエーションも指す。

【０１２９】

先述のＧｅｎＢａｎｋ寄託番号および遺伝子データベース番号のそれぞれの内容全体は、本願出願日の時点で参照により本明細書に組み込まれる。

【０１３０】

一部の態様では、ヒトＦＬＮＡ　ｍＲＮＡの領域に実質的に相補的であるｉＲＮＡは、

マウスＦＬＮＡ　ｍＲＮＡと交差反応する。一部の態様では、マウスＦＬＮＡ　ｍＲＮＡの領域に実質的に相補的であるｉＲＮＡは、ヒトＦＬＮＡ　ｍＲＮＡと交差反応する。一部の実施形態では、マウスまたはヒトＦＬＮＡ　ｍＲＮＡの領域に実質的に相補的であるｉＲＮＡは、ラット、サル、およびウサギＦＬＮＡ　ｍＲＮＡと交差反応する。

【０１３１】

本明細書において使用する場合、「標的配列」は、例えば一次転写産物のＲＮＡプロセシングの産物であるｍＲＮＡなどである、ＦＬＮＡ遺伝子の転写中に形成されるｍＲＮＡ分子のヌクレオチド配列における連続する部分を意味する。一実施形態においては、配列の標的部分は、少なくとも、ＦＬＮＡ遺伝子の転写中に形成されるｍＲＮＡ分子のヌクレオチド配列の一部分において、またはその近傍におけるＲＮＡｉ指向性切断のための基質として機能するのに十分な長さであることとなる。

【０１３２】

標的配列は、約１５～３０ヌクレオチドの長さである。例えば、標的配列は、約１５～３０ヌクレオチド、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２ヌクレオチド長であり得る。特定の実施形態では、標的配列は、１９～２３ヌクレオチドの長さであり、随意に２１～２３ヌクレオチドの長さである。上記に列記した範囲および長さの間に存在する範囲および長さもまた、本開示の一部であることを意図している。

【０１３３】

本明細書において使用する場合、用語「配列を含む鎖」は、標準的なヌクレオチドの用語体系を使用して言及される配列によって説明するヌクレオチドの鎖を含むオリゴヌクレオチドを指す。「Ｇ」、「Ｃ」、「Ａ」、「Ｔ」、および「Ｕ」はそれぞれ、概して、修飾ヌクレオチドまたは未修飾ヌクレオチドの文脈において、それぞれ、塩基としてのグアニン、シトシン、アデニン、チミジン、およびウラシルを含むヌクレオチドを表す。しかしながら、用語「リボヌクレオチド」または「ヌクレオチド」は、以下においてより詳述されるような修飾ヌクレオチド、または代替置換部分（例えば、表２を参照）も指し得ることは理解されよう。当業者は、グアニン、シトシン、アデニン、チミジン、およびウラシルが、そのような置換部分を有するヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドの塩基対合特性を実質的に変更することなく、他の部分で置換できることを十分に意識している。例えば、これらに限定されるものではないが、その塩基としてイノシンを含むヌクレオチドは、アデニン、シトシンまたはウラシルを含むヌクレオチドと塩基対合することができる。したがって、ウラシル、グアニン、またはアデニンを含むヌクレオチドは、本開示において取り上げるｄｓＲＮＡのヌクレオチド配列において、例えばイノシンを含むヌクレオチドで置換することができる。別の実施例では、オリゴヌクレオチド内のいずれの箇所にあるアデニンおよびシトシンも、標的ｍＲＮＡと対合するＧ－Ｕウォッブル塩基を形成するために、それぞれグアニンおよびウラシルで置換することができる。そのような置換部分を含む配列は、本開示において取り上げる組成物および方法にとって好適である。

【０１３４】

本明細書において区別なく使用する、用語「ｉＲＮＡ」、「ＲＮＡｉ剤」、「ｉＲＮＡ剤」、「ＲＮＡ干渉剤」は、本明細書において用語が定義されるＲＮＡを含有し、かつＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）経路を介してＲＮＡ転写物の標的切断を媒介するような、薬剤を指す。ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）は、ｍＲＮＡの配列特異的分解を司るプロセスである。ＲＮＡｉは、細胞内の、例えば、哺乳動物対象などの対象内の細胞内に

おけるＦＬＮＡの発現を調節、例えば、阻害する。

【０１３５】

一実施形態では、本開示のＲＮＡｉ剤は、標的ＲＮＡの切断を司るために、標的ＲＮＡ配列、例えばＦＬＮＡ標的ｍＲＮＡ配列と相互作用する一本鎖ＲＮＡｉを含む。理論に拘束されることを望むものではないが、細胞内に導入される長い二本鎖ＲＮＡは、Ｄｉｃｅｒとして知られるＩＩＩ型エンドヌクレアーゼによって、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む二本鎖低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）へと分解されると考えられる（Ｓｈａｒｐ ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１５：４８５）。ＤｉｃｅｒであるリボヌクレアーゼＩＩＩ様酵素は、このｄｓＲＮＡを、特徴的な二つの塩基の３’オーバーハングを有する１９～２３塩基対の低分子干渉ＲＮＡへとプロセシングする（Ｂｅｒｎｓｔｅｉｎ，ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｎａｔｕｒｅ ４０９：３６３）。その後これらｓｉＲＮＡは、ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）に組み込まれ、そこで一つまたは複数のヘリカーゼがｓｉＲＮＡ二重鎖を解き、それによって相補的アンチセンス鎖に対して標的認識を誘導することが可能になる（Ｎｙｋａｎｅｎ，ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｃｅｌｌ １０７：３０９）。適切な標的ｍＲＮＡに結合すると、ＲＩＳＣ内の一つまたは複数のエンドヌクレアーゼは、標的を切断してサイレンシングを誘導する（Ｅｌｂａｓｈｉｒ，ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１５：１８８）。すなわち、一態様においては、本開示は、細胞内において生成されて、かつＲＩＳＣ複合体の形成を促進して標的遺伝子、すなわちＦＬＮＡ遺伝子のサイレンシングを行うものである、一本鎖ＲＮＡ（ｓｓＲＮＡ）（ｓｉＲＮＡ二重鎖のアンチセンス鎖）に関する。したがって、用語「ｓｉＲＮＡ」は、上記において説明したＲＮＡｉも意味するために本明細書において使用される。

【０１３６】

別の実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、標的ｍＲＮＡを阻害するために細胞または有機体に導入された一本鎖ＲＮＡであり得る。一本鎖ＲＮＡｉ剤は、ＲＩＳＣエンドヌクレアーゼであるアルゴノート２に結合し、それは次いで、標的ｍＲＮＡを切断する。一本鎖ｓｉＲＮＡは、概して、１５～３０ヌクレオチドであり、化学的に修飾されている。一本鎖ＲＮＡの設計および試験は、米国特許第８，１０１，３４８号およびＬｉｍａ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｃｅｌｌ １５０：８８３－８９４に記載されており、そのそれぞれの内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書において記載するアンチセンスヌクレオチド配列はいずれも、本明細書において記載する一本鎖ｓｉＲＮＡとして、またはＬｉｍａ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｃｅｌｌ １５０：８８３－８９４に記載される方法によって化学的に修飾されるような一本鎖ｓｉＲＮＡとして使用され得る。

【０１３７】

別の実施形態では、本開示の組成物および方法で使用する「ＲＮＡｉ剤」は、二本鎖ＲＮＡであり、また本明細書において「二本鎖ＲＮＡｉ剤」、「二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）分子」、「ｄｓＲＮＡ剤」、または「ｄｓＲＮＡ」と呼ばれる。用語「ｄｓＲＮＡ」は、標的ＲＮＡ、すなわちＦＬＮＡ遺伝子に関して「センス」および「アンチセンス」配向を有するとして言及する、二本の逆平行の実質的に相補的な核酸鎖を含む二重鎖構造を有するリボ核酸分子の複合体を指す。本開示の一部の実施形態では、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）が、本明細書においてＲＮＡ干渉またはＲＮＡｉと称する転写後遺伝子サイレンシング機序を経て、標的ＲＮＡの、例えば、ｍＲＮＡの分解を誘発する。

【０１３８】

概して、ｄｓＲＮＡ分子は、リボヌクレオチドを含むことができるが、本明細書において詳細に説明されるように、それぞれの鎖または両方の鎖は、一つまたは複数の非リボヌクレオチド、例えば、デオキシリボヌクレオチド、修飾ヌクレオチド、も含み得る。加えて、本明細書において使用する場合、「ＲＮＡｉ剤」は、化学修飾を有するリボヌクレオチドを含み得、ＲＮＡｉ剤は、複数のヌクレオチドにおける実質的な修飾を含み得る。本明細書において使用する場合、用語「修飾ヌクレオチド」は、修飾糖部分、修飾ヌクレオチド間連結、または修飾核酸塩基を独立して有するヌクレオチドを指す。したがって、修

飾ヌクレオチドなる用語は、ヌクレオシド間連結、糖部分、または核酸塩基に対する、例えば、官能基または原子などの置換、付加、または除去を包含する。本開示の薬剤における使用に好適な修飾は、本明細書において開示する修飾または当技術分野で公知の修飾の全てのタイプを包む。ｓｉＲＮＡタイプの分子において使用する、任意のそのような修飾は、本明細書および特許請求の範囲の目的のために「ＲＮＡｉ剤」によって包含される。

【０１３９】

本開示の特定の実施形態においては、デオキシ－ヌクレオチドを包含することが、ＲＮＡｉ剤内に存在するならば、修飾ヌクレオチドを構成するとみなすことができる。

【０１４０】

二重鎖領域は、ＲＩＳＣ経路を介して所望の標的ＲＮＡの特異的分解を可能にする任意の長さであってもよく、約１５～３６塩基対の長さ、例えば、約１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、または３６塩基対の長さ、例えば、約１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２塩基対の長さの範囲であってもよい。特定の実施形態では、二重鎖領域は、長さが１９～２１塩基対、例えば、長さが２１塩基対である。上記に列記した範囲および長さの間に存在する範囲および長さもまた、本開示の一部であることを意図している。

【０１４１】

二重鎖構造を形成する二本の鎖は、一つのより大きいＲＮＡ分子の異なる部分であり得るか、またはそれらは、別個のＲＮＡ分子であり得る。二本の鎖が、一つのより大きい分子のうちの部分であり、そのために二重鎖構造を形成する一方の鎖の３’末端とそれに対応するもう一方の鎖の５’末端との間にある中断されないヌクレオチドの鎖でつながっている場合、その接続しているＲＮＡ鎖は、「ヘアピンループ」と呼ばれる。ヘアピンループは、少なくとも一つの不対のヌクレオチドを含み得る。一部の実施形態では、ヘアピンループは、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも２０、少なくとも２３またはそれ以上の、不対のヌクレオチドまたはｄｓＲＮＡの標的部位に向けられないヌクレオチドを含み得る。一部の実施形態では、ヘアピンループは、１０以下のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態では、ヘアピンループは、８以下の不対のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態では、ヘアピンループは、４～１０の不対のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態においては、ヘアピンループは、４～８のヌクレオチドであり得る。

【０１４２】

ｄｓＲＮＡの実質的に相補的な二本の鎖が、別個のＲＮＡ分子で構成される場合、それら分子は必ずしもそうではないが、共有結合で結合することができる。二本の鎖が、二重鎖構造を形成する一方の鎖の３’末端とそれに対応するもう一方の鎖の５’末端との間にある中断されないヌクレオチドの鎖以外の手段によって共有結合される特定の実施形態においては、その接続している構造は「リンカー」と呼ばれる（ただし、本明細書において別の箇所で規定するような他の特定の構造もまた「リンカー」と呼ばれるということに留意されたい）。ＲＮＡ鎖は、同数または異なる数のヌクレオチドを有し得る。塩基対の最大数は、ｄｓＲＮＡの最も短い鎖にあるヌクレオチドの数から二重鎖内に存在するあらゆるオーバーハングを引いた数である。二重鎖構造に加えて、ＲＮＡｉは、一つまたは複数のヌクレオチドオーバーハングを含み得る。ＲＮＡｉ剤の一実施形態では、少なくとも一方の鎖が、少なくとも１ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。別の実施形態では、少

なくとも一つの鎖が、少なくとも２ヌクレオチド、例えば２、３、４、５、６、７、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。他の実施形態では、ＲＮＡｉ剤の少なくとも一方の鎖が、少なくとも１ヌクレオチドの５’オーバーハングを含む。特定の実施形態では、少なくとも一方の鎖が、少なくとも２ヌクレオチドの、例えば、２、３、４、５、６、７、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５ヌクレオチドの、５’オーバーハングを含む。さらに他の実施形態では、ＲＮＡｉ剤の一方の鎖の３’末端および５’末端の両方が、少なくとも１ヌクレオチドのオーバーハングを含む。

【０１４３】

一実施形態においては、本開示のＲＮＡｉ剤はｄｓＲＮＡであり、その各鎖は、独立して、標的ＲＮＡの切断を誘導するために、標的ＲＮＡ配列、例えばＦＬＮＡ標的ｍＲＮＡ配列と相互作用する１９～２３ヌクレオチドを含む。

【０１４４】

一部の実施形態では、本発明のｉＲＮＡは、標的ＲＮＡ配列、例えばＦＬＮＡ標的ｍＲＮＡ配列と相互作用して標的ＲＮＡの切断を司る２４～３０ヌクレオチドのｄｓＲＮＡである。

【０１４５】

本明細書において使用する場合、用語「ヌクレオチドオーバーハング」は、ＲＮＡｉ剤、例えばｄｓＲＮＡの二重鎖構造から突出する少なくとも一つの不対ヌクレオチドを指す。例えば、ｄｓＲＮＡの一方の鎖の３’末端が、もう一方の鎖の５’末端を越えて延びる場合、またはその逆の場合も同様に、ヌクレオチドオーバーハングが存在する。ｄｓＲＮＡは、少なくとも一つのヌクレオチドのオーバーハングを含み得、あるいは該オーバーハングは、少なくとも二つのヌクレオチド、少なくとも三つのヌクレオチド、少なくとも四つのヌクレオチド、少なくとも五つのヌクレオチド、またはそれ以上を含み得る。ヌクレオチドオーバーハングは、デオキシヌクレオチド／ヌクレオシドなどであるヌクレオチド／ヌクレオシド類似体を含み得るかまたは該類似体からなり得る。オーバーハングは、センス鎖上、アンチセンス鎖上、またはそれらのいずれかの組合せ上にあり得る。さらに、あるオーバーハングのヌクレオチドは、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖またはセンス鎖のいずれかの５’末端、３’末端、または両末端上に存在し得る。

【０１４６】

一実施形態では、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖が、３’末端または５’末端において１～１０ヌクレオチドの、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドの、オーバーハングを有する。一実施形態では、ｄｓＲＮＡのセンス鎖が、３’末端または５’末端において１～１０ヌクレオチドの、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドの、オーバーハングを有する。別の実施形態では、オーバーハング内のヌクレオチドの一つまたは複数が、ヌクレオシドチオホスフェートで置換される。

【０１４７】

特定の実施形態では、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖が、３’末端または５’末端において１～１０ヌクレオチドの、例えば、０～３、１～３、２～４、２～５、４～１０、５～１０、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドの、オーバーハングを有する。一実施形態では、ｄｓＲＮＡのセンス鎖が、３’末端または５’末端において１～１０ヌクレオチドの、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドの、オーバーハングを有する。別の実施形態では、オーバーハング内のヌクレオチドの一つまたは複数が、ヌクレオシドチオホスフェートで置換される。

【０１４８】

特定の実施形態では、センス鎖またはアンチセンス鎖上のオーバーハングは、１０ヌクレオチドより長い伸長した長さを含み得、例えば長さが１～３０ヌクレオチド、２～３０ヌクレオチド、１０～３０ヌクレオチド、または１０～１５ヌクレオチドである。特定の実施形態では、伸長したオーバーハングは、二重鎖のセンス鎖上にある。特定の実施形態

では、伸長したオーバーハングは、二重鎖のセンス鎖の３’末端上に存在する。特定の実施形態では、伸長したオーバーハングは、二重鎖のセンス鎖の５’末端上に存在する。特定の実施形態では、伸長したオーバーハングは、二重鎖のアンチセンス鎖上にある。特定の実施形態では、伸長したオーバーハングは、二重鎖のアンチセンス鎖の３’末端上に存在する。特定の実施形態では、伸長したオーバーハングは、二重鎖のアンチセンス鎖の５’末端上に存在する。特定の実施形態では、オーバーハングにおけるヌクレオチドの一つまたは複数は、ヌクレオシドチオホスフェートで置換される。特定の実施形態では、オーバーハングは、オーバーハングが生理学的条件下において安定なヘアピン構造を形成することができるような自己相補性部分を含む。

【０１４９】

用語「平滑」または「平滑末端」は、ｄｓＲＮＡに関して本明細書において使用する場合、ｄｓＲＮＡの所定の末端において不対ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が存在しない、すなわち、ヌクレオチドオーバーハングが存在しないことを意味する。ｄｓＲＮＡの一方の末端または両末端が、平滑であり得る。ｄｓＲＮＡの両末端が平滑である場合、ｄｓＲＮＡは、平滑末端であると言う。明瞭化のため、「平滑末端」のｄｓＲＮＡは、両末端が平滑であるｄｓＲＮＡ、すなわち、分子のどちらの末端にもヌクレオチドオーバーハングが存在しないｄｓＲＮＡである。ほとんどの場合、こうした分子は、その全長にわたって二本鎖となることとなる。

【０１５０】

用語「アンチセンス鎖」または「ガイド鎖」は、標的配列、例えばＦＬＮＡ　ｍＲＮＡに対して実質的に相補的な領域を含む、例えばｄｓＲＮＡであるＲＮＡｉ剤の鎖を指す。

【０１５１】

本明細書において使用する場合、用語「相補性の領域」は、本明細書において定義されるように、配列、例えば標的配列、例えばＦＬＮＡヌクレオチド配列に対して実質的に相補的であるアンチセンス鎖上の領域を指す。相補性領域が、標的配列に対して完全に相補的でない場合、そのミスマッチは、分子の内側領域内または末端領域内にあり得る。概して、最も許容できるミスマッチは、末端領域内、例えば、ＲＮＡｉ剤の５’末端または３’末端の５、４、３、または２ヌクレオチドの範囲内にある。一部の実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤は、アンチセンス鎖内のヌクレオチドミスマッチを含む。一部の実施形態においては、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤のアンチセンス鎖は、標的ｍＲＮＡとの４以下のミスマッチを含み、例えばアンチセンス鎖が、標的ｍＲＮＡとの４、３、２、１、または０のミスマッチを含む。一部の実施形態では、本発明のアンチセンス鎖の二本鎖ＲＮＡ剤は、センス鎖との４以下のミスマッチを含み、例えば、アンチセンス鎖が、センス鎖との４、３、２、１、または０のミスマッチを含む。一部の実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤は、センス鎖内にヌクレオチドミスマッチを含む。一部の実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤のセンス鎖は、アンチセンス鎖との４以下のミスマッチを含み、例えばセンス鎖が、アンチセンス鎖との４、３、２、１または０のミスマッチを含む。一部の実施形態では、ヌクレオチドミスマッチは、例えば、ｉＲＮＡの３’末端から５、４、３ヌクレオチドの範囲内にある。別の実施形態では、ヌクレオチドミスマッチは、例えば、ｉＲＮＡ剤の３’末端ヌクレオチド内にある。一部の実施形態では、ミスマッチは、シード領域にはない。

【０１５２】

したがって、本明細書において記載するＲＮＡｉ剤は、標的配列に対する一つまたは複数のミスマッチを含有し得る。一実施形態では、本明細書において記載するＲＮＡｉ剤は、３以下のミスマッチ（すなわち、３、２、１、または０のミスマッチ）を含有する。一実施形態では、本明細書において記載するＲＮＡｉ剤は、２以下のミスマッチを含有する。一実施形態では、本明細書において記載するＲＮＡｉ剤は、１以下のミスマッチを含有する。一実施形態では、本明細書において記載するＲＮＡｉ剤は、０のミスマッチを含有する。特定の実施形態では、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖が、標的配列に対してミスマッチを含有する場合、該ミスマッチは、随意に、相補性領域の５’末端または３’末端のいず

れかから最後の５ヌクレオチドの範囲内にあるように制限することができる。例えば、そのような実施形態においては、２３ヌクレオチドのＲＮＡｉ剤の場合、ＦＬＮＡ遺伝子の領域に対して相補的な鎖は、概して、中央の１３ヌクレオチドの範囲内にいかなるミスマッチも含まない。本明細書において記載する方法または当技術分野で公知の方法を使用することにより、標的配列に対してミスマッチを含有するＲＮＡｉ剤が、ＦＬＮＡ遺伝子の発現の阻害において効果的であるか否かを判定することができる。特にＦＬＮＡ遺伝子内の特定の相補性領域が、集団内での多形配列バリエーションを有することがわかっているならば、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する際にミスマッチを有するＲＮＡｉ剤の有効性を考慮することは重要である。

【０１５３】

ＲＮＡ標的は、そのＲＮＡｉ剤の結合によって誘導されるＲＮＡ干渉を介してＲＮＡ標的の切断を媒介するのに、ＲＮＡ標的の他の領域よりも比較的影響を受けやすくまたは受容性が高い、標的ＲＮＡのヌクレオチド配列の領域またはスパンを有し得る。こうした「ホットスポット領域」（または単に「ホットスポット」）内のＲＮＡ干渉に対する受容性の増加は、その領域を標的とするｉＲＮＡ剤が、標的ＲＮＡの他の領域を標的とするｉＲＮＡ剤よりも、ｉＲＮＡ干渉の誘導において高い有効性を有する可能性が高いことを意味する。例えば、理論に束縛されるものではないが、標的ＲＮＡの標的領域へのアクセス可能性は、その領域を標的とするｉＲＮＡ剤の有効性に影響を与え得、一部のホットスポット領域は、アクセス可能性が増加している。例えば、ＲＮＡ標的（例えば、ホットスポット領域内またはその近傍）内に形成される二次構造は、ｉＲＮＡ剤が標的領域に結合し、ＲＮＡ干渉を誘導する能力に影響を与え得る。

【０１５４】

本発明の特定の態様によれば、ｉＲＮＡ剤は、標的ＲＮＡの任意の特定された部分（例えば、特定のエクソン）を含む、本明細書に記載の標的ＲＮＡのいずれかのホットスポット領域を標的とするように設計され得る。本明細書で使用される場合、ホットスポット領域は、ＲＮＡｉ剤を使用した標的化が、同じ標的ＲＮＡの他の領域の標的化と比較して、有効なサイレンシングを明らかにより高い可能性で提供する、標的ＲＮＡ配列の約１９～２００、１９～１５０、１９～１００、１９～７５、１９～５０、２１～２００、２１～１５０、２１～１００、２１～７５、２１～５０、５０～２００、５０～１５０、５０～１００、５０～７５、７５～２００、７５～１５０、７５～１００、１００～２０、または１００～１５０のヌクレオチド領域を指し得る。本発明の特定の態様によれば、ホットスポット領域は、標的ＲＮＡの限定された領域、および場合によっては、例えば、標的ＲＮＡの長さの半分未満、例えば、標的ＲＮＡの長さの約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、または３０％などを含む、標的の実質的に限定された領域を含み得る。逆に、ホットスポットが比較される他の領域は、標的ＲＮＡの長さの少なくとも過半を累積的に含み得る。例えば、他の領域は、標的ＲＮＡの長さの少なくとも約６０％、または少なくとも約７０％、または少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％を累積的に含み得る。

【０１５５】

標的ＲＮＡの比較領域は、インビトロまたはインビボスクリーニングアッセイから得られた有効性データを使用してホットスポットの特定について経験的に評価され得る。例えば、標的ＲＮＡに及ぶ様々な領域を標的とするＲＮＡｉ剤は、各領域に結合する有効なｉＲＮＡ剤の頻度（例えば、ｍＲＮＡ発現またはタンパク質発現によって測定される、標的遺伝子発現が阻害される量）について比較され得る。一般に、ホットスポットは、ＲＮＡ標的の限定された領域に結合する複数の有効なＲＮＡｉ剤のクラスタリングを観察することによって認識され得る。ホットスポットは、ホットスポットとして特定される標的領域の少なくとも約６０％、例えば、領域の両端を含む領域の長さの約７０％、約８０％、約９０％、または約９５％以上（すなわち、領域の各末端のヌクレオチドを含む領域内のヌクレオチドの少なくとも約６０％、７０％、８０％、９０％、または９５％以上がｉＲＮＡ剤によって標的化された）に累積的に及ぶｉＲＮＡ剤の有効性を観察することによって

、十分に特徴付けられ得る。本発明の一部の態様によれば、領域にわたる少なくとも約５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、または９５％の阻害（例えば、約５０％、４５％、４０％、３５％、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、または５％以下のｍＲＮＡの残存）を示すｉＲＮＡ剤は、有効であると特定され得る。

【０１５６】

ＲＮＡ領域の標的化に対する適合性はまた、定義されたサイズ（例えば、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、または２００ｎｔｓ）の異なる領域にわたる阻害測定値の定量的比較を使用して評価され得る。例えば、阻害の平均レベルは、各領域について決定されてもよく、各領域の平均を比較してもよい。ホットスポット領域内の阻害の平均レベルは、評価された全ての領域の平均の平均よりも実質的に高くてもよい。一部の態様によれば、ホットスポット領域における阻害の平均レベルは、平均の平均よりも少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、または５０％高くてもよい。一部の態様によれば、ホットスポット領域における阻害の平均レベルは、平均の平均よりも、少なくとも約１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、または２．０標準偏差が高くてもよい。阻害の平均レベルは、統計的に有意な（例えば、ｐ＜０．０５）量だけ高くてもよい。一部の態様によれば、ホットスポット領域内の各阻害測定値は、閾値量を超えてもよい（例えば、残留するｍＲＮＡの閾値量以下）。一部の態様によれば、領域内の各阻害測定値は、全ての測定された領域にわたる全ての阻害測定値の平均よりも実質的に高くてもよい。例えば、ホットスポット領域における各阻害測定値は、全ての阻害測定値の平均よりも少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、または５０％高くてもよい。一部の態様によれば、各阻害測定値は、全ての阻害測定値の平均よりも、少なくとも約１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、または２．０標準偏差が高くてもよい。各阻害測定値は、全ての阻害測定値の平均よりも統計的に有意な（例えば、ｐ＜０．０５）量だけ高くてもよい。ホットスポットを評価するための基準は、適合する上記の標準の様々な組み合わせを含み得る（例えば、少なくとも約第一の量の阻害の平均レベルであり、第一の量よりも小さい第二の量の閾値レベルを下回る阻害測定値を有しない）。

【０１５７】

したがって、標的ＲＮＡのホットスポット領域を標的とする、本明細書に記載の特定の例示的なｉＲＮＡ剤を含む任意のｉＲＮＡ剤は、そのようなホットスポット領域を標的とすることが、ホットスポット領域ではない領域を標的とすることと比較して、堅牢な阻害応答を示す可能性が高いため、好ましくは、標的ｍＲＮＡのＲＮＡ干渉を誘発するために選択され得ることが明示的に企図される。実質的にオーバーラップする（例えば、標的配列長さの少なくとも約７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％）、または好ましくは、ホットスポット領域内に完全に存在する標的配列を標的とするＲＮＡｉ剤は、ホットスポット領域を標的とするとみなされ得る。本発明のＲＮＡ標的のホットスポット領域は、本明細書に開示されるデータが、そのようなホットスポット領域の範囲が明示的に指定されているか否かにかかわらず、本明細書の他の箇所に記載される基準のいずれかによるものを含む、有効なＲＮＡｉ剤による標的化のより高い頻度を示す任意の領域を含み得る。

【０１５８】

様々な実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡのホットスポット領域を標的とする。一実施形態では、ホットスポット領域は、配列番号１のヌクレオチド１４３７－１４６９、１７５０－１７７３、３０７８－３１０４、３２１０－３２３７、２７２０－２７５０、３０８１－３１０４、３４４４－３４６７、６５８３－６６０７、７１５９－７１８６、７３７４－７４１８、１４４０－１４６９、１８５２－１８７６、３０７８－３１０１、７３７４－７３９８、７３８９－７４１８、７４３３－７４６６、８４７２－８４９７、７３９０－７４１８、８４７２－８４９６、７１６３－

７１８６、３８５２－３８９６、２６９８－２７６２、７４４３－７４８６、４０２－４４５、２９５２－２９９５、４１６８－４２１１、６１０５－６１４８、７１５０－７１９３、１４２５－１４６８、３０１５－３０５８、２６９８－２７４１、５３４１－５３８４、または７３８４－７４２８を含む。ｄｓＲＮＡ剤は、ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、ＡＤ－１６２０９２１．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６１５５４０、ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６２０３３０、およびＡＤ－１６２０３５２からなる群から選択され得る。

【０１５９】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている」は、広く修飾されているが全体が修飾されているものではなく、５、４、３、２、または１以下の未修飾ヌクレオチドを含み得る。

【０１６０】

用語「センス鎖」または「パッセンジャー鎖」は、本明細書において使用する場合、本明細書において用語が定義されるようなアンチセンス鎖の領域に対して実質的に相補的である領域を含むＲＮＡｉ剤の鎖を意味する。

【０１６１】

本明細書において使用する場合、用語「切断領域」は、切断部位に直接隣接して位置する領域を指す。切断部位は、切断が生じる箇所である標的上の部位である。一部の実施形態では、切断領域は、切断部位のどちらかの末端上における、および切断部位に直接隣接している三つの塩基を含む。一部の実施形態では、切断領域は、切断部位のどちらかの末端における、および切断部位に直接隣接している二つの塩基を含む。一部の実施形態では、切断部位は、アンチセンス鎖のヌクレオチド１０および１１によって結合される部位において特異的に生じ、またこの切断領域は、ヌクレオチド１１、１２、および１３を含む。

【０１６２】

本明細書において使用する場合、特に別段に示さない限り、用語「相補的」は、第二のヌクレオチド配列との関連において第一のヌクレオチド配列を説明するために使用される場合には、当業者によって理解されるとおり、第二のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドと特定の条件下においてハイブリダイズして二重鎖構造を形成する第一のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの能力を指す。かかる条件は、例えば、厳しい条件であり得、該厳しい条件は、４００ｍＭのＮａＣｌ、４０ｍＭのＰＩＰＥＳ　ｐＨ６．４、１ｍＭのＥＤＴＡ、５０℃または７０

℃で１２～１６時間の後の洗浄、を含み得る（例えば、“Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓａｍｂｒｏｏｋ，ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓを参照）。有機体内で遭遇し得るような生理学的に関連のある条件などの他の条件を適用することができる。当業者は、ハイブリダイズされたヌクレオチドの最終的な用途に応じて、二つの配列の相補性の試験に最も適切な条件の組を決定することができる。

【０１６３】

ＲＮＡｉ剤内の、例えば本明細書において説明されるｄｓＲＮＡ内の相補的な配列は、一方または両方のヌクレオチド配列の長さ全体にわたって、第二のヌクレオチド配列を含む オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドに対する第一のヌクレオチド配列を含むオリ ゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの塩基対合を含む。かかる配列は、本明細書において、互いに対して「完全に相補的」であると称し得る。しかしながら、本明細書において、第一の配列が第二の配列に対して「実質的に相補的」であるという場合、この二つの配列は、完全に相補的であり得るか、またはそれらはその最終的な用途に、例えばＲＩＳＣ経路を介した遺伝子発現の阻害に最も関連した条件下でハイブリダイズする能力を維持しつつ、最大３０塩基対の二重鎖についてのハイブリダイゼーションの際に、一以上であるが、概して５、４、３、または２以下である、ミスマッチ塩基対を形成し得る。しかしながら、二つのオリゴヌクレオチドが、ハイブリダイゼーションの際に一つ以上の一本鎖のオーバーハングを形成するように設計される場合には、かかるオーバーハングは、相補性の判定に関してミスマッチとはみなさないものとする。例えば、長さが２１ヌクレオチドである一方のオリゴヌクレオチドと長さが２３ヌクレオチドであるもう一方のオリゴヌクレオチドとを含むｄｓＲＮＡであって、長い方のオリゴヌクレオチドが、短い方のオリゴヌクレオチドに対して完全に相補的である２１ヌクレオチドの配列を含むようなｄｓＲＮＡは、依然として、本明細書において記載する目的に関しては「完全に相補的」と称し得る。

【０１６４】

「相補的」配列は、本明細書において使用する場合、ハイブリダイズするそれらの能力に関する上記の要件を満足する限り、非ワトソン・クリック塩基対、または非天然の修飾ヌクレオチドから形成された塩基対も含み得るか、または全体的にそれらから形成され得る。そのような非ワトソン・クリック塩基対としては、これらに限定されるわけではないが、Ｇ：Ｕのウォッブルまたはフーグスティーン型の塩基対合が挙げられる。

【０１６５】

本明細書における用語「相補的」、「完全に相補的」および「実質的に相補的」は、それらの使用の文脈から理解されることとなるとおり、ｄｓＲＮＡのセンス鎖とアンチセンス鎖との間、またはＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖と標的配列との間における塩基マッチングに関連して使用され得る。

【０１６６】

本明細書において使用する場合、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）「の少なくとも一部に対して実質的に相補的」であるポリヌクレオチドは、目的のｍＲＮＡ（例えば、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡ）の連続する部分に対して実質的に相補的であるポリヌクレオチド を指す。例えば、ポリヌクレオチドは、配列が、ＦＬＮＡをコードするｍＲＮＡの中断されない部分に対して実質的に相補的である場合、ＦＬＮＡ ｍＲＮＡの少なくとも一部に対して相補的である。

【０１６７】

したがって、一部の実施形態においては、本明細書において開示するアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＦＬＮＡ配列に対して完全に相補的である。他の実施形態では、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＦＬＮＡ配列に対して実質的に相補的であり、および配列番号１、３、５、および７のいずれか一つのヌクレオチド配列の等価領域に対して、または配列番号１、３、５、および７のいずれか一つの断片に対して、その全長にわたって少なくとも８０％相補的、例えば、約８５％、約９０％、約９

１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、または約９９％相補的である連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１６８】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＦＬＮＡ配列の断片と実質的に相補的であり、配列番号１のヌクレオチド９８－１２０、１７４－１９６、２４２－２６４、３７３－３９５、４０２－４２４、４２３－４４５、４７１－４９３、４９８－５２０、５４３－５６５、５９６－６１８、６３９－６６１、６６３－６８５、６８７－７０９、７１２－７３４、８６９－８９１、９０４－９２６、９３１－９５３、１０００－１０２２、１０７５－１０９７、１１２５－１１４７、１１４９－１１７１、１１８７－１２０９、１２３３－１２５５、１２５６－１２７８、１３０３－１３２５、１３２６－１３４８、１３５３－１３７５、１３８９－１４１１、１４２５－１４４７、１４４６－１４６８、１４８６－１５０８、１５２８－１５５０、１５６１－１５８３、１６５８－１６８０、１７４７－１７６９、１７８８－１８１０、１８５２－１８７４、１８８６－１９０８、１９２４－１９４６、１９５４－１９７６、２０２１－２０４３、２０６６－２０８８、２１０１－２１２３、２１３０－２１５２、２１８５－２２０７、２２１７－２２３９、２２５６－２２７８、２３１５－２３３７、２３３８－２３６０、２３７４－２３９６、２３９７－２４１９、２４１９－２４４１、２４６６－２４８８、２５５１－２５７３、２６１３－２６３５、２６５２－２６７４、２６９８－２７２０、２７１９－２７４１、２７４０－２７６２、２７８１－２８０３、２８３９－２８６１、２８９８－２９２０、２９２８－２９５０、２９５２－２９７４、２９７３－２９９５、３０１５－３０３７、３０３６－３０５８、３０７８－３１００、３１２２－３１４４、３１５３－３１７５、３１８７－３２０９、３２１２－３２３４、３２４７－３２６９、３３２１－３３４３、３３７３－３３９５、３４３６－３４５８、３５０１－３５２３、３５６７－３５８９、３５９９－３６２１、３６４５－３６６７、３７１２－３７３４、３７８０－３８０２、３８２４－３８４６、３８５２－３８７４、３８７４－３８９６、３９２８－３９５０、３９９７－４０１９、４０３９－４０６１、４０６４－４０８６、４１２０－４１４２、４１４３－４１６５、４１６８－４１９０、４１８９－４２１１、４２１５－４２３７、４３３４－４３５６、４３６５－４３８７、４４４０－４４６２、４４８９－４５１１、４５１４－４５３６、４５４５－４５６７、４５６７－４５８９、４６２０－４６４２、４６５０－４６７２、４６９２－４７１４、４７４４－４７６６、４８１０－４８３２、４８６７－４８８９、４９４１－４９６３、４９７５－４９９７、５０２０－５０４２、５０５８－５０８０、５０８６－５１０８、５１７８－５２００、５２０３－５２２５、５２５３－５２７５、５２８８－５３１０、５３１２－５３３４、５３４１－５３６３、５３６２－５３８４、５４０３－５４２５、５５１９－５５４１、５５８０－５６０２、５６１０－５６３２、５６３７－５６５９、５７０１－５７２３、５７７０－５７９２、５８０９－５８３１、５８４５－５８６７、５８７４－５８９６、５９０８－５９３０、５９６５－５９８７、５９９０－６０１２、６０３６－６０５８、６１０５－６１２７、６１２６－６１４８、６１６１－６１８３、６２４１－６２６３、６２７０－６２９２、６２９８－６３２０、６３５６－６３７８、６３８９－６４１１、６４３９－６４６１、６４７７－６４９９、６５０７－６５２９、６５４３－６５６５、６５７９－６６０１、６７０９－６７３１、６７３９－６７６１、６７９６－６８１８、６８２４－６８４６、６８４７－６８６９、６８７１－６８９３、６９８５－７００７、７０１２－７０３４、７０８６－７１０８、７１２３－７１４５、７１５０－７１７２、７１７１－７１９３、７２０４－７２２６、７２５１－７２７３、７２８６－７３０８、７３８４－７４０６、７４０６－７４２８、７４４３－７４６５、７４６４－７４８６、７５３５－７５５７、７５５８－７５８０、７５８４－７６０６、７６５５－７６７７、７７２６－７７４８、７８３０－７８５２、７９７６－７９９８、８００８－８０２２、８０４６－８０６８、８０７９－８１０１、８１１８－８１４０、８３５７－８３７９、８４０２－８４２４、８４４５－８４６７、８４８１－８５０３、１６９－１９１、１７１－１９３、３７３－３９５、５４０－５６２、１４４０－１４６２、１

４４７－１４６９、１７４９－１７７１、１７５０－１７７２、１７５１－１７７３、１８５２－１８７４、１８５３－１８７５、１８５４－１８７６、２７２０－２７４２、２７２８－２７５０、３０７８－３１００、３０７９－３１０１、３０８０－３１０２、３０８１－３１０３、３０８２－３１０４、３２１０－３２３２、３２１５－３２３７、３４４３－３４６５、３４４４－３４６６、３４４５－３４６７、４０６６－４０８８、５１８０－５２０２、５１８１－５２０３、５９７６－５９９８、６０４４－６０６６、６４３０－６４５２、６５８３－６６０５、６５８４－６６０６、６５８５－６６０７、７０７７－７０９９、７１５９－７１８１、７１６１－７１８３、７１６３－７１８５、７１６４－７１８６、７３７４－７３９６、７３７５－７３９７、７３７６－７３９８、７３８８－７４１０、７３８９－７４１１、７３９０－７４１２、７３９１－７４１３、７３９２－７４１４、７３９６－７４１８、７４３３－７４５５、７４３４－７４５６、７４３５－７４５７、７４４４－７４６６、７６５２－７６７４、７６５３－７６７５、７６５５－７６７７、７７２４－７７４６、８４０２－８４２４、８４７２－８４９４、８４７３－８４９５、８４７４－８４９６、および８４７５－８４９７の群から選択された配列番号１の断片に対して、その全長にわたって少なくとも８０％相補的、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、または約９９％相補的である連続するヌクレオチド配列を含む。上記に列記した範囲の中間にある範囲も、本開示の一部であることが企図される。

【０１６９】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＦＬＮＡ配列の断片と実質的に相補的であり、配列番号１３５７のヌクレオチド９２１－９４３、１５６７－１５８９、１５６８－１５９０、１５７０－１５９２、１９８５－２００７、２２２０－２２４２、２５５８－２５８０、２５５９－２５８１、２７４３－２７６５、３３３７－３３５９、３３３８－３３６０、４０２１－４０４３、４７１４－４７３６、５４８９－５５１１、５９３８－５９６０、６０８６－６１０８、６７０２－６７２４、６７０３－６７２５、６７０５－６７２７、６８６２－６８８４、６８６３－６８８５、６８６４－６８８６、６９４７－６９６９、６９６３－６９８５、７３７４－７３９６、７５１７－７５３９、７９５９－７９８１、８０９８－８１２０、８０９９－８１２１、および８５３９－８５６１の群から選択された配列番号１３５７の断片に対して、その全長にわたって少なくとも８０％相補的、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、または約９９％相補的である連続するヌクレオチド配列を含む。上記に列記した範囲の中間にある範囲も、本開示の一部であることが企図される。

【０１７０】

他の実施形態では、本明細書において開示するアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＦＬＮＡ配列に対して実質的に相補的であり、また表３～８におけるセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか一つ、または表３～８におけるセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか一つの断片に対して、その全長にわたって少なくとも約８０％相補的、例えば約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または１００％相補的である連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１７１】

一実施形態では、本開示のＲＮＡｉ剤は、ひいては標的ＦＬＮＡ配列と同じであるアンチセンスポリヌクレオチドに実質的に相補的であり、センス鎖を含み、および該センス鎖ポリヌクレオチドは、配列番号１、３、５、および７のヌクレオチド配列の等価領域に対して、または配列番号１、３、５、および７のいずれか一つの断片に対して、その全長にわたって少なくとも約８０％相補的、例えば約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または１００％相補的である連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１７２】

一部の実施形態では、本発明のｉＲＮＡは、ひいては標的ＦＬＮＡ配列に相補的である

アンチセンスポリヌクレオチドに実質的に相補的であるセンス鎖を含み、該センス鎖ポリヌクレオチドは、表３～８におけるアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか一つ、または表３～８におけるアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のうちのいずれか一つの断片に対して、その全長にわたって少なくとも約８０％相補的、例えば約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または１００％相補的である連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１７３】

特定の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖が、二重鎖ＡＤ－１６１５３７８、ＡＤ－１６１５４３３、ＡＤ－１６１５４５４、ＡＤ－１６１５５１１、ＡＤ－１６１５５４０　ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１５６０４、ＡＤ－１６１５６３１、ＡＤ－１６１５６７６、ＡＤ－１６１５７２９、ＡＤ－１６１５７７２、ＡＤ－１６１５７９６、ＡＤ－１６１５８２０、ＡＤ－１６１５８４３、ＡＤ－１６１５９３０、ＡＤ－１６１５９６４、ＡＤ－１６１５９９１、ＡＤ－１６１６００７、ＡＤ－１６１６０４４、ＡＤ－１６１６０８７、ＡＤ－１６１６１１１、ＡＤ－１６１６１４９、ＡＤ－１６１６１８２、ＡＤ－１６１６２０５、ＡＤ－１６１６２２２、ＡＤ－１６１６２４５、ＡＤ－１６１６２５２、ＡＤ－１６１６２８８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１６３６４、ＡＤ－１６１６３８６、ＡＤ－１６１６３９９、ＡＤ－１６１６４７１、ＡＤ－１６１６５３１、ＡＤ－１６１６５５４、ＡＤ－１６１６５７９、ＡＤ－１６１６５９３、ＡＤ－１６１６６１３、ＡＤ－１６１６６４３、ＡＤ－１６１６６８２、ＡＤ－１６１６７０７、ＡＤ－１６１６７４２、ＡＤ－１６１６７７１、ＡＤ－１６１６８２１、ＡＤ－１６１６８３３、ＡＤ－１６１６８５２、ＡＤ－１６１６９１１、ＡＤ－１６１６９３４、ＡＤ－１６１６９５０、ＡＤ－１６１６９７２、ＡＤ－１６１６９９４、ＡＤ－１６１７０４１、ＡＤ－１６１７０６１、ＡＤ－１６１７１０３、ＡＤ－１６１７１１７、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６１７１８６、ＡＤ－１６１７２１９、ＡＤ－１６１７２６８、ＡＤ－１６１７２９８、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１７４２９、ＡＤ－１６１７４５５、ＡＤ－１６１７４８６、ＡＤ－１６１７５２０、ＡＤ－１６１７５４５、ＡＤ－１６１７５８０、ＡＤ－１６１７６１２、ＡＤ－１６１７６４４、ＡＤ－１６１７６５７、ＡＤ－１６１７６７９、ＡＤ－１６１７７０３、ＡＤ－１６１７７１７、ＡＤ－１６１７７４３、ＡＤ－１６１７７９０、ＡＤ－１６１７８１５、ＡＤ－１６１７８４３、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７８９９、ＡＤ－１６１７９３９、ＡＤ－１６１７９８１、ＡＤ－１６１８００６、ＡＤ－１６１８０４９、ＡＤ－１６１８０５２、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１８１２４、ＡＤ－１６１８１８７、ＡＤ－１６１８２１４、ＡＤ－１６１８２３７、ＡＤ－１６１８２８６、ＡＤ－１６１８３１１、ＡＤ－１６１８３４２、ＡＤ－１６１８３６４、ＡＤ－１６１８４０４、ＡＤ－１６１８４３４、ＡＤ－１６１８４５６、ＡＤ－１６１８５０８、ＡＤ－１６１８５７２、ＡＤ－１６１８６０１、ＡＤ－１６１８６４５、ＡＤ－１６１８６６１、ＡＤ－１６１８７０６、ＡＤ－１６１８７４４、ＡＤ－１６１８７７２、ＡＤ－１６１８８１０、ＡＤ－１６１８８３５、ＡＤ－１６１８８５１、ＡＤ－１６１８８８６、ＡＤ－１６１８９１０、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６１８９７９、ＡＤ－１６１９０１４、ＡＤ－１６１９０３４、ＡＤ－１６１９０６４、ＡＤ－１６１９０７１、ＡＤ－１６１９１１６、ＡＤ－１６１９１７８、ＡＤ－１６１９１９７、ＡＤ－１６１９２３３、ＡＤ－１６１９２６２、ＡＤ－１６１９２９６、ＡＤ－１６１９３３３、ＡＤ－１６１９３５８、ＡＤ－１６１９３８５、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６１９４７０、ＡＤ－１６１９５２９、ＡＤ－１６１９５４０、ＡＤ－１６１９５４９、ＡＤ－１６１９５８６、ＡＤ－１６１９６０１、ＡＤ－１６１９６５１、ＡＤ－１６１９６８９、ＡＤ－１６１９６９９、ＡＤ－１６１９７３５、ＡＤ－１６１９７５１、ＡＤ－１６１９８４９、ＡＤ－１６１９８７９、ＡＤ－１６１９９３６、ＡＤ－１６１９９４６、ＡＤ－１６１９９６９、ＡＤ－１６１９９９３、ＡＤ－１６２００３３、ＡＤ－１６２０

０６０、ＡＤ－１６２０１１３、ＡＤ－１６２０１５０、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６２０２１１、ＡＤ－１６２０２４４、ＡＤ－１６２０２７９、ＡＤ－１６２０３３０、ＡＤ－１６２０３５２、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６２０４２６、ＡＤ－１６２０４４９、ＡＤ－１６２０４７５、ＡＤ－１６２０５２５、ＡＤ－１６２０５７４、ＡＤ－１６２０６１６、ＡＤ－１６２０７０７、ＡＤ－１６２０７３１、ＡＤ－１６２０７３７、ＡＤ－１６２０７６７、ＡＤ－１６２０７８７、ＡＤ－１６２０８３７、ＡＤ－１６２０８７９、ＡＤ－１６２０８９１、ＡＤ－１６２０９２７、ＡＤ－１６１５４２８．１、ＡＤ－１６１５４３０．１、ＡＤ－１６１５５１１．２、ＡＤ－１６１５６７３．１、ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３３．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７６６４．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１８００８．１、ＡＤ－１６１８８１２．１、ＡＤ－１６１８８１３．１、ＡＤ－１６１９３４４．１、ＡＤ－１６１９３９３．１、ＡＤ－１６１９６４２．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１０４．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０５２２．１、ＡＤ－１６２０５２３．１、ＡＤ－１６２０５２５．２、ＡＤ－１６２０５７２．１、ＡＤ－１６２０８７９．２、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、ＡＤ－１６２０９２１．１、ＡＤ－１６８７６０６．１、ＡＤ－１６８８１２４．１、ＡＤ－１６８８１２５．１、ＡＤ－１６８８１２７．１、ＡＤ－１６８８４３１．１、ＡＤ－１６８８６２６．１、ＡＤ－１６８８８９７．１、ＡＤ－１６８８８９８．１、ＡＤ－１６８９０４１．１、ＡＤ－１６８９５２７．１、ＡＤ－１６８９５２８．１、ＡＤ－１６９００３２．１、ＡＤ－１６９０５５４．１、ＡＤ－１６９１１３３．１、ＡＤ－１６９１４３７．１、ＡＤ－１６９１５５９．１、ＡＤ－１６９２１０８．１、ＡＤ－１６９２１０９．１、ＡＤ－１６９２１１１．１、ＡＤ－１６９２２４２．１、ＡＤ－１６９２２４３．１、ＡＤ－１６９２２４４．１、ＡＤ－１６９２３１７．１、ＡＤ－１６９２３３３．１、ＡＤ－１６９２６１６．１、ＡＤ－１６９２７１８．１、ＡＤ－１６９３００４．１、ＡＤ－１６９３１０３．１、ＡＤ－１６９３１０４．１、およびＡＤ－１６９３４５０．１のうちのいずれか一つから選択される。

【０１７４】

一実施形態では、ＦＬＮＡ遺伝子の発現の少なくとも部分的な抑制は、ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ、例えばセンスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ、の量の減少で評価されるものであって、ＦＬＮＡ遺伝子が転写されており、またＦＬＮＡ遺伝子の発現が阻害されるように処理されている第一の細胞または細胞の群から単離することができるか、またはそれらにおいて検出することができる該ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ、例えばセンスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ、の量が、第一の細胞または細胞の群と実質的に同一だが第一の細胞または細胞の群のようには処理されていない第二の細胞または細胞の群（対照細胞）と比較して、減少していることによって評価される。阻害の程度は、以下によって表すことができる。

【数１】

$$\frac{(\text{対照細胞中のmRNA}) - (\text{処理細胞中のmRNA})}{(\text{対照細胞中のmRNA})} \bullet 100\%$$

【０１７５】
ｄｓＲＮＡなどの「細胞をＲＮＡｉ剤と接触させること」なる語句は、本明細書において使用する場合、任意の可能な手段によって細胞を接触させることを包含する。細胞をＲＮＡｉ剤と接触させることは、細胞をインビトロでＲＮＡｉ剤と接触させることまたは細胞をインビボでＲＮＡｉ剤と接触させることを含む。接触させることは、直接的または間接的に行われ得る。したがって、例えば、ＲＮＡｉ剤は、方法を個別に実施することによって、細胞と物理的に接触させ得るか、あるいはＲＮＡｉ剤は、その後に細胞と接触することを可能にし得るまたは引き起こし得るような状況に置かれ得る。
【０１７６】
細胞をインビトロで接触させることは、例えば、細胞をＲＮＡｉ剤と共にインキュベートすることによって行われ得る。細胞をインビボで接触させることは、例えば、ＲＮＡｉ剤を細胞が位置している組織中もしくはその近傍に注入することによって、または別の領域に、例えば中枢神経系（ＣＮＳ）に、随意に髄腔内注入、硝子体内注入もしくは他の注入を介して、ＲＮＡｉ剤を注入することによって、または薬剤がその後に接触対象の細胞が位置している組織に到達することとなるように、血流もしくは皮下腔にＲＮＡｉ剤を注入することによって、行われ得る。例えば、ＲＮＡｉ剤は、目的の部位に、例えばＣＮＳにおいてＲＮＡｉ剤を向かわせるかまたはそうでなければ安定化するリガンド、例えば、下記において説明され、例えば参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ／ＵＳ２０１９／０３１１７０号においてさらに詳述されるような親油性部分、を含み得るかまたはそれにカップリングされ得る。インビトロおよびインビボでの接触方法の組合せもまた可能である。例えば、細胞をインビトロにおいてＲＮＡｉ剤と接触させて、その後に対象に移してもよい。
【０１７７】
一実施形態においては、細胞をＲＮＡｉ剤と接触させることは、細胞内への取り込みまたは吸収を促進または実施することによって「導入すること」または「ＲＮＡｉ剤を細胞内に送達すること」を含む。ＲＮＡｉ剤の吸収または取り込みは、自発的拡散性のもしくは活性な細胞プロセスによって、または助剤もしくはデバイスによって生じ得る。ＲＮＡｉ剤を細胞内に導入することは、インビトロまたはインビボであり得る。例えば、インビボでの導入の場合、ＲＮＡｉ剤は、組織部位に注入され得るかまたは全身的に投与され得る。インビトロでの細胞内への導入としては、当技術分野で公知の方法、例えばエレクトロポレーション法およびリポフェクション法などが挙げられる。さらなるアプローチは、本明細書の下記において説明されるか、または当技術分野で公知である。
【０１７８】
用語「脂溶性」または「親油性部分」は、脂質に対して親和性を有する任意の化合物または化学部分を広く意味する。親油性部分の親油性を特徴付ける方法の一つは、オクタノール－水分配係数ｌｏｇＫｏｗによるものであり、この場合Ｋｏｗは、平衡状態にある二相系のうちの水相の化学物質の濃度に対するオクタノール相の化学物質の濃度の比である。オクタノール－水分配係数は、物質の実験室測定される特性である。しかしながら、それは、第一原理または経験的方法を使用して算出される化学物質の構造成分に起因する係数を使用することによっても予想され得る（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Ｔｅｔｋｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｆ．Ｃｏｍｐｕｔ．Ｓｃｉ．４１：１４０７－２１（２００１）を参照）。それは、水よりもむしろ非水性または油性環境を好む物質の傾向の熱力学的尺度（すなわち、その親水性／親油性バランス）をもたらす。原則として、化学物質は、そのｌｏｇＫｏｗが０を超える場合、性質が親油性である。典型的には、親油性部分は、１を超える、１．５を超える、２を超える、３を超える、４を超える、５を超える、または１０を超える、ｌｏｇＫｏｗをもつ。例えば、６－

アミノヘキサノールのｌｏｇＫｏｗは、例えばおよそ０．７であると予測される。同じ方法を使用することにより、Ｎ－（ヘキサン－６－オール）カルバミン酸コレステリルのｌｏｇＫｏｗは、１０．７であると予測される。

【０１７９】

分子の親油性は、分子が有する官能基に応じて変化し得る。例えば、親油性部分の末端にヒドロキシル基またはアミン基を付加することにより、親油性部分の分配係数（例えば、ｌｏｇＫｏｗ）の値が増加または減少し得る。

【０１８０】

あるいは、一つまたは複数の親油性部分にコンジュゲートされた二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性は、そのタンパク質結合特性によって測定することができる。例えば、特定の実施形態では、二本鎖ＲＮＡｉ剤の血漿タンパク質結合アッセイの非結合画分が、二本鎖ＲＮＡｉ剤の相対的疎水性に対して正に相関することを判定することとなれば、それは次いで二本鎖ＲＮＡｉ剤のサイレンシング活性に対して正に相関することとなる。

【０１８１】

一実施形態においては、判定される血漿タンパク質結合アッセイは、ヒト血清アルブミンタンパク質を使用する電気泳動移動度シフトアッセイ（ＥＭＳＡ）である。この結合アッセイの例示的プロトコルは、例えば、ＰＣＴ／ＵＳ２０１９／０３１１７０号において詳細に説明される。結合アッセイにおけるｓｉＲＮＡの非結合画分によって測定される二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性は、増強されたｓｉＲＮＡのインビボでの送達の場合では、０．１５を超える、０．２を超える、０．２５を超える、０．３を超える、０．３５を超える、０．４を超える、０．４５を超える、または０．５を超える。

【０１８２】

したがって、親油性部分を二本鎖ＲＮＡｉ剤の内側位置にコンジュゲートすることにより、ｓｉＲＮＡにおける増強されたインビボでの送達のために最適の疎水性がもたらされる。

【０１８３】

用語「脂質ナノ粒子」または「ＬＮＰ」は、薬学的に活性な分子を、例えば核酸分子、例えばＲＮＡｉ剤またはＲＮＡｉ剤の転写元のプラスミドなどを、封入する脂質層を含むベシクルである。ＬＮＰは、例えば米国特許第６，８５８，２２５号、第６，８１５，４３２号、８，１５８，６０１号、および第８，０５８，０６９号に記載されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１８４】

本明細書において使用する場合、「対象」は、例えば哺乳動物などである動物であり、霊長類（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、例えば、サルおよびチンパンジー）または非霊長類（例えば、ラットまたはマウスなど）が含まれる。好ましい実施形態では、対象はヒトであり、例えばＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる疾患、障害または状態に関して治療または評価されるヒト、ＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる疾患、障害または状態のリスクがあるヒト、ＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる疾患、障害または状態を有するヒト、または本明細書に記載されるＦＬＮＡ発現の減少から恩恵を受けることとなる疾患、障害または状態が治療されるヒトなどである。一部の実施形態では、対象は、女性であるヒトである。他の実施形態では、対象は、男性であるヒトである。一実施形態においては、対象は、成人である対象である。一実施形態においては、対象は、小児対象である。別の実施形態においては、対象は、年少者対象、すなわち、２０歳未満の対象である。

【０１８５】

本明細書において使用する場合、用語「治療すること」または「治療」は、有益なまたは所望の転帰、例えばこれらに限定されるものではないが、ＦＬＮＡ遺伝子発現またはＦＬＮＡタンパク質産生に関連付けられる一つまたは複数の兆候または症状の、例えばＦＬＮＡ関連疾患などのＦＬＮＡ関連疾患の、緩和または改善を指す。「治療」はまた、治療が行われない場合に予測される生存時間と比較して、生存時間を延ばすことも意味し得る

。

【０１８６】

対象におけるＦＬＮＡのレベルまたは疾患マーカーまたは症状の文脈での用語「低下させる（ｌｏｗｅｒ）」は、こうしたレベルの統計的に有意な減少を指す。減少は、例えば、少なくとも１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、またはそれ以上であり得る。特定の実施形態では、減少は、少なくとも約２０％である。特定の実施形態では、減少は、疾患マーカーにおいて少なくとも約３０％であり、例えば、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９９％以上の減少である。特定の実施形態では、減少は疾患マーカーにおいて少なくとも約５０％である。対象におけるＦＬＮＡのレベルの文脈で「低下させる」は、好ましくは、こうした障害のない個体に関して正常な範囲内として受け入れられるレベルまで下げることである。特定の実施形態では、「低下させる」は、疾患を患っている対象におけるマーカーまたは症状のレベルと、個体が正常な範囲内で受け入れられるレベルとの間の差の減少、例えば、肥満である個体と正常な範囲内に受容される体重の個体との間での体重の減少のレベルである。

【０１８７】

本明細書において使用する場合、「予防」または「予防すること」は、ＦＬＮＡ遺伝子の発現またはＦＬＮＡタンパク質産生の減少から恩恵を受けることとなる疾患、障害、またはその状態に関して使用する場合、対象が、こうした疾患、障害、または状態に関連する症状、例えば、ＦＬＮＡ関連疾患の症状を発症することとなる可能性が減少することを指す。疾患、障害、または状態を発症しないこと、またはこうした疾患、障害、または状態に関連する症状の発症の減少（例えば、その疾患または障害に対して臨床的に受け入れられる規模の少なくとも約１０％の減少）、または遅延された症状の提示の遅延（例えば、数日、数週間、数か月、または数年の遅延）は、有効な予防とみなされる。

【０１８８】

本明細書において使用する場合、用語「ＦＬＮＡ関連疾患」または「ＦＬＮＡ関連障害」は、ＦＬＮＡの発現および／または活性の減少から恩恵を受けることとなるあらゆる疾患または障害を含む。例示的なＦＬＮＡ関連疾患としては、例えばアルツハイマー病など、変化したまたはミスフォールドしたＦＬＮＡを対象が有する疾患が挙げられる。

【０１８９】

ＦＬＮＡ関連障害としては、以下に限定されないが、アルツハイマー病、タウオパチー、前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）、１７番染色体に連鎖した前頭側頭型認知症およびパーキンソニズム（ＦＴＤＰ－１７）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）。大脳皮質基底核変性症（ＣＢＤ）、慢性外傷性脳症（ＣＴＥ）、ピック病（ＰｉＤ）、球状グリアタウオパチー（ＧＧＴ）、嗜銀顆粒病（ＡＧＤ）、および原発性年齢関連タウオパチー（ＰＡＲＴ）が挙げられる。

【０１９０】

「治療有効量」は、本明細書において使用する場合、ＦＬＮＡ関連疾患がある対象に投与されたときに、（例えば、既存の疾患または疾患の一つまたは複数の症状を減少、改善、または維持することによって）疾患の治療を行うのに十分なＲＮＡｉ剤の量を含むことが意図される。「治療有効量」は、ＲＮＡｉ剤、該剤の投与方法、疾患およびその重症度および病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、ある場合には先行するまたは併用する治療の種類、および治療しようとする対象の他の個人的特徴、に応じて変動し得る。

【０１９１】

「予防有効量」は、本明細書において使用する場合、ＦＬＮＡ関連障害を有する対象に投与されたときに、疾患または疾患の一つもしくは複数の症状を予防または改善するのに十分である、ＲＮＡｉ剤の量を含むことが意図される。疾患の改善は、疾患の経過を鈍化させること、またはこれから発症する疾患の重症度を減少させることを含む。「予防有効量」は、ＲＮＡｉ剤、当該剤の投与方法、疾患のリスクの程度、および病歴、年齢、体重

、家族歴、遺伝子構造、ある場合には先行するまたは併用する治療の種類、および治療しようとする患者の他の個人的特徴、に応じて変動し得る。

【０１９２】

「治療有効量」または「予防有効量」は、任意の処置に適用可能な合理的なベネフィット／リスク比においていくつかの所望の局所的または全身的効果を生じるＲＮＡｉ剤の量も包含する。本開示の方法において用いられるＲＮＡｉ剤は、こうした処置に適用可能な合理的なベネフィット／リスク比を生じるのに十分な量で投与され得る。

【０１９３】

語句「薬学的に許容される」は、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なしに、合理的なベネフィット／リスク比に見合う、健全な医学的判断の範囲内でのヒト対象および動物対象の組織との接触での使用に好適であるような化合物、材料、組成物または剤形を指すために、本明細書で用いられる。

【０１９４】

語句「薬学的に許容可能な担体」は、本明細書において使用する場合、一つの臓器または身体の部分から、別の臓器または身体の部分への主題化合物の運搬または輸送に関与する、薬学的に許容可能な材料、組成物、またはビヒクルであって、例えば液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、製造助剤（例えば、潤滑剤、タルクマグネシウム、ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸）、または溶媒封入材料など、を意味する。各担体は、製剤の他の原材料に対して適合性であり、かつ治療される対象に対して有害であってはならないという意味において「許容可能」であるものでなければならない。薬学的に許容可能な担体として役立ち得る材料のいくつかの例には、以下が含まれる：（１）糖類、例えばラクトース、グルコースおよびショ糖など、（２）デンプン、例えばトウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなど、（３）セルロース、およびその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロースなど、（４）トラガカント末、（５）モルト、（６）ゼラチン、（７）潤滑剤、例えばマグネシウムステート（ｍａｇｎｅｓｉｕｍ　ｓｔａｔｅ）、ラウリル硫酸ナトリウムおよびタルクなど、（８）賦形剤、例えばココアバターおよび座薬ワックスなど、（９）オイル、例えばピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブオイル、トウモロコシ油および大豆油など、（１０）グリコール、例えばプロピレングリコールなど、（１１）ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコールなど、（１２）エステル、例えばオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなど、（１３）寒天、（１４）緩衝剤、例えば水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなど、（１５）アルギニン酸、（１６）発熱因子なしの水、（１７）等張生理食塩水、（１８）リンゲル溶液、（１９）エチルアルコール、（２０）ｐＨ緩衝溶液、（２１）ポリエステル、ポリカーボネート、またはポリ酸無水物、（２２）充填剤、例えばポリペプチド、およびアミノ酸など、（２３）血清成分、例えば血清アルブミン、ＨＤＬおよびＬＤＬなど、ならびに（２２）医薬品製剤に採用される他の非毒性の適合性物質。

【０１９５】

用語「試料」は、本明細書において使用する場合、対象から単離された同様の体液、細胞、または組織、および対象内に存在する体液、細胞、または組織の採取物を包含する。生体液の例としては、血液、血清、および漿液、血漿、髄液、眼液、リンパ液、尿、唾液などが挙げられる。組織試料は、組織、臓器、または局所領域からの試料を含み得る。例えば、試料は、特定の臓器、臓器の部分、またはそれら臓器内の体液もしくは細胞に由来するものであり得る。特定の実施形態においては、試料は、脳（例えば全脳または脳の特定のセグメント、例えば線条体、または脳内の特定のタイプの細胞、例えばニューロンおよびグリア細胞（星状細胞、乏突起膠細胞、小グリア細胞））から得られ得る。一部の実施形態においては、「対象から得られた試料」は、対象から得られた血液またはそれらから得られた血漿もしくは血清を指す。さらなる実施形態では、「対象から得られた試料」は、対象から得られた脳組織（またはその副成分）または網膜組織（またはその副成分）

を指す。
【０１９６】
ＩＩ．本開示のＲＮＡｉ剤
本明細書においては、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害するＲＮＡｉ剤について記載する。一実施形態においては、ＲＮＡｉ剤は、例えば、ＦＬＮＡ関連疾患などのＦＬＮＡ関連疾患を有するヒトなどの哺乳動物である対象内の細胞など、細胞内において、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）分子を含む。ｄｓＲＮＡは、ＦＬＮＡ遺伝子の発現の際に形成されるｍＲＮＡの少なくとも一部に対して相補的である相補性領域を有するアンチセンス鎖を含む。相補性領域は、約１５～３０ヌクレオチド以下の長さである。ＲＮＡｉ剤は、ＦＬＮＡ遺伝子を発現する細胞と接触させると、ＦＬＮＡ遺伝子（例えば、ヒト遺伝子、霊長類遺伝子、非霊長類遺伝子）の発現を少なくとも３０％阻害するが、これは例えばＰＣＲまたは分枝ＤＮＡ（ｂＤＮＡ）による方法によって、またはタンパク質による方法、例えば免疫蛍光法などによって、例えばウエスタンブロット法またはフローサイトメトリー技術を使用して、分析した場合である。一実施形態では、ノックダウンのレベルは、以下の実施例２に提供されるアッセイ方法を使用して、サルＣｏｓ－７細胞で分析される。別の実施形態では、ノックダウンのレベルはヒトＢＥ（２）－Ｃ細胞で分析される。一部の実施形態では、ノックダウンのレベルは、マウスＮｅｕｒｏ－２ａ細胞で分析される。
【０１９７】
ｄｓＲＮＡは、二本のＲＮＡ鎖を含み、それらは相補的であり、またｄｓＲＮＡが使用されることとなる条件下においてハイブリダイズして二重鎖構造を形成する。ｄｓＲＮＡの一方の鎖（アンチセンス鎖）は、標的配列に対して、実質的に相補的であり、また概して完全に相補的である、相補性領域を含む。標的配列は、ＦＬＮＡ遺伝子の発現の際に形成されたｍＲＮＡの配列から得られ得る。もう一方の鎖（センス鎖）は、アンチセンス鎖に対して相補的である領域を含むため、二本の鎖は、好適な条件下で組み合わされた場合に、ハイブリダイズして二重鎖構造を形成する。本明細書の他の箇所で説明し、また当技術分野で公知であるように、ｄｓＲＮＡの相補配列はまた、別個のオリゴヌクレオチド上において相対するように、単一の核酸分子の自己相補領域として含有させることもできる。
【０１９８】
概して、二重鎖構造は、１５～３０塩基対の長さ、例えば、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２塩基対の長さである。特定の好ましい実施形態では、二重鎖構造は、１８～２５塩基対の長さ、例えば、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～２５、２１～２４、２１～２３、２１～２２、２２～２５、２２～２４、２２～２３、２３～２５、２３～２４または２４～２５塩基対の長さであり、例えば１９～２１塩基対の長さである。上記に列記した範囲および長さの間に存在する範囲および長さもまた、本開示の一部であることを意図している。
【０１９９】
同様に標的配列に対する相補性の領域が、１５～３０ヌクレオチド長、例えば、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１

５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２ヌクレオチド長であり、例えば、１９～２３ヌクレオチド長、または２１～２３ヌクレオチド長である。上記に列記した範囲および長さの間に存在する範囲および長さもまた、本開示の一部であることを意図している。

【０２００】

一部の実施形態では、二重鎖構造は、長さが１９～３０塩基対である。同様に、標的配列に対して相補性領域は、長さが１９～３０ヌクレオチドである。

【０２０１】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡは、１５～２３ヌクレオチドの長さ、１９～２３ヌクレオチドの長さ、または２５～３０ヌクレオチドの長さである。概して、ｄｓＲＮＡは、Ｄｉｃｅｒ酵素のための基質として機能するのに十分に長い。例えば、約２１～２３ヌクレオチドより長いｄｓＲＮＡが、Ｄｉｃｅｒのための基質として機能し得ることは、当技術分野において周知である。当業者も認識することとなるように、切断のために標的とされるＲＮＡの領域は、ほとんどの場合、より長いＲＮＡ分子の一部、多くの場合ｍＲＮＡ分子となることとなる。関連する場合、ｍＲＮＡ標的の「一部」は、ＲＮＡｉ指向性切断（すなわち、ＲＩＳＣ経路を経る切断）のための基質となることを可能にさせるのに十分な長さのｍＲＮＡ標的の連続する配列である。

【０２０２】

当業者であれば、二重鎖領域がｄｓＲＮＡの一次機能部分、例えば、約１５～３６塩基対、例えば、１５～３６、１５～３５、１５～３４、１５～３３、１５～３２、１５～３１、１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２塩基対、例えば１９～２１塩基対の二重鎖領域であることも認識するであろう。すなわち、一実施形態では、切断のために所望のＲＮＡを標的とする例えば、１５～３０塩基対の機能性二重鎖へとプロセシングされる限り、３０超の塩基対の二重鎖領域を有するＲＮＡ分子またはＲＮＡ分子の複合体は、ｄｓＲＮＡである。したがって、当業者は、一実施形態では、ｍｉＲＮＡがｄｓＲＮＡであることを認識するであろう。別の実施形態では、ｄｓＲＮＡは、天然に生じるｍｉＲＮＡではない。別の実施形態においては、ＦＬＮＡ発現を標的とするのに有用なＲＮＡｉ剤は、より大きなｄｓＲＮＡの切断によって標的細胞内で生成されない。

【０２０３】

本明細書において説明されるｄｓＲＮＡは、例えば、１、２、３、または４ヌクレオチドの、一つまたは複数の一本鎖ヌクレオチドオーバーハングをさらに含むことができる。ヌクレオチドオーバーハングは、デオキシヌクレオチド／ヌクレオシドなどであるヌクレオチド／ヌクレオシド類似体を含み得るかまたは該類似体からなり得る。オーバーハングは、センス鎖上、アンチセンス鎖上、またはそれらのいずれかの組合せ上にあり得る。さらに、あるオーバーハングのヌクレオチドは、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖またはセンス鎖のいずれかの５’末端、３’末端、または両末端上に存在し得る。

【０２０４】
ｄｓＲＮＡは、当技術分野で公知の標準的な方法で合成することができる。本発明の二本鎖ＲＮＡｉ化合物は、二段階手法を使用して調製され得る。最初に、二本鎖ＲＮＡ分子の個々の鎖が、別個に調製される。次いで、当該構成要素の鎖がアニーリングされる。ｓｉＲＮＡ化合物の個々の鎖は、溶液相または固相の有機合成またはその両方を使用して調製することができる。有機合成は、非天然のヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド鎖を容易に調製することができるという利点を提供する。同様に、本発明の一本鎖オリゴヌクレオチドは、溶液相または固相の有機合成またはその両方を使用して調製することができる。

【０２０５】
一態様においては、本開示のｄｓＲＮＡは、少なくとも二つのヌクレオチド配列、センス配列およびアンチセンス配列を含む。ＦＬＮＡのためのセンス鎖配列は、表３～８に提供される配列群から選択され得、また該センス鎖のアンチセンス鎖の対応するヌクレオチド配列は、表３～８の配列群から選択され得る。この態様においては、二つの配列の一方は、二つの配列の他方に対して相補的であり、この場合、配列の一方は、ＦＬＮＡ遺伝子の発現の際に生じたｍＲＮＡの配列に対して実質的に相補的である。このように、この態様においては、ｄｓＲＮＡは、二つのオリゴヌクレオチドを含むこととなるが、一つのオリゴヌクレオチドは、表３～８においてセンス鎖（パッセンジャー鎖）として記載され、第二のオリゴヌクレオチドは、表３～８において該センス鎖の対応するアンチセンス鎖（ガイド鎖）として記載される。

【０２０６】
一実施形態では、ｄｓＲＮＡの実質的に相補的な配列は、別個のオリゴヌクレオチド上に含有される。別の実施形態では、ｄｓＲＮＡの実質的に相補的な配列は、単一のオリゴヌクレオチド上に含まれる。

【０２０７】
本明細書に提供される配列は、表３～８における配列が修飾された配列またはコンジュゲートされた配列として記述されているが、本開示のＲＮＡｉ剤のＲＮＡ、例えば、本開示のｄｓＲＮＡは、表３～８に明記される配列のうちのいずれか一つを含み得、それらは、修飾されていない、コンジュゲートされていない、またはその中に記載されるものとは異なるように修飾もしくはコンジュゲートされたものであることが理解されるであろう。例えば、本発明の薬剤のセンス鎖は、ＧａｌＮＡｃリガンドにコンジュゲートされ得るが、これら薬剤は、本明細書に記載するように、例えばＣ１６リガンドである、ＣＮＳへの送達を司る部分にコンジュゲートされ得る。親油性リガンドは、本出願において提供される位置のいずれかに含ませることができる。

【０２０８】
当業者は、約２０～２３塩基対、例えば２１塩基対の二重鎖構造を有するｄｓＲＮＡが、ＲＮＡ干渉を導入する際に特に有効であるとして歓迎されてきたことを十分に意識している（Ｅｌｂａｓｈｉｒ ｅｔ ａｌ．，（２００１）ＥＭＢＯ Ｊ．，２０：６８７７－６８８８）。しかしながら、他の者らは、それよりも短いまたは長いＲＮＡ二重鎖構造も有効であり得ることを発見してきた（Ｃｈｕ ａｎｄ Ｒａｎａ（２００７）ＲＮＡ １４：１７１４－１７１９、Ｋｉｍ ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈ ２３：２２２－２２６）。上記に記載した実施形態においては、本明細書において提供するオリゴヌクレオチド配列の性質により、本明細書に記載するｄｓＲＮＡが、最小で２１ヌクレオチドの長さである少なくとも一つの鎖を含むことができる。一方の末端または両末端におけるいくつかのヌクレオチドだけを差し引いたより短い二重鎖は、上に記載したｄｓＲＮＡと比較して、同様に有効であり得ることは、合理的に予測することができる。したがって、本明細書において提供する配列のうちの一つから得られる少なくとも１５、１６、１７、１８、１９、２０、またはそれ以上の連続するヌクレオチドの配列を有し、かつ例えばＡ５４９細胞および１０ｎＭ濃度のＲＮＡ剤によるインビトロアッセイならびに本明細書の実施例において提供されるＰＣＲアッセイを使用して、完全配列を含むｄｓ

ＲＮＡから１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、または５０％以下の阻害によってＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害するそれらの能力が異なるものであるｄｓＲＮＡは、本開示の範囲内であることを意図する。一部の実施形態では、全配列を含むｄｓＲＮＡの阻害は、初代マウス肝細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定される。

【０２０９】

加えて、本明細書に記載するＲＮＡは、ＲＩＳＣ媒介切断を受けやすいＦＬＮＡ転写物内の部位を特定する。そのため、本開示は、この部位内を標的とするＲＮＡｉ剤をさらに取り上げる。本明細書において使用する場合、ＲＮＡｉ剤が特定の部位内のいずれかにおける転写物の切断を促進する場合、該ＲＮＡｉ剤は、ＲＮＡ転写物の特定の部位内を標的としていると言う。こうしたＲＮＡｉ剤は、概して、ＦＬＮＡ遺伝子内の選択された配列に隣接する領域から取られた追加的なヌクレオチド配列に結合した本明細書において提供される配列のうちの一つから、少なくとも約１５の連続するヌクレオチド、好ましくは少なくとも１９のヌクレオチド、を含むこととなる。

【０２１０】

ＩＩＩ．本開示の修飾ＲＮＡｉ剤

一実施形態では、本開示のＲＮＡｉ剤のＲＮＡ、例えば、ｄｓＲＮＡは、未修飾であり、また例えば、当技術分野で公知かつ本明細書に記載する化学修飾またはコンジュゲーションを含まない。好ましい実施形態では、本開示のＲＮＡｉ剤のＲＮＡ、例えば、ｄｓＲＮＡは、安定性または他の有益な特徴を増強するように化学的に修飾される。本開示の特定の実施形態では、本開示のＲＮＡｉ剤のヌクレオチドの実質的に全てが修飾される。本開示の他の実施形態においては、本開示のＲＮＡｉ剤のヌクレオチドの全てが修飾される。「ヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている」本開示のＲＮＡｉ剤は、広く修飾されているが全体が修飾されているものではなく、また５、４、３、２以下であり、または未修飾のヌクレオチドを含み得る。本開示のさらに他の実施形態においては、本開示のＲＮＡｉ剤は、５、４、３、２または１以下の修飾ヌクレオチドを含み得る。

【０２１１】

本開示において特徴とされる核酸は、当技術分野で十分に確立された方法、例えば、参照により本明細書に組み込まれる“Ｃｕｒｒｅｎｔ ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，” Ｂｅａｕｃａｇｅ，Ｓ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．（Ｅｄｒｓ．），Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ，ＵＳＡ、に記載されるものなどによって合成または修飾できる。修飾としては、例えば、末端修飾、例えば、５’末端修飾（リン酸化、コンジュゲーション、逆方向結合）または３’末端修飾（コンジュゲーション、ＤＮＡヌクレオチド、逆方向結合など）や、塩基修飾、例えば、安定化塩基、不安定化塩基、もしくは伸長したレパートリーのパートナーと塩基対合する塩基での置換、塩基除去（脱塩基ヌクレオチド）もしくはコンジュゲートされた塩基や、糖修飾（例えば、２’位または４’位における）もしくは糖の置換や、またはホスホジエステル結合の修飾もしくは置換をはじめとする主鎖修飾が挙げられる。本明細書において記載される実施形態において有用なＲＮＡｉ剤の具体例として、それだけには限らないが、修飾骨格を含有する、または天然ヌクレオシド間連結を含有しないＲＮＡが挙げられる。修飾骨格を有するＲＮＡとしては、中でも、骨格内にリン原子を有さないものが挙げられる。本明細書の目的上、また時には当技術分野で言及されるように、それらのヌクレオシド間骨格内にリン原子を有さない修飾ＲＮＡもまた、オリゴヌクレオシドであるとみなされ得る。一部の実施形態では、修飾ＲＮＡｉ剤は、そのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有することとなる。

【０２１２】

修飾ＲＮＡ骨格としては、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、３’－アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネートを含むメチルおよび他のアルキルのホスホネート、ホスフィネート、３’－アミノホスホロアミダートおよびアミノアルキルホスホロアミダートを含むホスホロアミダート、チオノホスホロアミダート、チオノアル

キルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびに通常の３’－５’連結を有するボラノホスフェート、これらの２’－５’連結類似体、およびヌクレオシド単位の隣接する対が連結された３’－５’と５’－３’、または２’－５’と５’－２’であるものである反転した極性を有するものが挙げられる。種々の塩、混合塩および遊離酸の形態も含まれる。本発明の一部の実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、遊離酸形態である。本発明の他の実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、塩形態である。一実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、ナトリウム塩形態である。特定の実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡ剤がナトリウム塩形態である場合には、ナトリウムイオンが、薬剤中に存在するホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の実質的に全てに対する対イオンとして薬剤中に存在する。ホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート結合の実質的に全てがナトリウム対イオンを有する薬剤は、５、４、３、２または１以下の、ナトリウム対イオンを有さないホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート結合を含む。一部の実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡ剤が、ナトリウム塩形態である場合は、ナトリウムイオンは、薬剤中に存在するホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の全てに対する対イオンとして薬剤中に存在する。

【０２１３】

上記リン含有結合の調製を教示する代表的な米国特許には、限定されるものではないが、米国特許第３，６８７，８０８号、第４，４６９，８６３号、第４，４７６，３０１号、第５，０２３，２４３号、第５，１７７，１９５号、第５，１８８，８９７号、第５，２６４，４２３号、第５，２７６，０１９号、第５，２７８，３０２号、第５，２８６，７１７号、第５，３２１，１３１号、第５，３９９，６７６号、第５，４０５，９３９号、第５，４５３，４９６号、第５，４５５，２３３号、第５，４６６，６７７号、第５，４７６，９２５号、第５，５１９，１２６号、第５，５３６，８２１号、第５，５４１，３１６号、第５，５５０，１１１号、第５，５６３，２５３号、第５，５７１，７９９号、第５，５８７，３６１号、第５，６２５，０５０号、第６，０２８，１８８号、第６，１２４，４４５号、第６，１６０，１０９号、第６，１６９，１７０号、第６，１７２，２０９号、第６，２３９，２６５号、第６，２７７，６０３号、第６，３２６，１９９号、第６，３４６，６１４号、第６，４４４，４２３号、第６，５３１，５９０号、第６，５３４，６３９号、第６，６０８，０３５号、第６，６８３，１６７号、第６，８５８，７１５号、第６，８６７，２９４号、第６，８７８，８０５号、第７，０１５，３１５号、第７，０４１，８１６号、第７，２７３，９３３号、第７，３２１，０２９号、および米国特許第ＲＥ３９４６４号が含まれ、それら各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１４】

骨格内にリン原子を含まない修飾ＲＮＡ骨格は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルのヌクレオシド間連結、混合ヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキルのヌクレオシド間連結または一つもしくは複数の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環のヌクレオシド間連結によって形成される骨格を有する。これらとしては、モルホリノ連結を有するもの（ヌクレオシドの糖部分から一部形成される）、シロキサン骨格、スルフィド、スルホキシドおよびスルホン骨格、ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格、メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格、アルケン含有骨格、スルファメート骨格、メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ骨格、スルホネートおよびスルホンアミド骨格、アミド骨格、ならびにＮ、Ｏ、ＳおよびＣＨ$_2$の混合した構成要素部分を有する他のものが挙げられる。

【０２１５】

上記のオリゴヌクレオシドの調製を教示する代表的な米国特許としては、これらに限定されないが、米国特許第５，０３４，５０６号、第５，１６６，３１５号、第５，１８５，４４４号、第５，２１４，１３４号、第５，２１６，１４１号、第５，２３５，０３３号、第５，６４，５６２号、第５，２６４，５６４号、第５，４０５，９３８号、第５，４３４，２５７号、第５，４６６，６７７号、第５，４７０，９６７号、第５，４８９，

６７７号、第５，５４１，３０７号、第５，５６１，２２５号、第５，５９６，０８６号、第５，６０２，２４０号、第５，６０８，０４６号、第５，６１０，２８９号、第５，６１８，７０４号、第５，６２３，０７０号、第５，６６３，３１２号、第５，６３３，３６０号、第５，６７７，４３７号、および第５，６７７，４３９号が挙げられ、このそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１６】

他の実施形態では、ヌクレオチド単位の糖およびヌクレオシド間連結の両方、すなわち、骨格が新規基と置き換えられている、ＲＮＡｉ剤において使用するために適したＲＮＡ模倣体が考察される。この塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。このようなオリゴマー化合物のひとつ、優れたハイブリダイゼーション特性を有するとわかっているＲＮＡ模倣体は、ペプチド核酸（ＰＮＡ）と呼ばれる。ＰＮＡ化合物においては、ＲＮＡの糖骨格は、アミド含有骨格で、特にアミノエチルグリシン骨格で置換されている。核酸塩基が、保持されて、骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合される。ＰＮＡ化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、これに限定されないが、米国特許第５，５３９，０８２号、第５，７１４，３３１号、および第５，７１９，２６２号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。本開示のＲＮＡｉ剤において使用するのに適したさらなるＰＮＡ化合物は、例えば、Ｎｉｅｌｓｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，１９９１，２５４，１４９７－１５００に記載されている。

【０２１７】

本開示で取り上げる一部の実施形態には、ホスホロチオエート骨格をもつＲＮＡおよびヘテロ原子骨格をもつオリゴヌクレオシドが挙げられ、特に上記で参照した米国特許第５，４８９，６７７号の、－－ＣＨ$_2$－－ＮＨ－－ＣＨ$_2$－、－－ＣＨ$_2$－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－Ｏ－－ＣＨ$_2$－－［メチレン（メチルイミノ）またはＭＭＩ骨格として知られる］、－－ＣＨ$_2$－－Ｏ－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－ＣＨ$_2$－－、－－ＣＨ$_2$－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－ＣＨ$_2$－－、および－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－ＣＨ$_2$－－ＣＨ$_2$－－［天然のホスホジエステル骨格を－－Ｏ－－Ｐ－－Ｏ－－ＣＨ$_2$－－として表す］、および上記で参照した米国特許第５，６０２，２４０号のアミド骨格、が挙げられる。一部の実施形態においては、本明細書において取り上げるＲＮＡは、上記で参照した米国特許第５，０３４，５０６号のモルホリノ骨格構造を有する。

【０２１８】

修飾ＲＮＡはまた、一つまたは複数の置換された糖部分を含有し得る。本明細書において取り上げるＲＮＡｉ剤、例えば、ｄｓＲＮＡは、２’位に以下のうちの一つを含み得る：ＯＨ、Ｆ、Ｏ－、Ｓ－またはＮ－アルキル、Ｏ－、Ｓ－またはＮ－アルケニル、Ｏ－、Ｓ－またはＮ－アルキニル、またはＯ－アルキル－Ｏ－アルキルであって、式中アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、置換または非置換のＣ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキルまたはＣ$_2$～Ｃ$_{10}$アルケニルおよびアルキニルであり得る。例示的な好適な修飾としては、Ｏ［（ＣＨ$_2$）$_n$Ｏ］$_m$ＣＨ$_3$、Ｏ（ＣＨ$_2$）．$_n$ＯＣＨ$_3$、Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$ＮＨ$_2$、Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨ$_3$、Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$ＯＮＨ$_2$、およびＯ（ＣＨ$_2$）$_n$ＯＮ［（ＣＨ$_2$）$_n$ＣＨ$_3$）］$_2$が挙げられ、式中ｎおよびｍは、１から約１０である。他の実施形態においては、ｄｓＲＮＡは、２’位において以下のうちの一つを含む：Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$低級アルキル、置換された低級アルキル、アルカリル、アラルキル、Ｏ－アルカリルまたはＯ－アラルキル、ＳＨ、ＳＣＨ$_3$、ＯＣＮ、Ｃｌ、Ｂｒ、ＣＮ、ＣＦ$_3$、ＯＣＦ$_3$、ＳＯＣＨ$_3$、ＳＯ$_2$ＣＨ$_3$、ＯＮＯ$_2$、ＮＯ$_2$、Ｎ$_3$、ＮＨ$_2$、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、ＲＮＡ切断基、レポーター基、干渉物質、ＲＮＡｉ剤の薬物動態特性を改善するための基またはＲＮＡｉ剤の薬力学的特性を改善するための基、および同様の特性を有する他の置換基。一部の実施形態においては、修飾は、２’－メトキシエトキシ（２’－Ｏ－－Ｃ$_2$ＨＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$、２’－Ｏ－（２－メトキシエチル）または２’－ＭＯＥとしても知られる）（Ｍａｒｔｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｅｌｖ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ，１９９５，７８：４８６－５０４）、すな

わちアルコキシ－アルコキシ基、が挙げられる。別の例示的な修飾には、２’－ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、本明細書において以下の実施例において記載されるような、２’－ＤＭＡＯＥとしても知られる、Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＮ（ＣＨ$_3$）$_2$基、および２’－ジメチルアミノエトキシエトキシ（当技術分野で２’－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチルまたは２’－ＤＭＡＥＯＥとしても知られる）、すなわち、２’－Ｏ－－ＣＨ$_2$－－Ｏ－－ＣＨ$_2$－－Ｎ（ＣＨ$_2$）$_2$、がある。さらなる例示的な修飾としては、５’－Ｍｅ－２’－Ｆヌクレオチド、５’－Ｍｅ－２’－ＯＭｅヌクレオチド、５’－Ｍｅ－２’－デオキシヌクレオチド、（これら三つのファミリー内のＲおよびＳ異性体の両方）、２’－アルコキシアルキル、および２’－ＮＭＡ（Ｎ－メチルアセトアミド）が挙げられる。

【０２１９】

他の修飾としては、２’－メトキシ（２’－ＯＣＨ$_3$）、２’－アミノプロポキシ（２’－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＮＨ$_2$）、２’－Ｏ－ヘキサデシル、および２’－フルオロ（２’－Ｆ）が挙げられる。同様の修飾はまた、ＲＮＡｉ剤のＲＮＡ上の他の位置、特に３’末端ヌクレオチド上または２’－５’連結ｄｓＲＮＡ中の糖の３’位および５’末端ヌクレオチドの５’位でも行うことができる。ＲＮＡｉ剤はまた、糖模倣体を有し得、例えばペントフラノシル糖の代わりにシクロブチル部分などを有し得る。こうした修飾糖構造の調製を教示する代表的な米国特許として、これに限定されないが、米国特許第４，９８１，９５７号、第５，１１８，８００号、第５，３１９，０８０号、第５，３５９，０４４号、第５，３９３，８７８号、第５，４４６，１３７号、第５，４６６，７８６号、第５，５１４，７８５号、第５，５１９，１３４号、第５，５６７，８１１号、第５，５７６，４２７号、第５，５９１，７２２号、第５，５９７，９０９号、第５，６１０，３００号、第５，６２７，０５３号、第５，６３９，８７３号、第５，６４６，２６５号、第５，６５８，８７３号、第５，６７０，６３３号、および第５，７００，９２０号が挙げられ、それらのうちいくつかは、本願と共同所有される。前述のものの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２０】

本開示のＲＮＡｉ剤はまた、核酸塩基（当技術分野では簡単に「塩基」と呼ばれることも多い）の修飾または置換を含み得る。本明細書において使用する場合、「未修飾の（修飾されていない）」または「天然の」核酸塩基としては、プリン塩基のアデニン（Ａ）およびグアニン（Ｇ）、ならびにピリミジン塩基のチミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）およびウラシル（Ｕ）が挙げられる。修飾核酸塩基としては、他の合成核酸塩基および天然核酸塩基が挙げられ、例えば５－メチルシトシン（５－ｍｅ－Ｃ）、５－ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、２－アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの６－メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの２－プロピルおよび他のアルキル誘導体、２－チオウラシル、２－チオチミンおよび２－チオシトシン、５－ハロウラシルおよびシトシン、５－プロピニルウラシルおよびシトシン、６－アゾウラシル、シトシンおよびチミン、５－ウラシル（シュードウラシル）、４－チオウラシル、８－ハロ、８－アミノ、８－チオール、８－チオアルキル、８－ヒドロキシルおよび他の８－置換のアデニンおよびグアニン、５－ハロ、特に５－ブロモ、５－トリフルオロメチルおよび他の５－置換のウラシルおよびシトシン、７－メチルグアニンおよび７－メチルアデニン、８－アザグアニンおよび８－アザアデニン、７－デアザグアニンおよび７－ダアザアデニン（７－ｄａａｚａａｄｅｎｉｎｅ）ならびに３－デアザグアニンおよび３－デアザアデニンなどである。さらなる核酸塩基としては、米国特許第３，６８７，８０８号に開示されるもの、Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，Ｈｅｒｄｅｗｉｊｎ，Ｐ．ｅｄ．Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ，２００８に開示されるもの、Ｔｈｅ Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ Ｏｆ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ａｎｄ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，ｐａｇｅｓ ８５８－８５９，Ｋｒｏｓｃｈｗｉｔｚ，Ｊ．Ｌ，ｅｄ．Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，１９９０に開示されるもの、Ｅｎｇｌｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ａｎｇｅｗａｎｄｔｅ Ｃｈｅｍｉｅ，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉ

ｏｎａｌ Ｅｄｉｔｉｏｎ，３０：６１３に開示されるもの、およびＳａｎｇｈｖｉ，ＹＳ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １５，ｄｓＲＮＡ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐａｇｅｓ ２８９－３０２，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．，Ｅｄ．，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，１９９３に開示されるもの、が挙げられる。これら核酸塩基のうちのいくつかは、本開示において取り上げるオリゴマー化合物の結合親和性を増大するのに特に有用である。これらには、５－置換ピリミジン、６－アザピリミジンおよびＮ－２、Ｎ－６および０～６置換のプリンが含まれ、２－アミノプロピルアデニン、５－プロピニルウラシルおよび５－プロピニルシトシンが挙げられる。５－メチルシトシン置換は、核酸の二重鎖安定性を０．６～１．２℃高めることがわかっており（Ｓａｎｇｈｖｉ，Ｙ．Ｓ．，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．，Ｅｄｓ．，ｄｓＲＮＡ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，１９９３，ｐｐ．２７６－２７８）、そしてさらにより具体的には２’－Ｏ－メトキシエチル糖修飾と組み合わせた場合には、模範的な塩基置換である。

【０２２１】

上記の修飾核酸塩基ならびに他の修飾核酸塩基のうちの特定のものの調製を教示する代表的な米国特許としては、これに限定されるものではないが、上記に記載の米国特許第３，６８７，８０８号、第４，８４５，２０５号、第５，１３０，３０号、第５，１３４，０６６号、第５，１７５，２７３号、第５，３６７，０６６号、第５，４３２，２７２号、第５，４５７，１８７号、第５，４５９，２５５号、第５，４８４，９０８号、第５，５０２，１７７号、第５，５２５，７１１号、第５，５５２，５４０号、第５，５８７，４６９号、第５，５９４，１２１号、第５，５９６，０９１号、第５，６１４，６１７号、第５，６８１，９４１号、第５，７５０，６９２号、第６，０１５，８８６号、第６，１４７，２００号、第６，１６６，１９７号、第６，２２２，０２５号、第６，２３５，８８７号、第６，３８０，３６８号、第６，５２８，６４０号、第６，６３９，０６２号、第６，６１７，４３８号、第７，０４５，６１０号、第７，４２７，６７２号、および第７，４９５，０８８号が挙げられ、そのそれぞれの内容全体が、参照により本明細書において組み込まれる。

【０２２２】

本開示のＲＮＡｉ剤をまた、一つまたは複数のロック核酸（ＬＮＡ）を含むように修飾できる。ロック核酸は、リボース部分が２’および４’炭素を接続する追加の架橋を含むものである、修飾リボース部分を有するヌクレオチドである。この構造は、３’－ｅｎｄｏ構造立体配座内にリボースを効率的に「ロックする」。ｓｉＲＮＡへのロック核酸の付加により、血清中でのｓｉＲＮＡ安定性が増大し、オフターゲット効果が低減するとわかっている（Ｅｌｍｅｎ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ３３（１）：４３９－４４７、Ｍｏｏｋ，ＯＲ．ｅｔ ａｌ．，（２００７）Ｍｏｌ Ｃａｎｃ Ｔｈｅｒ ６（３）：８３３－８４３、Ｇｒｕｎｗｅｌｌｅｒ，Ａ．ｅｔ ａｌ．，（２００３）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ３１（１２）：３１８５－３１９３）。

【０２２３】

本開示のＲＮＡｉ剤をまた、一つまたは複数の二環式糖部分を含むように修飾できる。「二環式の糖」は、二つの原子を架橋することによって修飾されたフラノース環である。「二環式のヌクレオシド」（「ＢＮＡ」）は、糖環の二つの炭素原子を接続し、それによって二環式環系を形成する架橋を含む糖部分を有するヌクレオシドである。特定の実施形態においては、架橋が、糖環の４’－炭素と２’－炭素を接続する。したがって、一部の実施形態では、本開示の薬剤は、一つまたは複数のロック核酸（ＬＮＡ）を含み得る。ロック核酸は、リボース部分が２’および４’炭素を接続する追加の架橋を含むものである、修飾リボース部分を有するヌクレオチドである。言い換えれば、ＬＮＡは、４’－ＣＨ２－Ｏ－２’架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオチドである。この構造は、３’－ｅｎｄｏ構造立体配座内にリボースを効率的に「ロックする」。ｓｉＲＮＡへのロック核酸の付加

により、血清中でのｓｉＲＮＡ安定性が増大し、オフターゲット効果が低減するとわかっている（Ｅｌｍｅｎ，Ｊ．ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　３３（１）：４３９－４４７、Ｍｏｏｋ，ＯＲ．ｅｔ　ａｌ．，（２００７）Ｍｏｌ　Ｃａｎｃ　Ｔｈｅｒ　６（３）：８３３－８４３、Ｇｒｕｎｗｅｌｌｅｒ，Ａ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　３１（１２）：３１８５－３１９３）。本開示のポリヌクレオチドにおいて使用するための二環式ヌクレオシドの例として、制限するものではないが、４’と２’リボシル環原子の間の架橋を含むヌクレオシドが挙げられる。特定の実施形態では、本開示のアンチセンスポリヌクレオチド剤として、４’から２’への架橋を含む一つまたは複数の二環式ヌクレオシドが挙げられる。かかる４’から２’の架橋された二環式ヌクレオシドの例としては、これに限定するものではないが、４’－（ＣＨ２）－Ｏ－２’（ＬＮＡ）、４’－（ＣＨ２）－Ｓ－２’、４’－（ＣＨ２）２－Ｏ－２’（ＥＮＡ）、４’－ＣＨ（ＣＨ３）－Ｏ－２’（「拘束されたエチル」または「ｃＥｔ」とも称される）および４’－ＣＨ（ＣＨ２ＯＣＨ３）－Ｏ－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第７，３９９，８４５号を参照）、４’－Ｃ（ＣＨ３）（ＣＨ３）－Ｏ－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，２８３号を参照）、４’－ＣＨ２－Ｎ（ＯＣＨ３）－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，４２５号を参照）、４’－ＣＨ２－Ｏ－Ｎ（ＣＨ３）－２’（例えば、米国特許出願公開第２００４／０１７１５７０号を参照）、４’－ＣＨ２－Ｎ（Ｒ）－Ｏ－２’であって式中ＲはＨ、Ｃ１～Ｃ１２アルキルまたは保護基（例えば、米国特許第７，４２７，６７２号を参照）、４’－ＣＨ２－Ｃ（Ｈ）（ＣＨ３）－２’（例えば、Ｃｈａｔｔｏｐａｄｈｙａｙａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００９，７４，１１８－１３４を参照）、および４’－ＣＨ２－Ｃ（＝ＣＨ２）－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，４２６号を参照）、が挙げられる。前述のものの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２４】

ロック核酸ヌクレオチドの調製を教示するさらなる代表的な米国特許および米国特許公開としては、それだけには限らないが、以下：米国特許第６，２６８，４９０号、第６，５２５，１９１号、第６，６７０，４６１号、第６，７７０，７４８号、第６，７９４，４９９号、第６，９９８，４８４号、第７，０５３，２０７号、第７，０３４，１３３号、第７，０８４，１２５号、第７，３９９，８４５号、第７，４２７，６７２号、第７，５６９，６８６号、第７，７４１，４５７号、第８，０２２，１９３号、第８，０３０，４６７号、第８，２７８，４２５号、第８，２７８，４２６号、第８，２７８，２８３号、ＵＳ　２００８／００３９６１８、およびＵＳ２００９／００１２２８１が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２５】

例えばα－Ｌ－リボフラノースおよびβ－Ｄ－リボフラノースをはじめとする一つまたは複数の立体化学的な糖立体配置を有する前述の二環式ヌクレオシドのいずれもが、調製可能である（国際公開第９９／１４２２６号を参照）。

【０２２６】

本開示のＲＮＡｉ剤をまた、一つまたは複数の拘束されたエチルヌクレオチドを含むように修飾できる。本明細書において使用される場合、「拘束されたエチルヌクレオチド」または「ｃＥｔ」は、４’－ＣＨ（ＣＨ３）－０－２’架橋を含む二環式糖部分を含むロック核酸である。一実施形態では、拘束されたエチルヌクレオチドは、Ｓ立体配座であり、本明細書において「Ｓ－ｃＥｔ」と称する。

【０２２７】

本開示のＲＮＡｉ剤はまた、一つまたは複数の「立体配座制限ヌクレオチド」（「ＣＲＮ」）を含み得る。ＣＲＮは、リボースのＣ２’炭素およびＣ４’炭素を、またはリボースのＣ３炭素および－Ｃ５’炭素を接続するリンカーを有するヌクレオチド類似体である。ＣＲＮは、リボース環を安定な立体配座にロックして、ｍＲＮＡに対するハイブリダイゼーション親和性を増大する。リンカーは、酸素を安定性および親和性にとって最適な位置

に配置するのに十分な長さのものであり、その結果、リボース環のパッカリングを少なくさせる。

【０２２８】

上記のＣＲＮのある特定のものの調製を教示する代表的な刊行物として、それだけには限らないが、ＵＳ２０１３／０１９０３８３および国際公開第２０１３／０３６８６８号が挙げら れ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２９】

一部の実施形態では、本開示のＲＮＡｉ剤は、ＵＮＡ（アンロック核酸）ヌクレオチドである一つまたは複数のモノマーを含む。ＵＮＡは、非環式のアンロック核酸であり、その糖の結合のいずれもが除去されていて、アンロック「糖」残基を形成しているものである。一実施例においては、ＵＮＡはまた、Ｃ１’－Ｃ４’間の結合が除去されているモノマーも包含する（すなわち、Ｃ１’炭素とＣ４’炭素との間の共有結合による炭素－酸素－炭素間結合）。別の実施例では、糖のＣ２’－Ｃ３’結合（すなわち、Ｃ２’炭素とＣ３’炭素との間の共有結合による炭素－炭素間結合）が除去されている（Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｓｙｍｐ．Ｓｅｒｉｅｓ，５２，１３３－１３４（２００８）およびＦｌｕｉｔｅｒ ｅｔａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｓｙｓｔ．，２００９，１０，１０３９を参照されたく、これは参照により本明細書に組み込まれる）。

【０２３０】

ＵＮＡの調製を教示する代表的な米国の刊行物として、これに限定されるものではないが、ＵＳ８，３１４，２２７、および米国特許出願公開第２０１３／００９６２８９号、第２０１３／００１１９２２号、および第２０１１／０３１３０２０号が挙げられ、この各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２３１】

ＲＮＡ分子の末端に対する安定化修飾として可能性があるものとしては、Ｎ－（アセチルアミノカプロイル）－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６－ＮＨＡｃ）、Ｎ－（カプロイル－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６）、Ｎ－（アセチル－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－ＮＨＡｃ）、チミジン－２’－０－デオキシチミジン（エーテル）、Ｎ－（アミノカプロイル）－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６－アミノ）、２－ドコサノイル－ウリジン－３’’－ホスフェート、逆位塩基（ｉｎｖｅｒｔｅｄ ｂａｓｅ）ｄＴ（ｉｄＴ）およびその他などが挙げられ得る。この修飾の開示内容は、国際公開第２０１１／００５８６１号に見ることができる。

【０２３２】

本開示のＲＮＡｉ剤の他の修飾として、５’ホスフェートまたは５’ホスフェートミミック、例えば、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖上の５’末端ホスフェートまたはホスフェート模倣体が挙げられる。適したホスフェート模倣体は、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれるＵＳ２０１２／０１５７５１１に開示されている。

【０２３３】

一実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、アンチセンス鎖の５’ヌクレオチドの５’－ホスフェートまたは５’－ホスフェート模倣体をさらに含む。別の実施形態では、二本鎖ＲＮＡｉ剤は、アンチセンス鎖の５’ヌクレオチドの５’－ホスフェート模倣体をさらに含む。具体的な実施形態では、５’ホスフェート模倣体は、５’－ビニルホスホネート（５’－ＶＰ）である。一実施形態では、ホスフェート模倣体は、５’－シクロプロピルホスホネート（ＶＰ）である。一部の実施形態では、二本鎖ｉＲＮＡ剤のアンチセンス鎖の５’－末端は、５’－ビニルホスホネート（ＶＰ）を含有しない。

【０２３４】

一実施形態では、修飾ヌクレオチドの少なくとも一つが、デオキシ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチド、２’－フルオロ修飾ヌクレオチド、２’－デオキシ修飾ヌクレオチド、グリコール修飾ヌクレオチド（ＧＮＡ）、例えばＧｇｎ、Ｃｇｎ、ＴｇｎまたはＡｇｎ、２’ホスフェートを有するヌクレオチド、例えば、Ｇ２ｐ、Ｃ２ｐ、Ａ２ｐ、Ｕ２ｐ、およびビニル－ホスホネートヌクレオチド、ならびにそれらの組合せからな

る群から選択される。他の実施形態では、表４、６、または８の二重鎖の各々は、本開示の別の二本鎖ｉＲＮＡ剤を提供するように特に修飾されてもよい。一実施例では、各センス二重鎖の３’末端は、３’末端Ｌ９６リガンドを除去し、三つの３’末端ヌクレオチド間で二つのホスホジエステルヌクレオチド間連結をホスホロチオエートヌクレオチド間連結と交換することによって修飾され得る。すなわち、以下の式のセンス配列の三つの３’末端ヌクレオチド（Ｎ）である。

５’－N_1－…－$N_{n-2}N_{n-1}N_n$Ｌ９６３’

は、以下と置換され得る。

５’－N_1－…－N_{n-2}<u>ｓ</u>N_{n-1}<u>ｓ</u>N_n３’

【０２３５】

Ａ．本開示のモチーフを含む修飾ＲＮＡｉ剤

本開示の特定の態様においては、本開示の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、例えばその内容全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１３／０７５０３５号において開示されるような化学修飾を有する薬剤を含む。本明細書および国際公開第２０１３／０７５０３５号において示されるように、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一修飾のうちの一つまたは複数のモチーフを、特に切断部位においてまたはその近傍において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖に導入することによって、優れた結果が得られ得る。一部の実施形態では、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、そうでなければ完全に修飾され得る。これらモチーフの導入は、存在する場合にはセンス鎖またはアンチセンス鎖の修飾パターンを中断する。ＲＮＡｉ剤は、随意に、例えばセンス鎖上の、親油性リガンドと、例えば、Ｃ１６リガンドとコンジュゲートし得る。ＲＮＡｉ剤は、随意に、例えばアンチセンス鎖の一つまたは複数の残基において、（Ｓ）－グリコール核酸（ＧＮＡ）修飾で修飾され得る。得られたＲＮＡｉ剤は、優れた遺伝子サイレンシング活性を示す。

【０２３６】

したがって、本開示は、インビボで標的遺伝子（すなわち、ＦＬＮＡ遺伝子）の発現を阻害可能な二本鎖ＲＮＡｉ剤を提供する。このＲＮＡｉ剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む。ＲＮＡｉ剤の各鎖は、１５～３０ヌクレオチドの長さであり得る。各鎖は、例えば、長さが１６～３０ヌクレオチド、長さが１７～３０ヌクレオチド、長さが２５～３０ヌクレオチド、長さが２７～３０ヌクレオチド、長さが１７～２３ヌクレオチド、長さが１７～２１ヌクレオチド、長さが１７～１９ヌクレオチド、長さが１９～２５ヌクレオチド、長さが１９～２３ヌクレオチド、長さが１９～２１ヌクレオチド、長さが２１～２５ヌクレオチド、または長さが２１～２３ヌクレオチドであり得る。特定の実施形態では、各鎖は、長さが１９～２３ヌクレオチドである。

【０２３７】

センス鎖およびアンチセンス鎖は通常、本明細書において「ＲＮＡｉ剤」とも呼ばれる二重鎖の二本鎖ＲＮＡ（「ｄｓＲＮＡ」）を形成する。ＲＮＡｉ剤の二重鎖領域は、長さが１５～３０ヌクレオチド対であり得る。例えば、二重鎖領域は、長さが１６～３０ヌクレオチド対、長さが１７～３０ヌクレオチド対、長さが２７～３０ヌクレオチド対、長さが１７～２３ヌクレオチド対、長さが１７～２１ヌクレオチド対、長さが１７～１９ヌクレオチド対、長さが１９～２５ヌクレオチド対、長さが１９～２３ヌクレオチド対、長さが１９～２１ヌクレオチド対、長さが２１～２５ヌクレオチド対、または長さが２１～２３ヌクレオチド対であり得る。別の実施例においては、二重鎖領域は、長さが１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、および２７ヌクレオチドから選択される。好ましい実施形態では、二重鎖領域は、長さが１９～２１ヌクレオチド対である。

【０２３８】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、一方または両方の鎖の３’末端、５’末端または両末端に一つまたは複数のオーバーハング領域またはキャッピング基を含有し得る。オーバーハングは、１～６ヌクレオチドの長さであり得、例えば２～６ヌクレオチドの長さ、１～５

ヌクレオチドの長さ、２～５ヌクレオチドの長さ、１～４ヌクレオチドの長さ、２～４ヌクレオチドの長さ、１～３ヌクレオチドの長さ、２～３ヌクレオチドの長さまたは１～２ヌクレオチドの長さであり得る。好ましい実施形態では、ヌクレオチドオーバーハング領域は、２ヌクレオチドの長さである。オーバーハングは、一方の鎖がもう一方よりも長い結果、または同一の長さの二本の鎖がねじれている結果であり得る。このオーバーハングは、標的ｍＲＮＡとミスマッチを形成し得る、または標的とする遺伝子配列に対して相補的であり得る、または別の配列であり得る。第一および第二の鎖を、例えば、ヘアピンを形成する追加の塩基によって、または他の非塩基リンカーによって、連結することもできる。

【０２３９】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤のオーバーハング領域におけるヌクレオチドは、それぞれ独立して、修飾または未修飾のヌクレオチドであり得、これには、限定されるものではないが２’－糖修飾されたもの、例えば２－Ｆ、２’－Ｏ－メチル、チミジン（Ｔ）およびそれらのいずれかの組合せが含まれる。

【０２４０】

例えばＴＴは、いずれかの鎖上のいずれかの末端のためのオーバーハング配列であり得る。このオーバーハングは、標的ｍＲＮＡとミスマッチを形成し得る、または標的とする遺伝子配列に対して相補的であり得る、または別の配列であり得る。

【０２４１】

ＲＮＡｉ剤のセンス鎖、アンチセンス鎖または両鎖の５’－または３’－オーバーハングは、リン酸化され得る。一部の実施形態では、オーバーハング領域は、二つのヌクレオチドの間にホスホロチオエートを有する二つのヌクレオチドを含有し、当該二つのヌクレオチドは、同一であり得るか、または異なり得る。一実施形態では、オーバーハングは、センス鎖、アンチセンス鎖または両鎖の３’末端に存在する。一実施形態では、この３’－オーバーハングは、アンチセンス鎖内に存在する。一実施形態では、この３’－オーバーハングは、センス鎖内に存在する。

【０２４２】

ＲＮＡｉ剤は、その安定性全体に影響を及ぼすことなくＲＮＡｉの干渉活性を強化できる単一のオーバーハングのみを含有し得る。例えば、一本鎖オーバーハングは、センス鎖の３’末端に、あるいはアンチセンス鎖の３’末端に位置し得る。ＲＮＡｉはまた、アンチセンス鎖の５’末端（またはセンス鎖の３’末端）に位置する、または逆も同じである、平滑末端を有し得る。概して、ＲＮＡｉのアンチセンス鎖は、３’末端にヌクレオチドオーバーハングを有し、そして５’末端は平滑である。理論に拘束されることを望むことなく、こうしたアンチセンス鎖の５’末端にある平滑末端とアンチセンス鎖の３’末端オーバーハングとが非対称であることが、ＲＩＳＣプロセスへのガイド鎖挿入に好都合である。

【０２４３】

一実施形態においては、ＲＮＡｉ剤は、長さが１９ヌクレオチドの両端ブラントマー（ｂｌｕｎｔｍｅｒ）であり、このセンス鎖は、５’末端から７、８、９位の三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｆ修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、５’末端から１１、１２、１３位において三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。

【０２４４】

別の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤は、長さが２０ヌクレオチドの両端ブラントマーであり、このセンス鎖は、５’末端から８、９、１０位の三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｆ修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、５’末端から１１、１２、１３位において三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。

【０２４５】

さらに別の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤は、長さが２１ヌクレオチドの両端ブラントマーであり、このセンス鎖は、５’末端から９、１０、１１位の三つの連続するヌクレ

オチド上の三つの２’－Ｆ修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、５’末端から１１、１２、１３位において三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。

【０２４６】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、２１ヌクレオチドのセンス鎖および２３ヌクレオチドのアンチセンス鎖を含み、このセンス鎖は、５’末端から９、１０、１１位の三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｆ修飾の少なくとも一つのモチーフを含有し、アンチセンス鎖は、５’末端から１１、１２、１３位の三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも一つのモチーフを含有し、ＲＮＡｉ剤の一方の末端は、平滑であり、もう一方の末端は、２ヌクレオチドのオーバーハングを含む。好ましくは、２ヌクレオチドのオーバーハングは、アンチセンス鎖の３’末端にある。２ヌクレオチドのオーバーハングが、アンチセンス鎖の３’末端にある場合には、末端の三つのヌクレオチドの間に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結があり得るものであり、該三つのヌクレオチドのうち二つが、オーバーハングヌクレオチドであり、三番目のヌクレオチドが、オーバーハングヌクレオチドに隣接する対合したヌクレオチドである。一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、さらに、センス鎖の５’末端およびアンチセンス鎖の５’末端の両方において末端の三つのヌクレオチドの間に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を有する。一実施形態においては、モチーフの一部であるヌクレオチドを含むＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖内のどのヌクレオチドも、修飾ヌクレオチドである。一実施形態においては、各残基は、独立して、例えば交互モチーフ内において、２’－Ｏ－メチルまたは３’－フルオロで修飾されている。随意に、ＲＮＡｉ剤は、リガンド（例えば、親油性リガンド、随意にＣ１６リガンド）をさらに含む。

【０２４７】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含むものであり、このセンス鎖が、長さが２５～３０ヌクレオチド残基であり、５’末端ヌクレオチド（１位）から開始して、第一の鎖の１位～２３位が、少なくとも８リボヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖が、長さが３６～６６ヌクレオチド残基であり、また３’末端ヌクレオチドから開始して、センス鎖の１～２３位と対合した位置において少なくとも８リボヌクレオチドを含んで二重鎖を形成するものであり、アンチセンス鎖の少なくとも３’末端ヌクレオチドがセンス鎖と対合せず、また最大６の連続する３’末端ヌクレオチドはセンス鎖と対合せず、それによって１～６ヌクレオチドの３’の一本鎖オーバーハングを形成し、アンチセンス鎖の５’末端が、センス鎖と対合しない１０～３０の連続するヌクレオチドを含み、それによって１０～３０ヌクレオチドの一本鎖の５’オーバーハングを形成し、少なくともセンス鎖５’末端および３’末端ヌクレオチドが、センス鎖およびアンチセンス鎖が最大の相補性で整列する場合にアンチセンス鎖のヌクレオチドと塩基対合し、それによってセンス鎖およびアンチセンス鎖間の実質的に二重鎖の領域を形成し、またアンチセンス鎖が、アンチセンス鎖長の少なくとも１９リボヌクレオチドに沿って標的ＲＮＡに対して十分に相補的であり、二本鎖核酸が哺乳類細胞に導入されたときに標的遺伝子発現を低減させ、またセンス鎖が、三つの連続するヌクレオチド上に三つの２’－Ｆ修飾の少なくとも一つのモチーフを含有するものであり、モチーフのうちの少なくとも一つが、切断部位においてまたは切断部位の近傍で生じる。アンチセンス鎖は、切断部位においてまたはその近傍で三つの連続するヌクレオチド上の三つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも一つのモチーフを含有する。

【０２４８】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含み、このＲＮＡｉ剤は、少なくとも２５ヌクレオチドであり最大でも２９ヌクレオチドである長さを有する第一の鎖と、５’末端から１１、１２、１３位において三つの連続するヌクレオチド上の三つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも一つのモチーフをもつ最大でも３０ヌクレオチドである長さを有する第二の鎖を含むものであり、この第一の鎖の３’末端および第二の鎖の５’末端が平滑末端を形成し、また第二の鎖が、その３’末端において第一の鎖よりも

長い１～４ヌクレオチドであるものであり、二重鎖領域が長さが少なくとも２５ヌクレオチドであり、また第二の鎖が、第二の鎖の長さのうちの少なくとも１９ヌクレオチドに沿って標的ｍＲＮＡに対して十分に相補的であり、ＲＮＡｉ剤が哺乳類細胞に導入されたときに標的遺伝子発現を低減するものであり、またＲＮＡｉ剤のＤｉｃｅｒ切断が、優先的に、第二の鎖の３’末端を含むｓｉＲＮＡを結果として生じ、それによって哺乳動物において標的遺伝子の発現が低減する。随意に、ＲＮＡｉ剤は、リガンドをさらに含む。

【０２４９】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の少なくとも一つのモチーフを含有し、そのモチーフのうちの一つは、センス鎖内の切断部位に生じる。

【０２５０】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖もまた、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の少なくとも一つのモチーフを含有することができ、このモチーフのうちの一つは、アンチセンス鎖内の切断部位にまたはその近傍に生じる。

【０２５１】

１７～２３ヌクレオチドの長さの二重鎖領域を有するＲＮＡｉ剤について、アンチセンス鎖の切断部位は、典型的には、５’末端からおよそ１０、１１および１２位である。したがって、三つの同一の修飾のモチーフは、アンチセンス鎖の９、１０、１１位、１０、１１、１２位、１１、１２、１３位、１２、１３、１４位、または１３、１４、１５位において生じ得、この数字はアンチセンス鎖の５’末端から最初のヌクレオチドから開始し、またはこの数字はアンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域の範囲内の最初の対合ヌクレオチドから開始する。アンチセンス鎖内の切断部位はまた、５’末端からのＲＮＡｉの二重鎖領域の長さに応じて変化し得る。

【０２５２】

ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、その鎖の切断部位において三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の少なくとも一つのモチーフを含有し得、またアンチセンス鎖は、鎖の切断部位においてまたはその近傍において三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の少なくとも一つのモチーフを有し得る。センス鎖およびアンチセンス鎖がｄｓＲＮＡ二重鎖を形成する場合には、センス鎖およびアンチセンス鎖は、センス鎖上の三つのヌクレオチドの一つのモチーフおよびアンチセンス鎖上の三つのヌクレオチドの一つのモチーフが、少なくとも一つのヌクレオチドオーバーラップを有するように、すなわち、センス鎖内のモチーフの三つのヌクレオチドの少なくとも一つが、アンチセンス鎖内のモチーフの三つのヌクレオチドの少なくとも一つと塩基対合を形成するように、整列され得る。あるいは、少なくとも二つのヌクレオチドがオーバーラップしてもよく、または三つのヌクレオチドの全てがオーバーラップしてもよい。

【０２５３】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の複数のモチーフを含有し得る。第一のモチーフは、鎖の切断部位においてまたはその近傍に生じ得、またその他のモチーフが、ウイング修飾であり得る。本明細書において「ウイング修飾」という用語は、同一の鎖の切断部位またはその近傍においてモチーフから分離されている鎖の別の部分において生じるモチーフを指す。ウイング修飾は、第一のモチーフに隣接しているか、または少なくとも一つもしくは複数のヌクレオチドで分離されている。モチーフが互いに直ぐ隣に隣接する場合には、モチーフの化学的性質は、互いに別個であり、またモチーフが一つまたは複数のヌクレオチドで分離されている場合には、化学的性質は、同一であることもあり、または異なっていることもある。二つ以上のウイング修飾が存在する場合もある。例えば、二つのウイング修飾が存在する場合には、各ウイング修飾は、切断部位においてもしくはその近傍における第一のモチーフに対して一つの末端において生じ得、またはリードモチーフのいずれかの側で生じ得る。

【０２５４】

センス鎖と同様に、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖は、三つの連続するヌクレオチド上の

三つの同一の修飾の複数のモチーフを含有する場合があり、そのモチーフの少なくとも一つはその鎖の切断部位においてまたはその近傍において生じる。このアンチセンス鎖はまた、センス鎖上に存在し得るウイング修飾と同様のアラインメント内に一つまたは複数のウイング修飾を含有し得る。

【０２５５】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖上のウイング修飾は、典型的には、鎖の３’末端、５’末端または両末端における最初の一つまたは二つの末端ヌクレオチドを含まない。

【０２５６】

別の実施形態では、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖上のウイング修飾は、典型的には、鎖の３’末端、５’末端または両末端における二重鎖領域内の最初の一つまたは二つの対合ヌクレオチドを含まない。

【０２５７】

ＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖が各々、少なくとも一つのウイング修飾を含有する場合には、そのウイング修飾は、二重鎖領域の同一末端に入り得、そして１、２または３ヌクレオチドのオーバーラップを有する。

【０２５８】

ＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖が各々、少なくとも二つのウイング修飾を含有する場合には、センス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれの一本鎖に由来する二つの修飾が、１、２または３ヌクレオチドのオーバーラップを有する二重鎖領域の一方の末端に入り、一本鎖からの二つの修飾がそれぞれ、１、２または３ヌクレオチドのオーバーラップを有する二重鎖領域のうちのもう一方の末端に入り、一本鎖からの二つの修飾が、二重鎖領域内の１、２または３ヌクレオチドのオーバーラップを有するリードモチーフの両側に入るように、整列され得る。

【０２５９】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、標的との、二重鎖内のミスマッチまたはそれらの組合せを含む。ミスマッチは、オーバーハング領域内または二重鎖領域内に生じ得る。塩基対は、解離または融解を促進するそれらがもつ傾向に基づいて格付けされ得る（例えば、特定の対合の会合または解離の自由エネルギーに基づくものであり、最も単純なアプローチとしては、個々の対ごとに対を調べることであるが、次に、隣接するまたは同様の分析も使用可能である）。解離の促進の点では、Ａ：ＵはＧ：Ｃより好ましく、Ｇ：ＵはＧ：Ｃより好ましく、またＩ：ＣはＧ：Ｃより好ましい（Ｉ＝イノシン）。ミスマッチ、例えば、非標準の対合または標準以外の対合（本明細書において別の箇所に記載される）が、標準（Ａ：Ｔ、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｃ）の対合より好ましく、またユニバーサル塩基を含む対合が、標準の対合より好ましい。

【０２６０】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｕ、Ｉ：Ｃの群から独立に選択されるアンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域内の最初の１、２、３、４または５塩基対、および例えば、非標準の対合または標準以外の対合またはユニバーサル塩基を含む対合であるミスマッチ対のうちの少なくとも一つを含み、二重鎖の５’末端においてアンチセンス鎖の解離を促進する。

【０２６１】

一実施形態では、アンチセンス鎖内の５’末端から二重鎖領域内の１位にあるヌクレオチドは、Ａ、ｄＡ、ｄＵ、ＵおよびｄＴからなる群から選択される。あるいは、アンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域内の最初の１、２または３の塩基対のうち少なくとも一つは、ＡＵ塩基対である。例えば、アンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域内の最初の塩基対は、ＡＵ塩基対である。

【０２６２】

別の実施形態においては、センス鎖の３’末端にあるヌクレオチドは、デオキシ－チミン（ｄＴ）で ある。別の実施形態においては、アンチセンス鎖の３’末端にあるヌクレ

オチドは、デオキシ－チミン（ｄＴ）である。一実施形態においては、デオキシ－チミンヌクレオチドの短い配列が存在し、例えばセンス鎖またはアンチセンス鎖の３’末端上の二つのｄＴヌクレオチドが存在する。

【０２６３】

一実施形態では、センス鎖配列は、式（Ｉａ）：

５’η_p－N_a－（ＸＸＸ）$_i$－N_b－ＹＹＹ－N_b－（ＺＺＺ）$_j$－N_a－n_q３’（Ｉａ）

で表され得、

式中、

ｉおよびｊは各々独立に、０または１であり、

ｐおよびｑは各々独立に、０～６であり、

各N_aは独立に、０～２５の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表すものであって、各配列は少なくとも二つの異なるように修飾されたヌクレオチドを含み、

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

各n_pおよびn_qは独立に、オーバーハングヌクレオチドを表すものであり、

式中、Ｎｂおよびｙは、同一の修飾を有さず、ならびに

ＸＸＸ、ＹＹＹおよびＺＺＺは各々独立に、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の一つのモチーフを表す。好ましくは、ＹＹＹは、全て２’－Ｆ修飾ヌクレオチドである。

【０２６４】

一実施形態では、N_aまたはN_bは、交互パターンの修飾を含む。

【０２６５】

一実施形態では、ＹＹＹモチーフは、センス鎖の切断部位においてまたはその近傍に生じる。例えば、ＲＮＡｉ剤が、１７～２３ヌクレオチドの長さの二重鎖領域を有する場合、ＹＹＹモチーフは、センス鎖の切断部位においてまたはその近傍において生じ得（例えば、６、７、８位、７、８、９位、８、９、１０位、９、１０、１１位、１０、１１、１２位、または１１、１２、１３位において生じ得る）、この数字は、５’末端から、最初のヌクレオチドから開始し、または随意に、この数字は、５’末端から、二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドにおいて開始する。

【０２６６】

一実施形態では、ｉは１であり、かつｊは０であり、またはｉは０であり、かつｊは１であり、またはｉおよびｊの両方が１である。したがって、センス鎖は、以下の式、

５’η_p－N_a－ＹＹＹ－N_b－ＺＺＺ－N_a－n_q３’（Ｉｂ）、

５’η_p－N_a－ＸＸＸ－N_b－ＹＹＹ－N_a－n_q３’（Ｉｃ）、または

５’η_p－N_a－ＸＸＸ－N_b－ＹＹＹ－N_b－ＺＺＺ－N_a－n_q３’（Ｉｄ）

で表され得る。

【０２６７】

センス鎖が式（Ｉｂ）で表される場合、N_bは、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０２６８】

各N_aは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し得る。

【０２６９】

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

【０２７０】

センス鎖が式（Ｉｄ）で表される場合、各N_bは独立に、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。好

ましくは、N_bは、０、１、２、３、４、５または６である。各N_aは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し得る。

【０２７１】

Ｘ、ＹおよびＺの各々は、互いに同一であっても、異なっていてもよい。

【０２７２】

他の実施形態では、ｉは０であり、かつｊは０であり、またセンス鎖は、式

５’ n_p－N_a－ＹＹＹ－N_a－n_q３’（Ｉｅ）

で表され得る。

【０２７３】

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

【０２７４】

一実施形態では、ＲＮＡｉのアンチセンス鎖配列は、式（Ｉｆ）：

５’ n_q’－N_a’－（Ｚ’Ｚ’Z_k’）N_b’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_b$－’N_a－（Ｘ’Ｘ’X_l’）N_a’－n_p’３’（Ｉｆ）

で表され得、

式中、

ｋおよびｌは各々独立に、０または１であり、

ｐ’およびｑ’は各々独立に、０～６であり、

各N_a’は独立に、０～２５の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表すものであり、各配列は、少なくとも二つの異なるように修飾されたヌクレオチドを含み、

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

各n_p’およびn_q’は独立に、オーバーハングヌクレオチドを表し、

N_b’およびＹ’は、同一修飾を有さず、

Ｘ’Ｘ’Ｘ’、Ｙ’Ｙ’Ｙ’およびＺ’Ｚ’Ｚ’は各々独立に、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾のうちの一つのモチーフを表す。

【０２７５】

一実施形態では、N_a’またはN_b’は、交互パターンの修飾を含む。

【０２７６】

Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、アンチセンス鎖の切断部位においてまたはその近傍において生じる。例えば、ＲＮＡｉ剤が、１７～２３ヌクレオチドの長さの二重鎖領域を有する場合、Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、アンチセンス鎖の９、１０、１１位、１０、１１、１２位、１１、１２、１３位、１２、１３、１４位、または１３、１４、１５位において生じ得、この数字は、５’末端から、最初のヌクレオチドから開始し、または随意に、この数字は、５’末端から、二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドにおいて開始する。好ましくは、Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、１１、１２、１３位で生じる。

【０２７７】

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

【０２７８】

一実施形態では、ｋは１であり、ｌは０であるか、またはｋは０であり、ｌは１であるか、またはｋおよびｌは両方とも１である。

【０２７９】

したがって、アンチセンス鎖は、以下の式

５’ n_q’－N_a’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’$_b$－’N_a－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_a$－’N_a－n_p’３’（ＩＩｋ）、

５’ n_q’－N_a’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_b$－’N_a－Ｘ’Ｘ’Ｘ’$_p$－’３’（ＩＩｌ）、または

５’ n_q’－N_a’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’$_b$－’N_a－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_b$－’N_a－Ｘ’Ｘ’Ｘ’$_a$－’N_a－n_p’３’（ＩＩｍ）

で表され得る。

【０２８０】

アンチセンス鎖が、式（ＩＩｋ）で表される場合、Ｎｂ’は、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０２８１】

アンチセンス鎖が、式（ＩＩｌ）で表される場合、Ｎｂ’は、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０２８２】

アンチセンス鎖が、式（ＩＩｍ）で表される場合、各Ｎｂ’は独立に、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。好ましくは、Ｎｂは、０、１、２、３、４、５または６である。

【０２８３】

他の実施形態では、ｋは０であり、かつｌは０であり、またアンチセンス鎖は、式

５’ηｐ’－Ｎａ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－ａＮ－ｎｑ’3’（Ｉｅ）

で表され得る。

【０２８４】

アンチセンス鎖が、式（Ｉｊ）で表される場合、各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０２８５】

Ｘ’、Ｙ’およびＺ’の各々は、互いに同一であってもよく、異なっていてもよい。

【０２８６】

センス鎖およびアンチセンス鎖の各ヌクレオチドは、ＬＮＡ、ＨＮＡ、ＣｅＮＡ、２’－メトキシエチル、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－アリル、２’－Ｃ－アリル、２’－ヒドロキシルまたは２’－フルオロで独立に修飾され得る。例えば、センス鎖およびアンチセンス鎖の各ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロで独立に修飾される。各Ｘ、Ｙ、Ｚ、Ｘ’、Ｙ’およびＺ’は、特に２’－Ｏ－メチル修飾または２’－フルオロ修飾を表し得る。

【０２８７】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、二重鎖領域が２１ｎｔである場合に、鎖の９、１０および１１位で生じるＹＹＹモチーフを含有し得、この数字は５’末端から最初のヌクレオチドから開始するか、または随意に、この数字は５’末端から二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドで開始し、またＹは、２’－Ｆ修飾を表す。センス鎖は、二重鎖領域の対向する側の末端においてウイング修飾としてＸＸＸモチーフまたはＺＺＺモチーフをさらに含有し得、またＸＸＸおよびＺＺＺは各々独立に、２’－ＯＭｅ修飾または２’－Ｆ修飾を表す。

【０２８８】

一実施形態では、アンチセンス鎖は、鎖の１１、１２、１３位で生じるＹ’Ｙ’Ｙ’モチーフを含有し得、この数字は５’末端から最初のヌクレオチドから開始し、または随意に、この数字は５’末端から二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドで開始し、またＹ’は、２’－Ｏ－メチル修飾を表す。アンチセンス鎖は、二重鎖領域の対向する側の末端においてウイング修飾としてＸ’Ｘ’Ｘ’モチーフまたはＺ’Ｚ’Ｚ’モチーフをさらに含有し得、またＸ’Ｘ’Ｘ’およびＺ’Ｚ’Ｚ’は各々独立に、２’－ＯＭｅ修飾または２’－Ｆ修飾を表す。

【０２８９】

上記の式（Ｉｅ）、（Ｉｂ）、（Ｉｃ）、および（Ｉｄ）のいずれか一つで表されるセンス鎖は、それぞれ式（Ｉｊ）、（Ｉｋ）、（Ｉｌ）、および（Ｉｍ）のいずれか一つで表されるアンチセンス鎖を伴う二重鎖を形成する。

【０２９０】
したがって、本開示の方法において使用するＲＮＡｉ剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含み得、その各鎖は、１４～３０ヌクレオチドを有し、ＲＮＡｉ二重鎖は、式（Ｉｎ）：
センス：５’ｎｐ－Ｎａ－（ＸＸＸ）ｉ－Ｎｂ－ＹＹＹ－Ｎｂ－（ＺＺＺ）ｊ－Ｎａ－ｎｑ３’
アンチセンス：３’ｎｐ’－Ｎａ’－（Ｘ’Ｘ’Ｘ’）ｋ－Ｎｂ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－（Ｚ’Ｚ’Ｚ’）ｌ－Ｎａ’－ｎｑ’５’（Ｉｎ）
式中、
ｉ、ｊ、ｋおよびｌは各々独立に、０または１であり、
ｐ、ｐ’、ｑおよびｑ’は各々独立に、０～６であり、
各ＮａおよびＮａ’は独立に、０～２５の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも二つの異なるように修飾されたヌクレオチドを含み、
各ＮｂおよびＮｂ’は独立に、０～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、
式中、
各ｎｐ’、ｎｐ、ｎｑ’およびｎｑは、それらの各々が、存在していても存在していなくてもよく、独立して、オーバーハングヌクレオチドを表し、
ＸＸＸ、ＹＹＹ、ＺＺＺ、Ｘ’Ｘ’Ｘ’、Ｙ’Ｙ’Ｙ’およびＺ’Ｚ’Ｚ’は各々独立に、三つの連続するヌクレオチド上の三つの同一の修飾の一つのモチーフを表す。
【０２９１】
一実施形態では、ｉは０であり、かつｊは０であり、またはｉは１であり、かつｊは０であり、またはｉは０であり、かつｊは１であり、またはｉおよびｊは両方とも０であり、またはｉおよびｊは両方とも１である。別の実施形態においては、ｋは０であり、かつｌは０であり、またはｋは１であり、かつｌは０であり、ｋは０であり、かつｌは１であり、またはｋおよびｌは両方とも０であり、またはｋおよびｌは両方とも１である。
【０２９２】
ＲＮＡｉ二重鎖を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖の例示的な組合せは、以下の式を含む。
５’ｎｐ－Ｎａ－ＹＹＹ－Ｎａ－ｎｑ３’
３’ｎｐ’－Ｎａ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－ｎｑ’５’（Ｉｏ）
５’ｎｐ－Ｎａ－ＹＹＹ－Ｎｂ－ＺＺＺ－Ｎａ－ｎｑ３’
３’ｎｐ’－Ｎａ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’－ｎｑ’５’（Ｉｐ）
５’ｎｐ－Ｎａ－ＸＸＸ－Ｎｂ－ＹＹＹ－Ｎａ－ｎｑ３’
３’ｎｐ’－Ｎａ’－Ｘ’Ｘ’Ｘ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－ｎｑ’５’（ＩＩＩｑ）
５’ｎｐ－Ｎａ－ＸＸＸ－Ｎｂ－ＹＹＹ－Ｎｂ－ＺＺＺ－Ｎａ－ｎｑ３’
３’ｎｐ’－Ｎａ’－Ｘ’Ｘ’Ｘ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’－ｎｑ’５’（ＩＩＩｒ）
【０２９３】
ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｏ）で表される場合、各Ｎａは独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。
【０２９４】
ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｐ）で表される場合、各Ｎｂは独立に、１～１０、１～７、１～５、または１～４の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａは独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。
【０２９５】
ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｑ）で表される場合、各Ｎｂ、Ｎｂ’は独立に、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａは独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修

飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０２９６】

ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｒ）で表される場合、各N_b、N_b'は独立に、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２、または０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各N_a、N_a'は独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。N_a、N_a'、N_b、およびN_b'の各々は独立に、交互パターンの修飾を含む。

【０２９７】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｒ）で表される場合には、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチル修飾または２’－フルオロ修飾である。別の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｒ）で表される場合、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、また$n_p' > 0$および少なくとも一つのn_p'は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結する。さらに別の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｒ）で表される場合、N_a修飾は２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、$n_p' > 0$であり、また少なくとも一つのn_p'は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結され、またセンス鎖は、二価または三価の分枝リンカー（以下に記載する）を介して結合した一つまたは複数のＣ１６（またはそれと関連する）部分にコンジュゲートする。別の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｒ）で表される場合、N_a修飾は２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、$n_p' > 0$であり、また少なくとも一つのn_p'は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結され、センス鎖は、少なくとも一つのホスホロチオエート連結を含み、またセンス鎖は、一つまたは複数の親油性部分に、例えばＣ１６（またはそれと関連する）部分にコンジュゲートし、これは随意に二価または三価の分枝リンカーを介して結合してもよい。

【０２９８】

一実施形態においては、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｏ）で表される場合、N_a修飾は２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、$n_p' > 0$であり、また少なくとも一つのn_p'は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結され、センス鎖は、少なくとも一つのホスホロチオエート連結を含み、またセンス鎖は、一つまたは複数の親油性部分に、例えばＣ１６（またはそれと関連する）部分にコンジュゲートし、これは二価または三価の分枝リンカーを介して結合してもよい。

【０２９９】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、式（Ｉｎ）、（Ｉｏ）、（Ｉｐ）、（Ｉｑ）および（Ｉｒ）で表される少なくとも二つの二重鎖を含有する多量体であり、これら二重鎖は、リンカーで接続されている。該リンカーは、切断可能である場合も、切断可能でない場合もある。随意に、多量体は、リガンドをさらに含む。二重鎖の各々は、同一の遺伝子または二つの異なる遺伝子を標的にし得、または二重鎖の各々は、二つの異なる標的部位における同一の遺伝子を標的とし得る。

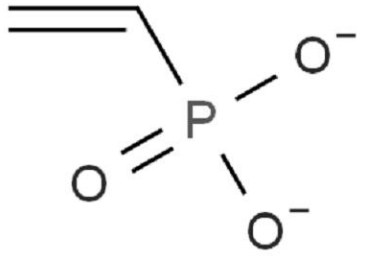
【０３００】

一実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、式（Ｉｎ）、（Ｉｏ）、（Ｉｐ）、（Ｉｑ）および（Ｉｒ）で表される三、四、五、六、またはそれ以上の二重鎖を含有する多量体であり、該二重鎖は、リンカーで接続される。該リンカーは、切断可能である場合も、切断可能でない場合もある。随意に、多量体は、リガンドをさらに含む。二重鎖の各々は、同一の遺伝子または二つの異なる遺伝子を標的にし得、または二重鎖の各々は、二つの異なる標的部位における同一の遺伝子を標的とし得る。

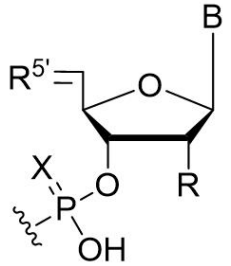
【０３０１】

一実施形態では、式（Ｉｎ）、（Ｉｏ）、（Ｉｐ）、（Ｉｑ）および（Ｉｒ）で表される二つのＲＮＡｉ剤は、５’末端で互いに連結され、また３’末端の一方または両方が、随意にリガンドにコンジュゲートされる。当該剤は各々、同一の遺伝子または二つの異なる遺伝子を標的とし得、または当該剤の各々は、二つの異なる標的部位において同一の遺伝子を標的にし得る。

【０３０２】
種々の公開公報には、本開示の方法において使用され得る多量体ＲＮＡｉ剤が記載されている。当該公開公報としては、国際公開第２００７／０９１２６９号、国際公開第２０１０／１４１５１１号、国際公開第２００７／１１７６８６号、国際公開第２００９／０１４８８７号、および国際公開第２０１１／０３１５２０号、および米国特許第７８５８７６９号が挙げられ、それらの各々の内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。
【０３０３】
特定の実施形態では、本開示の組成物および方法は、本明細書において記載するようなＲＮＡｉ剤のビニルホスホネート（ＶＰ）修飾を含む。例示的実施形態では、本開示のビニルホスホネートは、以下の構造を有する。
【化１】



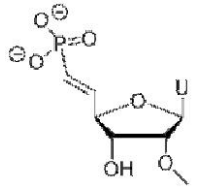
【０３０４】
例示的な実施形態においては、本開示の５’ビニルホスホネート修飾ヌクレオチドが、以下の構造を有し、
【化２】



式中、ＸはＯまたはＳであり、
Ｒは、水素、ヒドロキシ、フルオロ、またはＣ$_{1-20}$アルコキシ（例えば、メトキシまたはｎ－ヘキサデシルオキシ）であり、
Ｒ$^{5'}$は、＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$であり、またＣ５’炭素とＲ$^{5'}$との間の二重結合が、Ｅ配座またはＺ配座（例えば、Ｅ配座）であり、また
Ｂは、核酸塩基または修飾核酸塩基であり、随意に、Ｂは、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、またはウラシルである。
【０３０５】
一実施形態では、Ｒ$^{5'}$は、＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$であり、Ｃ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥ配座である。別の実施形態では、Ｒは、メトキシであり、またＲ$^{5'}$は、＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$であり、またＣ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥ配座である。別の実施形態では、Ｘは、Ｓであり、Ｒは、メトキシであり、またＲ$^{5'}$は、＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$であり、またＣ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥ配座である。
【０３０６】
本開示のビニルホスホネートは、本開示のｄｓＲＮＡのアンチセンスまたはセンス鎖のいずれかに結合し得る。ある特定の好ましい実施形態では、本開示のビニルホスホネートを、適宜、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖の５’端でｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖に付着させる。ｄｓＲＮＡｉ剤は、センス鎖またはアンチセンス鎖の５’末端においてリン含有基

を含み得る。５’末端リン含有基は、５’末端ホスフェート（５’－Ｐ）、５’末端ホスホロチオエート（５’－ＰＳ）、５’末端ホスホロジチオエート（５’－ＰＳ２）、５’末端ビニルホスホネート（５’－ＶＰ）、５’末端メチルホスホネート（ＭＭｅＰｈｏｓ）、または５’－デオキシ－５’－Ｃ－マロニルであり得る。５’末端リン含有基が５’末端ビニルホスホネート（５’－ＶＰ）である場合、５’－ＶＰは、５’－Ｅ－ＶＰ異性体（すなわち、トランス－ビニルホスホネート、

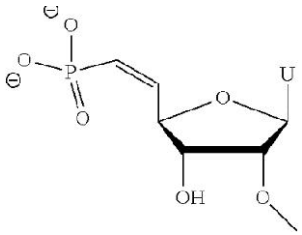
【化３】



）、

５’－Ｚ－ＶＰ異性体（すなわち、シス－ビニルホスホネート、

【化４】



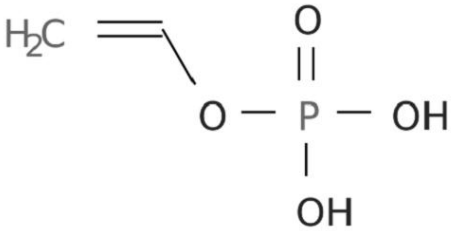
）、

またはそれらの混合物のいずれかであり得る。

【０３０７】

本開示の組成物および方法のためにビニルホスフェート修飾も企図される。例示的ビニルホスフェート構造は以下の通りである。

【化５】



【０３０８】

別の例示的なビニルホスフェート構造は、前述した構造を含み、式中、$R^{5'}$は＝Ｃ（Ｈ）－ＯＰ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$ であり、またＣ５’炭素および$R^{5'}$間の二重結合は、Ｅ配座またはＺ配座（例えば、Ｅ配座）である。例えば、リン酸模倣体が５’－ビニルホスフェートである場合、５’末端ヌクレオチドは、ホスホネート基がリン酸によって置換される隣接構造（ｉｍｍｅｄｉａｔｅｌｙ　ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ）を有することができる。

【０３０９】

ｉ．熱不安定化修飾

特定の実施形態においては、アンチセンス鎖のシード領域（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位において）中に熱不安定化修飾を組み込んで、オフターゲット遺伝子サイレンシングを低減または阻害することによって、ｄｓＲＮＡ分子をＲＮＡ干渉のために最適化できる。アンチセンス鎖の５’末端から数えて最初の９ヌクレオチドの位置内にある二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾を含むアンチセンス鎖を有するｄｓＲＮＡ

が、オフターゲット遺伝子サイレンシング活性を低減したことを発見した。したがって、一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖の５’領域の最初の９ヌクレオチドの位置内に、二重鎖の少なくとも一つ（例えば、一つ、二つ、三つ、四つ、五つまたはそれより多い）の熱不安定化修飾を含む。一部の実施形態では、一つまたは複数の二重鎖の熱不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’末端から２～９位、または好ましくは４～８位に位置する。一部のさらなる実施形態では、二重鎖の熱不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’末端から６、７または８位に位置する。さらに一部のさらなる実施形態においては、二重鎖の熱不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’末端から７位に位置する。「熱不安定化修飾」という用語は、そうした修飾を有していないｄｓＲＮＡの融解温度（Ｔｍ）よりも、好ましくは一度、二度、三度または四度低い、より低い全体的な融解温度（Ｔｍ）を有するｄｓＲＮＡをもたらすこととなる修飾を含む。一部の実施形態においては、二重鎖の熱不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’末端から２、３、４、５または９位に位置する。

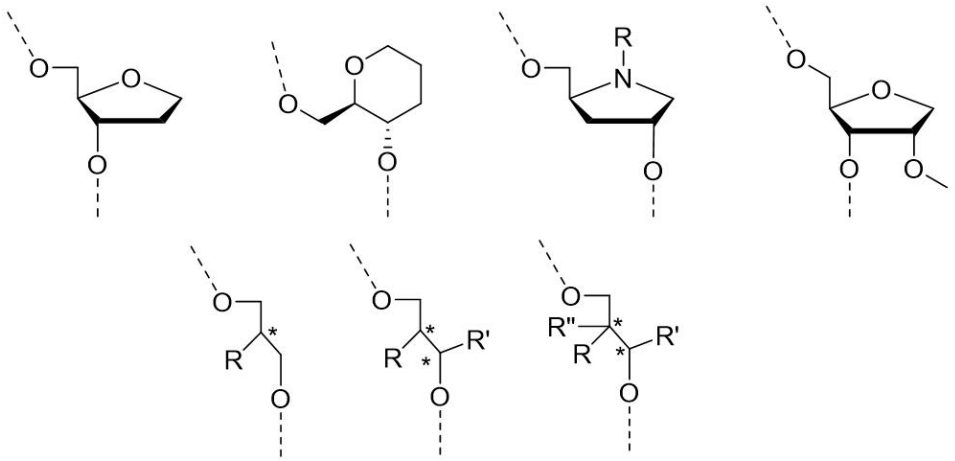
【０３１０】

熱不安定化修飾としては、これらに限らないが、脱塩基修飾、対向する鎖における対向するヌクレオチドとのミスマッチ、および糖修飾、例えば、２’－デオキシ修飾または非環式ヌクレオチド、例えば、アンロック核酸（ＵＮＡ）またはグリコール核酸（ＧＮＡ）を挙げることができる。

【０３１１】

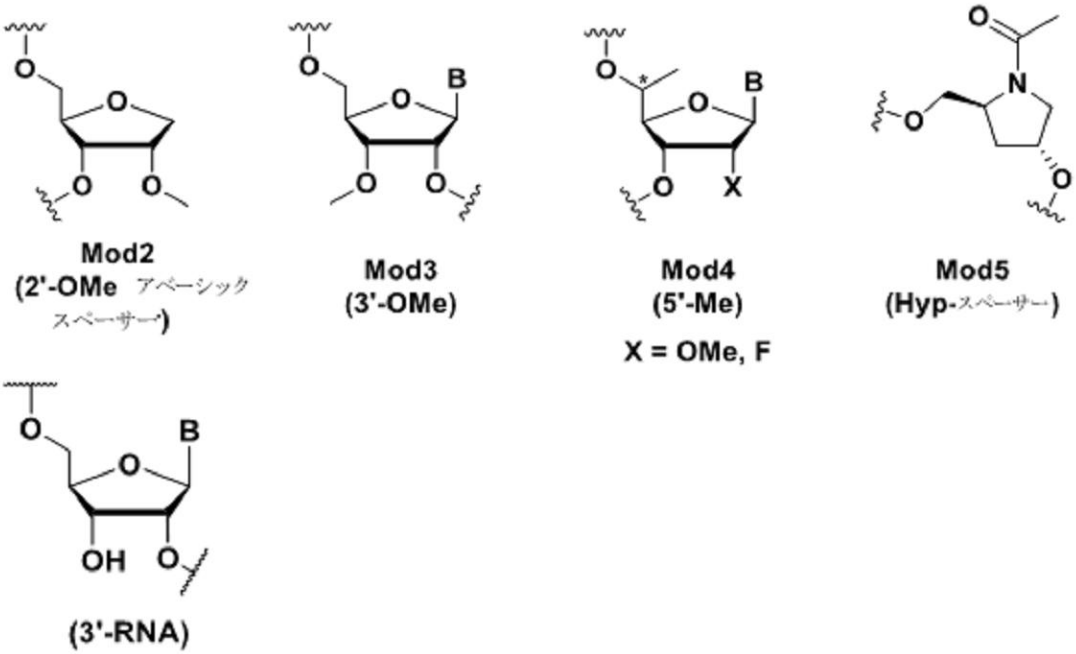
例示の脱塩基修飾としては、これに限定されないが、以下が挙げられ、

【化６】



式中、Ｒ＝Ｈ、Ｍｅ、ＥｔまたはＯＭｅ、Ｒ’＝Ｈ、Ｍｅ、ＥｔまたはＯＭｅ、Ｒ”＝Ｈ、Ｍｅ、ＥｔまたはＯＭｅ

【化７】

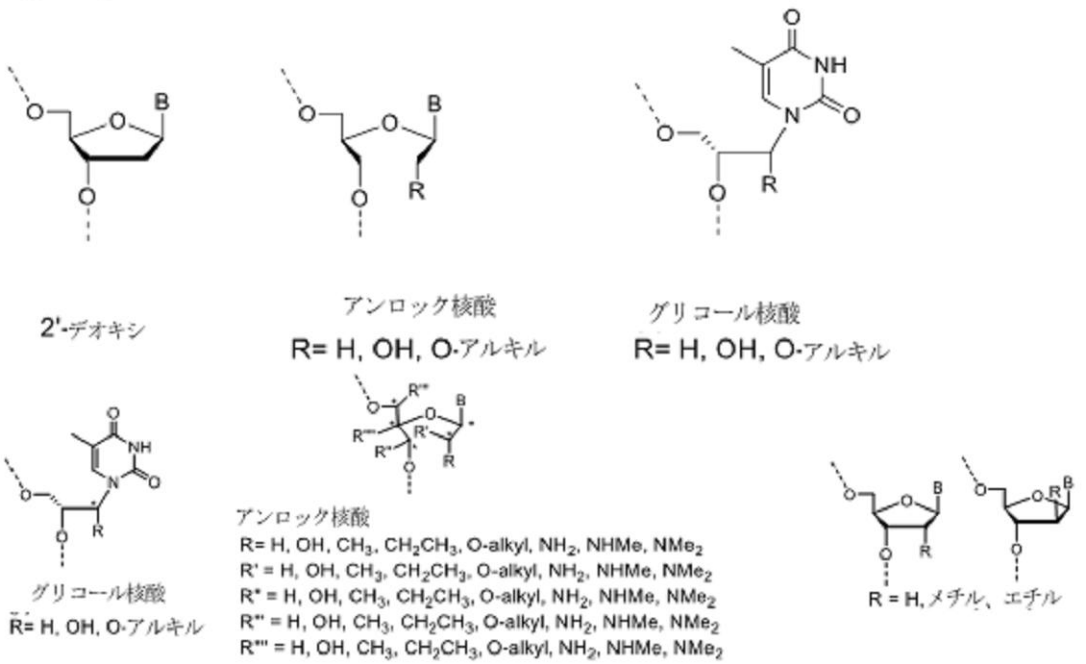


式中、Ｂは、修飾または未修飾の核酸塩基である。

【０３１２】

例示の糖修飾としては、これに限定されないが、以下が挙げられ、

【化８】

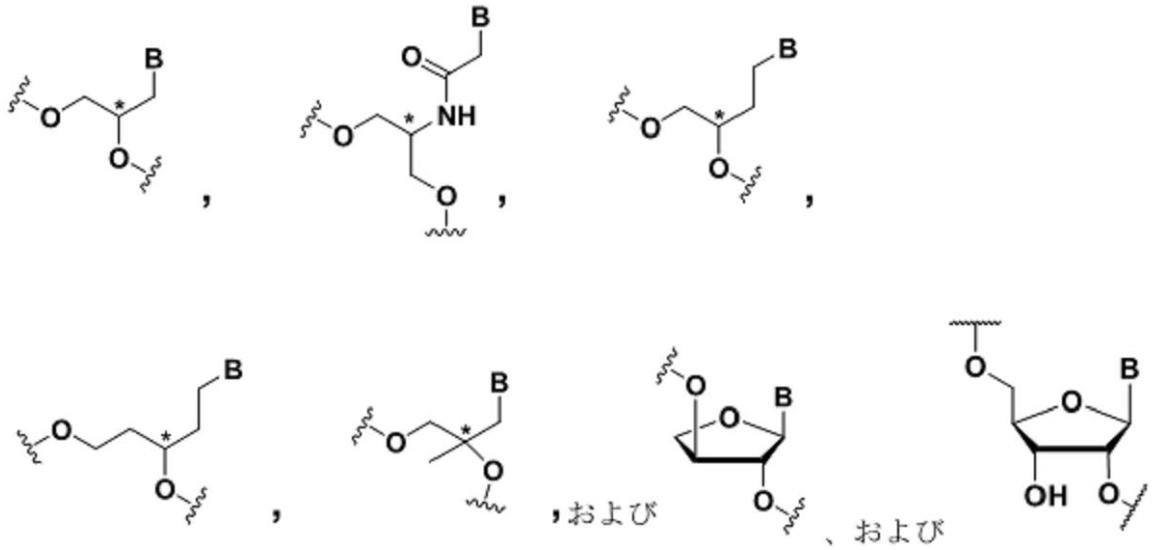


式中、Ｂは、修飾または未修飾の核酸塩基である。

【０３１３】

一部の実施形態では、二重鎖の熱不安定化修飾は、以下からなる群から選択され：

【化９】

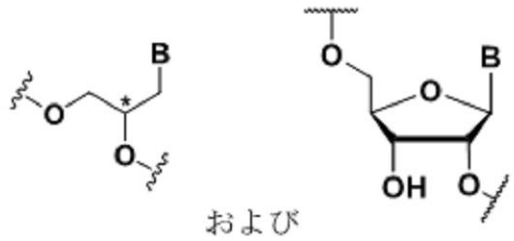


式中、Ｂは、修飾または未修飾の核酸塩基であり、また各構造上のアスタリスクは、Ｒ、Ｓまたはラセミ体のいずれかを表す。

【０３１４】

一部の実施形態では、二重鎖の熱不安定化修飾は、以下からなる群から選択され：

【化１０】

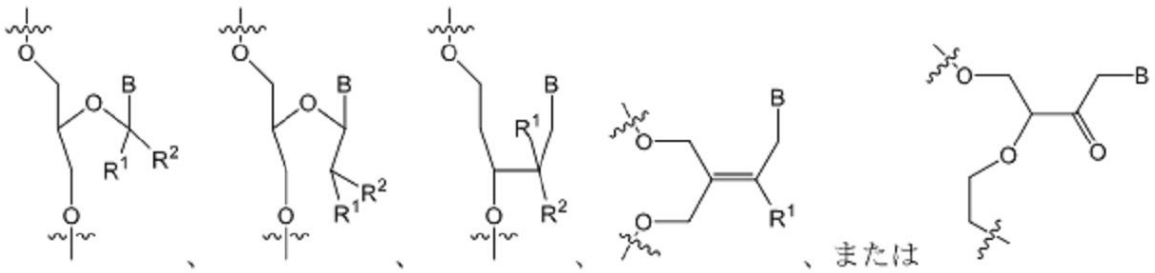


式中、Ｂは、修飾または未修飾の核酸塩基であり、またアスタリスクは、Ｒ、Ｓまたはラセミ体（例えば、Ｓ）のいずれかを表す。

【０３１５】

用語「非環式ヌクレオチド」は、非環式のリボース糖を有する任意のヌクレオチドを指し、例えばリボース炭素環の結合（例えば、Ｃ１’－Ｃ２’、Ｃ２’－Ｃ３’、Ｃ３’－Ｃ４’、Ｃ４’－Ｏ４’、またはＣ１’－Ｏ４’）のいずれかが、存在しないか、またはリボース炭素もしくは酸素のうち少なくとも一方（例えば、Ｃ１’、Ｃ２’、Ｃ３’、Ｃ４’、またはＯ４’）が独立に、もしくは組み合わせて、ヌクレオチドに存在しないものである。一部の実施形態では、非環式ヌクレオチドは

【化１１】



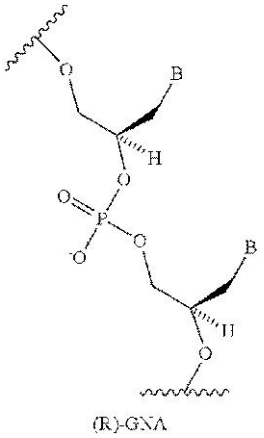
であり、Ｂは、修飾または未修飾の核酸塩基であり、R^1およびR^2は、独立して、Ｈ、ハロゲン、OR_3またはアルキルであり、またR_3は、Ｈ、アルキル、シクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、または糖である）。「ＵＮＡ」という用語は、

糖の結合のいずれかが除去されて、アンロック「糖」残基を形成するものである、非環式のアンロック核酸を指す。一実施例では、ＵＮＡはまた、Ｃ１’－Ｃ４’間の結合が除去されているモノマーを包含する（すなわち、Ｃ１’炭素とＣ４’炭素との間の炭素－酸素－炭素の共有結合）。別の実施例では、糖のＣ２’－Ｃ３’結合（すなわち、Ｃ２’炭素とＣ３’炭素との間の炭素－炭素の共有結合）が除去される（Ｍｉｋｈａｉｌｏｖ　ｅｔ．ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，２６（１７）：２０５９（１９８５）、およびＦｌｕｉｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｓｙｓｔ．，１０：１０３９（２００９）を参照されたく、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。非環式誘導体は、ワトソン－クリック対合に影響を及ぼすことなく、より大きな骨格柔軟性を与える。非環式ヌクレオチドは、２’－５’または３’－５’連結を介して連結され得る。

【０３１６】

「ＧＮＡ」という用語は、グリコール核酸を指し、これはＤＮＡまたはＲＮＡと類似のポリマーであるが、ホスホジエステル結合によって連結された反復するグリセロール単位から構成される点でその「骨格」の組成が異なる。

【化１２】



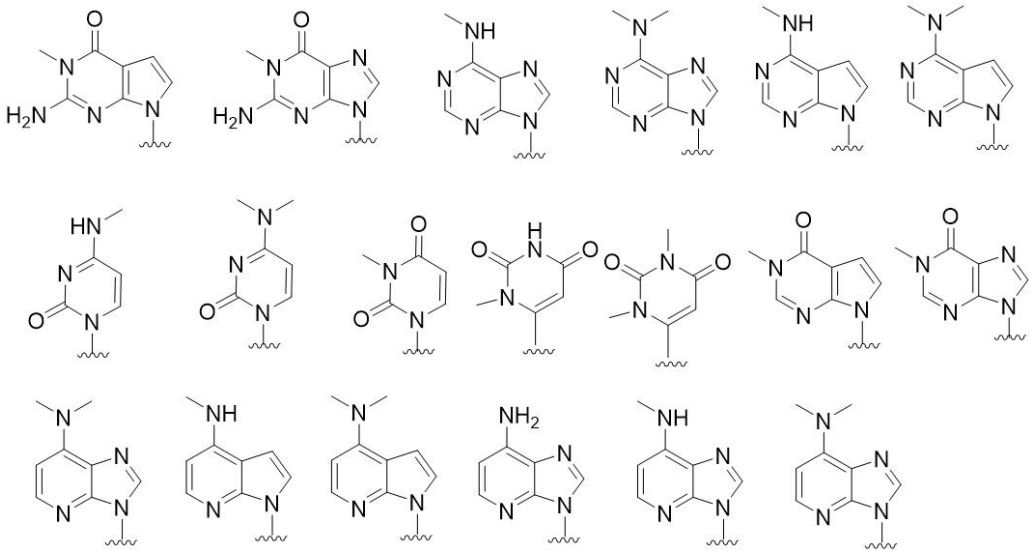
【０３１７】

二重鎖の熱不安定化修飾は、熱的不安定化ヌクレオチドと、ｄｓＲＮＡ二重鎖内の対向する鎖内の対向するヌクレオチドとの間のミスマッチ（すなわち、非相補的な塩基対）であり得る。例示的なミスマッチ塩基対としては、Ｇ：Ｇ、Ｇ：Ａ、Ｇ：Ｕ、Ｇ：Ｔ、Ａ：Ａ、Ａ：Ｃ、Ｃ：Ｃ、Ｃ：Ｕ、Ｃ：Ｔ、Ｕ：Ｕ、Ｔ：Ｔ、Ｕ：Ｔ、またはそれらの組み合わせが挙げられる。当技術分野で公知の他のミスマッチ塩基対合も本発明に従う。ミスマッチは、天然に存在するヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドのいずれかであるヌクレオチドの間に生じ得、すなわち、ミスマッチ塩基対合は、ヌクレオチドのリボース糖上の修飾とは独立してそれぞれのヌクレオチドに由来する核酸塩基間で生じ得る。特定の実施形態においては、ｄｓＲＮＡ分子は、２’－デオキシ核酸塩基であるミスマッチ対合内の少なくとも一つの核酸塩基を含有し、例えば２’－デオキシ核酸塩基は、センス鎖内にある。

【０３１８】

一部の実施形態においては、アンチセンス鎖のシード領域内の二重鎖の熱不安定化修飾は、標的ｍＲＮＡ上の相補的塩基とのＷ－Ｃ　Ｈ結合が損なわれたヌクレオチドを含み、例えば以下のものである。

【化１３】



脱塩基ヌクレオチド、非環式ヌクレオチド修飾（ＵＮＡおよびＧＮＡを含む）およびミスマッチ修飾のより多くの例は、国際公開第２０１１／１３３８７６号に詳細に記載されており、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

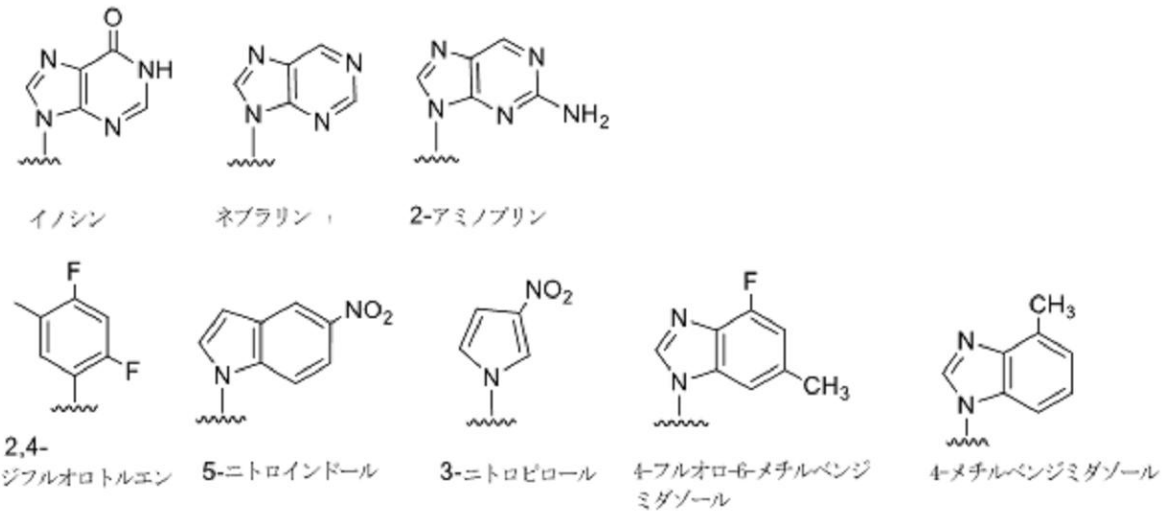
【０３１９】

熱不安定化修飾はまた、対向し合う塩基と水素結合を形成する能力が低減または消失したユニバーサル塩基およびリン酸修飾を含み得る。

【０３２０】

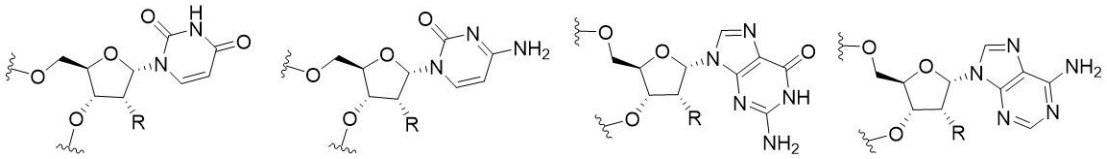
一部の実施形態では、二重鎖の熱不安定化修飾には、非標準塩基を有するヌクレオチド、例えばこれに限定されないが、対向する鎖内の塩基と水素結合を形成する能力が損なわれた、または完全に消失した核酸塩基修飾が含まれる。これら核酸塩基修飾は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第２０１０／００１１８９５号に記載されるように、ｄｓＲＮＡ二重鎖の中心領域の不安定化について評価されている。例示的な核酸塩基の修飾としては、以下がある：

【化１４】



一部の実施形態では、アンチセンス鎖のシード領域内の二重鎖の熱不安定化修飾としては、標的ｍＲＮＡ上の塩基と相補的である一つまたは複数のα－ヌクレオチドを含み、例えば以下があり：

【化１５】

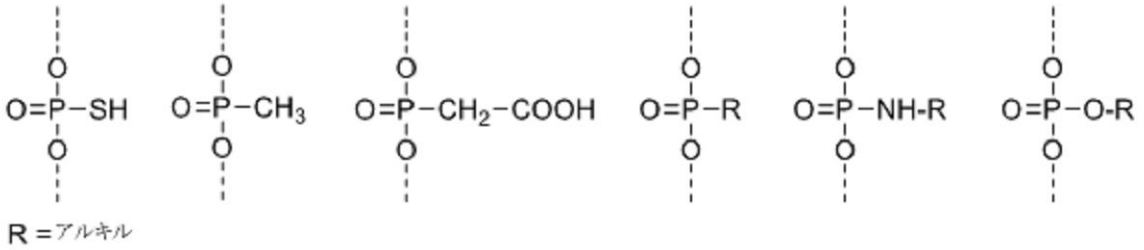


式中、Ｒは、Ｈ、ＯＨ、ＯＣＨ$_3$、Ｆ、ＮＨ$_2$、ＮＨＭｅ、ＮＭｅ$_2$またはＯ－アルキルである。

【０３２１】

天然のホスホジエステル連結と比較して、ｄｓＲＮＡ二重鎖の熱的安定性を低下させることがわかっている例示的なリン酸修飾としては以下のものがある：

【化１６】



Ｒ基のアルキルは、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり得る。Ｒ基の具体的なアルキルとしては、これに限定されないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ペンチルおよびヘキシルが挙げられる。

【０３２２】

当業者が認識することとなるように、核酸塩基の機能的役割が本開示のＲＮＡｉ剤の特異性を規定しているということを考慮して、核酸塩基修飾は本明細書に記載するような種々の手法で、例えばオフターゲット効果に対してオンターゲット効果を増強する目的のために、例えば本開示のＲＮＡｉ剤に不安定化修飾を導入することを実施することが可能であるが、利用可能であって、概して本開示のＲＮＡｉ剤上に存在する修飾の範囲は、例えばポリリボヌクレオチドの糖基またはホスフェート骨格に対する修飾である非核酸塩基修飾に対してずっと大きい傾向がある。こうした修飾は、本開示の他の項でより詳細に記載するものであり、また本明細書において上記または他の場所で記載されるような天然の核酸塩基または修飾核酸塩基のいずれかを有する本開示のＲＮＡｉ剤のために明確に企図される。

【０３２３】

ｄｓＲＮＡはまた、熱不安定化修飾を含むアンチセンス鎖に加えて、一つまたは複数の安定化修飾を含み得る。例えばｄｓＲＮＡは、少なくとも二つ（例えば、二つ、三つ、四つ、五つ、六つ、七つ、八つ、九つ、十またはそれ以上）の安定化修飾を含み得る。限定するものではないが、安定化修飾は全て、一方の鎖内に存在し得る。一部の実施形態では、センスおよびアンチセンス鎖の両方が、少なくとも二つの安定化修飾を含む。安定化修飾は、センス鎖またはアンチセンス鎖のいずれかのヌクレオチドで生じ得る。例えば、安定化修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上のどのヌクレオチド上でも生じ得、各安定化修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上で交互パターン内で生じ得、またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は、交互パターン内で両方の安定化修飾を含む。センス鎖上の安定化修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖と同一である場合も異なっている場合もあり、またセンス鎖上の安定化修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖上の安定化修飾の交互パターンに対して相対的な移動がある場合がある。

【０３２４】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、少なくとも二つ（例えば、二つ、三つ、四つ、五つ、六つ、七つ、八つ、九つ、十またはそれ以上）の安定化修飾を含む。限定される

ものではないが、アンチセンス鎖内の安定化修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から２、６、８、９、１４および１６位に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から２、６、１４および１６位に安定化修飾を含む。さらに一部の他の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から２、１４、および１６位に安定化修飾を含む。

【０３２５】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、不安定化修飾に隣接する少なくとも一つの安定化修飾を含む。例えば、安定化修飾は、不安定化修飾の５’末端または３’末端にある、すなわち、不安定化修飾の位置から－１位または＋１位にある、ヌクレオチドであり得る。一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の５’末端および３’末端の各々にある、すなわち、不安定化修飾の位置から－１位および＋１位にある、安定化修飾を含む。

【０３２６】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の３’末端にある、すなわち、不安定化修飾の位置から＋１位および＋２位にある、少なくとも二つの安定化修飾を含む。

【０３２７】

一部の実施形態では、センス鎖は、少なくとも二つ（例えば、二つ、三つ、四つ、五つ、六つ、七つ、八つ、九つ、十またはそれ以上）の安定化修飾を含む。限定されるものではないが、センス鎖内の安定化修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態では、センス鎖は、５’末端から７、１０および１１位に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態では、センス鎖は、５’末端から７、９、１０および１１位に安定化修飾を含む。一部の実施形態では、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’末端から数えて、アンチセンス鎖の１１、１２および１５位に対して対向する位置または相補的な位置に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態では、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’末端から数えて、アンチセンス鎖の１１、１２、１３および１５位に対して対向する位置または相補的な位置に安定化修飾を含む。一部の実施形態では、センス鎖は、二つ、三つまたは四つの安定化修飾のブロックを含む。

【０３２８】

一部の実施形態では、センス鎖は、アンチセンス鎖内の二重鎖の熱不安定化修飾に対向する位置または相補的な位置に安定化修飾を含まない。

【０３２９】

例示的な熱的安定化修飾としては、これに限定されないが、２’－フルオロ修飾が挙げられる。他の熱的安定化修飾としては、これに限定されないが、ＬＮＡが挙げられる。

【０３３０】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡは、少なくとも四つ（例えば、四つ、五つ、六つ、七つ、八つ、九つ、十またはそれ以上）の２’－フルオロヌクレオチドを含む。これに限定されないが、２’－フルオロヌクレオチドは全て、一方の鎖内に存在し得る。一部の実施形態では、センスおよびアンチセンス鎖の両方が、少なくとも二つの２’－フルオロヌクレオチドを含む。２’－フルオロ修飾は、センス鎖またはアンチセンス鎖のいずれかのヌクレオチド上で生じ得る。例えば、２’－フルオロ修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上のどのヌクレオチド上でも生じる得、各２’－フルオロ修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上の交互パターンにおいて生じ得、またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は、両方とも交互パターンにおいて２’－フルオロ修飾を含む。センス鎖上の２’－フルオロ修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖と同一である場合も異なっている場合もあり、またセンス鎖上の２’－フルオロ修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖上の２’－フルオロ修飾の交互パターンに対して相対的な移動があり得る。

【０３３１】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、少なくとも二つ（例えば、二つ、三つ、四つ、五つ、六つ、七つ、八つ、九つ、十またはそれ以上）の２’－フルオロヌクレオチドを

含む。これに限定されるものではないが、アンチセンス鎖内の２’－フルオロ修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から２、６、８、９、１４、および１６位に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の他の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から２、６、１４、および１６位に２’－フルオロヌクレオチドを含む。さらに一部の他の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から２、１４および１６位に２’－フルオロヌクレオチドを含む。

【０３３２】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、不安定化修飾に隣接する少なくとも一つの２’－フルオロヌクレオチドを含む。例えば、２’－フルオロヌクレオチドは、不安定化修飾の５’末端または３’末端にある、すなわち、不安定化修飾の位置から－１位または＋１位の位置にある、ヌクレオチドであり得る。一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の５’末端および３’末端の各々に、すなわち、不安定化修飾の位置から－１および＋１位の位置に、２’－フルオロヌクレオチドを含む。

【０３３３】

一部の実施形態においては、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の３’末端に、すなわち、不安定化修飾の位置から＋１および＋２位に、少なくとも二つの２’－フルオロヌクレオチドを含む。

【０３３４】

一部の実施形態においては、センス鎖は、少なくとも二つ（例えば、二つ、三つ、四つ、五つ、六つ、七つ、八つ、九つ、十またはそれ以上）の２’－フルオロヌクレオチドを含む。これに限定されるものではないが、センス鎖内の２’－フルオロ修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態では、アンチセンスは、５’末端から７、１０および１１位に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の他の実施形態では、センス鎖は、５’末端から７、９、１０および１１位に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’末端から数えて、アンチセンス鎖の１１、１２および１５位に対して対向する位置または相補的な位置に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の他の実施形態では、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’末端から数えて、アンチセンス鎖の１１、１２、１３および１５位に対して対向する位置または相補的な位置に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、センス鎖は、二つ、三つまたは四つの２’－フルオロヌクレオチドのブロックを含む。

【０３３５】

一部の実施形態においては、センス鎖は、アンチセンス鎖内の二重鎖の熱不安定化修飾に対向する位置または相補的な位置に２’－フルオロヌクレオチドを含まない。

【０３３６】

一部の実施形態においては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、２１ヌクレオチド（ｎｔ）のセンス鎖と２３ヌクレオチド（ｎｔ）のアンチセンスとを含み、該アンチセンス鎖は少なくとも一つの熱不安定化ヌクレオチドを含有し、該少なくとも一つの熱不安定化ヌクレオチドはアンチセンス鎖のシード領域（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位にある）内で生じるものであり、ｄｓＲＮＡの一方の末端が平滑である一方で他方の末端は２ｎｔのオーバーハングを含み、またｄｓＲＮＡは随意に、少なくとも一つ（例えば、一つ、二つ、三つ、四つ、五つ、六つまたは７つ全て）の以下の特徴をさらに含むものである：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フ ルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエート ヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、および（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’末端に平滑末端を含む。好ましくは、２ｎｔのオーバーハングは、アンチセンスの３’末端にある。

【０３３７】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含み、該センス鎖は２５～３０ヌクレオチド残基の長さであり、５’末端ヌクレオチド（１位）から開始して、当該センス鎖の１から２３位が少なくとも８のリボヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は３６～６６ヌクレオチド残基の長さであり、また３’末端ヌクレオチドから開始して、当該位置における少なくとも８のリボヌクレオチドがセンス鎖の１～２３位と対合して二重鎖を形成し、アンチセンス鎖の少なくとも３’末端のヌクレオチドはセンス鎖と対合せず、また最大６つの連続する３’末端ヌクレオチドは、センス鎖と対合せず、それによって１～６ヌクレオチドの３’の一本鎖オーバーハングを形成し、アンチセ　ンス鎖の５’末端は、センス鎖と対合しない１０～３０の連続するヌクレオチドから構成され、それによって１０～３０ヌクレオチドの一本鎖５’オーバーハングを形成し、少なくともセンス鎖５’末端および３’末端ヌクレオチドは、センスおよびアンチセンス鎖が相補性が最大となるようにアラインされる場合にアンチセンス鎖のヌクレオチドと塩基対合し、それによってセンスおよびアンチセンス鎖の間に実質的に二重鎖の領域を形成し、またアンチセンス鎖は、アンチセンス鎖の長さの少なくとも１９リボヌクレオチドに沿って標的ＲＮＡと十分に相補的であり、当該二本鎖の核酸が哺乳類細胞に導入されたときに標的遺伝子発現を低減させ、またアンチセンス鎖は、少なくとも一つの熱的不安定化ヌクレオチドを含有し、少なくとも一つの熱的不安定化ヌクレオチドは、アンチセンス鎖のシード領域内（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位に）にある。例えば、熱的不安定化ヌクレオチドは、センス鎖の５’末端の１４～１７位に対向する位置または相補的な位置の間で生じ、またｄｓＲＮＡは、随意に、以下の特徴のうちの少なくとも一つ（例えば、一つ、二つ、三つ、四つ、五つ、六つまたは７つ全て）をさらに有する：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４、または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４、または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、および（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも四つの２’－フルオロ修飾を含む、および（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～３０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む。

【０３３８】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含み、該ｄｓＲＮＡ分子は、少なくとも２５ヌクレオチドであり最大で２９ヌクレオチドである長さを有するセンス鎖と、最大３０ヌクレオチドの長さであるアンチセンス鎖とを含み、このセンス鎖は、５’末端から１１位にある酵素分解に感受性がある修飾ヌクレオチドを含むものであり、当該センス鎖の３’末端と当該アンチセンス鎖の５’末端とが平滑末端を形成し、そして当該アンチセンス鎖は、その３’末端においてセンス鎖よりも１～４ヌクレオチド長いものであり、二重鎖領域は少なくとも２５ヌクレオチドの長さであり、また該アンチセンス鎖は、該アンチセンス鎖の少なくとも１９ｎｔに沿って標的ｍＲＮＡに対して十分に相補的であり、当該ｄｓＲＮＡ分子が哺乳類細胞に導入されたときに標的遺伝子発現を低減させ、また該ｄｓＲＮＡのＤｉｃｅｒ切断が、優先的に、当該アンチセンス鎖の当該３’末端を含むｓｉＲＮＡを結果としてもたらし、それによって哺乳動物において標的遺伝子の発現が低減されるものであり、該アンチセンスは、少なくとも一つの熱的不安定化ヌクレオチドを含有し、この少なくとも一つの熱的不安定化ヌクレオチドは、アンチセンスのシード領域内（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位に）にあり、またｄｓＲＮＡは随意に、以下の特徴のうちの少なくとも一つ（例えば、一つ、二つ、三つ、四つ、五つ、六つまたは７つ全て）をさらに有する：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４、または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４、または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、また（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも四つ

の２’－フルオロ修飾を含む、また（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～２９ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を有する。

【０３３９】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のセンス鎖およびアンチセンス鎖内のどのヌクレオチドも修飾され得る。各ヌクレオチドは、同一または異なる修飾で修飾され得、当該修飾としては、非連結ホスフェート酸素の一方もしくは両方の、または連結ホスフェート酸素の一つもしくは複数のうちの一つまたは複数の変更、リボース糖の構成成分の変更、例えば、リボース糖上の２’ヒドロキシルの変更、ホスフェート部分の「脱リン酸化」リンカーでの大規模な置換、天然に存在する塩基の修飾または置換、およびリボースホスフェート骨格の置換または修飾が挙げられ得る。

【０３４０】

核酸はサブユニットのポリマーであるので、修飾の多くは、核酸内で反復される位置で生じ、例えば、塩基またはホスフェート部分、またはホスフェート部分の非連結のＯの修飾である。一部の場合においては、修飾は、核酸中の対象位置の全てにおいて生じることとなるが、多くの場合、生じることとならない。例として、修飾は、３’末端または５’末端の位置においてのみ生じ得、末端領域においてのみ生じ得、例えば、鎖の末端ヌクレオチド上の位置、または鎖の最後の２、３、４、５もしくは１０ヌクレオチドにおいて生じ得る。修飾は、二本鎖領域、一本鎖領域または両方において生じ得る。修飾は、ＲＮＡの二本鎖領域内においてのみ生じ得、またはＲＮＡの一本鎖領域内においてのみ生じ得る。例えば、非連結のＯの位置でのホスホロチオエート修飾は、一方または両方の末端でのみ生じ得る、末端領域においてのみ、例えば、鎖の末端ヌクレオチド上の位置または最後の２、３、４、５もしくは１０ヌクレオチド内において生じ得る、または二本鎖および一本鎖領域において、特に末端において、生じ得る。５’末端をリン酸化することが可能である。

【０３４１】

それにより、例えば、安定性を増強すること、オーバーハング内に特定の塩基を含めること、または一本鎖のオーバーハング内、例えば、５’オーバーハングもしくは３’オーバーハング内、または両オーバーハング内に、修飾ヌクレオチドもしくはヌクレオチド代替物を含めることが可能であり得る。例えば、オーバーハング内にプリンヌクレオチドを含めることが望ましいものであり得る。一部の実施形態では、３’オーバーハングまたは５’オーバーハング内の塩基の全てまたは一部が、例えば、本明細書において記載する修飾で修飾され得る。修飾は、例えば、当技術分野で公知である修飾でのリボース糖の２’位における修飾の使用、例えば、核酸塩基のリボ糖の代わりに修飾された、デオキシリボヌクレオチド、２’－デオキシ－２’－フルオロ（２’－Ｆ）または２’－Ｏ－メチルの使用、およびホスフェート基における修飾、例えば、ホスホロチオエート修飾、を含み得る。オーバーハングは、標的配列と相同である必要はない。

【０３４２】

一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、ＬＮＡ、ＨＮＡ、ＣｅＮＡ、２’－メトキシエチル、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－アリル、２’－Ｃ－アリル、２’－デオキシまたは２’－フルオロで独立に修飾される。これら鎖は、二つ以上の修飾を含有し得る。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロで独立に修飾される。これら修飾は、アンチセンス鎖内に存在する二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾に付加されるということを理解されたい。

【０３４３】

少なくとも二つの異なる修飾が、典型的には、センス鎖およびアンチセンス鎖上に存在する。それらの二つの修飾は、２’－デオキシ、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾、非環式ヌクレオチドなどであり得る。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は各々、２’－Ｏ－メチルまたは２’－デオキシから選択される二つの異なるように修飾されたヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の

各残基は、独立して、２’－Ｏ－メチルヌクレオチド、２’－デオキシヌクレオチド、２’－デオキシ－２’－フルオロヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）ヌクレオチド、または２’－アラ－Ｆヌクレオチド（２’－ａｒａ－Ｆ　ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ）で修飾される。ここでも、これら修飾は、アンチセンス鎖内に存在する二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾に付加されるということを理解されたい。

【０３４４】

一部の実施形態においては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、特にＢ１、Ｂ２、Ｂ３、Ｂ１’、Ｂ２’、Ｂ３’、Ｂ４’領域における、交互パターンの修飾を含む。「交互モチーフ」または「交互パターン」という用語は、本明細書で使用する場合、一つまたは複数の修飾を有するモチーフを指し、各修飾は、一本鎖の交互ヌクレオチド上で生じる。交互ヌクレオチドとは、一つ置きのヌクレオチド毎に一つまたは三つのヌクレオチド毎に一つまたは類似のパターンを指し得る。例えばＡ、ＢおよびＣが各々、ヌクレオチドに対する一つのタイプの修飾を表す場合、当該交互モチーフは、「ＡＢＡＢＡＢＡＢＡＢ…」、「ＡＡＢＢＡＡＢＢＡＡＢＢ…」、「ＡＡＢＡＡＢＡＡＢＡＡＢ…」、「ＡＡＡＢＡＡＡＢＡＡＡＢ…」、「ＡＡＡＢＢＢＡＡＡＢＢＢ…」または「ＡＢＣＡＢＣＡＢＣＡＢＣ…」などであり得る。

【０３４５】

交互モチーフ内に含有されるこのタイプの修飾は、同一である場合も、異なっている場合もある。例えば、Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄが各々、ヌクレオチド上の一つのタイプの修飾を表す場合、交互パターンが、すなわち、一つ置きのヌクレオチド上の修飾が、同一であり得るが、センス鎖またはアンチセンス鎖の各々が、例えば「ＡＢＡＢＡＢ…」、「ＡＣＡＣＡＣ…」、「ＢＤＢＤＢＤ…」、または「ＣＤＣＤＣＤ…」などである交互モチーフの範囲内のいくつかの可能性のある修飾から選択され得る。

【０３４６】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、アンチセンス鎖上の交互モチーフの修飾パターンに対して相対的に移動されているセンス鎖上の交互モチーフの修飾パターンを含む。当該移動は、センス鎖のヌクレオチドの修飾基が、アンチセンス鎖のヌクレオチドの異なるように修飾された基に対応するようになされたものであり得、逆もまた同様である。例えば、センス鎖は、ｄｓＲＮＡ二重鎖内のアンチセンス鎖と対合される場合には、センス鎖内の交互モチーフは、鎖の５’－３’から「ＡＢＡＢＡＢ」で開始し得、またアンチセンス鎖内の交互モチーフは、二重鎖領域内の鎖の３’－５’から「ＢＡＢＡＢＡ」で開始し得る。別の例としては、センス鎖内の交互モチーフは、鎖の５’－３’から「ＡＡＢＢＡＡＢＢ」で開始し得、またアンチセンス鎖内の交互モチーフは、二重鎖領域内の鎖の３’－５’から「ＢＢＡＡＢＢＡＡ」で開始し得、その結果、センス鎖およびアンチセンス鎖間の修飾パターンの完全な移動または部分的な移動が存在する。

【０３４７】

本開示のｄｓＲＮＡ分子は、少なくとも一つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結をさらに含み得る。ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾は、鎖の任意の位置にあるセンス鎖またはアンチセンス鎖または両鎖のいずれかのヌクレオチド上で生じ得る。例えば、ヌクレオチド間連結修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上のどのヌクレオチドでも生じ得る、各ヌクレオチド間連結修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上で交互パターンで生じ得る、またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は、交互パターンで両方のヌクレオチド間連結修飾を含む。センス鎖上のヌクレオチド間連結修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖と同一または異なり得、またセンス鎖上のヌクレオチド間連結修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖上のヌクレオチド間連結修飾の交互パターンに対して相対的な移動があり得る。

【０３４８】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子は、オーバーハング領域内にホスホロチオエート

またはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾を含む。例えば、オーバーハング領域は、二つのヌクレオチドを含むものであって、該二つのヌクレオチドの間にホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結を有する二つのヌクレオチドを含む。ヌクレオチド間連結修飾はまた、オーバーハングヌクレオチドを二重鎖領域内の末端の対合されるヌクレオチドと連結させるようになされ得る。例えば、少なくとも２、３、４または全てのオーバーハングヌクレオチドは、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結によって連結され得、随意に、オーバーハングヌクレオチドを、オーバーハングヌクレオチドと隣接する対合したヌクレオチドと連結するさらなるホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結が存在し得る。例えば、三つのヌクレオチドのうち二つがオーバーハングヌクレオチドであり、三番目が、オーバーハングヌクレオチドに隣接する対合ヌクレオチドであるような、末端の三つのヌクレオチド間に、少なくとも二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結が存在し得る。好ましくは、これら末端の三つのヌクレオチドは、アンチセンス鎖の３’末端にあり得る。

【０３４９】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５または１６のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される２～１０のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の１～１０ブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該センス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むアンチセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５０】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される二つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５１】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される三つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５２】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、または１４のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される四つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェ

ートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５３】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、または１２のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される五つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５４】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される六つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５５】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、または８のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される七つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５６】

一部の実施形態では、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、または６のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される八つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５７】

一部の実施形態においては、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、または４のホスフェートヌクレオチド間連結によって分離される九つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の二つのブロックを含むものであり、このホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結の一つは、オリゴヌクレオチド配列内の任意の位置に配置され、また当該アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびホスフェートのヌクレオチド間連結のいずれかの組み合わせを含むセンス鎖とまたはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはホスフェート連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対合する。

【０３５８】

一部の実施形態においては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センスまたはアンチセンス鎖の末端の１～１０位の範囲内に一つまたは複数のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。例えば、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９または１０ヌクレオチドが、センスまたはアンチセンス鎖の一方の末端または両末端においてホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結を介して連結され得る。

【０３５９】

一部の実施形態でにおいては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センスまたはアンチセンス鎖の各々の二重鎖の内側領域の１～１０の範囲内に一つまたは複数のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。例えば、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９または１０のヌクレオチドが、センス鎖の５’末端から数えて二重鎖領域の８～１６位にあるホスホロチオエートメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾を介して連結され得、当該ｄｓＲＮＡ分子は、随意に、その末端の１～１０位の範囲内に一つまたは複数のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾をさらに含み得る。

【０３６０】

一部の実施形態においては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に一～五つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一～五つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一～五つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の一～五つをさらに含む。

【０３６１】

一部の実施形態においては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートのヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３６２】

一部の実施形態においては、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３６３】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３６４】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３６５】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３６６】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３６７】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３６８】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３６９】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つ、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３７０】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３７１】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１～５位の範囲内に二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内に一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と１８～２３位の範囲内の二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。
【０３７２】
一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２０および２１位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス

鎖の（５’末端から数えて）１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１位における一つをさらに含む。

【０３７３】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２０および２１位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３７４】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１および２２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３７５】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１および２２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３７６】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２２および２３位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３７７】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の（５’末端から数えて）１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２１位における一つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖の（５’末端から数えて）１および２位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾と２３および２３位における二つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。

【０３７８】

一部の実施形態では、本開示の化合物は、骨格キラル中心のパターンを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも５つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも６つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも７つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも８つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも９つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１０のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１１のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１２のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１３のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１４のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１５のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓ

ｐ立体配置での少なくとも１６のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置で少なくとも１７のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置で少なくとも１８のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置で少なくとも１９のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で８以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で７以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で６以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で５以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で４以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で３以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で２以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｒｐ立体配置で１以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない８以下のヌクレオチド間連結を含む（限定されない例として、ホスホジエステル）。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない７以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない６以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない５以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない４以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない３以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない２以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、キラルでない１以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１０のヌクレオチド間連結と、キラルでない８以下のヌクレオチド間連結とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１１のヌクレオチド間連結と、キラルでない７以下のヌクレオチド間連結とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１２のヌクレオチド間連結と、キラルでない６以下のヌクレオチド間連結とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１３のヌクレオチド間連結と、キラルでない６以下のヌクレオチド間連結とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１４のヌクレオチド間連結と、キラルでない５以下のヌクレオチド間連結とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、Ｓｐ立体配置での少なくとも１５のヌクレオチド間連結と、キラルでない４以下のヌクレオチド間連結とを含む。一部の実施形態では、Ｓｐ立体配置でのヌクレオチド間連結は、連続であってもよく、または連続でなくてもよい。一部の実施形態では、Ｒｐ立体配置でのヌクレオチド間連結は、連続であってもよく、または連続でなくてもよい。一部の実施形態においては、キラルでないヌクレオチド間連結は、連続であってもよく、または連続でなくてもよい。

【０３７９】

一部の実施形態においては、本開示の化合物は、立体化学ブロックであるブロックを含む。一部の実施形態では、ブロックは、ブロックの各ヌクレオチド間連結がＲｐである点でＲｐブロックである。一部の実施形態では、５’－ブロックは、Ｒｐブロックである。一部の実施形態では、３’－ブロックは、Ｒｐブロックである。一部の実施形態では、ブロックは、ブロックの各ヌクレオチド間連結がＳｐである点でＳｐブロックである。一部の実施形態では、５’－ブロックは、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、３’－ブロックは、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは

、ＲｐブロックおよびＳｐブロックの両方を含む。一部の実施形態では、提供されたオリゴヌクレオチドは、一つまたは複数のＲｐブロックを含むが、Ｓｐブロックを含まない。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、一つまたは複数のＳｐブロックを含むが、Ｒｐブロックを含まない。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、一つまたは複数のＰＯブロックであって、各ヌクレオチド間連結が天然のホスフェート連結であるＰＯブロックを含む。

【０３８０】

一部の実施形態では、本開示の化合物は、各糖部分が２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである５’－ブロックを含む。一部の実施形態では、５’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々が修飾ヌクレオチド間連結であり、また各糖部分が２’－Ｆ修飾を含む、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、５’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々がホスホロチオエート連結であり、また各糖部分が２’－Ｆ修飾を含む、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、５’－ブロックは、４以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、５’－ブロックは、５以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、５’－ブロックは、６以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、５’－ブロックは、７以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、３’－ブロックは、各糖部分が２’－Ｆ修飾を含む、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、３’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々が修飾ヌクレオチド間連結であり、また各糖部分が２’－Ｆ修飾を含む、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、３’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々がホスホロチオエート連結であり、また各糖部分が２’－Ｆ修飾を含む、Ｓｐブロックである。一部の実施形態では、３’－ブロックは、４以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、３’－ブロックは、５以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、３’－ブロックは、６以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、３’－ブロックは、７以上のヌクレオシド単位を含む。

【０３８１】

一部の実施形態では、本開示の化合物は、ある領域内にあるタイプのヌクレオシドを含むか、またはオリゴヌクレオチドに、特定のタイプのヌクレオチド間連結が続くものであり、それは例えば、天然のホスフェート連結、修飾ヌクレオチド間連結、Ｒｐキラルヌクレオチド間連結、Ｓｐキラルヌクレオチド間連結などである。一部の実施形態では、Ａに、Ｓｐが続く。一部の実施形態では、Ａに、Ｒｐが続く。一部の実施形態では、Ａに、天然のホスフェート連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態では、Ｕに、Ｓｐが続く。一部の実施形態では、Ｕに、Ｒｐが続く。一部の実施形態では、Ｕに、天然のホスフェート連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態では、Ｃに、Ｓｐが続く。一部の実施形態では、Ｃに、Ｒｐが続く。一部の実施形態では、Ｃに、天然のホスフェート連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態では、Ｇに、Ｓｐが続く。一部の実施形態では、Ｇに、Ｒｐが続く。一部の実施形態では、Ｇに、天然のホスフェート連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態では、ＣおよびＵに、Ｓｐが続く。一部の実施形態では、ＣおよびＵに、Ｒｐが続く。一部の実施形態では、ＣおよびＵに、天然のホスフェート連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態では、ＡおよびＧに、Ｓｐが続く。一部の実施形態においては、ＡおよびＧに、Ｒｐが続く。

【０３８２】

一部の実施形態においては、アンチセンス鎖は、ヌクレオチドの２１位と２２位の間、およびヌクレオチドの２２位と２３位の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含むものであり、このアンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域内（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位に）に位置する二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾を含有し、またｄｓＲＮＡは、随意に、以下の特徴のうちの少なくとも一つ（例えば、１、２、３、４、５、６、７、または８つ全て）をさらに有する：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、３、４、または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４、または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチ

オエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも四つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、ならびに（ｖｉｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’末端において平滑末端を有する。

【０３８３】

一部の実施形態においては、アンチセンス鎖は、ヌクレオチドの１位と２位の間、ヌクレオチドの２位と３位の間、ヌクレオチドの２１位と２２位の間、およびヌクレオチドの２２位と２３位の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含むものであり、このアンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域内（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位に）に位置する二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾を含有し、またｄｓＲＮＡは、随意に、以下の特徴のうちの少なくとも一つ（例えば、１、２、３、４、５、６、７、または８つ全て）をさらに有する：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｉｉ）センス鎖は、２、３、４、または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも四つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、ならびに（ｖｉｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’末端において平滑末端を有する。

【０３８４】

一部の実施形態においては、センス鎖は、ヌクレオチドの１位と２位の間、ヌクレオチドの２位と３位の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含むものであり、このアンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域内（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位に）に位置する二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾を含有し、またｄｓＲＮＡは、随意に、以下の特徴のうちの少なくとも一つ（例えば、１、２、３、４、５、６、７、または８つ全て）をさらに有する：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４、または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも四つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、ならびに（ｖｉｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’末端において平滑末端を有する。

【０３８５】

一部の実施形態においては、センス鎖は、ヌクレオチドの１位と２位の間、およびヌクレオチドの２位と３位の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖は、ヌクレオチドの１位と２位の間、ヌクレオチドの２位と３位の間、ヌクレオチドの２１位と２２位の間、およびヌクレオチドの２２位と２３位の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含むものであり、このアンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域内（すなわち、アンチセンス鎖の５’末端の２～９位に）に位置する二重鎖の少なくとも一つの熱不安定化修飾を含有し、またｄｓＲＮＡは、随意に、以下の特徴のうちの少なくとも一つ（例えば、１、２、３、４、５、６、または７つ全て）をさらに有する：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｉｉ）センス鎖は、２、３、４、または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｖ）センス鎖は、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも四つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、ならびに（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’末端において平滑末端を有する。

【０３８６】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、標的との、二重鎖内のミスマッチ、またはそれらの組合せを含む。ミスマッチは、オーバーハング領域または二重鎖領域内に生じ得る。塩基対は、解離または融解を促進するその傾向に基づいて格付けされ得る（例えば、特定の対合の会合または解離の自由エネルギーに基づくものであり、最も単純なアプローチとしては、個々の対ごとに対を調べることであるが、次に、隣接するまたは同様の分析も使用可能である）。解離の促進の点では、Ａ：ＵはＧ：Ｃより好ましく、Ｇ：ＵはＧ：Ｃより好ましく、またＩ：ＣはＧ：Ｃより好ましい（Ｉ＝イノシン）。ミスマッチ、例えば、非標準の対合または標準以外の対合（本明細書において別の箇所に記載される）が、標準（Ａ：Ｔ、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｃ）の対合より好ましく、またユニバーサル塩基を含む対合が、標準の対合より好ましい。

【０３８７】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｕ、Ｉ：Ｃの群から独立に選択され得るアンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域内の最初の１、２、３、４または５塩基対、および例えば、非標準の対合または標準以外の対合またはユニバーサル塩基を含む対合であるミスマッチ対のうちの少なくとも一つを含み、二重鎖の５’末端においてアンチセンス鎖の解離を促進する。

【０３８８】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖内の５’末端から二重鎖領域内の１位におけるヌクレオチドは、Ａ、ｄＡ、ｄＵ、ＵおよびｄＴからなる群から選択される。あるいは、アンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域内の最初の１、２または３の塩基対のうち少なくとも一つは、ＡＵ塩基対である。例えば、アンチセンス鎖の５’末端から二重鎖領域内の最初の塩基対は、ＡＵ塩基対である。

【０３８９】

一本鎖または二本鎖のオリゴヌクレオチドの任意の位置において、ジヌクレオチドのホスホジエステル（ＰＯ）、ホスホロチオエート（ＰＳ）またはホスホロジチオエート（ＰＳ２）連結の３’末端に、４’－修飾または５’－修飾のヌクレオチドを導入することで、ヌクレオチド間連結に対する立体効果を発揮させ得、それによってヌクレアーゼに対してそれを保護または安定化させるということがわかった。

【０３９０】

一部の実施形態においては、５’－修飾ヌクレオシドが、一本鎖または二本鎖のｓｉＲＮＡの任意の位置において、ジヌクレオチドの３’末端に導入される。例えば、５’－アルキル化ヌクレオシドを、一本鎖または二本鎖のｓｉＲＮＡの任意の位置において、ジヌクレオチドの３’末端に導入できる。リボース糖の５’位にあるアルキル基は、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体であり得る。例示的な５’－アルキル化ヌクレオシドとしては、５’－メチルヌクレオシドがある。５’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０３９１】

一部の実施形態では、４’－修飾ヌクレオシドが、一本鎖または二本鎖のｓｉＲＮＡの任意の位置において、ジヌクレオチドの３’末端に導入される。例えば、４’－アルキル化ヌクレオシドを、一本鎖または二本鎖のｓｉＲＮＡの任意の位置において、ジヌクレオチドの３’末端に導入できる。リボース糖の４’位にあるアルキル基は、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体であり得る。例示的な４’－アルキル化ヌクレオシドとしては、４’－メチルヌクレオシドがある。４’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。あるいは、４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドを、一本鎖または二本鎖のｓｉＲＮＡの任意の位置において、ジヌクレオチドの３’末端に導入できる。リボース糖の４’－Ｏ－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体であり得る。例示的な４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドとしては、４’－Ｏ－メチルヌクレオシドが挙げられる。４’－Ｏ－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０３９２】

一部の実施形態では、５’－アルキル化ヌクレオシドが、ｄｓＲＮＡのセンス鎖またはアンチセンス鎖の任意の位置において導入され、このような修飾は、ｄｓＲＮＡの効力を維持または向上させる。５’－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。例示的な５’－アルキル化ヌクレオシドとしては、５’－メチルヌクレオシドがある。５’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０３９３】

一部の実施形態では、４’－アルキル化ヌクレオシドが、ｄｓＲＮＡのセンス鎖またはアンチセンス鎖の任意の位置において導入され、このような修飾は、ｄｓＲＮＡの効力を維持または向上させる。４’－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。例示的な４’－アルキル化ヌクレオシドとしては、４’－メチルヌクレオシドがある。４’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０３９４】

一部の実施形態では、４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドは、ｄｓＲＮＡのセンス鎖またはアンチセンス鎖の任意の位置において導入され、このような修飾は、ｄｓＲＮＡの効力を維持または向上させる。５’－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。例示的な４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドとしては、４’－Ｏ－メチルヌクレオシドが挙げられる。４’－Ｏ－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲ異性体もしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０３９５】

一部の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、２’－５’連結（２’－Ｈ、２’－ ＯＨおよび２’－ＯＭｅを有し、またＰ＝ＯまたはＰ＝Ｓを有する）を含み得る。例えば、２’ －５’連結修飾は、ヌクレアーゼ耐性を促進するために、もしくはセンスのアンチセンス鎖への結合を阻害するために使用可能であり、またはＲＩＳＣによるセンス鎖の活性化を回避するためにセンス鎖の５’末端において使用可能である。

【０３９６】

別の実施形態では、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、Ｌ糖（例えば、２’－Ｈ、２’－ＯＨおよび２’－ＯＭｅを有するＬリボース、Ｌ－アラビノース）を含み得る。例えば、これらＬ糖修飾は、ヌクレアーゼ耐性を促進するために、もしくはセンス鎖のアンチセンス鎖への結合を阻害するために使用可能であり、またはＲＩＳＣによるセンス鎖の活性化を回避するためにセンス鎖の５’末端において使用可能である。

【０３９７】

種々の刊行物に多量体ｓｉＲＮＡが記載されており、これらは全て、本開示のｄｓＲＮＡとともに使用できる。当該公開公報としては、国際公開第２００７／０９１２６９号、米国特許第７８５８７６９号、国際公開第２０１０／１４１５１１号、国際公開第２００７／１１７６８６号、国際公開第２００９／０１４８８７号、および国際公開第２０１１／０３１５２０号が挙げられ、それら各々の内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【０３９８】

以下により詳細に記載するように、ＲＮＡｉ剤への一つまたは複数の炭水化物部分のコンジュゲーションを含有するＲＮＡｉ剤は、ＲＮＡｉ剤の一つまたは複数の特性を最適化できる。多くの場合、炭水化物部分は、ＲＮＡｉ剤の修飾サブユニットに結合させることとなる。例えば、ｄｓＲＮＡ剤の一つまたは複数のリボヌクレオチドサブユニットのリボース糖を、別の部分で、例えば、炭水化物リガンドが結合する非炭水化物（好ましくは、環式の）の担体で置換することができる。リボヌクレオチドのサブユニットであって、該サブユニットリボース糖がそのように置換されているリボヌクレオチドサブユニットを、本明細書においては、リボース置換修飾サブユニット（ＰＲＭＳ）と称する。環式担体は、環状炭素系であり得、すなわち、全ての環原子が炭素原子であるか、または複素環系であり得、すなわち、一つまたは複数の環原子が例えば、窒素、酸素、硫黄であるヘテロ原

子であり得る。環式担体は、単環式環系であり得、または二つ以上の環、例えば、縮合環、を含有し得る。環式担体は、完全に飽和の環系であり得、または一つもしくは複数の二重結合を含有し得る。

【０３９９】

リガンドは、担体を介してポリヌクレオチドに結合し得る。担体は、（ｉ）少なくとも一つの「骨格結合点」、好ましくは二つの「骨格結合点」と、（ｉｉ）少なくとも一つの「係留結合点」を含む。「骨格結合点」とは、本明細書で使用する場合、例えば、ヒドロキシル基である官能基を指し、または概して結合であって、リボ核酸の骨格、例えば、ホスフェート、もしくは例えば、硫黄含有である修飾ホスフェートの骨格である骨格内に担体を組み込むために利用可能であり好適である結合を指す。一部の実施形態における「係留結合点」（ＴＡＰ）とは、選択された部分を接続する環式担体の構成環原子、例えば、炭素原子またはヘテロ原子（骨格結合点を提供する原子とは別の）を指す。この部分は、例えば、炭水化物、例えば、単糖、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖および多糖であり得る。随意に、選択部分は、介在する係留によって環式担体に接続される。したがって環式担体は、しばしば、例えば、アミノ基である官能基を含む、または概して結合であって、構成する環への、例えば、リガンドである別の化学的実体の組み込みもしくは係留に適している結合を提供することとなる。

【０４００】

ＲＮＡｉ剤は、担体を介してリガンドにコンジュゲートされ得るものであり、担体は、環式基または非環式基であり得、好ましくは環式基は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラン、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフリルおよびデカリン、好ましくは非環式の基は、セリノール骨格またはジエタノールアミン骨格から選択される。

【０４０１】

特定の実施形態では、本開示の方法で使用するＲＮＡｉ剤は、表３～８に列挙された剤の群から選択される剤である。これら剤は、リガンドをさらに含み得る。

【０４０２】

ＩＶ．リガンドにコンジュゲートするｉＲＮＡ

本発明のｉＲＮＡのＲＮＡの別の修飾は、ｉＲＮＡの活性、細胞分布または例えば、細胞内への細胞取り込みを増強する一つまたは複数のリガンド、部分またはコンジュゲートと、ｉＲＮＡを化学的に連結することを含む。こうした部分としては、これに限定されるものではないが、例えばコレステロール部分などである脂質部分（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃｉｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１９８９，８６：６５５３－６５５６）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９４，４：１０５３－１０６０）、チオエーテル、例えば、ベリル－Ｓ－トリチルチオール（ｂｅｒｙｌ－Ｓ－ｔｒｉｔｙｌｔｈｉｏｌ）（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１９９２，６６０：３０６－３０９、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９３，３：２７６５－２７７０）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９２，２０：５３３－５３８）、脂肪鎖、例えば、ドデカンジオール残基またはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ，１９９１，１０：１１１１－１１１８、Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．，１９９０，２５９：３２７－３３０、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，１９９３，７５：４９－５４）、リン脂質、例えば、ジヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールまたはトリエチルアンモニウム １，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６：３６５１－３６５４、Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒ

ｅｓ．，１９９０，１８：３７７７－３７８３）、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ＆Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１９９５，１４：９６９－９７３）、またはアダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６：３６５１－３６５４）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，１９９５，１２６４：２２９－２３７）、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ－カルボニルオキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９６，２７７：９２３－９３７）が挙げられる。

【０４０３】

特定の実施形態では、リガンドは、それが組み込まれるｉＲＮＡ剤の分布、標的化、または寿命を変化させる。一部の実施形態では、リガンドは、例えば、このようなリガンドが存在しない種と比較した場合に、選択された標的に対する、例えば、分子、細胞または細胞型、例えば、細胞または臓器のコンパートメントなどのコンパートメント、組織、身体の器官または領域に対する、親和性の増強をもたらす。通常のリガンドは、二重鎖核酸において二重鎖対合に関与しない。

【０４０４】

リガンドとしては、天然に存在する物質、例えばタンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）、低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）またはグロブリン）、炭水化物（例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリンまたはヒアルロン酸）または脂質を挙げることができる。リガンドはまた、組換えまたは合成分子、例えば合成ポリマー、例えば、合成ポリアミノ酸であり得る。ポリアミノ酸の例としては、ポリリジン（ＰＬＬ）、ポリＬ－アスパラギン酸、ポリＬ－グルタミン酸、スチレン－無水マレイン酸共重合体、ポリ（Ｌ－ラクチド－コ－グリコリド（Ｌ－ｌａｃｔｉｄｅ－ｃｏ－ｇｌｙｃｏｌｉｅｄ））共重合体、ジビニルエーテル－無水マレイン酸共重合体、Ｎ－（２－ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド共重合体（ＨＭＰＡ）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリビニルアルコール（ＰＶＡ）、ポリウレタン、ポリ（２－エチルアクリル酸（ｐｏｌｙ（２－ｅｔｈｙｌａｃｒｙｌｌｉｃ　ａｃｉｄ））、Ｎ－イソプロピルアクリルアミドポリマーまたはポリホスファジンであるポリアミノ酸が挙げられる。ポリアミンの例としては、ポリエチレンイミン、ポリリジン（ＰＬＬ）、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、シュードペプチド－ポリアミン、ペプチドミメティックポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポルフィリン、ポリアミンの第四級塩またはαヘリックスペプチドが挙げられる。

【０４０５】

リガンドはまた、標的化基、例えば、細胞または組織標的化剤、例えば、レクチン、糖タンパク質、脂質またはタンパク質、例えば、ＣＮＳ細胞など特定の細胞型に結合する抗体、を含むことができる。標的化基は、甲状腺刺激ホルモン、メラニン細胞刺激ホルモン、レクチン、糖タンパク質、界面活性剤プロテインＡ、ムチン炭水化物、多価ラクトース、多価ガラクトース、Ｎ－アセチル－ガラクトサミン、Ｎ－アセチル－グルコサミン多価マンノース、多価フコース、グリコシル化ポリアミノ酸、多価ガラクトース、トランスフェリン、ビスホスホネート、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、脂質、コレステロール、ステロイド、胆汁酸、葉酸、ビタミンＢ１２、ビオチン、またはＲＧＤペプチドもしくはＲＧＤペプチド模倣体であり得る。特定の実施形態では、リガンドは、多価ガラクトース、例えば、Ｎ－アセチル－ガラクトサミンである。

【０４０６】

リガンドの他の例としては、色素、挿入剤（例えば、アクリジン）、架橋剤（例えば、ソラーレン、マイトマイシンＣ）、ポルフィリン（ＴＰＰＣ４、テキサフィリン（ｔｅｘａｐｈｙｒｉｎ）、サフィリン（Ｓａｐｐｈｙｒｉｎ））、多環式芳香族炭化水素（例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン）、人工エンドヌクレアーゼ（例えば、ＥＤＴＡ）

、親油性分子、例えば、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジン）およびペプチドコンジュゲート（例えば、アンテナペディアペプチド、Ｔａｔペプチド）、アルキル化剤、ホスフェート、アミノ、メルカプト、ＰＥＧ（例えば、ＰＥＧ－４０Ｋ）、ＭＰＥＧ、［ＭＰＥＧ］$_2$、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射性標識マーカー、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進物質（例えば、アスピリン、ビタミンＥ、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ（例えば、イミダゾール、ビスイミダゾール、ヒスタミン、イミダゾールクラスター、アクリジン－イミダゾールコンジュゲート、テトラアザマクロサイクルのＥｕ３＋錯体）、ジニトロフェニル、ＨＲＰまたはＡＰが挙げられる。

【０４０７】

リガンドは、タンパク質、例えば、糖タンパク質またはペプチド、例えば、共リガンドに対して特異的親和性を有する分子、または抗体、例えば、がん細胞、内皮細胞または骨細胞などの特定の細胞型に結合する抗体であり得る。リガンドにはまた、ホルモンおよびホルモン受容体が含まれ得る。それらにはまた、非ペプチド種、例えば脂質、レクチン、炭水化物、ビタミン、コファクタ、多価ラクトース、多価ガラクトース、Ｎ－アセチル－ガラクトサミン、Ｎ－アセチル－グルコサミン多価マンノースまたは多価フコース、が含まれ得る。リガンドは、例えば、リポ多糖、ｐ３８　ＭＡＰキナーゼのアクチベーターまたはＮＦ－κＢのアクチベーターであり得る。

【０４０８】

リガンドは、例えば、細胞の細胞骨格系を破壊することによって、例えば、細胞の微小管、微小線維または中間径線維を破壊することによって、細胞内へのｉＲＮＡ剤の取り込みを増大し得る物質、例えば薬物であり得る。該薬物は、例えば、タキソン（ｔａｘｏｎ）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、サイトカラシン、ノコダゾール、ジャスプラキノリド、ラトルンクリンＡ、ファロイジン、スウィンホリドＡ（ｓｗｉｎｈｏｌｉｄｅ　Ａ）、インダノシン（ｉｎｄａｎｏｃｉｎｅ）またはミオセルビン（ｍｙｏｓｅｒｖｉｎ）であり得る。

【０４０９】

一部の実施形態では、本明細書において記載するｉＲＮＡに結合するリガンドは、薬物動態モジュレーター（ＰＫモジュレーター）として作用する。ＰＫモジュレーターとしては、親油性物質、胆汁酸、ステロイド、リン脂質類似体、ペプチド、タンパク質結合剤、ＰＥＧ、ビタミンなどが挙げられる。例示的なＰＫモジュレーターとしては、これに限定されないが、コレステロール、脂肪酸、コール酸、リトコール酸、ジアルキルグリセリド、ジアシルグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、ナプロキセン、イブプロフェン、ビタミンＥ、ビオチンなどが挙げられる。いくつかのホスホロチオエート連結を含むオリゴヌクレオチドはまた、血清タンパク質に結合することがわかっており、したがって骨格中に複数のホスホロチオエート連結を含む短いオリゴヌクレオチド、例えば、約５塩基、１０塩基、１５塩基または２０塩基のオリゴヌクレオチドもまた、リガンドとして（例えば、ＰＫ調節リガンドとして）本発明に適している。さらに、血清成分（例えば、血清タンパク質）を結合するアプタマーもまた、本明細書において記載する実施形態においてＰＫ調節リガンドとして使用するのに適している。

【０４１０】

本発明のリガンドがコンジュゲートしたｉＲＮＡは、反応性官能性ペンダント側鎖を有するオリゴヌクレオチドの使用によって合成でき、例えば該ペンダント側鎖は該オリゴヌクレオチド（以下に記載される）上への連結分子の結合に由来するものなどである。この反応性オリゴヌクレオチドを、市販のリガンド、種々の保護基のいずれかを有する合成されたリガンド、またはそれに結合する連結部分を有するリガンドと、直接反応させてもよ

い。

【０４１１】

本発明のコンジュゲートにおいて使用するオリゴヌクレオチドは、固相合成の周知の技術によって好都合に、ごく普通に作製できる。こうした合成のための機器は、例えばＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）社（カリフォルニア州、フォスターシティ）をはじめとするいくつかのベンダーによって販売されている。当技術分野で公知の当該合成のための任意の他の手段を、追加的にまたは代替的に採用してもよい。例えばホスホロチオエートおよびアルキル化誘導体などである、他のオリゴヌクレオチドを調製する同様の技術を使用することも知られている。

【０４１２】

本発明のリガンドがコンジュゲートしたオリゴヌクレオチドおよびリガンド分子を保有する配列特異的な連結ヌクレオシドにおいて、オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオシドは、標準ヌクレオチドまたはヌクレオシドの前駆体を利用する好適なＤＮＡシンセサイザー、または連結部分を既に保有するヌクレオチドもしくはヌクレオシドのコンジュゲート前駆体、リガンド分子を既に保有するリガンドヌクレオチドもしくはリガンドヌクレオシドのコンジュゲート前駆体、または非ヌクレオシドリガンド保有構成単位上において組み立てられ得る。

【０４１３】

連結部分を既に保有するヌクレオチド－コンジュゲート前駆体を使用する場合には、典型的に、配列特異的に連結されるヌクレオシドの合成が完了してから、次いで、リガンド分子が連結部分と反応して、リガンドがコンジュゲートしたオリゴヌクレオチドを形成する。一部の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドまたは連結ヌクレオシドは、市販の、オリゴヌクレオチド合成でごく普通に使用する標準ホスホラミダイトおよび非標準ホスホラミダイトに加えて、リガンド－ヌクレオシドコンジュゲートから誘導したホスホラミダイトを使用して、自動化シンセサイザーによって合成される。

【０４１４】

Ａ．脂質コンジュゲート

特定の実施形態では、リガンドまたはコンジュゲートは、脂質または脂質系分子である。このような脂質または脂質系分子は、通常、血清タンパク質を、例えばヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）を結合できる。ＨＳＡ結合性リガンドは、身体の標的組織への、例えば、腎臓でない標的組織への、コンジュゲートの分布を可能にする。例えば標的組織は、肝臓の実質細胞を含めた肝臓であり得る。ＨＳＡを結合可能である他の分子もまた、リガンドとして使用できる。例えば、ナプロキセンまたはアスピリンを使用できる。脂質または脂質系リガンドは、（ａ）コンジュゲートの分解に対する耐性を増大できる、（ｂ）標的の細胞もしくは細胞膜内への標的化もしくは輸送を増大できる、または（ｃ）血清タンパク質、例えば、ＨＳＡへの結合を調整するために使用できる。

【０４１５】

脂質系リガンドを使用して、コンジュゲートの標的組織への結合を調節、例えば、制御（例えば、阻害）することができる。例えば、より強力にＨＳＡに結合する脂質または脂質系リガンドは、腎臓を標的とする可能性が低く、したがって身体から排除される可能性が低くなる。コンジュゲートが腎臓を標的とするように、あまり強力にＨＳＡに結合しない脂質または脂質系リガンドを使用することができる。

【０４１６】

特定の実施形態では、脂質系リガンドは、ＨＳＡを結合する。例えばリガンドは、十分な親和性でＨＳＡに結合でき、その結果、非腎臓組織へのコンジュゲートの分布が増強される。しかしながら、この親和性は、通常、ＨＳＡ－リガンド間結合を元に戻すことができないほど強力ではない。

【０４１７】

特定の実施形態では、脂質系リガンドは、ＨＳＡに弱く結合するか、または全く結合せず、その結果腎臓へのコンジュゲートの分布が増強される。脂質系リガンドの代わりに、

または脂質系リガンドに加えて、腎臓細胞を標的とする他の部分も使用できる。

【０４１８】

別の態様においては、リガンドは、標的細胞、例えば、増殖性細胞によって取り込まれる、例えば、ビタミンである部分である。これらは、例えば、悪性または非悪性種の、例えば、がん細胞の望まれない細胞増殖を特徴とする障害の治療に特に有用である。例示的なビタミンとしては、ビタミンＡ、ＥおよびＫが挙げられる。他の例示的なビタミンとしては、ビタミンＢ、例えば、葉酸、Ｂ１２、リボフラビン、ビオチン、ピリドキサール、またはがん細胞に取り込まれる他のビタミンもしくは栄養素が挙げられる。ＨＳＡおよび低比重リポタンパク（ＬＤＬ）もまた挙げられる。

【０４１９】

Ｂ．細胞透過剤

別の態様においては、リガンドは、細胞透過剤、例えばヘリックス細胞透過剤などである。特定の実施形態では、細胞透過剤は、両親媒性である。例示的な細胞透過剤としては、ｔａｔまたはアンテナペディアなどのペプチドがある。該細胞透過剤がペプチドである場合、それは修飾可能であり、これにはペプチジル模倣体、逆転異性体、非ペプチドまたはシュードペプチドの連結およびＤ－アミノ酸の使用が挙げられる。ヘリックス剤は、通常、α－ヘリックス剤であり、親油性および疎油性相を有し得る。

【０４２０】

リガンドは、ペプチドまたはペプチド模倣体であり得る。ペプチド模倣体（本明細書においてオリゴペプチド模倣体とも称する）は、天然ペプチドと類似する規定された三次元構造にフォールディング可能な分子である。ペプチドおよびペプチド模倣体のｉＲＮＡ剤への結合は、細胞認識および吸収を増強することなどによって、ｉＲＮＡの薬物動態分布に影響を及ぼし得る。ペプチドまたはペプチド模倣体部分は、約５～５０アミノ酸長であり得、例えば、約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５または５０アミノ酸長である。

【０４２１】

ペプチドまたはペプチド模倣体は、例えば、細胞透過ペプチド、カチオン性ペプチド、両親媒性ペプチドまたは疎水性ペプチド（例えば、主にＴｙｒ、ＴｒｐまたはＰｈｅからなる）であり得る。ペプチド部分は、デンドリマーペプチド、拘束されたペプチドまたは架橋されたペプチドであり得る。別の選択肢としては、ペプチド部分は、疎水性の膜輸送配列（ＭＴＳ）を含み得る。例示的な疎水性ＭＴＳ含有ペプチドとしては、アミノ酸配列ＡＡＶＡＬＬＰＡＶＬＬＡＬＬＡＰ（配列番号３）を有するＲＦＧＦがある。疎水性ＭＴＳを含有するＲＦＧＦ類似体（例えば、アミノ酸配列ＡＡＬＬＰＶＬＬＡＡＰ（配列番号４））も、標的化部分であり得る。ペプチド部分は、細胞膜を横断してペプチド、オリゴヌクレオチドおよびタンパク質を含む大きな極性分子を運搬することができる、「送達」ペプチドであり得る。例えば、送達ペプチドとして機能することができることがわかっているのは、ＨＩＶ　Ｔａｔタンパク質（ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲＰＰＱ（配列番号５））およびＤｒｏｓｏｐｈｉｌａ　Ａｎｔｅｎｎａｐｅｄｉａタンパク質（ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ（配列番号６））よりの配列である。ペプチドまたはペプチド模倣体は、ファージディスプレイライブラリーまたはｏｎｅ－ｂｅａｄ－ｏｎｅ－ｃｏｍｐｏｕｎｄ（ＯＢＯＣ）コンビナトリアルライブラリー（Ｌａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３５４：８２－８４，１９９１）から同定されるペプチドなど、ＤＮＡのランダム配列によってコードされ得る。通常、組み込まれたモノマー単位を介してｄｓＲＮＡ剤に係留されるペプチドまたはペプチド模倣体として、細胞標的化ペプチド、例えばアルギニン－グリシン－アスパラギン酸（ＲＧＤ）－ペプチドまたはＲＧＤ模倣体などがある。ペプチド部分は、長さが、約５アミノ酸～約４０アミノ酸の範囲であり得る。ペプチド部分は、例えば安定性を増大させるまたは立体配座特性を司るなどの構造的な修飾を有し得る。以下に記載する構造的な修飾のいずれもが利用可能である。

【０４２２】

本発明の組成物および方法において使用するためのＲＧＤペプチドは、直鎖状であって

も環状であってもよく、また特定の組織の標的化を促進するように修飾、例えば、グリコシル化またはメチル化、されてもよい。ＲＧＤ含有ペプチドおよびペプチジオ模倣体（ｐｅｐｔｉｄｉｏｍｉｍｅｍｔｉｃ）は、Ｄ－アミノ酸ならびに合成ＲＧＤ模倣体を含み得る。ＲＧＤに加えて、インテグリンリガンドを標的とする他の部分を使用可能である。このリガンドの好ましいコンジュゲートは、ＰＥＣＡＭ－１またはＶＥＧＦを標的とする。

【０４２３】

ＲＧＤペプチド部分を、特定の細胞型、例えば腫瘍細胞、例えば、内皮腫瘍細胞または乳がん腫瘍細胞、を標的とするために使用可能である（Ｚｉｔｚｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，６２：５１３９－４３，２００２）。ＲＧＤペプチドは、ｄｓＲＮＡ剤の肺、腎臓、脾臓または肝臓を含む様々な他の組織の腫瘍の標的化を促進できる（Ａｏｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ８：７８３－７８７，２００１）。通常、ＲＧＤペプチドは、ｉＲＮＡ剤の腎臓への標的化を促進することとなる。ＲＧＤペプチドは、直鎖状または環状であり得、また特定の組織への標的化を促進するように修飾され得、例えば、グリコシル化またはメチル化される得る。例えばグリコシル化ＲＧＤペプチドは、$\alpha_v\beta_3$を発現する腫瘍細胞にｉＲＮＡ剤を送達可能である（Ｈａｕｂｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．，４２：３２６－３３６，２００１）。

【０４２４】

「細胞透過ペプチド」は、細胞に、例えば、バクテリア細胞もしくは真菌細胞などである微生物細胞、または例えばヒト細胞などである哺乳類細胞に、透過可能である。微生物細胞透過性ペプチドは、例えばα－ヘリックス直鎖ペプチド（例えば、ＬＬ－３７またはセロピン（Ｃｅｒｏｐｉｎ）Ｐ１）、ジスルフィド結合含有ペプチド（例えば、α－デフェンシン、β－デフェンシンまたはバクテネシン（ｂａｃｔｅｎｅｃｉｎ））または一つもしくは二つの支配的なアミノ酸のみを含有するペプチド（例えば、ＰＲ－３９またはインドリシジン）であり得る。細胞透過ペプチドはまた、核移行シグナル（ＮＬＳ）を含み得る。例えば、細胞透過ペプチドは、ＨＩＶ－１ ｇｐ４１とＳＶ４０ラージＴ抗原のＮＬＳとの融合ペプチドドメインに由来する、例えばＭＰＧなどである二部両親媒性ペプチドであり得る（Ｓｉｍｅｏｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．３１：２７１７－２７２４，２００３）。

【０４２５】

Ｃ．炭水化物コンジュゲート

本発明の組成物および方法の一部の実施形態では、ｉＲＮＡは、炭水化物をさらに含む。炭水化物をコンジュゲートしたｉＲＮＡは、本明細書に記載するように、核酸のインビボでの送達に有利であると同時にインビボでの治療的使用に適した組成物である。本明細書において使用する場合、「炭水化物」とは、各炭素原子に結合した酸素、窒素もしくは硫黄原子とともに少なくとも６個の炭素原子を有する一つもしくは複数の単糖単位で構成されている炭水化物自体（直鎖状、分枝または環状であり得る）、またはその一部として、各炭素原子に結合した酸素、窒素もしくは硫黄原子とともに各々が少なくとも六個の炭素原子を有する一つまたは複数の単糖単位で構成されている炭水化物部分（直鎖状、分枝または環状であり得る）を有する化合物、のいずれかである化合物を指す。代表的な炭水化物としては、糖（単糖、二糖、三糖、および約４、５、６、７、８または９つの単糖単位を含有するオリゴ糖）ならびに多糖、例えばデンプン、グリコーゲン、セルロースおよび多糖類樹脂、が挙げられる。特定の単糖としては、Ｃ５、および上記の（例えば、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７またはＣ８）糖が挙げられ、二糖および三糖としては、二つまたは三つの単糖単位（例えば、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７またはＣ８）を有する糖が挙げられる。

【０４２６】

特定の実施形態では、炭水化物コンジュゲートは、単糖を含む。

【０４２７】

特定の実施形態では、単糖は、Ｎ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）である。一つまたは複数のＮ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）誘導体を含むＧａｌＮＡ

ｃコンジュゲートは、例えば米国特許第８，１０６，０２２号に記載されており、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、ｉＲＮＡが特定の細胞を標的にするリガンドとして機能する。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、例えば、肝臓の細胞（例えば、肝細胞）のアシアロ糖タンパク質受容体のリガンドとして機能することによって、ｉＲＮＡが肝臓の細胞を標的にする。

【０４２８】

一部の実施形態では、炭水化物コンジュゲートは、一つまたは複数のＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。ＧａｌＮＡｃ誘導体は、リンカーを介して、例えば二価または三価の分枝リンカーを介して、結合させることができる。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、センス鎖の３’末端にコンジュゲートされる。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、例えば本明細書において記載されるようなリンカーを介して、ｉＲＮＡ剤に（例えば、センス鎖の３’末端に）コンジュゲートされる。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、センス鎖の５’末端にコンジュゲートされる。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、例えば本明細書において記載されるようなリンカーを介して、ｉＲＮＡ剤に（例えば、センス鎖の５’末端に）コンジュゲートされる。

【０４２９】

本発明の特定の実施形態では、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、一価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、二価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。本発明のさらに他の実施形態では、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、三価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。本発明の他の実施形態では、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、四価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。

【０４３０】

特定の実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、ｉＲＮＡ剤に結合した一つのＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。特定の実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、複数の（例えば、２、３、４、５または６の）ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含み、この各々は、独立して、複数の一価リンカーを介して二本鎖ＲＮＡｉ剤の複数のヌクレオチドに結合する。

【０４３１】

一部の実施形態では、例えば、本発明のｉＲＮＡ剤の二本の鎖が、複数の対合しないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する、一方の鎖の３’末端と、対応するもう一方の鎖の５’末端との間のヌクレオチドの中断されない鎖によって接続した一つのより大きな分子の一部である場合には、該ヘアピンループ内の対合しないヌクレオチドは各々、一価リンカーを介して結合したＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を独立して含み得る。このヘアピンループはまた、二重鎖のうち一方の鎖内の伸長したオーバーハングによって形成される場合もある。

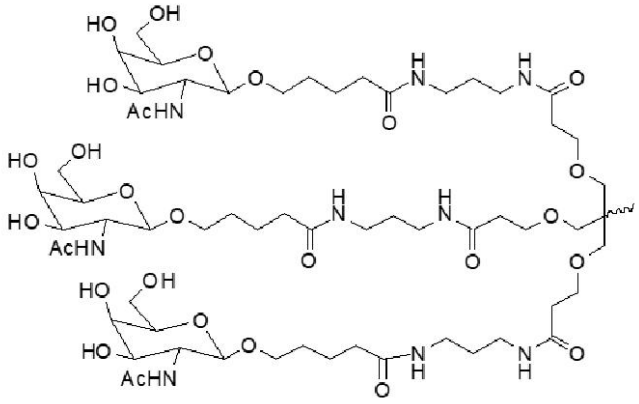
【０４３２】

一部の実施形態では、例えば、本発明のｉＲＮＡ剤の二本の鎖が、複数の対合しないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する、一方の鎖の３’末端と、対応するもう一方の鎖の５’末端との間のヌクレオチドの中断されない鎖によって接続した一つのより大きな分子の一部である場合には、該ヘアピンループ内の対合しないヌクレオチドは各々、一価リンカーを介して結合したＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を独立して含み得る。このヘアピンループはまた、二重鎖のうち一方の鎖内の伸長したオーバーハングによって形成される場合もある。

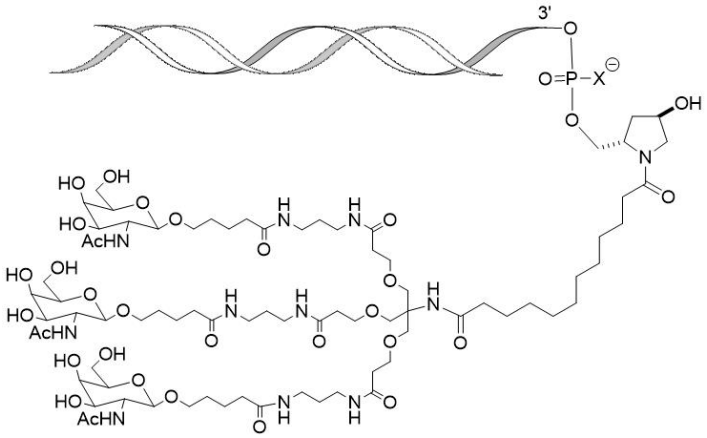
【０４３３】

一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、

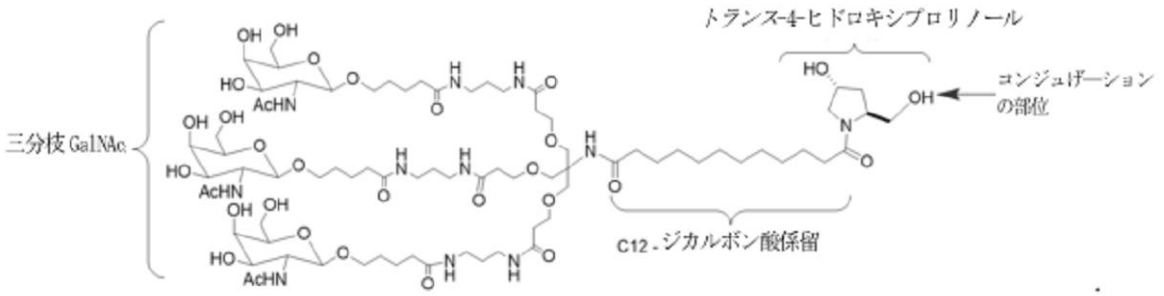
【化１７】



式Ｉ
である。
【０４３４】
一部の実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、以下の概略図で示すようなリンカーを介して炭水化物コンジュゲートに結合し、式中Ｘは、ＯまたはＳである。
【化１８】

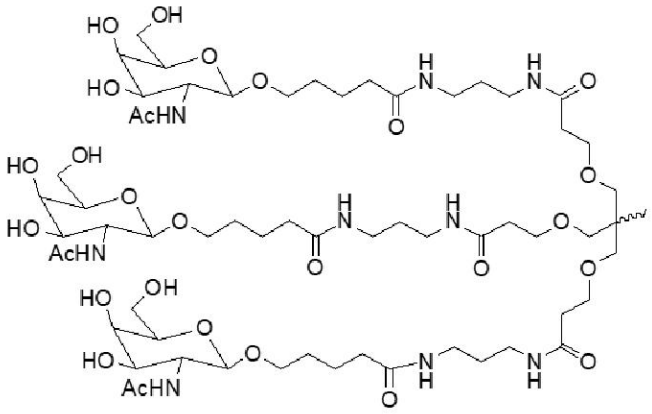


【０４３５】
一部の実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、表２において規定され、以下に示す、Ｌ９６にコンジュゲートする。
【化１９】



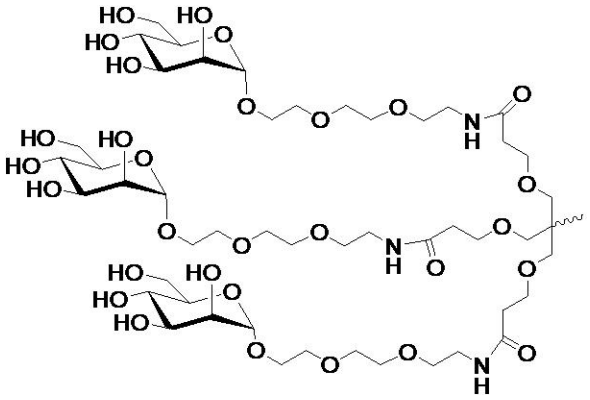
【０４３６】
特定の実施形態では、本発明の組成物および方法において使用するための炭水化物コンジュゲートは、以下からなる群から選択される：

【化２０】



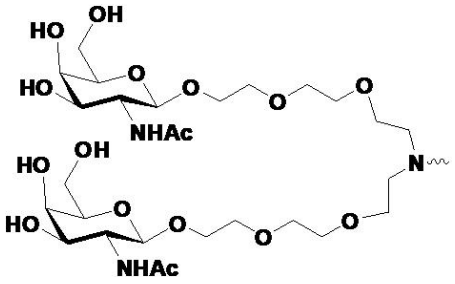
式Ｉ、

【化２１】



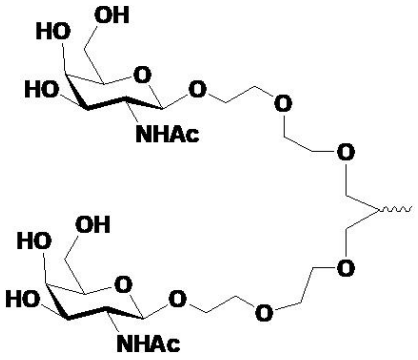
式ＩＩ、

【化２２】



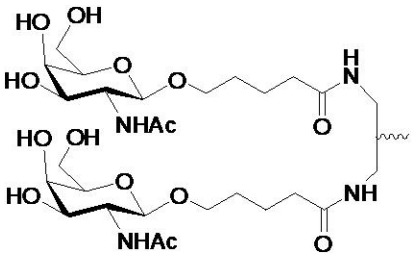
式ＩＩＩ、

【化２３】



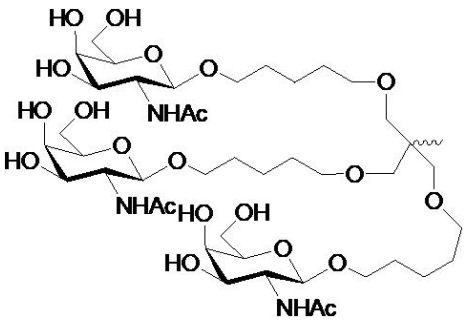
式ＩＶ、

【化２４】



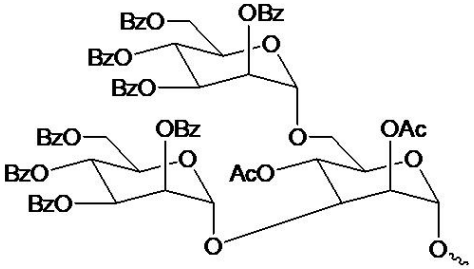
式Ｖ、

【化２５】



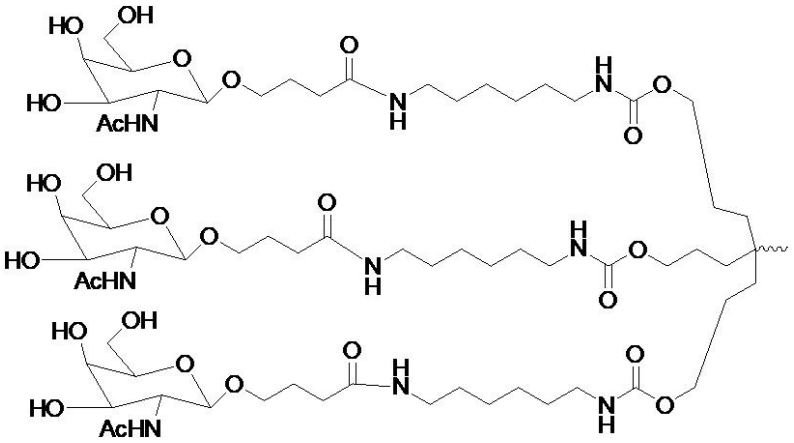
式ＶＩ、

【化２６】



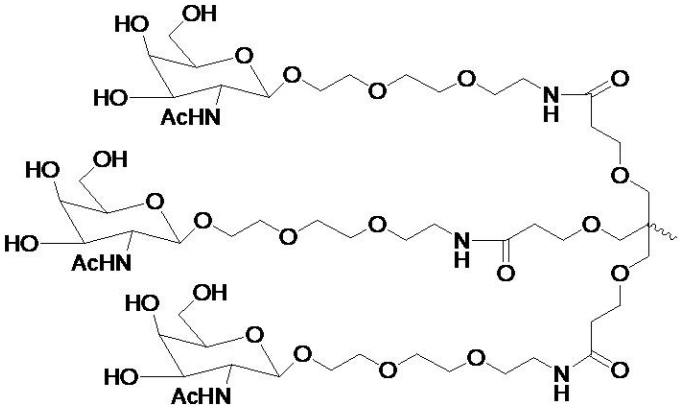
式ＶＩＩ、

【化２７】



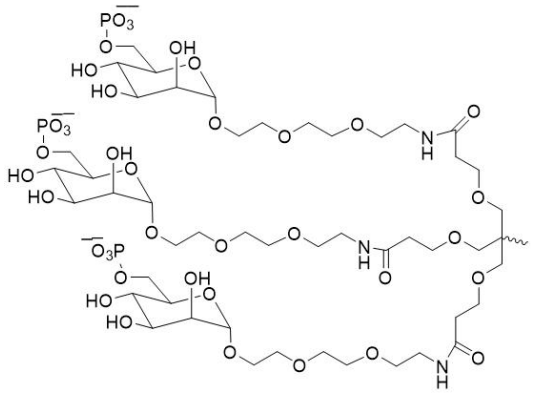
式ＶＩＩＩ、

【化２８】



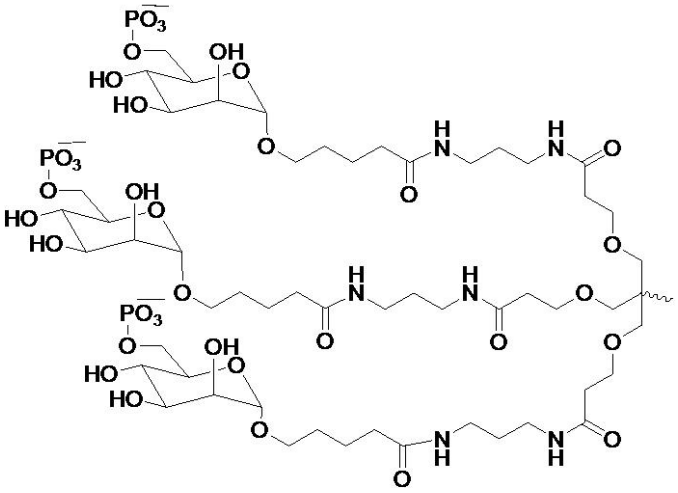
式ＩＸ、

【化２９】



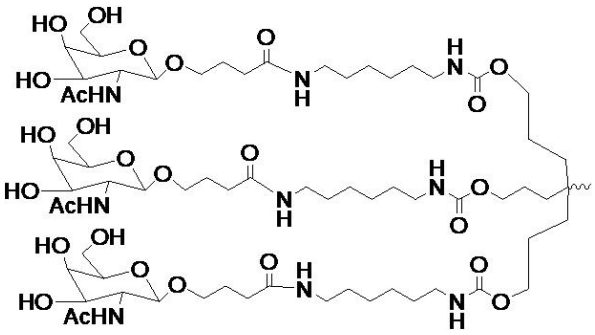
式Ｘ、

【化３０】



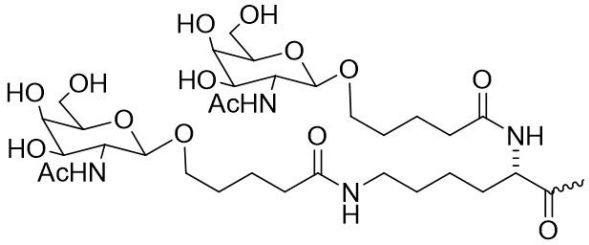
式ＸＩ、

【化３１】



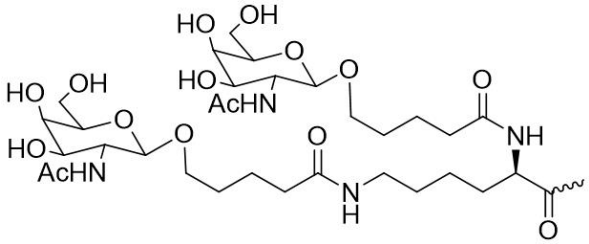
式ＸＩＩ、

【化３２】



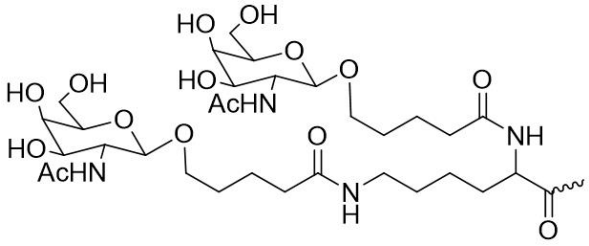
式ＸＩＩＩ、

【化３３】



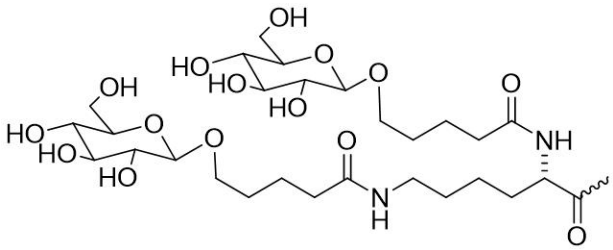
式ＸＩＶ、

【化３４】

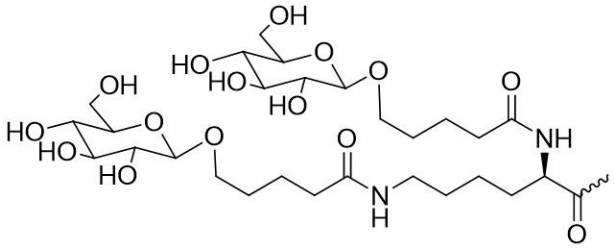


式ＸＶ、

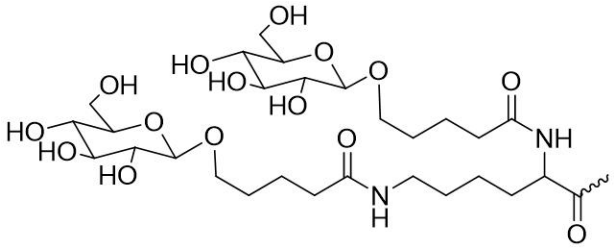
【化３５】



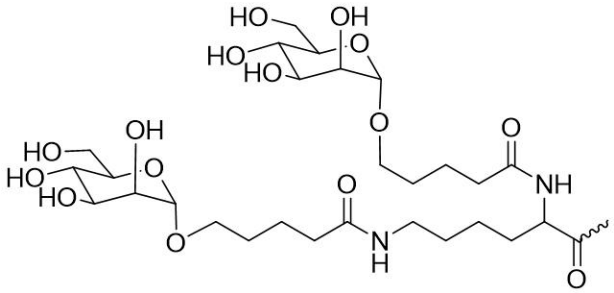
式ＸＶＩ、
【化３６】



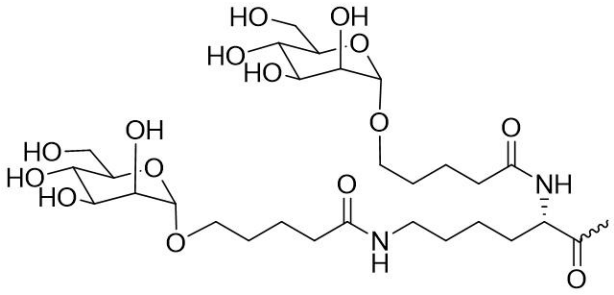
式ＸＶＩＩ、
【化３７】



式ＸＶＩＩＩ、
【化３８】

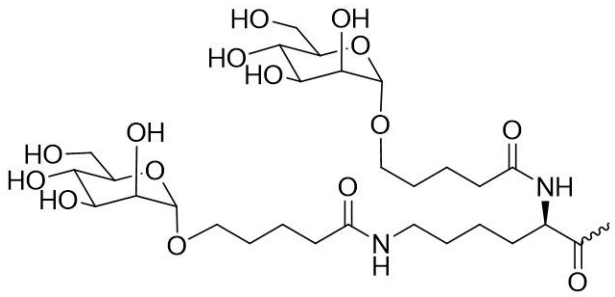


式ＸＩＸ、
【化３９】



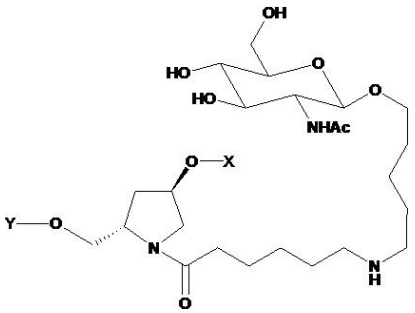
式ＸＸ、

【化４０】



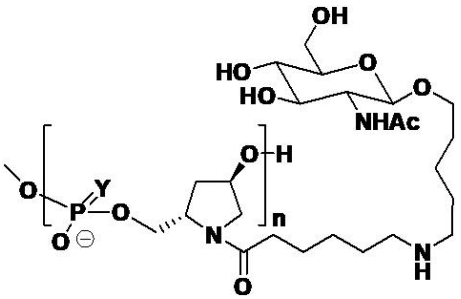
式ＸＸＩ、

【化４１】



式ＸＸＩＩ、

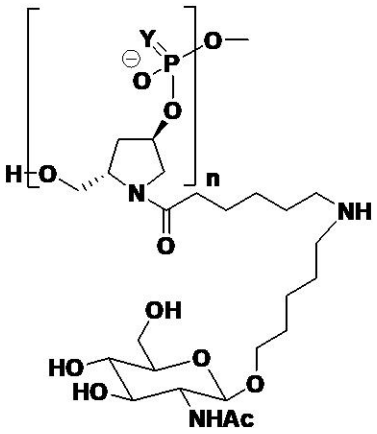
【化４２】



、

式中、ＹはＯまたはＳであり、ｎは３～６であり（式ＸＸＩＩＩ）、

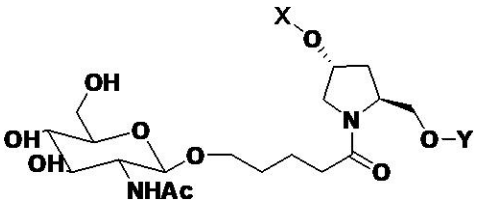
【化４３】



、

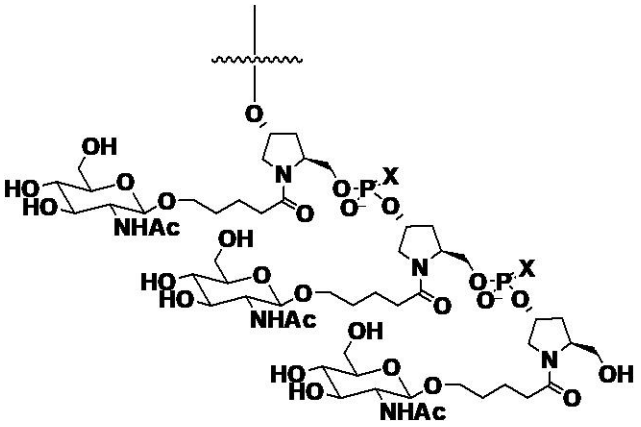
式中、ＹはＯまたはＳであり、ｎは３～６であり（式ＸＸＩＶ）、

【化４４】



式ＸＸＶ、

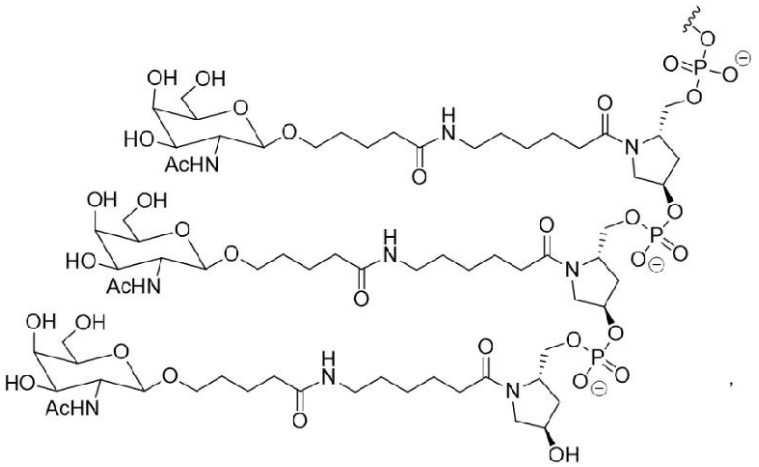
【化４５】



、

式中、ＸはＯまたはＳであり（式ＸＸＶＩ）、

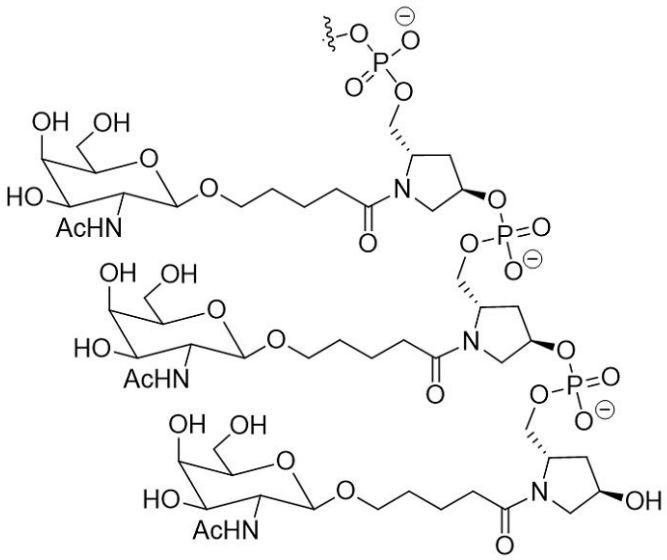
【化４６】



、

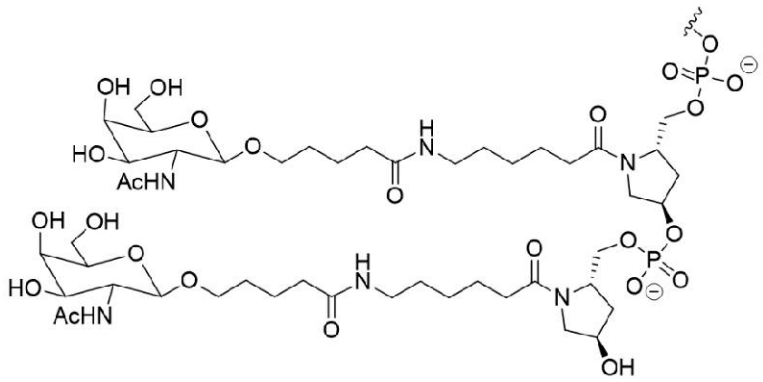
式ＸＸＶＩＩ、

【化４７】



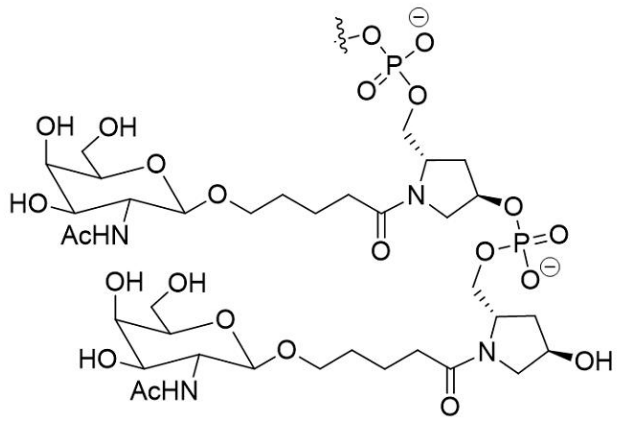
式ＸＸＶＩＩＩ、

【化４８】



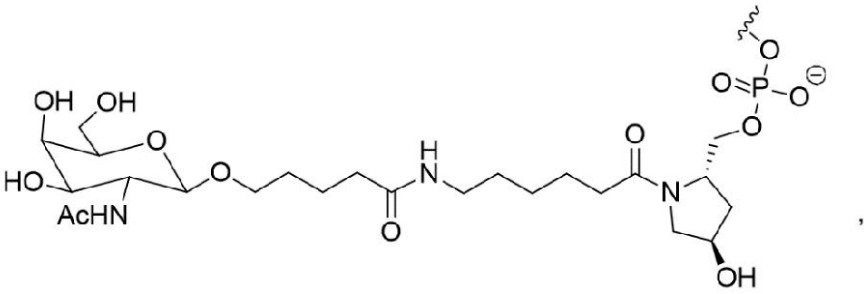
式ＸＸＩＸ、

【化４９】



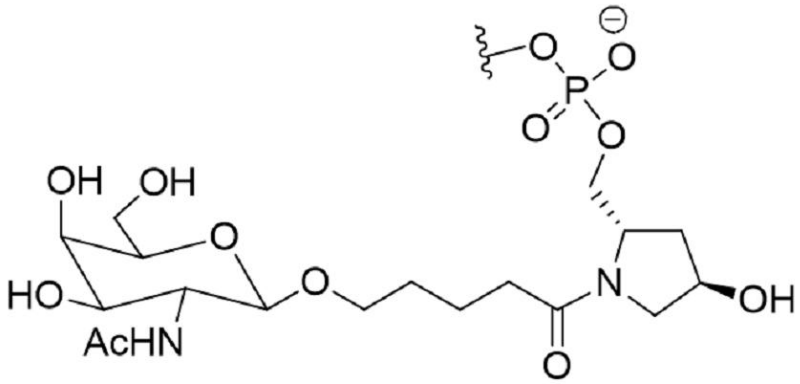
式ＸＸＸ、

【化５０】

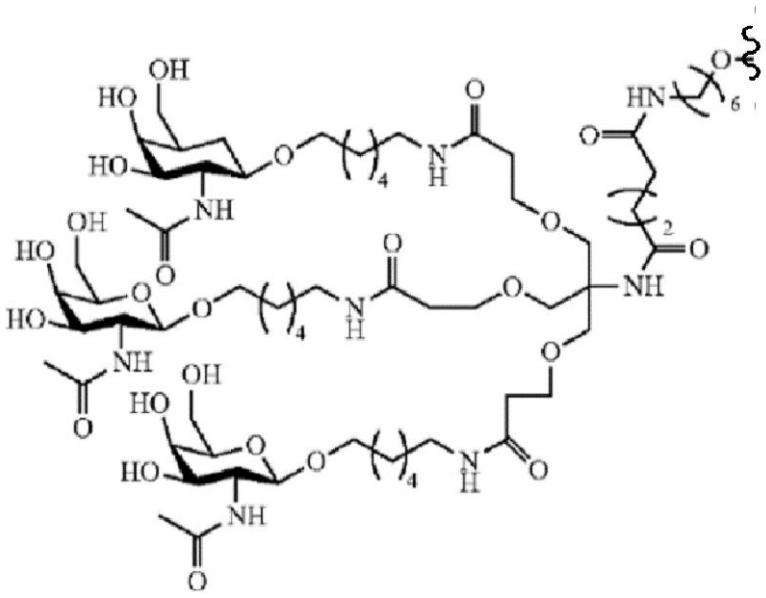


、

式ＸＸＸＩ、
【化５１】

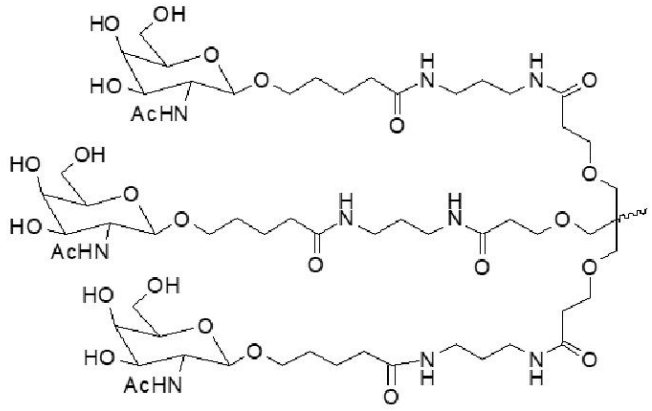


、式ＸＸＸＩＩ、および
【化５２】

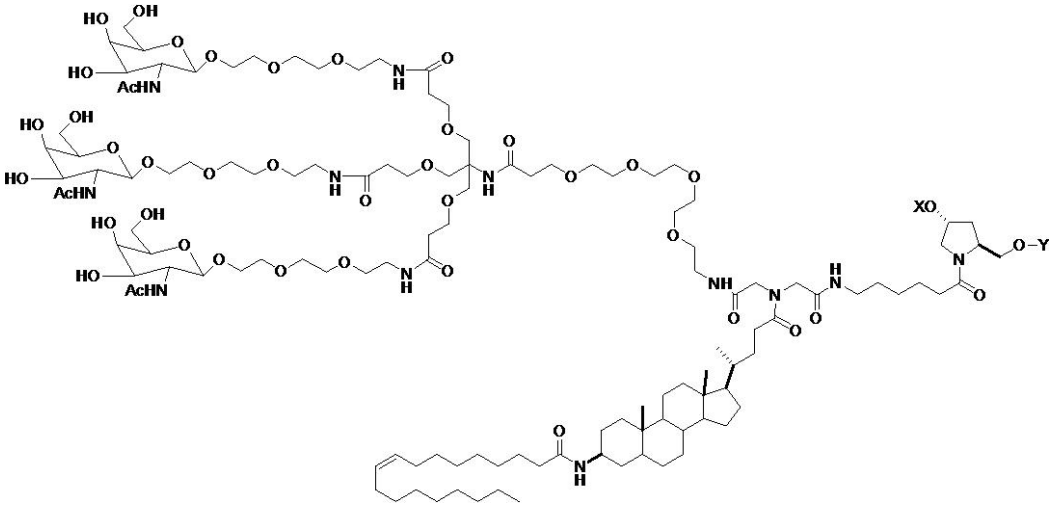


、式ＸＸＸＩＩＩ
である。
【０４３７】
特定の実施形態では、本発明の組成物および方法において使用する炭水化物コンジュゲートは、単糖である。特定の実施形態では、単糖は、Ｎ－アセチルガラクトサミンであり、例えば、

【化５３】

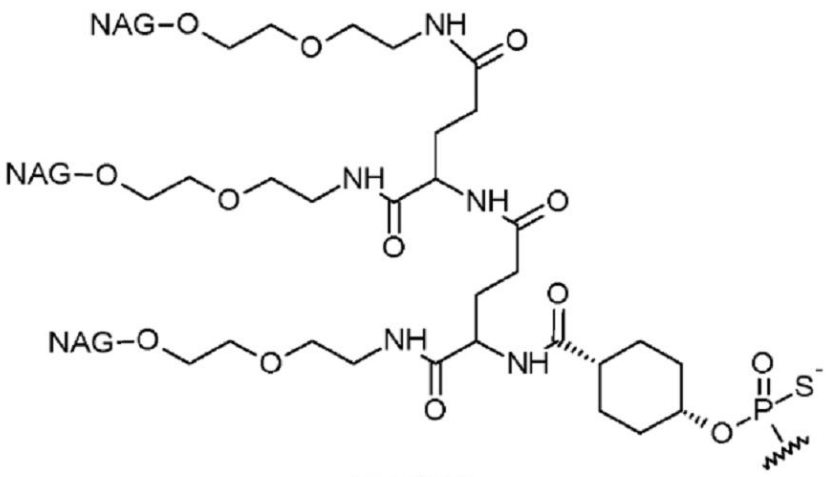


式Ｉ
である。
【０４３８】
本明細書において記載する実施形態において使用するための別の代表的な炭水化物コンジュゲートとしては、これに限定されないが、
【化５４】



（式ＸＸＩＶ）、
ＸまたはＹのうち一方がオリゴヌクレオチドである場合、もう一方は、水素である。
【０４３９】
一部の実施形態では、適したリガンドは、国際公開第２０１９／０５５６３３号において開示されるリガンドであり、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。一実施形態では、リガンドは、以下の構造を含む。

【化５５】



(NAG37)s

式ＸＸＸＶ

【０４４０】

特定の実施形態においては、本開示のＲＮＡｉ剤は、ＧａｌＮＡｃリガンドを、このようなＧａｌＮＡｃリガンドが本開示の好ましい髄腔内／ＣＮＳ送達経路にとっては価値が制限されることが現在予測される場合であっても、含み得る。

【０４４１】

本発明の特定の実施形態においては、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、一価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。一部の実施形態では、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、二価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。本発明のさらに他の実施形態では、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体は、三価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に結合する。

【０４４２】

一実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、ｉＲＮＡ剤に結合した一つ以上のＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。ＧａｌＮＡｃは、センス鎖またはアンチセンス鎖上のリンカーを介して任意のヌクレオチドに結合し得る。ＧａｌＮＡｃは、センス鎖の５’末端、センス鎖の３’末端、アンチセンス鎖の５’末端、またはアンチセンス鎖の３’末端に結合し得る。一実施形態では、ＧａｌＮＡｃは、例えば三価リンカーを介して、センス鎖の３’末端に結合する。

【０４４３】

他の実施形態では、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、複数の（例えば、２、３、４、５、または６の）ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含み、各々が独立して、複数のリンカー、例えば一価リンカーを介して、二本鎖ＲＮＡｉ剤の複数のヌクレオチドに結合する。

【０４４４】

一部の実施形態では、例えば、本発明のｉＲＮＡ剤の二本の鎖が、複数の対合しないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する、一方の鎖の３’末端と、対応するもう一方の鎖の５’末端との間のヌクレオチドの中断されない鎖によって接続した一つのより大きな分子の一部である場合には、該ヘアピンループ内の対合しないヌクレオチドは各々、一価リンカーを介して結合したＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を独立して含み得る。

【０４４５】

一部の実施形態においては、炭水化物コンジュゲートは、これに限定されないがＰＫモジュレーターまたは細胞透過ペプチドなどである、上記のような一つまたは複数のさらなるリガンドをさらに含む。

【０４４６】

本発明において使用するのに適したさらなる炭水化物コンジュゲートおよびリンカーとしては、国際公開第２０１４／１７９６２０号および国際公開第２０１４／１７９６２７号に記載されるものが挙げられ、各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０４４７】

Ｄ．リンカー

一部の実施形態では、本明細書において記載するコンジュゲートまたはリガンドを、切断可能である場合も切断可能でない場合もある種々のリンカーを用いてｉＲＮＡオリゴヌクレオチドに結合させることができる。

【０４４８】

「リンカー」または「連結基」という用語は、化合物の二つの部分を接続する、例えば、化合物の二つの部分を共有結合で結合させる、有機部分を意味する。典型的には、リンカーは、直接結合、または酸素もしくは硫黄などの原子、ＮＲ８、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）ＮＨ、ＳＯ、SO_2、SO_2NHなどのユニット、または原子の鎖であって、例えばこれに限定されるものではないが、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、置換もしくは非置換アルキニル、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールアルキニル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルアルケニル、ヘテロシクリルアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アルキルアリールアルキル、アルキルアリールアルケニル、アルキルアリールアルキニル、アルケニルアリールアルキル、アルケニルアリールアルケニル、アルケニルアリールアルキニル、アルキニルアリールアルキル、アルキニルアリールアルケニル、アルキニルアリールアルキニル、アルキルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロアリールアルケニル、アルキルヘテロアリールアルキニル、アルケニルヘテロアリールアルキル、アルケニルヘテロアリールアルケニル、アルケニルヘテロアリールアルキニル、アルキニルヘテロアリールアルキル、アルキニルヘテロアリールアルケニル、アルキニルヘテロアリールアルキニル、アルキルヘテロシクリルアルキル、アルキルヘテロシクリルアルケニル、アルキルヘレロシクリルアルキニル（ａｌｋｙｌｈｅｒｅｒｏｃｙｃｌｙｌａｌｋｙｎｙｌ）、アルケニルヘテロシクリルアルキル、アルケニルヘテロシクリルアルケニル、アルケニルヘテロシクリルアルキニル、アルキニルヘテロシクリルアルキル、アルキニルヘテロシクリルアルケニル、アルキニルヘテロシクリルアルキニル、アルキルアリール、アルケニルアリール、アルキニルアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニルヘテロアリール、アルキニルヘレロアリール（ａｌｋｙｎｙｌｈｅｒｅｒｏａｒｙｌ）など、を含み、一つまたは複数のメチレンが、Ｏ、Ｓ、Ｓ（Ｏ）、SO_2、Ｎ（Ｒ８）、Ｃ（Ｏ）、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換複素環によって中断または終結され得、式中、Ｒ８は、水素、アシル、脂肪族、または置換された脂肪族である。特定の実施形態では、リンカーは、約１～２４原子、２～２４、３～２４、４～２４、５～２４、６～２４、６～１８、７～１８、８～１８原子、７～１７、８～１７、６～１６、７～１６、または８～１６原子である。

【０４４９】

切断可能な連結基とは、細胞の外部で十分に安定であるが、標的細胞内に入ると、切断されて、リンカーが一緒に保持している二つの部分を放出する基である。好ましい実施形態では、切断可能な連結基は、対象の血液中または第二の参照条件下（例えば、血液または血清中で見られる条件を模倣または表すように選択され得る）よりも、標的細胞中または第一の参照条件下（例えば、細胞内条件を模倣または表すように選択され得る）において、少なくとも約１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、またはそれ以上、または少なくとも約１００倍速い速度で切断される。

【０４５０】

切断可能な連結基は、切断剤、例えば、ｐＨ、酸化還元電位または分解性分子の存在、の影響を受け易い。概して切断剤は、血清または血液中においてよりも、細胞の内部で、より広範に広がっているかまたはより高いレベルもしくは活性で見られる。このような分

解剤の例としては、特定の基質のために選択される、または基質特異性を有さない酸化還元剤、例えば還元によって酸化還元切断可能な連結基を分解できる、細胞中に存在する、例えば、メルカプタンなどの酸化酵素もしくは還元酵素または還元剤や、エステラーゼや、エンドソームまたは酸性環境を作出できる試薬、例えば、五以下のｐＨをもたらす試薬や、一般酸、ペプチダーゼ（基質特異的であり得る）およびホスファターゼとして作用することによって酸切断可能な連結基を加水分解もしくは分解できる酵素が挙げられる。

【０４５１】

切断可能な連結基、例えばジスルフィド結合などは、ｐＨの影響を受け易い場合がある。ヒト血清のｐＨは７．４であるが、平均細胞内ｐＨはわずかに低く、約７．１～７．３の範囲である。エンドソームは、５．５～６．０の範囲のより酸性のｐＨであり、またリソソームは、およそ５．０のさらにより酸性のｐＨである。いくつかのリンカーは、好ましいｐＨで切断され、それによって、リガンドからのカチオン性脂質を細胞の内側または細胞の所望のコンパートメント内に放出する切断可能な連結基を有することとなる。

【０４５２】

リンカーは、特定の酵素によって切断可能である切断可能な連結基を含み得る。リンカー中に組み込まれる切断可能な連結基の種類は、標的にする細胞に左右され得る。例えば、肝臓標的化リガンドは、エステル基を含むリンカーを介してカチオン性脂質に連結できる。肝細胞は、エステラーゼが豊富であるため、リンカーは、肝細胞中では、エステラーゼが豊富でない細胞型においてよりも効率的に切断されることとなる。エステラーゼが豊富な他の細胞型としては、肺、腎皮質および精巣の細胞が挙げられる。

【０４５３】

肝細胞および滑膜細胞などのペプチダーゼが豊富な細胞型を標的とする場合には、ペプチド結合を含有するリンカーを使用することができる。

【０４５４】

概して、候補の切断可能な連結基の適合性は、分解剤が候補連結基を切断する能力（または条件）を試験することによって評価可能である。また、血液中で、または他の非標的組織と接触したときに、切断に抵抗する能力について候補の切断可能な連結基を試験することもまた望ましいであろう。したがって、第一および第二の条件の間での切断に対する相対的な感受性を決定することができるものであり、ここで第一の条件は、標的細胞において切断を示すように選択され、第二の条件は、他の組織または生物学的流体中で、例えば、血液もしくは血清中で、切断を示すように選択される。評価は、無細胞系において、細胞において、細胞培養液において、臓器または組織の培養液において、または動物全身において、実施され得る。無細胞条件または培養条件において最初の評価を行うことおよび動物全身におけるさらなる評価によって確認することが、有用であり得る。好ましい実施形態では、有用な候補化合物は、血液または血清（または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）と比較して、細胞において（または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）少なくとも約２、４、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０または約１００倍速い速度で切断される。

【０４５５】

ｉ．酸化還元切断可能な連結基

特定の実施形態では、切断可能な連結基は、還元または酸化の際に切断される酸化還元切断可能な連結基である。還元的に切断可能な連結基の例としては、ジスルフィド連結基（－Ｓ－Ｓ－）が挙げられる。候補の切断可能な連結基が、適した「還元的に切断可能な連結基」であるか、または例えば、特定のｉＲＮＡ部分および特定の標的化剤とともに使用するのに適しているか否かを決定するために、本明細書において記載する方法に目を向けることができる。例えば、細胞中であって、例えば、標的細胞中で観察されるであろう切断の速度を模倣する、当技術分野で公知の試薬を使用してジチオスレイトール（ＤＴＴ）または他の還元剤とともにインキュベートすることによって、候補を評価することができる。候補はまた、血液または血清条件を模倣するように選択された条件下で評価することもできる。ある条件においては、候補化合物は、血液中で最大約１０％切断される。他

の実施形態では、有用な候補化合物は、血液中（または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）と比較して、細胞中で（または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）少なくとも約２、４、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０または約１００倍速い速度で分解される。候補化合物の切断の速度は、細胞内媒体を模倣するように選択された条件下での標準酵素動態アッセイを用いて決定され、細胞外媒体を模倣するように選択された条件と比較され得る。

【０４５６】

ｉｉ．ホスフェート系の切断可能な連結基

特定の実施形態では、切断可能なリンカーは、ホスフェート系の切断可能な連結基を含む。ホスフェート系の切断可能な連結基は、ホスフェート基を分解または加水分解する薬剤により切断される。細胞内においてホスフェート基を切断する試薬の例としては、細胞中のホスファターゼなどの酵素がある。ホスフェート系連結基の例としては、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＳＲｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＲｋ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｒｋ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｒｋ）－Ｓ－がある。好ましい実施形態としては、Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＳＨ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＨ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（Ｈ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｈ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｈ）－Ｏ、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（Ｈ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｈ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｈ）－Ｓ－がある。好ましい実施形態としては、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｏ－がある。これら候補は、上述のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【０４５７】

ｉｉｉ．酸切断可能な連結基

特定の実施形態では、切断可能なリンカーは、酸切断可能な連結基を含む。酸切断可能な連結基は、酸性条件下で切断される連結基である。好ましい実施形態では、酸切断可能な連結基は、ｐＨが約６．５以下である酸性環境（例えば、約６．０、５．７５、５．５、５．２５、５．０以下）において、または一般酸として作用できる酵素などの薬剤によって、切断される。細胞内においては、特定の低ｐＨオルガネラ、例えばエンドソームおよびリソソームが、酸切断可能な連結基のための切断環境をもたらすことができる。酸切断可能な連結基の例としては、これに限定されないが、ヒドラゾン、エステルおよびアミノ酸のエステルが挙げられる。酸切断可能な基は、一般式－Ｃ＝ＮＮ－、Ｃ（Ｏ）Ｏ、または－ＯＣ（Ｏ）を有し得る。好ましい実施形態では、エステル（アルコキシ基）の酸素に結合する炭素は、アリール基、置換アルキル基または第三級アルキル基、例えばジメチルペンチルもしくはｔ－ブチルである。これら候補は、上述のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【０４５８】

ｉｖ．エステル系切断可能な連結基

特定の実施形態では、切断可能なリンカーは、エステル系の切断可能な連結基を含む。エステル系の切断可能な連結基は、細胞内においてエステラーゼおよびアミダーゼなどの酵素によって切断される。エステル系の切断可能な連結基の例としては、これに限定されないが、アルキレン、アルケニレンおよびアルキニレン基のエステルが挙げられる。エステルの切断可能な連結基は、一般式－Ｃ（Ｏ）Ｏ－または－ＯＣ（Ｏ）－を有する。これら候補は、上述のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【０４５９】

ｖ．ペプチド系の切断可能な連結基

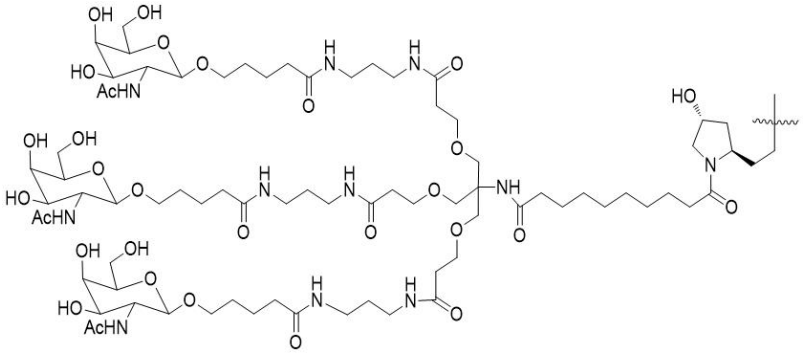
さらに別の実施形態では、切断可能なリンカーは、ペプチド系の切断可能な連結基を含

む。ペプチド系の切断可能な連結基は、細胞内においてペプチダーゼおよびプロテアーゼなどの酵素によって切断される。ペプチド系の切断可能な連結基は、アミノ酸の間で形成されて、オリゴペプチド（例えば、ジペプチド、トリペプチドなど）およびポリペプチドが得られるペプチド結合である。ペプチド系の切断可能な基は、アミド基（－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－）を含まない。アミド基は、任意のアルキレン、アルケニレンまたはアルキネレンの間で形成され得る。ペプチド結合は、アミノ酸の間で形成されて、ペプチドおよびタンパク質が得られるアミド結合の特殊な型である。ペプチド系の切断基は、概して、アミノ酸の間で形成されてペプチドおよびタンパク質が得られるペプチド結合（すなわち、アミド結合）に限定されて、全てのアミド官能基を含むものではない。ペプチド系の切断可能な連結基は、一般式－ＮＨＣＨＲ^{A}Ｃ（Ｏ）ＮＨＣＨＲ^{B}Ｃ（Ｏ）－を有するものであり、式中、Ｒ^{A}およびＲ^{B}は、二つの隣接するアミノ酸のＲ基である。これら候補は、上述のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【０４６０】

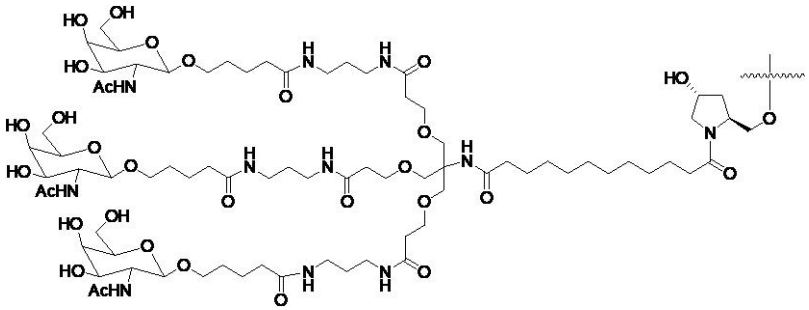
一部の実施形態では、本発明のｉＲＮＡは、リンカーを介して炭水化物にコンジュゲートされる。本発明の組成物および方法のリンカーを有するｉＲＮＡ炭水化物コンジュゲートの限定されない例としては、これに限定されないが、

【化５６】



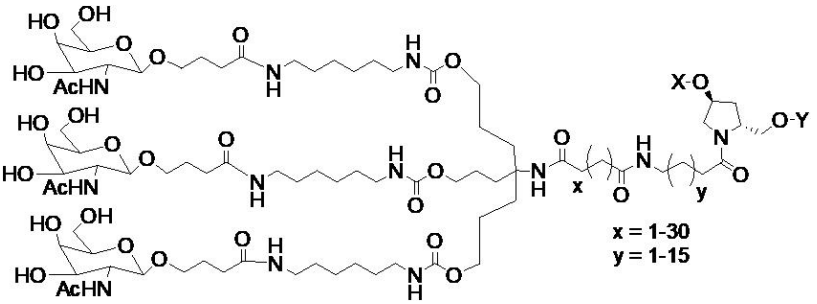
（式ＸＸＶＩ）、

【化５７】



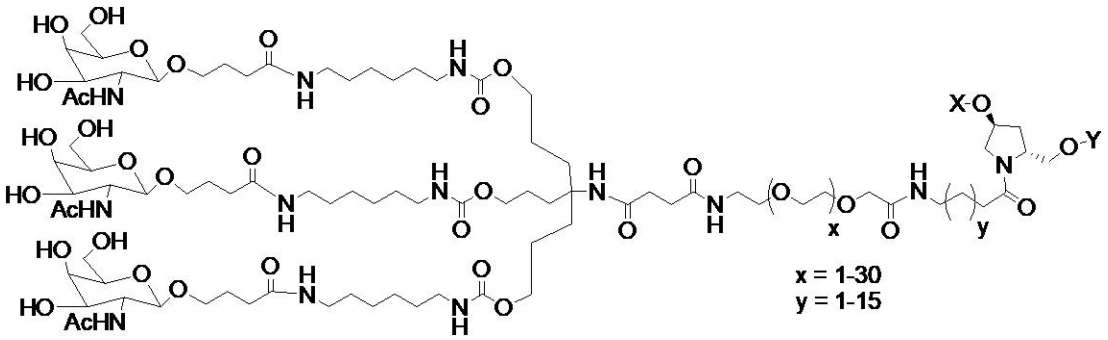
（式ＸＸＶＩＩ）、

【化５８】



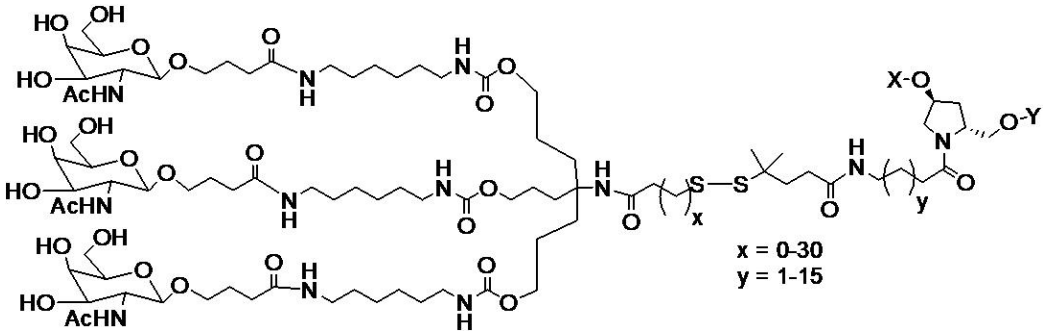
（式ＸＸＶＩＩＩ）、

【化５９】



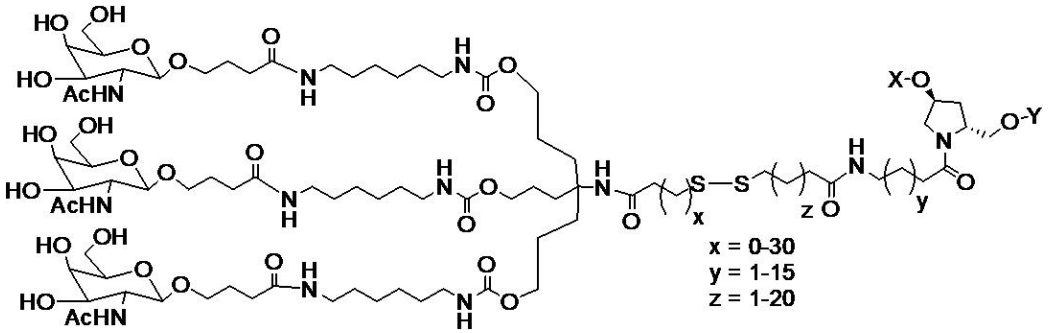
（式ＸＸＸＩＸ）、

【化６０】



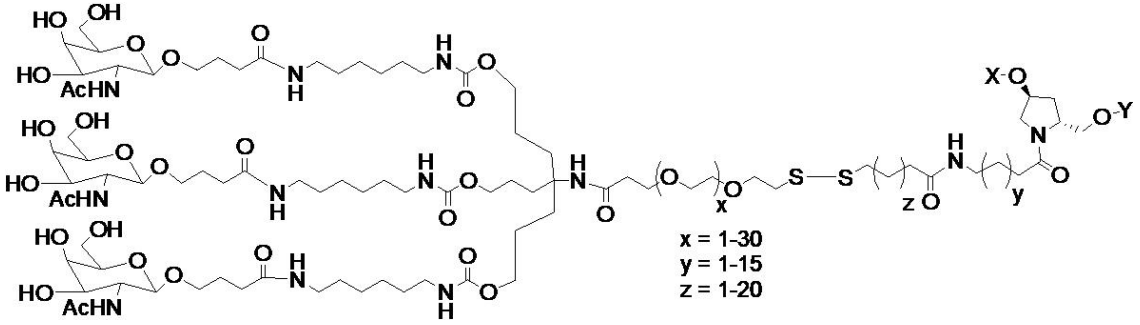
（式ＸＬ）、

【化６１】



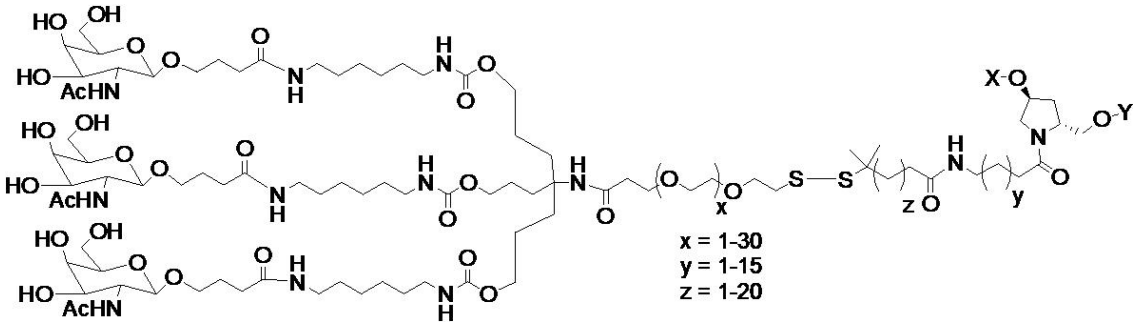
（式ＸＬＩ）、

【化６２】



（式ＸＬＩＩ）、および

【化６３】



（式ＸＬＩＩＩ）が挙げられ、ＸまたはＹの一方がオリゴヌクレオチドである場合、もう一方は、水素である。

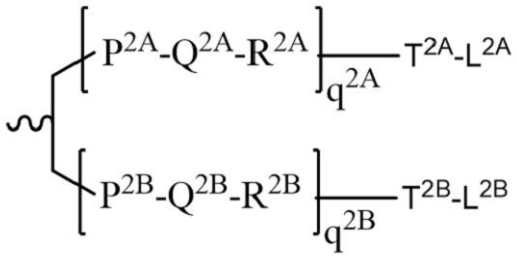
【０４６１】

本発明の組成物および方法の特定の実施形態では、リガンドは、二価または三価の分枝リンカーを介して結合した一つまたは複数の「ＧａｌＮＡｃ」（Ｎ－アセチルガラクトサミン）誘導体である。

【０４６２】

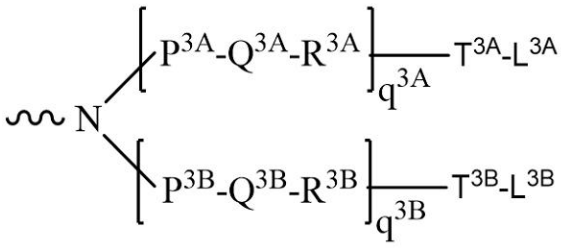
特定の実施形態では、本発明のｄｓＲＮＡは、式（ＸＬＩＶ）～（ＸＬＶＩＩ）のいずれかで示される構造の群から選択される二価または三価の分枝リンカーにコンジュゲートされる：

【化６４】



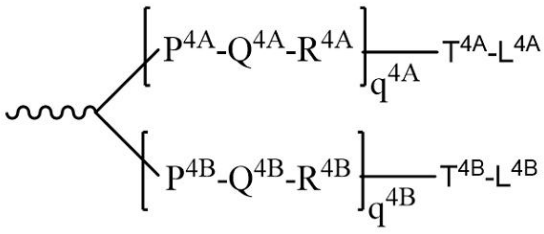
式ＸＬＩＶ、

【化６５】



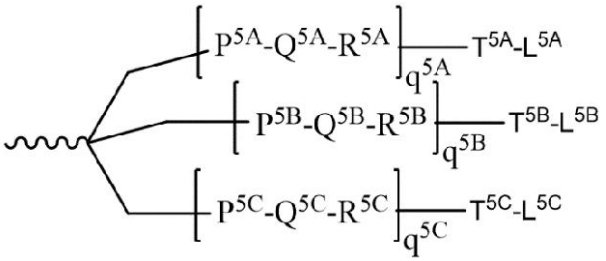
式ＸＬＶ、

【化６６】



式ＸＬＶＩ、または

【化６７】



式ＸＬＶＩＩ、

式中、

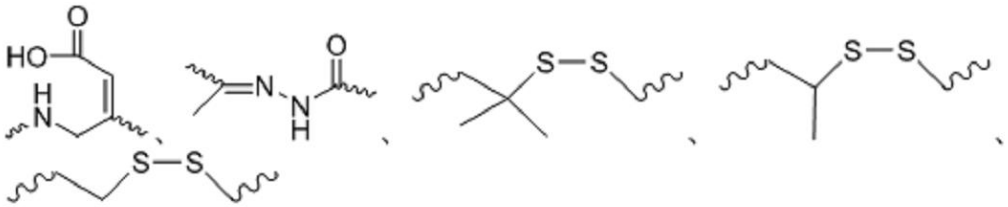
ｑ２Ａ、ｑ２Ｂ、ｑ３Ａ、ｑ３Ｂ、ｑ４Ａ、ｑ４Ｂ、ｑ５Ａ、ｑ５Ｂおよびｑ５Ｃは、出現ごとに独立に、０～２０を表し、また繰り返し単位は、同一である場合も、異なる場合もあり、

P^{2A}、P^{2B}、P^{3A}、P^{3B}、P^{4A}、P^{4B}、P^{5A}、P^{5B}、P^{5C}、T^{2A}、T^{2B}、T^{3A}、T^{3B}、T^{4A}、T^{4B}、T^{4A}、T^{5B}、T^{5C}は、出現ごとに、独立して、存在しない、ＣＯ、ＮＨ、Ｏ、Ｓ、ＯＣ（Ｏ）、ＮＨＣ（Ｏ）、CH_2、CH_2NH、またはCH_2Oであり、

Q^{2A}、Q^{2B}、Q^{3A}、Q^{3B}、Q^{4A}、Q^{4B}、Q^{5A}、Q^{5B}、Q^{5C}は、出現ごとに、独立して、存在しない、アルキレン、置換アルキレンであり、式中、一つ以上のメチレンが、Ｏ、Ｓ、Ｓ（Ｏ）、SO_2、Ｎ（R^N）、Ｃ（Ｒ’）＝Ｃ（Ｒ’’）、Ｃ≡Ｃ、またはＣ（Ｏ）のうち一つ以上によって中断または終結され得、

R^{2A}、R^{2B}、R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}、R^{4B}、R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}は、出現ごとにそれぞれ独立に、存在しない、ＮＨ、Ｏ、Ｓ、CH_2、Ｃ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）ＮＨ、ＮＨＣＨ（R^a）Ｃ（Ｏ）、－Ｃ（Ｏ）－ＣＨ（R^a）－ＮＨ－、ＣＯ、ＣＨ＝Ｎ－Ｏ、

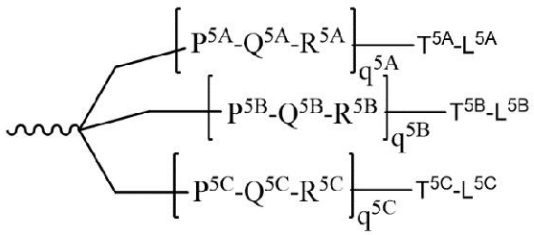
【化６８】



またはヘテロシクリルであり、

L^{2A}、L^{2B}、L^{3A}、L^{3B}、L^{4A}、L^{4B}、L^{5A}、L^{5B}、およびL^{5C}はリガンドを表し、すなわち、出現ごとに、それぞれ独立して、単糖（ＧａｌＮＡｃなど）、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖、または多糖であり、またR^aはＨまたはアミノ酸側鎖である。三価コンジュゲートＧａｌＮＡｃ誘導体は、標的遺伝子の発現を阻害するＲＮＡｉ剤と共に使用するのに特に有用であり、例えば以下の式（ＸＬＶＩＩＩ）のものなどであり、

【化６９】



式ＸＬＶＩＩＩ、

式中、L^{5A}、L^{5B}、およびL^{5C}は、単糖、例えばＧａｌＮＡｃ誘導体を表す。

【０４６３】
ＧａｌＮＡｃ誘導体をコンジュゲートする好適な二価および三価の分枝のリンカー基の例としては、これに限定されないが、式Ｉ、ＶＩ、ＩＸ、Ｘ、およびＸＩＩのような上記で列挙した構造が挙げられる。
【０４６４】
ＲＮＡコンジュゲートの調製を教示する代表的な米国特許としては、これに限定されるものではないが、米国特許第４，８２８，９７９号、第４，９４８，８８２号、第５，２１８，１０５号、第５，５２５，４６５号、第５，５４１，３１３号、第５，５４５，７３０号、第５，５５２，５３８号、第５，５７８，７１７号、第５，５８０，７３１号、第５，５９１，５８４号、第５，１０９，１２４号、第５，１１８，８０２号、第５，１３８，０４５号、第５，４１４，０７７号、第５，４８６，６０３号、第５，５１２，４３９号、第５，５７８，７１８号、第５，６０８，０４６号、第４，５８７，０４４号、第４，６０５，７３５号、第４，６６７，０２５号、第４，７６２，７７９号、第４，７８９，７３７号、第４，８２４，９４１号、第４，８３５，２６３号、第４，８７６，３３５号、第４，９０４，５８２号、第４，９５８，０１３号、第５，０８２，８３０号、第５，１１２，９６３号、第５，２１４，１３６号、第５，０８２，８３０号、第５，１１２，９６３号、第５，２１４，１３６号、第５，２４５，０２２号、第５，２５４，４６９号、第５，２５８，５０６号、第５，２６２，５３６号、第５，２７２，２５０号、第５，２９２，８７３号、第５，３１７，０９８号、第５，３７１，２４１号、第５，３９１，７２３号、第５，４１６，２０３号、第５，４５１，４６３号、第５，５１０，４７５号、第５，５１２，６６７号、第５，５１４，７８５号、第５，５６５，５５２号、第５，５６７，８１０号、第５，５７４，１４２号、第５，５８５，４８１号、第５，５８７，３７１号、第５，５９５，７２６号、第５，５９７，６９６号、第５，５９９，９２３号、第５，５９９，９２８号、第５，６８８，９４１号、第６，２９４，６６４号、第６，３２０，０１７号、第６，５７６，７５２号、第６，７８３，９３１号、第６，９００，２９７号、第７，０３７，６４６号、および第８，１０６，０２２号が挙げられ、この各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０４６５】
所与の化合物において全ての位置について均一に修飾される必要はなく、実際には、先述の修飾のうち二つ以上を単一の化合物内に、またはさらにｉＲＮＡ内の単一のヌクレオシドにおいて組み込むことができる。本発明はまた、キメラ化合物であるｉＲＮＡ化合物も含む。
【０４６６】
本発明の文脈で、「キメラの」ｉＲＮＡ化合物または「キメラ」は、ｉＲＮＡ化合物、好ましくはｄｓＲＮＡ剤であり、これは二つ以上の化学的に別個の領域を含有し、そのそれぞれが少なくとも一つのモノマーユニットから、すなわち、ｄｓＲＮＡ化合物の場合ではヌクレオチドから、構成される。これらｉＲＮＡは、典型的には、少なくとも一つの領域であって、そこでＲＮＡが、ｉＲＮＡに対してヌクレアーゼ分解に対する耐性の増大、細胞取り込みの増大または標的核酸に対する結合親和性の増大を付与するように修飾されるものである、少なくとも一つの領域を含有する。ｉＲＮＡの追加的な領域は、ＲＮＡ：ＤＮＡまたはＲＮＡ：ＲＮＡの複合型を切断可能である酵素のための基質として機能し得る。例として、リボヌクレアーゼＨは、ＲＮＡ：ＤＮＡ二重鎖のＲＮＡ鎖を切断する細胞性エンドヌクレアーゼである。したがって、リボヌクレアーゼＨの活性化が、ＲＮＡ標的の切断をもたらし、それによって遺伝子発現のｉＲＮＡ阻害の効率を大きく増強する。結果的に、これに匹敵する結果は、しばしば、同一の標的領域にハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシｄｓＲＮＡと比較して、キメラｄｓＲＮＡを使用する場合により短いｉＲＮＡで得ることができる。ＲＮＡ標的の切断は、ゲル電気泳動によって、また必要に応じて、当技術分野で公知の関連する核酸ハイブリダイゼーション技術によって、ごく普通に検出可能である。
【０４６７】

特定の例では、ｉＲＮＡのＲＮＡは、非リガンドの基によって修飾できる。ｉＲＮＡの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強するために、いくつかの非リガンドの分子がｉＲＮＡにコンジュゲートされてきたので、当該コンジュゲーションを実施するための手順は、科学文献において利用可能である。こうした非リガンドの部分には、脂質部分、例えばコレステロール（Ｋｕｂｏ，Ｔ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ．，２００７，３６５（１）：５４－６１、Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１９８９，８６：６５５３）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９４，４：１０５３）、チオエーテル、例えば、ヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（ｈｅｘｙｌ－Ｓ－ｔｒｉｔｙｌｔｈｉｏｌ）（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１９９２，６６０：３０６；Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９３，３：２７６５）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９２，２０：５３３）、脂肪鎖、例えば、ドデカンジオール残基またはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．，１９９１，１０：１１１、Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．，１９９０，２５９：３２７、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，１９９３，７５：４９）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールまたはトリエチルアンモニウム１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６：３６５１、Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９０，１８：３７７７）、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ＆ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１９９５，１４：９６９）、またはアダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６：３６５１）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，１９９５，１２６４：２２９）、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９６，２７７：９２３）、が含まれてきた。このようなＲＮＡコンジュゲートの調製を教示する代表的な米国特許は、上記で列挙している。典型的なコンジュゲーションプロトコールは、配列の一つまたは複数の位置にアミノリンカーを有するＲＮＡの合成を伴う。次いで、アミノ基が、適切なカップリングまたは活性化試薬を使用することによってコンジュゲートされている分子と反応する。コンジュゲーション反応は、ＲＮＡがまだ固体支持体に結合している状態で、または溶液相でＲＮＡが切断された後で実施可能である。典型的には、ＨＰＬＣによるＲＮＡコンジュゲートの精製によって、純粋なコンジュゲートが得られる。

【０４６８】

Ｖ．本開示のＲＮＡｉ剤の送達

ヒト対象（例えば、それを必要とする対象であって、例えばＦＬＮＡ関連障害、例えばアルツハイマー病を有する対象など）などの例えば対象内の細胞である、ある細胞への本開示のＲＮＡｉ剤の送達は、いくつかの異なる方法において達成することができる。例えば、送達は、細胞をインビトロまたはインビボのどちらかで本開示のＲＮＡｉ剤と接触させることによって実施され得る。インビボでの送達は、ＲＮＡｉ剤、例えば、ｄｓＲＮＡを含む組成物を対象に投与することによって直接的に実施され得る。あるいは、インビボでの送達は、ＲＮＡｉ剤をコードしてその発現を誘導する一つまたは複数のベクターを投与することによって間接的に実施され得る。これら選択肢は、以下においてさらに説明される。

【０４６９】

概して、核酸分子を送達する任意の方法（インビトロまたはインビボで）は、本開示のＲＮＡｉ剤の使用に適合させることができる（例えばＡｋｈｔａｒ Ｓ．ａｎｄ Ｊｕｌ

ｉａｎ ＲＬ．，（１９９２）Ｔｒｅｎｄｓ Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．２（５）：１３９－１４４および国際公開第９４／０２５９５号を参照されたく、これは参照により全体として本明細書に組み込まれる）。インビボでの送達の場合、ＲＮＡｉ剤を送達するために考慮する因子としては、例えば、送達された薬剤の生物学的安定性、非特異的効果の防止、および標的組織内での送達された薬剤の蓄積が挙げられる。ＲＮＡｉ剤の非特異的効果は、局所投与によって、例えば組織への直接注入もしくは移植または調製物の局所投与によって最小限に抑えることができる。処置部位への局所投与は、薬剤の局所濃度を最大化して、それとは別に薬剤によって害され得るかまたは薬剤を分解することができる全身組織への薬剤の曝露を制限し、また投与しようとするＲＮＡｉ剤のより少ない投与総量を可能にする。いくつかの研究では、ＲＮＡｉ剤が局所的に投与された場合の遺伝子産物のノックダウンの成功が示されている。例えば、カニクイザルにおける硝子体内への注入によるＶＥＧＦ ｄｓＲＮＡの眼内送達（Ｔｏｌｅｎｔｉｎｏ，ＭＪ．ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｒｅｔｉｎａ ２４：１３２－１３８）およびマウスにおける網膜下への注入（Ｒｅｉｃｈ，ＳＪ．ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｍｏｌ．Ｖｉｓ．９：２１０－２１６）がいずれも、加齢黄斑変性症の実験モデルにおいて、新生血管形成を予防することを示した。加えて、マウスにおけるｄｓＲＮＡの直接の腫瘍内注入が、腫瘍体積を減少させ（Ｐｉｌｌｅ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１１：２６７－２７４）、また腫瘍を有するマウスの生存を長引かせることができる（Ｋｉｍ，ＷＪ．ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１４：３４３－３５０、Ｌｉ，Ｓ．ｅｔ ａｌ．，（２００７）Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１５：５１５－５２３）。ＲＮＡ干渉は、直接注入によるＣＮＳへの局所送達によって成功することがわかっており（Ｄｏｒｎ，Ｇ．ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ ３２：ｅ４９；Ｔａｎ，ＰＨ．ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．１２：５９－６６、Ｍａｋｉｍｕｒａ，Ｈ．ｅｔ ａ．ｌ（２００２）ＢＭＣ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．３：１８、Ｓｈｉｓｈｋｉｎａ，ＧＴ．，ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ １２９：５２１－５２８、Ｔｈａｋｋｅｒ，ＥＲ．，ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．１０１：１７２７０－１７２７５、Ａｋａｎｅｙａ，Ｙ．，ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｐｈｙｓｉｏｌ．９３：５９４－６０２）、また肺に対しては鼻腔内投与によって成功することがわかっている（Ｈｏｗａｒｄ，ＫＡ．ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１４：４７６－４８４、Ｚｈａｎｇ，Ｘ．ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７９：１０６７７－１０６８４、Ｂｉｔｋｏ，Ｖ．ｅｔ ａｌ．，（２００５）Ｎａｔ．Ｍｅｄ．１１：５０－５５）。疾患の処置のためにＲＮＡｉ剤を全身投与する場合、ＲＮＡを修飾するか、または代替として、薬物送達システムを使用して送達することができ、いずれの方法も、インビボでのエンドヌクレアーゼおよびエクソヌクレアーゼによってｄｓＲＮＡの急速な分解を防ぐように機能する。ＲＮＡまたは医薬担体を修飾することによっても、標的組織へのＲＮＡｉ剤の標的化を可能にすることができ、また望ましくないオフターゲット効果を回避することができる（例えば、理論に拘束されることを望むわけではないが、本明細書に記載のＧＮＡの使用は、ｄｓＲＮＡのシード領域を不安定化させることが特定されているが、これにより当該ｄｓＲＮＡのオフターゲット効果と比較してオンターゲット効果への優先性が向上することとなり、それによりオフターゲット効果が、こうしたシード領域の不安定化によって有意に低下することとなる）。ＲＮＡｉ剤は、細胞取り込みを増強し、分解を防ぐように、コレステロールなどの親油性基への化学的コンジュゲーションによって修飾することができる。例えば、親油性コレステロール部分にコンジュゲートさせたＡｐｏＢへと誘導されるＲＮＡｉ剤を、マウスに全身注入したところ、結果として、肝臓および空腸の両方においてＡｐｏＢ ｍＲＮＡのノックダウンを生じた（Ｓｏｕｔｓｃｈｅｋ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ｎａｔｕｒｅ ４３２：１７３－１７８）。アプタマーへのＲＮＡｉ剤のコンジュゲーションは、前立腺がんのマウスモデルにおいて腫瘍の成長を阻害し、腫瘍縮小を媒介することが分かっている（ＭｃＮａｍａｒａ，ＪＯ．ｅｔ ａｌ．，（２００６）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２４：１００５－１０１５）。代替的な実施形態では、ＲＮ

Ａｉ剤は、ナノ粒子、デンドリマー、ポリマー、リポソーム、またはカチオン性送達システムなどの薬物送達システムを使用して送達させることができる。正に帯電したカチオン性送達システムにより、分子ＲＮＡｉ剤（負に帯電した）の結合が促進され、また負に帯電した細胞膜での相互作用も向上し、それによって細胞によるＲＮＡｉ剤の効率的な取り込みが可能になる。カチオン性脂質、デンドリマー、またはポリマーを、ＲＮＡｉ剤に結合することができるか、またはＲＮＡｉ剤を封入するベシクルまたはミセルを形成するように誘導することができる（例えば、Ｋｉｍ　ＳＨ．ｅｔ　ａｌ．，（２００８）Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｒｅｌｅａｓｅ１２９（２）：１０７－１１６を参照）。ベシクルまたはミセルの形成は、全身投与したときのＲＮＡｉの分解をさらに防止する。カチオン性のＲＮＡｉ剤複合体を作製および投与する方法は、十分に当業者の能力の範囲内である（例えば、Ｓｏｒｅｎｓｅｎ，ＤＲ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ　３２７：７６１－７６６、Ｖｅｒｍａ，ＵＮ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．９：１２９１－１３００、Ａｒｎｏｌｄ，ＡＳ　ｅｔ　ａｌ．（２００７）Ｊ．Ｈｙｐｅｒｔｅｎｓ．２５：１９７－２０５を参照されたく、これらは参照によりそれら全体が本明細書に組み込まれる）。ＲＮＡｉ剤の全身送達に有用な薬剤送達システムのいくつかの非限定的な例としては、ＤＯＴＡＰ（Ｓｏｒｅｎｓｅｎ，ＤＲ．，ｅｔ　ａｌ（２００３），ｓｕｐｒａ；Ｖｅｒｍａ，ＵＮ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３），ｓｕｐｒａ）、オリゴフェクタミン、「固体核酸脂質粒子（ｓｏｌｉｄ　ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ　ｌｉｐｉｄ　ｐａｒｔｉｃｌｅ）」（Ｚｉｍｍｅｒｍａｎｎ，ＴＳ．ｅｔ　ａｌ．，（２００６）Ｎａｔｕｒｅ　４４１：１１１－１１４）、カルジオリピン（Ｃｈｉｅｎ，ＰＹ．ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．１２：３２１－３２８；Ｐａｌ，Ａ．ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｉｎｔ　Ｊ．Ｏｎｃｏｌ．２６：１０８７－１０９１）、ポリエチレンイミン（ＢｏｎｎｅｔＭＥ．ｅｔ　ａｌ．，（２００８）Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．Ａｕｇ　１６　Ｅｐｕｂ　ａｈｅａｄ　ｏｆ　ｐｒｉｎｔ；Ａｉｇｎｅｒ，Ａ．（２００６）Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．７１６５９）、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＲＧＤ）ペプチド（Ｌｉｕ，Ｓ．（２００６）Ｍｏｌ．Ｐｈａｒｍ．３：４７２－４８７）、およびポリアミドアミン（Ｔｏｍａｌｉａ，ＤＡ．ｅｔ　ａｌ．，（２００７）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．３５：６１－６７；Ｙｏｏ，Ｈ．ｅｔ　ａｌ．，（１９９９）Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．１６：１７９９－１８０４）が挙げられる。一部の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤は、全身投与のためにシクロデキストリンと複合体を形成する。ＲＮＡｉ剤とシクロデキストリンの投与方法およびＲＮＡｉ剤とシクロデキストリンとによる医薬組成物は、米国特許第７，４２７，６０５号に見ることができ、これは参照によりその全体として本明細書に組み込まれる。

【０４７０】

本開示の特定の態様は、細胞内においてＦＬＮＡ標的遺伝子の発現を減少させる方法であって、該細胞を本開示の二本鎖ＲＮＡｉ剤と接触させることを含む方法に関する。一実施形態においては、細胞は、肝外細胞（ｅｘｔｒａｈｅｐｔｉｃ　ｃｅｌｌ）であり、随意にＣＮＳ細胞である。本開示の別の態様は、対象においてＦＬＮＡ標的遺伝子の発現を減少させる方法であって、本開示の二本鎖ＲＮＡｉ剤を対象に投与することを含む方法に関する。

【０４７１】

本開示の別の態様は、ＣＮＳ障害（神経変性障害）を有する対象を治療する方法であって、対象に本開示の二本鎖ＦＬＮＡ標的化ＲＮＡｉ剤の治療有効量を投与し、それによって対象を治療することを含む方法に関する。本開示の方法によって治療され得る例示的なＣＮＳ障害としては、アルツハイマー病などのＦＬＮＡ関連疾患ＣＮＳ障害が挙げられる。

【０４７２】

一実施形態では、二本鎖ＲＮＡｉ剤は、髄腔内投与される。この方法は、二本鎖ＲＮＡｉ剤の髄腔内投与によって、脳（例えば、線条体）または脊柱組織、例えば皮質、小脳、

頚椎、腰椎、および胸椎、単球およびＴ細胞などの免疫細胞におけるＦＬＮＡ標的遺伝子の発現を減少させることができる。

【０４７３】

説明を簡単にするため、この項における製剤、組成物、および方法は、主として修飾ｓｉＲＮＡ化合物に関して述べる。しかしながら、これら製剤、組成物、および方法は、他のｓｉＲＮＡ化合物、例えば未修飾ｓｉＲＮＡ化合物で実施することができ、そして当該実施は、本開示の範囲内であることは理解され得る。ＲＮＡｉ剤を含む組成物は、様々な経路によって対象に送達することができる。例示的な経路としては、髄腔内、静脈内、局所、経直腸、経肛門、経膣、経鼻、肺内、および眼内が挙げられる。

【０４７４】

本開示のＲＮＡｉ剤は、投与に好適な医薬組成物に組み込むことができる。こうした組成物は、通常、一つまたは複数の種のＲＮＡｉ剤と薬学的に許容可能な担体とを含む。本明細書において使用する場合、語句「薬学的に許容可能な担体」は、医薬投与に適合性の、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤、ならびに同様のものを含むことが意図される。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野において周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性成分と不適合性である場合を除き、組成物におけるそれらの使用は意図される。補足的な有効成分もまた組成物に組み込まれ得る。

【０４７５】

本開示の医薬組成物は、局所処置または全身処置のどちらが所望されるか、ならびに処置される面積に応じて、いくつかの方法で投与され得る。投与は、局所（例えば、眼内、経膣、経直腸、鼻腔内、経皮など）、髄腔内、経口、または非経口投与であり得る。非経口投与は、点滴静注、皮下、腹腔内、もしくは筋肉内注射、または髄腔内または脳室内の投与を含む。

【０４７６】

投与の経路および部位は、標的化を増強するように選択され得る。例えば、神経または脊髄組織を標的とするために、髄腔内注入は論理的な選択である。肺細胞は、エアロゾル形態でのＲＮＡｉ剤の投与によって標的とすることができる。血管内皮細胞は、バルーンカテーテルをＲＮＡｉ剤でコーティングすること、およびＲＮＡを機械的に導入することによって標的とすることができる。

【０４７７】

局所投与用製剤は、経皮パッチ、軟膏剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、点滴剤、坐剤、噴霧剤、溶液剤、および散剤を含み得る。従来の医薬担体、水性、粉末、または油状の基剤、増粘剤なども必要であり得、または望ましくあり得る。コーティングしたコンドーム、手袋なども有用であり得る。

【０４７８】

経口投与用組成物としては、散剤または顆粒剤、水中の懸濁剤または溶液剤、シロップ剤、エリキシル剤または非水性媒体、錠剤、カプセル剤、ドロップ剤、またはトローチ剤を含む。錠剤の場合、使用できる担体としては、ラクトース、クエン酸ナトリウム、およびリン酸の塩が挙げられる。錠剤中には、例えばデンプンなどの種々の崩壊剤、および例えばステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウムおよびタルクなどである潤滑剤が、通常使用される。カプセル形態での経口投与の場合、有用な希釈剤は、ラクトースおよび高分子量ポリエチレングリコールである。経口投与のために水性懸濁剤が必要な場合は、核酸組成物を、乳化剤および懸濁剤と組み合わせることができる。所望の場合、特定の甘味剤または風味剤を加えることができる。

【０４７９】

髄腔内または脳室内に投与されるための組成物は、緩衝液、希釈剤、および他の好適な添加剤も含有し得る無菌の水溶液を含み得る。

【０４８０】

非経口投与用の製剤は、緩衝液、希釈剤、および他の好適な添加剤も含有し得る無菌の

水溶液を含み得る。脳室内注射は、例えばリザーバに取り付けられた、脳室内カテーテルによって促進され得る。静脈内での使用の場合、溶質の総濃度は、調製物を等張にするように制御され得る。

【０４８１】

一実施形態では、ｓｉＲＮＡ化合物、例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物、またはｓｓｉＲＮＡ化合物、組成物の投与は、非経口であり、例えば、静脈内（例えば、ボーラスとして、または拡散性注入として）、皮内、腹腔内、筋肉内、髄腔内、脳室内、頭蓋内、皮下、経粘膜、頬側、舌下、内視鏡下、経直腸、経口、経膣、局所、肺内、鼻腔内、経尿道、または眼内である。投与は、対象自身によって、または他の者、例えば、医療提供者などによって提供され得る。医薬品は、測定された用量で、または計量された用量を送達するディスペンサーで、提供することができる。選択される送達形態は、以下においてより詳細に説明する。

【０４８２】

Ａ．髄腔内投与

一実施形態においては、二本鎖ＲＮＡｉ剤は、髄腔内注入（すなわち、脳および脊髄組織を浸す脳脊髄液への注入）によって送達される。脳脊髄液へのＲＮＡｉ剤の髄腔内注入は、ボーラス注入として、または皮下に植え込み可能であり、それによって脳脊髄液へのｓｉＲＮＡの規則正しい一定の送達を提供することができるミニポンプを介して、実施することができる。脳脊髄液が産生される脈絡叢からの脳脊髄液の循環は、脊髄および後根神経節の周りを下り、その後上がって小脳を通過して、皮質を越えてクモ膜顆粒へと入り、そこで脳脊髄液はＣＮＳを出ることができるものであり、注入された化合物のサイズ、安定性、および溶解性に応じて、髄腔内より送達される分子は、ＣＮＳ全体を通して標的を攻撃することとなる。

【０４８３】

一部の実施形態においては、髄腔内投与は、ポンプを介して行われる。ポンプは、外科手術によって植え込んだ浸透圧ポンプであり得る。一実施形態では、浸透圧ポンプは、髄腔内投与を容易にするために、脊柱管のクモ膜下腔内に植え込まれる。

【０４８４】

一部の実施形態においては、髄腔内投与は、ある量の医薬品を収容するリザーバと、リザーバに収容された医薬品の一部を送達するように構成されたポンプを含む、製薬品の髄腔内送達システムを介して行われる。この髄腔内送達系についてのさらなる詳細は、国際公開第２０１５／１１６６５８号で見られ得、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０４８５】

髄腔内注入されたＲＮＡｉ剤の量は、一つの標的遺伝子から別の標的遺伝子で変動し得、ならびに適用されるべき適切な量は、標的遺伝子ごとに個別に決定しなければならない場合がある。典型的には、この量は、１０μｇから２ｍｇ、好ましくは５０μｇから１５００μｇ、より好ましくは１００μｇから１０００μｇの範囲である。

【０４８６】

Ｂ．本開示のベクターコードＲＮＡｉ剤

ＦＬＮＡ遺伝子を標的とするＲＮＡｉ剤は、ＤＮＡまたはＲＮＡベクターに挿入された転写物ユニットから発現され得る（例えば、Ｃｏｕｔｕｒｅ，Ａ，ｅｔ　ａｌ．，ＴＩＧ．（１９９６），１２：５－１０、国際公開第００／２２１１３号、国際公開第００／２２１１４号、および米国特許第６，０５４，２９９号を参照）。発現は、使用される特定の構築物ならびに標的の組織または細胞型に応じて持続することが好ましい（数か月またはそれ以上）。これら導入遺伝子は、直鎖状の構築物、環状プラスミド、または統合ベクターもしくは非統合ベクターであり得るウイルスベクターとして導入することができる。導入遺伝子はまた、染色体外プラスミドとして継代されることが可能になるように構築することもできる（Ｇａｓｓｍａｎｎ，ｅｔ　ａｌ．，（１９９５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９２：１２９２）。

【０４８７】
ＲＮＡｉ剤の個々の鎖は、発現ベクター上のプロモーターから転写させることができる。二つの別々の鎖が、例えば、ｄｓＲＮＡを生成するように発現される場合、二つの別々の発現ベクターを、標的細胞内に同時導入することができる（例えば、トランスフェクションまたは感染によって）。あるいは、ｄｓＲＮＡのそれぞれ個別の鎖を、プロモーターによって転写させることができ、プロモーターのいずれもが同じ発現プラスミド上に位置される。一実施形態では、ｄｓＲＮＡは、ｄｓＲＮＡがステム－アンド－ループ構造を有するようにリンカーポリヌクレオチド配列によって連結された逆方向リピートポリヌクレオチドとして発現される。
【０４８８】
ＲＮＡｉ剤発現ベクターは、概して、ＤＮＡプラスミドまたはウイルスベクターである。真核細胞に適合性がある発現ベクター、好ましくは脊椎動物細胞に対して適合性がある発現ベクターを使用することにより、本明細書において記載するＲＮＡｉ剤の発現のための組換え構築物を産生することができる。ＲＮＡｉ剤発現ベクターの送達は、例えば静脈内または筋肉内投与によって、患者から取り出された標的細胞への投与とその後の患者への再導入によって、または所望の標的細胞への導入を可能にする任意の他の手段によって、全身的になされ得る。
【０４８９】
本明細書において記載する方法および組成物と共に用いることができるウイルスベクターシステムとしては、これらに限定されるものではないが、（ａ）アデノウイルスベクター、（ｂ）レトロウイルスベクター、例えばこれに限定されるものではないが、レンチウイルスベクター、モロニーマウス白血病ウイルスなど、（ｃ）アデノ随伴ウイルスベクター、（ｄ）単純ヘルペスウイルスベクター、（ｅ）ＳＶ４０ベクター、（ｆ）ポリオーマウイルスベクター、（ｇ）パピローマウイルスベクター、（ｈ）ピコルナウイルスベクター、（ｉ）ポックスウイルスベクター、例えばオルソポックスなどであり、例えば、ワクシニアウイルスベクターなど、またはトリポックスであり、例えば、カナリアポックスもしくは鶏痘など、ならびに（ｊ）ヘルパー依存性アデノウイルスまたはガットレス（ｇｕｔｌｅｓｓ）アデノウイルスが挙げられる。複製欠損ウイルスもまた有利であり得る。異なるベクターは、細胞のゲノムの中に組み込まれるようになるかまたは組み込まれるようにならないであろう。当該構築物は、所望の場合、トランスフェクションのためのウイルス配列を含めることができる。あるいは、構築物は、エピソーム複製が可能なベクター内に、例えばＥＰＶベクターおよびＥＢＶベクター内に、組み込むことができる。ＲＮＡｉ剤の組換え発現のための構築物は、概して、標的細胞におけるＲＮＡｉ剤の発現を確実にするために、調節要素、例えばプロモーター、エンハンサーなどを必要とすることとなる。ベクターおよび構築物を検討するための他の態様は、当技術分野で公知である。
【０４９０】
ＶＩ．本発明の医薬組成物
本開示は、本開示のＲＮＡｉ剤を含む医薬組成物および製剤も含む。一実施形態では、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物が本明細書において提供される。ＲＮＡｉ剤を含む医薬組成物は、ＦＬＮＡの発現または活性に関連する疾患または障害、例えば、ＦＬＮＡ関連疾患の治療にとって有用である。
【０４９１】
一部の実施形態では、本発明の医薬組成物は、無菌である。別の実施形態では、本発明の医薬組成物は、発熱因子なしである。
【０４９２】
こうした医薬組成物は、送達の態様に基づいて製剤化される。一実施例としては、非経口送達を介して、例えば静脈内（ＩＶ）送達、筋肉内（ＩＭ）送達、または皮下（ｓｕｂＱ）送達によって、全身投与用に製剤化される組成物がある。別の実施例としては、例えば、髄腔内または硝子体内の注入経路によって、随意に脳（例えば、線条体）内への注入、例えば連続ポンプ注入などによって、ＣＮＳ内への直接送達用に製剤化された組成物が

ある。
【０４９３】
本開示の医薬組成物は、ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害するのに十分な投薬量で投与され得る。概して、本開示のＲＮＡｉ剤の好適な用量は、一日当たりレシピエントの体重一キログラム当たり約０．００１～約２００．０ミリグラムの範囲、概して一日当たり体重一キログラム当たり約１～５０ｍｇの範囲とすることとなる。
【０４９４】
反復投薬レジメンとしては、例えば一ヵ月に一回から六ヵ月に一回など、治療量のＲＮＡｉ剤の定期的な投与を含み得る。特定の実施形態においては、ＲＮＡｉ剤は、四半期に約一回（すなわち、三ヵ月毎に約一回）から一年に約二回で投与される。
【０４９５】
最初の治療レジメン（例えば、負荷投与量）の後、治療は、より少ない頻度で施与することができる。
【０４９６】
他の実施形態においては、医薬組成物の単回用量が、持続性であり得ることにより、それに続く用量は、１ヵ月以下、２ヵ月以下、３ヵ月以下、または４ヵ月以下の間隔で投与される。本開示の一部の実施形態においては、本開示の医薬組成物の単回用量が、月一回投与される。本開示の他の実施形態においては、本開示の医薬組成物の単回用量は、四半期に一回から年に二回で投与される。
【０４９７】
当業者は、例えばこれらに限定されるものではないが、疾患または障害の重症度、過去の治療、対象の健康全般または年齢、および存在する他の疾患などである特定のファクターが、対象を効果的に治療するために必要な投薬量および投薬のタイミングに影響を及ぼし得ることを理解するであろう。その上、治療有効量の組成物での対象の治療には、単回治療または一連の治療が含まれ得る。
【０４９８】
マウス遺伝学における進歩は、様々なヒト疾患、例えば、ＦＬＮＡの発現の減少から恩恵を受けることとなる例えばアルツハイマー病などである種々のヒト疾患の研究のために多くのマウスモデルを生み出した。こうしたモデルは、ＲＮＡｉ剤のインビボ試験のため、ならびに治療有効用量を決定するために使用することができる。好適なげっ歯類モデルは、当技術分野で公知であり、例えばＥｓｑｕｅｒｄａ－Ｃａｎａｌｓ，ｅｔ　ａｌ．（Ｊ　Ａｌｚｈｅｉｍｅｒｓ　Ｄｉｓ（２０１７）１５（４）：１１７１－１１８３）およびＲａｚａ，ｅｔ　ａｌ．（Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉ（２０１９）１：２２６：７７－９０）に記載されているものなどである。さらに、ヒト細胞を含み、インビトロ試験に好適な細胞培養モデルは、当技術分野で公知であり、例えば、Ｍａｔｓｕｍｏｔｏ，ｅｔ　ａｌ．（Ｉｎｔ　Ｊ　Ｍｏｌ　Ｓｃｉ（２０１８）１９：５：ｐｉｉ：Ｅ１４９７）およびＣｈｏｉ，ｅｔ　ａｌ．（Ｎａｔｕｒｅ（２０１４）５１５（７５２６）：２７４－８）などである。
【０４９９】
本開示の医薬組成物は、局所処置または全身処置のどちらが所望されるか、および処置される面積に応じて、いくつかの方法で施与され得る。投与は、局所（例えば、経皮貼布による）であり、例えば、ネブライザーなどによる散剤またはエアロゾル剤の吸入または吹送によって肺内であり、気管内、鼻腔内、表皮および経皮、経口または非経口であり得る。非経口投与は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内、または筋肉内の注射または注入、例えば植込みデバイスを介して皮下への投与、または例えば実質内、髄腔内、または脳室内の投与によって頭蓋内への投与を含む。
【０５００】
ＲＮＡｉ剤は、特定の組織、例えばＣＮＳ（例えば、脳のニューロン、膠細胞、または血管内皮組織）などを標的とする方式で送達することができる。
【０５０１】

局所投与用の医薬組成物および製剤は、経皮パッチ、軟膏剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、点滴剤、坐剤、噴霧剤、溶液剤、および散剤を含み得る。従来の医薬担体、水性基剤、粉末基剤、または油性基剤、増粘剤などは、必要であり得るか、または望ましいものであり得る。コーティングしたコンドーム、手袋なども有用であり得る。好適な局所製剤としては、本開示で取り上げるＲＮＡｉ剤が、局所送達剤、例えば脂質、リポソーム、脂質酸、脂質酸エステル、ステロイド、キレート剤および界面活性剤との混合物となっているものを含める。適切な脂質およびリポソームとしては、中性（例えば、ジオレオイルホスファチジルＤＯＰＥエタノールアミン、ジミリストイルホスファチジルコリンＤＭＰＣ、ジステアロリホスファチジルコリン）、陰性（例えば、ジミリストイルホスファチジルグリセロールＤＭＰＧ）およびカチオン性（例えば、ジオレオイルテトラメチルアミノプロピルＤＯＴＡＰおよびジオレオイルホスファチジルエタノールアミンＤＯＴＭＡ）が挙げられる。本開示において取り上げるＲＮＡｉ剤は、リポソーム内においてカプセル化することができ、またはリポソームと、特にカチオン性リポソームと複合体を形成することができる。あるいは、ＲＮＡｉ剤は、脂質、特にカチオン性脂質と複合体化することができる。好適な脂肪酸およびエステルとしては、これに限定されるものではないが、アラキドン酸、オレイン酸、エイコサン酸、ラウリン酸、カプリル酸、カプリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプリン酸、トリカプリン酸、モノオレイン、ジラウリン、１－モノカプリン酸グリセリル、１－ドデシルアザシクロヘプタン－２－オン、アシルカルニチン、アシルコリン、またはＣ１～２０アルキルエステル（例えば、イソプロピルミリステートＩＰＭ）、モノグリセリド、ジグリセリド、またはそれらの薬学的に許容可能な塩が挙げられる。局所製剤は、米国特許第６，７４７，０１４号に詳述されており、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【０５０２】

Ａ．膜性分子アセンブリを含むＲＮＡｉ剤製剤

本開示の組成物および方法で使用するためのＲＮＡｉ剤は、膜性分子アセンブリでの、例えばリポソームまたはミセルでの送達用に製剤化することができる。本明細書において使用する場合、「リポソーム」という用語は、少なくとも一つの二重層、例えば、一つの二重層または複数の二重層内に整列した両親媒性脂質で構成されたベシクルを指す。リポソームは、親油性材料から形成された膜と水性内側部分とを有する単層膜および多重膜のベシクルを含む。水性部分が、ＲＮＡｉ剤組成物を含有する。親油性材料は、典型的にはＲＮＡｉ剤組成物を含まないが一部の実施例では含む場合もある水性外側部分から、水性内側部分を隔離する。リポソームは、作用部位への活性成分の移送および送達に有用である。リポソーム膜は、生体膜と構造的に似ているため、リポソームが組織に適用されるとリポソーム二重層は細胞膜の二重層と融合する。リポソームと細胞の融合が進むにつれて、ＲＮＡｉ剤を含む内側水性部分の内容物は、細胞内へと送達されて、そこでＲＮＡｉ剤が、標的ＲＮＡに特異的に結合することができ、そしてＲＮＡｉを媒介することができる。場合によっては、リポソームはまた、例えば、ＲＮＡｉ剤を特定の細胞型に誘導するために、特異的に標的とされる。

【０５０３】

ＲＮＡｉ剤を含有するリポソームは、様々な方法によって調製することができる。一実施例では、リポソームの脂質成分が界面活性剤に溶解され、それによって脂質成分でミセルが形成される。例えば、脂質成分は、両親媒性カチオン性脂質または脂質コンジュゲートであり得る。界面活性剤は、高い臨界ミセル濃度を有し得、また非イオン性であり得る。例示的な界面活性剤としては、コール酸、ＣＨＡＰＳ、オクチルグルコシド、デオキシコール酸およびラウロイルサルコシンが挙げられる。次いで、ＲＮＡｉ剤調製物は、脂質成分を含むミセルに加えられる。脂質上のカチオン性基が、ＲＮＡｉ剤と相互作用して、ＲＮＡｉ剤の周りに凝縮してリポソームを形成する。凝縮後、界面活性剤は、ＲＮＡｉ剤のリポソーム調製物を得るために、例えば、透析などによって、除去される。

【０５０４】

必要であれば、凝集反応の際に、例えば、制御された添加によって、凝集を補助する担

体化合物を加えることもできる。例えば、担体化合物は、核酸以外のポリマーであり得る（例えば、スペルミンまたはスペルミジン）。ｐＨはまた、縮重に都合よく調節可能である。

【０５０５】

送達ビヒクルの構造的な成分としてポリヌクレオチド／カチオン性脂質複合体を組み込んだ安定なポリヌクレオチド送達ビヒクルを産生する方法が、例えば、国際公開第９６／３７１９４号にさらに記載されて、その内容全体が、参照により本明細書に組み込まれる。リポソーム形成はまた、Ｆｅｌｇｎｅｒ，Ｐ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．，（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８：７４１３－７４１７、米国特許第４，８９７，３５５号、米国特許第５，１７１，６７８号、Ｂａｎｇｈａｍ ｅｔ ａｌ．，（１９６５）Ｍ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２３：２３８；Ｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，（１９７９）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ５５７：９；Ｓｚｏｋａ ｅｔ ａｌ．，（１９７８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．７５：４１９４；Ｍａｙｈｅｗ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ７７５：１６９；Ｋｉｍ ｅｔ ａｌ．，（１９８３）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ７２８：３３９；およびＦｕｋｕｎａｇａ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ．１１５：７５７、に記載される例示的な方法の一つまたは複数の態様も含み得る。送達ビヒクルとして使用するための適切なサイズの脂質凝集体を調製するために通常使用される技術としては、超音波処理および凍結融解に加えて押出成形が挙げられる（例えば、Ｍａｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９８６）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ８５８：１６１を参照されたい。一貫して小さく（５０～２００ｎｍ）、比較的均一な凝集体が望ましいときには、顕微溶液化を使用することができる（Ｍａｙｈｅｗ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ７７５：１６９。これら方法は、ＲＮＡｉ剤の調製物をリポソームに包含させるために容易に適合される。

【０５０６】

リポソームは、二つの広いクラスに分類される。カチオン性リポソームは、正に帯電したリポソームであって、負に帯電した核酸分子と相互作用して安定な複合体を形成するリポソームである。正に帯電した核酸／リポソーム複合体は、負に帯電した細胞表面に結合して、エンドソームに内在化される。エンドソーム内の酸性ｐＨに起因して、リポソームは破裂して、その内容物を細胞質中へと放出する（Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．（１９８７）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．，１４７：９８０－９８５）。

【０５０７】

リポソームは、ｐＨ感受性であるかまたは負に帯電しており、それらとの複合体ではなく核酸を捕捉する。核酸および脂質の両方が、同様の電荷であるため、複合体形成ではなく反発が生じる。それにもかかわらず、一部の核酸は、これらリポソームの水性内側部分内に捕捉される。チミジンキナーゼ遺伝子をコードする核酸を、培養液中の細胞単一層に送達するために、ｐＨ感受性リポソームが使用されてきた。外因性遺伝子の発現が、標的細胞内において検出された（Ｚｈｏｕ ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，１９：２６９－２７４）。

【０５０８】

リポソーム組成物の主要なタイプの一つは、天然由来のホスファチジルコリン以外のリン脂質を含む。中性リポソーム組成物は、例えば、ジミリストイルホスファチジルコリン（ＤＭＰＣ）またはジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）から形成され得る。アニオン性リポソーム組成物は、概して、ジミリストイルホスファチジルグリセロールから形成され、その一方で、アニオン性融合性リポソームは、主に、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）から形成される。別のタイプのリポソーム組成物は、ホスファチジルコリン（ＰＣ）から形成され、例えば大豆製ＰＣおよび卵製ＰＣなどである。別のタイプは、リン脂質またはホスファチジルコリンまたはコレステロールの混

合物から形成される。

【０５０９】

インビトロおよびインビボでリポソームを細胞に導入する他の方法の例としては、米国特許第５，２８３，１８５号、米国特許第５，１７１，６７８号、国際公開第９４／００５６９号、国際公開第９３／２４６４０号、国際公開第９１／１６０２４号、Ｆｅｌｇｎｅｒ，（１９９４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６９：２５５０；Ｎａｂｅｌ，（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．９０：１１３０７；Ｎａｂｅｌ，（１９９２）Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．３：６４９、Ｇｅｒｓｈｏｎ，（１９９３）Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：７１４３、およびＳｔｒａｕｓｓ，（１９９２）ＥＭＢＯ　Ｊ．１１：４１７が挙げられる。

【０５１０】

非イオン性リポソーム系は、特に非イオン性界面活性剤とコレステロールを含む系は、皮膚への薬物の送達におけるそれらの有用性を判定するためにも試験されてきた。Ｎｏｖａｓｏｍｅ（商標）Ｉ（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）およびＮｏｖａｓｏｍｅ（商標）ＩＩ（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が、マウスの皮膚の真皮中にシクロスポリンＡを送達するために使用された。結果として、こうした非イオン性リポソーム系が、皮膚の異なる層中へのシクロスポリンＡの蓄積を促進する際に有効であることが示された（Ｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９４）Ｓ．Ｔ．Ｐ．Ｐｈａｒｍａ．Ｓｃｉ．，４（６）：４６６）。

【０５１１】

リポソームはまた、「立体的に安定化した」リポソームも含み、当該用語は、本明細書において使用する場合、一つまたは複数の特化された脂質を含むリポソームであって、リポソームに組み込まれた場合に、結果として当該特化された脂質を欠くリポソームと比較して循環寿命の向上が生じるような一つまたは複数の特化された脂質を含むリポソームを指す。立体的に安定化したリポソームの例としては、リポソームのベシクル形成脂質部分が（Ａ）例えばモノシアロガングリオシドG_{M1}などである一つまたは複数の糖脂質を含むか、または（Ｂ）例えばポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部分などである一つまたは複数の親水性ポリマーで誘導体化されている、リポソームである。いかなる特定の理論にも拘束されることを望まないが、少なくとも、ガングリオシド、スフィンゴミエリン、またはＰＥＧ誘導体化脂質を含有する立体的に安定化されたリポソームの場合、これら立体的に安定化されたリポソームの循環半減期の向上は、細網内皮系（ＲＥＳ）の細胞内への取り込みの減少に由来するということが、当技術分野では考えられている（Ａｌｌｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８７）ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，２２３：４２；Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，５３：３７６５）。

【０５１２】

一つまたは複数の糖脂質を含む様々なリポソームが、当技術分野で公知である。Ｐａｐａｈａｄｊｏｐｏｕｌｏｓ　ｅｔ　ａｌ．（Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，（１９８７），５０７：６４）は、モノシアロガングリオシドG_{M1}、硫酸ガラクトセレブロシド、およびホスファチジルイノシトールがリポソームの血液半減期を向上させる能力について報告した。これら知見は、Ｇａｂｉｚｏｎ　ｅｔ　ａｌ．（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．，（１９８８），８５，：６９４９）によって解説された。いずれもＡｌｌｅｎらによる米国特許第４，８３７，０２８号および国際公開第８８／０４９２４号では、（１）スフィンゴミエリンと（２）ガングリオシドG_{M1}またはガラクトセレブロシド硫酸エステルとを含むリポソームが開示されている。米国特許第５，５４３，１５２号（Ｗｅｂｂ　ｅｔ　ａｌ．）では、スフィンゴミエリンを含むリポソームについて開示している。１，２－ｓｎ－ジミリストイルホスファチジルコリンを含むリポソームが、国際公開第９７／１３４９９号（Ｌｉｍ　ｅｔ　ａｌ）において開示されている。

【０５１３】

一実施形態では、カチオン性リポソームが使用される。カチオン性リポソームは、細胞膜に融合することができるという利点を有する。非カチオン性リポソームは、原形質膜と効率的には融合することができないが、インビボでマクロファージによって取り込まれるため、ＲＮＡｉ剤をマクロファージに送達するために使用することができる。

【０５１４】

リポソームのさらなる利点としては、天然のリン脂質から得られるリポソームが生体適合性および生分解性であること、リポソームは広範囲の水および脂質溶解性薬物を組み込むことができること、リポソームはそれらの内部コンパートメント内のカプセル化されたＲＮＡｉ剤を代謝および分解から保護することができること、が挙げられる（Ｒｏｓｏｆｆ，ｉｎ“Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，”Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２４５）。リポソーム製剤の調製における重要な検討事項は、脂質表面の電荷、ベシクルのサイズ、およびリポソームの水の量である。

【０５１５】

正に帯電した合成カチオン性脂質であるＮ－［１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド（ＤＯＴＭＡ）は、小リポソームを形成するために使用することができ、該小リポソームは、組織培養細胞の細胞膜の負に帯電した脂質と融合することができる脂質－核酸複合体を形成する核酸と自発的に相互作用して、結果としてＲＮＡｉ剤の送達がなされる（例えば、Ｆｅｌｇｎｅｒ，Ｐ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．，（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８：７４１３－７４１７、ならびにＤＯＴＭＡの説明およびＤＮＡとのその使用については米国特許第４，８９７，３５５号を参照）。

【０５１６】

ＤＯＴＭＡ類似体である１，２－ビス（オレオイルオキシ）－３－（トリメチルアンモニア）プロパン（ＤＯＴＡＰ）は、リン脂質と組み合わせて使用することにより、ＤＮＡ複合体化ベシクルを形成することができる。リポフェクチン（商標）Ｂｅｔｈｅｓｄａ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ社、ゲイザースバーグ、メリーランド州）は、負に帯電したポリヌクレオチドと自発的に相互作用して複合体を形成する正に帯電したＤＯＴＭＡリポソームを含む、生組織培養細胞内へのアニオン性の核酸の高度な送達に有効な薬剤である。十分に正に帯電したリポソームを使用すると、結果として得られる複合体上の正味電荷も正である。この方法において調製された正に帯電した複合体は、負に帯電した細胞表面に自発的に結合し、原形質膜と融合して、機能的核酸を、例えば組織培養細胞内へと効率的に送達する。別の市販のカチオン性脂質である１，２－ビス（オレオイルオキシ）－３，３－（トリメチルアンモニア）プロパン（「ＤＯＴＡＰ」）（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｍａｎｎｈｅｉｍ社、インディアナポリス、インディアナ州）は、オレオイル部分が、エーテル連結ではなくエステルで連結している点がＤＯＴＭＡと異なる。

【０５１７】

他の報告されたカチオン性脂質化合物としては、様々な部分にコンジュゲートしているものが挙げられ、例えば二つのタイプの脂質の一方にコンジュゲートしているカルボキシスペルミンなどが挙げられ、また例えば５－カルボキシスペルミルグリシンジオクタオレオイルアミド（「ＤＯＧＳ」）（トランスフェクタム（Ｔｒａｎｓｆｅｃｔａｍ）（商標）、Ｐｒｏｍｅｇａ社、マディソン、ウィスコンシン州）およびジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン ５－カルボキシスペルミル－アミド（「ＤＰＰＥＳ」）などの化合物が挙げられる（例えば、米国特許第５，１７１，６７８号を参照）。

【０５１８】

別のカチオン性脂質コンジュゲートは、ＤＯＰＥと組み合わせてリポソーム中へと製剤化されているコレステロールでの脂質の誘導体化（「ＤＣ－Ｃｈｏｌ」）を含む（Ｇａｏ，Ｘ．ａｎｄ Ｈｕａｎｇ，Ｌ．，（１９９１）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．１７９：２８０を参照）。ポリリジンをＤＯＰＥにコンジュゲートすることによって作製されたリポポリリジンは、血清の存在下でのトランスフェクションに

効果的であることが報告されている（Ｚｈｏｕ，Ｘ．ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ　１０６５：８）。特定の細胞系の場合、コンジュゲートしたカチオン性脂質を含むこれらリポソームは、低い毒性を示すと言われており、またＤＯＴＭＡ含有組成物よりもより効率的なトランスフェクションをもたらす。他の市販のカチオン性脂質製品としては、ＤＭＲＩＥおよびＤＭＲＩＥ－ＨＰ（Ｖｉｃａｌ社、ラホヤ、カリフォルニア州）およびリポフェクタミン（ＤＯＳＰＡ）（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．社、ゲイザースバーグ、メリーランド州）が挙げられる。オリゴヌクレオチドの送達に好適な他のカチオン性脂質は、国際公開第９８／３９３５９号および国際公開第９６／３７１９４号に記載されている。

【０５１９】

リポソーム製剤は、局所投与に特に適しており、リポソームは、他の製剤に勝るいくつかの利点をもたらす。こうした利点としては、投与された薬物の高い体内吸収に関連する副作用の減少、所望の標的での投与された薬物の蓄積の増加、およびＲＮＡｉ剤を皮膚に投与する能力が挙げられる。一部の実践形態では、リポソームは、ＲＮＡｉ剤を上皮細胞に送達するため、および真皮組織内、例えば、皮膚内へのＲＮＡｉ剤の浸透を増強するために、使用される。例えば、リポソームは、局所的に塗布することができる。リポソームとして製剤化された薬物の皮膚への局所的な送達は、文献に報告されている（例えば、Ｗｅｉｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９２）Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｄｒｕｇ　Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ，ｖｏｌ．２，４０５－４１０およびｄｕ　Ｐｌｅｓｓｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９２）Ａｎｔｉｖｉｒａｌ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１８：２５９－２６５、Ｍａｎｎｉｎｏ，Ｒ．Ｊ．ａｎｄ　Ｆｏｕｌｄ－Ｆｏｇｅｒｉｔｅ，Ｓ．，（１９９８）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　６：６８２－６９０、Ｉｔａｎｉ，Ｔ．ｅｔ　ａｌ．，（１９８７）Ｇｅｎｅ　５６：２６７－２７６、Ｎｉｃｏｌａｕ，Ｃ．ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１４９：１５７－１７６、Ｓｔｒａｕｂｉｎｇｅｒ，Ｒ．Ｍ．ａｎｄ　Ｐａｐａｈａｄｊｏｐｏｕｌｏｓ，Ｄ．（１９８３）Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１０１：５１２－５２７、Ｗａｎｇ，Ｃ．Ｙ．ａｎｄ　Ｈｕａｎｇ，Ｌ．，（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８４：７８５１－７８５５を参照）。

【０５２０】

非イオン性リポソーム系は、特に非イオン性界面活性剤とコレステロールを含む系は、皮膚への薬物の送達におけるそれらの有用性を判定するためにも試験されてきた。マウスの皮膚の真皮内に薬物を送達するために、Ｎｏｖａｓｏｍｅ　Ｉ（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）およびＮｏｖａｓｏｍｅ　ＩＩ（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が使用された。ＲＮＡｉ剤を含むこうした製剤は、皮膚障害を治療するのに有用である。

【０５２１】

ＲＮＡｉ剤を含むリポソームは、非常に変形可能に作製することができる。こうした変形能は、リポソームがリポソームの平均半径より小さい孔を通って浸透することを可能にする。例えば、トランスファーソーム（ｔｒａｎｓｆｅｒｓｏｍｅ）は、変形可能なタイプのリポソームである。トランスフェロソームは、表面エッジ活性化剤（ｓｕｒｆａｃｅ　ｅｄｇｅ　ａｃｔｉｖａｔｏｒ）、通常は界面活性剤、を標準のリポソーム組成物に加えることによって作製することができる。ＲＮＡｉ剤を含むトランスファーソームは、ＲＮＡｉ剤を皮膚のケラチン生成細胞に送達するために、感染によって、例えば皮下に送達することができる。脂質ベシクルは、インタクトな哺乳動物の皮膚を通過するために、好適な経皮勾配の影響下において、それぞれが５０ｎｍ未満の直径を有する一連の微細孔を通過しなければならない。加えて、脂質特性に起因して、これらトランスフェロソームは、自己最適性（例えば皮膚などにおいて、孔の形状に順応性のある）で、自己修復性であり得、ならびに断片化することなくそれらの標的に頻繁に到達することができ、また多くの場合、自己負荷性（ｓｅｌｆ－ｌｏａｄｉｎｇ）であり得る。

【０５２２】

本開示に従う他の製剤は、２００８年１月２日に出願された米国仮出願第６１／０１８，６１６号、２００８年１月２日に出願された第６１／０１８，６１１号、２００８年３月２６日に出願された第６１／０３９，７４８号、２００８年４月２２日に出願された第６１／０４７，０８７号、および２００８年５月８日に出願された第６１／０５１，５２８号に記載されている。２００７年１０月３日に出願されたＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２００７／０８０３３１号にも、本開示に従う製剤が記載されている。

【０５２３】

トランスファーソームは、さらに別のタイプのリポソームであり、薬物送達ビヒクルの関心ある候補である高度に変形可能な脂質集合体である。トランスファーソームは、脂質滴であって、該脂質滴より小さい孔を通って容易に浸透することができるほど高度に変形可能である脂質滴として説明することができる。トランスファーソームは、それらが使用される環境に適応可能であり、例えば、それらは、自己最適性（皮膚において孔の形状に順応性のある）で、自己修復性であり、断片化することなくそれらの標的に頻繁に到達し、また多くの場合自己負荷性である。トランスファーソームを作製するために、表面エッジ活性化剤、通常は界面活性剤、を標準リポソーム組成物に加えることができる。トランスファーソームは、皮膚に血清アルブミンを送達するために使用されてきた。血清アルブミンのトランスファーソーム媒介送達は、血清アルブミンを含有する溶液の皮下注射と同じくらい有効であることが分かっている。

【０５２４】

界面活性剤は、本明細書において説明されるような製剤において、特にエマルション（マイクロエマルションを含む）およびリポソームにおいて、広い応用が見出される。天然および合成の、多くの異なるタイプの界面活性剤の特性を分類および格付けする最もよくある手法としては、親水性／親油性バランス（ＨＬＢ）を使用するものがある。親水性基（「頭」としても知られる）の性質が、製剤中で使用される様々な界面活性剤を分類するのに最も有用な手段となる（Ｒｉｅｇｅｒ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８８，ｐ．２８５）。

【０５２５】

界面活性剤分子がイオン化されない場合、それらは、非イオン性界面活性剤として分類される。非イオン性界面活性剤は、医薬品および化粧製品において広い応用が見出され、広範囲のｐＨ値にわたって使用可能である。概して、それらのＨＬＢ値は、それらの構造に応じて２から約１８の範囲である。非イオン性界面活性剤としては、非イオン性エステル、例えばエチレングリコールエステル、プロピレングリコールエステル、グリセリルエステル、ポリグリセリルエステル、ソルビタンエステル、スクロースエステル、およびエトキシ化エステルが挙げられる。例えば脂肪アルコールエトキシレート、プロポキシ化アルコールおよびエトキシ化／プロポキシ化ブロックポリマーなどである非イオン性のアルカノールアミドおよびエーテルもまた、このクラスに含まれる。ポリオキシエチレン界面活性剤は、非イオン性界面活性剤のクラスの最も普及した要素である。

【０５２６】

水に溶解または分散されたときに、界面活性剤分子が負電荷を保持する場合、界面活性剤は、アニオン性として分類される。アニオン性界面活性剤としては、例えばセッケンなどであるカルボン酸エステル、アシル乳酸エステル、アミノ酸のアシルアミド、例えばアルキル硫酸エステルおよびエトキシ化アルキル硫酸エステルなどである硫酸のエステル、アルキルベンゼンスルホン酸エステルなどであるスルホン酸エステル、アシルイセチオン酸エステル、アシルタウリン酸塩、およびスルホコハク酸塩、およびリン酸塩が挙げられる。アニオン性界面活性剤のクラスの最も重要な要素は、アルキル硫酸エステルおよびセッケンである。

【０５２７】

水に溶解または分散されたときに、界面活性剤分子が正電荷を保持する場合、界面活性剤は、カチオン性として分類される。カチオン性界面活性剤としては、第四級アンモニウ

ム塩およびエトキシ化アミンが挙げられる。第四級アンモニウム塩は、このクラスの最も使用される要素である。

【０５２８】

界面活性剤分子が、正電荷または負電荷のどちらかを保持する能力を有する場合、界面活性剤は、両性として分類される。両性界面活性剤としては、アクリル酸誘導体、置換アルキルアミド、Ｎ－アルキルベタインおよびホスファチドが挙げられる。薬品、製剤、およびエマルション中での界面活性剤の使用は、概説されている（Ｒｉｅｇｅｒ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８８，ｐ．２８５）。

【０５２９】

本開示の方法での使用のためのＲＮＡｉ剤は、ミセル製剤としても提供することができる。「ミセル」は、本明細書においては、分子の全ての疎水性部分が内側に向くように両親媒性分子が球状構造で整列され、それによって親水性部分が周囲の水相に接触したままになる、特定のタイプの分子アセンブリとして定義される。環境が疎水性である場合、逆の配置で存在する。

【０５３０】

経皮的な膜を通る送達に好適な混合ミセル製剤は、ｓｉＲＮＡ組成物の水溶液と、アルカリ金属のC_8～C_{22}アルキル硫酸塩と、ミセル形成化合物とを混合することによって調製され得る。例示的なミセル形成化合物としては、レシチン、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容可能な塩、グリコール酸、乳酸、カモミール抽出物、キュウリ抽出物、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、モノオレイン、モノオレエート、モノラウレート、ルリジサ油、月見草油、メントール、トリヒドロキシオキソコラニルグリシン（ｔｒｉｈｙｄｒｏｘｙ ｏｘｏ ｃｈｏｌａｎｙｌ ｇｌｙｃｉｎｅ）およびその薬学的に許容可能な塩、グリセリン、ポリグリセリン、リシン、ポリリジン、トリオレイン、ポリオキシエチレンエーテルおよびその類似体、ポリドカノールアルキルエーテルおよびその類似体、ケノデオキシコール酸塩（ｃｈｅｎｏｄｅｏｘｙｃｈｏｌａｔｅ）、デオキシコール酸塩、ならびにそれらの混合物が挙げられる。ミセル形成化合物は、アルカリ金属のアルキル硫酸塩と同時に加えてもよく、またはそれらを加えた後に加えてもよい。混合ミセルは、原材料の、実質的に任意の種類の混合によって形成されることとなるが、より小さいサイズのミセルを提供するために激しい混合によって形成されることとなる。

【０５３１】

一方法では、ｓｉＲＮＡ組成物と少なくともアルカリ金属のアルキル硫酸塩とを含む第一のミセル組成物が調製される。次いで、第一のミセル組成物を、少なくとも三種のミセル形成化合物と混合し、混合ミセル組成物を形成する。別の方法では、ミセル組成物は、ｓｉＲＮＡ組成物とアルカリ金属のアルキル硫酸塩と、ミセル形成化合物のうちの少なくとも一つとを混合して、その後に激しく混合しながら、残りのミセル形成化合物を加えることによって調製される。

【０５３２】

製剤を安定化させるため、および細菌増殖から保護するために、フェノールまたはｍ－クレゾールを混合ミセル組成物に加えてもよい。あるいは、フェノールまたはｍ－クレゾールを、ミセル形成原材料と共に加えてもよい。グリセリンなどの等張剤を、混合ミセル組成物の形成後に加えてもよい。

【０５３３】

ミセル製剤を噴霧剤として送達する場合には、当該製剤を、エアゾールディスペンサーに入れることができ、そしてディスペンサーには、噴射剤が装填される。噴射剤は、加圧されており、ディスペンサー中では液体状態である。原材料の比率は、水相および噴射剤の相が一つになるように、すなわち、一相で存在するように、調節される。二相で存在する場合には、例えば、計量弁などによって、内容物の一部を噴出する前に、ディスペンサーを振る必要がある。医薬品の分配用量が、微細な噴霧で計量弁から射出される。

【０５３４】

噴射剤は、含水素クロロフルオロカーボン、含水素フルオロカーボン、ジメチルエーテル、およびジエチルエーテルを含み得る。特定の実施形態では、ＨＦＡ　１３４ａ（１，１，１，２テトラフルオロエタン）が使用され得る。

【０５３５】

必須の原材料の特定の濃度は、比較的簡単な実験によって決定することができる。口腔による吸収の場合には、注射でのまたは胃腸管経由の投与のための投与量を、例えば少なくとも二倍または三倍に、増加させることが望ましいことが多い。

【０５３６】

Ｂ．脂質粒子

ＲＮＡｉ剤は、例えば本開示のｄｓＲＮＡは、例えばＬＮＰなどである脂質製剤において、または他の核酸－脂質粒子において、完全にカプセル化され得る。

【０５３７】

本明細書において使用される場合、用語「ＬＮＰ」は、安定な核酸－脂質粒子を指す。ＬＮＰは、典型的には、カチオン性脂質、非カチオン性脂質、および粒子の凝集を防ぐ脂質（例えば、ＰＥＧ－脂質コンジュゲート）を含有する。ＬＮＰは、静脈（ｉ．ｖ．）注射後に循環寿命の延長を呈し、遠位部位（例えば、投与部位から物理的に離れた部位）において蓄積するため、全身投与に極めて有用である。ＬＮＰは、「ｐＳＰＬＰ」を含むものであり、それは国際公開第００／０３６８３号に記載されるようなカプセル化された縮合剤－核酸複合体を含む。本開示の粒子は、典型的には、平均粒径が約５０ｎｍから約１５０ｎｍであり、より典型的には約６０ｎｍから約１３０ｎｍ、より典型的には約７０ｎｍから約１１０ｎｍであり、最も典型的には約７０ｎｍから約９０ｎｍであり、また実質的には無毒性である。加えて、核酸は、本開示の核酸－脂質粒子中に存在する場合、水溶液中において、ヌクレアーゼによる分解に対して抵抗性を有する。核酸－脂質粒子およびその調製方法は、例えば、米国特許第５，９７６，５６７号、第５，９８１，５０１号、第６，５３４，４８４号、第６，５８６，４１０号、第６，８１５，４３２号、米国特許出願公開第２０１０／０３２４１２０号、および国際公開第９６／４０９６４号において開示されている。

【０５３８】

一実施形態では、薬物に対する脂質の比（質量／質量比）（例えば、ｄｓＲＮＡに対する脂質の比）は、約１：１から約５０：１、約１：１から約２５：１、約３：１から約１５：１、約４：１から約１０：１、約５：１から約９：１、または約６：１から約９：１の範囲とすることとなる。上記に列記した範囲の中間にある範囲も、本開示の一部であることが企図される。

【０５３９】

ＲＮＡｉ剤の送達用のある特定のＬＮＰ製剤は、当技術分野において記述されてきたものであり、例えば、国際公開第２００８／０４２９７３号において説明されるような例えば、「ＬＮＰ０１」製剤が挙げられ、当該公開公報は参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４０】

さらなる例示的な脂質－ｄｓＲＮＡ製剤を、下記の表１で特定している。

【０５４１】

表１．

【表１－１】

	イオン化可能/カチオン性脂質	カチオン性脂質/非カチオン性脂質/コレステロール/PEG-脂質コンジュゲート 脂質:siRNA比
SNALP-1	1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/コレステロール/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 脂質:siRNA　約7:1
2-XTC	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DPPC/コレステロール/PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 脂質:siRNA　約7:1
LNP05	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA　約6:1
LNP06	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA　約11:1
LNP07	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5、 脂質:siRNA　約6:1
LNP08	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5、 脂質:siRNA　約11:1

【表１－２】

LNP09	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA　10:1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-ジメチル-2,2-di((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエニル)テトラヒドロ-3aH-シクロペンタ[d][1,3]ジオキソール-5-アミン(ALN100)	ALN100/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA　10:1
LNP11	4-(ジメチルアミノ)ブタン酸(6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル(MC3)	MC-3/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA　10:1
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(ビス(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)エチルアザンジイル)ジドデカン-2-オール(Tech G1)	Tech G1/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA　10:1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 33:1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 脂質:siRNA: 11:1

【表１－３】

LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 脂質:siRNA: 11:1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 7:1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 12:1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/35/5 脂質:siRNA: 8:1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 7:1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1

DSPC:ジステアロイルホスファチジルコリン
DPPC:ジパルミトイルホスファチジルコリン
PEG-DMG:PEG-ジジミリストイルグリセロール(C14-PEG、またはPEG-C14)(平均分子量2000のPEG)
PEG-DSG:PEG-ジスチリルグリセロール(C18-PEG、またはPEG-C18)(平均分子量2000のPEG)
PEG-cDMA: PEG-カルバモイル-1,2-ジミリスチルオキシプロピルアミン(平均分子量2000のPEG)

【０５４２】

製剤を含むＳＮＡＬＰ（１，２－ジリノレニルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎＤＭＡ））は、国際公開第２００９／１２７０６０号に記載されており、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４３】

製剤を含むＸＴＣは、国際公開第２０１０／０８８５３７号に記載されており、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４４】

製剤を含むＭＣ３は、例えば、米国特許出願公開第２０１０／０３２４１２０号に記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４５】

製剤を含むＡＬＮＹ－１００は、国際公開第２０１０／０５４４０６号に記載されてお

り、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４６】

製剤を含むＣ１２－２００は、国際公開第２０１０／１２９７０９号に記載されており、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４７】

経口投与のための組成物および製剤には、粉末または顆粒、微粒子、ナノ粒子、水または非水性媒体中の懸濁剤または溶液、カプセル剤、ゲルカプセル剤、サシェ剤、錠剤またはミニ錠剤が含まれる。増粘剤、香味剤、希釈剤、乳化剤、分散助剤、または結合剤は、望ましい場合がある。一部の実施形態では、経口製剤は、本開示において取り上げるｄｓＲＮＡが一つまたは複数の浸透促進剤、界面活性剤、およびキレート化剤と共に投与される製剤である。好適な界面活性剤としては、脂肪酸またはそのエステルもしくは塩、胆汁酸またはその塩が挙げられる。好適な胆汁酸／塩としては、ケノデオキシコール酸（ＣＤＣＡ）およびウルソデオキシケノデオキシコール酸（ＵＤＣＡ）、コール酸、デヒドロコール酸、デオキシコール酸、グルコール酸（ｇｌｕｃｈｏｌｉｃ　ａｃｉｄ）、グリコール酸（ｇｌｙｃｈｏｌｉｃ　ａｃｉｄ）、グリコデオキシコール酸、タウロコール酸、タウロデオキシコール酸、タウロ－２４，２５－ジヒドロ－フシジン酸ナトリウムおよびグリコジヒドロフシジン酸ナトリウムが挙げられる。好適な脂肪酸としては、アラキドン酸、ウンデカン酸、オレイン酸、ラウリン酸、カプリル酸、カプリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプリン酸、トリカプリン酸、モノオレイン、ジラウリン、１－モノカプリン酸グリセリル、１－ドデシルアザシクロヘプタン－２－オン、アシルカルニチン、アシルコリン、またはモノグリセリド、ジグリセリド、またはその薬学的に許容可能な塩（例えば、ナトリウム）が挙げられる。一部の実施形態では、浸透促進剤の組合せが用いられ、例えば、胆汁酸／塩と組み合わせた脂肪酸／塩である。例示的な組み合わせの一つには、ラウリン酸、カプリン酸、およびＵＤＣＡのナトリウム塩がある。さらに、浸透促進剤としては、ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル、ポリオキシエチレン－２０－セチルエーテルが挙げられる。本開示において取り上げるｄｓＲＮＡは、噴霧された乾燥粒子などの粒状形態で、経口で送達することができ、またはマイクロ粒子またはナノ粒子を形成するために複合体化することができる。ｄｓＲＮＡ複合体化薬剤としては、ポリ－アミノ酸、ポリイミン、ポリアクリレート、ポリアルキルアクリレート、ポリオキシエタン、ポリアルキルシアノアクリレート、カチオン化ゼラチン、アルブミン、デンプン、アクリレート、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）およびデンプン、ポリアルキルシアノアクリレート、ＤＥＡＥ誘導ポリイミン、プルラン（ｐｏｌｌｕｌａｎ）、セルロースおよびデンプンが挙げられる。好適な複合体化薬剤としては、キトサン、Ｎ－トリメチルキトサン、ポリ－Ｌ－リシン、ポリヒスチジン、ポリオルニチン、ポリスペルミン、プロタミン、ポリビニルピリジン、ポリチオジエチルアミノメチルエチレンＰ（ＴＤＡＥ）、ポリアミノスチレン（例えば、ｐ－アミノ）、ポリ（メチルシアノアクリレート）、ポリ（エチルシアノアクリレート）、ポリ（ブチルシアノアクリレート）、ポリ（イソブチルシアノアクリレート）、ポリ（イソヘキシルシアノアクリレート）、ＤＥＡＥ－メタクリレート、ＤＥＡＥ－ヘキシルアクリレート、ＤＥＡＥ－アクリルアミド、ＤＥＡＥ－アルブミン、およびＤＥＡＥデキストラン、ポリメチルアクリレート、ポリヘキシルアクリレート、ポリ（Ｄ，Ｌ－乳酸）、ポリ（ＤＬ－乳酸－コ－グリコール酸（ＰＬＧＡ）、アルギン酸塩、およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）が挙げられる。ｄｓＲＮＡのための経口製剤およびその調製は、米国特許第６，８８７，９０６号、米国特許出願公開第２００３／００２７７８０号、および米国特許第６，７４７，０１４号において詳細に記載されており、それぞれは参照により本明細書に組み込まれる。

【０５４８】

非経口、実質内（脳内へ）、髄腔内、脳室内、または肝内への投与のための組成物および製剤は、緩衝剤、希釈剤、および他の好適な添加剤、例えばこれらに限定されるものではないが、浸透促進剤、担体化合物、および他の薬学的に許容可能な担体または賦形剤な

どを含むことができる滅菌水溶液を含むことができる。

【０５４９】

本開示の医薬組成物は、これに限定されるものではないが、溶液、エマルション、およびリポソームを含有する製剤を含む。これら組成物は、予め形成した液体、自己乳化型固体、および自己乳化型半固体を含めるがこれらに限定されない様々な構成要素から生成することができる。特に好ましいのは、ＡＰＰ関連疾患または障害を処置する場合において脳を標的化する製剤である。

【０５５０】

本開示の医薬製剤は、単位剤形において簡便にもたらされ得、製薬産業において周知の従来技術に従って調製することができる。こうした技術としては、活性成分を医薬担体または賦形剤と会合させる工程を含む。概して、製剤は、活性成分を液体担体または微粉化された固体担体またはその両方と均一にかつ密接に混合し、次いで、必要であれば、生成物を成形することによって調製される。

【０５５１】

本開示の組成物は、例えば、これらに限定されるものではないが、錠剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、液体シロップ剤、軟質ゲル剤、坐剤、および浣腸剤などの多くの可能な剤形のいずれかへと製剤化することができる。本開示の組成物は、水性媒体、非水性媒体、または混合媒体中の懸濁剤として製剤化することもできる。水性懸濁剤は、懸濁剤の粘度を増加させる物質を、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストランなどをさらに含有することができる。懸濁剤はまた、安定剤を含有し得る。

【０５５２】

Ｃ．さらなる製剤

ｉ．エマルション

本開示の組成物は、エマルションとして調製および製剤化することができる。エマルションは、典型的には、一方の液体が、通常直径０．１μｍを超える液滴の形態でのもう一方の液体中に分散した不均一系である（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｉｄｓｏｎ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．１９９、Ｒｏｓｏｆｆ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，Ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２４５、Ｂｌｏｃｋ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ ２，ｐ．３３５、Ｈｉｇｕｃｈｉ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．，１９８５，ｐ．３０１を参照）。エマルションは、多くの場合、互いに密に混合し分散した二種の不混和性液相を含む二相系である。概して、エマルションは、油中水型（ｗ／ｏ）または水中油型（ｏ／ｗ）のいずれかのものであり得る。水相が、細かく分かれて微細な液滴として大量の油相中に分散している場合、その結果として得られる組成物を、油中水型（ｗ／ｏ）エマルションと呼ぶ。あるいは、油相が、細かく分かれて微細な液滴として大量の水相中に分散している場合、その結果として得られる組成物を、水中油型（ｏ／ｗ）エマルションと呼ぶ。エマルションは、分散相と、水相、油相、または別個の相としてのそれ自体のいずれかの中に溶液として存在し得る活性薬物とに加えて、追加的な成分を含有し得る。

乳化剤、安定剤、色素、および抗酸化剤などの医薬賦形剤も、必要に応じてエマルション中に存在していてもよい。医薬エマルションは、例えば、油中水中油型（ｏ／ｗ／ｏ）および水中油中水型（ｗ／ｏ／ｗ）エマルションの場合などで、二相以上で構成される多相エマルションでもあってもよい。こうした複合剤形によれば、多くの場合、単純な二相エマルションでは与えられない一定の利点がもたらされる。ｗ／ｏ／ｗエマルションは、ｏ／ｗエマルションの個々の油滴が小水滴を封入する多相エマルションにより構成される。同様に、ｏ／ｗ／ｏエマルションは、連続油相中で安定化した水の小滴中に封入された油滴の系によりもたらされる。

【０５５３】

エマルションは、熱力学的安定性がほとんどないかまたは全くないことが特徴である。多くの場合、エマルションの分散相または不連続相は、外部相または連続相中に良好に分散しており、乳化剤によって、または製剤の粘度によってこの形態で維持される。エマルション形態の軟膏基剤およびクリーム剤の場合と同様に、エマルションの相のいずれかは、半固体または固体であり得る。エマルションを安定化させる他の手段としては、該エマルションのいずれかの相に組み込まれ得る乳化剤の使用を必要とする。乳化剤は、以下の四つのカテゴリ、合成界面活性剤、天然乳化剤、吸収基剤、および微細分散固体、に大きく分類することができる（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｉｄｓｏｎ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．１９９を参照）。

【０５５４】

表面活性剤としても知られる合成界面活性剤は、エマルションの剤形において広い適用可能性が見出されており、文献において検討されてきている（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｒｉｅｇｅｒ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２８５、Ｉｄｓｏｎ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８８，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．１９９を参照）。界面活性剤は、典型的には両親媒性であるので、親水性部分および疎水性部分を含む。界面活性剤の疎水性に対する親水性の比は、親水性／親油性バランス（ＨＬＢ）と命名されており、製剤の調製において界面活性剤を分類および選択する際の有益なツールである。界面活性剤は、親水性基の性質に基づいて以下の異なるクラス、非イオン性、アニオン性、カチオン性、および両性に分類することができる（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ Ｒｉｅｇｅｒ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２８５を参照）。

【０５５５】

エマルション製剤において使用される天然の乳化剤としては、ラノリン、蜜蝋、ホスファチド、レシチン、およびアカシアが挙げられる。吸収基剤は、親水特性を有するため、それらは水を吸収してw／oエマルションを形成し、それでもなおそれらの半固体の稠度を維持することができるものであり、例えば無水ラノリンおよび親水ワセリンなどである。微粒子となった固体も、とりわけ界面活性剤との併用で、および粘性調製物として、良好な乳化剤として使用されている。これらとしては、例えば重金属水酸化物などである極性無機固体、非膨潤性粘土、例えばベントナイト、アタパルジャイト、ヘクトライト、カオリン、モンモリロナイト、コロイド状ケイ酸アルミニウムおよびコロイド状ケイ酸アルミニウムマグネシウムなど、顔料、および非極性固体、例えば炭素またはトリステアリン酸グリセリルなどが挙げられる。

【０５５６】

非常に多様な非乳化材料もまた、エマルション製剤に含まれて、エマルションの特性に寄与する。これらとしては、脂肪、油、ワックス、脂肪酸、脂肪アルコール、脂肪酸エステル、湿潤剤、親水性コロイド、防腐剤、および抗酸化剤が挙げられる（Ｂｌｏｃｋ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．３３５；Ｉｄｓｏｎ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．１９９）。

【０５５７】

親水性コロイドまたはハイドロコロイドとしては、天然ゴムおよび合成ポリマー、例えば多糖（例えば、アカシア、寒天、アルギン酸、カラゲナン、グアーガム、カラヤガム、およびトラガント）、セルロース誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースおよびカルボキシプロピルセルロース）、および合成ポリマー（例えば、カルボマー、セルロースエステル、およびカルボキシビニルポリマー）が挙げられる。これらは水中で分散または膨潤して、コロイド状溶液を形成し、それが、分散相液滴の周囲に強力な界面膜を形成することと、外側相の粘度を増加させることとによって、エマルションを安定化する。

【０５５８】

エマルションは、多くの場合、微生物の増殖を容易に支援することができる多くの成分、例えば炭水化物、タンパク質、ステロールおよびホスファチドなどを含有し、これら製剤はしばしば、防腐剤を組み込んでいる。エマルション製剤に含まれる通常使用される防腐剤としては、メチルパラベン、プロピルパラベン、第四級アンモニウム塩、塩化ベンザルコニウム、ｐ－ヒドロキシ安息香酸のエステル、およびホウ酸が挙げられる。製剤の劣化を防止するために、通常、抗酸化剤もエマルション製剤に加えられる。使用される抗酸化剤は、トコフェロール、没食子酸アルキル、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエンなどであるフリーラジカル捕捉剤、またはアスコルビン酸およびメタ重亜硫酸ナトリウムなどである還元剤、ならびにクエン酸、酒石酸およびレシチンなどである酸化防止共力薬であり得る。

【０５５９】

経皮、経口、および非経口経路によるエマルション製剤の適用ならびにそれらの製造方法は、文献において検討されてきている（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｉｄｓｏｎ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．１９９を参照）。経口送達用のエマルション製剤は、

製剤化の容易さ、ならびに吸収およびバイオアベイラビリティの見地からの有効性を理由に、非常に広く使用されてきた（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｒｏｓｏｆｆ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２４５、Ｉｄｓｏｎ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．１９９を参照）。ｏ／ｗエマルションとして通常は経口投与されている材料の中には、鉱油系の緩下剤、脂溶性ビタミン、および高脂肪栄養製剤がある。

【０５６０】

ｉｉ．マイクロエマルション

本開示の一実施形態では、ＲＮＡｉ剤および核酸の組成物は、マイクロエマルションとして製剤化される。マイクロエマルションは、単一の、光学的等方性で熱力学的に安定した液体溶液である、水、油、および両親媒性物質の系として規定され得る（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｒｏｓｏｆｆ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２４５を参照）。典型的には、マイクロエマルションは、はじめに油を界面活性剤水溶液に分散させ、次いで十分な量の第四の成分、概して中鎖のアルコール、を加えて透明な系を形成することによって調製される系である。したがって、マイクロエマルションはまた、表面活性分子の界面膜によって安定化される、二つの不混和性液体の熱力学的に安定で等方的に透明な分散液として説明されてもいる（Ｌｅｕｎｇ ａｎｄ Ｓｈａｈ，ｉｎ：Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ ｏｆ Ｄｒｕｇｓ：Ｐｏｌｙｍｅｒｓ ａｎｄ Ａｇｇｒｅｇａｔｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｒｏｓｏｆｆ，Ｍ．，Ｅｄ．，１９８９，ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐａｇｅｓ １８５－２１５）。マイクロエマルションは、通常、油、水、界面活性剤、コサーファクタント、および電解質を含めた３～５の成分を組み合わせることによって調製される。マイクロエマルションが油中水（ｗ／ｏ）型または水中油（ｏ／ｗ）型のいずれであるかは、使用する油および界面活性剤の特性ならびに界面活性剤分子の極性の頭と炭化水素の尾との構造および幾何学的パッキングに依存する（Ｓｃｈｏｔｔ，ｉｎ Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．，１９８５，ｐ．２７１）。

【０５６１】

状態図を利用する現象学的アプローチが、広く研究されており、それはマイクロエマルションをどのようにして製剤化するかの包括的な知識を当業者に与えた（例えば、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ａｌｌｅｎ，ＬＶ．，Ｐｏｐｏｖｉｃｈ ＮＧ．，ａｎｄ Ａｎｓｅｌ ＨＣ．，２００４，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（８ｔｈ ｅｄ．），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ、Ｒｏｓｏｆｆ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，

Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．２４５、Ｂｌｏｃｋ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ ａｎｄ Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ｖｏｌｕｍｅ １，ｐ．３３５を参照）。従来のエマルションと比較して、マイクロエマルションは、水不溶性薬物を、自発的に形成された熱力学的に安定な液滴の製剤中で可溶化するという利点を提供する。

【０５６２】

マイクロエマルションの調製において使用される界面活性剤としては、これらに限定されるものではないが、単独での、またはコサーファクタントと組み合わせた、イオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤、Ｂｒｉｊ ９６、ポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリグリセロール脂肪酸エステル、テトラグリセロールモノラウレート（ＭＬ３１０）、テ トラグリセロールモノオレエート（ＭＯ３１０）、ヘキサグリセロールモノオレエート（ＰＯ３１０）、ヘキサグリセロールペンタオレエート（ＰＯ５００）、デカグリセロールモノカプレート（ｄｅｃａｇｌｙｃｅｒｏｌ ｍｏｎｏｃａｐｒａｔｅ）（ＭＣＡ７５０）、デカグリセロールモノオレエート（ＭＯ７５０）、デカグリセロールセキオリエート（ｄｅｃａｇｌｙｃｅｒｏｌ ｓｅｑｕｉｏｌｅａｔｅ）（ＳＯ７５０）、デカグリセロールデカオレエート（ＤＡＯ７５０）が挙げられる。コサーファクタントは、通常、エタノール、１－プロパノールおよび１－ブタノールなどである短鎖アルコールであり、界面活性剤フィルムに浸透して、その結果界面活性剤分子の間で生じる空間を理由に乱れた膜が生じることによって、界面の流動性を増大させる働きをする。しかしながらマイクロエマルションは、コサーファクタントを用いずに調製することもでき、アルコールを含まない自己乳化性マイクロエマルション系は、当技術分野で公知である。水相は、典型的には、これらに限定されるものではないが、水、薬物の水溶液、グリセリン、ＰＥＧ３００、ＰＥＧ４００、ポリグリセロール、プロピレングリコール、およびエチレングリコールの誘導体であり得る。油相は、これらに限定されるものではないが、Ｃａｐｔｅｘ ３００、Ｃａｐｔｅｘ ３５５、Ｃａｐｍｕｌ ＭＣＭ、脂肪酸エステル、中鎖（Ｃ８～Ｃ１２）モノ、ジ、およびトリグリセリド、ポリオキシエチル化グリセリル脂肪酸エステル、脂肪アルコール、ポリグリコール化グリセリド、飽和ポリグリコール化Ｃ８～Ｃ１０グリセリド、植物油およびシリコーン油が挙げられ得る。

【０５６３】

マイクロエマルションは、薬物可溶化および薬物吸収の向上の見地から、特に興味深い。脂質系マイクロエマルション（ｏ／ｗおよびｗ／ｏいずれも）は、薬物の経口バイオアベイラビリティを向上するために提案されてきたものであり、ペプチドが挙げられる（例えば、米国特許第６，１９１，１０５号、第７，０６３，８６０号、第７，０７０，８０２号、第７，１５７，０９９号、Ｃｏｎｓｔａｎｔｉｎｉｄｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１９９４，１１，１３８５－１３９０、Ｒｉｔｓｃｈｅｌ，Ｍｅｔｈ．Ｆｉｎｄ．Ｅｘｐ．Ｃｌｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，１９９３，１３，２０５を参照）。マイクロエマルションは、薬物の可溶化の向上、酵素加水分解からの薬物の保護、界面活性剤によって誘導される膜流動性および浸透性の変化に起因する薬物吸収の可能な増強、調製の容易さ、固体剤形よりも経口投与が容易であること、臨床効力の向上、および毒性の減少という利点をもたらす（例えば、米国特許第６，１９１，１０５号、第７，０６３，８６０号、第７，０７０，８０２号、第７，１５７，０９９号、Ｃｏｎｓｔａｎｔｉｎｉｄｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１９９４，１１，１３８５、Ｈｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．，１９９６，８５，１３８－１４３）。多くの場合、マイクロエマルションは、それらの成分が周囲温度において一緒にされたときに自然発生的に形成され得る。これは、熱的不安定性の薬物であるペプチドまたはＲＮＡｉ剤を製剤化する場合に、特に有利であり得る。さらにマイクロエマルションは、美容および医薬的な用途の両方で、活性成分の経皮送達にとっても有効であるとされている。本開示のマイクロエマルション組成物および製剤は、胃腸管からのＲＮＡｉ剤および核酸の全身吸収の増加を促進し、ならびにＲ

ＮＡｉ剤および核酸の局所的な細胞取り込みの向上することとなることが予想される。
【０５６４】
本開示のマイクロエマルションは、製剤の性質を向上させるため、および本開示のＲＮＡｉ剤および核酸の吸収を高めるために、追加の成分および添加剤、例えばモノステアリン酸ソルビタン（Ｇｒｉｌｌ　３）、ラブラソール（Ｌａｂｒａｓｏｌ）、および浸透促進剤なども含有することができる。本開示のマイクロエマルションにおいて使用される浸透促進剤は、五つの広いカテゴリ、界面活性剤、脂肪酸、胆汁酸塩、キレート化剤、および非キレート化非界面活性剤のうちの一つに属するとして分類することができる（Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　ｉｎ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐ．９２）。これらクラスのそれぞれは、上記で説明している。
【０５６５】
ｉｉｉ．マイクロ粒子
本開示のＲＮＡｉ剤は、粒子に、例えば、マイクロ粒子などに組み込まれ得る。マイクロ粒子は、噴霧乾燥によって製造することができるが、凍結乾燥、蒸発、流動床乾燥、真空乾燥、またはこれらの技術の組合せなどの他の方法によっても製造され得る。
【０５６６】
ｉｖ．浸透促進剤
一実施形態では、本開示は、動物の皮膚への、核酸、特にＲＮＡｉ剤の効率的な送達を実施するために、様々な浸透促進剤を採用する。大部分の薬物は、イオン化形態および非イオン化形態の両方で溶液中に存在する。しかしながら、通常、脂溶性または親油性の薬剤のみが、細胞膜を容易に横断する。横断しようとする膜が、浸透促進剤で処理されていれば、非親油性薬剤であっても細胞膜を横断することができることが分かっている。浸透促進剤はまた、非親油性薬剤が細胞膜を横断して拡散するのを補助することに加えて、親油性薬剤の透過性も高める。
【０５６７】
浸透促進剤は、五つの広いカテゴリ、すなわち、界面活性剤、脂肪酸、胆汁酸塩、キレート化剤、および非キレート化非界面活性剤、のうちの一つに属するものとして分類することができる（例えば、Ｍａｌｍｓｔｅｎ，Ｍ．Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔｓ　ａｎｄ　ｐｏｌｙｍｅｒｓ　ｉｎ　ｄｒｕｇ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｉｎｆｏｒｍａ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｃａｒｅ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ＮＹ，２００２、Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　ｉｎ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐ．９２を参照）。浸透促進剤の上述のクラスのそれぞれについては、以下においてより詳細に説明される。
【０５６８】
界面活性剤（または「表面活性剤」」は、水溶液中に溶解されたとき、溶液の表面張力または水溶液と別の液体との間の界面張力を減少させ、結果として、粘膜を通過するＲＮＡｉ剤の吸収を高める化学物質である。胆汁酸塩および脂肪酸に加えて、これら浸透促進剤としては、例えばラウリル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル、およびポリオキシエチレン－２０－セチルエーテル（例えば、Ｍａｌｍｓｔｅｎ，Ｍ．Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔｓ　ａｎｄ　ｐｏｌｙｍｅｒｓ　ｉｎ　ｄｒｕｇ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｉｎｆｏｒｍａ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｃａｒｅ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ＮＹ，２００２、Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　ｉｎ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐ．９２を参照）、および過フルオロ化合物エマルション、例えばＦＣ－４３などＴａｋａｈａｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，１９８８，４０，２５２）、が挙げられる。
【０５６９】
浸透促進剤として作用する種々の脂肪酸およびそれらの誘導体としては、例えばオレイン酸、ラウリン酸、カプリン酸（Ｎ－デカン酸）、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステア

リン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプリン酸、トリカプリン酸、モノオレイン（１－モノオレオイル－ｒａｃ－グリセロール）、ジラウリン、カプリル酸、アラキドン酸、１－モノカプリン酸グリセロール、１－ドデシルアザシクロヘプタン－２－オン、アシルカルニチン、アシルコリン、そのＣ１～２０アルキルエステル（例えば、メチル、イソプロピル、およびｔ－ブチル）、およびそのモノ－グリセリドおよびジ－グリセリド（すなわち、オレイン酸塩、ラウホスフェート、カプホスフェート、ミリスチン酸塩、パルミチン酸塩、ステアホスフェート、リノール酸塩など）が挙げられる（例えば、Ｔｏｕｉｔｏｕ，Ｅ．，ｅｔ ａｌ．Ｅｎｈａｎｃｅｍｅｎｔ ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｄａｎｖｅｒｓ，ＭＡ，２００６、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐ．９２、Ｍｕｒａｎｉｓｈｉ，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９０，７，１－３３、Ｅｌ Ｈａｒｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，１９９２，４４，６５１－６５４を参照）。

【０５７０】

胆汁の生理的役割としては、脂質および脂溶性ビタミンの分散および吸収の促進が挙げられる（例えば、Ｍａｌｍｓｔｅｎ，Ｍ．Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔｓ ａｎｄ ｐｏｌｙｍｅｒｓ ｉｎ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｉｎｆｏｒｍａ Ｈｅａｌｔｈ Ｃａｒｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ，２００２；Ｂｒｕｎｔｏｎ，Ｃｈａｐｔｅｒ ３８ ｉｎ：Ｇｏｏｄｍａｎ ＆ Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，９ｔｈ Ｅｄ．，Ｈａｒｄｍａｎ ｅｔ ａｌ．Ｅｄｓ．，ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９６，ｐｐ．９３４－９３５を参照）。様々な天然の胆汁酸塩、およびそれら の合成誘導体が、浸透促進剤としての役割を果たす。したがって用語「胆汁酸塩」は、胆汁の天然に存在する成分のいずれか、ならびにそれらの合成誘導体のいずれかを包含する。適切な胆汁酸塩としては、例えばコール酸（またはその薬学的に許容可能なナトリウム塩、コール酸ナトリウム）、デヒドロコール酸（デヒドロコール酸ナトリウム）、デオキシコール酸（デオキシコール酸ナトリウム）、グルコール酸（ｇｌｕｃｈｏｌｉｃ ａｃｉｄ）（グルコール酸ナトリウム）、グリコール酸（ｇｌｙｃｈｏｌｉｃ ａｃｉｄ）（グリココール酸ナトリウム）、グリコデオキシコール酸（グリコデオキシコール酸ナトリウム）、タウロコール酸（タウロコール酸ナトリウム）、タウロデオキシコール酸（タウロデオキシコール酸ナトリウム）、ケノデオキシコール酸（ケノデオキシコール酸ナトリウム）、ウルソデオキシコール酸（ＵＤＣＡ）、タウロ－２４，２５－ジヒドロ－フシジン酸ナトリウム（ＳＴＤＨＦ）、グリコジヒドロフシジン酸ナトリウムおよびポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル（ＰＯＥ）（例えば、Ｍａｌｍｓｔｅｎ，Ｍ．Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔｓ ａｎｄ ｐｏｌｙｍｅｒｓ ｉｎ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｉｎｆｏｒｍａ Ｈｅａｌｔｈ Ｃａｒｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ，２００２、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐａｇｅ ９２、Ｓｗｉｎｙａｒｄ，Ｃｈａｐｔｅｒ ３９ Ｉｎ：Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１８ｔｈ Ｅｄ．，Ｇｅｎｎａｒｏ，ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．，１９９０，ｐａｇｅｓ ７８２－７８３、Ｍｕｒａｎｉｓｈｉ，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９０，７，１－３３、Ｙａｍａｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９２，２６３，２５、Ｙａｍａｓｈｉｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．，１９９０，７９，５７９－５８３を参照）が挙げられる。

【０５７１】

キレート化剤は、本開示に関連して使用する場合、金属イオンとの複合体を形成することによって溶液から金属イオンを除去し、結果として粘膜を通るＲＮＡｉ剤の吸収を高め

るものである化合物として定義され得る。本開示における浸透促進剤としての使用に関して、ほとんどの特徴的なＤＮＡヌクレアーゼは、触媒作用のために二価金属イオンを必要とし、結果としてキレート化剤によって阻害されるため、キレート化剤は、ＤＮＡＳｅ阻害剤としても機能するさらなる利点を有する（Ｊａｒｒｅｔｔ，Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．，１９９３，６１８，３１５－３３９）。好適なキレート化剤としては、これらに限定されるものではないが、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（ＥＤＴＡ）、クエン酸、サリチル酸塩（例えば、サリチル酸ナトリウム、５－メトキシサリチレートおよびホモバニホスフェート（ｈｏｍｏｖａｎｉｌａｔｅ））、コラーゲンのＮ－アシル誘導体、ベーターケトンのラウレス－９およびＮ－アミノアシル誘導体（エナミン）が挙げられる（例えば、Ｋａｔｄａｒｅ，Ａ．ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｆｏｒ ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ，ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ａｎｄ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｄａｎｖｅｒｓ，ＭＡ，２００６、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐａｇｅ ９２、Ｍｕｒａｎｉｓｈｉ，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９０，７，１－３３、Ｂｕｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｒｅｌ．，１９９０，１４，４３－５１を参照）。

【０５７２】

本明細書で使用する場合、非キレート化の非界面活性剤である浸透促進剤は、キレート剤としてまたは界面活性剤として有意でない活性を示すが、それでもなお消化器粘膜を介したＲＮＡｉ剤の吸収を増強する化合物として定義され得る（例えば、Ｍｕｒａｎｉｓｈｉ，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９０，７，１－３３を参照）。この浸透促進剤のクラスは、例えば不飽和環状尿素、１－アルキル－および１－アルケニルアザシクロ－アルカノン誘導体（Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｉｔｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ，１９９１，ｐａｇｅ ９２）、ならびに非ステロイド性抗炎症剤、例えばジクロフェナクナトリウム、インドメタシン、およびフェニルブタゾンなど（Ｙａｍａｓｈｉｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，１９８７，３９，６２１－６２６）を含む。

【０５７３】

細胞レベルでのＲＮＡｉ剤の取り込みを増強する薬剤も、本開示の医薬組成物および他の組成物に加えることができる。例えば、カチオン性脂質、例えばリポフェクチンなど（Ｊｕｎｉｃｈｉ ｅｔ ａｌ、米国特許第５，７０５，１８８号）、カチオン性グリセロール誘導体、およびポリカチオン性分子、例えばポリリジンなど（国際公開第９７／３０７３１号）も、ｄｓＲＮＡの細胞取り込みを増強することが知られている。

【０５７４】

投与された核酸の浸透を高めるために、他の薬剤が利用され得、例えばグリコール、例えばエチレングリコールおよびプロピレングリコールなど、ピロール、例えば２－ピロールなど、アゾン、およびテルペン、例えばリモネンおよびメントンなどが挙げられる。

【０５７５】

ｖｉ．賦形剤

担体化合物とは対照的に、「医薬担体」または「賦形剤」は、一つまたは複数の核酸を動物に送達するための、薬学的に許容される溶媒、懸濁剤またはその他の薬理学的に不活性なビヒクルである。賦形剤は、液体または固体であり得、また核酸および所定の医薬組成物を他の成分と併用される場合に、所望の体積、稠度などをもたらすように計画された投与の様式を念頭において選択される。典型的な医薬担体としては、これらに限定されるものではないが、結合剤（例えば、予めゼラチン化されたトウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、またはヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）；充填剤（例えば、ラクトースおよび他の糖、微結晶性セルロース、ペクチン、ゼラチン、硫酸カルシウム、エチルセルロース、ポリアクリレート、またはリン酸水素カルシウムなど）；潤滑剤（

例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、シリカ、コロイド状二酸化ケイ素、ステアリン酸、金属ステアリン酸塩、硬化植物油、コーンスターチ、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウムなど）；崩壊剤（例えば、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウムなど）、および湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウムなど）が挙げられる。

【０５７６】

核酸と有害に反応しない、経口投与にとって好適な薬学的に許容可能な有機または無機の賦形剤も、本開示の組成物を製剤化するために使用することができる。好適な薬学的に許容可能な担体としては、これらに限定されるものではないが、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

【０５７７】

核酸の局所投与用の製剤は、滅菌および非滅菌水溶液、アルコールなどの通常の溶媒中の非水溶液、または液体もしくは固体油基剤に中の核酸の溶液を含むことができる。溶液は、緩衝剤、希釈剤、および他の好適な添加剤も含有することができる。核酸と有害に反応しない、経口投与にとって好適な薬学的に許容可能な有機または無機の賦形剤を、使用することができる。

【０５７８】

好適な薬学的に許容可能な賦形剤としては、これらに限定されるものではないが、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

【０５７９】

ｖｉｉ．他の成分

本開示の組成物は、医薬組成物中に従来見られる他の補助成分を、当技術分野において確立されたそれらの使用レベルでさらに含有することができる。したがって、例えば、組成物は、追加の適合性の、薬学的に活性な材料、例えば止痒剤、収斂剤、局部麻酔薬、もしくは抗炎症剤などを含有することができ、または本開示の組成物の様々な剤形を物理的に製剤化する際に有用な追加の材料、例えば色素、香味剤、防腐剤、抗酸化剤、乳白剤、増粘剤、および安定剤などを含有することができる。ただし、そのような材料は、添加したときに本開示の組成物の成分の生物活性を過度に妨害すべきではない。製剤は、滅菌され、また所望により、例えば潤滑剤、防腐剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を与えるための塩、緩衝剤、着色剤、香味剤、または芳香物質などである、製剤の核酸と有害に相互作用しない補助剤と混合され得る。

【０５８０】

水性懸濁剤は、懸濁剤の粘度を増加する物質、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトールまたはデキストランなどを含有することができる。懸濁剤はまた、安定剤を含有し得る。

【０５８１】

一部の実施形態においては、本開示において取り上げられる医薬組成物は、（ａ）一つまたは複数のＲＮＡｉ剤、および（ｂ）非ＲＮＡｉ機序で機能し、ＦＬＮＡ関連障害を治療する際に有用である一つまたは複数の薬剤を含む。こうした薬剤の例としては、コリンエステラーゼ阻害剤、Ｎ－メチル－Ｄ－アスパラギン酸（ＮＭＤＡ）拮抗薬、レボドパ、ドーパミン作動薬、モノアミン阻害剤、レセルピン、抗痙攣薬、抗精神病薬、および抗鬱薬が挙げられるが、これらに限定されない。

【０５８２】

こうした化合物の毒性および治療有効性は、例えば、LD_{50}（集団の５０％に致死的である用量）およびED_{50}（集団の５０％に治療的有効である用量）を決定するために、細胞培養物または実験動物における標準的な薬学的手順によって決定することができる

。毒性と治療効果との間の用量比は、治療指数となり、ＬＤ５０／ＥＤ５０の比として表すことができる。高い治療指数を示す化合物が好ましい。

【０５８３】

細胞培養アッセイおよび動物試験から得たデータは、ヒトにおける使用のためにある範囲の投薬量を製剤化する際に使用することができる。本開示における本明細書において取り上げる組成物の投与量は、概して、わずかな毒性かまたは毒性が全くないＥＤ５０である循環濃度の範囲内である。投与量は、用いる剤形および利用する投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。本開示において取り上げる方法で使用する任意の化合物に対して、最初に、細胞培養アッセイから治療有効用量を見積もることができ　る。細胞培養において決定されたＩＣ５０（すなわち、症状の最大半量の阻害を達成する被験化合物の濃度）を含む、化合物、または適切な場合には、標的配列のポリペプチド産物の循環血漿濃度範囲を達成する（例えば、ポリペプチドの濃度減少を達成する）ように、ある用量を動物モデルにおいて製剤化することができる。こうした情報は、ヒトにおいて有用な用量をより正確に決定するために使用することができる。血漿中のレベルは、例えば高速液体クロマトグラフィーによって、測定することができる。

【０５８４】

本開示において取り上げるＲＮＡｉ剤は、上記において説明したようなそれらの投与に加えて、ヌクレオチドリピートの発現によって媒介される病理学的プロセスの治療において有効な他の公知の薬物と併用して投与することもできる。いずれにしても、投与する医師は、当技術分野で公知であるかまたは本明細書において記載した、有効性の標準尺度を使用して観察された結果に基づいて、ＲＮＡｉ剤投与の量およびタイミングを調節することができる。

【０５８５】

ＶＩＩ．キット

特定の態様においては、本開示は、例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物またはｓｓｉＲＮＡ化合物であるｓｉＲＮＡ化合物（例えば、前駆体、例えば、ｓｓｉＲＮＡ化合物にプロセシングすることができるより大きなｓｉＲＮＡ化合物、または例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物もしくはｓｓｉＲＮＡ化合物またはその前駆体であるｓｉＲＮＡ化合物をコードするＤＮＡ）の医薬製剤を含有する適切な容器を含むキットを提供する。

【０５８６】

こうしたキットは、一つまたは複数のｄｓＲＮＡ剤と、使用のための使用説明書、例えば予防有効量または治療有効量のｄｓＲＮＡ剤を投与するための説明書とを含む。ｄｓＲＮＡ剤は、バイアル瓶または予め充填された注射器内にあり得る。キットは、随意に、ｄｓＲＮＡ剤を投与するための手段（例えば、予め充填された注射器または髄腔内ポンプなどの注入デバイス）、またはＦＬＮＡの阻害を測定するための手段（例えば、ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ、ＦＬＮＡタンパク質、および／またはＦＬＮＡ活性の阻害を測定するための手段）をさらに含んでもよい。ＦＬＮＡの阻害を測定するためのこうした手段は、対象から試料を、例えば、ＣＳＦおよび／または血漿試料を得るための手段を含み得る。本発明のキットは、随意に、治療有効量または予防有効量を決定するための手段をさらに含み得る。特定の実施形態では、医薬製剤の個々の成分は、一つの容器で提供され得る。あるいは、医薬製剤の成分を別々に二つ以上の容器で、例えば、ｓｉＲＮＡ化合物調製物用の一つの容器と担体化合物のための少なくともう一つの容器とで、提供することが望ましいものであり得る。キットは、単一の箱内に一つまたは複数の容器などであるいくつかの様々な構成で包装され得る。この様々な構成要素は、例えば、キットと共に提供される使用説明書に従って、組み合わせることができる。当該構成要素は、例えば、医薬組成物を調製および投与するために、本明細書において説明した方法に従って組み合わせることができる。キットはまた、送達デバイスも含むことができる。

【０５８７】

ＶＩＩＩ．ＦＬＮＡ発現を阻害する方法

本開示はまた、細胞内においてＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する方法を提供する。この

方法は、細胞を、細胞内でＦＬＮＡの発現および／または活性を阻害するのに有効である量のＲＮＡｉ剤と、例えば、二本鎖ＲＮＡｉ剤と接触させ、それによって細胞においてＦＬＮＡの発現および／または活性を阻害することを含む。本開示の特定の実施形態では、ＦＬＮＡの発現および／または活性は、ＣＮＳ（例えば、脳）細胞において、少なくとも３０％優先的に阻害される。特定の実施形態では、ＦＬＮＡの発現および／または活性は、少なくとも３０％阻害される。

【０５８８】

ＲＮＡｉ剤と、例えば二本鎖ＲＮＡｉ剤と、細胞を接触させることは、インビトロまたはインビボで行うことができる。細胞をインビボでＲＮＡｉ剤と接触させることは、対象内の、例えばヒト対象内の細胞または細胞の群を、ＲＮＡｉ剤と接触させることを含む。インビトロおよびインビボで細胞を接触させる方法を組み合せることも可能である。

【０５８９】

細胞を接触させることは、上記に記載したように直接的であっても間接的であってもよい。さらに、細胞を接触させることは、本明細書に記載する、または当技術分野で公知の任意のリガンドをはじめとする標的化リガンドを介して達成できる。一部の実施形態では、標的化リガンドは、炭水化物部分、例えば、ＧａｌＮＡｃリガンドであるか、またはＲＮＡｉ剤　を目的の部位に向ける任意の他のリガンドである。

【０５９０】

「阻害すること」という用語は、本明細書において使用する場合、「低減すること」、「サイレンシングすること」、「下方制御すること」、「抑制すること」および他の同様の用語と同義的に使用され、阻害の任意のレベルを含む。特定の実施形態では、例えば、本開示のＲＮＡｉ剤の阻害のレベルは、細胞培養条件で評価され得、例えば、細胞培養物中の細胞が、１０ｎｍ以下、１ｎｍ以下などの近傍の濃度でのリポフェクタミン（商標）媒介性トランスフェクションによってトランスフェクトされる細胞培養条件である。所与のＲＮＡｉ剤のノックダウンは、細胞培養物中で前処置されたレベル対細胞培養物中で後処置されたレベルを比較することによって決定でき、随意に、スクランブルされたまたは他の形態の対照ＲＮＡｉ剤を用いて並行して処置された細胞に対して比較してもよい。例えば、少なくとも約３０％の細胞培養物中でのノックダウンは、それによって「阻害すること」または「低減すること」、「下方制御すること」または「抑制すること」などが生じたことを示すものとして特定され得る。標的ｍＲＮＡまたはコードされるタンパク質レベル（および従って、本開示のＲＮＡｉ剤によって引き起こされる「阻害すること」の程度など）はまた、当技術分野で述べられているように適切に制御された条件下で、本開示のＲＮＡｉ剤のためのインビボの系で評価され得るということが明示的に意図される。

【０５９１】

本明細書において使用する場合、「ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害すること」または「ＦＬＮＡの発現を阻害すること」という語句は、任意のＦＬＮＡ遺伝子（例えばマウスＦＬＮＡ遺伝子、ラットＦＬＮＡ遺伝子、サルＦＬＮＡ遺伝子、またはヒトＦＬＮＡ遺伝子など）ならびにＦＬＮＡタンパク質をコードするＦＬＮＡ遺伝子のバリアントまたは変異体の発現を阻害することを含む。したがって、ＦＬＮＡ遺伝子は、遺伝子操作された細胞、細胞の群または有機体の文脈で、野生型ＦＬＮＡ遺伝子、変異ＦＬＮＡ遺伝子、または遺伝子導入ＦＬＮＡ遺伝子であり得る。

【０５９２】

「ＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害すること」は、任意のレベルでのＦＬＮＡ遺伝子の阻害、例えばＦＬＮＡ遺伝子の発現の少なくとも部分的抑制、例えば少なくとも３０％の阻害を含む。特定の実施形態では、阻害は、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも約６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも約７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％なされる。ＦＬＮＡ阻害は、例えば、ＢＥ（２）－Ｃ細胞および１０ｎＭの濃度のＲＮＡ剤を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができ、本明細書の実施例で提供されるＰＣＲアッセイは、

本開示の範囲内であることが企図される。一部の実施形態では、ＦＬＮＡ阻害は、初代マウス細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。別の実施形態では、ＦＬＮＡ阻害は、Ｃｏｓ－７（デュアル－ルシフェラーゼｐｓｉＣＨＥＣＫ２ベクター）を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。さらに別の実施形態では、ＦＬＮＡ阻害は、ＢＥ（２）－Ｃ細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。一部の実施形態では、ＦＬＮＡ阻害は、Ｎｅｕｒｏ－２ａ細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。

【０５９３】

ＦＬＮＡ遺伝子の発現は、任意のＦＬＮＡ遺伝子発現に関連する変数のレベル、例えば、ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡレベル（例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、および／または総ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ）またはＦＬＮＡタンパク質レベル（例えば、総ＦＬＮＡタンパク質および／または野生型ＦＬＮＡタンパク質）に基づいて評価され得る。

【０５９４】

阻害は、対照レベルと比較した、これら変数のうち一つまたは複数の絶対レベルまたは相対レベルの低下によって評価され得る。対照レベルは、当技術分野で利用される任意の種類の対照レベルであり得、例えば、投与前ベースラインレベル、または未処理であるかもしくは対照（例えば、緩衝液のみの対照または不活性薬剤対照など）で処理された同様の対象、細胞もしくは試料から決定されるレベルであり得る。

【０５９５】

例えば、本開示の方法の一部の実施形態においては、ＦＬＮＡ遺伝子の発現は、少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、または９５％だけ阻害されるか、またはアッセイの検出レベルを下回るまで阻害される。特定の実施形態では、方法は、例えば、ＦＬＮＡの発現を低減する薬剤で対象を処理した後で臨床的に関連する転帰によって実証されるような、ＦＬＮＡの発現の臨床的に関連する阻害を含む。

【０５９６】

ＦＬＮＡ遺伝子の発現の阻害は、第一の細胞または細胞の群と実質的に同一であるが、そのように処理されていない第二の細胞または細胞の群（ＲＮＡｉ剤で処理されていない、または目的の遺伝子を標的とするＲＮＡｉ剤で処理されていない対照細胞）と比較した、ＦＬＮＡ遺伝子が転写され、ＦＬＮＡ遺伝子の発現が阻害されるように処理（例えば、細胞を本開示のＲＮＡｉ剤と接触させることによって、または本開示のＲＮＡｉ剤を、細胞が存在しているもしくは存在していた対象に投与することによって）されている第一の細胞または細胞の群（このような細胞は、例えば、対象に由来する試料中に存在し得る）によって発現されるｍＲＮＡの量の低減によって現れ得る。阻害の程度は、以下によって表すことができる。

【数２】

$$\frac{(\text{対照細胞中のmRNA}) - (\text{処理細胞中のmRNA})}{(\text{対照細胞中のmRNA})} \bullet 100\%$$

【０５９７】

他の実施形態においては、ＦＬＮＡ遺伝子の発現の阻害は、ＦＬＮＡ遺伝子発現、例えばＦＬＮＡタンパク質発現に機能的に関連付けられるパラメータの減少の点で評価され得る。ＦＬＮＡ遺伝子サイレンシングは、発現コンストラクトからの内因性または異種性いずれかのＦＬＮＡを発現する任意の細胞において、当技術分野で公知の任意のアッセイによって決定され得る。

【０５９８】

ＦＬＮＡタンパク質の発現の阻害は、細胞または細胞の群によって発現されるＦＬＮＡタンパク質（または機能パラメータ、例えばキナーゼおよび／またはＧＴＰアーゼ活性）のレベル（例えば、対象に由来する試料中で発現されたタンパク質のレベル）が減少する

ことによって明らかにされ得る。上記において説明するように、ｍＲＮＡの抑制を評価する場合、処置された細胞または細胞の群におけるタンパク質発現レベルの阻害は、対照細胞または細胞の群におけるタンパク質のレベルの百分率として同様に表現され得る。一部の実施形態では、「ＦＬＮＡを阻害すること」という語句はまた、ＦＬＮＡの活性の阻害、例えば、少なくとも３０％の阻害などのＦＬＮＡ活性の少なくとも部分的な抑制を指すことができる。特定の実施形態では、ＦＬＮＡ活性の　阻害は、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも約６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも約７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％なされる。ＦＬＮＡキナーゼ活性は、例えば、（Ｎａｋａｍｕｒａ　ｅｔ　ａｌ．（２００７）Ｊ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ　１７９（５）：１０１１－２５）に記載されたアッセイを用いたインビトロアッセイを使用して測定され得る。

【０５９９】

ＦＬＮＡ遺伝子の発現の阻害を評価するために使用できる対照細胞または細胞の群としては、本開示のＲＮＡｉ剤とまだ接触していない細胞または細胞の群が含まれる。例えば、対照細胞または細胞の群は、ＲＮＡｉ剤で対象を処理する前の個々の対象（例えば、ヒトまたは動物対象）から得られ得る。

【０６００】

細胞または細胞の群によって発現されるＦＬＮＡ　ｍＲＮＡのレベルは、ｍＲＮＡ発現を評価するための当技術分野で公知の任意の方法を使用して決定できる。一実施形態では、試料中のＦＬＮＡの発現のレベルは、転写されたポリヌクレオチドまたはその一部を、例えば、ＦＬＮＡ遺伝子のｍＲＮＡを検出することによって決定される。ＲＮＡは、例えば酸性フェノール／イソチアン酸グアニジン抽出物（ＲＮＡｚｏｌ　Ｂ；Ｂｉｏｇｅｎｅｓｉｓ社）、ＲＮｅａｓｙ（商標）ＲＮＡ調製キット（Ｑｉａｇｅｎ（登録商標）社）またはＰＡＸｇｅｎｅ（ＰｒｅＡｎａｌｙｔｉＸ社、スイス国）を使用することを含む、ＲＮＡ抽出技術を使用して細胞から抽出することができる。リボ核酸ハイブリダイゼーションを利用する典型的なアッセイ形式としては、核ラン－オンアッセイ、ＲＴ－ＰＣＲ、リボヌクレアーゼプロテクションアッセイ、ノーザンブロット法、インサイチュハイブリダイゼーションおよびマイクロアレイ分析が挙げられる。鎖特異的ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡは、例えば、Ｊｉａｎｇ，ｅｔ　ａｌ．ｓｕｐｒａ，Ｌａｇｉｅｒ－Ｔｏｕｒｅｎｎｅ，ｅｔ　ａｌ．，ｓｕｐｒａ　ａｎｄ　Ｊｉａｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，ｓｕｐｒａに記載される定量的ＲＴ－ＰＣＲおよびまたは液滴デジタルＰＣＲ法を使用して検出され得る。循環ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡは、国際公開第２０１２／１７７９０６号において記載される方法を使用して検出することができる、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０６０１】

一部の実施形態では、ＦＬＮＡの発現のレベルは、核酸プローブを使用して決定される。「プローブ」という用語は、本明細書において使用する場合、特定のＦＬＮＡ核酸またはタンパク質もしくはその断片に選択的に結合可能である任意の分子を指す。プローブは、当業者によって合成できる、または適切な生物学的調製物から誘導できる。プローブは、標識されるように特異的に設計してもよい。プローブとして利用できる分子の例としては、これに限定されないが、ＲＮＡ、ＤＮＡ、タンパク質、抗体および有機分子が挙げられる。

【０６０２】

単離されたｍＲＮＡは、これに限定されるものではないが、サザン分析またはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）分析およびプローブアレイをはじめとする、ハイブリダイゼーションアッセイまたは増幅アッセイにおいて使用することができる。ｍＲＮＡレベルを決定する方法の一つとしては、単離されたｍＲＮＡを、ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡとハイブリダイズできる核酸分子（プローブ）と接触させることを含む。一実施形態では、例えば、単離されたｍＲＮＡをアガロースゲルにかけてｍＲＮＡをゲルから膜へ、例えばニトロセルロースに移行させることによって、ｍＲＮＡを固体表面上に固定化し、プロー

ブと接触させる。代替的な実施形態では、例えばＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ（登録商標）遺伝子チップアレイにおいて、プローブを固体表面に固定化して、ｍＲＮＡをプローブと接触させる。当業者ならば、公知のｍＲＮＡ検出方法を、ＦＬＮＡ ｍＲＮＡのレベルを決定する際に使用するために容易に適応させることができる。

【０６０３】

試料中のＦＬＮＡの発現レベルを決定する代替的な方法は、例えばＲＴ－ＰＣＲ（Ｍｕｌｌｉｓによる１９８７年の米国特許第４，６８３，２０２号に記載の実施形態）、リガーゼ連鎖反応（Ｂａｒａｎｙ（１９９１）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８９－１９３）、自家持続配列複製法（Ｇｕａｔｅｌｌｉ ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：１８７４－１８７８）、転写増幅システム（Ｋｗｏｈ ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１１７３－１１７７）、Ｑ－ベータレプリカーゼ（Ｌｉｚａｒｄｉ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ６：１１９７）、ローリングサークル複製（Ｌｉｚａｒｄｉ ｅｔ ａｌ．，米国特許第５，８５４，０３３号）、または任意の他の核酸増幅法と、その後に当業者に周知の技術を使用した増幅分子の検出を行うことによる、試料中の例えばｍＲＮＡの核酸増幅または反転転写（ｃＤＮＡを調製するため）のプロセスを伴う。これら検出スキームは、特に、核酸分子が非常に少ない数で存在する場合に該核酸分子の検出のために有用である。本開示の特定の態様では、ＦＬＮＡの発現のレベルは、定量的蛍光発生的ＲＴ－ＰＣＲ（すなわち、ＴａｑＭａｎ（商標）システム）によって、Ｄｕａｌ－Ｇｌｏ（登録商標）ルシフェラーゼアッセイによって、またはＦＬＮＡ発現もしくはｍＲＮＡレベルの測定のための他の技術分野によって認識された方法によって決定される。

【０６０４】

ＦＬＮＡ ｍＲＮＡの発現レベルは、メンブレンブロット（例えば、ノーザン、サザン、ドットなどといったハイブリダイゼーション分析において使用されるような）またはマイクロウェル、試料チューブ、ゲル、ビーズまたは繊維（または結合している核酸を含む任意の固相支持体）を使用して観察され得る。米国特許第５，７７０，７２２号、第５，８７４，２１９号、第５，７４４，３０５号、第５，６７７，１９５号、および第５，４４５，９３４号を参照されたく、これらは参照によって本明細書に組み込まれる。ＦＬＮＡ発現レベルの決定はまた、溶液中で核酸プローブを使用することを含み得る。

【０６０５】

一部の実施形態では、ｍＲＮＡ発現のレベルは、分枝ＤＮＡ（ｂＤＮＡ）アッセイまたはリアルタイムＰＣＲ（ｑＰＣＲ）を使用して評価される。このＰＣＲ方法の使用は、本明細書において示される実施例において記載され、例示されている。このような方法はまた、ＦＬＮＡ核酸の検出のために使用できる。

【０６０６】

ＦＬＮＡタンパク質の発現レベルは、タンパク質レベルの測定のための当技術分野で公知の任意の方法を使用して決定され得る。こうした方法としては、例えば電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）、超拡散（ｈｙｐｅｒｄｉｆｆｕｓｉｏｎ）クロマトグラフィー、流体またはゲル沈降反応、吸収分光法、比色分析、分光学的定量法、フローサイトメトリー、免疫拡散法（一重または二重）、免疫電気泳動、ウエスタンブロット法、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）、免疫蛍光アッセイ、電気化学発光アッセイなどが挙げられる。このようなアッセイはまた、ＦＬＮＡタンパク質の存在または複製を示すタンパク質の検出のために使用できる。一部の実施形態においては、ＦＬＮＡ関連疾患の治療における本開示の方法の有効性は、ＦＬＮＡ ｍＲＮＡレベルの低下によって（例えば、ＦＬＮＡレベルについてのＣＳＦ試料および／または血漿試料の評価によって、脳生検または別の方法によって）評価される。

【０６０７】

本開示の方法の一部の実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、ＲＮＡｉ剤が、対象内の特定の部

位に送達されるように対象に投与される。ＦＬＮＡの発現の阻害は、対象内の特定の部位、例えばＣＮＳ細胞に由来する試料中のＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ（例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ）および／またはＦＬＮＡタンパク質（例えば、総ＦＬＮＡタンパク質、野生型ＦＬＮＡタンパク質）のレベルまたはレベルの変化の測定値を使用して評価され得る。特定の実施形態では、方法は、例えば、例えば対象からの血液またはＣＳＦ試料中のベーターアミロイドおよび／もしくはアポリポタンパク質Ｅのレベルにおける安定化または改善、対象からのＣＳＦ試料中の神経細線維軽鎖（Ｎｆｌ）レベルの安定化または低減、ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の減少、改変ＦＬＮＡタンパク質の減少、ならびに／またはアルツハイマー病の認知機能障害を評価する認知機能下位尺度（ＡＤＡＳ－Ｃｏｇ）の安定化もしくは改善など、ＦＬＮＡの発現を低減するための薬剤を用いた対象の治療後の、臨床的に関連する転帰によって示されるような、ＦＬＮＡの発現の臨床的に関連する阻害を含む。

【０６０８】

本明細書において使用する場合、分析物のレベルを検出することまたは決定することという用語は、物質が、例えば、タンパク質、ＲＮＡが存在するか否かを決定する工程を実施することを意味すると理解される。本明細書において使用する場合、検出するまたは決定する方法は、使用する方法の検出のレベルを下回る分析物のレベルの検出または決定を含む。

【０６０９】

ＩＸ．ＦＬＮＡ関連疾患を治療または予防する方法

本開示はまた、細胞においてＦＬＮＡ発現を低減または阻害するために本開示のＲＮＡｉ剤または本開示のＲＮＡｉ剤を含有する組成物を使用する方法を提供する。本方法は、細胞を本開示のｄｓＲＮＡと接触させることおよび細胞をＦＬＮＡ遺伝子のｍＲＮＡ転写物の分解を得るのに十分な時間の間維持し、それによって、細胞においてＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害することを含む。

【０６１０】

遺伝子発現の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって評価され得る。例えばＦＬＮＡの発現の低減は、当業者にとってごく普通の方法、例えば、ノーザンブロット法、ｑＲＴ－ＰＣＲを使用してＦＬＮＡのｍＲＮＡ発現レベルを決定することによって決定され得、当業者にとってごく普通の方法、例えばウエスタンブロット法、免疫学的技術を使用してＦＬＮＡのタンパク質レベルを決定することによって決定される。

【０６１１】

本開示の方法では、細胞をインビトロまたはインビボで接触させることができ、すなわち、細胞は、対象内にあり得る。

【０６１２】

本開示の方法を使用する治療に適した細胞は、ＦＬＮＡ遺伝子を発現する任意の細胞であり得る。本開示の方法における使用に適した細胞は、哺乳動物細胞、例えば、霊長類細胞（ヒト細胞または非ヒト霊長類細胞、例えば、サル細胞またはチンパンジー細胞など）、非霊長類細胞（ラット細胞またはマウス細胞など）であり得る。一実施形態では、細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒトＣＮＳ細胞である。

【０６１３】

ＦＬＮＡ発現（例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ、総ＦＬＮＡタンパク質、または総ＦＬＮＡミスフォールドされたタンパク質によって評価される）は、少なくとも３０％、４０％、好ましくは少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、もしくは９５％、９９％阻害されるか、またはアッセイの検出のレベルを下回るまで阻害される。

【０６１４】

本開示のインビボ法は、対象に、ＲＮＡｉ剤を含有する組成物を投与することを含むことができ、ＲＮＡｉ剤は、処置されるべき哺乳動物のＦＬＮＡ遺伝子のＲＮＡ転写物の少なくとも一部と相補的であるヌクレオチド配列を含む。処理しようとする生物が哺乳動物

、例えばヒトである場合には、組成物は、これに限定されるものではないが、経口、腹腔内、または頭蓋内（例えば、脳室内、実質内および髄腔内）、静脈内の、筋肉内の、硝子体内、皮下、経皮、気道（エアロゾル）、鼻腔、直腸および局所（頬側および舌下を含む）の投与を含む非経口経路を含む、当技術分野で公知の任意の手段によって投与され得る。特定の実施形態においては、組成物は、静脈内への注入または注射によって投与される。特定の実施形態では、組成物は、皮下注射によって投与される。特定の実施形態では、組成物は、髄腔内注射によって投与される。

【０６１５】

一部の実施形態では、投与は、蓄積注射による。蓄積注射は、長期的な時間にわたって一貫した態様でＲＮＡｉ剤を放出し得る。したがって、蓄積注射は、所望の効果、例えば、所望のＦＬＮＡ阻害または治療的もしくは予防的な効果を得るために必要とされる投薬の回数を減らすことができる。蓄積注射はまた、より一貫した血清濃度を提供することもできる。蓄積注射は、皮下注射または筋肉内注射を含み得る。好ましい実施形態では、蓄積注射は、皮下注射である。

【０６１６】

一部の実施形態では、投与は、ポンプによる。該ポンプは、外部ポンプまたは外科的に植え込んだポンプであり得る。特定の実施形態では、ポンプは、皮下に植え込んだ浸透圧ポンプである。他の実施形態では、ポンプは、注入ポンプである。注入ポンプは、頭蓋内、静脈内、皮下、動脈性または硬膜外注入のために使用され得る。好ましい実施形態では、注入ポンプは、皮下注入ポンプである。他の実施形態では、ポンプは、ＲＮＡｉ剤をＣＮＳに送達する外科的に埋め込まれたポンプである。

【０６１７】

投与様式は、局所的な治療または全身的な治療のいずれが望まれるかに応じて、また処理しようとする面積に基づいて選択され得る。投与の経路および部位は、標的化を増強するように選択され得る。

【０６１８】

一態様においては、本開示はまた、哺乳動物においてＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害する方法を提供する。方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞内においてＦＬＮＡ遺伝子を標的とするｄｓＲＮＡを含む組成物を投与し、それによって、細胞内においてＦＬＮＡ遺伝子の発現を阻害することを含む。遺伝子発現の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって、また本明細書において記載される方法、例えば、ｑＲＴ－ＰＣＲによって評価できる。タンパク質産生の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって、また本明細書において記載される方法、例えば、ＥＬＩＳＡによって評価され得る。一実施形態では、ＣＮＳ生検試料または脳脊髄液（ＣＳＦ）試料は、ＦＬＮＡ遺伝子またはタンパク質発現の（またはしたがってプロキシの）低減を観察するための組織材料として機能する。

【０６１９】

本開示は、それを必要とする対象の治療方法をさらに提供する。本開示の治療方法は、対象に、例えば、アルツハイマー病を有する対象など、ＦＬＮＡ発現の阻害から恩恵を受けることとなる対象に、本開示のＲＮＡｉ剤を、ＦＬＮＡ遺伝子を標的とするＲＮＡｉ剤またはＦＬＮＡ遺伝子を標的とするＲＮＡｉ剤を含む医薬組成物の治療有効量で投与することを含む。

【０６２０】

さらに、本開示は、対象におけるＦＬＮＡ関連疾患またはＦＬＮＡ関連障害の進行を予防、治療または阻害する方法を提供する。方法は、対象に、本明細書において提供されるＲＮＡｉ剤、例えばｄｓＲＮＡ剤の、または本明細書において提供する医薬組成物のいずれかの治療有効量を投与し、それによって対象においてＦＬＮＡ関連の疾患または障害の進行を予防、治療または阻害することを含む。

【０６２１】

本開示のＲＮＡｉ剤は、「フリーのＲＮＡｉ剤」として投与され得る。フリーのＲＮＡｉ剤は、医薬組成物の不在下で投与される。そのままのＲＮＡｉ剤は、好適な緩衝液中に

ある場合がある。緩衝液は、酢酸塩、クエン酸塩、プロラミン、炭酸塩、またはリン酸塩、またはそれらのいずれかの組合せを含み得る。一実施形態では、緩衝液は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）である。ＲＮＡｉ剤を含有する緩衝液のｐＨおよび浸透圧は、対象へ投与に好適であるように調整できる。

【０６２２】

あるいは、本開示のＲＮＡｉ剤は、医薬組成物として、例えばｄｓＲＮＡリポソーム製剤として投与され得る。

【０６２３】

ＦＬＮＡ遺伝子発現の低減または阻害から恩恵を受けることとなる対象は、ＦＬＮＡ関連疾患を有する者である。例示的なＦＬＮＡ関連疾患としては、アルツハイマー病およびタウオパチーなどの神経変性障害が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６２４】

アルツハイマー病およびタウオパチーは、特に神経変性疾患の過程の早期に診断することが困難であり得、他の疾患と区別することが困難であり得る。タウオパチーの症状は、一般的に、タウオパチーが一因となる特定の神経変性疾患と一致し、健忘（特にアルツハイマー病について）、失名詞症、失語症、流暢さの低下（例えば、文字による流暢さ）、認知機能障害、神経学的障害（例えば、頻繁な転倒、眼球運動障害、運動シーケンスの困難、非対称運動異常、運動失行）、高次脳機能障害などを含み得る。特に、アルツハイマー病を有する対象は、一般的に、急速な物忘れ、ある程度の失名詞症、不十分な視覚構成（ｖｉｓｕｏｃｏｎｓｔｒｕｃｔｉｏｎ）、および音素流暢性を保ったままの意味カテゴリー流暢性の障害を含む、記憶障害を呈する場合がある。

【０６２５】

アルツハイマー病およびタウオパチーを含む神経変性疾患は、一般に神経心理学的および／または神経学的評価によって診断され得る。アルツハイマー病を有する対象の神経学的検査は、より進行した段階まで正常のままである傾向がある。神経画像（例えば、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）、陽電子放射断層撮影（ＰＥＴ））は、脳構造および機能におけるタウ媒介性の変化を特定するのに有用であり得る。アルツハイマー病を有する対象は、一般的に、ＭＲＩで海馬および頭頂部萎縮を示す。タウトレーサーを用いたＰＥＴインビボ画像を使用して、脳内のタウ沈着物のサイズおよび／または分布を特徴付けることができ、これはタウオパチーの特定および区別に役立ち得る。総タウ（例えば、脳脊髄液および／または血漿内）および総ホスホタウ（例えば、血漿内）のレベルは、アルツハイマー病およびアルツハイマー病による軽度の認知機能障害と強く関連している。

【０６２６】

本開示は、例えばＦＬＮＡ発現の低減もしくは阻害から恩恵を受けることとなる対象を、例えばＦＬＮＡ関連障害を有する対象を治療するために、他の医薬または他の治療方法と、例えば公知の医薬または公知の治療方法、例えばこれらの障害を治療するために現在使用されているものなどと組み合わせた、ＲＮＡｉ剤またはその医薬組成物の使用のための方法をさらに提供する。例えば、特定の実施形態においては、ＦＬＮＡを標的とするＲＮＡｉ剤は、例えば本明細書において別の場所に記載されるような、またはそうでければ当技術分野で公知であるような、ＦＬＮＡ関連障害の治療に有用な薬剤と組み合わせて投与される。例えば、ＦＬＮＡ発現の低減から恩恵を受けることとなる対象、例えばＦＬＮＡ関連障害を有する対象を治療するのに適した追加の薬剤は、ＦＬＮＡ関連疾患の症状を治療するために現在使用されている薬剤を含み得る。ＲＮＡｉ剤および追加の治療薬は、同時にまたは同じ組合せで、例えば、髄腔内投与され得、または追加の治療薬は、別個の組成物の一部として、もしくは別個の時間で、または当技術分野で公知のもしくは本明細書に記載する別の方法によって投与され得る。

【０６２７】

アルツハイマー病を含む神経変性疾患の既存の治療は、主に症候性である。例えば、アルツハイマー病を有する対象は、言語障害治療、理学療法、および／または感情鈍麻、うつ病の治療（例えば、選択式セロトニン再取り込み阻害薬）から恩恵を受ける場合がある

。一般に、アルツハイマー病の治療は、認知症または運動機能不全に対する適切な治療と併せる場合がある。

【０６２８】

例示的な追加の治療薬としては、例えば、コリンエステラーゼ阻害剤、例えばドネペジル（アリセプト）、Ｎ－メチル－Ｄ－アスパラギン酸（ＮＭＤＡ）拮抗薬、例えばメマンチン（ナメンダ）、レボドパ、ドーパミン作動薬、例えばアプリプラゾール（ａｐｒｉｐｒａｚｏｌｅ）（エビリファイ）、モノアミン阻害剤、例えばテトラベナジン（キセナジン）、デュテトラベナジン（Ａｕｓｔｅｄｏ）、およびレセルピン、抗痙攣剤、例えばバルプロ酸（デパコート、デパケン、デパコン）、およびクロナゼパム（クロノピン）、抗精神病薬、例えばリスペリドン（リスパダール）、およびハロペリドール（ハルドール）、抗鬱薬、例えばパロキセチン（パキシル）、またはシムフィラム（ＰＴＩ－１２５）が挙げられる。

【０６２９】

一実施形態では、方法は、標的ＦＬＮＡ遺伝子の発現が少なくとも一ヵ月間低下するように本明細書において取り上げる組成物を投与することを含む。好ましい実施形態においては、発現は、少なくとも２ヵ月、３ヵ月または６ヵ月間低下する。

【０６３０】

好ましくは、本明細書において取り上げる方法および組成物に有用なＲＮＡｉ剤は、標的ＦＬＮＡ遺伝子のＲＮＡ（一次またはプロセシングされた）を特異的に標的とする。ＲＮＡｉ剤を使用してこれら遺伝子の発現を阻害する組成物および方法は、本明細書において記載するように調製および実施できる。

【０６３１】

本開示の方法によるｄｓＲＮＡの投与は、ＦＬＮＡ関連障害である患者においてこのような疾患または障害の重症度、徴候、症状またはマーカーの低減をもたらし得る。この文脈での「低減」とは、当該レベルの統計的に有意なまたは臨床的に有意な減少を意味する。低減は、例えば少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または約１００％とすることができる。

【０６３２】

疾患の治療または予防の有効性は、例えば疾患進行、疾患緩解、症状の重症度、疼痛の低減、生活の質、処置効果を持続するために必要とされる投薬の用量、疾患マーカーまたは治療されているまたは予防のために標的とされる所与の疾患に適切な任意の他の測定可能なパラメータのレベルを測定することによって評価できる。このようなパラメータのうちいずれか一つまたはパラメータのいずれかの組合せを測定することによって、治療または予防の有効性を観察することは、十分に当業者の能力の範囲内である。例えば、ＦＬＮＡ関連障害の治療の有効性は、例えば対象のマーカーおよび／または症状の定期的な観察よって評価され得る。後期の読み取り値を、初期の読み取り値と比較することによって、治療が有効であるか否かの指標が医師に提供される。このようなパラメータのうちいずれか一つまたはパラメータのいずれかの組合せを測定することによって、治療または予防の有効性を観察することは、十分に当業者の能力の範囲内である。ＦＬＮＡを標的とするＲＮＡｉ剤またはその医薬組成物の投与に関連して、ＦＬＮＡ関連障害「に対して有効な」は、臨床的に適切な様式での投与が、少なくとも統計的に有意な割合の患者にとって有益な効果が、例えば症状の改善、治癒、疾患の低減、寿命の延長、生活の質の改善またはＦＬＮＡ関連障害および関連原因の治療に精通している医師によって肯定的であると通常認識される他の効果が結果的に生じることを示す。

【０６３３】

治療または予防的効果は、疾患状態の一つまたは複数のパラメータにおいて統計的に有意な改善がある場合に、または悪化しなかったこともしくはそうでなければ予測される症状を発症しなかったときに明白である。例として、疾患の測定可能なパラメータが少なくとも１０％好ましく変化すること、好ましくは少なくとも２０％、３０％、４０％、５０

％またはそれ以上好ましく変化することが、有効な治療の指標であり得る。所与のＲＮＡｉ剤の薬物またはその薬物の製剤の有効性はまた、当技術分野で公知のような所与の疾患の実験動物モデルを使用して判断できる。実験動物モデルを使用する場合には、治療の有効性は、マーカーまたは症状の統計的に有意な減少が観察されたときに明白である。

【０６３４】

あるいは、有効性は、臨床的に許容された疾患重症度類別スケールに基づいて、診断の当業者によって決定されるような疾患の重症度の低減によって測定できる。例えば、適切なスケールを使用して測定される疾患の重症度の減少をもたらす任意の肯定的な変化は、本明細書において記載するようなＲＮＡｉ剤またはＲＮＡｉ剤製剤を使用する妥当な治療を表している。

【０６３５】

対象は、ｄｓＲＮＡの治療量が、例えば約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇが投与され得る。

【０６３６】

ＲＮＡｉ剤は、一定期間にわたって定期的に、髄腔内に、硝子体内注射を介してまたは静脈内注入によって投与できる。特定の実施形態においては、最初の治療レジメン後に、より少ない頻度で治療を施与することができる。ＲＮＡｉ剤の投与は、例えば、患者の細胞、組織、血液、ＣＳＦ試料または他の区画において、ＦＬＮＡレベルを低減させ得る。

【０６３７】

ＲＮＡｉ剤の全用量の投与の前に、患者は、より少ない用量で、例えば５％の注入反応で投与され、そして有害作用を、例えばアレルギー反応を観察できる。別の実施例では、患者を、望まれない免疫賦活性効果を、例えばサイトカイン（例えば、ＴＮＦ－アルファまたはＩＮＦ－アルファ）レベルの増大を観察できる。

【０６３８】

あるいは、ＲＮＡｉ剤を、皮下に、すなわち、皮下注射によって投与できる。ＲＮＡｉ剤の所望の、例えば、毎月の用量を対象に送達するために、一回または複数回の注射を使用できる。一定期間にわたって、注射を反復してもよい。投与を定期的に反復してもよい。特定の実施形態においては、最初の治療レジメン後に、より少ない頻度で治療を施与することができる。反復用量レジメンは、定期的な、例えば毎月の、または四半期に一回、年に二回、年に一回にわたる、ＲＮＡｉ剤の治療量の投与を含み得る。特定の実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、月に約一回～四半期に約一回（すなわち、約三ヵ月毎に一回）投与される。

【０６３９】

別段の定義がない限り、本明細書において使用する全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載するものと類似または同等の方法および材料を、本発明において取り上げるＲＮＡｉ剤および方法の実施または試験において使用できるが、適した方法および材料を以下に記載する。本明細書において言及する全ての公開公報、特許出願、特許および他の参考文献は、それらの全体が参照により組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含めて、本明細書が統制することとなる。さらに、材料、方法および実施例は、単に例示的なものであり、限定となることを意図するものではない。

【０６４０】

非公式の配列表は、本明細書にファイルされ、出願された明細書の一部を形成する。

【実施例】

【０６４１】

実施例１．ｉＲＮＡの合成

<u>試薬の供給元</u>

本明細書において試薬の供給元が具体的に与えられていない場合には、かかる試薬は、分子生物学で応用するための品質／純度基準にある分子生物学用の試薬の任意の供給元から得ることができる。

【０６４２】
ｓｉＲＮＡの設計
ヒトＦＬＮＡ遺伝子を標的とするｓｉＲＮＡ（ヒト：ＮＣＢＩ　ｒｅｆｓｅｑＩＤ　ＮＭ＿００１１１０５５６．２；ＮＣＢＩ　ＧｅｎｅＩＤ：２３１６）は、カスタムＲおよびＰｙｔｈｏｎスクリプトを使用して設計した。ヒトＮＭ＿００１１１０５５６．２　ｍＲＮＡは、長さが８５０７塩基である。
【０６４３】
マウスＦＬＮＡ遺伝子を標的とするｓｉＲＮＡ（マウス：ＮＣＢＩ　ｒｅｆｓｅｑＩＤ　ＸＭ＿００６５２７９１１．５；ＮＣＢＩ　ＧｅｎｅＩＤ：１９２１７６）は、カスタムＲおよびＰｙｔｈｏｎスクリプトを使用して設計した。マウスＸＭ＿００６５２７９１１．５　ｍＲＮＡは、長さが８６４８塩基である。
【０６４４】
未修飾ヒトＦＬＮＡセンスおよびアンチセンス鎖ヌクレオチド配列の詳細なリストを表３および５に示す。修飾ヒトＦＬＮＡセンスおよびアンチセンス鎖ヌクレオチド配列の詳細なリストを表４および６に示す。未修飾マウスＦＬＮＡセンスおよびアンチセンス鎖ヌクレオチド配列の詳細なリストを表７に示す。修飾マウスＦＬＮＡセンスおよびアンチセンス鎖ヌクレオチド配列の詳細なリストを表８に示す。
【０６４５】
本願全体にわたって、小数のない二重鎖名は、小数付きの二重鎖名と同等であり、単に二重鎖のバッチ番号を指しているということを理解されたい。例えば、ＡＤ－１６１５３７８は、ＡＤ－１６１５３７８．１と同等である。
【０６４６】
ｓｉＲＮＡの合成
ｓｉＲＮＡは、当技術分野で公知の通例の方法を使用して合成およびアニーリングした。
【０６４７】
簡潔に述べると、ｓｉＲＮＡ配列を、固体支持体に介在されるホスホラミダイト化学を用いてＭｅｒｍａｄｅ　１９２シンセサイザー（ＢｉｏＡｕｔｏｍａｔｉｏｎ社）を使用して１μｍｏｌスケールで合成した。固体支持体は、カスタムＧａｌＮＡｃリガンドまたはユニバーサル固体支持体（ＡＭ　ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ）を装填した制御された細孔ガラス（５００Ａ）であった。補助合成試薬である２’－Ｆおよび２’－Ｏ－メチルＲＮＡならびにデオキシホスホラミダイトを、Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ（ウィスコンシン州、ミルウォーキー）およびＨｏｎｇｅｎｅ（中国）から入手した。２’Ｆ　２’－Ｏ－メチル、ＧＮＡ（グリコール核酸）、５’リン酸、および他の修飾を、対応するホスホラミダイトを使用して導入した。３’ＧａｌＮＡｃコンジュゲート一本鎖の合成を、ＧａｌＮＡｃ修飾ＣＰＧ支持体上で行った。カスタムＣＰＧユニバーサル固体支持体を、アンチセンス一本鎖の合成に使用した。全てのホスホラミダイト（アセトニトリル中１００ｍＭ）のカップリング時間は、アクチベーターとして５－エチルチオ－１Ｈ－テトラゾール（ＥＴＴ）（アセトニトリル中０．６Ｍ）を用いて５分であった。無水アセトニトリル／ピリジン（１：１ｖ／ｖ）中の３－（（ジメチルアミノ－メチリデン）アミノ）－３Ｈ－１，２，４－ジチアゾール－３－チオン（ＤＤＴＴ、Ｃｈｅｍｇｅｎｅｓ社（米国、マサチューセッツ州、ウィルミントン）より取得）の５０ｍＭ溶液を使用して、ホスホロチオエート連結を生成した。酸化時間は３分であった。全ての配列を、ＤＭＴ基の最終的な除去（「ＤＭＴオフ」）で合成した。
【０６４８】
固相合成が完了すると、オリゴリボヌクレオチドを固体支持体から切断し、２００μＬの水性メチルアミン試薬を使用して密封された９６深ウェルプレート中で６０°Ｃで２０分間脱保護した。ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ）基で保護された２’リボ残基（２’－ＯＨ）を含有する配列に関しては、ＴＥＡ．３ＨＦ（トリエチルアミントリヒドロフルオリド）試薬を使用して第二工程の脱保護を実施した。メチルアミン脱保護

溶液に、２００μＬのジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）および３００μＬのＴＥＡ．３ＨＦ試薬を添加し、溶液を６０°Ｃでさらに２０分間インキュベートした。切断および脱保護工程の終了時に、合成プレートを室温にし、１ｍＬのアセトニトリル：エタノール混合物（９：１）を添加することによって沈殿させた。次いでプレートを－８０°Ｃで２時間冷却し、上清を、マルチチャネルピペットの補助により慎重にデカントした。オリゴヌクレオチドペレットを、２０ｍＭのＮａＯＡｃ緩衝液中に再懸濁し、Ａ９０５オートサンプラー、およびＦｒａｃ　９５０フラクションコレクターを備えたアクタ精製システム上で、５ｍＬのＨｉＴｒａｐ分子ふるいカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ社）を使用して脱塩した。脱塩試料を９６ウェルプレートに収集した。各配列からの試料をＬＣ－ＭＳにより分析して、同一性、定量化用のＵＶ（２６０ｎｍ）、および純度を決定するためのＩＥＸクロマトグラフィーにより選択された試料セットを確認した。

【０６４９】

一本鎖のアニーリングを、Ｔｅｃａｎ社のリキッドハンドリングロボットで行った。センスおよびアンチセンス一本鎖の等モル混合物を９６ウェルプレート中で組み合わせ、アニーリングした。相補的な一本鎖を組み合わせた後、９６ウェルプレートをしっかりと密封し、オーブン内で１００°Ｃで１０分間加熱し、２～３時間にわたってゆっくりと室温にした。各二重鎖の濃度を、１Ｘ　ＰＢＳ中で１０μＭに正規化し、次いでインビトロスクリーニングアッセイのために提出した。

【０６５０】

表２．核酸配列の表現で使用されるヌクレオチドモノマーの略語。これらのモノマーは、オリゴヌクレオチド中に存在する場合、５’－３’－ホスホジエステル結合によって相互に連結されることが理解されよう。

【表２－１】

略語	ヌクレオチド
A	アデノシン-3’-リン酸
Ab	ベータ-L-アデノシン-3’-リン酸
Abs	ベータ-L-アデノシン-3’-ホスホロチオエート
Af	2’-フルオロアデノシン-3’-リン酸
Afs	2’-フルオロアデノシン-3’-ホスホロチオエート
As	アデノシン-3’-ホスホロチオエート
(A2p)	アデノシン-2`-リン酸
(A2ps)	アデノシン-2’-ホスホロチオエート
C	シチジン-3’-リン酸
Cb	ベータ-L-シチジン-3’-リン酸
Cbs	ベータ-L-シチジン-3’-ホスホロチオエート
Cf	2’-フルオロシチジン-3’-リン酸
Cfs	2’-フルオロシチジン-3’-ホスホロチオエート
Cs	シチジン-3’-ホスホロチオエート
(C2p)	シチジン-2’-リン酸
(C2ps)	シチジン-2’-ホスホロチオエート

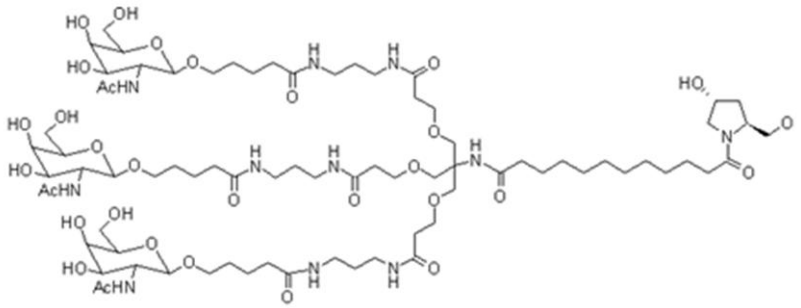
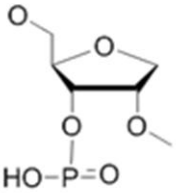
【表２－２】

G	グアノシン-3'-リン酸
Gb	ベータ-L-グアノシン-3'-リン酸
Gbs	ベータ-L-グアノシン-3'-ホスホロチオエート
Gf	2'-フルオログアノシン-3'-リン酸
Gfs	2'-フルオログアノシン-3'-ホスホロチオエート
Gs	グアノシン-3'-ホスホロチオエート
(G2p)	グアノシン-2'-リン酸
(G2ps)	グアノシン-2'-ホスホロチオエート
T	5'-メチルウリジン-3'-リン酸
Tf	2'-フルオロ-5-メチルウリジン-3'-リン酸
Tfs	2'-フルオロ -5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
Ts	5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
U	ウリジン-3'-リン酸
Uf	2'-フルオロウリジン-3'-リン酸
Ufs	2'-フルオロウリジン-3'-ホスホロチオエート
Us	ウリジン-3'-ホスホロチオエート
(U2p)	ウリジン-2'-リン酸
(U2ps)	ウリジン-2'-ホスホロチオエート
N	修飾または未修飾の任意のヌクレオチド

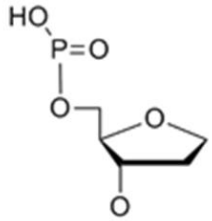
【表２－３】

a	2'-O-メチルアデノシン-3'-リン酸
as	2'-O-メチルアデノシン-3'-ホスホロチオエート
c	2'-O-メチルシチジン-3'-リン酸
cs	2'-O-メチルシチジン-3'-ホスホロチオエート
g	2'-O-メチルグアノシン-3'-リン酸
gs	2'-O-メチルグアノシン-3'-ホスホロチオエート
t	2'-O-メチル-5-メチルウリジン-3'-リン酸
ts	2'-O-メチル-5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
u	2'-O-メチルウリジン-3'-リン酸
us	2'-O-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
s	ホスホロチオエート連結

【表２－４】

L96	N-[トリス(GalNAc-アルキル)-アミドデカノイル)]-4-ヒドロキシプロリノール (Hyp-(GalNAc-アルキル)3) 
Y34	2-ヒドロキシメチル-テトラヒドロフラン-4-メトキシ-3-ホスフェート(脱塩基2'-OMeフラノース) 

【表２－５】

Y44	逆位脱塩基DNA(2-ヒドロキシメチル-テトラヒドロフラン-5-ホスフェート) 
(Agn)	アデノシン-グリコール核酸(GNA)S異性体
(Cgn)	シチジン-グリコール核酸(GNA)S異性体
(Ggn)	グアノシン-グリコール核酸(GNA)S異性体
(Tgn)	チミジン-グリコール核酸(GNA)S-異性体

【表２－６】

P	ホスフェート
VP	ビニル-ホスホネート
dA	2'-デオキシアデノシン-3'-リン酸
dAs	2'-デオキシアデノシン-3'-ホスホロチオエート
dC	2'-デオキシシチジン-3'-リン酸
dCs	2'-デオキシシチジン-3'-ホスホロチオエート
dG	2'-デオキシグアノシン-3'-リン酸
dGs	2'-デオキシグアノシン-3'-ホスホロチオエート
dT	2'-デオキシチミジン-3'-リン酸
dTs	2'-デオキシチミジン-3'-ホスホロチオエート
dU	2'-デオキシウリジン-3'-ホスフェート
dUs	2'-デオキシウリジン-3'-ホスホロチオエート

【表３－１】

表3．ヒトＦＬＮＡ　ｄｓＲＮＡ剤の未修飾のセンス鎖配列およびアンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5’～3’	配列番号:	NM_001110556.2での範囲	アンチセンス配列 5’～3’	配列番号:	NM_001110556.2での範囲
AD-1615378	UCGGUCACCGGUCGCUCUCAA	7	100-120	UUGAGAGCGACCGGUGACCGAUG	187	98-120
AD-1615433	CGACUUUAAUUAAAGGGCCGA	8	176-196	UCGGCCCUUUAAUUAAAGUCGCA	188	174-196
AD-1615454	AAAUGAGUAGCUCCCACUCUA	9	244-264	UAGAGUGGGAGCUACUCAUUUUG	189	242-264
AD-1615511	AUCCAGCAGAACACUUUCACA	10	375-395	UGUGAAAGUGUUCUGCUGGAUCU	190	373-395
AD-1615540	CAACGAGCACCUGAAGUGCGA	11	404-424	UCGCACUUCAGGUGCUCGUUGCA	191	402-424
AD-1615561	GAGCAAGCGCAUCGCCAACCA	12	425-445	UGGUUGGCGAUGCGCUUGCUCAC	192	423-445
AD-1615604	GCUUAUCGCGCUGUUGGAGGA	13	473-493	UCCUCCAACAGCGCGAUAAGCCG	193	471-493
AD-1615631	CCAGAAGAAGAUGCACCGCAA	14	500-520	UUGCGGUGCAUCUUCUUCUGGCU	194	498-520
AD-1615676	CCAAAUGCAGCUUGAGAACGA	15	545-565	UCGUUCUCAAGCUGCAUUUGGCG	195	543-565
AD-1615729	GCAUCAAACUGGUGUCCAUCA	16	598-618	UGAUGGACACCAGUUUGAUGCUC	196	596-618
AD-1615772	GAACCUGAAGCUGAUCCUGGA	17	641-661	UCCAGGAUCAGCUUCAGGUUCCC	197	639-661
AD-1615796	CAUCUGGACCCUGAUCCUGCA	18	665-685	UGCAGGAUCAGGGUCCAGAUGAG	198	663-685
AD-1615820	CUCCAUCUCCAUGCCCAUGUA	19	689-709	UACAUGGGCAUGGAGAUGGAGUA	199	687-709
AD-1615843	GAGGAGGAGGAUGAGGAGGCA	20	714-734	UGCCUCCUCAUCCUCCUCCUCGU	200	712-734
AD-1615930	UGUGUCCUGACUGGGACUCUA	21	871-891	UAGAGUCCCAGUCAGGACACAGG	201	869-891
AD-1615964	CCCGUUACCAAUGCGCGAGAA	22	906-926	UUCUCGCGCAUUGGUAACGGGCU	202	904-926
AD-1615991	CAGCAGGCGGAUGACUGGCUA	23	933-953	UAGCCAGUCAUCCGCCUGCUGCA	203	931-953
AD-1616007	GACGAGCACUCUGUCAUGACA	24	1002-1022	UGUCAUGACAGAGUGCUCGUCCA	204	1000-1022
AD-1616044	AAACUGAACCCGAAGAAAGCA	25	1077-1097	UGCUUUCUUCGGGUUCAGUUUGG	205	1075-1097
AD-1616087	AGGCAACAUGGUGAAGAAGCA	26	1127-1147	UGCUUCUUCACCAUGUUGCCUGU	206	1125-1147
AD-1616111	AGAGUUCACUGUGGAGACCAA	27	1151-1171	UUGGUCUCCACAGUGAACUCUGC	207	1149-1171
AD-1616149	AGGUGCUGGUGUACGUGGAGA	28	1189-1209	UCUCCACGUACACCAGCACCUCU	208	1187-1209

【表３－２】

AD-1616182	AAAAGUGACCGCCAAUAACGA	29	1235-1255	UCGUUAUUGGCGGUCACUUUUGC	209	1233-1255
AD-1616205	AGAACCGCACCUUCUCCGUCA	30	1258-1278	UGACGGAGAAGGUGCGGUUCUUG	210	1256-1278
AD-1616222	CAUAAGGUUACUGUGCUCUUA	31	1305-1325	UAAGAGCACAGUAACCUUAUGAG	211	1303-1325
AD-1616245	UGGCCAGCACAUCGCCAAGAA	32	1328-1348	UUCUUGGCGAUGUGCUGGCCAGC	212	1326-1348
AD-1616252	CGAGGUGUACGUGGAUAAGUA	33	1355-1375	UACUUAUCCACGUACACCUCGAA	213	1353-1375
AD-1616288	CAAAGUGACAGCCCAAGGUCA	34	1391-1411	UGACCUUGGGCUGUCACUUUGCU	214	1389-1411
AD-1616313	UGGCAACAUCGCCAACAAGAA	35	1427-1447	UUCUUGUUGGCGAUGUUGCCACU	215	1425-1447
AD-1616334	CACCUACUUUGAGAUCUUUAA	36	1448-1468	UUAAAGAUCUCAAAGUAGGUGGU	216	1446-1468
AD-1616364	GAGGUCGAGGUUGUGAUCCAA	37	1488-1508	UUGGAUCACAACCUCGACCUCGC	217	1486-1508
AD-1616386	ACGGUAGAGCCUCAGCUGGAA	38	1530-1550	UUCCAGCUGAGGCUCUACCGUGC	218	1528-1550
AD-1616399	AGCACAUACCGCUGCAGCUAA	39	1563-1583	UUAGCUGCAGCGGUAUGUGCUGU	219	1561-1583
AD-1616471	UCACUGUUGGCCAAGCCUGUA	40	1660-1680	UACAGGCUUGGCCAACAGUGACA	220	1658-1680
AD-1616531	GACUUCAAGGUGUACACAAAA	41	1749-1769	UUUUGUGUACACCUUGAAGUCAG	221	1747-1769
AD-1616554	GAAGGUCACCGUGAAGGGCCA	42	1790-1810	UGGCCCUUCACGGUGACCUUCAG	222	1788-1810
AD-1616579	GUGUAUGGCUUCGAGUAUUAA	43	1854-1874	UUAAUACUCGAAGCCAUACACGC	223	1852-1874
AD-1616593	GAACCUAUAUCGUCACCAUCA	44	1888-1908	UGAUGGUGACGAUAUAGGUUCCA	224	1886-1908
AD-1616613	AUCGGGCGCAGUCCCUUCGAA	45	1926-1946	UUCGAAGGGACUGCGCCCGAUGU	225	1924-1946
AD-1616643	GGCACCGAGUGUGGCAAUCAA	46	1956-1976	UUGAUUGCCACACUCGGUGCCCA	226	1954-1976
AD-1616682	AGUCAGCAGACUUUGUGGUGA	47	2023-2043	UCACCACAAAGUCUGCUGACUUG	227	2021-2043
AD-1616707	CGCUGGGCUUCUCGGUGGAAA	48	2068-2088	UUUCCACCGAGAAGCCCAGCGUG	228	2066-2088
AD-1616742	AAGAUCGAAUGUGACGACAAA	49	2103-2123	UUUGUCGUCACAUUCGAUCUUAG	229	2101-2123
AD-1616771	CUCCUGUGAUGUGCGCUACUA	50	2132-2152	UAGUAGCGCACAUCACAGGAGCC	230	2130-2152
AD-1616821	CUGUGCAACAGCGAAGACAUA	51	2187-2207	UAUGUCUUCGCUGUUGCACAGCA	231	2185-2207
AD-1616833	CUUCAUGGCUGACAUCCGUGA	52	2219-2239	UCACGGAUGUCAGCCAUGAAGGG	232	2217-2239

【表３－３】

AD-1616852	CCCAGACAGGGUGAAGGCACA	53	2258-2278	UGUGCCUUCACCCUGUCUGGGUG	233	2256-2278
AD-1616911	AGCCAGCAGAGUUCACAGUGA	54	2317-2337	UCACUGUGAACUCUGCUGGCUUG	234	2315-2337
AD-1616934	GCCAAGCACGGUGGCAAGGCA	55	2340-2360	UGCCUUGCCACCGUGCUUGGCAU	235	2338-2360
AD-1616950	GUCCAGGACAAUGAAGGCUGA	56	2376-2396	UCAGCCUUCAUUGUCCUGGACUU	236	2374-2396
AD-1616972	UGUGGAGGCGUUGGUCAAGGA	57	2399-2419	UCCUUGACCAACGCCUCCACAGG	237	2397-2419
AD-1616994	AACGGCAAUGGCACUUACAGA	58	2421-2441	UCUGUAAGUGCCAUUGCCGUUGU	238	2419-2441
AD-1617041	GAAGCACACAGCCAUGGUGUA	59	2468-2488	UACACCAUGGCUGUGUGCUUCAC	239	2466-2488
AD-1617061	AACAAGGUCAAAGUAUACGGA	60	2553-2573	UCCGUAUACUUUGACCUUGUUGG	240	2551-2573
AD-1617103	CUACUUCACUGUGGACUGCGA	61	2615-2635	UCGCAGUCCACAGUGAAGUAGGU	241	2613-2635
AD-1617117	CGUCAGCAUCGGCAUCAAGUA	62	2654-2674	UACUUGAUGCCGAUGCUGACGUC	242	2652-2674
AD-1617127	GAAGCUGACAUCGACUUCGAA	63	2700-2720	UUCGAAGUCGAUGUCAGCUUCGG	243	2698-2720
AD-1617148	AUCAUCCGCAAUGACAAUGAA	64	2721-2741	UUCAUUGUCAUUGCGGAUGAUGU	244	2719-2741
AD-1617169	ACCUUCACGGUCAAGUACACA	65	2742-2762	UGUGUACUUGACCGUGAAGGUGU	245	2740-2762
AD-1617186	CACCAUUAUGGUCCUCUUUGA	66	2783-2803	UCAAAGAGGACCAUAAUGGUGUA	246	2781-2803
AD-1617219	GUGGAGCCCUCUCAUGACGCA	67	2841-2861	UGCGUCAUGAGAGGGCUCCACCU	247	2839-2861
AD-1617268	UGGUGUCGAGCUUGGCAAGCA	68	2900-2920	UGCUUGCCAAGCUCGACACCAGU	248	2898-2920
AD-1617298	CACAGUAAAUGCCAAAGCUGA	69	2930-2950	UCAGCUUUGGCAUUUACUGUGAA	249	2928-2950
AD-1617322	CAAAGGCAAGCUGGACGUCCA	70	2954-2974	UGGACGUCCAGCUUGCCUUUGCC	250	2952-2974
AD-1617343	GUUCUCAGGACUCACCAAGGA	71	2975-2995	UCCUUGGUGAGUCCUGAGAACUG	251	2973-2995
AD-1617366	CAUCAUCGACCACCAUGACAA	72	3017-3037	UUGUCAUGGUGGUCGAUGAUGUC	252	3015-3037
AD-1617387	CACCUACACAGUCAAGUACAA	73	3038-3058	UUGUACUUGACUGUGUAGGUGUU	253	3036-3058
AD-1617429	AGGCGUCAAUGUCACUUAUGA	74	3080-3100	UCAUAAGUGACAUUGACGCCUAC	254	3078-3100
AD-1617455	CUUUCUCAGUGGCAGUAUCUA	75	3124-3144	UAGAUACUGCCACUGAGAAAGGG	255	3122-3144
AD-1617486	CCUCAGCAAGAUCAAGGUGUA	76	3155-3175	UACACCUUGAUCUUGCUGAGGUC	256	3153-3175

【表３－４】

AD-1617520	AAGGUGGACGUUGGCAAAGAA	77	3189-3209	UUCUUUGCCAACGUCCACCUUCU	257	3187-3209
AD-1617545	AGUUCACAGUCAAAUCAAAGA	78	3214-3234	UCUUUGAUUUGACUGUGAACUCC	258	3212-3234
AD-1617580	GGCAAAGUGGCAUCCAAGAUA	79	3249-3269	UAUCUUGGAUGCCACUUUGCCUU	259	3247-3269
AD-1617612	UGACAACAGUGUGGUGCGCUA	80	3323-3343	UAGCGCACCACACUGUUGUCAGC	260	3321-3343
AD-1617644	GAGGUGACCUAUGACGGCGUA	81	3375-3395	UACGCCGUCAUAGGUCACCUCCA	261	3373-3395
AD-1617657	ACCAAGCCUAGCAAGGUGAAA	82	3438-3458	UUUCACCUUGCUAGGCUUGGUGG	262	3436-3458
AD-1617679	CCGCUUCACCAUCGACACCAA	83	3503-3523	UUGGUGUCGAUGGUGAAGCGGGC	263	3501-3523
AD-1617703	UGAGGCGCAGCUCGAGUGCUA	84	3569-3589	UAGCACUCGAGCUGCGCCUCACA	264	3567-3589
AD-1617717	AUGGCACAUGUUCCGUGUCCA	85	3601-3621	UGGACACGGAACAUGUGCCAUCC	265	3599-3621
AD-1617743	CAACAUCAACAUCCUCUUCGA	86	3647-3667	UCGAAGAGGAUGUUGAUGUUGUA	266	3645-3667
AD-1617790	UGCUUUGACGCAUCCAAAGUA	87	3714-3734	UACUUUGGAUGCGUCAAAGCAGG	267	3712-3734
AD-1617815	CCAAUUCCAAGUGGACUGCUA	88	3782-3802	UAGCAGUCCACUUGGAAUUGGCC	268	3780-3802
AD-1617843	CCAUUGAGAUCUGCUCGGAGA	89	3826-3846	UCUCCGAGCAGAUCUCAAUGGUC	269	3824-3846
AD-1617853	UCCGGCCGAGGUGUACAUCCA	90	3854-3874	UGGAUGUACACCUCGGCCGGAAG	270	3852-3874
AD-1617875	GACCACGGUGAUGGCACGCAA	91	3876-3896	UUGCGUGCCAUCACCGUGGUCCU	271	3874-3896
AD-1617899	UACACCGUCACCAUCAAGUAA	92	3930-3950	UUACUUGAUGGUGACGGUGUAGG	272	3928-3950
AD-1617939	GCGGUGGACACUUCCGGUGUA	93	3999-4019	UACACCGGAAGUGUCCACCGCAG	273	3997-4019
AD-1617981	GAGGGCCAGGGUGUCUUCCGA	94	4041-4061	UCGGAAGACACCCUGGCCCUCAA	274	4039-4061
AD-1618006	CCACCACUGAGUUCAGUGUGA	95	4066-4086	UCACACUGAACUCAGUGGUGGCC	275	4064-4086
AD-1618049	GUCAAGGCCCGUGUGGCCAAA	96	4122-4142	UUUGGCCACACGGGCCUUGACGU	276	4120-4142
AD-1618052	CUCAGGCAACCUGACGGAGAA	97	4145-4165	UUCUCCGUCAGGUUGCCUGAGGG	277	4143-4165
AD-1618077	GUUCAGGACCGUGGCGAUGGA	98	4170-4190	UCCAUCGCCACGGUCCUGAACGU	278	4168-4190
AD-1618098	AUGUACAAAGUGGAGUACACA	99	4191-4211	UGUGUACUCCACUUUGUACAUGC	279	4189-4211
AD-1618124	CGAGGAGGGACUGCACUCCGA	100	4217-4237	UCGGAGUGCAGUCCCUCCUCGUA	280	4215-4237

【表３－５】

AD-1618187	GCAUCCAAAGUGGCACCACCA	101	4336-4356	UGGUGGUGCCACUUUGGAUGCCU	281	4334-4356
AD-1618214	CAAGUUCACUGUGGAGACCAA	102	4367-4387	UUGGUCUCCACAGUGAACUUGUU	282	4365-4387
AD-1618237	GAUGUCCUGCAUGGAUAACAA	103	4442-4462	UUGUUAUCCAUGCAGGACAUCUU	283	4440-4462
AD-1618286	CCUUAUGAGGCUGGCACCUAA	104	4491-4511	UUAGGUGCCAGCCUCAUAAGGGA	284	4489-4511
AD-1618311	UCAACGUCACCUAUGGUGGCA	105	4516-4536	UGCCACCAUAGGUGACGUUGAGG	285	4514-4536
AD-1618342	AGGCAGUCCUUUCAAGGUCCA	106	4547-4567	UGGACCUUGAAAGGACUGCCUGG	286	4545-4567
AD-1618364	GUGCAUGAUGUGACAGAUGCA	107	4569-4589	UGCAUCUGUCACAUCAUGCACAG	287	4567-4589
AD-1618404	CCCAGGCAUGGUUCGUGCCAA	108	4622-4642	UUGGCACGAACCAUGCCUGGGCU	288	4620-4642
AD-1618434	GUCCUUCCAGGUGGACACAAA	109	4652-4672	UUUGUGUCCACCUGGAAGGACUG	289	4650-4672
AD-1618456	GCAGGUCAAAGUGCAAGGGCA	110	4694-4714	UGCCCUUGCACUUUGACCUGCAA	290	4692-4714
AD-1618508	GACAACGCUGAUGGCACCCAA	111	4746-4766	UUGGGUGCCAUCAGCGUUGUCUA	291	4744-4766
AD-1618572	GUACUGUAUGGAGAUGAAGAA	112	4812-4832	UUCUUCAUCUCCAUACAGUACUG	292	4810-4832
AD-1618601	ACUCAUGAUGCCAGCAAGGUA	113	4869-4889	UACCUUGCUGGCAUCAUGAGUAG	293	4867-4889
AD-1618645	GGAGUUCACCAUCGAUGCAAA	114	4943-4963	UUUGCAUCGAUGGUGAACUCCAC	294	4941-4963
AD-1618661	GGCCUGCUGGCUGUCCAGAUA	115	4977-4997	UAUCUGGACAGCCAGCAGGCCCU	295	4975-4997
AD-1618706	AAGACACACAUCCAAGACAAA	116	5022-5042	UUUGUCUUGGAUGUGUGUCUUCU	296	5020-5042
AD-1618744	AGUGGCCUACGUGCCAGACGA	117	5060-5080	UCGUCUGGCACGUAGGCCACUGU	297	5058-5080
AD-1618772	CGCUACACCAUCCUCAUCAAA	118	5088-5108	UUUGAUGAGGAUGGUGUAGCGAC	298	5086-5108
AD-1618810	CACUGUCACAGUGUCAAUCGA	119	5180-5200	UCGAUUGACACUGUGACAGUGCA	299	5178-5200
AD-1618835	CACGGGCUAGGUGCUGGCAUA	120	5205-5225	UAUGCCAGCACCUAGCCCGUGAC	300	5203-5225
AD-1618851	GGUGAUCACUGUGGACACUAA	121	5255-5275	UUAGUGUCCACAGUGAUCACCGU	301	5253-5275
AD-1618886	GCAAAGUGACGUGCACCGUGA	122	5290-5310	UCACGGUGCACGUCACUUUGCCU	302	5288-5310
AD-1618910	CGCCUGAUGGCUCAGAGGUGA	123	5314-5334	UCACCUCUGAGCCAUCAGGCGUG	303	5312-5334
AD-1618939	GUGGUGGAGAAUGAGGACGGA	124	5343-5363	UCCGUCCUCAUUCUCCACCACGU	304	5341-5363

【表３－６】

AD-1618960	ACUUUCGACAUCUUCUACACA	125	5364-5384	UGUGUAGAAGAUGUCGAAAGUGC	305	5362-5384
AD-1618979	CGUCAUCUGUGUGCGCUUUGA	126	5405-5425	UCAAAGCGCACACAGAUGACGUA	306	5403-5425
AD-1619014	CACAGUACACCUACGCCCAGA	127	5521-5541	UCUGGGCGUAGGUGUACUGUGGG	307	5519-5541
AD-1619034	UGUCAAUGGGCUGGAUGUGAA	128	5582-5602	UUCACAUCCAGCCCAUUGACACC	308	5580-5602
AD-1619064	GCCCUUUGACCUUGUCAUCCA	129	5612-5632	UGGAUGACAAGGUCAAAGGGCCU	309	5610-5632
AD-1619071	CAUCAAGAAGGGCGAGAUCAA	130	5639-5659	UUGAUCUCGCCCUUCUUGAUGGU	310	5637-5659
AD-1619116	AUCACUGACAACAAAGACGGA	131	5703-5723	UCCGUCUUUGUUGUCAGUGAUGG	311	5701-5723
AD-1619178	GACAUCCGCUAUGACAACAUA	132	5772-5792	UAUGUUGUCAUAGCGGAUGUCCA	312	5770-5792
AD-1619197	UUGCAGUUCUAUGUGGAUUAA	133	5811-5831	UUAAUCCACAUAGAACUGCAAGG	313	5809-5831
AD-1619233	GUCACUGCCUAUGGGCCUGGA	134	5847-5867	UCCAGGCCCAUAGGCAGUGACAU	314	5845-5867
AD-1619262	UGGAGUAGUGAACAAGCCUGA	135	5876-5896	UCAGGCUUGUUCACUACUCCAUG	315	5874-5896
AD-1619296	AACACCAAGGAUGCAGGAGAA	136	5910-5930	UUCUCCUGCAUCCUUGGUGUUGA	316	5908-5930
AD-1619333	GCAGAAAUCAGCUGCACUGAA	137	5967-5987	UUCAGUGCAGCUGAUUUCUGCUU	317	5965-5987
AD-1619358	AGGAUGGGACAUGCAGCGUGA	138	5992-6012	UCACGCUGCAUGUCCCAUCCUGG	318	5990-6012
AD-1619385	CUACAGCAUUCUAGUCAAGUA	139	6038-6058	UACUUGACUAGAAUGCUGUAGUC	319	6036-6058
AD-1619434	UGACGACUCCAUGCGUAUGUA	140	6107-6127	UACAUACGCAUGGAGUCGUCACC	320	6105-6127
AD-1619455	CCACCUAAAGGUCGGCUCUGA	141	6128-6148	UCAGAGCCGACCUUUAGGUGGGA	321	6126-6148
AD-1619470	UCAACAUCUCAGAGACGGAUA	142	6163-6183	UAUCCGUCUCUGAGAUGUUGAUG	322	6161-6183
AD-1619529	AAGCGGCUGCGUAAUGGCCAA	143	6243-6263	UUGGCCAUUACGCAGCCGCUUCA	323	6241-6263
AD-1619540	UUCAUUCGUGCCCAAGGAGAA	144	6272-6292	UUCUCCUUGGGCACGAAUGAAAU	324	6270-6292
AD-1619549	CACCUGGUGCAUGUGAAGAAA	145	6300-6320	UUUCUUCACAUGCACCAGGUGCU	325	6298-6320
AD-1619586	UGAUCAGCCAGUCGGAAAUUA	146	6358-6378	UAAUUUCCGACUGGCUGAUCACC	326	6356-6378
AD-1619601	GUGUUCGGGUCUCUGGUCAGA	147	6391-6411	UCUGACCAGAGACCCGAACACGA	327	6389-6411
AD-1619651	GCAGAGUUUAUCAUUGAUACA	148	6441-6461	UGUAUCAAUGAUAAACUCUGCAG	328	6439-6461

【表３－７】

AD-1619689	UGGGCUCAGCCUGUCCAUUGA	149	6479-6499	UCAAUGGACAGGCUGAGCCCACC	329	6477-6499
AD-1619699	CAAGGUGGACAUCAACACAGA	150	6509-6529	UCUGUGUUGAUGUCCACCUUGCU	330	6507-6529
AD-1619735	GACGUGCAGGGUCACCUACUA	151	6545-6565	UAGUAGGUGACCCUGCACGUCCC	331	6543-6565
AD-1619751	CAACUACAUCAUCAACAUCAA	152	6581-6601	UUGAUGUUGAUGAUGUAGUUGCC	332	6579-6601
AD-1619849	GUUGGUAGUCAUUGUGACCUA	153	6711-6731	UAGGUCACAAUGACUACCAACGU	333	6709-6731
AD-1619879	AUCCCUGAAAUUAGCAUCCAA	154	6741-6761	UUGGAUGCUAAUUUCAGGGAUUU	334	6739-6761
AD-1619936	ACCCAUGAGGCCGAGAUCGUA	155	6798-6818	UACGAUCUCGGCCUCAUGGGUCU	335	6796-6818
AD-1619946	AGAACCACACCUACUGCAUCA	156	6826-6846	UGAUGCAGUAGGUGUGGUUCUCC	336	6824-6846
AD-1619969	UUUGUUCCCGCUGAGAUGGGA	157	6849-6869	UCCCAUCUCAGCGGGAACAAAGC	337	6847-6869
AD-1619993	CACACAGUCAGCGUGAAGUAA	158	6873-6893	UUACUUCACGCUGACUGUGUGUG	338	6871-6893
AD-1620033	CUGGAGAGAGCUGAAGCUGGA	159	6987-7007	UCCAGCUUCAGCUCUCUCCAGGC	339	6985-7007
AD-1620060	GCCGAAUUCAGUAUCUGGACA	160	7014-7034	UGUCCAGAUACUGAAUUCGGCUG	340	7012-7034
AD-1620113	UGAGAUCUCUUUUGAGGACCA	161	7088-7108	UGGUCCUCAAAAGAGAUCUCAGC	341	7086-7108
AD-1620150	GGUGUGGCUUAUGUGGUCCAA	162	7125-7145	UUGGACCACAUAAGCCACACCAC	342	7123-7145
AD-1620177	GGUGACUACGAAGUCUCAGUA	163	7152-7172	UACUGAGACUUCGUAGUCACCUG	343	7150-7172
AD-1620198	AAGUUCAACGAGGAACACAUA	164	7173-7193	UAUGUGUUCCUCGUUGAACUUGA	344	7171-7193
AD-1620211	UUCGUGGUGCCUGUGGCUUCA	165	7206-7226	UGAAGCCACAGGCACCACGAAGG	345	7204-7226
AD-1620244	UGUUUCUAGCCUUCAGGAGUA	166	7253-7273	UACUCCUGAAGGCUAGAAACAGU	346	7251-7273
AD-1620279	ACCAGCCAGCCUCUUUUGCAA	167	7288-7308	UUGCAAAAGAGGCUGGCUGGUUG	347	7286-7308
AD-1620330	ACAGAAAUUGACCAAGAUAAA	168	7386-7406	UUUAUCUUGGUCAAUUUCUGUGA	348	7384-7406
AD-1620352	AUGCUGUGCGCUUCAUCCCUA	169	7408-7428	UAGGGAUGAAGCGCACAGCAUAC	349	7406-7428
AD-1620389	CCUGAUUGACGUCAAGUUCAA	170	7445-7465	UUGAACUUGACGUCAAUCAGGUA	350	7443-7465
AD-1620410	CGGCACCCACAUCCCUGGAAA	171	7466-7486	UUUCCAGGGAUGUGGGUGCCGUU	351	7464-7486
AD-1620426	UGGUGUCUGCUUACGGAGCAA	172	7537-7557	UUGCUCCGUAAGCAGACACCAAG	352	7535-7557

【表３－８】

AD-1620449	CUGGAAGGCGGUGUCACAGGA	173	7560-7580	UCCUGUGACACCGCCUUCCAGAC	353	7558-7580
AD-1620475	AGCUGAGUUCGUCGUGAACAA	174	7586-7606	UUGUUCACGACGAACUCAGCUGG	354	7584-7606
AD-1620525	AGGUGAAGAUGGAUUGCCAGA	175	7657-7677	UCUGGCAAUCCAUCUUCACCUUG	355	7655-7677
AD-1620574	UACCUCAUCUCCAUCAAGUAA	176	7728-7748	UUACUUGAUGGAGAUGAGGUAGC	356	7726-7748
AD-1620616	GACAUCAUCAGUGUUUGUAGA	177	7832-7852	UCUACAAACACUGAUGAUGUCUC	357	7830-7852
AD-1620707	UCACAGUAGACUGCAGCAAAA	178	7978-7998	UUUUGCUGCAGUCUACUGUGAAG	358	7976-7998
AD-1620731	GCAACAACAUGCUGCUGGUGA	179	8002-8022	UCACCAGCAGCAUGUUGUUGCCU	359	8000-8022
AD-1620737	CGAGGAGAUCCUGGUGAAGCA	180	8048-8068	UGCUUCACCAGGAUCUCCUCGCA	360	8046-8068
AD-1620767	GCUCUACAGCGUGUCCUACCA	181	8081-8101	UGGUAGGACACGCUGUAGAGCCG	361	8079-8101
AD-1620787	GUACACACUGGUGGUCAAAUA	182	8120-8140	UAUUUGACCACCAGUGUGUACUC	362	8118-8140
AD-1620837	CCUCUCGGCUUUCACUUGGGA	183	8359-8379	UCCCAAGUGAAAGCCGAGAGGUC	363	8357-8379
AD-1620879	CUUGUCUUCUUUGGUUCUGGA	184	8404-8424	UCCAGAACCAAAGAAGACAAGCA	364	8402-8424
AD-1620891	GUACACAACCACCCACUAGUA	185	8447-8467	UACUAGUGGGUGGUUGUGUACAG	365	8445-8467
AD-1620927	GAGGAAUAAAGUUUUGCUUCA	186	8483-8503	UGAAGCAAAACUUUAUUCCUCUU	366	8481-8503

【表４－１】

表４．ヒトＦＬＮＡ　ｄｓＲＮＡ剤の修飾センス鎖配列および修飾アンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5’～3’	配列番号:	アンチセンス配列 5’～3’	配列番号:	mRNA標的配列 5’～3’	配列番号:
AD-1615378	uscsggu(Chd)AfcCfGfGfucgcucucsasa	367	VPusUfsgagAfgCfGfaccgGfuGfacegasusg	547	CAUCGGUCACCGGUCGCUCUCAG	727
AD-1615433	csgsacu(Uhd)UfaAfUfUfaaagggccsgsa	368	VPusCfsggcCfcUfUfuaauUfaAfagucgscsa	548	UGCGACUUUAAUUAAAGGGCCGU	728
AD-1615454	asasaug(Ahd)GfuAfGfCfucccacucsusa	369	VPusAfsgagUfgGfGfagcuAfcUfcauuususg	549	CAAAAUGAGUAGCUCCCACUCUC	729
AD-1615511	asuscca(Ghd)CfaGfAfAfcacuuucascsa	370	VPusGfsugaAfaGfUfguucUfgCfuggauscsu	550	AGAUCCAGCAGAACACUUUCACG	730
AD-1615540	csasacg(Ahd)GfcAfCfCfugaagugcsgsa	371	VPusCfsgcaCfuUfCfagguGfcUfcguugscsa	551	UGCAACGAGCACCUGAAGUGCGU	731
AD-1615561	gsasgca(Ahd)GfcGfCfAfucgccaacscsa	372	VPusGfsguuGfgCfGfaugcGfcUfugcuesasc	552	GUGAGCAAGCGCAUCGCCAACCU	732
AD-1615604	gscsuua(Uhd)CfgCfGfCfuguuggagsgsa	373	VPusCfscucCfaAfCfagcgCfgAfuaagcscsg	553	CGGCUUAUCGCGCUGUUGGAGGU	733
AD-1615631	cscsaga(Ahd)GfaAfGfAfugcaccgcsasa	374	VPusUfsgcgGfuGfCfaucuUfcUfucuggscsu	554	AGCCAGAAGAAGAUGCACCGCAA	734
AD-1615676	cscsaaa(Uhd)GfcAfGfCfuugagaacsgsa	375	VPusCfsguuCfuCfAfagcuGfcAfuuuggscsg	555	CGCCAAAUGCAGCUUGAGAACGU	735
AD-1615729	gscsauc(Ahd)AfaCfUfGfguguccauscsa	376	VPusGfsaugGfaCfAfccagUfuUfgaugcsusc	556	GAGCAUCAAACUGGUGUCCAUCG	736
AD-1615772	gsasacc(Uhd)GfaAfGfCfugauccugsgsa	377	VPusCfscagGfaUfCfagcuUfcAfgguucscsc	557	GGGAACCUGAAGCUGAUCCUGGG	737
AD-1615796	csasucu(Ghd)GfaCfCfCfugauccugscsa	378	VPusGfscagGfaUfCfagggUfcCfagaugsasg	558	CUCAUCUGGACCCUGAUCCUGCA	738
AD-1615820	csuscca(Uhd)CfuCfCfAfugcccaugsusa	379	VPusAfscauGfgGfCfauggAfgAfuggagsusa	559	UACUCCAUCUCCAUGCCCAUGUG	739
AD-1615843	gsasgga(Ghd)GfaGfGfAfugaggaggscsa	380	VPusGfsccuCfcUfCfauccUfcCfucucsgsu	560	ACGAGGAGGAGGAUGAGGAGGCC	740
AD-1615930	usgsugu(Chd)CfuGfAfCfugggacucsusa	381	VPusAfsgagUfcCfCfagucAfgGfacacasgsg	561	CCUGUGUCCUGACUGGGACUCUU	741
AD-1615964	cscscgu(Uhd)AfcCfAfAfugcgcgagsasa	382	VPusUfscucGfcGfCfauugGfuAfacgggscsu	562	AGCCCGUUACCAAUGCGCGAGAG	742
AD-1615991	csasgca(Ghd)GfcGfGfAfugacuggcsusa	383	VPusAfsgccAfgUfCfauccGfcCfugcugscsa	563	UGCAGCAGGCGGAUGACUGGCUG	743
AD-1616007	gsascga(Ghd)CfaCfUfCfugucaugascsa	384	VPusGfsucaUfgAfCfagagUfgCfucgucscsa	564	UGGACGAGCACUCUGUCAUGACC	744
AD-1616044	asasacu(Ghd)AfaCfCfCfgaagaaagscsa	385	VPusGfscuuUfcUfUfucgggUfuCfaguuusgsg	565	CCAAACUGAACCCGAAGAAAGCC	745
AD-1616087	asgsgca(Ahd)CfaUfGfGfugaagaagscsa	386	VPusGfscuuCfuUfCfaccaUfgUfugccusgsu	566	ACAGGCAACAUGGUGAAGAAGCG	746
AD-1616111	asgsagu(Uhd)CfaCfUfGfuggagaccsasa	387	VPusUfsgguCfuCfCfacagUfgAfacucusgsc	567	GCAGAGUUCACUGUGGAGACCAG	747
AD-1616149	asgsgug(Chd)UfgGfUfGfuacguggasgsa	388	VPusCfsuccAfcGfUfacacCfaGfcaccuscsu	568	AGAGGUGCUGGUGUACGUGGAGG	748

【表４－２】

AD-1616182	asasaag(Uhd)GfaCfCfGfccaauaacsgsa	389	VPusCfsguuAfuUfGfgcggUfcAfcuuuusgsc	569	GCAAAAGUGACCGCCAAUAACGA	749
AD-1616205	asgsaac(Chd)GfcAfCfCfuucuccgusesa	390	VPusGfsacgGfaGfAfaggguGfcGfguucususg	570	CAAGAACCGCACCUUCUCCGUCU	750
AD-1616222	csasuaa(Ghd)GfuUfAfCfugugcucususa	391	VPusAfsagaGfcAfCfaguaAfcCfuuaugsasg	571	CUCAUAAGGUUACUGUGCUCUUU	751
AD-1616245	usgsgcc(Ahd)GfcAfCfAfucgccaagsasa	392	VPusUfscuuGfgCfGfauguGfcUfggccasgsc	572	GCUGGCCAGCACAUCGCCAAGAG	752
AD-1616252	csgsagg(Uhd)GfuAfCfGfuggauaagsusa	393	VPusAfscuuAfuCfCfacguAfcAfccucgsasa	573	UUCGAGGUGUACGUGGAUAAGUC	753
AD-1616288	csasaag(Uhd)GfaCfAfGfcccaaggusesa	394	VPusGfsaccUfuGfGfgcugUfcAfcuuugscsu	574	AGCAAAGUGACAGCCCAAGGUCC	754
AD-1616313	usgsgca(Ahd)CfaUfCfGfccaacaagsasa	395	VPusUfscuuGfuUfGfgcgaUfgUfugccascsu	575	AGUGGCAACAUCGCCAACAAGAC	755
AD-1616334	csasccu(Ahd)CfuUfUfGfagaucuuusasa	396	VPusUfsaaaGfaUfCfucaaAfgUfaggugsgsu	576	ACCACCUACUUUGAGAUCUUUAC	756
AD-1616364	gsasggu(Chd)GfaGfGfUfugugauccsasa	397	VPusUfsggaUfcAfCfaaccUfcGfaccucsgsc	577	GCGAGGUCGAGGUUGUGAUCCAG	757
AD-1616386	ascsggu(Ahd)GfaGfCfCfucagcuggsasa	398	VPusUfsccaGfcUfGfaggcUfcUfaccgusgsc	578	GCACGGUAGAGCCUCAGCUGGAG	758
AD-1616399	asgscac(Ahd)UfaCfCfGfcugcagcusasa	399	VPusUfsagcUfgCfAfgcggUfaUfgugcusgsu	579	ACAGCACAUACCGCUGCAGCUAC	759
AD-1616471	uscsacu(Ghd)UfuGfGfCfcaagccugsusa	400	VPusAfscagGfcUfUfggccAfaCfagugascsa	580	UGUCACUGUUGGCCAAGCCUGUA	760
AD-1616531	gsascuu(Chd)AfaGfGfUfguacacaasasa	401	VPusUfsuugUfgUfAfcaccUfuGfaagucsasg	581	CUGACUUCAAGGUGUACACAAAG	761
AD-1616554	gsasagg(Uhd)CfaCfCfGfugaagggcscsa	402	VPusGfsgccCfuUfCfacggUfgAfccuucsasg	582	CUGAAGGUCACCGUGAAGGGCCC	762
AD-1616579	gsusgua(Uhd)GfgCfUfUfcgaguauusasa	403	VPusUfsaauAfcUfCfgaagCfcAfuacacsgsc	583	GCGUGUAUGGCUUCGAGUAUUAC	763
AD-1616593	gsasacc(Uhd)AfuAfUfCfgucaccauscsa	404	VPusGfsaugGfuGfAfcgauAfuAfgguucscsa	584	UGGAACCUAUAUCGUCACCAUCA	764
AD-1616613	asuscgg(Ghd)CfgCfAfGfucccuucgsasa	405	VPusUfscgaAfgGfGfacugCfgCfccgausgsu	585	ACAUCGGGCGCAGUCCCUUCGAA	765
AD-1616643	gsgscac(Chd)GfaGfUfGfuggcaaucsasa	406	VPusUfsgauUfgCfCfacacUfcGfgugccscsa	586	UGGGCACCGAGUGUGGCAAUCAG	766
AD-1616682	asgsuca(Ghd)CfaGfAfCfuuuguggusgsa	407	VPusCfsaccAfcAfAfagucUfgCfugacususg	587	CAAGUCAGCAGACUUUGUGGUGG	767
AD-1616707	csgscug(Ghd)GfcUfUfCfucgguggasasa	408	VPusUfsucaAfcCfGfaagaaGfcCfcagcgsusg	588	CACGCUGGGCUUCUCGGUGGAAG	768
AD-1616742	asasgau(Chd)GfaAfUfGfugacgacasasa	409	VPusUfsuguCfgUfCfacauUfcGfaucuusasg	589	CUAAGAUCGAAUGUGACGACAAG	769
AD-1616771	csusccu(Ghd)UfgAfUfGfugcgcuacsusa	410	VPusAfsguaGfcGfCfacauCfaCfaggagscsc	590	GGCUCCUGUGAUGUGCGCUACUG	770
AD-1616821	csusgug(Chd)AfaCfAfGfcgaagacasusa	411	VPusAfsuguCfuUfCfgcugUfuGfcacagscsa	591	UGCUGUGCAACAGCGAAGACAUC	771
AD-1616833	csusuca(Uhd)GfgCfUfGfacauccgusgsa	412	VPusCfsacgGfaUfGfucagCfcAfugaagsgsg	592	CCCUUCAUGGCUGACAUCCGUGA	772

【表４－３】

AD-1616852	cscscag(Ahd)CfaGf GfGfugaaggcascsa	413	VPusGfsugcCfuUfCfa cccUfgUfcugggsusg	593	CACCCAGACAGGGUGAA GGCACG	773
AD-1616911	asgscca(Ghd)CfaGf AfGfuucacagusgsa	414	VPusCfsacuGfuGfAfa cucUfgCfuggcususg	594	CAAGCCAGCAGAGUUCA CAGUGG	774
AD-1616934	gscscaa(Ghd)CfaCf GfGfuggcaaggscsa	415	VPusGfsccuUfgCfCfa ccgUfgCfuuggcsasu	595	AUGCCAAGCACGGUGGC AAGGCC	775
AD-1616950	gsuscca(Ghd)GfaCf AfAfugaaggcusgsa	416	VPusCfsagcCfuUfCfa uugUfcCfuggacsusu	596	AAGUCCAGGACAAUGAA GGCUGC	776
AD-1616972	usgsugg(Ahd)GfgCf GfUfuggucaagsgsa	417	VPusCfscuuGfaCfCfa acgCfcUfccacasgsg	597	CCUGUGGAGGCGUUGGU CAAGGA	777
AD-1616994	asascgg(Chd)AfaUf GfGfcacuuacasgsa	418	VPusCfsuguAfaGfUfg ccaUfuGfccguusgsu	598	ACAACGGCAAUGGCACU UACAGC	778
AD-1617041	gsasagc(Ahd)CfaCf AfGfccauggugsusa	419	VPusAfscacCfaUfGfg cugUfgUfgcuucsasc	599	GUGAAGCACACAGCCAU GGUGUC	779
AD-1617061	asascaa(Ghd)GfuCf AfAfaguauacgsgsa	420	VPusCfscguAfuAfCfu uugAfcCfuuguusgsg	600	CCAACAAGGUCAAAGUA UACGGC	780
AD-1617103	csusacu(Uhd)CfaCf UfGfuggacugcsgsa	421	VPusCfsgcaGfuCfCfa cagUfgAfaguagsgsu	601	ACCUACUUCACUGUGGA CUGCGC	781
AD-1617117	csgsuca(Ghd)CfaUf CfGfgcaucaagsusa	422	VPusAfscuuGfaUfGfc cgaUfgCfugacgsusc	602	GACGUCAGCAUCGGCAU CAAGUG	782
AD-1617127	gsasagc(Uhd)GfaCf AfUfcgacuucgsasa	423	VPusUfscgaAfgUfCfg augUfcAfgcuucsgsg	603	CCGAAGCUGACAUCGAC UUCGAC	783
AD-1617148	asuscau(Chd)CfgCf AfAfugacaaugsasa	424	VPusUfscauUfgUfCfa uugCfgGfaugausgsu	604	ACAUCAUCCGCAAUGAC AAUGAC	784
AD-1617169	ascscuu(Chd)AfcGf GfUfcaaguacascsa	425	VPusGfsuguAfcUfUfg accGfuGfaaggusgsu	605	ACACCUUCACGGUCAAG UACACG	785
AD-1617186	csascca(Uhd)UfaUf GfGfuccucuuusgsa	426	VPusCfsaaaGfaGfGfa ccaUfaAfuggugsusa	606	UACACCAUUAUGGUCCU CUUUGC	786
AD-1617219	gsusgga(Ghd)CfcCf UfCfucaugacgscsa	427	VPusGfscguCfaUfGfa gagGfgCfuccacscsu	607	AGGUGGAGCCCUCUCAU GACGCC	787
AD-1617268	usgsgug(Uhd)CfgAf GfCfuuggcaagscsa	428	VPusGfscuuGfcCfAfa gcuCfgAfcaccasgsu	608	ACUGGUGUCGAGCUUGG CAAGCC	788
AD-1617298	csascag(Uhd)AfaAf UfGfccaaagcusgsa	429	VPusCfsagcUfuUfGfg cauUfuAfcugugsasa	609	UUCACAGUAAAUGCCAA AGCUGC	789
AD-1617322	csasaag(Ghd)CfaAf GfCfuggacgucscsa	430	VPusGfsgacGfuCfCfa gcuUfgCfcuuugscsc	610	GGCAAAGGCAAGCUGGA CGUCCA	790
AD-1617343	gsusucu(Chd)AfgGf AfCfucaccaagsgsa	431	VPusCfscuuGfgUfGfa gucCfuGfagaacsusg	611	CAGUUCUCAGGACUCAC CAAGGG	791
AD-1617366	csasuca(Uhd)CfgAf CfCfaccaugacsasa	432	VPusUfsgucAfuGfGfu gguCfgAfugaugsusc	612	GACAUCAUCGACCACCA UGACAA	792
AD-1617387	csasccu(Ahd)CfaCf AfGfucaaguacsasa	433	VPusUfsguaCfuUfGfa cugUfgUfaggugsusu	613	AACACCUACACAGUCAA GUACAC	793
AD-1617429	asgsgcg(Uhd)CfaAf UfGfucacuuausgsa	434	VPusCfsauaAfgUfGfa cauUfgAfcgccusasc	614	GUAGGCGUCAAUGUCAC UUAUGG	794
AD-1617455	csusuuc(Uhd)CfaGf UfGfgcaguaucsusa	435	VPusAfsgauAfcUfGfc cacUfgAfgaaagsgsg	615	CCCUUUCUCAGUGGCAG UAUCUC	795
AD-1617486	cscsuca(Ghd)CfaAf GfAfucaaggugsusa	436	VPusAfscacCfuUfGfa ucuUfgCfugaggsusc	616	GACCUCAGCAAGAUCAA GGUGUC	796

【表４－４】

AD-1617520	asasggu(Ghd)GfaCfGfUfuggcaaagsasa	437	VPusUfscuuUfgCfCfaacgUfcCfaccuuscsu	617	AGAAGGUGGACGUUGGCAAAGAC	797
AD-1617545	asgsuuc(Ahd)CfaGfUfCfaaaucaaasgsa	438	VPusCfsuuuGfaUfUfugacUfgUfgaacuscsc	618	GGAGUUCACAGUCAAAUCAAAGG	798
AD-1617580	gsgscaa(Ahd)GfuGfGfCfauccaagasusa	439	VPusAfsucuUfgGfAfugccAfcUfuugccsusu	619	AAGGCAAAGUGGCAUCCAAGAUU	799
AD-1617612	usgsaca(Ahd)CfaGfUfGfuggugcgcsusa	440	VPusAfsgcgCfaCfCfacacUfgUfugucasgsc	620	GCUGACAACAGUGUGGUGCGCUU	800
AD-1617644	gsasggu(Ghd)AfcCfUfAfugacggcgsusa	441	VPusAfscgcCfgUfCfauagGfuCfaccucscsa	621	UGGAGGUGACCUAUGACGGCGUG	801
AD-1617657	ascscaa(Ghd)CfcUfAfGfcaaggugasasa	442	VPusUfsucaCfcUfUfgcuaGfgCfuuggusgsg	622	CCACCAAGCCUAGCAAGGUGAAG	802
AD-1617679	cscsgcu(Uhd)CfaCfCfAfucgacaccsasa	443	VPusUfsgguGfuCfGfauggUfgAfagcggsgsc	623	GCCCGCUUCACCAUCGACACCAA	803
AD-1617703	usgsagg(Chd)GfcAfGfCfucgagugcsusa	444	VPusAfsgcaCfuCfGfagcuGfcGfccucascsa	624	UGUGAGGCGCAGCUCGAGUGCUU	804
AD-1617717	asusggc(Ahd)CfaUfGfUfuccgugucscsa	445	VPusGfsgacAfcGfGfaacaUfgUfgccauscsc	625	GGAUGGCACAUGUUCCGUGUCCU	805
AD-1617743	csasaca(Uhd)CfaAfCfAfuccucuucsgsa	446	VPusCfsgaaGfaGfGfauguGfgAfuguugsusa	626	UACAACAUCAACAUCCUCUUCGC	806
AD-1617790	usgscuu(Uhd)GfaCfGfCfauccaaagsusa	447	VPusAfscuuUfgGfAfugcgUfcAfaagcasgsg	627	CCUGCUUUGACGCAUCCAAAGUC	807
AD-1617815	cscsaau(Uhd)CfcAfAfGfuggacugcsusa	448	VPusAfsgcaGfuCfCfacuuGfgAfauuggscsc	628	GGCCAAUUCCAAGUGGACUGCUC	808
AD-1617843	cscsauu(Ghd)AfgAfUfCfugcucggasgsa	449	VPusCfsuccGfaGfCfagauCfuCfaauggsusc	629	GACCAUUGAGAUCUGCUCGGAGG	809
AD-1617853	uscscgg(Chd)CfgAfGfGfuguacaucscsa	450	VPusGfsgauGfuAfCfaccuCfgGfccggasasg	630	CUUCCGGCCGAGGUGUACAUCCA	810
AD-1617875	gsascca(Chd)GfgUfGfAfuggcacgcsasa	451	VPusUfsgcgUfgCfCfaucaCfcGfugucscsu	631	AGGACCACGGUGAUGGCACGCAC	811
AD-1617899	usascac(Chd)GfuCfAfCfcaucaagusasa	452	VPusUfsacuUfgAfUfggugAfcGfguguasgsg	632	CCUACACCGUCACCAUCAAGUAC	812
AD-1617939	gscsggu(Ghd)GfaCfAfCfuuccggugsusa	453	VPusAfscacCfgGfAfagugUfcCfaccgcsasg	633	CUGCGGUGGACACUUCCGGUGUC	813
AD-1617981	gsasggg(Chd)CfaGfGfGfugucuuccsgsa	454	VPusCfsggaAfgAfCfacccUfgGfcccucsasa	634	UUGAGGGCCAGGGUGUCCUUCCGU	814
AD-1618006	cscsacc(Ahd)CfuGfAfCfaucagugusgsa	455	VPusCfsacaCfuGfAfacucAfgUfgguggscsc	635	GGCCACCACUGAGUUCAGUGUGG	815
AD-1618049	gsuscaa(Ghd)GfcCfCfAfcggcgccasasa	456	VPusUfsuggCfcAfCfacggGfcCfuugacsgsu	636	ACGUCAAGGCCCGUGUGGCCAAC	816
AD-1618052	csuscag(Ghd)CfaAfCfCfugacggagsasa	457	VPusUfscucCfgUfCfagguUfgCfcugagsgsg	637	CCCUCAGGCAACCUGACGGAGAC	817
AD-1618077	gsusuca(Ghd)GfaCfCfGfuggcgaugsgsa	458	VPusCfscauCfgCfCfacggUfcCfugaacsgsu	638	ACGUUCAGGACCGUGGCGAUGGC	818
AD-1618098	asusgua(Chd)AfaAfGfUfggaguacascsa	459	VPusGfsuguAfcUfCfcacuUfuGfuacausgsc	639	GCAUGUACAAAGUGGAGUACACG	819
AD-1618124	csgsagg(Ahd)GfgGfAfCfugcacuccsgsa	460	VPusCfsggaGfuGfCfagucCfcUfccucgsusa	640	UACGAGGAGGGACUGCACUCCGU	820

【表４－５】

AD-1618187	gscsauc(Chd)AfaAfGfUfggcaccacscsa	461	VPusGfsgugGfuGfCfcacuUfuGfgaugcscsu	641	AGGCAUCCAAAGUGGCACCACCA	821
AD-1618214	csasagu(Uhd)CfaCfUfGfuggagaccsasa	462	VPusUfsgguCfuCfCfacagUfgAfacuugsusu	642	GCAGAGUUCACUGUGGAGACCAG	822
AD-1618237	gsasugu(Chd)CfuGfCfAfuggauaacsasa	463	VPusUfsguuAfuCfCfaugcAfgGfacaucsusu	643	AAGAUGUCCUGCAUGGAUAACAA	823
AD-1618286	cscsuua(Uhd)GfaGfGfCfuggcaccusasa	464	VPusUfsaggUfgCfCfagccUfcAfuaaggsgsa	644	UCCCUUAUGAGGCUGGCACCUAC	824
AD-1618311	uscsaac(Ghd)UfcAfCfCfuaugguggcsca	465	VPusGfsccaCfcAfUfagguGfaCfguugasgsg	645	CCUCAACGUCACCUAUGGUGGCC	825
AD-1618342	asgsgca(Ghd)UfcCfUfUfucaaggucscsa	466	VPusGfsgacCfuUfGfaaagGfaCfugccusgsg	646	CCAGGCAGUCCUUUCAAGGUCCC	826
AD-1618364	gsusgca(Uhd)GfaUfGfUfgacagaugscsa	467	VPusGfscauCfuGfUfcacaUfcAfugcacsasg	647	CUGUGCAUGAUGUGACAGAUGCG	827
AD-1618404	cscscag(Ghd)CfaUfGfGfuucgugccsasa	468	VPusUfsggcAfcGfAfaccaUfgCfcugggscsu	648	AGCCCAGGCAUGGUUCGUGCCAA	828
AD-1618434	gsusccu(Uhd)CfcAfGfGfuggacacasasa	469	VPusUfsuguGfuCfCfaccuGfgAfaggacsusg	649	CAGUCCUUCCAGGUGGACACAAG	829
AD-1618456	gscsagg(Uhd)CfaAfAfGfugcaagggscsa	470	VPusGfscccUfuGfCfacuuUfgAfccugcsasa	650	UUGCAGGUCAAAGUGCAAGGGCC	830
AD-1618508	gsascaa(Chd)GfcUfGfAfuggcacccsasa	471	VPusUfsgggUfgCfCfaucaGfcGfuugucsusa	651	UAGACAACGCUGAUGGCACCCAG	831
AD-1618572	gsusacu(Ghd)UfaUfGfGfagaugaagsasa	472	VPusUfscuuCfaUfCfuccaUfaCfaguacsusg	652	CAGUACUGUAUGGAGAUGAAGAG	832
AD-1618601	ascsuca(Uhd)GfaUfGfCfCfagcaaggsusa	473	VPusAfsccuUfgCfUfggcaUfcAfugagusasg	653	CUACUCAUGAUGCCAGCAAGGUG	833
AD-1618645	gsgsagu(Uhd)CfaCfCfAfucgaugcasasa	474	VPusUfsugcAfuCfGfauggUfgAfacuccsasc	654	GUGGAGUUCACCAUCGAUGCAAA	834
AD-1618661	gsgsccu(Ghd)CfuGfGfCfuguccagasusa	475	VPusAfsucuGfgAfCfagccAfgCfaggccscsu	655	AGGGCCUGCUGGCUGUCCAGAUC	835
AD-1618706	asasgac(Ahd)CfaCfAfUfccaagacasasa	476	VPusUfsuguCfuUfGfgaugUfgUfgucuuscsu	656	AGAAGACACACAUCCAAGACAAC	836
AD-1618744	asgsugg(Chd)CfuAfCfGfugccagacsgsa	477	VPusCfsgucUfgGfCfacguAfgGfccacusgsu	657	ACAGUGGCCUACGUGCCAGACGU	837
AD-1618772	csgscua(Chd)AfcCfAfUfccucaucasasa	478	VPusUfsugaUfgAfGfgaugGfuGfuagcgsasc	658	GUCGCUACACCAUCCUCAUCAAG	838
AD-1618810	csascug(Uhd)CfaCfAfGfugucaaucsgsa	479	VPusCfsgauUfgAfCfacugUfgAfcagugscsa	659	UGCACUGUCACAGUGUCAAUCGG	839
AD-1618835	csascgg(Ghd)CfuAfGfUfgcuggcasusa	480	VPusAfsugcCfaGfCfaccuAfgCfccgugsasc	660	GUCACGGGCUAGGUGCUGGCAUC	840
AD-1618851	gsgsuga(Uhd)CfaCfUfGfuggacacusasa	481	VPusUfsaguGfuCfCfacagUfgAfucaccsgsu	661	ACGGUGAUCACUGUGGACACUAA	841
AD-1618886	gscsaaa(Ghd)UfgAfCfGfugcaccgusgsa	482	VPusCfsacgGfuGfCfacguCfaCfuuugcscsu	662	AGGCAAAGUGACGUGCACCGUGU	842
AD-1618910	csgsccu(Ghd)AfuGfGfCfucagaggusgsa	483	VPusCfsaccUfcUfGfagccAfuCfaggcgsusg	663	CACGCCUGAUGGCUCAGAGGUGG	843
AD-1618939	gsusggu(Ghd)GfaGfAfAfugaggacgsgsa	484	VPusCfscguCfcUfCfauucUfcCfaccacsgsu	664	ACGUGGUGGAGAAUGAGGACGGC	844

【表４－６】

AD-1618960	ascsuuu(Chd)GfaCfAfUfcuucuacascsa	485	VPusGfsuguAfgAfAfgaugUfcGfaaagusgsc	665	GCACUUUCGACAUCUUCUACACG	845
AD-1618979	csgsuca(Uhd)CfuGfUfGfugcgcuuusgsa	486	VPusCfsaaaGfcGfCfacacAfgAfugacgsusa	666	UACGUCAUCUGUGUGCGCUUUGG	846
AD-1619014	csascag(Uhd)AfcAfCfCfuacgcccasgsa	487	VPusCfsuggGfcGfUfagguGfuAfcugugsgsg	667	CCCACAGUACACCUACGCCCAGG	847
AD-1619034	usgsuca(Ahd)UfgGfGfCfuggaugugsasa	488	VPusUfscacAfuCfCfagccCfaUfugacascsc	668	GGUGUCAAUGGGCUGGAUGUGAC	848
AD-1619064	gscsccu(Uhd)UfgAfCfCfuugucaucscsa	489	VPusGfsgauGfaCfAfagguCfaAfagggcscsu	669	AGGCCCUUUGACCUUGUCAUCCC	849
AD-1619071	csasuca(Ahd)GfaAfGfGfgcgagaucsasa	490	VPusUfsgauCfuCfGfccuUfcUfugaugsgsu	670	ACCAUCAAGAAGGGCGAGAUCAC	850
AD-1619116	asuscac(Uhd)GfaCfAfAfcaaagacgsgsa	491	VPusCfscguCfuUfUfguugUfcAfgugausgsg	671	CCAUCACUGACAACAAAGACGGC	851
AD-1619178	gsascau(Chd)CfgCfUfAfugacaacasusa	492	VPusAfsuguUfgUfCfauagCfgGfaugucscsa	672	UGGACAUCCGCUAUGACAACAUG	852
AD-1619197	ususgca(Ghd)UfuCfUfAfuguggauusasa	493	VPusUfsaauCfcAfCfuagAfaCfugcaasgsg	673	CCUUGCAGUUCUAUGUGGAUUAC	853
AD-1619233	gsuscac(Uhd)GfcCfUfAfugggccugsgsa	494	VPusCfscagGfcCfCfuagGfcAfgugacsasu	674	AUGUCACUGCCUAUGGGCCUGGC	854
AD-1619262	usgsgag(Uhd)AfgUfGfAfacaagccusgsa	495	VPusCfsaggCfuUfGfucaCfuAfcuccasusg	675	CAUGGAGUAGUGAACAAGCCUGC	855
AD-1619296	asascac(Chd)AfaGfGfAfugcaggagsasa	496	VPusUfscucCfuGfCfuccUfuGfguguusgsa	676	UCAACACCAAGGAUGCAGGAGAG	856
AD-1619333	gscsaga(Ahd)AfuCfAfGfcugcacugsasa	497	VPusUfscagUfgCfAfgcugAfuUfucugcsusu	677	AAGCAGAAAUCAGCUGCACUGAC	857
AD-1619358	asgsgau(Ghd)GfgAfCfAfugcagcgusgsa	498	VPusCfsacgCfuGfCfaugucCfcCfauccusgsg	678	CCAGGAUGGGACAUGCAGCGUGU	858
AD-1619385	csusaca(Ghd)CfaUfUfCfuagucaagsusa	499	VPusAfscuuGfaCfUfagaaUfgCfuguagsusc	679	GACUACAGCAUUCUAGUCAAGUA	859
AD-1619434	usgsacg(Ahd)CfuCfCfAfugcguaugsusa	500	VPusAfscauAfcGfCfauggAfgUfcgucascsc	680	GGUGACGACUCCAUGCGUAUGUC	860
AD-1619455	cscsacc(Uhd)AfaAfGfGfucggcucusgsa	501	VPusCfsagaGfcCfGfaccuUfuAfgguggsgsa	681	UCCCACCUAAAGGUCGGCUCUGC	861
AD-1619470	uscsaac(Ahd)UfcUfCfAfgagacggasusa	502	VPusAfsuccGfuCfUfcugaGfaUfguugasusg	682	CAUCAACAUCUCAGAGACGGAUC	862
AD-1619529	asasgcg(Ghd)CfuGfCfUfuaauggccsasa	503	VPusUfsggcCfaUfUfacgcAfgCfcgcuuscsa	683	UGAAGCGGCUGCGUAAUGGCCAC	863
AD-1619540	ususcau(Uhd)CfgUfGfCfccaaggagsasa	504	VPusUfscucCfuUfGfggcaCfgAfaugaasasu	684	AUUUCAUUCGUGCCCAAGGAGAC	864
AD-1619549	csasccu(Ghd)GfuGfCfAfugugaagasasa	505	VPusUfsucuUfcAfCfaugcAfcCfaggugscsu	685	AGCACCUGGUGCAUGUGAAGAAA	865
AD-1619586	usgsauc(Ahd)GfcCfAfGfucggaaaususa	506	VPusAfsauuUfcCfGfacugGfcUfgaucascsc	686	GGUGAUCAGCCAGUCGGAAAUUG	866
AD-1619601	gsusguu(Chd)GfgGfUfCfucuggucasgsa	507	VPusCfsugaCfcAfGfagacCfcGfaacacsgsa	687	UCGUGUUCGGGUCUCUGGUCAGG	867
AD-1619651	gscsaga(Ghd)UfuUfAfUfcauugauascsa	508	VPusGfsuauCfaAfUfgauaAfaCfucugcsasg	688	CUGCAGAGUUUAUCAUUGAUACC	868

【表４－７】

AD-1619689	usgsggc(Uhd)CfaGfCfCfuguccauusgsa	509	VPusCfsaauGfgAfCfaggcUfgAfgcccascsc	689	GGUGGGCUCAGCCUGUCCAUUGA	869
AD-1619699	csasagg(Uhd)GfgAfCfAfucaacacasgsa	510	VPusCfsuguGfuUfGfauguCfcAfccuugscsu	690	AGCAAGGUGGACAUCAACACAGA	870
AD-1619735	gsascgu(Ghd)CfaGfGfGfucaccuacsusa	511	VPusAfsguaGfgUfGfacccUfgCfacgucscsc	691	GGGACGUGCAGGGUCACCUACUG	871
AD-1619751	csasacu(Ahd)CfaUfCfAfucaacaucsasa	512	VPusUfsgauGfuUfGfaugaUfgUfaguugscsc	692	GGCAACUACAUCAUCAACAUCAA	872
AD-1619849	gsusugg(Uhd)AfgUfCfAfuugugaccsusa	513	VPusAfsgguCfaCfAfaugaCfuAfccaacsgsu	693	ACGUUGGUAGUCAUUGUGACCUC	873
AD-1619879	asusccc(Uhd)GfaAfAfUfuagcauccsasa	514	VPusUfsggaUfgCfUfaauuUfcAfgggaususu	694	AAAUCCCUGAAAUUAGCAUCCAG	874
AD-1619936	ascscca(Uhd)GfaGfGfCfcgagaucgsusa	515	VPusAfscgaUfcUfCfggccUfcAfugggcscsu	695	AGACCCAUGAGGCCGAGAUCGUG	875
AD-1619946	asgsaac(Chd)AfcAfCfCfuacugcauscsa	516	VPusGfsaugCfaGfUfagguGfuGfguucuscsc	696	GGAGAACCACACCUACUGCAUCC	876
AD-1619969	ususugu(Uhd)CfcCfGfCfugagauggsgsa	517	VPusCfsccaUfcUfCfagcgGfgAfacaaasgsc	697	GCUUUGUUCCCGCUGAGAUGGGC	877
AD-1619993	csascac(Ahd)GfuCfAfGfcgugaagusasa	518	VPusUfsacuUfcAfCfgcugAfcUfgugugsusg	698	CACACACAGUCAGCGUGAAGUAC	878
AD-1620033	csusgga(Ghd)AfgAfGfCfugaagcugsgsa	519	VPusCfscagCfuUfCfagcuCfuCfuccagsgsc	699	GCCUGGAGAGAGCUGAAGCUGGA	879
AD-1620060	gscscga(Ahd)UfuCfAfGfuaucuggascsa	520	VPusGfsuccAfgAfUfacugAfaUfucggcsusg	700	CAGCCGAAUUCAGUAUCUGGACC	880
AD-1620113	usgsaga(Uhd)CfuCfUfUfuugaggaescsa	521	VPusGfsgucCfuCfAfaaagAfgAfucucasgsc	701	GCUGAGAUCUCUUUUGAGGACCG	881
AD-1620150	gsgsugu(Ghd)GfcUfUfAfuguggucccsasa	522	VPusUfsggaCfcAfCfauaaGfcCfacaccsasc	702	GUGGUGUGGCUUAUGUGGUCCAG	882
AD-1620177	gsgsuga(Chd)UfaCfGfAfagucucagsusa	523	VPusAfscugAfgAfCfuucgUfaGfucaccsusg	703	CAGGUGACUACGAAGUCUCAGUC	883
AD-1620198	asasguu(Chd)AfaCfGfAfggaacacasusa	524	VPusAfsuguGfuUfCfcucgUfuGfaacuusgsa	704	UCAAGUUCAACGAGGAACACAUU	884
AD-1620211	ususcgu(Ghd)GfuGfCfCfuguggcuuscsa	525	VPusGfsaagCfcAfCfaggcAfcCfacgaasgsg	705	CCUUCGUGGUGCCUGUGGCUUCU	885
AD-1620244	usgsuuu(Chd)UfaGfCfCfuucaggagsusa	526	VPusAfscucCfuGfAfaggcUfaGfaaacasgsu	706	ACUGUUUCUAGCCUUCAGGAGUC	886
AD-1620279	ascscag(Chd)CfaGfCfCfucuuuugcsasa	527	VPusUfsgcaAfaAfGfaggcUfgGfcuggususg	707	CAACCAGCCAGCCUCUUUUGCAG	887
AD-1620330	ascsaga(Ahd)AfuUfGfGfucaAfuUfucugusgsa	528	VPusUfsuauCfuUfGfgucaAfuUfucugusgsa	708	UCACAGAAAUUGACCAAGAUAAG	888
AD-1620352	asusgcu(Ghd)UfgCfGfCfuucaucccsusa	529	VPusAfsgggAfuGfAfagcgCfaCfagcausasc	709	GUAUGCUGUGCGCUUCAUCCCUC	889
AD-1620389	cscsuga(Uhd)UfgAfCfGfucaaguucsasa	530	VPusUfsgaaCfuUfGfacguCfaAfucaggsusa	710	UACCUGAUUGACGUCAAGUUCAA	890
AD-1620410	csgsgca(Chd)CfcAfCfAfucccuggasasa	531	VPusUfsuccAfgGfGfauguGfgGfugccgsusu	711	AACGGCACCCACAUCCCUGGAAG	891
AD-1620426	usgsgug(Uhd)CfuGfCfUfuacggagcsasa	532	VPusUfsgcuCfcGfUfaagcAfgAfcaccasasg	712	CUUGGUGUCUGCUUACGGAGCAG	892

【表４－８】

AD-1620449	csusgga(Ahd)GfgCfGfGfugucacagsgsa	533	VPusCfscugUfgAfCfaccgCfcUfuccagsasc	713	GUCUGGAAGGCGGUGUCACAGGG	893
AD-1620475	asgscug(Ahd)GfuUfCfGfucgugaacsasa	534	VPusUfsguuCfaCfGfacgaAfcUfcagcusgsg	714	CCAGCUGAGUUCGUCGUGAACAC	894
AD-1620525	asgsgug(Ahd)AfgAfUfGfgauugccasgsa	535	VPusCfsuggCfaAfUfccauCfuUfcaccususg	715	CAAGGUGAAGAUGGAUUGCCAGG	895
AD-1620574	usasccu(Chd)AfuCfUfCfcaucaagusasa	536	VPusUfsacuUfgAfUfggagAfuGfagguasgsc	716	GCUACCUCAUCUCCAUCAAGUAC	896
AD-1620616	gsascau(Chd)AfuCfAfGfuguuuguasgsa	537	VPusCfsuacAfaAfCfacugAfuGfaugucsusc	717	GAGACAUCAUCAGUGUUGUAGA	897
AD-1620707	uscsaca(Ghd)UfaGfAfCfugcagcaasasa	538	VPusUfsuugCfuGfCfagucUfaCfugugasasg	718	CUUCACAGUAGACUGCAGCAAAG	898
AD-1620731	gscsaac(Ahd)AfcAfUfGfcugcuggusgsa	539	VPusCfsaccAfgCfAfgcauGfuUfguugcscsu	719	AGGCAACAACAUGCUGCUGGUGG	899
AD-1620737	csgsagg(Ahd)GfaUfCfCfuggugaagscsa	540	VPusGfscuuCfaCfCfaggaUfcUfccucgscsa	720	UGCGAGGAGAUCCUGGUGAAGCA	900
AD-1620767	gscsucu(Ahd)CfaGfCfGfuguccuacscsa	541	VPusGfsguaGfgAfCfacgcUfgUfagagcscsg	721	CGGCUCUACAGCGUGUCCUACCU	901
AD-1620787	gsusaca(Chd)AfcUfGfGfuggucaaasusa	542	VPusAfsuuuGfaCfCfaccaGfuGfuguacsusc	722	GAGUACACACUGGUGGUCAAAUG	902
AD-1620837	cscsucu(Chd)GfgCfUfUfucacuuggsgsa	543	VPusCfsccaAfgUfGfaaagCfcGfagaggsusc	723	GACCUCUCGGCUUUCACUUGGGC	903
AD-1620879	csusugu(Chd)UfuCfUfGfugguucugsgsa	544	VPusCfscagAfaCfCfaaagAfaGfacaagscsa	724	UGCUUGUCUUCUUUGGUUCUGGG	904
AD-1620891	gsusaca(Chd)AfaCfCfAfcccacuagsusa	545	VPusAfscuaGfuGfGfguggUfuGfuguacsasg	725	CUGUACACAACCACCCACUAGUU	905
AD-1620927	gsasgga(Ahd)UfaAfAfGfuuuugcuuscsa	546	VPusGfsaagCfaAfAfacuuUfaUfuccucsusu	726	AAGAGGAAUAAAGUUUUGCUUCC	906

【表５－１】

表５．ヒトＦＬＮＡ　ｄｓＲＮＡ剤の未修飾のセンス鎖配列およびアンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5’～3’	配列番号：	NM_001110556.2での範囲	アンチセンス配列 5’～3’	配列番号：	NM_001110556.2での範囲
AD-1615428.1	GCCUGCGACUUUAAUUAAAGA	907	171-191	UCUUUAAUUAAAGUCGCAGGCAC	967	169-191
AD-1615430.1	CUGCGACUUUAAUUAAAGGGA	908	173-193	UCCCUUUAAUUAAAGUCGCAGGC	968	171-193
AD-1615511.2	AUCCAGCAGAACACUUUCACA	909	375-395	UGUGAAAGUGUUCUGCUGGAUCU	969	373-395
AD-1615673.1	CCGCCAAAUGCAGCUUGAGAA	910	542-562	UUCUCAAGCUGCAUUUGGCGGAA	970	540-562
AD-1616328.1	CAAGACCACCUACUUUGAGAA	911	1442-1462	UUCUCAAAGUAGGUGGUCUUGUU	971	1440-1462
AD-1616335.1	ACCUACUUUGAGAUCUUUACA	912	1449-1469	UGUAAAGAUCUCAAAGUAGGUGG	972	1447-1469
AD-1616533.1	CUUCAAGGUGUACACAAAGGA	913	1751-1771	UCCUUUGUGUACACCUUGAAGUC	973	1749-1771
AD-1616534.1	UUCAAGGUGUACACAAAGGGA	914	1752-1772	UCCCUUUGUGUACACCUUGAAGU	974	1750-1772
AD-1616535.1	UCAAGGUGUACACAAAGGGCA	915	1753-1773	UGCCCUUUGUGUACACCUUGAAG	975	1751-1773
AD-1616579.2	GUGUAUGGCUUCGAGUAUUAA	916	1854-1874	UUAAUACUCGAAGCCAUACACGC	976	1852-1874
AD-1616580.1	UGUAUGGCUUCGAGUAUUACA	917	1855-1875	UGUAAUACUCGAAGCCAUACACG	977	1853-1875
AD-1616581.1	GUAUGGCUUCGAGUAUUACCA	918	1856-1876	UGGUAAUACUCGAAGCCAUACAC	978	1854-1876
AD-1617149.1	UCAUCCGCAAUGACAAUGACA	919	2722-2742	UGUCAUUGUCAUUGCGGAUGAUG	979	2720-2742
AD-1617157.1	AAUGACAAUGACACCUUCACA	920	2730-2750	UGUGAAGGUGUCAUUGUCAUUGC	980	2728-2750
AD-1617429.2	AGGCGUCAAUGUCACUUAUGA	921	3080-3100	UCAUAAGUGACAUUGACGCCUAC	981	3078-3100
AD-1617430.1	GGCGUCAAUGUCACUUAUGGA	922	3081-3101	UCCAUAAGUGACAUUGACGCCUA	982	3079-3101
AD-1617431.1	GCGUCAAUGUCACUUAUGGAA	923	3082-3102	UUCCAUAAGUGACAUUGACGCCU	983	3080-3102
AD-1617432.1	CGUCAAUGUCACUUAUGGAGA	924	3083-3103	UCUCCAUAAGUGACAUUGACGCC	984	3081-3103
AD-1617433.1	GUCAAUGUCACUUAUGGAGGA	925	3084-3104	UCCUCCAUAAGUGACAUUGACGC	985	3082-3104
AD-1617543.1	GGAGUUCACAGUCAAAUCAAA	926	3212-3232	UUUGAUUUGACUGUGAACUCCUG	986	3210-3232
AD-1617548.1	UCACAGUCAAAUCAAAGGGUA	927	3217-3237	UACCCUUUGAUUUGACUGUGAAC	987	3215-3237
AD-1617664.1	CUAGCAAGGUGAAGGCGUUUA	928	3445-3465	UAAACGCCUUCACCUUGCUAGGC	988	3443-3465

【表５－２】

AD-1617665.1	UAGCAAGGUGAAGGCGUUUGA	929	3446-3466	UCAAACGCCUUCACCUUGCUAGG	989	3444-3466
AD-1617666.1	AGCAAGGUGAAGGCGUUUGGA	930	3447-3467	UCCAAACGCCUUCACCUUGCUAG	990	3445-3467
AD-1618008.1	ACCACUGAGUUCAGUGUGGAA	931	4068-4088	UUCCACACUGAACUCAGUGGUGG	991	4066-4088
AD-1618812.1	CUGUCACAGUGUCAAUCGGAA	932	5182-5202	UUCCGAUUGACACUGUGACAGUG	992	5180-5202
AD-1618813.1	UGUCACAGUGUCAAUCGGAGA	933	5183-5203	UCUCCGAUUGACACUGUGACAGU	993	5181-5203
AD-1619344.1	CUGCACUGACAACCAGGAUGA	934	5978-5998	UCAUCCUGGUUGUCAGUGCAGCU	994	5976-5998
AD-1619393.1	UUCUAGUCAAGUACAAUGAAA	935	6046-6066	UUUCAUUGUACUUGACUAGAAUG	995	6044-6066
AD-1619642.1	UUUGAGCCUGCAGAGUUUAUA	936	6432-6452	UAUAAACUCUGCAGGCUCAAAGG	996	6430-6452
AD-1619755.1	UACAUCAUCAACAUCAAGUUA	937	6585-6605	UAACUUGAUGUUGAUGAUGUAGU	997	6583-6605
AD-1619756.1	ACAUCAUCAACAUCAAGUUUA	938	6586-6606	UAAACUUGAUGUUGAUGAUGUAG	998	6584-6606
AD-1619757.1	CAUCAUCAACAUCAAGUUUGA	939	6587-6607	UCAAACUUGAUGUUGAUGAUGUA	999	6585-6607
AD-1620104.1	CAGCAAGGCUGAGAUCUCUUA	940	7079-7099	UAAGAGAUCUCAGCCUUGCUGGG	1000	7077-7099
AD-1620186.1	GAAGUCUCAGUCAAGUUCAAA	941	7161-7181	UUUGAACUUGACUGAGACUUCGU	1001	7159-7181
AD-1620188.1	AGUCUCAGUCAAGUUCAACGA	942	7163-7183	UCGUUGAACUUGACUGAGACUUC	1002	7161-7183
AD-1620190.1	UCUCAGUCAAGUUCAACGAGA	943	7165-7185	UCUCGUUGAACUUGACUGAGACU	1003	7163-7185
AD-1620191.1	CUCAGUCAAGUUCAACGAGGA	944	7166-7186	UCCUCGUUGAACUUGACUGAGAC	1004	7164-7186
AD-1620320.1	GUGCUAUGUCACAGAAAUUGA	945	7376-7396	UCAAUUUCUGUGACAUAGCACUC	1005	7374-7396
AD-1620321.1	UGCUAUGUCACAGAAAUUGAA	946	7377-7397	UUCAAUUUCUGUGACAUAGCACU	1006	7375-7397
AD-1620322.1	GCUAUGUCACAGAAAUUGACA	947	7378-7398	UGUCAAUUUCUGUGACAUAGCAC	1007	7376-7398
AD-1620334.1	AAAUUGACCAAGAUAAGUAUA	948	7390-7410	UAUACUUAUCUUGGUCAAUUUCU	1008	7388-7410
AD-1620335.1	AAUUGACCAAGAUAAGUAUGA	949	7391-7411	UCAUACUUAUCUUGGUCAAUUUC	1009	7389-7411
AD-1620336.1	AUUGACCAAGAUAAGUAUGCA	950	7392-7412	UGCAUACUUAUCUUGGUCAAUUU	1010	7390-7412
AD-1620337.1	UUGACCAAGAUAAGUAUGCUA	951	7393-7413	UAGCAUACUUAUCUUGGUCAAUU	1011	7391-7413
AD-1620338.1	UGACCAAGAUAAGUAUGCUGA	952	7394-7414	UCAGCAUACUUAUCUUGGUCAAU	1012	7392-7414

【表５－３】

AD-1620342.1	CAAGAUAAGUAUGCUGUGCGA	953	7398-7418	UCGCACAGCAUACUUAUCUUGGU	1013	7396-7418
AD-1620379.1	AUGGCGUUUACCUGAUUGACA	954	7435-7455	UGUCAAUCAGGUAAACGCCAUUC	1014	7433-7455
AD-1620380.1	UGGCGUUUACCUGAUUGACGA	955	7436-7456	UCGUCAAUCAGGUAAACGCCAUU	1015	7434-7456
AD-1620381.1	GGCGUUUACCUGAUUGACGUA	956	7437-7457	UACGUCAAUCAGGUAAACGCCAU	1016	7435-7457
AD-1620390.1	CUGAUUGACGUCAAGUUCAAA	957	7446-7466	UUUGAACUUGACGUCAAUCAGGU	1017	7444-7466
AD-1620522.1	CCAAGGUGAAGAUGGAUUGCA	958	7654-7674	UGCAAUCCAUCUUCACCUUGGAG	1018	7652-7674
AD-1620523.1	CAAGGUGAAGAUGGAUUGCCA	959	7655-7675	UGGCAAUCCAUCUUCACCUUGGA	1019	7653-7675
AD-1620525.2	AGGUGAAGAUGGAUUGCCAGA	960	7657-7677	UCUGGCAAUCCAUCUUCACCUUG	1020	7655-7677
AD-1620572.1	GCUACCUCAUCUCCAUCAAGA	961	7726-7746	UCUUGAUGGAGAUGAGGUAGCUG	1021	7724-7746
AD-1620879.2	CUUGUCUUCUUUGGUUCUGGA	962	8404-8424	UCCAGAACCAAAGAAGACAAGCA	1022	8402-8424
AD-1620918.1	UCCAGCCAAGAGGAAUAAAGA	963	8474-8494	UCUUUAUUCCUCUUGGCUGGAGA	1023	8472-8494
AD-1620919.1	CCAGCCAAGAGGAAUAAAGUA	964	8475-8495	UACUUUAUUCCUCUUGGCUGGAG	1024	8473-8495
AD-1620920.1	CAGCCAAGAGGAAUAAAGUUA	965	8476-8496	UAACUUUAUUCCUCUUGGCUGGA	1025	8474-8496
AD-1620921.1	AGCCAAGAGGAAUAAAGUUUA	966	8477-8497	UAAACUUUAUUCCUCUUGGCUGG	1026	8475-8497

【表６－１】

表6．ヒトＦＬＮＡ　ｄｓＲＮＡ剤の修飾センス鎖配列および修飾アンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5’～3’	配列番号:	アンチセンス配列 5’～3’	配列番号:	mRNA標的配列 5’～3’	配列番号:
AD-1615428.1	gscscug(Chd)GfaCfUfUfuaauuaaasgsa	1027	VPusCfsuuuAfaUfUfaaagUfcGfcaggcsasc	1087	GUGCCUGCGACUUUAAUUAAAGG	1147
AD-1615430.1	csusgcg(Ahd)CfuUfUfAfauuaaaggsgsa	1028	VPusCfsccuUfuAfAfuuaaAfgUfcgcagsgsc	1088	GCCUGCGACUUUAAUUAAAGGGC	1148
AD-1615511.2	asuscca(Ghd)CfaGfAfAfcacuuucascsa	1029	VPusGfsugaAfaGfUfguucUfgCfuggauscsu	1089	AGAUCCAGCAGAACACUUUCACG	1149
AD-1615673.1	cscsgcc(Ahd)AfaUfGfCfagcuugagsasa	1030	VPusUfscucAfaGfCfugcaUfuUfggcggsasa	1090	UUCCGCCAAAUGCAGCUUGAGAA	1150
AD-1616328.1	csasaga(Chd)CfaCfCfUfacuuugagsasa	1031	VPusUfscucAfaAfGfuaggUfgGfucuugsusu	1091	AACAAGACCACCUACUUUGAGAU	1151
AD-1616335.1	ascscua(Chd)UfuUfGfAfgaucuuuascsa	1032	VPusGfsuaaAfgAfUfcucaAfaGfuaggusgsg	1092	CCACCUACUUUGAGAUCUUUACG	1152
AD-1616533.1	csusuca(Ahd)GfgUfGfUfacacaaagsgsa	1033	VPusCfscuuUfgUfGfuacaCfcUfugaagsusc	1093	GACUUCAAGGUGUACACAAAGGG	1153
AD-1616534.1	ususcaa(Ghd)GfuGfUfGfAfcacaaaggsgsa	1034	VPusCfsccuUfuGfUfGfuacAfcCfuugaasgsu	1094	ACUUCAAGGUGUACACAAAGGGC	1154
AD-1616535.1	uscsaag(Ghd)UfgUfAfCfacaaagggscsa	1035	VPusGfscccUfuUfGfUfguaCfaCfcuugasasg	1095	CUUCAAGGUGUACACAAAGGGCG	1155
AD-1616579.2	gsusgua(Uhd)GfgCfUfUfcgaguauusasa	1036	VPusUfsaauAfcUfCfGfaagCfcAfuacacsgsc	1096	GCGUGUAUGGCUUCGAGUAUUAC	1156
AD-1616580.1	usgsuau(Ghd)GfcUfUfCfgaguauuascsa	1037	VPusGfsuaaUfaCfUfCfgaaGfcCfauacascsg	1097	CGUGUAUGGCUUCGAGUAUUACC	1157
AD-1616581.1	gsusaug(Ghd)CfuUfCfGfaguauuacscsa	1038	VPusGfsguaAfuAfCfUfcgaAfgCfcauacsasc	1098	GUGUAUGGCUUCGAGUAUUACCC	1158
AD-1617149.1	uscsauc(Chd)GfcAfAfUfgacaaugascsa	1039	VPusGfsucaUfuGfUfCfauuGfcGfgaugasusg	1099	CAUCAUCCGCAAUGACAAUGACA	1159
AD-1617157.1	asasuga(Chd)AfaUfGfAfcaccuucascsa	1040	VPusGfsugaAfgGfUfGfucaUfuGfucauusgsc	1100	GCAAUGACAAUGACACCUUCACG	1160
AD-1617429.2	asgsgcg(Uhd)CfaAfUfGfucacuuausgsa	1041	VPusCfsauaAfgUfGfAfcauUfgAfcgccusasc	1101	GUAGGCGUCAAUGUCACUUAUGG	1161
AD-1617430.1	gsgscgu(Chd)AfaUfGfUfcacuuaugsgsa	1042	VPusCfscauAfaGfUfGfacaUfuGfacgccsusa	1102	UAGGCGUCAAUGUCACUUAUGGA	1162
AD-1617431.1	gscsguc(Ahd)AfuGfUfCfacuuaauggsasa	1043	VPusUfsccaUfaAfGfUfgacAfuUfgacgcscsu	1103	AGGCGUCAAUGUCACUUAUGGAG	1163
AD-1617432.1	csgsuca(Ahd)UfgUfCfAfcuuaauggasgsa	1044	VPusCfsuccAfuAfAfGfugaCfaUfugacgscsc	1104	GGCGUCAAUGUCACUUAUGGAGG	1164
AD-1617433.1	gsuscaa(Uhd)GfuCfAfCfuuauggagsgsa	1045	VPusCfscucCfaUfAfAfgugAfcAfuugacsgsc	1105	GCGUCAAUGUCACUUAUGGAGGG	1165
AD-1617543.1	gsgsagu(Uhd)CfaCfAfGfucaaaucasasa	1046	VPusUfsugaUfuUfGfAfcugUfgAfacuccsusg	1106	CAGGAGUUCACAGUCAAAUCAAA	1166
AD-1617548.1	uscsaca(Ghd)UfcAfAfAfucaaagggsusa	1047	VPusAfscccUfuUfGfAfuuuGfaCfugugasasc	1107	GUUCACAGUCAAAUCAAAGGGUG	1167
AD-1617664.1	csusagc(Ahd)AfgGfUfGfaaggcguususa	1048	VPusAfsaacGfcCfUfUfcacCfuUfgcuagsgsc	1108	GCCUAGCAAGGUGAAGGCGUUUG	1168

【表６－２】

AD-1617665.1	usasgca(Ahd)GfgUfGfAfaggcguuusgsa	1049	VPusCfsaaaCfgCfCfucaCfcUfugcuasgsg	1109	CCUAGCAAGGUGAAGGCGUUUGG	1169
AD-1617666.1	asgscaa(Ghd)GfuGfAfAfggcguuugsgsa	1050	VPusCfscaaAfcGfCfcuucAfcCfuugcusasg	1110	CUAGCAAGGUGAAGGCGUUUGGG	1170
AD-1618008.1	ascscac(Uhd)GfaGfUfUfcaguguggsasa	1051	VPusUfsccaCfaCfUfgaacUfcAfguggusgsg	1111	CCACCACUGAGUUCAGUGUGGAC	1171
AD-1618812.1	csusguc(Ahd)CfaGfUfGfucaaucggsasa	1052	VPusUfsccgAfuUfGfacacUfgUfgacagsusg	1112	CACUGUCACAGUGUCAAUCGGAG	1172
AD-1618813.1	usgsuca(Chd)AfgUfGfUfcaaucggasgsa	1053	VPusCfsuccGfaUfUfgacaCfuGfugacasgsu	1113	ACUGUCACAGUGUCAAUCGGAGG	1173
AD-1619344.1	csusgca(Chd)UfgAfCfAfaccaggausgsa	1054	VPusCfsaucCfuGfGfuuguCfaGfugcagscsu	1114	AGCUGCACUGACAACCAGGAUGG	1174
AD-1619393.1	ususcua(Ghd)UfcAfAfGfuacaaugasasa	1055	VPusUfsucaUfuGfUfacuuGfaCfuagaasusg	1115	CAUUCUAGUCAAGUACAAUGAAC	1175
AD-1619642.1	ususuga(Ghd)CfcUfGfAfcfagaguuuasusa	1056	VPusAfsuaaAfcUfCfugcaGfgCfucaaasgsg	1116	CCUUUGAGCCUGCAGAGUUUAUC	1176
AD-1619755.1	usascau(Chd)AfuCfAfAfcaucaagususa	1057	VPusAfsacuUfgAfUfguugAfuGfauguasgsu	1117	ACUACAUCAUCAACAUCAAGUUU	1177
AD-1619756.1	ascsauc(Ahd)UfcAfAfCfaucaaguususa	1058	VPusAfsaacUfuGfAfuguuGfaUfgaugusasg	1118	CUACAUCAUCAACAUCAAGUUUG	1178
AD-1619757.1	csasuca(Uhd)CfaAfCfUfucaaguuusgsa	1059	VPusCfsaaaCfuUfGfauguUfgAfugaugsusa	1119	UACAUCAUCAACAUCAAGUUUGC	1179
AD-1620104.1	csasgca(Ahd)GfgCfUfGfagaucucususa	1060	VPusAfsagaGfaUfCfucagCfcUfugcugsgsg	1120	CCCAGCAAGGCUGAGAUCUCUUU	1180
AD-1620186.1	gsasagu(Chd)UfcAfGfUfcaaguucasasa	1061	VPusUfsugaAfcUfUfgacuGfaGfacuucsgsu	1121	ACGAAGUCUCAGUCAAGUUCAAC	1181
AD-1620188.1	asgsucu(Chd)AfgUfCfUfcaaguucaacsgsa	1062	VPusCfsguuGfaAfCfugaCfuGfagacususc	1122	GAAGUCUCAGUCAAGUUCAACGA	1182
AD-1620190.1	uscsuca(Ghd)UfcAfAfCfucaacgasgsa	1063	VPusCfsucgUfuGfAfacuuGfaCfugagascsu	1123	AGUCUCAGUCAAGUUCAACGAGG	1183
AD-1620191.1	csuscag(Uhd)CfaAfGfUfucaacgagsgsa	1064	VPusCfscucGfuUfGfaacuUfgAfcugagsasc	1124	GUCUCAGUCAAGUUCAACGAGGA	1184
AD-1620320.1	gsusgcu(Ahd)UfgUfCfAfucagaaauusgsa	1065	VPusCfsaauUfuCfUfgugaCfaUfagcacsusc	1125	GAGUGCUAUGUCACAGAAAUUGA	1185
AD-1620321.1	usgscua(Uhd)GfuCfAfCfucagaaauugsasa	1066	VPusUfscaaUfuUfCfugugAfcAfuagcascsu	1126	AGUGCUAUGUCACAGAAAUUGAC	1186
AD-1620322.1	gscsuau(Ghd)UfcAfCfAfucagaaauugascsa	1067	VPusGfsucaAfuUfUfcuguGfaCfauagcsasc	1127	GUGCUAUGUCACAGAAAUUGACC	1187
AD-1620334.1	asasauu(Ghd)AfcCfAfUfucagauaaguasusa	1068	VPusAfsuacUfuAfUfcuugGfuCfaauuuscsu	1128	AGAAAUUGACCAAGAUAAGUAUG	1188
AD-1620335.1	asasuug(Ahd)CfcAfAfUfucagauaaguausgsa	1069	VPusCfsauaCfuUfAfucuuGfgUfcaauususc	1129	GAAAUUGACCAAGAUAAGUAUGC	1189
AD-1620336.1	asusuga(Chd)CfaAfGfUfucagauaaguausgsa	1070	VPusGfscauAfcUfUfucuuGfgUfcaaususu	1130	AAAUUGACCAAGAUAAGUAUGCU	1190
AD-1620337.1	ususgac(Chd)AfaGfAfUfucagauaaguausgsa	1071	VPusAfsgcaUfaCfUfuaucUfuGfgucaasusu	1131	AAUUGACCAAGAUAAGUAUGCUG	1191
AD-1620338.1	usgsacc(Ahd)AfgAfUfAfucagauaaguausgsa	1072	VPusCfsagcAfuAfCfuuauCfuUfggucasasu	1132	AUUGACCAAGAUAAGUAUGCUGU	1192

【表６－３】

AD-1620342.1	csasaga(Uhd)AfaGfUfAfugcugugcsgsa	1073	VPusCfsgcaCfaGfCfauacUfuAfucuugsgsu	1133	ACCAAGAUAAGUAUGCUGUGCGC	1193
AD-1620379.1	asusggc(Ghd)UfuUfAfCfcugauugascsa	1074	VPusGfsucaAfuCfAfgguaAfaCfgccaususc	1134	GAAUGGCGUUUACCUGAUUGACG	1194
AD-1620380.1	usgsgcg(Uhd)UfuAfCfCfugauugacsgsa	1075	VPusCfsgucAfaUfCfagguAfaAfcgccasusu	1135	AAUGGCGUUUACCUGAUUGACGU	1195
AD-1620381.1	gsgscgu(Uhd)UfaCfCfUfgauugacgsusa	1076	VPusAfscguCfaAfUfcaggUfaAfacgccsasu	1136	AUGGCGUUUACCUGAUUGACGUC	1196
AD-1620390.1	csusgau(Uhd)GfaCfGfUfcaaguucasasa	1077	VPusUfsugaAfcUfUfgacgUfcAfaucagsgsu	1137	ACCUGAUUGACGUCAAGUUCAAC	1197
AD-1620522.1	cscsaag(Ghd)UfgAfAfGfauggauugcsca	1078	VPusGfscaaUfcCfAfucuuCfaCfcuuggsasg	1138	CUCCAAGGUGAAGAUGGAUUGCC	1198
AD-1620523.1	csasagg(Uhd)GfaAfGfAfuggauugcscsa	1079	VPusGfsgcaAfuCfCfaucuUfcAfccuugsgsa	1139	UCCAAGGUGAAGAUGGAUUGCCA	1199
AD-1620525.2	asgsgug(Ahd)AfgAfUfCfgGfgauugccasgsa	1080	VPusCfsuggCfaAfUfccauCfuUfcaccususg	1140	CAAGGUGAAGAUGGAUUGCCAGG	1200
AD-1620572.1	gscsuac(Chd)UfcAfUfCfcuccaucaasgsa	1081	VPusCfsuugAfuGfGfagauGfaGfguagcsusg	1141	CAGCUACCUCAUCUCCAUCAAGU	1201
AD-1620879.2	csusugu(Chd)UfuCfUfUfugguucugsgsa	1082	VPusCfscagAfaCfCfaaagAfaGfacaagscsa	1142	UGCUUGUCUUCUUUGGUUCUGGG	1202
AD-1620918.1	uscscag(Chd)CfaAfGfUfAfggaauaaasgsa	1083	VPusCfsuuuAfuUfCfcucuUfgGfcuggasgsa	1143	UCUCCAGCCAAGAGGAAUAAAGU	1203
AD-1620919.1	cscsagc(Chd)AfaGfAfUfGfgaauaaagsusa	1084	VPusAfscuuUfaUfUfccucUfuGfgcuggsasg	1144	CUCCAGCCAAGAGGAAUAAAGUU	1204
AD-1620920.1	csasgcc(Ahd)AfgAfGfUfUfGfaauaaagususa	1085	VPusAfsacuUfuAfUfuccuCfuUfggcugsgsa	1145	UCCAGCCAAGAGGAAUAAAGUUU	1205
AD-1620921.1	asgscca(Ahd)GfaGfGfUfUfAfauaaaguususa	1086	VPusAfsaacUfuUfAfuuccUfcUfuggcusgsg	1146	CCAGCCAAGAGGAAUAAAGUUUU	1206

【表７－１】

表7．マウスＦＬＮＡ　ｄｓＲＮＡ剤の未修飾のセンス鎖配列およびアンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5’～3’	配列番号:	XM_006527911.5 での範囲	アンチセンス配列 5’～3’	配列番号:	XM_006527911.5での範囲
AD-1687606.1	UUCCCAUUACCAACUUCAGUA	1207	923-943	UACUGAAGUUGGUAAUGGGAAGC	1237	921-943
AD-1688124.1	CAACAAGACUACCUACUUUGA	1208	1569-1589	UCAAAGUAGGUAGUCUUGUUGGC	1238	1567-1589
AD-1688125.1	AACAAGACUACCUACUUUGAA	1209	1570-1590	UUCAAAGUAGGUAGUCUUGUUGG	1239	1568-1590
AD-1688127.1	CAAGACUACCUACUUUGAGAA	1210	1572-1592	UUCUCAAAGUAGGUAGUCUUGUU	1240	1570-1592
AD-1688431.1	UAUGGCUUUGAAUAUUACCCA	1211	1987-2007	UGGGUAAUAUUCAAAGCCAUACA	1241	1985-2007
AD-1688626.1	CAUCACAGGCAAAGAUUGAAA	1212	2222-2242	UUUCAAUCUUUGCCUGUGAUGGA	1242	2220-2242
AD-1688897.1	GGUACUUACAGCUGUUCUUAA	1213	2560-2580	UUAAGAACAGCUGUAAGUACCAU	1243	2558-2580
AD-1688898.1	GUACUUACAGCUGUUCUUAUA	1214	2561-2581	UAUAAGAACAGCUGUAAGUACCA	1244	2559-2581
AD-1689041.1	CUACUUUACUGUGGAUUGUAA	1215	2745-2765	UUACAAUCCACAGUAAAGUAGGU	1245	2743-2765
AD-1689527.1	UCAAGAGUUCACAGUAAAGUA	1216	3339-3359	UACUUUACUGUGAACUCUUGAUC	1246	3337-3359
AD-1689528.1	CAAGAGUUCACAGUAAAGUCA	1217	3340-3360	UGACUUUACUGUGAACUCUUGAU	1247	3338-3360
AD-1690032.1	ACACACCAUUACCUAUAUUCA	1218	4023-4043	UGAAUAUAGGUAAUGGUGUGUGU	1248	4021-4043
AD-1690554.1	UGCAUCUAAAGUCAAGUGUUA	1219	4716-4736	UAACACUUGACUUUAGAUGCAUC	1249	4714-4736
AD-1691133.1	GGCACCUUUGACAUCUUCUAA	1220	5491-5511	UUAGAAGAUGUCAAAGGUGCCAU	1250	5489-5511
AD-1691437.1	UCUGCAGUUCUAUGUUGAUUA	1221	5940-5960	UAAUCAACAUAGAACUGCAGAGG	1251	5938-5960
AD-1691559.1	CCAUCUAAAGCAGAAAUCAGA	1222	6088-6108	UCUGAUUUCUGCUUUAGAUGGAC	1252	6086-6108
AD-1692108.1	AGCCUGGAAACUACAUUAUAA	1223	6704-6724	UUAUAAUGUAGUUUCCAGGCUCU	1253	6702-6724
AD-1692109.1	GCCUGGAAACUACAUUAUAAA	1224	6705-6725	UUUAUAAUGUAGUUUCCAGGCUC	1254	6703-6725
AD-1692111.1	CUGGAAACUACAUUAUAAACA	1225	6707-6727	UGUUUAUAAUGUAGUUUCCAGGC	1255	6705-6727
AD-1692242.1	CCUGAAGAUUCCUGAAAUUAA	1226	6864-6884	UUAAUUUCAGGAAUCUUCAGGCU	1256	6862-6884
AD-1692243.1	CUGAAGAUUCCUGAAAUUAGA	1227	6865-6885	UCUAAUUUCAGGAAUCUUCAGGC	1257	6863-6885
AD-1692244.1	UGAAGAUUCCUGAAAUUAGCA	1228	6866-6886	UGCUAAUUUCAGGAAUCUUCAGG	1258	6864-6886

【表７－２】

AD-1692317.1	GAAGGAGAGAACCAUACUUAA	1229	6949-6969	UUAAGUAUGGUUCUCUCCUUCUA	1259	6947-6969
AD-1692333.1	CUUACUGUAUCCGAUUUGUGA	1230	6965-6985	UCACAAAUCGGAUACAGUAAGUA	1260	6963-6985
AD-1692616.1	GCCUUACUGUUUCUAGUCUUA	1231	7376-7396	UAAGACUAGAAACAGUAAGGCGG	1261	7374-7396
AD-1692718.1	GAGAUUGACCAAGAUAAGUAA	1232	7519-7539	UUACUUAUCUUGGUCAAUCUCUG	1262	7517-7539
AD-1693004.1	AGACAUCAUCUGUGUUUGUGA	1233	7961-7981	UCACAAACACAGAUGAUGUCUCA	1263	7959-7981
AD-1693103.1	GAGCAACUUCACAGUAGAUUA	1234	8100-8120	UAAUCUACUGUGAAGUUGCUCUU	1264	8098-8120
AD-1693104.1	AGCAACUUCACAGUAGAUUGA	1235	8101-8121	UCAAUCUACUGUGAAGUUGCUCU	1265	8099-8121
AD-1693450.1	AGAGCAUGUCUUCUUUGGUUA	1236	8541-8561	UAACCAAAGAAGACAUGCUCUGC	1266	8539-8561

【表８－１】

表８．マウスＦＬＮＡ　ｄｓＲＮＡ剤の修飾センス鎖配列および修飾アンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5’～3’	配列番号:	アンチセンス配列 5’～3’	配列番号:	mRNA標的配列 5’～3’	配列番号:
AD-1687606.1	ususcccAhdUfuAfCfCfaacuucagsusa	1267	VPusAfscugAfaGfUfugguAfaUfgggaasgsc	1297	GCUUCCCAUUACCAACUUCAGUC	1327
AD-1688124.1	csasacaAhdGfaCfUfAfccuacuuusgsa	1268	VPusCfsaaaGfuAfGfguagUfcUfuguugsgsc	1298	GCCAACAAGACUACCUACUUUGA	1328
AD-1688125.1	asascaaGhdAfcUfAfCfcuacuuugsasa	1269	VPusUfscaaAfgUfAfgguaGfuCfuuguusgsg	1299	CCAACAAGACUACCUACUUUGAG	1329
AD-1688127.1	csasagaChdUfaCfCfUfacuuugagsasa	1270	VPusUfscucAfaAfGfuaggUfaGfucuugsusu	1300	AACAAGACUACCUACUUUGAGAU	1330
AD-1688431.1	usasuggChdUfuUfGfAfauauuaccscsa	1271	VPusGfsgguAfaUfAfucaAfaGfccauascsa	1301	UGUAUGGCUUUGAAUAUUACCCU	1331
AD-1688626.1	csasucaChdAfgGfCfAfaagauugasasa	1272	VPusUfsucaAfuCfUfugcCfuGfugaugsgsa	1302	UCCAUCACAGGCAAAGAUUGAAU	1332
AD-1688897.1	gsgsuacUhdUfaCfAfUfgGfcuguucuusasa	1273	VPusUfsaagAfaCfAfgcugUfaAfguaccsasu	1303	AUGGUACUUACAGCUGUUCUUAU	1333
AD-1688898.1	gsusacuUhdAfcAfGfCfcuguucuuasusa	1274	VPusAfsuaaGfaAfCfagcuGfuAfaguacscsa	1304	UGGUACUUACAGCUGUUCUUAUG	1334
AD-1689041.1	csusacuUhdUfaCfUfGfuggauugusasa	1275	VPusUfsacaAfuCfCfacagUfaAfaguagsgsu	1305	ACCUACUUUACUGUGGAUUGUAC	1335
AD-1689527.1	uscsaagAhdGfuUfCfAfcaguaaagsusa	1276	VPusAfscuuUfaCfUfgugaAfcUfcuugasusc	1306	GAUCAAGAGUUCACAGUAAAGUC	1336
AD-1689528.1	csasagaGhdUfuCfAfCfcaguaaaguscsa	1277	VPusGfsacuUfuAfCfugugAfaCfucuugsasu	1307	AUCAAGAGUUCACAGUAAAGUCA	1337
AD-1690032.1	ascsacaChdCfaUfUfAfccuauauuscsa	1278	VPusGfsaauAfuAfGfguaaUfgGfugugsgsu	1308	ACACACACCAUUACCUAUAUUCC	1338
AD-1690554.1	usgscauUhdUfaAfAfGfucaagugususa	1279	VPusAfsacaCfuUfGfacuuUfaGfaugcasusc	1309	GAUGCAUCUAAAGUCAAGUGUUC	1339
AD-1691133.1	gsgscacChdUfuUfGfAfcaucuucusasa	1280	VPusUfsagaAfgAfUfgucaAfaGfgugccsasu	1310	AUGGCACCUUUGACAUCUUCUAC	1340
AD-1691437.1	uscsugcAhdGfuUfCfUfauguugaususa	1281	VPusAfsaucAfaCfAfuagaAfcUfgcagasgsg	1311	CCUCUGCAGUUCUAUGUUGAUUA	1341
AD-1691559.1	cscsaucUhdAfaAfGfAfcagaaaucasgsa	1282	VPusCfsugaUfuUfCfugcuUfuAfgauggsasc	1312	GUCCAUCUAAAGCAGAAAUCAGU	1342
AD-1692108.1	asgsccuGhdGfaAfAfCfcuacauuausasa	1283	VPusUfsauaAfuGfUfaguuUfcCfaggcuscsu	1313	AGAGCCUGGAAACUACAUUAUAA	1343
AD-1692109.1	gscscugGhdAfaAfCfUfacauuauasasa	1284	VPusUfsuauAfaUfGfuaguUfuCfcaggcsusc	1314	GAGCCUGGAAACUACAUUAUAA	1344
AD-1692111.1	csusggaAhdAfcUfAfCfauuauaaascsa	1285	VPusGfsuuuAfuAfAfuguaGfuUfuccagsgsc	1315	GCCUGGAAACUACAUUAUAAACA	1345
AD-1692242.1	cscsugaGhdAfuUfCfUfcugaaauusasa	1286	VPusUfsaauUfuCfAfggaaUfcUfucaggscsu	1316	AGCCUGAAGAUUCCUGAAAUUAG	1346
AD-1692243.1	csusgaaGhdAfuUfCfCfucugaaauuasgsa	1287	VPusCfsuaaUfuUfCfaggaAfuCfuucagsgsc	1317	GCCUGAAGAUUCCUGAAAUUAGC	1347
AD-1692244.1	usgsaagAhdUfuCfCfUfucugaaauuagscsa	1288	VPusGfscuaAfuUfUfcaggAfaUfcuucasgsg	1318	CCUGAAGAUUCCUGAAAUUAGCA	1348

【表８－２】

AD-1692317.1	gsasagg(Ahd)GfaGfAfAfccauacuusasa	1289	VPusUfsaagUfaUfGfguucUfcUfccuucsusa	1319	UAGAAGGAGAGAACCAUACUUAC	1349
AD-1692333.1	csusuac(Uhd)GfuAfUfCfcgauuugusgsa	1290	VPusCfsacaAfaUfCfggauAfcAfguaagsusa	1320	UACUUACUGUAUCCGAUUUGUGC	1350
AD-1692616.1	gscscuu(Ahd)CfuGfUfUfucuagucususa	1291	VPusAfsagaCfuAfGfaaacAfgUfaaggcsgsg	1321	CCGCCUUACUGUUUCUAGUCUUC	1351
AD-1692718.1	gsasgau(Uhd)GfaCfCfAfagauaagusasa	1292	VPusUfsacuUfaUfCfuuggUfcAfaucucsusg	1322	CAGAGAUUGACCAAGAUAAGUAU	1352
AD-1693004.1	asgsaca(Uhd)CfaUfCfUfguguuugusgsa	1293	VPusCfsacaAfaCfAfcagaUfgAfugucuscsa	1323	UGAGACAUCAUCUGUGUUUGUGG	1353
AD-1693103.1	gsasgca(Ahd)CfuUfCfAfcaguagaususa	1294	VPusAfsaucUfaCfUfgugaAfgUfugcucsusu	1324	AAGAGCAACUUCACAGUAGAUUG	1354
AD-1693104.1	asgscaa(Chd)UfuCfAfCfaguagauusgsa	1295	VPusCfsaauCfuAfCfugugAfaGfuugcuscsu	1325	AGAGCAACUUCACAGUAGAUUGC	1355
AD-1693450.1	asgsagc(Ahd)UfgUfCfUfucuuuggususa	1296	VPusAfsaccAfaAfGfaagaCfaUfgcucusgsc	1326	GCAGAGCAUGUCUUCUUUGGUUC	1356

【０６５１】

実施例２．インビトロスクリーニング法

細胞培養および３８４ウェルのトランスフェクション

Ｃｏｓ－７（ＡＴＣＣ）は、３８４ウェルプレートに、Ｏｐｔｉ－ＭＥＭで希釈された、ＦＬＮＡ ｐｓｉＣＨＥＣＫ２ベクター（Ｂｌｕｅ Ｈｅｒｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ社）２ｎｇ／μＬの５μＬ、ウェル当たり４．９μｌのＯｐｔｉ－ＭＥＭと０．１μＬのリポフェクタミン２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社、カリフォルニア州、カールスバッド、カタログ番号１１６６８－０１９）を、ウェル当たり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に加え、各ｓｉＲＮＡ二重鎖を４回複製してトランスフェクトし、室温で１５分間イ

ンキュベートする。次いで、約５×１０^{3}個の細胞を含有するダルベッコ改変イーグル培地（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ社）の３５μＬをｓｉＲＮＡ混合物に添加する。細胞を４８時間インキュベートし、続いてホタル（トランスフェクション対照）およびウミシイタケ（標的配列に融合）ルシフェラーゼ測定を行う。三用量実験を、１０ｎＭ、１ｎＭ、および／または０．１ｎＭで実施する。

【０６５２】

ＢＥ（２）－Ｃ（ＡＴＣＣ）は、３８４ウェルプレートに、ウェル当たり４．９μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭと０．１μＬのＲＮＡｉＭＡＸ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カリフォルニア州、カールスバッド、カタログ番号１３７７８－１５０）を、ウェル当たり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に加え、各ｓｉＲＮＡ二重鎖を４回複製してトランスフェクトし、室温で１５分間インキュベートした。次いで、約５×１０^{3}個の細胞を含有する最小必須培地とＦ１２培地（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ社）の１：１混合物の４０μＬをｓｉＲＮＡ混合物に添加した。細胞を４８時間インキュベートし、その後ＲＮＡの精製を行った。三用量実験を、１０ｎＭ、１ｎＭ、および０．１ｎＭで実施した。

【０６５３】

Ｎｅｕｒｏ－２ａ（ＡＴＣＣ）は、３８４ウェルプレートに、ウェル当たり４．９μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭと０．１μＬのＲＮＡｉＭＡＸ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カリフォルニア州、カールスバッド、カタログ番号１３７７８－１５０）を、ウェル当たり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に加え、各ｓｉＲＮＡ二重鎖を４回複製してトランスフェクトし、室温で１５分間インキュベートした。次いで、約５×１０^{3}個の細胞を含有する最小必須培地（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ社）の４０μＬをｓｉＲＮＡ混合物に添加した。細胞を４８時間インキュベートし、その後ＲＮＡの精製を行った。三用量実験を、１０ｎＭ、１ｎＭ、および０．１ｎＭで実施した。

【０６５４】

ＨｅＬａ（ＡＴＣＣ）は、３８４ウェルプレートに、ウェル当たり４．９μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭと０．１μＬのＲＮＡｉＭＡＸ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社、カリフォルニア州、カールスバッド、カタログ番号１３７７８－１５０）を、ウェル当たり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に加え、各ｓｉＲＮＡ二重鎖を４回複製してトランスフェクトし、室温で１５分間インキュベートする。次いで、約５×１０^{3}個の細胞を含有する最小必須培地（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ社）の４０μＬをｓｉＲＮＡ混合物に添加する。細胞を２４時間インキュベートし、その後ＲＮＡの精製を行う。

【０６５５】

三用量実験を、１０ｎＭ、１ｎＭ、および／または０．１ｎＭで実施する。

【０６５６】

ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ ｍＲＮＡ単離キット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標）社、部品番号：６１０－１２）を使用した全ＲＮＡの単離

細胞を、ウェル当たり３μＬのビーズを含有する７５μＬの溶解／結合緩衝液中で溶解し、静電式振とう機上で１０分間混合した。洗浄工程を、磁気プレート支持体を使用して、Ｂｉｏｔｅｋ ＥＬ４０６上で自動化した。ビーズを、緩衝液Ａ中で一回、緩衝液Ｂ中で一回、および緩衝液Ｅ中で二回、それぞれの間に吸引工程を入れて洗浄した（９０μＬ中で）。最後の吸引後、以下に説明するように、完全な１０μＬのＲＴ混合物を各ウェルに加えた。

【０６５７】

ＡＢＩ Ｈｉｇｈ ｃａｐａｃｉｔｙ ｃＤＮＡ逆転写キット（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ社、カリフォルニア州、フォスターシティ、カタログ番号＃４３６８８１３）を用いたｃＤＮＡ合成

一反応当たり、１μＬの１０Ｘ緩衝液、０．４μＬの２５ＸｄＮＴＰ、１μＬのランダムプライマー、０．５μＬの逆転写酵素、０．５μＬのリボヌクレアーゼ阻害剤、および６．６μＬのH_2Oのマスターミックスを、各ウェルに加えた。プレートを密封し、静電式振とう機で１０分間振とうし、次いで３７℃で２時間インキュベートした。その後、プ

レートを８０℃で８分間振とうした。

【０６５８】

リアルタイムＰＣＲ

ニマイクロリットル（μＬ）のｃＤＮＡを、３８４ウェルプレート（Ｒｏｃｈｅ社カタログ番号＃０４８８７３０１００１）において、ウェル当たり、０．５μＬのヒトＧＡＰＤＨ　ＴａｑＭａｎプローブ、および０．５μＬのヒトまたはマウスＦＬＮＡプローブ、２μＬのヌクレアーゼを含まない水、および５μＬのライトサイクラー（Ｌｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ）４８０プローブマスターミックス（Ｒｏｃｈｅ社カタログ番号＃０４８８７３０１００１）を含有するマスターミックスに添加した。リアルタイムＰＣＲを、ライトサイクラー４８０リアルタイムＰＣＲシステム（Ｒｏｃｈｅ社）において実施した。各二重鎖を、少なくとも二回試験し、データを、非標的化対照ｓｉＲＮＡでトランスフェクトされた細胞に対して正規化した。相対変化倍数を算出するために、ΔΔＣｔ法を使用してリアルタイムデータを分析し、非標的化対照ｓｉＲＮＡでトランスフェクトされた細胞を用いて実施されたアッセイに対して正規化した。

【０６５９】

実験は、１０ｎＭ、１ｎＭ、および／または０．１ｎＭの最終二重鎖濃度で実施され、データは、非標的化対照と比較して残存するパーセントメッセージとして表された。ＢＥ（２）－Ｃ細胞におけるヒトＦＬＮＡのスクリーニングの結果を表９に示す。Ｎｅｕｒｏ－２ａ細胞におけるマウスＦＬＮＡのスクリーニングの結果を表１０に示す。

【０６６０】

表２～６のオリゴは、マウスＦＬＮＡと交差反応し得る。用量反応スクリーニング実験を、ＢＥ（２）Ｃ細胞およびＮｅｕｒｏ２Ａ細胞において、選択ヒトＦＬＮＡ二重鎖を用いて行った。これらのｄｓＲＮＡ二重鎖に対応するマウス配列およびヒト配列は、完全なアライメントを有する。選択ヒトＦＬＮＡ二重鎖を、マウスＦＬＮＡとの交差反応性についてスクリーニングした。ｄｓＲＮＡ剤のスクリーニングの結果は、ＢＥ（２）Ｃ細胞については表１１に、Ｎｅｕｒｏ２Ａ細胞については表１２に提供され、二重鎖の交差反応性を示す。

【表９－１】

表9．ＢＥ（２）Ｃ細胞におけるヒトＦＬＮＡ反復投与スクリーニング

二重鎖名	FLNAメッセージ残存%					
	10nM平均	10nM SD	1nM平均	1nM SD	0.1nM平均	0.1nM SD
AD-1615428.1	96.2	13	49.7	8.5	78	16
AD-1616581.1	12.6	1.5	17.9	5.4	20.1	3.2
AD-1619756.1	24.1	1.2	22.6	4.1	33.9	2.1
AD-1620380.1	20.7	5.9	17.4	2.9	23.1	4.5
AD-1687606.1	64.2	8.9	41.8	12.5	48	6.9
AD-1689041.1	50.2	8.1	50.3	5.8	57.6	5.8
AD-1691559.1	39.4	8.9	39.7	8.8	44.7	0.7
AD-1692333.1	71.9	11.8	58.4	9.1	89.1	14.2
AD-1616534.1	29.4	4.2	32.1	4.3	43.4	9
AD-1617665.1	24.8	4.3	26.6	9	23.7	5.8
AD-1620337.1	13.4	0.4	14.4	3.7	12.9	2.7
AD-1620190.1	16.5	3.4	10.7	1.7	14	1.7
AD-1615430.1	56.2	5.2	55	5.9	70.9	15.3
AD-1617429.2	14.4	2.2	24.6	2.5	25.1	7.2
AD-1619757.1	15	3.3	19.8	2	22.4	2.8
AD-1620381.1	14.2	3.8	20.2	0.9	26.7	0.9
AD-1688124.1	35.2	4.9	37.8	6.5	45.5	7.2
AD-1689527.1	63.4	16.3	63.4	8.5	47.3	12.3
AD-1692108.1	75.6	16.2	75.5	15.4	81.1	13.3
AD-1692616.1	28	3.1	31	3.1	52.3	0.3
AD-1616535.1	21.1	4.6	34.4	8.9	39.5	5.8
AD-1617666.1	25.5	4.7	29.3	7.1	33	6.9
AD-1620338.1	15.3	1.1	19.7	4.2	21.2	2
AD-1620191.1	17	4.2	12.3	4	12.8	0.8
AD-1615511.2	18.6	3.5	21.5	3.1	23.3	5.1
AD-1617430.1	19.8	1.4	25.1	3.6	29.7	4
AD-1955	98.3	6.5				
模擬						
AD-1688125.1	28.9	6.9	32.7	5.1	49.5	3.6
AD-1689528.1	53.7	5.4	57.2	3.5	52.3	7
AD-1692109.1	59.6	6	83.1	18.7	86.6	12
AD-1692718.1	16.7	4.4	23.3	2.6	25.8	4.7
C5	85.2	15.9				
AD-1620342.1	13.7	4.4	16.5	2.1	18.7	2.2
AD-1620522.1	28.5	6.1	36.7	4.7	56.9	3.8
AD-1615673.1	25.6	4.4	24	7.4	29.9	7.8
AD-1617431.1	26.8	2.3	39.5	4.4	40.1	12.2
AD-1620186.1	16.9	4.1	25	3.9	30.7	3.6
AD-1620390.1	14	1.9	17.5	3.3	22.5	2.2
AD-1688127.1	18.5	1.7	27.7	3.4	27	4.7
AD-1690032.1	27.5	6	41.3	2.5	36.7	2.4
AD-1692111.1	66.7	3.6	82.9	9.2	69.2	21.3

【表９－２】

AD-1693004.1	31.1	5.9	39.7	4.5	42.5	3.7
AD-1617149.1	23.5	5.5	22	1.7	32.4	7.1
AD-1618008.1	21.5	3.1	24.3	4.5	33.8	6.4
AD-1618812.1	25.5	5.7	36.8	6.4	36.8	10.9
AD-1620523.1	21.6	0.4	25	4.2	29.3	5.5
AD-1616328.1	18.5	3	22.3	4.7	30	6
AD-1617543.1	10.5	1.3	17.4	4.6	21.2	2.3
AD-1620320.1	16	3.4	20.5	3.5	26	2.5
AD-1620918.1	13.4	1.8	19.3	2.2	18.4	2.2
AD-1688431.1	87.3	8.4	103.2	5.8	103.5	7
AD-1690554.1	22.2	1.6	30.9	4.1	32.6	6.6
AD-1692242.1	23	4.4	34.6	5.2	31.8	7.2
AD-1693103.1	20.9	1.1	35.6	4.3	38	8.1
AD-1617157.1	19	4.3	22.9	5	23.4	7.3
AD-1619642.1	16	1.3	25.2	4.3	34.5	5.2
AD-1618813.1	36.1	4.3	47.8	6.2	56.6	6
AD-1620525.2	91.8	14	97.9	15.8	90.8	10.9
AD-1616335.1	15.7	4.2	17.8	6.3	24.3	7.1
AD-1617548.1	19.4	4.5	25	7.7	40.2	10.6
AD-1620321.1	17.1	1	19.3	3.3	23.2	5.5
AD-1620919.1	15	4.1	19.3	3.8	20.6	2
AD-1688626.1	78.3	10.3	80.5	6.3	80.6	13
AD-1691133.1	79.8	18.6	71.7	6.5	68.9	15.8
AD-1692243.1	22.5	4.6	28.2	1.9	33.7	5.5
AD-1693104.1	93.1	20.8	69.8	2.9	62.2	8.7
AD-1617432.1	18.6	2.3	23	3.4	24.2	6.6
AD-1620334.1	15.6	3.6	20.7	3.9	30.5	3.6
AD-1619344.1	34.6	8	47.2	4.4	57	5.3
AD-1620572.1	25.9	5.7	28.5	6.3	33.5	3.1
AD-1616579.2	19.6	3.7	18.6	4.6	28.5	11.2
AD-1619393.1	18.8	3.5	17.7	3	21.9	4.3
AD-1620322.1	15.7	1.8	19.7	2.5	26.2	2.6
AD-1620920.1	20.2	3.8	21.8	2	24.3	3.2
AD-1688897.1	31.3	7.5	39.9	3.5	48.7	8.9
AD-1691437.1	29.4	6.7	33.9	2.2	38	3.4
AD-1692244.1	23.7	3.7	30.6	3.4	39.7	2.1
AD-1693450.1	52.2	12.6	49.3	4.7	63.1	9.8
AD-1617433.1	25.7	4.5	32.5	1.5	31	7.2
AD-1620335.1	18.2	3.4	23.9	2.3	25.7	2.3
AD-1620104.1	38.8	6.5	43	4.1	56.6	3.7
AD-1620879.2	27.2	2.2	25.8	3.4	30.5	4.2
AD-1616580.1	27.7	2.3	21.3	2.5	26.3	4.7
AD-1619755.1	24.2	4.1	26.7	3.8	28.9	4.7
AD-1620379.1	17.1	0.8	20	0.7	26.4	1.8
AD-1620921.1	18.5	2	19.6	1.9	27.5	4.1
AD-1688898.1	102.9	14	92.7	4.9	102.1	12.6

【表９－３】

AD-1692317.1	101.5	16.2	97.6	4.3	105.6	14.7
AD-1616533.1	52.4	8.1	71.9	3.2	69.8	6.1
AD-1617664.1	54.1	10.8	95.6	11	93.9	17.9
AD-1620336.1	21.3	1.9	23.1	2.4	22.9	6.1
AD-1620188.1	25.8	3.5	28.5	4.5	32.3	0.4

【表１０－１】

表１０．Ｎｅｕｒｏ２Ａ細胞におけるマウスＦＬＮＡ反復投与スクリーニング

二重鎖名	FLNAメッセージ残存%					
	10nM平均	10nM SD	1nM平均	1nM SD	0.1nM平均	0.1nM SD
AD-1615428.1	55.5	7.4	80.3	20.2	68.7	13.6
AD-1616581.1	8	2.1	34.9	9.1	55.8	19.1
AD-1619756.1	104	11.5	100.4	22.4	98.2	24.8
AD-1620380.1	67	10.6	96.5	10.5	91.2	10.5
AD-1687606.1	5.3	1.4	9.4	3.5	12.6	3.2
AD-1689041.1	4.3	0.7	10.7	2.7	9.3	1.8
AD-1691559.1	3.1	1.6	7.8	3	8.4	2
AD-1692333.1	3.7	2.2	6.8	1.6	7.4	1.8
AD-1616534.1	18.4	3.9	25.5	3.9	21.1	3.3
AD-1617665.1	15.4	6.5	20.8	2.8	12.8	2.3
AD-1620337.1	6.3	3.1	8.1	0.6	6.6	1.5
AD-1620190.1	7.7	3.1	14	3.4	5.6	1.3
AD-1615430.1	61	4.8	82.5	21.2	66.7	7.6
AD-1617429.2	10.7	5.2	9.7	3.1	7.6	4.3
AD-1619757.1	92.9	17.5	102.6	17.3	82.7	10.5
AD-1620381.1	44.6	10.5	68.5	9.2	78.5	13.3
AD-1688124.1	4.1	1.5	7.1	1.4	7.5	1.2
AD-1689527.1	2.3	2.1	7.2	2.8	6.9	3.5
AD-1692108.1	0.3	0.1	3	0.6	7	0.3
AD-1692616.1	8.9	5	14.1	2.7	8.9	3
AD-1616535.1	12.8	4.3	17.8	1.2	19.4	3.8
AD-1617666.1	10.4	9.7	23.1	6.8	24.2	8.1
AD-1620338.1	12.3	5.3	22.8	3.3	20.5	4.8
AD-1620191.1	9.5	3.1	13.4	4.3	6	0.4
AD-1615511.2	3	0.9	5.5	1.2	6.3	1.7
AD-1617430.1	9.7	2.9	11	3.1	4.7	0.6
AD-1955	104.5	4.5				
模擬						
AD-1688125.1	11.7	1.8	11.4	1.7	17.8	7.5
AD-1689528.1	4.4	2.8	7.5	2.2	8.7	2.2
AD-1692109.1	1.2	0.4	10.9	3.3	7.1	3.3
AD-1692718.1	5.8	2.6	3.7	2	7.3	2.9
C5	91.8	22.6				
AD-1620342.1	2.4	1.4	5.2	1.4	6.3	2.3
AD-1620522.1	20.6	6	38.6	3.6	18.5	1.5
AD-1615673.1	99.6	9.1	75.2	16.4	69.7	5.5
AD-1617431.1	15	4.7	16.6	1.5	13.1	6
AD-1620186.1	7.5	0.8	16.3	2.2	12.6	5.2
AD-1620390.1	16.4	4.5	12.7	3.4	20.9	5.2
AD-1688127.1	11.6	3.5	18.3	3.6	12.9	5.1
AD-1690032.1	1.1	0.7	6.2	2.8	13	3
AD-1692111.1	0.6	0.1	10.2	0.2	14.7	1.8
AD-1693004.1	5.3	1.8	10	1.1	10.9	3

【表１０－２】

AD-1617149.1	5	1.9	12.6	2.3	13.2	2.8
AD-1618008.1	20.2	3.9	32.4	2.6	23.7	7.5
AD-1618812.1	17.9	9.1	26.1	4.5	14.1	5.1
AD-1620523.1	9.2	3.9	18.2	4	6	2.1
AD-1616328.1	19.7	5.8	26.9	4.2	26	1.6
AD-1617543.1	53.9	6.8	58.9	12.4	57.9	10.6
AD-1620320.1	20.2	3.8	26.4	4.8	32.3	2.3
AD-1620918.1	3.8	1.6	7.8	1.2	11.5	4.3
AD-1688431.1	7.9	3	11.4	2	12.5	2.3
AD-1690554.1	1.3	0.7	8.5	1.5	11.2	3.2
AD-1692242.1	8.3	2.2	14.5	2	13.2	1.9
AD-1693103.1	7.9	3.3	15.8	3.1	16.5	5.7
AD-1617157.1	5	2.6	15.8	0.6	10.8	2.7
AD-1619642.1	7.7	1.4	19.9	2.9	16.1	0.1
AD-1618813.1	34.3	11.6	51.4	6	29.5	17
AD-1620525.2	45.8	8.7	60.5	6.7	75.6	23.8
AD-1616335.1	7.9	1.9	11.6	1.4	11.7	2.1
AD-1617548.1	66.9	16.5	85.3	7.8	78.1	16.9
AD-1620321.1	16.5	4.4	17.4	1.8	16.5	7.5
AD-1620919.1	25.4	2.4	34.3	7	30.2	6.8
AD-1688626.1	7.2	3	14.1	2.1	17.4	1
AD-1691133.1	6.9	2.7	14.6	2.7	16.3	6.5
AD-1692243.1	7.7	2.9	12.3	1.7	10.9	4.2
AD-1693104.1	8.7	2.6	15.5	2.2	14.5	5
AD-1617432.1	7.8	2.6	13.2	1.3	11.2	4
AD-1620334.1	13.6	4	18.7	4.1	18.1	3.5
AD-1619344.1	37.1	15.4	51.3	11.5	32.6	9.8
AD-1620572.1	9.8	4.4	22.5	3.5	25.3	9.2
AD-1616579.2	21.4	3.4	28.4	4.2	36.2	4.8
AD-1619393.1	12	2	11.9	2.2	13.3	2.4
AD-1620322.1	15.9	3	16.1	1.5	20.7	3.8
AD-1620920.1	20.9	5.9	24.3	4	23.9	5.4
AD-1688897.1	3.8	1.7	8	3.2	5.3	2.7
AD-1691437.1	6.3	2.7	12.8	4.1	13.9	3.5
AD-1692244.1	8.3	1.7	14.3	4.1	12.2	5.8
AD-1693450.1	4.4	1.7	12.5	2.2	10.9	2.6
AD-1617433.1	13.8	5.7	15.4	5.9	18.9	4.7
AD-1620335.1	13.1	5.4	15.7	2	15.5	4.6
AD-1620104.1	21.8	10.9	38.8	12.3	42.9	11.4
AD-1620879.2	7.8	4.7	15.5	0.5	12.6	4
AD-1616580.1	69.6	8	64.2	13.3	59	12.8
AD-1619755.1	94.5	17.6	88.2	15.6	80.7	19.5
AD-1620379.1	87.6	16.4	98.8	19.6	98.9	25.7
AD-1620921.1	7	2.5	12.7	3.8	13.9	2.8
AD-1688898.1	6.4	2.7	11.3	3.5	14.3	3.4
AD-1692317.1	2.4	1.3	11.7	4.5	15.9	5.6
AD-1616533.1	20.6	10.8	36.4	10.8	37.2	5.3

【表１０－３】

AD-1617664.1	76.7	25.9	99.7	16.7	86	28.9
AD-1620336.1	6.5	2.1	10	2.5	8	3.2
AD-1620188.1	8.5	4.1	11.3	3.7	14.7	5.2

【表１１】

表１１．ＢＥ（２）Ｃ細胞におけるヒトＦＬＮＡ　ｓｉＲＮＡのヒトおよびマウスの交差反応性

二本鎖ID	マウスFLNA mRNA残存%: BE(2)C細胞における用量反応						
	10nM	1.67nM	0.27nM	0.046nM	0.007nM	0.001nM	0.0002nM
AD-1620574.2	5	7	28	39	34	69	88
AD-1620211.2	3	12	19	27	41	59	52
AD-1618601.2	4	14	28	42	67	71	70
AD-1618006.2	4	11	19	26	48	51	59
AD-1617387.2	7	10	13	16	23	29	46
AD-1617148.2	6	10	17	26	31	38	51
AD-1615796.2	8	15	18	30	38	43	48

【表１２】

表１２．Ｎｅｕｒｏ２Ａ細胞におけるヒトＦＬＮＡ　ｓｉＲＮＡのヒトおよびマウスの交差反応性

二本鎖ID	マウスFLNA mRNA残存%: Neuro2A細胞における用量反応						
	10nM	1.67nM	0.27nM	0.046nM	0.007nM	0.001nM	0.0002nM
AD-1620574.2	17	43	66	91	85	111	110
AD-1620211.2	13	44	44	86	95	87	89
AD-1618601.2	19	44	45	102	96	98	102
AD-1618006.2	24	41	37	91	99	85	102
AD-1617387.2	14	25	41	51	74	79	96
AD-1617148.2	6	22	45	65	85	97	91
AD-1615796.2	24	38	53	62	82	105	109

【０６６１】

実施例３．ＦＬＮＡ　ｓｉＲＮＡの単回投与インビトロスクリーニング

細胞培養およびトランスフェクション：

Ａ５４９細胞を、１０％のＦＢＳ（ＡＴＣＣ社）で補ったイーグル最小必須培地（Ｇｉｂｃｏ社）中、５％のCO_2雰囲気下、３７℃で、ほぼコンフルエントまで増殖させてから、トリプシン化によりプレートから放出させた。９６ウェルプレートに、ウェル当たり４．６μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭと０．４μＬのリポフェクタミン２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社、カリフォルニア州、カールスバッド、カタログ番号１１６６８－０１９）を、ウェル当たり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に加え、各ｓｉＲＮＡ二重鎖を４回複製してト

ランスフェクションを実施した。次いで混合物を、室温で１５分間インキュベートした。次いでｓｉＲＮＡ混合物に、約２×１０^{4}個のＡ５４９細胞を含有する抗生物質を有さない完全増殖培地を、８０μＬ添加した。細胞を２４時間インキュベートし、その後ＲＮＡの精製を行った。単回投与実験を、１０ｎＭの最終二重鎖濃度で実施した。

【０６６２】

ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ　ｍＲＮＡ単離キットを使用した全ＲＮＡの単離：

細胞を、ウェル当たり３μＬのビーズを含有する７５μＬの溶解／結合緩衝液中で溶解し、静電式振とう機上で１０分間混合した。洗浄工程を、磁気プレート支持体を使用して、Ｂｉｏｔｅｋ　ＥＬ４０６上で自動化した。ビーズを、緩衝液Ａ中で一回、緩衝液Ｂ中で一回、および緩衝液Ｅ中で二回、それぞれの間に吸引工程を入れて洗浄した（９０μＬ中で）。最後の吸引後、以下に説明するように、完全な１０μＬのＲＴ混合物を各ウェルに加えた。

【０６６３】

ＡＢＩ　Ｈｉｇｈ　ｃａｐａｃｉｔｙ　ｃＤＮＡ逆転写キット（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ社、カリフォルニア州、フォスターシティ、カタログ番号＃４３６８８１３）を用いたｃＤＮＡ合成：

一反応当たり、１μｌの１０Ｘ緩衝液、０．４μｌの２５ＸｄＮＴＰ、１μＬのランダムプライマー、０．５μＬの逆転写酵素、０．５μＬのリボヌクレアーゼ阻害剤、および６．６μＬのH_2Oのマスターミックスを、各ウェルに加えた。プレートを密封し、静電式振とう機で１０分間振とうし、次いで３７℃で２時間インキュベートした。その後、プレートを８０℃で８分間振とうした。

【０６６４】

リアルタイムＰＣＲ：

二マイクロリットル（μＬ）のｃＤＮＡを、３８４ウェルプレート（Ｒｏｃｈｅ社カタログ番号＃　０４８８７３０１００１）において、ウェル当たり、０．５μＬのヒトＧＡＰＤＨ　ＴａｑＭａｎプローブ、０．５μＬのヒトＦＬＮＡプローブ、２μＬのヌクレアーゼを含まない水、および５μＬのライトサイクラー４８０プローブマスターミックス（Ｒｏｃｈｅ社カタログ番号＃０４８８７３０１００１）を含有するマスターミックスに添加した。リアルタイムＰＣＲは、ライトサイクラー４８０リアルタイムＰＣＲシステム（Ｒｏｃｈｅ社）で実施する。各二重鎖を、少なくとも二回試験し、データを、非標的化対照ｓｉＲＮＡでトランスフェクトされた細胞に対して正規化した。相対変化倍数を算出するために、ΔΔＣｔ法を使用してリアルタイムデータを分析し、非標的化対照ｓｉＲＮＡでトランスフェクトされた細胞を用いて実施されたアッセイに対して正規化した。結果を表１３に示し、残存するパーセントメッセージとして提示される。

【表１３－１】

表１３．Ａ５４９細胞におけるＦＬＮＡ単回投与スクリーニング

二重鎖名	メッセージ残存%	
	平均	SD
AD-1620927.1	17.441	1.548
AD-1620891.1	18.650	1.287
AD-1620879.1	20.592	1.478
AD-1620837.1	32.606	1.489
AD-1620787.1	11.669	0.527
AD-1620767.1	18.264	0.897
AD-1620737.1	11.711	3.756
AD-1620731.1	63.621	5.467
AD-1620707.1	16.599	2.911
AD-1620616.1	15.807	3.827
AD-1620574.1	28.956	0.677
AD-1620525.1	101.034	2.448
AD-1620475.1	19.262	1.117
AD-1620449.1	18.574	3.477
AD-1620426.1	18.756	1.129
AD-1620410.1	44.313	1.041
AD-1620389.1	15.399	1.291
AD-1620352.1	15.093	1.181
AD-1620330.1	18.418	2.109
AD-1620279.1	17.163	1.435
AD-1620244.1	11.611	1.174
AD-1620211.1	11.914	1.792
AD-1620198.1	26.150	3.669
AD-1620177.1	14.756	0.928
AD-1620150.1	31.377	4.175
AD-1620113.1	20.664	2.933
AD-1620060.1	14.429	1.356
AD-1620033.1	18.336	1.102
AD-1619993.1	19.137	2.573
AD-1619969.1	28.716	3.487
AD-1619946.1	19.768	1.293
AD-1619936.1	20.615	0.141
AD-1619879.1	16.802	0.677
AD-1619849.1	17.475	0.450
AD-1619751.1	19.608	0.557
AD-1619735.1	16.805	1.258
AD-1619699.1	16.179	2.553
AD-1619689.1	20.516	3.929
AD-1619651.1	20.009	0.967
AD-1619601.1	90.818	8.770
AD-1619586.1	68.613	4.440
AD-1619549.1	18.588	1.150
AD-1619540.1	42.285	7.144

【表１３－２】

AD-1619529.1	66.870	18.008
AD-1619470.1	25.928	4.109
AD-1619455.1	30.785	7.820
AD-1619434.1	19.009	3.553
AD-1619385.1	21.777	2.380
AD-1619358.1	39.922	8.396
AD-1619333.1	16.881	2.304
AD-1619296.1	98.286	4.348
AD-1619262.1	27.913	0.903
AD-1619233.1	90.976	2.887
AD-1619197.1	18.809	3.035
AD-1619178.1	18.809	2.404
AD-1619116.1	37.806	5.780
AD-1619071.1	61.236	9.326
AD-1619064.1	27.837	6.457
AD-1619034.1	32.728	2.896
AD-1619014.1	113.818	11.215
AD-1618979.1	17.600	3.506
AD-1618960.1	13.347	2.406
AD-1618939.1	18.665	1.058
AD-1618910.1	23.871	5.727
AD-1618886.1	27.780	6.531
AD-1618851.1	11.893	0.674
AD-1618835.1	80.470	9.247
AD-1618810.1	61.656	4.279
AD-1618772.1	97.851	23.657
AD-1618744.1	75.770	1.682
AD-1618706.1	42.176	3.704
AD-1618661.1	32.158	4.985
AD-1618645.1	17.646	1.258
AD-1618601.1	25.543	0.403
AD-1618572.1	21.188	2.489
AD-1618508.1	21.951	4.269
AD-1618456.1	21.712	4.102
AD-1618434.1	23.635	1.160
AD-1618404.1	32.191	1.392
AD-1618364.1	16.196	2.289
AD-1618342.1	62.641	2.789
AD-1618311.1	25.009	1.366
AD-1618286.1	53.216	5.754
AD-1618237.1	13.725	1.161
AD-1618214.1	17.749	0.655
AD-1618187.1	102.572	5.587
AD-1618124.1	79.445	4.790
AD-1618098.1	32.838	1.393
AD-1618077.1	20.154	0.832
AD-1618052.1	20.546	0.688

【表１３－３】

AD-1618049.1	109.135	2.311
AD-1618006.1	19.711	0.280
AD-1617981.1	23.328	0.630
AD-1617939.1	84.458	4.007
AD-1617899.1	34.687	0.753
AD-1617875.1	25.863	0.696
AD-1617853.1	50.449	2.363
AD-1617843.1	23.514	0.583
AD-1617815.1	19.644	1.886
AD-1617790.1	34.092	0.906
AD-1617743.1	17.538	1.443
AD-1617717.1	23.231	2.949
AD-1617703.1	22.943	4.255
AD-1617679.1	22.612	4.200
AD-1617657.1	60.998	16.465
AD-1617644.1	81.359	9.144
AD-1617612.1	19.511	2.745
AD-1617580.1	23.153	4.641
AD-1617545.1	20.351	1.342
AD-1617520.1	23.291	2.636
AD-1617486.1	15.708	2.708
AD-1617455.1	43.305	9.401
AD-1617429.1	15.929	3.664
AD-1617387.1	16.688	3.150
AD-1617366.1	21.058	4.648
AD-1617343.1	34.252	3.161
AD-1617322.1	35.179	2.911
AD-1617298.1	38.462	5.185
AD-1617268.1	36.201	5.788
AD-1617219.1	86.992	7.054
AD-1617186.1	19.362	1.414
AD-1617169.1	42.225	3.317
AD-1617148.1	17.319	1.100
AD-1617127.1	20.164	2.430
AD-1617117.1	60.881	9.008
AD-1617103.1	18.123	3.140
AD-1617061.1	21.719	2.370
AD-1617041.1	59.118	2.952
AD-1616994.1	24.444	1.833
AD-1616972.1	58.660	9.871
AD-1616950.1	18.608	0.513
AD-1616934.1	42.283	5.519
AD-1616911.1	18.274	2.103
AD-1616852.1	72.484	11.019
AD-1616833.1	29.003	4.951
AD-1616821.1	53.190	2.429
AD-1616771.1	28.267	0.916

【表１３－４】

AD-1616742.1	21.440	0.454
AD-1616707.1	56.160	4.342
AD-1616682.1	15.589	2.031
AD-1616643.1	18.526	3.766
AD-1616613.1	67.514	8.947
AD-1616593.1	94.302	13.271
AD-1616579.1	16.035	2.482
AD-1616554.1	35.180	5.673
AD-1616531.1	19.289	2.355
AD-1616471.1	46.242	7.726
AD-1616399.1	64.189	12.817
AD-1616386.1	29.624	5.263
AD-1616364.1	21.508	3.690
AD-1616334.1	25.210	2.552
AD-1616313.1	25.218	2.695
AD-1616288.1	60.274	11.204
AD-1616252.1	14.114	2.134
AD-1616245.1	75.974	9.496
AD-1616222.1	22.239	0.982
AD-1616205.1	36.347	5.998
AD-1616182.1	19.932	1.910
AD-1616149.1	31.208	4.525
AD-1616111.1	20.965	3.675
AD-1616087.1	19.008	2.294
AD-1616044.1	83.126	10.698
AD-1616007.1	16.553	2.603
AD-1615991.1	64.202	6.694
AD-1615964.1	23.897	4.683
AD-1615930.1	26.490	4.413
AD-1615843.1	41.369	9.011
AD-1615820.1	61.761	7.747
AD-1615796.1	22.853	4.017
AD-1615772.1	18.662	3.010
AD-1615729.1	59.920	11.378
AD-1615676.1	17.240	3.332
AD-1615631.1	27.693	3.859
AD-1615604.1	18.065	2.479
AD-1615561.1	34.741	5.885
AD-1615540.1	22.425	3.531
AD-1615511.1	13.294	1.921
AD-1615454.1	112.611	25.205
AD-1615433.1	134.953	21.703
AD-1615378.1	115.918	23.745

【０６６５】

実施例４．ホットスポット領域

実施例３および４の表８～１０に提供されるスクリーニングデータに基づいて、ＮＭ＿００１１１０５５６．２のヌクレオチド１４３７－１４６９、１７５０－１７７３、３０７８－３１０４、３２１０－３２３７、２７２０－２７５０、３０８１－３１０４、３４４４－３４６７、６５８３－６６０７、７１５９－７１８６、７３７４－７４１８、１４４０－１４６９、１８５２－１８７６、３０７８－３１０１、７３７４－７３９８、７３８９－７４１８、７４３３－７４６６、８４７２－８４９７、７３９０－７４１８、８４７２－８４９６、７１６３－７１８６、３８５２－３８９６、２６９８－２７６２、７４

４３－７４８６、４０２－４４５、２９５２－２９９５、４１６８－４２１１、６１０５－６１４８、７１５０－７１９３、１４２５－１４６８、３０１５－３０５８、２６９８－２７４１、５３４１－５３８４、または７３８４－７４２８はホットスポット領域を含むことが明確に企図される。これらの領域は、ＡＤ－１６１６３２８．１、ＡＤ－１６１６３３５．１、ＡＤ－１６１６５３４．１、ＡＤ－１６１６５３５．１、ＡＤ－１６１７４２９．２、ＡＤ－１６１７４３０．１、ＡＤ－１６１７４３１．１、ＡＤ－１６１７４３３．１、ＡＤ－１６１７５４３．１、ＡＤ－１６１７５４８．１、ＡＤ－１６１７１４９．１、ＡＤ－１６１７１５７．１、ＡＤ－１６１７４３２．１、ＡＤ－１６１７６６５．１、ＡＤ－１６１７６６６．１、ＡＤ－１６１９７５５．１、ＡＤ－１６１９７５６．１、ＡＤ－１６１９７５７．１、ＡＤ－１６２０１８６．１、ＡＤ－１６２０１８８．１、ＡＤ－１６２０１９０．１、ＡＤ－１６２０３２０．１、ＡＤ－１６２０３２１．１、ＡＤ－１６２０３３４．１、ＡＤ－１６２０３３５．１、ＡＤ－１６２０３３６．１、ＡＤ－１６２０３３７．１、ＡＤ－１６２０３３８．１、ＡＤ－１６１６５７９．２、ＡＤ－１６１６５８０．１、ＡＤ－１６１６５８１．１、ＡＤ－１６２０３２２．１、ＡＤ－１６２０３４２．１、ＡＤ－１６２０３７９．１、ＡＤ－１６２０３８０．１、ＡＤ－１６２０３８１．１、ＡＤ－１６２０３９０．１、ＡＤ－１６２０９１８．１、ＡＤ－１６２０９１９．１、ＡＤ－１６２０９２０．１、ＡＤ－１６２０９２１．１、ＡＤ－１６２０１９１．１、ＡＤ－１６１７８５３、ＡＤ－１６１７８７５、ＡＤ－１６１７１２７、ＡＤ－１６１７１４８、ＡＤ－１６１７１６９、ＡＤ－１６２０３８９、ＡＤ－１６２０４１０、ＡＤ－１６１５５４０、ＡＤ－１６１５５６１、ＡＤ－１６１７３２２、ＡＤ－１６１７３４３、ＡＤ－１６１８０７７、ＡＤ－１６１８０９８、ＡＤ－１６１９４３４、ＡＤ－１６１９４５５、ＡＤ－１６２０１７７、ＡＤ－１６２０１９８、ＡＤ－１６１６３１３、ＡＤ－１６１６３３４、ＡＤ－１６１７３６６、ＡＤ－１６１７３８７、ＡＤ－１６１８９３９、ＡＤ－１６１８９６０、ＡＤ－１６２０３３０、およびＡＤ－１６２０３５２によって標的化される。表１４は、ＮＭ＿００１１１０５５６．２のホットスポット領域およびホットスポット領域を標的とする二重鎖の概要を提供する。

【表１４－１】

表１４．ＦＬＮＡ　ｍＲＮＡ中のホットスポット領域

ホットスポット領域を標的とする二重鎖ID	メッセージ残存%	開始	終了	配列番号:	標的配列(NM_001110556.2)
AD-1616328.1、AD-1616335.1	≦50	1437	1469	1359	GCCAACAAGACCACCTACTTTGAGATCTTTACG
AD-1616534.1、AD-1616535.1	≦45	1750	1773	1360	ACTTCAAGGTGTACACAAAGGGCG
AD-1617429.2、AD-1617430.1、AD-1617431.1、AD-1617433.1	≦45	3078	3104	1361	GTAGGCGTCAATGTCACTTATGGAGGG
AD-1617543.1、AD-1617548.1	≦45	3210	3237	1362	CAGGAGTTCACAGTCAAATCAAAGGGTG
AD-1617149.1、AD-1617157.1	≦35	2720	2750	1363	CATCATCCGCAATGACAATGACACCTTCACG
AD-1617432.1、AD-1617433.1	≦35	3081	3104	1364	GGCGTCAATGTCACTTATGGAGGG
AD-1617665.1、AD-1617666.1	≦35	3444	3467	1365	CCTAGCAAGGTGAAGGCGTTTGGG
AD-1619755.1、AD-1619756.1、AD-1619757.1	≦35	6583	6607	1366	ACTACATCATCAACATCAAGTTTGC
AD-1620186.1、AD-1620188.1、AD-1620190.1	≦35	7159	7186	1367	ACGAAGTCTCAGTCAAGTTCAACGAGGA
AD-1620320.1、AD-1620321.1、AD-1620334.1、AD-1620335.1、AD-1620336.1、AD-1620337.1、AD-1620338.1	≦35	7374	7418	1368	GAGTGCTATGTCACAGAAATTGACCAAGATAAGTATGCTGTGCGC
AD-1616328.1、AD-1616335.1	≦30	1440	1469	1369	AACAAGACCACCTACTTTGAGATCTTTACG
AD-1616579.2、AD-1616580.1、AD-1616581.1	≦30	1852	1876	1370	GCGTGTATGGCTTCGAGTATTACCC
AD-1617429.2、AD-1617430.1	≦30	3078	3101	1371	GTAGGCGTCAATGTCACTTATGGA
AD-1620320.1、AD-1620321.1、AD-1620322.1	≦30	7374	7398	1372	GAGTGCTATGTCACAGAAATTGACC
AD-1620335.1、AD-1620336.1、AD-1620337.1、AD-1620338.1、AD-1620342.1	≦30	7389	7418	1373	GAAATTGACCAAGATAAGTATGCTGT
AD-1620379.1、AD-1620380.1、AD-1620381.1、AD-1620390.1	≦30	7433	7466	1374	GAATGGCGTTTACCTGATTGACGTCAAGTTCAAC
AD-1620918.1、AD-1620919.1、AD-1620920.1、AD-1620921.1	≦30	8472	8497	1375	TCTCCAGCCAAGAGGAATAAAGTTTT

【表１４－２】

AD-1620336.1、AD-1620337.1、AD-1620338.1、AD-1620342.1	≦25	7390	7418	1376	AAATTGACCAAGATAAGTATGCTGTGCGC
AD-1620918.1、AD-1620919.1、AD-1620920.1	≦25	8472	8496	1377	TCTCCAGCCAAGAGGAATAAAGTTT
AD-1620190.1、AD-1620191.1	≦15	7163	7186	1378	AGTCTCAGTCAAGTTCAACGAGGA
AD-1617853、AD-1617875	≦50	3852	3896	1379	CTTCCGGCCGAGGTGTACATCCAGGACCACGGTGATGGCACGCAC
AD-1617127、AD-1617148、AD-1617169	≦45	2698	2762	1380	CCGAAGCTGACATCGACTTCGACATCATCCGCAATGACAATGACACCTTCACGGTCAAGTACACG
AD-1620389、AD-1620410	≦45	7443	7486	1381	TACCTGATTGACGTCAAGTTCAACGGCACCCACATCCCTGGAAG
AD-1615540、AD-1615561	≦35	402	445	1382	TGCAACGAGCACCTGAAGTGCGTGAGCAAGCGCATCGCCAACCT
AD-1617322、AD-1617343	≦35	2952	2995	1383	GGCAAAGGCAAGCTGGACGTCCAGTTCTCAGGACTCACCAAGGG
AD-1618077、AD-1618098	≦35	4168	4211	1384	ACGTTCAGGACCGTGGCGATGGCATGTACAAAGTGGAGTACACG
AD-1619434、AD-1619455	≦30	6105	6148	1385	GGTGACGACTCCATGCGTATGTCCCACCTAAAGGTCGGCTCTGC
AD-1620177、AD-1620198	≦30	7150	7193	1386	CAGGTGACTACGAAGTCTCAGTCAAGTTCAACGAGGAACACATT
AD-1616313、AD-1616334	≦25	1425	1468	1387	AGTGGCAACATCGCCAACAAGACCACCTACTTTGAGATCTTTAC
AD-1617366、AD-1617387	≦25	3015	3058	1388	GACATCATCGACCACCATGACAACACCTACACAGTCAAGTACAC
AD-1617127、AD-1617148	≦20	2698	2741	1389	CCGAAGCTGACATCGACTTCGACATCATCCGCAATGACAATGAC
AD-1618939、AD-1618960	≦20	5341	5384	1390	ACGTGGTGGAGAATGAGGACGGCACTTTCGACATCTTCTACACG
AD-1620330、AD-1620352	≦20	7384	7428	1391	TCACAGAAATTGACCAAGATAAGTATGCTGTGCGCTTCATCCCTC

【０６６６】

均等物

当業者は、本明細書に記載される特定の実施形態および方法に対する多くの均等物を認識するか、または通例の実験のみを使用して確認することができるであろう。こうした均等物は、以下の特許請求の範囲に包含されることを意図する。

【０６６７】

ＦＬＮＡ配列

配列番号：１

＞ＮＭ＿００１１１０５５６．２　ホモサピエンスフィラミンＡ（ＦＬＮＡ）、転写バリ

アント２、ｍＲＮＡ

GCGTGGAGGCGCGTCGCGCGCAGCGGACGCCGACAGAATCCCCGAGGCGCCTGGCG
CGGGCGCGGGCGCGAAGGCGATCCGGGCGCCACCCCGCGGTCATCGGTCACCGGTC
GCTCTCAGGAACAGCAGCGCAACCTCTGCTCCCTGCCTCGCCTCCCGCGCGCCTAG
GTGCCTGCGACTTTAATTAAAGGGCCGTCCCCTCGCCGAGGCTGCAGCACCGCCCC
CCCGGCTTCTCGCGCCTCAAAATGAGTAGCTCCCACTCTCGGGCGGGCCAGAGCGC
AGCAGGCGCGGCTCCGGGCGGCGGCGTCGACACGCGGGACGCCGAGATGCCGGCCA
CCGAGAAGGACCTGGCGGAGGACGCGCCGTGGAAGAAGATCCAGCAGAACACTTTC
ACGCGCTGGTGCAACGAGCACCTGAAGTGCGTGAGCAAGCGCATCGCCAACCTGCA
GACGGACCTGAGCGACGGGCTGCGGCTTATCGCGCTGTTGGAGGTGCTCAGCCAGA
AGAAGATGCACCGCAAGCACAACCAGCGGCCCACTTTCCGCCAAATGCAGCTTGAG
AACGTGTCGGTGGCGCTCGAGTTCCTGGACCGCGAGAGCATCAAACTGGTGTCCAT
CGACAGCAAGGCCATCGTGGACGGGAACCTGAAGCTGATCCTGGGCCTCATCTGGA
CCCTGATCCTGCACTACTCCATCTCCATGCCCATGTGGGACGAGGAGGAGGATGAG
GAGGCCAAGAAGCAGACCCCCAAGCAGAGGCTCCTGGGCTGGATCCAGAACAAGCT
GCCGCAGCTGCCCATCACCAACTTCAGCCGGGACTGGCAGAGCGGCCGGGCCCTGG
GCGCCCTGGTGGACAGCTGTGCCCCGGGCCTGTGTCCTGACTGGGACTCTTGGGAC
GCCAGCAAGCCCGTTACCAATGCGCGAGAGGCCATGCAGCAGGCGGATGACTGGCT
GGGCATCCCCCAGGTGATCACCCCCGAGGAGATTGTGGACCCCAACGTGGACGAGC
ACTCTGTCATGACCTACCTGTCCCAGTTCCCCAAGGCCAAGCTGAAGCCAGGGGCT
CCCTTGCGGCCCAAACTGAACCCGAAGAAAGCCCGTGCCTACGGGCCAGGCATCGA
GCCCACAGGCAACATGGTGAAGAAGCGGGCAGAGTTCACTGTGGAGACCAGAAGTG
CTGGCCAGGGAGAGGTGCTGGTGTACGTGGAGGACCCGGCCGGACACCAGGAGGAG
GCAAAAGTGACCGCCAATAACGACAAGAACCGCACCTTCTCCGTCTGGTACGTCCC
CGAGGTGACGGGGACTCATAAGGTTACTGTGCTCTTTGCTGGCCAGCACATCGCCA
AGAGCCCCTTCGAGGTGTACGTGGATAAGTCACAGGGTGACGCCAGCAAAGTGACA
GCCCAAGGTCCCGGCCTGGAGCCCAGTGGCAACATCGCCAACAAGACCACCTACTT
TGAGATCTTTACGGCAGGAGCTGGCACGGGCGAGGTCGAGGTTGTGATCCAGGACC
CCATGGGACAGAAGGGCACGGTAGAGCCTCAGCTGGAGGCCCGGGGCGACAGCACA
TACCGCTGCAGCTACCAGCCCACCATGGAGGGCGTCCACACCGTGCACGTCACGTT
TGCCGGCGTGCCCATCCCTCGCAGCCCCTACACTGTCACTGTTGGCCAAGCCTGTA
ACCCGAGTGCCTGCCGGGCGGTTGGCCGGGGCCTCCAGCCCAAGGGTGTGCGGGTG
AAGGAGACAGCTGACTTCAAGGTGTACACAAAGGGCGCTGGCAGTGGGGAGCTGAA
GGTCACCGTGAAGGGCCCCAAGGGAGAGGAGCGCGTGAAGCAGAAGGACCTGGGGG
ATGGCGTGTATGGCTTCGAGTATTACCCCATGGTCCCTGGAACCTATATCGTCACC
ATCACGTGGGGTGGTCAGAACATCGGGCGCAGTCCCTTCGAAGTGAAGGTGGGCAC
CGAGTGTGGCAATCAGAAGGTACGGGCCTGGGGCCCTGGGCTGGAGGGCGGCGTCG
TTGGCAAGTCAGCAGACTTTGTGGTGGAGGCTATCGGGGACGACGTGGGCACGCTG
GGCTTCTCGGTGGAAGGGCCATCGCAGGCTAAGATCGAATGTGACGACAAGGGCGA
CGGCTCCTGTGATGTGCGCTACTGGCCGCAGGAGGCTGGCGAGTATGCCGTTCACG
TGCTGTGCAACAGCGAAGACATCCGCCTCAGCCCCTTCATGGCTGACATCCGTGAC
GCGCCCCAGGACTTCCACCCAGACAGGGTGAAGGCACGTGGGCCTGGATTGGAGAA
GACAGGTGTGGCCGTCAACAAGCCAGCAGAGTTCACAGTGGATGCCAAGCACGGTG
GCAAGGCCCCACTTCGGGTCCAAGTCCAGGACAATGAAGGCTGCCCTGTGGAGGCG
TTGGTCAAGGACAACGGCAATGGCACTTACAGCTGCTCCTACGTGCCCAGGAAGCC
GGTGAAGCACACAGCCATGGTGTCCTGGGGAGGCGTCAGCATCCCCAACAGCCCCT
TCAGGGTGAATGTGGGAGCTGGCAGCCACCCCAACAAGGTCAAAGTATACGGCCCC
GGAGTAGCCAAGACAGGGCTCAAGGCCCACGAGCCCACCTACTTCACTGTGGACTG
CGCCGAGGCTGGCCAGGGGGACGTCAGCATCGGCATCAAGTGTGCCCCTGGAGTGG
TAGGCCCCGCCGAAGCTGACATCGACTTCGACATCATCCGCAATGACAATGACACC

TTCACGGTCAAGTACACGCCCCGGGGGGCTGGCAGCTACACCATTATGGTCCTCTT
TGCTGACCAGGCCACGCCCACCAGCCCCATCCGAGTCAAGGTGGAGCCCTCTCATG
ACGCCAGTAAGGTGAAGGCCGAGGGCCCTGGCCTCAGTCGCACTGGTGTCGAGCTT
GGCAAGCCCACCCACTTCACAGTAAATGCCAAAGCTGCTGGCAAAGGCAAGCTGGA
CGTCCAGTTCTCAGGACTCACCAAGGGGGATGCAGTGCGAGATGTGGACATCATCG
ACCACCATGACAACACCTACACAGTCAAGTACACGCCTGTCCAGCAGGGTCCAGTA
GGCGTCAATGTCACTTATGGAGGGGATCCCATCCCTAAGAGCCCTTTCTCAGTGGC
AGTATCTCCAAGCCTGGACCTCAGCAAGATCAAGGTGTCTGGCCTGGGAGAGAAGG
TGGACGTTGGCAAAGACCAGGAGTTCACAGTCAAATCAAAGGGTGCTGGTGGTCAA
GGCAAAGTGGCATCCAAGATTGTGGGCCCCTCGGGTGCAGCGGTGCCCTGCAAGGT
GGAGCCAGGCCTGGGGGCTGACAACAGTGTGGTGCGCTTCCTGCCCCGTGAGGAAG
GGCCCTATGAGGTGGAGGTGACCTATGACGGCGTGCCCGTGCCTGGCAGCCCCTTT
CCTCTGGAAGCTGTGGCCCCCACCAAGCCTAGCAAGGTGAAGGCGTTTGGGCCGGG
GCTGCAGGGAGGCAGTGCGGGCTCCCCCGCCCGCTTCACCATCGACACCAAGGGCG
CCGGCACAGGTGGCCTGGGCCTGACGGTGGAGGGCCCCTGTGAGGCGCAGCTCGAG
TGCTTGGACAATGGGGATGGCACATGTTCCGTGTCCTACGTGCCCACCGAGCCCGG
GGACTACAACATCAACATCCTCTTCGCTGACACCCACATCCCTGGCTCCCCATTCA
AGGCCCACGTGGTTCCCTGCTTTGACGCATCCAAAGTCAAGTGCTCAGGCCCCGGG
CTGGAGCGGGCCACCGCTGGGGAGGTGGGCCAATTCCAAGTGGACTGCTCGAGCGC
GGGCAGCGCGGAGCTGACCATTGAGATCTGCTCGGAGGCGGGGCTTCCGGCCGAGG
TGTACATCCAGGACCACGGTGATGGCACGCACACCATTACCTACATTCCCCTCTGC
CCCGGGGCCTACACCGTCACCATCAAGTACGGCGGCCAGCCCGTGCCCAACTTCCC
CAGCAAGCTGCAGGTGGAACCTGCGGTGGACACTTCCGGTGTCCAGTGCTATGGGC
CTGGTATTGAGGGCCAGGGTGTCTTCCGTGAGGCCACCACTGAGTTCAGTGTGGAC
GCCCGGGCTCTGACACAGACCGGAGGGCCGCACGTCAAGGCCCGTGTGGCCAACCC
CTCAGGCAACCTGACGGAGACCTACGTTCAGGACCGTGGCGATGGCATGTACAAAG
TGGAGTACACGCCTTACGAGGAGGGACTGCACTCCGTGGACGTGACCTATGACGGC
AGTCCCGTGCCCAGCAGCCCCTTCCAGGTGCCCGTGACCGAGGGCTGCGACCCCTC
CCGGGTGCGTGTCCACGGGCCAGGCATCCAAAGTGGCACCACCAACAAGCCCAACA
AGTTCACTGTGGAGACCAGGGGAGCTGGCACGGGCGGCCTGGGCCTGGCTGTAGAG
GGCCCCTCCGAGGCCAAGATGTCCTGCATGGATAACAAGGACGGCAGCTGCTCGGT
CGAGTACATCCCTTATGAGGCTGGCACCTACAGCCTCAACGTCACCTATGGTGGCC
ATCAAGTGCCAGGCAGTCCTTTCAAGGTCCCTGTGCATGATGTGACAGATGCGTCC
AAGGTCAAGTGCTCTGGGCCCGGCCTGAGCCCAGGCATGGTTCGTGCCAACCTCCC
TCAGTCCTTCCAGGTGGACACAAGCAAGGCTGGTGTGGCCCCATTGCAGGTCAAAG
TGCAAGGGCCCAAAGGCCTGGTGGAGCCAGTGGACGTGGTAGACAACGCTGATGGC
ACCCAGACCGTCAATTATGTGCCCAGCCGAGAAGGGCCCTACAGCATCTCAGTACT
GTATGGAGATGAAGAGGTACCCCGGAGCCCCTTCAAGGTCAAGGTGCTGCCTACTC
ATGATGCCAGCAAGGTGAAGGCCAGTGGCCCCGGGCTCAACACCACTGGCGTGCCT
GCCAGCCTGCCCGTGGAGTTCACCATCGATGCAAAGGACGCCGGGGAGGGCCTGCT
GGCTGTCCAGATCACGGATCCCGAAGGCAAGCCGAAGAAGACACACATCCAAGACA
ACCATGACGGCACGTATACAGTGGCCTACGTGCCAGACGTGACAGGTCGCTACACC
ATCCTCATCAAGTACGGTGGTGACGAGATCCCCTTCTCCCCGTACCGCGTGCGTGC
CGTGCCCACCGGGGACGCCAGCAAGTGCACTGTCACAGTGTCAATCGGAGGTCACG
GGCTAGGTGCTGGCATCGGCCCCACCATTCAGATTGGGGAGGAGACGGTGATCACT
GTGGACACTAAGGCGGCAGGCAAAGGCAAAGTGACGTGCACCGTGTGCACGCCTGA
TGGCTCAGAGGTGGATGTGGACGTGGTGGAGAATGAGGACGGCACTTTCGACATCT
TCTACACGGCCCCCCAGCCGGGCAAATACGTCATCTGTGTGCGCTTTGGTGGCGAG
CACGTGCCCAACAGCCCCTTCCAAGTGACGGCTCTGGCTGGGGACCAGCCCTCGGT
GCAGCCCCCTCTACGGTCTCAGCAGCTGGCCCCACAGTACACCTACGCCCAGGGCG

GCCAGCAGACTTGGGCCCCGGAGAGGCCCCTGGTGGGTGTCAATGGGCTGGATGTG
ACCAGCCTGAGGCCCTTTGACCTTGTCATCCCCTTCACCATCAAGAAGGGCGAGAT
CACAGGGGAGGTTCGGATGCCCTCAGGCAAGGTGGCGCAGCCCACCATCACTGACA
ACAAAGACGGCACCGTGACCGTGCGGTATGCACCCAGCGAGGCTGGCCTGCACGAG
ATGGACATCCGCTATGACAACATGCACATCCCAGGAAGCCCCTTGCAGTTCTATGT
GGATTACGTCAACTGTGGCCATGTCACTGCCTATGGGCCTGGCCTCACCCATGGAG
TAGTGAACAAGCCTGCCACCTTCACCGTCAACACCAAGGATGCAGGAGAGGGGGGC
CTGTCTCTGGCCATTGAGGGCCCGTCCAAAGCAGAAATCAGCTGCACTGACAACCA
GGATGGGACATGCAGCGTGTCCTACCTGCCTGTGCTGCCGGGGGACTACAGCATTC
TAGTCAAGTACAATGAACAGCACGTCCCAGGCAGCCCCTTCACTGCTCGGGTCACA
GGTGACGACTCCATGCGTATGTCCCACCTAAAGGTCGGCTCTGCTGCCGACATCCC
CATCAACATCTCAGAGACGGATCTCAGCCTGCTGACGGCCACTGTGGTCCCGCCCT
CGGGCCGGGAGGAGCCCTGTTTGCTGAAGCGGCTGCGTAATGGCCACGTGGGGATT
TCATTCGTGCCCAAGGAGACGGGGGAGCACCTGGTGCATGTGAAGAAAAATGGCCA
GCACGTGGCCAGCAGCCCCATCCCGGTGGTGATCAGCCAGTCGGAAATTGGGGATG
CCAGTCGTGTTCGGGTCTCTGGTCAGGGCCTTCACGAAGGCCACACCTTTGAGCCT
GCAGAGTTTATCATTGATACCCGCGATGCAGGCTATGGTGGGCTCAGCCTGTCCAT
TGAGGGCCCCAGCAAGGTGGACATCAACACAGAGGACCTGGAGGACGGGACGTGCA
GGGTCACCTACTGCCCCACAGAGCCAGGCAACTACATCATCAACATCAAGTTTGCC
GACCAGCACGTGCCTGGCAGCCCCTTCTCTGTGAAGGTGACAGGCGAGGGCCGGGT
GAAAGAGAGCATCACCCGCAGGCGTCGGGCTCCTTCAGTGGCCAACGTTGGTAGTC
ATTGTGACCTCAGCCTGAAAATCCCTGAAATTAGCATCCAGGATATGACAGCCCAG
GTGACCAGCCCATCGGGCAAGACCCATGAGGCCGAGATCGTGGAAGGGGAGAACCA
CACCTACTGCATCCGCTTTGTTCCCGCTGAGATGGGCACACACACAGTCAGCGTGA
AGTACAAGGGCCAGCACGTGCCTGGGAGCCCCTTCCAGTTCACCGTGGGGCCCCTA
GGGGAAGGGGGAGCCCACAAGGTCCGAGCTGGGGGCCCTGGCCTGGAGAGAGCTGA
AGCTGGAGTGCCAGCCGAATTCAGTATCTGGACCCGGGAAGCTGGTGCTGGAGGCC
TGGCCATTGCTGTCGAGGGCCCCAGCAAGGCTGAGATCTCTTTTGAGGACCGCAAG
GACGGCTCCTGTGGTGTGGCTTATGTGGTCCAGGAGCCAGGTGACTACGAAGTCTC
AGTCAAGTTCAACGAGGAACACATTCCCGACAGCCCCTTCGTGGTGCCTGTGGCTT
CTCCGTCTGGCGACGCCCGCCGCCTCACTGTTTCTAGCCTTCAGGAGTCAGGGCTA
AAGGTCAACCAGCCAGCCTCTTTTGCAGTCAGCCTGAACGGGGCCAAGGGGGCGAT
CGATGCCAAGGTGCACAGCCCCTCAGGAGCCCTGGAGGAGTGCTATGTCACAGAAA
TTGACCAAGATAAGTATGCTGTGCGCTTCATCCCTCGGGAGAATGGCGTTTACCTG
ATTGACGTCAAGTTCAACGGCACCCACATCCCTGGAAGCCCCTTCAAGATCCGAGT
TGGGGAGCCTGGGCATGGAGGGGACCCAGGCTTGGTGTCTGCTTACGGAGCAGGTC
TGGAAGGCGGTGTCACAGGGAACCCAGCTGAGTTCGTCGTGAACACGAGCAATGCG
GGAGCTGGTGCCCTGTCGGTGACCATTGACGGCCCCTCCAAGGTGAAGATGGATTG
CCAGGAGTGCCCTGAGGGCTACCGCGTCACCTATACCCCCATGGCACCTGGCAGCT
ACCTCATCTCCATCAAGTACGGCGGCCCCTACCACATTGGGGGCAGCCCCTTCAAG
GCCAAAGTCACAGGCCCCCGTCTCGTCAGCAACCACAGCCTCCACGAGACATCATC
AGTGTTTGTAGACTCTCTGACCAAGGCCACCTGTGCCCCCCAGCATGGGGCCCCGG
GTCCTGGGCCTGCTGACGCCAGCAAGGTGGTGGCCAAGGGCCTGGGGCTGAGCAAG
GCCTACGTAGGCCAGAAGAGCAGCTTCACAGTAGACTGCAGCAAAGCAGGCAACAA
CATGCTGCTGGTGGGGGTTCATGGCCCAAGGACCCCCTGCGAGGAGATCCTGGTGA
AGCACGTGGGCAGCCGGCTCTACAGCGTGTCCTACCTGCTCAAGGACAAGGGGGAG
TACACACTGGTGGTCAAATGGGGGGACGAGCACATCCCAGGCAGCCCCTACCGCGT
TGTGGTGCCCTGAGTCTGGGGCCCGTGCCAGCCGGCAGCCCCCAAGCCTGCCCCGC
TACCCAAGCAGCCCCGCCCTCTTCCCCTCAACCCCGGCCCAGGCCGCCCTGGCCGC
CCGCCTGTCACTGCAGCCGCCCCTGCCCTGTGCCGTGCTGCGCTCACCTGCCTCCCC

AGCCAGCCGCTGACCTCTCGGCTTTCACTTGGGCAGAGGGAGCCATTTGGTGGCGC
TGCTTGTCTTCTTTGGTTCTGGGAGGGGTGAGGGATGGGGGTCCTGTACACAACCA
CCCACTAGTTCTCTTCTCCAGCCAAGAGGAATAAAGTTTTGCTTCCATTC

配列番号：２

＞配列番号１の逆相補体

GAATGGAAGCAAAACTTTATTCCTCTTGGCTGGAGAAGAGAACTAGTGGGTGGTTG
TGTACAGGACCCCCATCCCTCACCCCTCCCAGAACCAAAGAAGACAAGCAGCGCCA
CCAAATGGCTCCCTCTGCCCAAGTGAAAGCCGAGAGGTCAGCGGCTGGCTGGGGAG
GCAGGTGAGCGCAGCACGGCACAGGGCAGGGGCGGCTGCAGTGACAGGCGGGCGGC
CAGGGCGGCCTGGGCCGGGGTTGAGGGGAAGAGGGCGGGGCTGCTTGGGTAGCGGG
GCAGGCTTGGGGGCTGCCGGCTGGCACGGGCCCCAGACTCAGGGCACCACAACGCG
GTAGGGGCTGCCTGGGATGTGCTCGTCCCCCCATTTGACCACCAGTGTGTACTCCC
CCTTGTCCTTGAGCAGGTAGGACACGCTGTAGAGCCGGCTGCCCACGTGCTTCACC
AGGATCTCCTCGCAGGGGGTCCTTGGGCCATGAACCCCCACCAGCAGCATGTTGTT
GCCTGCTTTGCTGCAGTCTACTGTGAAGCTGCTCTTCTGGCCTACGTAGGCCTTGCT
CAGCCCCAGGCCCTTGGCCACCACCTTGCTGGCGTCAGCAGGCCCAGGACCCGGGG
CCCCATGCTGGGGGGCACAGGTGGCCTTGGTCAGAGAGTCTACAAACACTGATGAT
GTCTCGTGGAGGCTGTGGTTGCTGACGAGACGGGGGCCTGTGACTTTGGCCTTGAA
GGGGCTGCCCCCAATGTGGTAGGGGCCGCCGTACTTGATGGAGATGAGGTAGCTGC
CAGGTGCCATGGGGGTATAGGTGACGCGGTAGCCCTCAGGGCACTCCTGGCAATCC
ATCTTCACCTTGGAGGGGCCGTCAATGGTCACCGACAGGGCACCAGCTCCCGCATT
GCTCGTGTTCACGACGAACTCAGCTGGGTTCCCTGTGACACCGCCTTCCAGACCTG
CTCCGTAAGCAGACACCAAGCCTGGGTCCCCTCCATGCCCAGGCTCCCCAACTCGG
ATCTTGAAGGGGCTTCCAGGGATGTGGGTGCCGTTGAACTTGACGTCAATCAGGTA
AACGCCATTCTCCCGAGGGATGAAGCGCACAGCATACTTATCTTGGTCAATTTCTG
TGACATAGCACTCCTCCAGGGCTCCTGAGGGGCTGTGCACCTTGGCATCGATCGCC
CCCTTGGCCCCGTTCAGGCTGACTGCAAAAGAGGCTGGCTGGTTGACCTTTAGCCC
TGACTCCTGAAGGCTAGAAACAGTGAGGCGGCGGGCGTCGCCAGACGGAGAAGCCA
CAGGCACCACGAAGGGGCTGTCGGGAATGTGTTCCTCGTTGAACTTGACTGAGACT
TCGTAGTCACCTGGCTCCTGGACCACATAAGCCACACCACAGGAGCCGTCCTTGCG
GTCCTCAAAAGAGATCTCAGCCTTGCTGGGGCCCTCGACAGCAATGGCCAGGCCTC
CAGCACCAGCTTCCCGGGTCCAGATACTGAATTCGGCTGGCACTCCAGCTTCAGCT
CTCTCCAGGCCAGGGCCCCCAGCTCGGACCTTGTGGGCTCCCCCTTCCCCTAGGGG
CCCCACGGTGAACTGGAAGGGGCTCCCAGGCACGTGCTGGCCCTTGTACTTCACGC
TGACTGTGTGTGTGCCCATCTCAGCGGGAACAAAGCGGATGCAGTAGGTGTGGTTC
TCCCCTTCCACGATCTCGGCCTCATGGGTCTTGCCCGATGGGCTGGTCACCTGGGCT
GTCATATCCTGGATGCTAATTTCAGGGATTTTCAGGCTGAGGTCACAATGACTACC
AACGTTGGCCACTGAAGGAGCCCGACGCCTGCGGGTGATGCTCTCTTTCACCCGGC
CCTCGCCTGTCACCTTCACAGAGAAGGGGCTGCCAGGCACGTGCTGGTCGGCAAAC
TTGATGTTGATGATGTAGTTGCCTGGCTCTGTGGGGCAGTAGGTGACCCTGCACGT
CCCGTCCTCCAGGTCCTCTGTGTTGATGTCCACCTTGCTGGGGCCCTCAATGGACA
GGCTGAGCCCACCATAGCCTGCATCGCGGGTATCAATGATAAACTCTGCAGGCTCA
AAGGTGTGGCCTTCGTGAAGGCCCTGACCAGAGACCCGAACACGACTGGCATCCCC
AATTTCCGACTGGCTGATCACCACCGGGATGGGGCTGCTGGCCACGTGCTGGCCAT
TTTTCTTCACATGCACCAGGTGCTCCCCCGTCTCCTTGGGCACGAATGAAATCCCCA
CGTGGCCATTACGCAGCCGCTTCAGCAAACAGGGCTCCTCCCGGCCCGAGGGCGGG
ACCACAGTGGCCGTCAGCAGGCTGAGATCCGTCTCTGAGATGTTGATGGGGATGTC
GGCAGCAGAGCCGACCTTTAGGTGGGACATACGCATGGAGTCGTCACCTGTGACCC
GAGCAGTGAAGGGGCTGCCTGGGACGTGCTGTTCATTGTACTTGACTAGAATGCTG
TAGTCCCCCGGCAGCACAGGCAGGTAGGACACGCTGCATGTCCCATCCTGGTTGTC

AGTGCAGCTGATTTCTGCTTTGGACGGGCCCTCAATGGCCAGAGACAGGCCCCCCT
CTCCTGCATCCTTGGTGTTGACGGTGAAGGTGGCAGGCTTGTTCACTACTCCATGG
GTGAGGCCAGGCCCATAGGCAGTGACATGGCCACAGTTGACGTAATCCACATAGAA
CTGCAAGGGGCTTCCTGGGATGTGCATGTTGTCATAGCGGATGTCCATCTCGTGCA
GGCCAGCCTCGCTGGGTGCATACCGCACGGTCACGGTGCCGTCTTTGTTGTCAGTG
ATGGTGGGCTGCGCCACCTTGCCTGAGGGCATCCGAACCTCCCCTGTGATCTCGCC
CTTCTTGATGGTGAAGGGGATGACAAGGTCAAAGGGCCTCAGGCTGGTCACATCCA
GCCCATTGACACCCACCAGGGGCCTCTCCGGGGCCCAAGTCTGCTGGCCGCCCTGG
GCGTAGGTGTACTGTGGGGCCAGCTGCTGAGACCGTAGAGGGGGCTGCACCGAGGG
CTGGTCCCCAGCCAGAGCCGTCACTTGGAAGGGGCTGTTGGGCACGTGCTCGCCAC
CAAAGCGCACACAGATGACGTATTTGCCCGGCTGGGGGGCCGTGTAGAAGATGTCG
AAAGTGCCGTCCTCATTCTCCACCACGTCCACATCCACCTCTGAGCCATCAGGCGT
GCACACGGTGCACGTCACTTTGCCTTTGCCTGCCGCCTTAGTGTCCACAGTGATCA
CCGTCTCCTCCCCAATCTGAATGGTGGGGCCGATGCCAGCACCTAGCCCGTGACCT
CCGATTGACACTGTGACAGTGCACTTGCTGGCGTCCCCGGTGGGCACGGCACGCAC
GCGGTACGGGGAGAAGGGGATCTCGTCACCACCGTACTTGATGAGGATGGTGTAGC
GACCTGTCACGTCTGGCACGTAGGCCACTGTATACGTGCCGTCATGGTTGTCTTGG
ATGTGTGTCTTCTTCGGCTTGCCTTCGGGATCCGTGATCTGGACAGCCAGCAGGCC
CTCCCCGGCGTCCTTTGCATCGATGGTGAACTCCACGGGCAGGCTGGCAGGCACGC
CAGTGGTGTTGAGCCCGGGGCCACTGGCCTTCACCTTGCTGGCATCATGAGTAGGC
AGCACCTTGACCTTGAAGGGGCTCCGGGGTACCTCTTCATCTCCATACAGTACTGA
GATGCTGTAGGGCCCTTCTCGGCTGGGCACATAATTGACGGTCTGGGTGCCATCAG
CGTTGTCTACCACGTCCACTGGCTCCACCAGGCCTTTGGGCCCTTGCACTTTGACCT
GCAATGGGGCCACACCAGCCTTGCTTGTGTCCACCTGGAAGGACTGAGGGAGGTTG
GCACGAACCATGCCTGGGCTCAGGCCGGGCCCAGAGCACTTGACCTTGGACGCATC
TGTCACATCATGCACAGGGACCTTGAAAGGACTGCCTGGCACTTGATGGCCACCAT
AGGTGACGTTGAGGCTGTAGGTGCCAGCCTCATAAGGGATGTACTCGACCGAGCAG
CTGCCGTCCTTGTTATCCATGCAGGACATCTTGGCCTCGGAGGGGCCCTCTACAGC
CAGGCCCAGGCCGCCCGTGCCAGCTCCCCTGGTCTCCACAGTGAACTTGTTGGGCT
TGTTGGTGGTGCCACTTTGGATGCCTGGCCCGTGGACACGCACCCGGGAGGGGTCG
CAGCCCTCGGTCACGGGCACCTGGAAGGGGCTGCTGGGCACGGGACTGCCGTCATA
GGTCACGTCCACGGAGTGCAGTCCCTCCTCGTAAGGCGTGTACTCCACTTTGTACA
TGCCATCGCCACGGTCCTGAACGTAGGTCTCCGTCAGGTTGCCTGAGGGGTTGGCC
ACACGGGCCTTGACGTGCGGCCCTCCGGTCTGTGTCAGAGCCCGGGCGTCCACACT
GAACTCAGTGGTGGCCTCACGGAAGACACCCTGGCCCTCAATACCAGGCCCATAGC
ACTGGACACCGGAAGTGTCCACCGCAGGTTCCACCTGCAGCTTGCTGGGGAAGTTG
GGCACGGGCTGGCCGCCGTACTTGATGGTGACGGTGTAGGCCCCGGGGCAGAGGGG
AATGTAGGTAATGGTGTGCGTGCCATCACCGTGGTCCTGGATGTACACCTCGGCCG
GAAGCCCCGCCTCCGAGCAGATCTCAATGGTCAGCTCCGCGCTGCCCGCGCTCGAG
CAGTCCACTTGGAATTGGCCCACCTCCCCAGCGGTGGCCCGCTCCAGCCCGGGGCC
TGAGCACTTGACTTTGGATGCGTCAAAGCAGGGAACCACGTGGGCCTTGAATGGGG
AGCCAGGGATGTGGGTGTCAGCGAAGAGGATGTTGATGTTGTAGTCCCCGGGCTCG
GTGGGCACGTAGGACACGGAACATGTGCCATCCCCATTGTCCAAGCACTCGAGCTG
CGCCTCACAGGGGCCCTCCACCGTCAGGCCCAGGCCACCTGTGCCGGCGCCCTTGG
TGTCGATGGTGAAGCGGGCGGGGGAGCCCGCACTGCCTCCCTGCAGCCCCGGCCCA
AACGCCTTCACCTTGCTAGGCTTGGTGGGGGCCACAGCTTCCAGAGGAAAGGGGCT
GCCAGGCACGGGCACGCCGTCATAGGTCACCTCCACCTCATAGGGCCCTTCCTCAC
GGGGCAGGAAGCGCACCACACTGTTGTCAGCCCCCAGGCCTGGCTCCACCTTGCAG
GGCACCGCTGCACCCGAGGGGCCCACAATCTTGGATGCCACTTTGCCTTGACCACC
AGCACCCTTTGATTTGACTGTGAACTCCTGGTCTTTGCCAACGTCCACCTTCTCTCC

CAGGCCAGACACCTTGATCTTGCTGAGGTCCAGGCTTGGAGATACTGCCACTGAGA
AAGGGCTCTTAGGGATGGGATCCCCTCCATAAGTGACATTGACGCCTACTGGACCC
TGCTGGACAGGCGTGTACTTGACTGTGTAGGTGTTGTCATGGTGGTCGATGATGTC
CACATCTCGCACTGCATCCCCCTTGGTGAGTCCTGAGAACTGGACGTCCAGCTTGC
CTTTGCCAGCAGCTTTGGCATTTACTGTGAAGTGGGTGGGCTTGCCAAGCTCGACA
CCAGTGCGACTGAGGCCAGGGCCCTCGGCCTTCACCTTACTGGCGTCATGAGAGGG
CTCCACCTTGACTCGGATGGGGCTGGTGGGCGTGGCCTGGTCAGCAAAGAGGACCA
TAATGGTGTAGCTGCCAGCCCCCCGGGGCGTGTACTTGACCGTGAAGGTGTCATTG
TCATTGCGGATGATGTCGAAGTCGATGTCAGCTTCGGCGGGGCCTACCACTCCAGG
GGCACACTTGATGCCGATGCTGACGTCCCCCTGGCCAGCCTCGGCGCAGTCCACAG
TGAAGTAGGTGGGCTCGTGGGCCTTGAGCCCTGTCTTGGCTACTCCGGGGCCGTAT
ACTTTGACCTTGTTGGGGTGGCTGCCAGCTCCCACATTCACCCTGAAGGGGCTGTT
GGGGATGCTGACGCCTCCCCAGGACACCATGGCTGTGTGCTTCACCGGCTTCCTGG
GCACGTAGGAGCAGCTGTAAGTGCCATTGCCGTTGTCCTTGACCAACGCCTCCACA
GGGCAGCCTTCATTGTCCTGGACTTGGACCCGAAGTGGGGCCTTGCCACCGTGCTT
GGCATCCACTGTGAACTCTGCTGGCTTGTTGACGGCCACACCTGTCTTCTCCAATCC
AGGCCCACGTGCCTTCACCCTGTCTGGGTGGAAGTCCTGGGGCGCGTCACGGATGT
CAGCCATGAAGGGGCTGAGGCGGATGTCTTCGCTGTTGCACAGCACGTGAACGGCA
TACTCGCCAGCCTCCTGCGGCCAGTAGCGCACATCACAGGAGCCGTCGCCCTTGTC
GTCACATTCGATCTTAGCCTGCGATGGCCCTTCCACCGAGAAGCCCAGCGTGCCCA
CGTCGTCCCCGATAGCCTCCACCACAAAGTCTGCTGACTTGCCAACGACGCCGCCC
TCCAGCCCAGGGCCCCAGGCCCGTACCTTCTGATTGCCACACTCGGTGCCCACCTT
CACTTCGAAGGGACTGCGCCCGATGTTCTGACCACCCCACGTGATGGTGACGATAT
AGGTTCCAGGGACCATGGGGTAATACTCGAAGCCATACACGCCATCCCCCAGGTCC
TTCTGCTTCACGCGCTCCTCTCCCTTGGGGCCCTTCACGGTGACCTTCAGCTCCCCA
CTGCCAGCGCCCTTTGTGTACACCTTGAAGTCAGCTGTCTCCTTCACCCGCACACCC
TTGGGCTGGAGGCCCCGGCCAACCGCCCGGCAGGCACTCGGGTTACAGGCTTGGCC
AACAGTGACAGTGTAGGGGCTGCGAGGGATGGGCACGCCGGCAAACGTGACGTGCA
CGGTGTGGACGCCCTCCATGGTGGGCTGGTAGCTGCAGCGGTATGTGCTGTCGCCC
CGGGCCTCCAGCTGAGGCTCTACCGTGCCCTTCTGTCCCATGGGGTCCTGGATCAC
AACCTCGACCTCGCCCGTGCCAGCTCCTGCCGTAAAGATCTCAAAGTAGGTGGTCT
TGTTGGCGATGTTGCCACTGGGCTCCAGGCCGGGACCTTGGGCTGTCACTTTGCTG
GCGTCACCCTGTGACTTATCCACGTACACCTCGAAGGGGCTCTTGGCGATGTGCTG
GCCAGCAAAGAGCACAGTAACCTTATGAGTCCCCGTCACCTCGGGGACGTACCAGA
CGGAGAAGGTGCGGTTCTTGTCGTTATTGGCGGTCACTTTTGCCTCCTCCTGGTGTC
CGGCCGGGTCCTCCACGTACACCAGCACCTCTCCCTGGCCAGCACTTCTGGTCTCC
ACAGTGAACTCTGCCCGCTTCTTCACCATGTTGCCTGTGGGCTCGATGCCTGGCCC
GTAGGCACGGGCTTTCTTCGGGTTCAGTTTGGGCCGCAAGGGAGCCCCTGGCTTCA
GCTTGGCCTTGGGGAACTGGGACAGGTAGGTCATGACAGAGTGCTCGTCCACGTTG
GGGTCCACAATCTCCTCGGGGGTGATCACCTGGGGGATGCCCAGCCAGTCATCCGC
CTGCTGCATGGCCTCTCGCGCATTGGTAACGGGCTTGCTGGCGTCCCAAGAGTCCC
AGTCAGGACACAGGCCCGGGGCACAGCTGTCCACCAGGGCGCCCAGGGCCCGGCCG
CTCTGCCAGTCCCGGCTGAAGTTGGTGATGGGCAGCTGCGGCAGCTTGTTCTGGAT
CCAGCCCAGGAGCCTCTGCTTGGGGGTCTGCTTCTTGGCCTCCTCATCCTCCTCCTC
GTCCCACATGGGCATGGAGATGGAGTAGTGCAGGATCAGGGTCCAGATGAGGCCCA
GGATCAGCTTCAGGTTCCCGTCCACGATGGCCTTGCTGTCGATGGACACCAGTTTG
ATGCTCTCGCGGTCCAGGAACTCGAGCGCCACCGACACGTTCTCAAGCTGCATTTG
GCGGAAAGTGGGCCGCTGGTTGTGCTTGCGGTGCATCTTCTTCTGGCTGAGCACCT
CCAACAGCGCGATAAGCCGCAGCCCGTCGCTCAGGTCCGTCTGCAGGTTGGCGATG
CGCTTGCTCACGCACTTCAGGTGCTCGTTGCACCAGCGCGTGAAAGTGTTCTGCTG

GATCTTCTTCCACGGCGCGTCCTCCGCCAGGTCCTTCTCGGTGGCCGGCATCTCGGC
GTCCCGCGTGTCGACGCCGCCGCCCCGGAGCCGCGCCTGCTGCGCTCTGGCCCGCCC
GAGAGTGGGAGCTACTCATTTTGAGGCGCGAGAAGCCGGGGGGGCGGTGCTGCAGC
CTCGGCGAGGGGACGGCCCTTTAATTAAAGTCGCAGGCACCTAGGCGCGCGGGAGG
CGAGGCAGGGAGCAGAGGTTGCGCTGCTGTTCCTGAGAGCGACCGGTGACCGATGA
CCGCGGGGTGGCGCCCGGATCGCCTTCGCGCCCGCGCCCGCGCCAGGCGCCTCGGG
GATTCTGTCGGCGTCCGCTGCGCGCGACGCGCCTCCACGC

配列番号：１３５７

＞ＸＭ＿００６５２７９１１．５　予測：ハツカネズミ筋フィラミン、アルファ（Ｆｌｎａ）、転写バリアントＸ１、ｍＲＮＡ

TGAGCGGGGCACTTGAGCTCGTGGCGAGCCCCGCACCCACTCCCTGCCCCCAGCTC
CCGGGCGATTTTTACCAATTAAGGCTTTCTTGCCGGGCCGGGCGCGGGGCGGGCGT
GGGGCGGGGATGCAGCTAACAAGAAGGCGGGAGGCAGCGGCTCATTCGCGTGGAGG
CGCGCAGCGCGCAGCGGACGCCAGTGGAGCTCTGAGGCTTCCGGCGCGGGCGCGAA
GAGCTGGGCGCCACCCGGCGGTTAGAGGGACAGCAGTGCAACCTCTGTTCTGTGCC
TCGTCGTTCATGCTCGGAGGTGCCTACTGCTTTAATTAAAGGGCCGTCCCATCGGC
GAAGCTGCAGCACCGCCCCTCCGTTCCTCGCGCCTCAAAATGAGTAGCTCTCACTC
CCGCTGTGGCCAGAGTGCGGCGGTTGCGTCTCCGGGAGGCAGTATCGATTCACGGG
ACGCGGAGATGCCGGCTACCGAAAAAGACCTAGCAGAAGATGCACCGTGGAAGAAA
ATTCAGCAGAACACATTCACCCGCTGGTGCAATGAGCACCTTAAGTGCGTAAGCAA
GCGCATCGCCAATCTGCAGACGGACCTGAGCGATGGGTTGCGGCTCATCGCGCTGC
TCGAGGTACTCAGCCAGAAGAAAATGCACCGCAAGCACAACCAAAGACCCACTTTC
CGCCAGATGCAGCTCGAAAATGTGTCGGTGGCGCTTGAATTCCTGGACCGTGAGAG
CATCAAGCTCGTGTCCATAGACAGCAAGGCTATTGTGGATGGAAATCTGAAGCTGA
TCTTAGGCCTCATCTGGACCCTGATCCTGCACTATTCCATCTCAATGCCCATGTGGG
ATGAGGAAGAGGATGAGGAGGCCAAGAAGCAAACACCCAAGCAGAGGCTTCTAGGC
TGGATTCAGAACAAGCTACCACAGCTTCCCATTACCAACTTCAGTCGAGACTGGCA
GAGTGGCCGGGCCCTGGGTGCTCTTGTTGATAGCTGTGCCCCAGGCCTATGTCCTG
ACTGGGACTCCTGGGATGCTAGTAAGCCTGTGAACAATGCACGGGAAGCCATGCAG
CAGGCTGATGACTGGCTAGGCATTCCTCAGGTGATTACCCCAGAAGAAATTGTGGA
CCCCAATGTAGATGAGCATTCTGTTATGACCTACCTGTCTCAGTTTCCCAAGGCCA
AGCTGAAGCCAGGGGCTCCTCTTCGGCCCAAACTGAACCCGAAGAAAGCCCGAGCC
TATGGGCCAGGCATCGAGCCTACAGGCAATATGGTGAAGAAGAGAGCAGAATTCAC
TGTGGAGACCCGAAGTGCTGGACAGGGAGAAGTGCTTGTATATGTGGAGGACCCAG
CTGGACACCAGGAAGAGGCAAAAGTGACTGCCAATAATGACAAGAACCGTACTTTC
TCTGTCTGGTATGTCCCTGAAGTGACAGGGACTCATAAGGTGACTGTGCTCTTTGC
TGGCCAACATATTGCCAAGAGCCCCTTTGAGGTGTATGTGGACAAGTCACAGGGTG
ATGCCAGCAAAGTGACTGCCCAGGGCCCTGGTCTGGAGCCCAGTGGCAATATTGCC
AACAAGACTACCTACTTTGAGATCTTCACTGCAGGAGCTGGCATGGGTGAGGTGGA
AGTTGTCATCCAGGACCCTACAGGACAGAAAGGCACAGTGGAACCTCAGCTGGAGG
CCAGGGGTGACAGCACCTATCGCTGTAGCTATCAGCCCACCATGGAGGGTGTCCAT
ACAGTACATGTCACCTTCGCCGGTGTTCCCATCCCTCGTAGCCCCTACACTGTCACT
GTTGGCCAAGCCTGTAACCCAGCTGCCTGCCGGGCTATTGGTAGAGGCCTTCAGCC
CAAGGGTGTTCGAGTGAAGGAAACAGCCGACTTCAAGGTGTACACAAAGGGCGCTG
GCAGTGGGGAGCTAAAGGTCACTGTAAAGGGTCCCAAGGGTGAGGAGCGTGTAAAG
CAGAAGGACTTAGGGGATGGTGTGTATGGCTTTGAATATTACCCTACAATCCCTGG
CACATACACTGTCACCATCACATGGGGTGGCCAGAACATTGGTCGAAGTCCGTTTG
AGGTGAAGGTAGGCACTGAGTGTGGCAATCAGAAAGTTCGGGCATGGGGTCCTGGC
CTGGAAGGAGGCATTGTTGGCAAGTCAGCAGACTTCGTAGTAGAGGCCATTGGTGA
TGATGTGGGCACCTTGGGTTTCTCTGTGGAAGGTCCATCACAGGCAAAGATTGAAT

GTGACGACAAGGGTGATGGCTCCTGTGATGTGCGCTATTGGCCCCAGGAGGCTGGC
GAGTATGCTGTTCATGTGCTGTGTAACAGTGAGGATATCCGTCTCAGTCCTTTCAT
GGCTGACATCCGTGAGGCACCCCAGGATTTTCACCCAGACAGGGTGAAGGCACGTG
GGCCTGGATTGGAGAAGACTGGTGTGGCTGTCAACAAGCCAGCAGAGTTCACAGTT
GATGCCAAGCATGCTGGGAAGGCTCCTCTTCGAGTTCAAGTTCAGGACAATGAGGG
CTGCTCTGTGGAAGCGACAGTCAAGGACAATGGCAATGGTACTTACAGCTGTTCTT
ATGTGCCCAGAAAGCCAGTGAAGCACACAGCCATGGTTTCTTGGGGAGGTGTCAGC
ATCCCCAACAGTCCTTTCCGGGTGAATGTGGGAGCTGGCAGCCATCCAAACAAAGT
CAAGGTGTATGGTCCAGGAGTGGCCAAGACTGGGCTCAAGGCCCATGAACCTACCT
ACTTTACTGTGGATTGTACTGAAGCTGGCCAGGGAGATGTCAGCATTGGTATCAAG
TGTGCCCCTGGAGTAGTGGGCCCCACTGAGGCTGATATTGACTTTGATATCATCCG
CAATGACAATGACACCTTCACTGTAAAATACACACCCTGTGGGGCTGGCAGCTATA
CCATCATGGTCCTTTTTGCTGACCAGGCCACACCCACCAGCCCCATCAGAGTCAAA
GTGGAGCCTTCTCATGATGCCAGCAAGGTGAAGGCTGAGGGTCCTGGCCTAAATCG
CACTGGTGTTGAACTTGGCAAACCCACCCATTTCACAGTCAATGCTAAAACTGCTG
GGAAAGGCAAGCTGGATGTCCAATTCTCAGGACTGGCTAAGGGAGATGCAGTACGG
GATGTGGACATCATTGACCACCATGATAATACCTACACAGTCAAGTACATTCCTGT
GCAGCAGGGCCCAGTAGGTGTCAATGTCACTTATGGAGGAGATCACATCCCCAAGA
GTCCATTTTCAGTGGGAGTATCTCCAAGCCTGGATCTCAGCAAAATCAAGGTGTCT
GGCCTTGGTGACAAAGTGGACGTTGGCAAAGATCAAGAGTTCACAGTAAAGTCAAA
GGGTGCAGGTGGTCAAGGCAAAGTAGCATCCAAGATTGTGAGTCCCTCAGGTGCAG
CGGTACCCTGCAAGGTAGAGCCAGGCCTGGGAGCTGACAACAGCGTGGTACGTTTT
GTGCCCCGTGAAGAGGGGCCCTATGAGGTGGAAGTGACCTATGATGGTGTGCCTGT
ACCTGGCAGTCCCTTTCCACTAGAAGCTGTGGCCCCCACCAAACCCAGCAAGGTGA
AGGCGTTTGGACCAGGGCTACAGGGGGGCAATGCAGGCTCCCCTGCCCGCTTCACC
ATTGATACAAAGGGTGCTGGCACTGGTGGCCTGGGCCTGACAGTGGAAGGCCCCTG
TGAAGCACAGCTTGAGTGCCTAGACAACGGGGATGGTACATGCTCTGTGTCTTATG
TACCCACTGAGCCTGGGGACTACAACATCAACATCCTTTTTGCTGACACCCACATT
CCTGGATCCCCATTCAAGGCCCATGTGGCTCCTTGTTTTGATGCATCCAAGGTGAA
GTGCTCAGGCCCTGGGCTGGAGCGGGCTACTGCTGGTGAGGTAGGGCAGTTCCAAG
TGGACTGTTCAAGTGCTGGCAGTGCTGAGTTGACGATTGAGATCTGCTCTGAGGCA
GGACTGCCAGCTGAAGTATACATTCAAGACCATGGTGATGGCACACACACCATTAC
CTATATTCCTCTCTGTCCTGGGGCTTACACTGTTACCATCAAGTATGGCGGCCAGCC
TGTGCCCAACTTCCCCAGCAAGCTACAGGTGGAACCTGCTGTAGATACCTCAGGTG
TACAGTGCTATGGGCCTGGGATTGAAGGTCAAGGTGTCTTCCGAGAGGCAACCACT
GAGTTCAGTGTGGATGCCCGGGCTCTTACACAGACTGGAGGGCCACATGTCAAGGC
TCGAGTGGCCAACCCCTCAGGCAATCTGACAGATACCTATGTGCAAGACTGTGGGG
ATGGCACATACAAAGTGGAATACACTCCATATGAGGAAGGAGTACACTCTGTGGAT
GTGACTTATGATGGCAGCCCTGTGCCCAGCAGCCCCTTCCAGGTGCCTGTAACAGA
GGGCTGTGACCCCTCCCGGGTGCGTGTCCATGGACCAGGCATCCAAAGTGGTACCA
CCAACAAACCCAACAAGTTCACAGTAGAAACCAGGGGAGCTGGCACAGGTGGCCTG
GGCTTGGCTGTTGAGGGTCCCTCAGAGGCCAAGATGTCTTGTATGGATAATAAAGA
TGGCAGCTGCTCAGTAGAATACATCCCCTATGAAGCTGGAACCTATAGCCTTAATG
TCACTTATGGTGGTCACCAAGTGCCAGGTAGTCCCTTCAAGGTCCCTGTACATGAT
GTGACAGATGCATCTAAAGTCAAGTGTTCTGGACCTGGCCTAAGCCCAGGCATGGT
CCGTGCCAACCTCCCTCAGTCCTTTCAGGTGGACACAAGCAAAGCTGGAGTTGCCC
CACTGCAGGTCAAAGTGCAGGGGCCCAAAGGCCTGGTGGAGCCAGTGGATGTAGTG
GACAATGCTGATGGTACTCAGACTGTCAACTATGTGCCCAGCCGAGAAGGGTCCTA
TAGCATTTCTGTGCTGTATGGTGAAGAAGAAGTGCCACGGAGCCCCTTCAAGGTCA
AGGTGCTGCCTACACATGATGCCAGTAAGGTGAAGGCCAGTGGACCTGGACTCAAC

ACCACTGGTGTACCTGCTAGCCTGCCTGTGGAGTTCACCATTGATGCCAAGGATGC
TGGGGAGGGTCTGTTGGCTGTCCAGATTACGGATCCTGAAGGCAAGCCCAAGAAGA
CACACATTCAAGATAATCATGATGGCACATACACGGTGGCTTATGTGCCAGATGTG
CCAGGCCGGTACACAATCCTCATCAAGTATGGTGGTGATGAGATTCCCTTTTCCCC
GTACCGTGTCCGGGCTGTGCCCACTGGGGATGCCAGCAAGTGCACAGTCACAGTGT
CAATCGGAGGTCACGGGCTAGGTGCTGGCATTGGCCCCACCATCCAGATTGGGGAG
GAGACGGTGATTACTGTGGACACAAAAGCAGCAGGCAAAGGCAAAGTGACTTGTAC
TGTGTGCACACCTGATGGCTCAGAGGTAGACGTGGACGTGGTGGAGAATGAGGATG
GCACCTTTGACATCTTCTACACAGCTCCCCAACCGGGCAAATATGTCATCTGTGTG
CGCTTCGGTGGCGAGCATGTGCCCAACAGCCCCTTCCAAGTTACAGCTTTGGCTGG
GGACCAACCAACAGTGCAGACCCCATTAAGGTCTCAGCAGCTGGCTCCACAGTATA
ACTATCCTCAGGGTAGCCAGCAAACCTGGATTCCAGAGAGGCCCATGGTGGGCGTT
AATGGGCTGGATGTGACCAGCCTGAGGCCCTTTGATCTTGTCATCCCCTTCACTAT
CAAGAAGGGGGAGATCACTGGGGAAGTTCGAATGCCCTCAGGCAAGGTGGCCCAGC
CTTCCATTACTGATAACAAAGATGGCACTGTTACTGTACGTTACTCACCCAGTGAA
GCTGGCCTGCATGAAATGGACATTCGCTATGACAATATGCATATCCCAGGAAGCCC
TCTGCAGTTCTATGTTGATTATGTCAACTGTGGCCACATCACTGCTTATGGTCCTGG
CCTTACCCATGGAGTGGTCAACAAACCTGCCACCTTCACTGTCAACACCAAGGATG
CAGGAGAGGGGGGCTTGTCTCTGGCCATTGAGGGTCCATCTAAAGCAGAAATCAGT
TGCACTGACAACCAGGATGGAACATGCAGTGTCTCTTACCTGCCTGTACTGCCTGG
TGACTATAGCATCCTAGTTAAGTACAATGATCAACACATCCCAGGCAGTCCCTTTA
CTGCCAGAGTAACAGGTGACGATTCCATGCGTATGTCCCACCTAAAGGTGGGTTCT
GCTGCTGATATCCCCATCAATATCTCAGAAACAGACCTTAGCCTACTCACAGCCAC
TGTGGTGCCACCTTCGGGTCGAGAGGAACCCTGTCTGCTGAAACGTTTGCGAAATG
GCCACGTGGGGATTTCCTTCGTGCCCAAGGAGACAGGGGAGCACCTGGTACATGTG
AAGAAGAATGGCCAGCATGTGGCAAGCAGTCCCATCCCAGTAGTGATCAGCCAGTC
GGAGATAGGTGATGCCAGCCGTGTGAGGGTCTCTGGTCAAGGTCTTCATGAAGGTC
ATACCTTTGAGCCTGCAGAGTTTATTATTGACACCAGAGATGCAGGCTACGGTGGG
CTTAGTCTGTCCATTGAGGGCCCTAGCAAAGTAGACATCAACACAGAGGATCTGGA
GGATGGCACATGCAGGGTCACCTACTGTCCCACAGAGCCTGGAAACTACATTATAA
ACATCAAATTTGCTGACCAGCATGTGCCTGGCAGTCCCTTTTCTGTGAAGGTGACA
GGTGAGGGCCGGGTGAAAGAGAGTATCACACGCAGGCGACGTGCCCCTTCTGTGGC
CAATATTGGCAGTCATTGTGACCTCAGCCTGAAGATTCCTGAAATTAGCATCCAAG
ATATGACAGCCCAGGTGACCAGCCCATCAGGCAAGACCCATGAGGCAGAGATCGTA
GAAGGAGAGAACCATACTTACTGTATCCGATTTGTGCCTGCTGAGATGGGAATGCA
TACAGTCAGTGTCAAGTACAAGGGCCAGCATGTACCTGGGAGCCCCTTCCAGTTCA
CTGTGGGGCCTCTGGGGGAAGGGGGTGCTCACAAGGTCCGTGCTGGAGGCCCTGGC
CTAGAGAGGGCTGAAGTTGGAGTGCCAGCGGAGTTCGGCATTTGGACTAGGGAAGC
TGGCGCTGGAGGCCTGGCCATTGCTGTTGAAGGCCCCAGCAAGGCTGAGATCTCTT
TCGAGGACCGAAAGGATGGCTCCTGTGGTGTGGCCTACGTAGTTCAGGAGCCAGGT
GACTATGAGGTCTCAGTCAAGTTCAACGAGGAGCACATACCTGATAGCCCCTTCGT
GGTGCCTGTGGCTTCTCCGTCTGGTGACGCCCGCCGCCTTACTGTTTCTAGTCTTCA
GGAGTCAGGGTTAAAGGTCAACCAGCCAGCATCTTTTGCAGTCAGTCTGAATGGAG
CCAAGGGGGCAATTGATGCCAAGGTGCACAGCCCCTCAGGAGCTCTGGAGGAGTGC
TATGTCACAGAGATTGACCAAGATAAGTATGCTGTGCGTTTCATCCCACGAGAGAA
TGGCATCTACTTGATTGATGTCAAGTTCAATGGTACTCACATTCCTGGAAGTCCCTT
CAAGATCCGAGTTGGGGAGCCTGGGCATGGAGGGGACCCAGGCTTAGTGTCCGCCT
ATGGAGCAGGCCTGGAAGGTGGTGTCACAGGGAGCCCAGCAGAGTTTATTGTGAAC
ACAAGCAATGCAGGAGCTGGTGCCCTTTCGGTTACCATTGATGGCCCCTCCAAGGT
GAAGATGGATTGCCAGGAGTGCCCCGAGGGCTATCGTGTCACCTATACCCCCATGG

CACCTGGCAGCTACCTCATCTCCATCAAGTATGGTGGCCCCTATCACATTGGTGGA
AGTCCCTTTAAAGCCAAGGTCACAGGTCCTCGTCTTGTAAGCAACCACAGCCTCCA
TGAGACATCATCTGTGTTTGTGGACTCTTTGACTAAAGTTGCCACGGTTCCCCAGC
ATGCAACCTCAGGCCCAGGTCCTGCTGATGTCAGCAAGGTAGTAGCCAAAGGCCTG
GGGCTAAGCAAGGCTTATGTAGGCCAGAAGAGCAACTTCACAGTAGATTGCAGCAA
AGCAGGTAACAACATGCTGCTGGTGGGCGTGCATGGCCCAAGGACACCCTGTGAAG
AGATCCTGGTGAAACACATGGGCAGCCGCCTCTATAGTGTCTCTTACCTGCTCAAG
GACAAAGGGGAGTACACACTGGTGGTCAAGTGGGGTGATGAGCATATCCCAGGCAG
CCCATACCGCATTATGGTACCCTGAGCCTGCCACCTAAGTTGGCACCTGTGCCAGC
TAGAAGCTCCCATGGCAATGAGCATCCCCACACCTGTCCTATTCCCAAGAAGCCCC
ATTTTCCTTTCCTGAGCCCTGGACCCTCCCTTCCCTGGATCACTCTGGCCGCTCTTC
ACTGCATTCGCCCTTGCCCTGCACTGTGTTCACCTGTCTCTGGGCTTTCACTTGGGC
AGAGGGAGCCATTTGGTGGCAGAGCATGTCTTCTTTGGTTCTGGGAGGTGGAAGTC
CTATGTACAACCACCTTCTAGTTCTCTTTCCCAGCCAAGAGGAATAAAATTTTGCTT
CCGTTGTCCTGTGAA

配列番号：１３５８

＞配列番号：１３５７の逆相補体

TTCACAGGACAACGGAAGCAAAATTTTATTCCTCTTGGCTGGGAAAGAGAACTAGA
AGGTGGTTGTACATAGGACTTCCACCTCCCAGAACCAAAGAAGACATGCTCTGCCA
CCAAATGGCTCCCTCTGCCCAAGTGAAAGCCCAGAGACAGGTGAACACAGTGCAGG
GCAAGGGCGAATGCAGTGAAGAGCGGCCAGAGTGATCCAGGGAAGGGAGGGTCCAG
GGCTCAGGAAAGGAAAATGGGGCTTCTTGGGAATAGGACAGGTGTGGGGATGCTCA
TTGCCATGGGAGCTTCTAGCTGGCACAGGTGCCAACTTAGGTGGCAGGCTCAGGGT
ACCATAATGCGGTATGGGCTGCCTGGGATATGCTCATCACCCCACTTGACCACCAG
TGTGTACTCCCCTTTGTCCTTGAGCAGGTAAGAGACACTATAGAGGCGGCTGCCCA
TGTGTTTCACCAGGATCTCTTCACAGGGTGTCCTTGGGCCATGCACGCCCACCAGC
AGCATGTTGTTACCTGCTTTGCTGCAATCTACTGTGAAGTTGCTCTTCTGGCCTACA
TAAGCCTTGCTTAGCCCCAGGCCTTTGGCTACTACCTTGCTGACATCAGCAGGACC
TGGGCCTGAGGTTGCATGCTGGGGAACCGTGGCAACTTTAGTCAAAGAGTCCACAA
ACACAGATGATGTCTCATGGAGGCTGTGGTTGCTTACAAGACGAGGACCTGTGACC
TTGGCTTTAAAGGGACTTCCACCAATGTGATAGGGGCCACCATACTTGATGGAGAT
GAGGTAGCTGCCAGGTGCCATGGGGGTATAGGTGACACGATAGCCCTCGGGGCACT
CCTGGCAATCCATCTTCACCTTGGAGGGGCCATCAATGGTAACCGAAAGGGCACCA
GCTCCTGCATTGCTTGTGTTCACAATAAACTCTGCTGGGCTCCCTGTGACACCACCT
TCCAGGCCTGCTCCATAGGCGGACACTAAGCCTGGGTCCCCTCCATGCCCAGGCTC
CCCAACTCGGATCTTGAAGGGACTTCCAGGAATGTGAGTACCATTGAACTTGACAT
CAATCAAGTAGATGCCATTCTCTCGTGGGATGAAACGCACAGCATACTTATCTTGG
TCAATCTCTGTGACATAGCACTCCTCCAGAGCTCCTGAGGGGCTGTGCACCTTGGC
ATCAATTGCCCCCTTGGCTCCATTCAGACTGACTGCAAAAGATGCTGGCTGGTTGA
CCTTTAACCCTGACTCCTGAAGACTAGAAACAGTAAGGCGGCGGGCGTCACCAGAC
GGAGAAGCCACAGGCACCACGAAGGGGCTATCAGGTATGTGCTCCTCGTTGAACTT
GACTGAGACCTCATAGTCACCTGGCTCCTGAACTACGTAGGCCACACCACAGGAGC
CATCCTTTCGGTCCTCGAAAGAGATCTCAGCCTTGCTGGGGCCTTCAACAGCAATG
GCCAGGCCTCCAGCGCCAGCTTCCCTAGTCCAAATGCCGAACTCCGCTGGCACTCC
AACTTCAGCCCTCTCTAGGCCAGGGCCTCCAGCACGGACCTTGTGAGCACCCCCTT
CCCCCAGAGGCCCCACAGTGAACTGGAAGGGGCTCCCAGGTACATGCTGGCCCTTG
TACTTGACACTGACTGTATGCATTCCCATCTCAGCAGGCACAAATCGGATACAGTA
AGTATGGTTCTCTCCTTCTACGATCTCTGCCTCATGGGTCTTGCCTGATGGGCTGGT
CACCTGGGCTGTCATATCTTGGATGCTAATTTCAGGAATCTTCAGGCTGAGGTCAC
AATGACTGCCAATATTGGCCACAGAAGGGGCACGTCGCCTGCGTGTGATACTCTCT

TTCACCCGGCCCTCACCTGTCACCTTCACAGAAAAGGGACTGCCAGGCACATGCTG
GTCAGCAAATTTGATGTTTATAATGTAGTTTCCAGGCTCTGTGGGACAGTAGGTGA
CCCTGCATGTGCCATCCTCCAGATCCTCTGTGTTGATGTCTACTTTGCTAGGGCCCT
CAATGGACAGACTAAGCCCACCGTAGCCTGCATCTCTGGTGTCAATAATAAACTCT
GCAGGCTCAAAGGTATGACCTTCATGAAGACCTTGACCAGAGACCCTCACACGGCT
GGCATCACCTATCTCCGACTGGCTGATCACTACTGGGATGGGACTGCTTGCCACAT
GCTGGCCATTCTTCTTCACATGTACCAGGTGCTCCCCTGTCTCCTTGGGCACGAAG
GAAATCCCCACGTGGCCATTTCGCAAACGTTTCAGCAGACAGGGTTCCTCTCGACC
CGAAGGTGGCACCACAGTGGCTGTGAGTAGGCTAAGGTCTGTTTCTGAGATATTGA
TGGGGATATCAGCAGCAGAACCCACCTTTAGGTGGGACATACGCATGGAATCGTCA
CCTGTTACTCTGGCAGTAAAGGGACTGCCTGGGATGTGTTGATCATTGTACTTAAC
TAGGATGCTATAGTCACCAGGCAGTACAGGCAGGTAAGAGACACTGCATGTTCCAT
CCTGGTTGTCAGTGCAACTGATTTCTGCTTTAGATGGACCCTCAATGGCCAGAGAC
AAGCCCCCCTCTCCTGCATCCTTGGTGTTGACAGTGAAGGTGGCAGGTTTGTTGAC
CACTCCATGGGTAAGGCCAGGACCATAAGCAGTGATGTGGCCACAGTTGACATAAT
CAACATAGAACTGCAGAGGGCTTCCTGGGATATGCATATTGTCATAGCGAATGTCC
ATTTCATGCAGGCCAGCTTCACTGGGTGAGTAACGTACAGTAACAGTGCCATCTTT
GTTATCAGTAATGGAAGGCTGGGCCACCTTGCCTGAGGGCATTCGAACTTCCCCAG
TGATCTCCCCCTTCTTGATAGTGAAGGGGATGACAAGATCAAAGGGCCTCAGGCTG
GTCACATCCAGCCCATTAACGCCCACCATGGGCCTCTCTGGAATCCAGGTTTGCTG
GCTACCCTGAGGATAGTTATACTGTGGAGCCAGCTGCTGAGACCTTAATGGGGTCT
GCACTGTTGGTTGGTCCCCAGCCAAAGCTGTAACTTGGAAGGGGCTGTTGGGCACA
TGCTCGCCACCGAAGCGCACACAGATGACATATTTGCCCGGTTGGGGAGCTGTGTA
GAAGATGTCAAAGGTGCCATCCTCATTCTCCACCACGTCCACGTCTACCTCTGAGC
CATCAGGTGTGCACACAGTACAAGTCACTTTGCCTTTGCCTGCTGCTTTTGTGTCCA
CAGTAATCACCGTCTCCTCCCCAATCTGGATGGTGGGGCCAATGCCAGCACCTAGC
CCGTGACCTCCGATTGACACTGTGACTGTGCACTTGCTGGCATCCCCAGTGGGCAC
AGCCCGGACACGGTACGGGGAAAAGGGAATCTCATCACCACCATACTTGATGAGGA
TTGTGTACCGGCCTGGCACATCTGGCACATAAGCCACCGTGTATGTGCCATCATGA
TTATCTTGAATGTGTGTCTTCTTGGGCTTGCCTTCAGGATCCGTAATCTGGACAGCC
AACAGACCCTCCCCAGCATCCTTGGCATCAATGGTGAACTCCACAGGCAGGCTAGC
AGGTACACCAGTGGTGTTGAGTCCAGGTCCACTGGCCTTCACCTTACTGGCATCAT
GTGTAGGCAGCACCTTGACCTTGAAGGGGCTCCGTGGCACTTCTTCTTCACCATAC
AGCACAGAAATGCTATAGGACCCTTCTCGGCTGGGCACATAGTTGACAGTCTGAGT
ACCATCAGCATTGTCCACTACATCCACTGGCTCCACCAGGCCTTTGGGCCCCTGCA
CTTTGACCTGCAGTGGGGCAACTCCAGCTTTGCTTGTGTCCACCTGAAAGGACTGA
GGGAGGTTGGCACGGACCATGCCTGGGCTTAGGCCAGGTCCAGAACACTTGACTTT
AGATGCATCTGTCACATCATGTACAGGGACCTTGAAGGGACTACCTGGCACTTGGT
GACCACCATAAGTGACATTAAGGCTATAGGTTCCAGCTTCATAGGGGATGTATTCT
ACTGAGCAGCTGCCATCTTTATTATCCATACAAGACATCTTGGCCTCTGAGGGACC
CTCAACAGCCAAGCCCAGGCCACCTGTGCCAGCTCCCCTGGTTTCTACTGTGAACT
TGTTGGGTTTGTTGGTGGTACCACTTTGGATGCCTGGTCCATGGACACGCACCCGG
GAGGGGTCACAGCCCTCTGTTACAGGCACCTGGAAGGGGCTGCTGGGCACAGGGCT
GCCATCATAAGTCACATCCACAGAGTGTACTCCTTCCTCATATGGAGTGTATTCCA
CTTTGTATGTGCCATCCCCACAGTCTTGCACATAGGTATCTGTCAGATTGCCTGAG
GGGTTGGCCACTCGAGCCTTGACATGTGGCCCTCCAGTCTGTGTAAGAGCCCGGGC
ATCCACACTGAACTCAGTGGTTGCCTCTCGGAAGACACCTTGACCTTCAATCCCAG
GCCCATAGCACTGTACACCTGAGGTATCTACAGCAGGTTCCACCTGTAGCTTGCTG
GGGAAGTTGGGCACAGGCTGGCCGCCATACTTGATGGTAACAGTGTAAGCCCCAGG
ACAGAGAGGAATATAGGTAATGGTGTGTGTGCCATCACCATGGTCTTGAATGTATA

CTTCAGCTGGCAGTCCTGCCTCAGAGCAGATCTCAATCGTCAACTCAGCACTGCCA
GCACTTGAACAGTCCACTTGGAACTGCCCTACCTCACCAGCAGTAGCCCGCTCCAG
CCCAGGGCCTGAGCACTTCACCTTGGATGCATCAAAACAAGGAGCCACATGGGCCT
TGAATGGGGATCCAGGAATGTGGGTGTCAGCAAAAAGGATGTTGATGTTGTAGTCC
CCAGGCTCAGTGGGTACATAAGACACAGAGCATGTACCATCCCCGTTGTCTAGGCA
CTCAAGCTGTGCTTCACAGGGGCCTTCCACTGTCAGGCCCAGGCCACCAGTGCCAG
CACCCTTTGTATCAATGGTGAAGCGGGCAGGGGAGCCTGCATTGCCCCCCTGTAGC
CCTGGTCCAAACGCCTTCACCTTGCTGGGTTTGGTGGGGGCCACAGCTTCTAGTGG
AAAGGGACTGCCAGGTACAGGCACACCATCATAGGTCACTTCCACCTCATAGGGCC
CCTCTTCACGGGGCACAAAACGTACCACGCTGTTGTCAGCTCCCAGGCCTGGCTCT
ACCTTGCAGGGTACCGCTGCACCTGAGGGACTCACAATCTTGGATGCTACTTTGCC
TTGACCACCTGCACCCTTTGACTTTACTGTGAACTCTTGATCTTTGCCAACGTCCAC
TTTGTCACCAAGGCCAGACACCTTGATTTTGCTGAGATCCAGGCTTGGAGATACTC
CCACTGAAAATGGACTCTTGGGGATGTGATCTCCTCCATAAGTGACATTGACACCT
ACTGGGCCCTGCTGCACAGGAATGTACTTGACTGTGTAGGTATTATCATGGTGGTC
AATGATGTCCACATCCCGTACTGCATCTCCCTTAGCCAGTCCTGAGAATTGGACAT
CCAGCTTGCCTTTCCCAGCAGTTTTAGCATTGACTGTGAAATGGGTGGGTTTGCCA
AGTTCAACACCAGTGCGATTTAGGCCAGGACCCTCAGCCTTCACCTTGCTGGCATC
ATGAGAAGGCTCCACTTTGACTCTGATGGGGCTGGTGGGTGTGGCCTGGTCAGCAA
AAAGGACCATGATGGTATAGCTGCCAGCCCCACAGGGTGTGTATTTTACAGTGAAG
GTGTCATTGTCATTGCGGATGATATCAAAGTCAATATCAGCCTCAGTGGGGCCCAC
TACTCCAGGGGCACACTTGATACCAATGCTGACATCTCCCTGGCCAGCTTCAGTAC
AATCCACAGTAAAGTAGGTAGGTTCATGGGCCTTGAGCCCAGTCTTGGCCACTCCT
GGACCATACACCTTGACTTTGTTTGGATGGCTGCCAGCTCCCACATTCACCCGGAA
AGGACTGTTGGGGATGCTGACACCTCCCCAAGAAACCATGGCTGTGTGCTTCACTG
GCTTTCTGGGCACATAAGAACAGCTGTAAGTACCATTGCCATTGTCCTTGACTGTC
GCTTCCACAGAGCAGCCCTCATTGTCCTGAACTTGAACTCGAAGAGGAGCCTTCCC
AGCATGCTTGGCATCAACTGTGAACTCTGCTGGCTTGTTGACAGCCACACCAGTCT
TCTCCAATCCAGGCCCACGTGCCTTCACCCTGTCTGGGTGAAAATCCTGGGGTGCC
TCACGGATGTCAGCCATGAAAGGACTGAGACGGATATCCTCACTGTTACACAGCAC
ATGAACAGCATACTCGCCAGCCTCCTGGGGCCAATAGCGCACATCACAGGAGCCAT
CACCCTTGTCGTCACATTCAATCTTTGCCTGTGATGGACCTTCCACAGAGAAACCC
AAGGTGCCCACATCATCACCAATGGCCTCTACTACGAAGTCTGCTGACTTGCCAAC
AATGCCTCCTTCCAGGCCAGGACCCCATGCCCGAACTTTCTGATTGCCACACTCAG
TGCCTACCTTCACCTCAAACGGACTTCGACCAATGTTCTGGCCACCCCATGTGATG
GTGACAGTGTATGTGCCAGGGATTGTAGGGTAATATTCAAAGCCATACACACCATC
CCCTAAGTCCTTCTGCTTTACACGCTCCTCACCCTTGGGACCCTTTACAGTGACCTT
TAGCTCCCCACTGCCAGCGCCCTTTGTGTACACCTTGAAGTCGGCTGTTTCCTTCAC
TCGAACACCCTTGGGCTGAAGGCCTCTACCAATAGCCCGGCAGGCAGCTGGGTTAC
AGGCTTGGCCAACAGTGACAGTGTAGGGGCTACGAGGGATGGGAACACCGGCGAAG
GTGACATGTACTGTATGGACACCCTCCATGGTGGGCTGATAGCTACAGCGATAGGT
GCTGTCACCCCTGGCCTCCAGCTGAGGTTCCACTGTGCCTTTCTGTCCTGTAGGGTC
CTGGATGACAACTTCCACCTCACCCATGCCAGCTCCTGCAGTGAAGATCTCAAAGT
AGGTAGTCTTGTTGGCAATATTGCCACTGGGCTCCAGACCAGGGCCCTGGGCAGTC
ACTTTGCTGGCATCACCCTGTGACTTGTCCACATACACCTCAAAGGGGCTCTTGGC
AATATGTTGGCCAGCAAAGAGCACAGTCACCTTATGAGTCCCTGTCACTTCAGGGA
CATACCAGACAGAGAAAGTACGGTTCTTGTCATTATTGGCAGTCACTTTTGCCTCT
TCCTGGTGTCCAGCTGGGTCCTCCACATATACAAGCACTTCTCCCTGTCCAGCACTT
CGGGTCTCCACAGTGAATTCTGCTCTCTTCTTCACCATATTGCCTGTAGGCTCGATG
CCTGGCCCATAGGCTCGGGCTTTCTTCGGGTTCAGTTTGGGCCGAAGAGGAGCCCC

TGGCTTCAGCTTGGCCTTGGGAAACTGAGACAGGTAGGTCATAACAGAATGCTCAT
CTACATTGGGGTCCACAATTTCTTCTGGGGTAATCACCTGAGGAATGCCTAGCCAG
TCATCAGCCTGCTGCATGGCTTCCCGTGCATTGTTCACAGGCTTACTAGCATCCCA
GGAGTCCCAGTCAGGACATAGGCCTGGGGCACAGCTATCAACAAGAGCACCCAGGG
CCCGGCCACTCTGCCAGTCTCGACTGAAGTTGGTAATGGGAAGCTGTGGTAGCTTG
TTCTGAATCCAGCCTAGAAGCCTCTGCTTGGGTGTTTGCTTCTTGGCCTCCTCATCC
TCTTCCTCATCCCACATGGGCATTGAGATGGAATAGTGCAGGATCAGGGTCCAGAT
GAGGCCTAAGATCAGCTTCAGATTTCCATCCACAATAGCCTTGCTGTCTATGGACA
CGAGCTTGATGCTCTCACGGTCCAGGAATTCAAGCGCCACCGACACATTTTCGAGC
TGCATCTGGCGGAAAGTGGGTCTTTGGTTGTGCTTGCGGTGCATTTTCTTCTGGCT
GAGTACCTCGAGCAGCGCGATGAGCCGCAACCCATCGCTCAGGTCCGTCTGCAGAT
TGGCGATGCGCTTGCTTACGCACTTAAGGTGCTCATTGCACCAGCGGGTGAATGTG
TTCTGCTGAATTTTCTTCCACGGTGCATCTTCTGCTAGGTCTTTTTCGGTAGCCGGC
ATCTCCGCGTCCCGTGAATCGATACTGCCTCCCGGAGACGCAACCGCCGCACTCTG
GCCACAGCGGGAGTGAGAGCTACTCATTTTGAGGCGCGAGGAACGGAGGGGCGGTG
CTGCAGCTTCGCCGATGGGACGGCCCTTTAATTAAAGCAGTAGGCACCTCCGAGCA
TGAACGACGAGGCACAGAACAGAGGTTGCACTGCTGTCCCTCTAACCGCCGGGTGG
CGCCCAGCTCTTCGCGCCCGCGCCGGAAGCCTCAGAGCTCCACTGGCGTCCGCTGC
GCGCTGCGCGCCTCCACGCGAATGAGCCGCTGCCTCCCGCCTTCTTGTTAGCTGCA
TCCCCGCCCCACGCCCGCCCCGCGCCCGGCCCGGCAAGAAAGCCTTAATTGGTAAA
AATCGCCCGGGAGCTGGGGGCAGGGAGTGGGTGCGGGGCTCGCCACGAGCTCAAGT
GCCCCGCTCA

【配列表】

<u>202452841700000 1.app</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/34765

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. C12N 15/11, C12N 15/113; ADD. A61K 31/713 (2022.01)
CPC - INV. A61K 31/713; ADD. C12N 15/111, C12N 2310/14, C12N 2330/50

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 — Y	HAYASHI et al., Filamin A Is Required for T Cell Activation Mediated by Protein Kinase C-theta. J Immunol. 1 August 2006, Vol. 177, No. 3, p1721-1728. Abstract; p1722, col 1, para 4; p1723, col 2, last para	1-4, 6 — 78
Y	US 2018/0273950 A1 (CHILDREN'S MEDICAL CENTER CORPORATION) 27 September 2018 (27.09.2018) Abstract; para [0027]	78

☐ 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	Date of mailing of the international search report
10 September 2022	NOV 21 2022
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 Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/34765

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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/US 22/34765

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.: 5, 7-77, 79-110
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 continuation in first extra sheet ----------

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.:
1-4, 6, 78, limited to dsRNA comprising sense strand of SEQ ID NO:7 and antisense strand of SEQ ID NO:187

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/34765

Continuation of 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 searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+, Claims 1-4, 6, 78, directed to a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of Filamin A (FLNA). The dsRNA will be searched to the extent that the dsRNA encompasses a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the sense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides from the nucleotides 100-120 of SEQ ID NO: 1 and comprises SEQ ID NO:7, and the antisense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides from the nucleotides 98-120 of SEQ ID NO: 2 and comprises SEQ ID NO:187 (note, these are the first claimed sequences for the inventive dsRNA agent). The first named invention was determined based on the first claimed sequences derived from the first sense and antisense strand sequence pair (claim 3 and Table 3) for the inventive dsRNA embodiment. This first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. It is believed that claims 1-4, 6, 78 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the dsRNA encompasses a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the sense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides from the nucleotides 100-120 of SEQ ID NO: 1 and comprises SEQ ID NO:7, and the antisense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides from the nucleotides 98-120 of SEQ ID NO: 2 and comprises SEQ ID NO:187. Additional dsRNA agent(s) comprising additional sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected dsRNA agent(s) comprising additional sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a dsRNA agent comprising a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the sense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides from the nucleotides 176-196 of SEQ ID NO: 1 and comprises SEQ ID NO:8, and the antisense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides from the nucleotides 174-196 of SEQ ID NO: 2 and comprises SEQ ID NO:188 (claims 1-4, 6, 78).

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features
The inventions of Groups I+ each include the special technical feature of a unique nucleic acid sequence. Each nucleic acid sequence encodes a unique dsRNA agent with a unique target sequence, and is considered a distinct technical feature.

Common technical features

No technical features are shared between the dsRNA agent nucleic acid sequences in Group I+ and, accordingly, these inventions lack unity a priori.

Additionally, even if Group I+ inventions were considered to share the technical features of including:
a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of Filamin A (FLNA), wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the antisense strand comprises a region of complementarity to an mRNA encoding FLNA,
these shared technical features are previously disclosed by prior art, as discussed below.

However, these shared technical features are previously disclosed by the article entitled "Filamin A Is Required for T Cell Activation Mediated by Protein Kinase C-theta" by Hayashi et al., (hereinafter 'Hayashi').

Hayashi teaches a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of Filamin A (FLNA), wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the antisense strand comprises a region of complementarity to an mRNA encoding FLNA (Abstract - 'Depletion of FLNa by RNA interference did not affect TCR-induced early tyrosine phosphorylation or actin polymerization but, nevertheless, resulted in impaired IL-2 expression by human primary T cells and reduced activation of NF-?B, AP-1, and NFAT reporter genes in transfected T cells.'; p1722, col 1, para 4 - 'We designed two forms of FLNa-targeted siRNA. The first one, siRNA1, consisted of a double-stranded FLNa-specific oligonucleotide having the following sequence: 5-GUGACCGCCAAUAACGACAUU-3 (sense), and 5-UGUCGUUAUUGGCGGUCACUU-3 (antisense)'; p1723, col 2, last para - 'Under these conditions, the specific siRNA, but not a control siRNA, reduced the expression of FLNa by 80% (Figs. 4, 5, and 7).'; Note, antisense siRNA sequence is complementarity to an mRNA encoding FLNA).

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

Continuation of Item 4 above: claims 5, 7-77, 79-110 are held unsearchable because they are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28		
Ａ６１Ｐ	*25/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00		
Ａ６１Ｐ	*25/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/16		
Ａ６１Ｐ	*17/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/02		
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ	*47/61*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｋ	*31/7125*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/61		
Ａ６１Ｋ	*31/712*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7125		
			Ａ６１Ｋ	31/712		

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,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,NE,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,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,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,NG,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．ＢＲＩＪ

２．ＬＡＢＲＡＳＯＬ

３．ＰＹＴＨＯＮ

(72)発明者　ブラウン，カーク
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者　カストレノ，アダム
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者　マキニンチ，ジェイムズ ディ
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者　グエン，トゥエン エム
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者　シュリーゲル，マーク ケイ
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考）　4C076　AA95 CC01 CC41 DD21 DD25 DD26 DD41 DD42 EE30
4C084　AA19 MA02 NA05 ZA01 ZA16 ZC412 ZC751
4C086　AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA05 NA14 ZA01 ZA16 ZC41 ZC75