

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成31年3月14日(2019.3.14)

【公表番号】特表2017-517261(P2017-517261A)

【公表日】平成29年6月29日(2017.6.29)

【年通号数】公開・登録公報2017-024

【出願番号】特願2016-569420(P2016-569420)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/115	(2010.01)
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	7/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	25/28	(2006.01)
A 6 1 P	19/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/12	(2006.01)
A 6 1 P	25/14	(2006.01)
A 6 1 P	25/16	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A H
A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/16	

【手続補正書】

【提出日】平成31年1月29日(2019.1.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列5' - K P G R M P D V D<sub>n</sub> L P A W P S V G P A Y R P P - 3' (配列番号: 1)

5'2')を含む、C3タンパク質に結合するアブタマーであって、  
 Kが、C-5修飾ピリミジン、C、U、T、G、または3炭素スペーサーであり、  
 各Pが、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンであり、  
 各Rが、各出現において、それぞれ独立して、AまたはGであり、  
 Mが、C、U、T、C-5修飾ピリミジン、または3炭素スペーサーであり、  
 各Dが、各出現において、それぞれ独立して、A、Cまたは3炭素スペーサーあり、  
 各Vが、各出現において、それぞれ独立して、A、G、Cまたは3炭素スペーサーであり

、  
 Lが、U、TまたはC-5修飾ピリミジンであり、  
 Wが、Gまたは3炭素スペーサーであり、  
 Sが、Cまたは3炭素スペーサーであり、  
 Yが、C、U、またはTであり、  
 nが0または1である、前記C3タンパク質に結合するアブタマー。

#### 【請求項2】

前記アブタマーが、配列5'-KPGRMPDV<sub>n</sub>LPAWPSVGPA CGPP-3'（配列番号：131）を含む、請求項1に記載のアブタマー。

#### 【請求項3】

前記アブタマーが、配列5'-KPGRMPDV<sub>n</sub>LPAWPSVGPA CGPPM-3'（配列番号：135）または5'-KPGRMPDV<sub>n</sub>LPAWPSVGPA YRPPM-3'（配列番号：153）を含む、請求項1または請求項2に記載のアブタマー。

#### 【請求項4】

配列5'-KPGRMPXPAWPSVGPA YRPP-3'（配列番号：154）を含む、C3タンパク質に結合するアブタマーであって、

Kが、C-5修飾ピリミジン、C、U、T、G、または3炭素スペーサーであり、  
 各Pが、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンであり、  
 Rが、AまたはGであり、  
 Mが、C、U、T、C-5修飾ピリミジン、または3炭素スペーサーであり、  
 Vが、A、G、Cまたは3炭素スペーサーであり、  
 Wが、Gまたは3炭素スペーサーであり、  
 Sが、Cまたは3炭素スペーサーであり、  
 Yが、C、U、またはTであり、

Xが、置換または非置換のC<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>のリンカー、アルキレングリコール、及びポリアルキレングリコールから選択されるリンカーである、前記C3タンパク質に結合するアブタマー。

#### 【請求項5】

前記アブタマーが、配列5'-KPGRMPXPAWPSVGPA CGPP-3'（配列番号：136）を含む、請求項4に記載のアブタマー。

#### 【請求項6】

前記アブタマーが、配列5'-KPGRMPXPAWPSVGPA CGPPM-3'（配列番号：137）または5'-KPGRMPXPAWPSVGPA YRPPM-3'（配列番号：155）を含む、請求項4または請求項5に記載のアブタマー。

#### 【請求項7】

Kが、C-5修飾ピリミジン、C、またはGであり、  
 各Mが、各出現において、それぞれ独立して、CまたはC-5修飾ピリミジンであり、  
 及び/または

Lが、AまたはC-5修飾ピリミジンである、請求項1～6のいずれか1項に記載のアブタマー。

#### 【請求項8】

配列5'-PAWPSVGPA YRPP-3'（配列番号：156）を含む、C3タン

パク質に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンであり、W が、G または 3 炭素スペーサーであり、S が、C または 3 炭素スペーサーであり、V が A、G または C であり、Y が C、U または T であり、及び R が G または A である、前記 C 3 タンパク質に結合するアプタマー。

【請求項 9】

配列 5' - P A W P S V G P A C G P P - 3' (配列番号 : 134) を含む、C 3 タンパク質に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンであり、W が、G または 3 炭素スペーサーであり、及び S が、C または 3 炭素スペーサーであり、V が A、G または C である、前記 C 3 タンパク質に結合するアプタマー。

【請求項 10】

配列番号 : 4 ~ 28、32 ~ 34、37 ~ 75、78 ~ 118、121 ~ 130、及び 139 ~ 151 から選択される、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 97%、少なくとも 99%、または 100% 同一である配列を含む、C 3 タンパク質に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンである、前記 C 3 タンパク質に結合するアプタマー。

【請求項 11】

第 1 の領域及び第 2 の領域を含む、C 3 タンパク質に結合するアプタマーであって、前記第 1 の領域が、配列 5' - P A G P C - 3' (配列番号 : 132) を含み、前記第 2 の領域が、配列 5' - G P A Y R P P - 3' (配列番号 : 157) を含み、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンであり、Y が、C、U、または T であり、及び R が G または A である、前記 C 3 タンパク質に結合するアプタマー。

【請求項 12】

第 1 の領域及び第 2 の領域を含む、C 3 タンパク質に結合するアプタマーであって、前記第 1 の領域が、配列 5' - P A G P C - 3' (配列番号 : 132) を含み、前記第 2 の領域が、配列 5' - G P A C G P P - 3' (配列番号 : 133) を含み、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンである、前記 C 3 タンパク質に結合するアプタマー。

【請求項 13】

前記第 1 の領域の前記 3' 末端が、前記第 2 の領域の前記 5' 末端に共有連結されている、請求項 11 または請求項 12 に記載のアプタマー。

【請求項 14】

前記第 1 領域及び前記第 2 領域が、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つのリンカーによって共有連結されており、各リンカーが、ヌクレオチド、置換または非置換の C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub> リンカー、アルキレングリコール、及びポリアルキレングリコールから独立して選択される、請求項 13 に記載のアプタマー。

【請求項 15】

各リンカーが、ヌクレオチド、3 炭素スペーサー、及びヘキサエチレングリコールから独立して選択される、請求項 14 に記載のアプタマー。

【請求項 16】

配列 5' - P A G P C - 3' (配列番号 : 132) を含む、C 3 に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンである、前記 C 3 に結合するアプタマー。

【請求項 17】

配列 5' - G P A Y R P P - 3' (配列番号 : 157) を含む、C 3 に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンであり、Y が、C、U、または T であり、及び R が G または A である、前記 C 3 に結合するアプタマー。

【請求項 18】

配列 5' - G P A C G P P - 3' (配列番号 : 133) を含む、C3 に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C-5 修飾ピリミジンである、前記 C3 に結合するアプタマー。

**【請求項 19】**

配列番号 : 125 の配列を含む、C3 に結合するアプタマーであって、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C-5 修飾ピリミジンである、前記 C3 に結合するアプタマー。

**【請求項 20】**

各 C-5 修飾ピリミジンがそれぞれ独立して、5' - (N-ベンジルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (BndU)、5' - (N-ベンジルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-フェネチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (PEdU)、5' - (N-チオフェニルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (ThdU)、5' - (N-イソブチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (iBu dU)、5' - (N-チロシルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (Tyr dU)、5' - (N-3、4-メチレンジオキシベンジルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (MBndU)、5' - (N-4-フルオロベンジルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (FBndU)、5' - (N-3-フェニルプロピルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (PPdU)、5' - (N-イミジゾリルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (ImdU)、5' - (N-イソブチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-トリプトアミノカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (Trp dU)、5' - (N-R-トレオニルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (Thr dU)、5' - (N-トリプトアミノカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-トリプトアミノカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5' - (N-[1-(3-トリメチルアンモニウム)プロピル]カルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジンクロリド、5' - (N-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (NapdU)、5' - (N-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5' - (N-[1-(2、3-ジヒドロキシプロピル)]カルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン)、5' - (N-2-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (2NapdU)、5' - (N-2-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5' - (N-1-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (NEdU)、5' - (N-1-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-1-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5' - (N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (2NEdU)、5' - (N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5' - (N-3-ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (BFdU)、5' - (N-3-ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-3-ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5' - (N-3-ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (BTdU)、5' - (N-3-ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、及び 5' - (N-3-ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジンから選択される、先行請求項のいずれか 1 項に記載のアプタマー。

**【請求項 21】**

各 C-5 修飾ピリミジンがそれぞれ独立して、5' - (N-1-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (NapdU)、5' - (N-1-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O-メチルウリジン、5' - (N-1-ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン

シアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(2NapdU)、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(NEdU)、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(2NEdU)、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(BFdU)、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(BTdU)、5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、及び5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジンから選択される、先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー。

【請求項22】

各C-5修飾ピリミジンが、5 - (N - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(NapdU)である、先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー。

【請求項23】

前記アプタマーが、少なくとも1つの2' - O - メチル修飾ヌクレオチドを含む、先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー。

【請求項24】

前記アプタマーが、24~100ヌクレオチドの長さ、または30~60ヌクレオチドの長さ、または長さ28~60ヌクレオチドの長さ、または28~50ヌクレオチドの長さ、または28~40ヌクレオチドの長さ、または40~50ヌクレオチドの長さ、または28~32ヌクレオチドの長さである、先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー。

【請求項25】

前記アプタマーが、C3タンパク質の切断を阻害する、先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー。

【請求項26】

前記C3タンパク質が、ヒトC3タンパク質である、先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー。

【請求項27】

先行請求項のいずれか1項に記載のアプタマー及び補体成分3(C3)タンパク質を含む組成物。

【請求項28】

前記補体成分3(C3)タンパク質が、ヒト補体成分3(C3)タンパク質である、請求項27に記載の組成物。

【請求項29】

請求項1~26のいずれか1項に記載のアプタマーとC3タンパク質を接触させることを含む、補体成分3(C3)タンパク質の切断を阻害するための方法。

【請求項30】

前記C3タンパク質が、インビトロ試料内にある、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

前記C3タンパク質が、対象内にある、請求項29に記載の方法。

【請求項32】

請求項1~26のいずれか1項に記載のアプタマーを有する補体系の接触成分を含む、補

体系の少なくとも 1 つの活性を阻害するための方法。

【請求項 3 3】

前記補体系の成分が、インビトロ試料内にある、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記補体系の成分が、対象内にある、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマーの有効量を対象に投与することを含む、前記対象の前記補体成分 3 ( C 3 ) タンパク質の切断を阻害するための方法。

【請求項 3 6】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマーの有効量を対象に投与することを含む、前記対象の前記補体系の少なくとも 1 つの活性を阻害する方法。

【請求項 3 7】

請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマーの有効量を対象に投与することを含む、加齢性黄斑変性症、自己免疫疾患、血液疾患、感染症、敗血症、炎症性疾患、または神経変性疾患を治療する方法。

【請求項 3 8】

前記自己免疫疾患が、エリテマトーデス及び関節リウマチから選択される、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記血液疾患が、発作性夜間血色素尿症である、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記炎症性疾患が、虚血 / 再灌流傷害、関節炎、及び腎炎から選択される、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記神経変性疾患が、ハンチントン病及びパーキンソン病から選択される、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 2】

C 3 タンパク質の切断を阻害するための請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマーの使用。

【請求項 4 3】

前記補体系の少なくとも 1 つの活性を阻害するための請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマーの使用。

【請求項 4 4】

加齢性黄斑変性症、自己免疫疾患、血液疾患、感染症、敗血症、炎症性疾患、または神経変性疾患を治療するための請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載のアプタマーの使用。

【請求項 4 5】

C 3 タンパク質の結合親和性を有するアプタマーを選択するための方法であって

( a ) C 3 タンパク質と候補混合物を接触させることであって、前記候補混合物が、前記候補混合物の核酸の少なくとも 1 つ、またはそれぞれに含まれる 1 つ、いくつかまたはすべてのピリミジンが C - 5 修飾ピリミジンを含む修飾核酸を含み

( b ) 遅いオフ速度の濃縮プロセスで前記候補混合物を露出することであって、前記候補混合物のその他の核酸に関連する標的分子からの遅いオフ速度を有する核酸が前記 C 3 タンパク質に結合して、核酸 - 標的分子複合体を形成し

( c ) 前記候補混合物からの遅いオフ速度の核酸を分離すること

( d ) 遅いオフ速度を有する前記 C 3 タンパク質に結合可能な核酸配列で濃縮された核酸の混合物を產生するために、前記遅いオフ速度の核酸を増幅することによって、前記 C 3 タンパク質分子への遅いオフ速度のアプタマーが選択される、前記方法。

【請求項 4 6】

前記候補混合物が、前記配列 5 ' - P A G P C - 3 ' ( 配列番号 : 1 3 2 ) を含む核酸を含み、各 P が、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンである、請

求項45に記載の方法。

**【請求項47】**

前記候補混合物が、前記配列5' - G P A Y R P P - 3'（配列番号：157）または5' - G P A C G P P - 3'（配列番号：133）を含む核酸を含み、各Pが、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンであり、Yが、C、U、またはTであり、及びRが、GまたはAである、請求項45または請求項46に記載の方法。

**【請求項48】**

各核酸が独立して、約24～約100ヌクレオチドの長さ、または約30～約60ヌクレオチドの長さ、または約28～約60ヌクレオチドの長さ、または約40～約50ヌクレオチドの長さ、または約28ヌクレオチドの長さである、請求項45～47のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項49】**

各C-5修飾ピリミジンがそれぞれ独立して、5'-(N-ベンジルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(BndU)、5'-(N-ベンジルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-フェネチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(PEdU)、5'-(N-チオフェニルメチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(ThdU)、5'-(N-イソブチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(iBudU)、5'-(N-チロシルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(TyrdU)、5'-(N-3、4-メチレンジオキシベンジルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(MBndU)、5'-(N-4-フルオロベンジルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(FBndU)、5'-(N-3-フェニルプロピルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(PPdU)、5'-(N-イミジゾリルエチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(ImdU)、5'-(N-イソブチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-トリプトアミノカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(TrpdU)、5'-(N-R-トレオニニルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(ThrdrU)、5'-(N-トリプトアミノカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-[1-(3-トリメチルアンモニウム)プロピル]カルボキシアミド)-2' - デオキシウリジンクロリド、5'-(N-ナフチルメチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(NapdU)、5'-(N-ナフチルメチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-ナフチルメチルカルボキシアミド)-2' - フルオロウリジン、5'-(N-[1-(2、3-ジヒドロキシプロピル)]カルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン)、5'-(N-2-ナフチルメチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(2NapdU)、5'-(N-2-ナフチルメチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - フルオロウリジン、5'-(N-1-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(NEdU)、5'-(N-1-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-1-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - フルオロウリジン、5'-(N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(2NEdU)、5'-(N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-2-ナフチルエチルカルボキシアミド)-2' - フルオロウリジン、5'-(N-3-ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(BFdU)、5'-(N-3-ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、5'-(N-3-ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド)-2' - デオキシウリジン(BTdU)、5'-(N-3-ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド)-2' - O-メチルウリジン、及び5'-(N-3-ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド)-2' - フルオロウリジンから選択される、請求項45～48のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 5 0】**

各 C - 5 修飾ピリミジンがそれぞれ独立して、5 - ( N - 1 - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( N a p d U ) 、 5 - ( N - 1 - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - O - メチルウリジン、 5 - ( N - 1 - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - フルオロウリジン、 5 - ( N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( 2 N a p d U ) 、 5 - ( N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - O - メチルウリジン、 5 - ( N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - フルオロウリジン、 5 - ( N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( N E d U ) 、 5 - ( N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - O - メチルウリジン、 5 - ( N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - フルオロウリジン、 5 - ( N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( 2 N E d U ) 、 5 - ( N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - O - メチルウリジン、 5 - ( N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - フルオロウリジン、 5 - ( N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( B F d U ) 、 5 - ( N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - O - メチルウリジン、 5 - ( N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - フルオロウリジン、 5 - ( N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( B T d U ) 、 5 - ( N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - O - メチルウリジン、 及び 5 - ( N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド ) - 2 ' - フルオロウリジンから選択される、請求項 4 5 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5 1】**

各 C - 5 修飾ピリミジンが、5 - ( N - ナフチルメチルカルボキシアミド ) - 2 ' - デオキシウリジン ( N a p d U ) である、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5 2】**

前記混合物の複数の核酸が、少なくとも 1 つの 2 ' - O - メチル修飾ヌクレオチドを含む、請求項 4 5 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5 3】**

前記混合物の複数の核酸が、C 3 スペーサー、H E G リンカーまたは P E G リンカーを含む、請求項 4 5 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 5 4】**

前記 C 3 タンパク質が、ヒト C 3 タンパク質である、請求項 4 5 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【手続補正 2】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0 0 1 7

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0 0 1 7】**

いくつかの実施形態では、C 3 タンパク質に結合するアブタマーは、第 1 の領域及び第 2 の領域を含み、第 1 の領域は、配列 5 ' - P A G P C - 3 ' ( 配列番号 : 1 3 2 ) を含み、第 2 の領域は、配列 5 ' - G P A Y R P P - 3 ' ( 配列番号 : 1 5 7 ) を含む。式中、各 P は、各出現において、それぞれ独立して、C - 5 修飾ピリミジンであり、Y は、C 、 U 、または T であり、及び R は G または A である。

**【手続補正 3】**

**【補正対象書類名】**明細書

**【補正対象項目名】**0 0 2 0

**【補正方法】**変更

**【補正の内容】**

**【0 0 2 0】**

いくつかの実施形態では、C3タンパク質に結合するアブタマーは、配列5' - P A G P C - 3'（配列番号：132）を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンである。いくつかの実施形態では、C3タンパク質に結合するアブタマーは、配列5' - G P A C G P P - 3'（配列番号：133）を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンである。いくつかの実施形態では、C3タンパク質に結合するアブタマーは、配列5' - G P A Y R P P - 3'（配列番号：157）を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンであり、Yは、C、U、またはTであり、及びRはGまたはAである。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0033】

いくつかの実施形態では、C3タンパク質の結合親和性を有するアブタマーを選択するための方法が提供される。いくつかの実施形態では、方法は以下を含む。（a）C3タンパク質と候補混合物を接触させることであって、候補混合物が、候補混合物の核酸の少なくとも1つ、またはそれぞれに含まれる1つ、いくつかまたはすべてのピリミジンがC-5修飾ピリミジンを含む修飾核酸を含み、（b）遅いオフ速度の濃縮プロセスで候補混合物を露出することであって、候補混合物の他の核酸に関連する標的分子からの遅いオフ速度を有する核酸がC3タンパク質に結合して、核酸-標的分子複合体を形成し、（c）候補混合物からの遅いオフ速度の核酸を分離すること、及び（d）遅いオフ速度を有するC3タンパク質に結合可能な核酸配列で濃縮された核酸の混合物を産生するために、遅いオフ速度の核酸を増幅することによって、C3タンパク質分子への遅いオフ速度のアブタマーが選択される。いくつかの実施形態では、候補混合物は、配列5' - P A G P C - 3'（配列番号：132）を含む核酸を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンである。いくつかの実施形態では、候補混合物は、配列5' - G P A C G P P - 3'（配列番号：133）を含む核酸を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンである。いくつかの実施形態では、候補混合物は、配列5' - G P A Y R P P - 3'（配列番号：157）を含む核酸を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C-5修飾ピリミジンであり、Yは、C、U、またはTであり、及びRは、GまたはAである。いくつかの実施形態では、各核酸は独立して、約24～約100ヌクレオチドの長さ、または約30～約60ヌクレオチドの長さ、または約28～約60ヌクレオチドの長さ、または約40～約50ヌクレオチドの長さ、または約28ヌクレオチドの長さでも良い。いくつかの実施形態では、各C-5修飾ピリミジンは、5 - (N-ベンジルカルボキシアミド) - 2' - デオキシリジン(BndU)、5 - (N-ベンジルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N-ベンジルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N-フェニルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(PEdU)、5 - (N-チオフェニルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(ThdU)、5 - (N-イソブチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(iBudU)、5 - (N-チロシルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(TyrdU)、5 - (N-3、4-メチレンジオキシベンジルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(MBndU)、5 - (N-4 - フルオロベンジルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(FBndU)、5 - (N-3 - フェニルプロピルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(PPdU)、5 - (N-イミジゾリルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(ImdU)、5 - (N-イソブチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N-イソブチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N-トリプトアミノカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン(Trpdu)、5 - (N-

- R - トレオニニルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (T h r d U)、5 - (N - トリプトアミノカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - トリプトアミノカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - [1 - (3 - トリメチルアンモニウム) プロビル] カルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジンクロリド、5 - (N - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (N a p d U)、5 - (N - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2 ) - 2' - デ - フルオロウリジン、5 - (N - [1 - (2、3 - ジヒドロキシプロピル) ] カルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン)、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (2 N a p d U)、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (N E d U)、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (2 N E d U)、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (B F d U)、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (B T d U)、5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2 ) - 2' - デ - O - メチルウリジン、及び 5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジンから独立して選択される。いくつかの実施形態では、各 C - 5 修飾ピリミジンは、5 - (N - 1 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (N a p d U)、5 - (N - 1 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (2 N a p d U)、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (N E d U)、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 1 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (2 N E d U)、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 2 - ナフチルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (B F d U)、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - O - メチルウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾフラニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジン、5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (B T d U)、5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2 ) - 2' - デ - O - メチルウリジン、及び 5 - (N - 3 - ベンゾチオフェニルエチルカルボキシアミド) - 2' - フルオロウリジンから独立して選択される。いくつかの実施形態では、各 C - 5 修飾ピリミジンは、5 - (N - ナフチルメチルカルボキシアミド) - 2' - デオキシウリジン (N a p d U) である。いくつかの実施形態では、混合物の複数の核酸は、少なくとも 1 つの 2' - O - メチル修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、混合物の複数の核酸は、C 3 スペーサー、H E G リンカーまたは P E G リンカーを含む。いくつかの実施形態では、C 3 のタンパク質は、ヒト C 3 タンパク質である。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 3 5

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0 0 3 5】

【図1】図1A及び図1Bは、(A)25個の独立して由来する活性パターン1アブタマー配列を示す。同一または同等の(5以下のヌクレオチド差異)アブタマーは、40,000を超える配列のラウンド9プールから配列決定された回数が表示される。パターン1の8491-3\_3の最も頻繁に配列決定されたアブタマーと同一のヌクレオチドが、各配列内で強調表示される。(B)アブタマーパターン1のヌクレオチド位置及びコンセンサス配列(配列番号135)は、上の2つの列に示されている。列A、C、G、及びP(Aはアデニンであり、Cはシトシンであり、Gはグアニンであり、PはN a p d Uである)は、これらのヌクレオチドが、コンセンサス配列を定義する23ヌクレオチド位置の各々でアブタマーパターン1において観察される頻度を示す。コンセンサス配列では、複数のヌクレオチドのコンセンサスが、次の一文字コードで示されている。R=AまたはG、M=PまたはC、K=C、GまたはP、L=AまたはP、D=CまたはA、V=A、CまたはG。単一塩基の挿入は、位置8と9の間で可能である。この挿入は、0.16の頻度で発生した。「挿入なし」頻度は0.84だった。

【図2】タンパク質濃度(x軸)の関数としてプロットする結合したDNA分子(y軸)の画分のグラフ表示を示す。ヒトC3-タンパク質濃度は、 $1 \times 10^{-7}$ Mから $1 \times 10^{-12}$ Mまでの範囲にわたり、平衡結合定数( $K_d$ )は、 $y = (\text{最大} - \text{最小}) (P_t) / (K_d + P_t) + \text{最小}$ を使用して計算した。アブタマー8491-94\_3(配列番号:5)、8491-94\_53(配列番号:58)、及び8491-94\_97(配列番号:125)は、それぞれ、 $3.13 \times 10^{-11}$ M、 $3.34 \times 10^{-11}$ M及び $5.49 \times 10^{-11}$ Mの $K_d$ でC3に結合する。

【図3】制御タンパク質のヒトC5濃度(x軸)の関数としてプロットする結合したDNA分子(y軸)の画分のグラフ表示を示す。C5タンパク質濃度は、 $1 \times 10^{-7}$ Mから $1 \times 10^{-12}$ Mの範囲にわたる。8491-94\_53(配列番号:58)または8491-94\_97(配列番号:125)は、ヒトC5タンパク質との識別可能な結合は検出されなかった。

【図4】パターン1の配列は、ヒト血清の抗体で覆われたヒツジ赤血球の補体媒介性溶血を阻害する。 $2.5 \text{ nM}$ のヒトC3-タンパク質及び指示されたアブタマーの $1 \mu\text{M}$ を使用して、実施例3に記載したように実験を行った。各バーは、「阻害剤なしの制御」に関する2つの独立した実験の溶血パーセントの中央値を表示したものである。浸透溶解制御は、すべての赤血球が溶解されたときに $412 \text{ nm}$ での吸光度の相対パーセントを示す。誤差バーは、2つの実験の範囲を示す。非結合アブタマーの8491-94\_14(配列番号:35)、8491-94\_15(配列番号:36)、8491-398\_3(配列番号:30)及び8491-401\_3(配列番号:29)は、25%未満の溶解を阻害する。C3-タンパク質結合アブタマーの8491-3\_3(配列番号:4)、8491-94\_3(配列番号:5)、8491-189\_3(配列番号:8)、8491-282\_3(配列番号:9)、8491-387\_3(配列番号:16)、8491-388\_3(配列番号:18)、8491-389\_3(配列番号:6)、8491-390\_3(配列番号:7)、8491-393\_3(配列番号:14)、8491-394\_3(配列番号:11)、8491-395\_3(配列番号:10)、8491-396\_3(配列番号:13)、8491-397\_3(配列番号:12)、8491-399\_3(配列番号:27)、8491-400\_3(配列番号:24)、8491-405\_3(配列番号:17)、8491-406\_3(配列番号:15)及び8491-409\_3(配列番号:28)は、50%超の溶解を阻害する。

【図5】図5A及び図5Bは、8491-94\_3(配列番号:5)及びその誘導体によるヒト血清の抗体で覆われたヒツジ赤血球の補体媒介性溶血の阻害。図に示すように、ヒトC3-タンパク質の固定濃度( $2.0 \text{ nM}$ )を有するアブタマーの様々な濃度を使用して

、実施例3に記載したように実験を行った。IC<sub>50</sub>を決定するために、データを4パラメータロジスティック方程式に当てはめる。パネル(A)は、8491-94\_3が、14.8nMのIC<sub>50</sub>で阻害することを示し、その一方で、8491-94\_26(配列番号:54)、8491-94\_27(配列番号:55)、8491-94\_30(配列番号:60)、8491-94\_36(配列番号:66)、8491-94\_37(配列番号:67)及び8491-94\_43(配列番号:73)がそれぞれ、15.1nM、24.6nM、20.9nM、25.0nM、24.7nM及び19.2nMのIC<sub>50</sub>値で阻害することを示す。パネル(B)は、アブタマー、8491-94\_53(配列番号:58)が、17.1nMのIC<sub>50</sub>で阻害することを示し、その一方で、アブタマー-8491-94\_90(配列番号:118)、8491-94\_97(配列番号:125)及び8491-94\_100(配列番号:128)がそれぞれ、18.9nM、15.6nM、及び19.7nMのIC<sub>50</sub>値で阻害することを示す。

【図6】ザイモサンA誘発補体活性化後の8491-94\_3(配列番号:5)、8491-94\_53(配列番号:58)及び8491-94\_97(配列番号:125)によるC3aの放出(34%の正常ヒト血清)の阻害。実施例4に記載したように実験を行った。8491-94\_3(配列番号:5)、8491-94\_53(配列番号:58)及び8491-94\_97(配列番号:125)のそれぞれ、2μM、1.5μM、及び3μMのIC<sub>50</sub>値を決定するためにデータを4パラメータロジスティック方程式に当てはめる。

【図7】図7A及び図7Bは、アブタマーの8491-94\_53(配列番号:58)、8491-94\_90(配列番号:118)、8491-94\_97(配列番号:125)、8491-94\_100(配列番号:128)及び8491-94\_102(配列番号:130)(250nM)は、実施例5に記載したように0.002units/μLのDNアーゼI(A)で指定された数時間、37で消化され、消化産物は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。バンドはSYBRゴールドで可視化した。完全長(FL)アブタマー及びNがヌクレオチドの数である選択された分子長マーカーのサイズを示す。(B)濃度測定によって測定される時間に対する各完全長アブタマー バンド(SOMAmers)の残りのパーセント。接頭辞「OH」は、修飾されていない5'末端を示す。

【図8】図8A及び図8Bは、アブタマーの8491-94\_53(配列番号:58)、8491-94\_90(配列番号:118)、8491-94\_97(配列番号:125)、8491-94\_100(配列番号:128)及び8491-94\_102(配列番号:130)は、実施例5に記載したように0.014units/μLのDNアーゼIIで指定された数時間、37で消化され、消化産物は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。消化産物は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。バンドはSYBRゴールドで可視化した。完全長(FL)アブタマー及びNがヌクレオチドの数である選択された分子長マーカーのサイズを示す。(B)濃度測定によって測定される時間に対する各完全長アブタマー バンド(SOMAmers)の残りのパーセント。接頭辞「OH」は、修飾されていない5'末端を示す。

【図9】実施例15で説明するように、特定の例示的なC-5修飾ピリミジン(または5-dU修飾)を示す。たとえば、図10に示すように、各修飾構造はdUに結合する。

【図10】実施例の項で説明するように、特定のC-5ピリミジン及び骨格修飾を示す。

【図11】遅いオフ速度のアブタマーなどのアブタマーに組み込み得る特定の例示的な修飾ピリミジン(またはC-5修飾ピリミジン)を示す。図11は、R'、R''、及びR'''の定義を示す。

【図12】図12A及び図12Bは、(A)ザイモサンA誘発補体活性化後のパターン1 SOMAmers 8491-3\_3(配列番号:4)、8491-94\_3(配列番号:5)、8491-189\_3(配列番号:8)、8491-387\_3(配列番号:16)及び8491-389\_3(配列番号:6)による10%正常ヒト血清のC3a放出の阻害。アブタマー濃度は2μMで、実施例4に記載したように実験を行った。データは

、阻害剤なしの制御から得られる信号のパーセントとして提示される。(B) 8 4 9 1 - 3 \_ 3 (配列番号: 4)、(8 4 9 1 - 9 4 \_ 3 (配列番号: 5)、8 4 9 1 - 1 8 9 \_ 3 (配列番号: 8)、8 4 9 1 - 3 8 7 \_ 3 (配列番号: 16)及び8 4 9 1 - 3 8 9 \_ 3 (配列番号: 6)を実証する対照実験は、実質的にC 3 a放出のアッセイを妨害しない。データは、阻害剤なしの制御から得られる信号のパーセントとして提示される。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 7 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 7 6】

いくつかの実施形態では、C 3 タンパク質に結合するアプタマーが提供され、そのアプタマーは、第1の領域及び第2の領域を含み、第1の領域は、配列5' - P A G P C - 3' (配列番号: 1 3 2)を含み、第2の領域は、配列5' - G P A Y R P P - 3' (配列番号: 1 5 7)を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C - 5修飾ピリミジンであり、Yは、C、U、またはTであり、及びRはGまたはAである。いくつかの実施形態では、C 3 タンパク質に結合するアプタマーが提供され、そのアプタマーは、第1の領域及び第2の領域を含み、第1の領域は、配列5' - P A G P C - 3' (配列番号: 1 3 2)を含み、第2の領域は、配列5' - G P A C G P P - 3' (配列番号: 1 3 3)を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C - 5修飾ピリミジンである。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 7 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 7 8】

いくつかの実施形態では、C 3 タンパク質に結合するアプタマーが提供され、そのアプタマーは、配列5' - P A G P C - 3' (配列番号: 1 3 2)を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C - 5修飾ピリミジンである。いくつかの実施形態では、C 3 タンパク質に結合するアプタマーが提供され、そのアプタマーは、配列5' - G P A C G P P - 3' (配列番号: 1 3 3)を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C - 5修飾ピリミジンである。いくつかの実施形態では、C 3 タンパク質に結合するアプタマーが提供され、そのアプタマーは、配列5' - G P A Y R P P - 3' (配列番号: 1 5 7)を含む。式中、各Pは、各出現において、それぞれ独立して、C - 5修飾ピリミジンであり、Yは、C、U、またはTであり、及びRはGまたはAである。