

(19) 日本国特許庁 (JP)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-528897

(P2016-528897A)

(43) 公表日 平成28年9月23日 (2016.9.23)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 C O 8 4
<b>A 6 1 K 48/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 48/00	
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 225 頁)

(21) 出願番号	特願2016-534875 (P2016-534875)	(71) 出願人	514063755
(86) (22) 出願日	平成26年8月15日 (2014.8.15)		ラナ セラピューティクス インコーポレ
(85) 翻訳文提出日	平成28年4月14日 (2016.4.14)		イテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/051331		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
(87) 国際公開番号	W02015/023975		139, ケンブリッジ, シドニー ス
(87) 国際公開日	平成27年2月19日 (2015.2.19)		トリート 200, 스위트 310
(31) 優先権主張番号	61/898, 461	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成25年10月31日 (2013.10.31)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	61/866, 989		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成25年8月16日 (2013.8.16)	(74) 代理人	100181674
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 飯田 貴敏
(31) 優先権主張番号	62/010, 417	(74) 代理人	100181641
(32) 優先日	平成26年6月10日 (2014.6.10)		弁理士 石川 大輔
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 RNAを調節するための組成物および方法

## (57) 【要約】

本発明の態様は、標的化された様式で遺伝子発現を増加させるための方法に関する。いくつかの実施形態において、標的化された様式でタンパク質および/またはRNAのレベルを転写後に変化させるために有用な方法および組成物が提供される。本明細書中に開示される本発明の態様は、RNAを分解（例えば、エキソヌクレアーゼ媒介性分解）から保護するために有用な方法および組成物を提供する。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法は、標的化されたRNAの分解またはプロセッシングを減少させるかまたは妨げ、それにより、標的化されたRNAの定常状態レベルを上昇させる工程を含む。

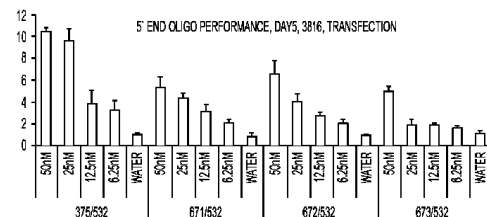


FIG. 60B

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

細胞において遺伝子発現を増加させる方法であって、該方法は、一般式  $5' - X_1 - X_2 - 3'$  を含むオリゴヌクレオチドを細胞に送達する工程を含み、式中、 $X_1$  は、該遺伝子によってコードされる RNA 転写物の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を有する 5 ~ 20 ヌクレオチドを含み、 $X_1$  の該相補性領域の  $3'$  末端におけるヌクレオチドは、該 RNA 転写物の転写開始部位におけるヌクレオチドと相補的であり； $X_2$  は、1 ~ 20 ヌクレオチドを含む、方法。

## 【請求項 2】

前記 RNA 転写物が、その  $5'$  末端に 7 - メチルグアノシンキャップを有する、請求項 1 に記載の方法。 10

## 【請求項 3】

前記 RNA 転写物が、7 - メチルグアノシンキャップを有し、 $X_1$  の前記相補性領域の  $3'$  末端におけるヌクレオチドが、該 7 - メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側に存在する該 RNA 転写物のヌクレオチドと相補的である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

$X_2$  の  $5'$  末端における少なくとも 1 番目のヌクレオチドが、グアニンと相補的なピリミジンである、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

$X_2$  の  $5'$  末端における 2 番目のヌクレオチドが、グアニンと相補的なピリミジンである、請求項 2 に記載の方法。 20

## 【請求項 6】

$X_2$  が、式  $5' - Y_1 - Y_2 - Y_3 - 3'$  を含み、ここで、 $X_2$  は、 $Y_2$  のヌクレオチドを含むループ領域および  $Y_3$  の少なくとも 2 個連続したヌクレオチドとハイブリダイズした  $Y_1$  の少なくとも 2 個連続したヌクレオチドを含むステム領域を有するステムループ構造を形成する、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 7】

$Y_1$ 、 $Y_2$  および  $Y_3$  が、独立して、1 ~ 10 個のヌクレオチドを含む、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

$Y_3$  が、前記ステム領域の  $3'$  末端のすぐ後ろの位置に、グアニンと相補的なピリミジンを含む、請求項 6 または 7 に記載の方法。 30

## 【請求項 9】

グアニンと相補的な前記ピリミジンが、シトシンである、請求項 2 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

$X_2$  が、 $X_1$  の相補性領域と相補的な RNA 転写物の領域と重複しない該 RNA 転写物の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 11】

$X_2$  の前記相補性領域が、前記 RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションの 100 ヌクレオチド以内に存在する、請求項 10 に記載の方法。 40

## 【請求項 12】

$X_2$  の前記相補性領域が、前記 RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している該 RNA 転写物と相補的である、請求項 11 に記載の方法。

## 【請求項 13】

$X_2$  が、前記 RNA 転写物のポリ(A)テイルのアデニンヌクレオチドと相補的な少なくとも 2 個連続したピリミジンヌクレオチドをさらに含む、請求項 11 または 12 に記載の方法。 50

## 【請求項 14】

前記 RNA 転写物が、mRNA、非コード RNA、長い非コード RNA、miRNA もしくは snoRNA または他の任意の好適な RNA である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記 RNA 転写物が、mRNA 転写物であり、 $X_2$  が、該転写物の 3' - UTR における少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 16】

前記 RNA 転写物が、mRNA であり、送達により、該 mRNA によってコードされるタンパク質のレベルが上昇する、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

## 【請求項 17】

前記 mRNA によってコードされるタンパク質のレベルの上昇が、前記オリゴヌクレオチドが送達されていなかった適切なコントロール細胞と比べて少なくとも 50% の上昇である、請求項 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 18】

前記 RNA 転写物が、ABCA1、APOA1、ATP2A2、BDNF、FXN、HBA2、HBB、HBD、HBE1、HBG1、HBG2、SMN、UTRN、PTEN、MECP2 および FOX P3 からなる群より選択される遺伝子から発現される mRNA である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

## 【請求項 19】

$X_1$  が、配列 5' - CGCCCTCCAG - 3' を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 20】

$X_2$  が、配列 CC を含む、請求項 19 に記載の方法。

## 【請求項 21】

$X_2$  が、配列 5' - CCAAGGTC - 3' を含む、任意の前述の請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 22】

前記オリゴヌクレオチドが、配列 5' - CGCCCTCCAGCCAAAGGTC - 3' を含む、請求項 1 に記載の方法。

30

## 【請求項 23】

前記 RNA 転写物が、ABCA4、ABCB11、ABCB4、ABCG5、ABCG8、ADIPOQ、ALB、APOE、BCL2L11、BRCA1、CD274、CEP290、CFTR、EPO、F7、F8、FLI1、FMR1、FND C5、GCH1、GCK、GLP1R、GRN、HAMP、HPRT1、IDO1、IGF1、IL10、IL6、KCNMA1、KCNMB1、KCNMB2、KCNMB3、KCNMB4、KLF1、KLF4、LDLR、MSX2、MYBPC3、NANOG、NF1、NKX2-1、NKX2-1-AS1、PAH、PTGS2、RB1、RPS14、RPS19、SCARB1、SERPIN F1、SIRT1、SIRT6、SMAD7、ST7、STAT3、TSIX および XIST からなる群より選択される遺伝子から発現される mRNA である、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【請求項 24】

細胞において遺伝子発現を増加させる方法であって、該方法は、該遺伝子によってコードされる mRNA 転写物の 5' - UTR の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な第 1 の領域、および該 mRNA 転写物の 3' - UTR の、ポリ(A)テイルの、またはポリアデニル化ジャンクションと重複している、少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な第 2 の領域を有する 10 ~ 50 ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドを細胞に送達する工程を含む、方法。

## 【請求項 25】

前記 5' - UTR の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドの 1 番目が、前記 mRNA 転

50

写物の 5' - メチルグアノシンキャップの 10ヌクレオチド以内に存在する、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記第 2 の領域が、前記ポリアデニル化ジャンクションと重複している少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的である、請求項 24 または 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記第 1 の領域の 5' 末端を前記第 2 の領域の 3' 末端と連結する 2 ~ 20ヌクレオチドをさらに含む、請求項 24 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記第 1 の領域の 3' 末端を前記第 2 の領域の 5' 末端と連結する 2 ~ 20ヌクレオチドをさらに含む、請求項 24 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 29】

前記オリゴヌクレオチドが、10 ~ 50ヌクレオチド長である、請求項 24 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記オリゴヌクレオチドが、9 ~ 20ヌクレオチド長である、請求項 24 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

細胞において遺伝子発現を増加させる方法であって、該方法は、一般式 5' -  $X_1$  -  $X_2$  - 3' を含むオリゴヌクレオチドを細胞に送達する工程を含み、式中、 $X_1$  は、アデニンと塩基対を形成する 2 ~ 20 個のピリミジンヌクレオチドを含み； $X_2$  は、該遺伝子によってコードされるポリアデニル化された RNA 転写物の少なくとも 3 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含み、 $X_2$  の相補性領域の 5' 末端におけるヌクレオチドは、該 RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションに対してすぐ内側に存在する該 RNA 転写物のヌクレオチドと相補的である、方法。

20

【請求項 32】

$X_1$  が、2 ~ 20 個のチミジンまたはウリジンを含む、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシド間結合を含む、請求項 1 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 34】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 35】

少なくとも 1 つのヌクレオチドが、2'-O-メチルを含む、請求項 1 ~ 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのリボヌクレオチド、少なくとも 1 つのデオキシリボヌクレオチド、少なくとも 1 つの 2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチドまたは少なくとも 1 つの架橋ヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 35 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 37】

前記架橋ヌクレオチドが、LNAヌクレオチド、cEtヌクレオチドまたはENA修飾ヌクレオチドである、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドが、LNAヌクレオチドである、請求項 1 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 39】

前記オリゴヌクレオチドのヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドと 2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチド、2'-O-メチルヌクレオチドまたは架橋ヌクレオチド

50

とが交互になっているものを含む、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 4 0】

前記オリゴヌクレオチドが、ミックスマーである、請求項 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記オリゴヌクレオチドが、モルホリノである、請求項 1 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記細胞が、インビトロにおけるものである、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 4 3】

前記細胞が、インビボにおけるものである、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 4】

細胞において遺伝子発現を増加させる方法であって、該方法は、該遺伝子の RNA 転写物を発現している細胞に、8 ~ 5 0 ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドを送達する工程を含み、該オリゴヌクレオチドは、RNA 転写物の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含み、該相補性領域の 3' 末端におけるヌクレオチドは、該 RNA 転写物の転写開始部位の 1 0 ヌクレオチド以内のヌクレオチドと相補的であり、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシド間結合または少なくとも 1 つの架橋ヌクレオチドによって連結されたヌクレオチドを含む、方法。

20

【請求項 4 5】

細胞において遺伝子発現を増加させる方法であって、該方法は、該遺伝子の RNA 転写物を発現している細胞に、2 つの相補性領域を含むオリゴヌクレオチドを送達する工程を含み、該 2 つの相補性領域の各々は、RNA 転写物の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的であり、第 1 の相補性領域の 3' 末端におけるヌクレオチドは、該 RNA 転写物の転写開始部位の 1 0 0 ヌクレオチド以内のヌクレオチドと相補的であり、第 2 の相補性領域は、該 RNA 転写物の 3' 末端の 3 0 0 ヌクレオチド以内で終わる該 RNA 転写物の領域と相補的である、方法。

30

【請求項 4 6】

細胞において RNA 転写物の安定性を高める方法であって、該方法は、該 RNA 転写物の 5' 領域を標的化する第 1 の安定化オリゴヌクレオチドおよび該 RNA 転写物の 3' 領域を標的化する第 2 の安定化オリゴヌクレオチドを該細胞に送達する工程を含む、方法。

【請求項 4 7】

前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドが、前記第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結されている、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドが、前記 RNA 転写物の 5' 末端における 1 番目に転写されたヌクレオチドの 1 0 ヌクレオチド以内の位置における該 RNA 転写物と相補的な相補性領域を含む、請求項 4 6 または 4 7 に記載の方法。

40

【請求項 4 9】

前記 RNA 転写物が、5' - メチルグアノシンキャップを含み、前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドが、該 5' - メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側のヌクレオチドの 1 0 ヌクレオチド以内の位置における該 RNA 転写物と相補的な相補性領域を含む、請求項 4 6 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記第 2 の安定化オリゴヌクレオチドが、前記 RNA 転写物の 3' 末端の 2 5 0 ヌクレオチド以内の位置における該 RNA 転写物と相補的な相補性領域を含む、請求項 4 6 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

## 【請求項 5 1】

前記RNA転写物が、3'-ポリ(A)テイルを含み、前記第2の安定化オリゴヌクレオチドが、該RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションの100ヌクレオチド以内の位置における該RNA転写物と相補的な相補性領域を含む、請求項46～50のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 5 2】

前記第2の安定化オリゴヌクレオチドの相補性領域が、前記RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している、請求項46～51のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 5 3】

細胞においてRNA転写物の安定性を高める方法であって、該方法は、該RNA転写物を標的化する請求項64～104のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチドを、該RNA転写物を発現する細胞に送達し、それにより、該RNA転写物の安定性を高める工程を含む、方法。

10

## 【請求項 5 4】

前記細胞が、インビトロにおけるものである、請求項46～53のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 5 5】

前記細胞が、インビボにおけるものである、請求項46～53のいずれか1項に記載の方法。

20

## 【請求項 5 6】

被験体における低レベルのRNA転写物に関連する状態または疾患を処置する方法であって、該方法は、請求項64～104のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチドを該被験体に投与する工程を含む、方法。

## 【請求項 5 7】

前記RNA転写物が、mRNA、非コードRNA、長い非コードRNA、miRNA、snRNA、tRNA、snRNA、細胞外のRNAまたは他の任意の好適なRNAである、請求項46～56のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 5 8】

前記RNA転写物が、mRNAである、請求項46～56のいずれか1項に記載の方法。

30

## 【請求項 5 9】

前記RNA転写物が、長い非コードRNAである、請求項46～56のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 6 0】

前記RNA転写物が、ABCA1、APOA1、ATP2A2、BDNF、FXN、HBA2、HBB、HBD、HBE1、HBG1、HBG2、SMN、UTRN、PTEN、MECP2およびFOX P3からなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである、請求項46～58のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 6 1】

前記RNA転写物が、ABCA4、ABCB11、ABCB4、ABCG5、ABCG8、ADIPOQ、ALB、APOE、BCL2L11、BRCA1、CD274、CEP290、CFTR、EPO、F7、F8、FLI1、FMR1、FND C5、GCH1、GCK、GLP1R、GRN、HAMP、HPRT1、IDO1、IGF1、IL10、IL6、KCNMA1、KCNMB1、KCNMB2、KCNMB3、KCNMB4、KLF1、KLF4、LDLR、MSX2、MYBPC3、NANOG、NF1、NKX2-1、NKX2-1-AS1、PAH、PTGS2、RB1、RPS14、RPS19、SCARB1、SERPIN F1、SIRT1、SIRT6、SMAD7、ST7、STAT3、TSIXおよびXISTからなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである、請求項46～58のいずれか1項に記載の方法。

40

50

## 【請求項 6 2】

8 ~ 50ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであって、該オリゴヌクレオチドは、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含み、該相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、該RNA転写物の転写開始部位の10ヌクレオチド以内のヌクレオチドと相補的であり、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合または少なくとも1つの架橋ヌクレオチドによって連結されたヌクレオチドを含む、オリゴヌクレオチド。

## 【請求項 6 3】

2つの相補性領域を含むオリゴヌクレオチドであって、該2つの相補性領域の各々は、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的であり、第1の相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、該RNA転写物の転写開始部位の100ヌクレオチド以内のヌクレオチドと相補的であり、第2の相補性領域は、該RNA転写物の3'末端の300ヌクレオチド以内で終わる該RNA転写物の領域と相補的である、オリゴヌクレオチド。

10

## 【請求項 6 4】

一般式  $5' - X_1 - X_2 - 3'$  を含むオリゴヌクレオチドであって、式中、

$X_1$  は、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を有する5 ~ 20ヌクレオチドを含み、 $X_1$  の相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、該RNA転写物の転写開始部位におけるヌクレオチドと相補的であり； $X_2$  は、1 ~ 20ヌクレオチドを含む、オリゴヌクレオチド。

20

## 【請求項 6 5】

前記RNA転写物が、その5'末端に7-メチルグアノシンキャップを有する、請求項62 ~ 64のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 6 6】

前記RNA転写物が、7-メチルグアノシンキャップを有し、 $X_1$  の相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、該7-メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側に存在する該RNA転写物のヌクレオチドと相補的である、請求項64に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 6 7】

$X_2$  の5'末端における少なくとも1番目のヌクレオチドが、グアニンと相補的なピリミジンである、請求項64に記載のオリゴヌクレオチド。

30

## 【請求項 6 8】

$X_2$  の5'末端における2番目のヌクレオチドが、グアニンと相補的なピリミジンである、請求項67に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 6 9】

$X_2$  が、式  $5' - Y_1 - Y_2 - Y_3 - 3'$  を含み、ここで、 $X_2$  は、 $Y_2$  のヌクレオチドを含むループ領域および $Y_3$  の少なくとも2個連続したヌクレオチドとハイブリダイズした $Y_1$  の少なくとも2個連続したヌクレオチドを含むステム領域を有するステムループ構造を形成する、請求項64に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 7 0】

$Y_1$ 、 $Y_2$  および $Y_3$  が、独立して、1 ~ 10個のヌクレオチドを含む、請求項69に記載のオリゴヌクレオチド。

40

## 【請求項 7 1】

$Y_3$  が、前記ステム領域の3'末端のすぐ後ろの位置に、グアニンと相補的なピリミジンを含む、請求項69または70に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 7 2】

グアニンと相補的な前記ピリミジンが、シトシンである、請求項67 ~ 71のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 7 3】

$X_2$  が、 $X_1$  の相補性領域と相補的なRNA転写物の領域と重複しない該RNA転写物

50

の少なくとも５個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む、請求項６４に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項７４】

$X_2$  の前記相補性領域が、前記 RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションの 100 ヌクレオチド以内に存在する、請求項７３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項７５】

$X_2$  の前記相補性領域が、前記 RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している該 RNA 転写物と相補的である、請求項７４に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項７６】

$X_2$  が、前記 RNA 転写物のポリ(A)テイルのアデニンヌクレオチドと相補的な少なくとも２個連続したピリミジンヌクレオチドをさらに含む、請求項７４または７５に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項７７】

前記 RNA 転写物が、mRNA、非コード RNA、長い非コード RNA、miRNA もしくは snoRNA または他の任意の好適な RNA である、請求項６２～７６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項７８】

前記 RNA 転写物が、mRNA 転写物であり、 $X_2$  が、該転写物の 3' - UTR における少なくとも５個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む、請求項６４～７７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項７９】

前記 RNA 転写物が、ABCA1、APOA1、ATP2A2、BDNF、FXN、HBA2、HBB、HBD、HBE1、HBG1、HBG2、SMN、UTRN、PTEN、MECP2 および FOX P3 からなる群より選択される遺伝子から発現される mRNA である、請求項６２～７８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項８０】

$X_1$  が、配列 5' - CGCCCTCCAG - 3' を含む、請求項６４に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項８１】

$X_2$  が、配列 CC を含む、請求項７９に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項８２】

$X_2$  が、配列 5' - CCAAGGTC - 3' を含む、任意の前述の請求項７９に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項８３】

前記オリゴヌクレオチドが、配列 5' - CGCCCTCCAGCCAAGGTC - 3' を含む、請求項６４に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項８４】

前記 RNA 転写物が、ABCA4、ABCB11、ABCB4、ABCG5、ABCG8、ADIPOQ、ALB、APOE、BCL2L11、BRCA1、CD274、CEP290、CFTR、EPO、F7、F8、FLI1、FMR1、FND C5、GCH1、GCK、GLP1R、GRN、HAMP、HPRT1、IDO1、IGF1、IL10、IL6、KCNMA1、KCNMB1、KCNMB2、KCNMB3、KCNMB4、KLF1、KLF4、LDLR、MSX2、MYBPC3、NANOG、NF1、NKX2-1、NKX2-1-AS1、PAH、PTGS2、RB1、RPS14、RPS19、SCARB1、SERPINF1、SIRT1、SIRT6、SMAD7、ST7、STAT3、TSIX および XIST からなる群より選択される遺伝子から発現される mRNA である、請求項６２～７８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項８５】

mRNA 転写物の 5' - UTR の少なくとも５個連続したヌクレオチドと相補的な第 1

10

20

30

40

50



の領域、および該 mRNA 転写物の 3' - UTR の、ポリ (A) テイルの、またはポリアデニル化ジャンクションと重複している、少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な第 2 の領域を有する 10 ~ 50 ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチド。

【請求項 86】

前記 5' - UTR の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドの 1 番目が、前記 mRNA 転写物の 5' - メチルグアノシンキャップの 10 ヌクレオチド以内に存在する、請求項 85 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 87】

前記第 2 の領域が、前記ポリアデニル化ジャンクションと重複している少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的である、請求項 85 または 86 に記載のオリゴヌクレオチド。

10

【請求項 88】

前記第 1 の領域の 5' 末端を前記第 2 の領域の 3' 末端と連結する 2 ~ 20 ヌクレオチドをさらに含む、請求項 85 ~ 87 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 89】

前記第 1 の領域の 3' 末端を前記第 2 の領域の 5' 末端と連結する 2 ~ 20 ヌクレオチドをさらに含む、請求項 85 ~ 87 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 90】

前記オリゴヌクレオチドが、10 ~ 50 ヌクレオチド長である、請求項 85 ~ 87 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 91】

前記オリゴヌクレオチドが、9 ~ 20 ヌクレオチド長である、請求項 85 ~ 87 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 92】

一般式 5' - X<sub>1</sub> - X<sub>2</sub> - 3' を含むオリゴヌクレオチドであって、式中、

X<sub>1</sub> は、アデニンと塩基対を形成する 2 ~ 20 個のピリミジンヌクレオチドを含み；X<sub>2</sub> は、ポリアデニル化された mRNA 転写物の少なくとも 3 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含み、X<sub>2</sub> の相補性領域の 5' 末端におけるヌクレオチドは、該 mRNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションに対してすぐ内側に存在する該 mRNA 転写物のヌクレオチドと相補的である、オリゴヌクレオチド。

30

【請求項 93】

X<sub>1</sub> が、2 ~ 20 個のチミジンまたはウリジンを含む、請求項 80 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 94】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシド間結合を含む、請求項 62 ~ 93 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 95】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドを含む、請求項 62 ~ 93 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 96】

少なくとも 1 つのヌクレオチドが、2' O - メチルを含む、請求項 62 ~ 95 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 97】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのリボヌクレオチド、少なくとも 1 つのデオキシリボヌクレオチド、少なくとも 1 つの 2' - フルオロ - デオキシリボヌクレオチドまたは少なくとも 1 つの架橋ヌクレオチドを含む、請求項 62 ~ 93 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 98】

前記架橋ヌクレオチドが、LNA ヌクレオチド、cEt ヌクレオチドまたはENA 修飾ヌクレオチドである、請求項 97 に記載のオリゴヌクレオチド。

50

## 【請求項 99】

前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドが、LNAヌクレオチドである、請求項64～98のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 100】

前記オリゴヌクレオチドのヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチドと2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチド、2'-O-メチルヌクレオチドまたは架橋ヌクレオチドとが交互になっているものを含む、請求項64～99のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 101】

前記オリゴヌクレオチドが、ミックスマーである、請求項64～94のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 102】

前記オリゴヌクレオチドが、モルホリノである、請求項64～94のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 103】

表3、7、8または9に示されているようなヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 104】

表3、7、8または9に示されているようなヌクレオチド配列の少なくとも8ヌクレオチドのフラグメントを含むオリゴヌクレオチド。

## 【請求項 105】

ヌクレオシド間結合を介して連結された5～25個のヌクレオチドを有する第1のオリゴヌクレオチドおよびヌクレオシド間結合を介して連結された5～25個のヌクレオチドを有する第2のオリゴヌクレオチドを含む組成物であって、ここで、該第1のオリゴヌクレオチドは、RNA転写物の5'末端の100ヌクレオチド以内の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的であり、該第2のオリゴヌクレオチドは、RNA転写物の3'末端の100ヌクレオチド以内の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的である、組成物。

## 【請求項 106】

前記第1のオリゴヌクレオチドと第2のオリゴヌクレオチドとが、前記RNA転写物と相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドではないリンカーによってつながられている、請求項105に記載の組成物。

## 【請求項 107】

前記リンカーが、オリゴヌクレオチドである、請求項106に記載の組成物。

## 【請求項 108】

前記リンカーが、ポリペプチドである、請求項106に記載の組成物。

## 【請求項 109】

複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物であって、ここで、該オリゴヌクレオチドの少なくとも75%の各々は、請求項64～104のいずれか1項から選択されるオリゴヌクレオチドである、組成物。

## 【請求項 110】

前記オリゴヌクレオチドが、一価カチオンと複合体を形成している、請求項109に記載の組成物。

## 【請求項 111】

前記オリゴヌクレオチドが、凍結乾燥された形態で存在する、請求項109または110に記載の組成物。

## 【請求項 112】

前記オリゴヌクレオチドが、水溶液で存在する、請求項109または110に記載の組成物。

## 【請求項 113】

10

20

30

40

50

請求項 6 4 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドおよびキャリアを含む組成物。

【請求項 1 1 4】

請求項 6 4 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドを緩衝液中に含む組成物。

【請求項 1 1 5】

キャリアに結合体化された請求項 6 4 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドを含む組成物。

【請求項 1 1 6】

前記キャリアが、ペプチドである、請求項 1 1 5 に記載の組成物。

10

【請求項 1 1 7】

前記キャリアが、ステロイドである、請求項 1 1 5 に記載の組成物。

【請求項 1 1 8】

請求項 6 4 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容され得るキャリアを含む薬学的組成物。

【請求項 1 1 9】

請求項 1 0 9 ~ 1 1 8 のいずれか 1 項に記載の組成物が収容されている容器を備えるキット。

【請求項 1 2 0】

細胞においてタンパク質の発現を増加させるための方法であって、該方法は、該タンパク質をコードする環状化した合成 RNA を細胞に送達する工程を含み、該細胞における該タンパク質の合成は、該細胞への該環状化した合成 RNA の送達後に増加する、方法。

20

【請求項 1 2 1】

前記環状化した合成 RNA が、1 つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドを含む、請求項 1 2 0 に記載の方法。

【請求項 1 2 2】

合成 RNA を安定化する方法であって、該方法は、該合成 RNA の 5' 領域を標的化する第 1 の安定化オリゴヌクレオチドおよび該合成 RNA の 3' 領域を標的化する第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと該合成 RNA を、該第 1 の安定化オリゴヌクレオチドおよび第 2 の安定化オリゴヌクレオチドが該合成 RNA 上の標的配列とハイブリダイズする条件下で接触させる工程を含み、該合成 RNA が、該第 1 および第 2 の安定化オリゴヌクレオチドとハイブリダイズしたとき、環状化した生成物を形成することができるよう、該第 1 の安定化オリゴヌクレオチドは、該第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結されている、方法。

30

【請求項 1 2 3】

前記合成 RNA を、前記第 1 および第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと細胞の外側で接触させる、請求項 1 2 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

細胞に合成 RNA を送達する方法であって、該方法は、

該合成 RNA の 5' 領域を標的化する第 1 の安定化オリゴヌクレオチドおよび該合成 RNA の 3' 領域を標的化する第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと該合成 RNA を、該第 1 の安定化オリゴヌクレオチドおよび第 2 の安定化オリゴヌクレオチドが該合成 RNA 上の標的配列とハイブリダイズする条件下で接触させる工程であって、該合成 RNA が、該第 1 および第 2 の安定化オリゴヌクレオチドとハイブリダイズしたとき、環状化した生成物を形成することができるよう、該第 1 の安定化オリゴヌクレオチドは、該第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結されている、工程；および

40

該環状化した生成物を該細胞に送達する工程を含む、方法。

【請求項 1 2 5】

前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドと第 2 の安定化オリゴヌクレオチドとが、ヌクレ

50

オシド間結合を介して共有結合的に連結されている、請求項 1 2 2 ~ 1 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドと第 2 の安定化オリゴヌクレオチドとが、オリゴヌクレオチドを介して共有結合的に連結されている、請求項 1 2 4 または 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドと第 2 の安定化オリゴヌクレオチドとが、本明細書中に開示される任意の適切なリンカーを介して共有結合的に連結されている、請求項 1 2 6 に記載の組成物。

10

【請求項 1 2 8】

前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドが、前記合成 RNA の 5' 末端における 1 番目のヌクレオチドの 10 ヌクレオチド以内の位置における該合成 RNA と相補的な相補性領域を含む、請求項 1 2 2 ~ 1 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記合成 RNA が、5'-メチルグアノシンキャップを含み、前記第 1 の安定化オリゴヌクレオチドが、該 5'-メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側のヌクレオチドの 10 ヌクレオチド以内の位置における該合成 RNA と相補的な相補性領域を含む、請求項 1 2 2 ~ 1 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

20

前記第 2 の安定化オリゴヌクレオチドが、前記合成 RNA の 3' 末端の 250 ヌクレオチド以内の位置における該合成 RNA と相補的な相補性領域を含む、請求項 1 2 2 ~ 1 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記合成 RNA が、3'-ポリ(A)テイルを含み、前記第 2 の安定化オリゴヌクレオチドが、該合成 RNA のポリアデニル化ジャンクションの 100 ヌクレオチド以内の位置における該合成 RNA と相補的な相補性領域を含む、請求項 1 2 2 ~ 1 3 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

前記第 2 の安定化オリゴヌクレオチドの相補性領域が、前記合成 RNA のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している、請求項 1 2 2 ~ 1 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 1 3 3】

前記合成 RNA が、1 つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドを含む、請求項 1 2 0 ~ 1 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記 1 つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドが、2'-アミノ-2'-デオキシヌクレオチド、2'-アジド-2'-デオキシヌクレオチド、2'-フルオロ-2'-デオキシヌクレオチド、2'-O-メチル-ヌクレオチド、2' 糖超修飾剤、2'-修飾熱安定性向上剤、2'-フルオロ-2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルアデノシン-5'-三リン酸、2'-O-メチルシチジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルグアノシン-5'-三リン酸、2'-O-メチルウリジン-5'-三リン酸、シュードウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルイノシン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、2'-アジド-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、2'-アジド-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルシュードウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチル-5'-メチルウリジン-5'-三リン酸、2'-アジド-2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'

40

50

- デオキシアデノシン - 5' - 三リン酸、2' - フルオロ - チミジン - 5' - 三リン酸、2' - アジド - 2' - デオキシグアノシン - 5' - 三リン酸、2' - アミノ - 2' - デオキシグアノシン - 5' - 三リン酸および N4 - メチルシチジン - 5' - 三リン酸からなる群より選択される、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 135】

1 つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドを含む環状化した合成 RNA。

【請求項 136】

合成 RNA の 5' 領域とハイブリダイズされる第 1 の安定化オリゴヌクレオチド、および

該合成の 3' 領域とハイブリダイズされる第 2 の安定化オリゴヌクレオチドを含み、該第 1 の安定化オリゴヌクレオチドは、該第 2 の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結され、該合成 RNA とともに、環状化した生成物を形成する、請求項 135 に記載の環状化した合成 RNA。

【請求項 137】

請求項 135 または 136 に記載の環状化した合成 RNA および薬学的に許容され得るキャリアまたは賦形剤を含む薬学的組成物。

【請求項 138】

請求項 135 または 136 に記載の環状化した合成 RNA、ならびにナノ粒子、ポリ(乳酸 - co - グリコール酸) (PLGA) ミクロスフェア、リポイド、リポブックス、リポソーム、ポリマー、炭水化物(単糖類を含む)、カチオン性脂質、フィブリンゲル、フィブリンヒドロゲル、フィブリン糊、フィブリンシーラント、フィブリンゲン、トロンプインおよび迅速に排除される脂質ナノ粒子 (reLNP) のうちの 1 つまたはそれを超えるものを含む組成物。

【請求項 139】

前記環状化した合成 RNA が、GalNac などの炭水化物または他の標的化部分に結合体化される、請求項 135 に記載の環状化した合成 RNA。

【請求項 140】

前記第 1 または第 2 の安定化オリゴヌクレオチドが、GalNac などの炭水化物または他の標的化部分に結合体化される、請求項 135 に記載の環状化した合成 RNA。

【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、米国特許法 § 119 (e) のもと、「RNA 安定性を調節するための組成物および方法」という名称であり、2014 年 6 月 10 日に提出された米国仮出願第 62/010,417 号、「RNA 安定性を調節するための組成物および方法」という名称であり、2013 年 10 月 31 日に提出された米国仮出願第 61/898,461 号および「RNA 安定性を調節するための組成物および方法」という名称であり、2013 年 8 月 16 日に提出された米国仮出願第 61/866,989 号の利益を請求する。その各々の内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

本発明は、オリゴヌクレオチドに基づく組成物、ならびに核酸を調節するためにオリゴヌクレオチドに基づく組成物を使用する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

ヒトの疾患のかなりの部分は、疾患に関連する転写単位 (非コード RNA、タンパク質をコードする RNA または他の制御性のコードゲノム領域もしくは非コードゲノム領域) のタンパク質レベルおよび / または RNA レベルを選択的に変化させることによって処置

10

20

30

40

50

され得る。遺伝子の発現を阻害するための方法は、当該分野で公知であり、その方法としては、例えば、アンチセンス、RNAi、およびmiRNAによって媒介されるアプローチが挙げられる。そのような方法は、mRNAの翻訳を阻止する工程または標的RNAの分解を引き起こす工程を含み得る。しかしながら、遺伝子の発現を増加させるために利用可能なアプローチは限られている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

発明の要旨

本明細書中に開示される本発明の態様は、核酸を調節するために有用な方法および組成物に関する。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される方法および組成物は、分解（例えば、エキソヌクレアーゼ媒介性分解）からRNA（例えば、RNA転写物）を保護するために有用である。いくつかの実施形態において、保護されるRNAは、細胞の外側に存在する。いくつかの実施形態において、保護されるRNAは、細胞の中に存在する。いくつかの実施形態において、標的化された様式でタンパク質および/またはRNAのレベルを転写後に変化させるために有用な方法および組成物が提供される。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法は、標的化されたRNAの分解またはプロセッシングを減少させるかまたは妨げ、それにより、標的化されたRNAの定常状態レベルを上昇させる工程を含む。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法は、標的化されたRNAの翻訳を増加させるかまたはその転写を増加させ、それにより、標的化された様式でRNAのレベルおよび/またはタンパク質のレベルを上昇させる工程も含み得るか、またはその工程を代替的に含み得る。

10

20

【0005】

本発明の態様は、ある特定のRNA分解がエキソヌクレアーゼによって媒介されるという認識に関する。いくつかの実施形態において、エキソヌクレアーゼは、RNAをその3'末端および/または5'末端から破壊し得る。理論に拘束されることを望むものではないが、いくつかの実施形態において、RNAの一方または両方の末端は、その一方もしくは両方の末端または末端付近においてそのRNAとハイブリダイズするオリゴヌクレオチド（オリゴ）とそのRNAを接触させ、それにより、そのRNAの安定性および/またはレベルを高めることによって、エキソヌクレアーゼ酵素活性から保護され得ると考えられる。本明細書中に開示されるように、一方もしくは両方の末端または末端付近においてRNAを標的化することによってそのRNAの安定性および/またはレベルを高めることができることは、そのRNAを内部切断によって破壊することができるエンドヌクレアーゼが（例えば、細胞内に）存在するという部分的な理由から、驚くべきことである。さらに、いくつかの実施形態において、5'標的化オリゴヌクレオチドが、RNAの安定化またはRNAレベルの上昇において、単独で（例えば、3'標的化オリゴヌクレオチドと組み合わせせずに、または偽環状化（*pseudocircularization*）オリゴヌクレオチドの状況において）有効であることは、驚くべきことである。なぜなら、細胞内には、例えば、3'末端をプロセッシングするエキソヌクレアーゼが主要であり得る（例えば、5'末端をプロセッシングするエキソヌクレアーゼと比べて）からである。しかしながら、いくつかの実施形態において、3'標的化オリゴヌクレオチドは、標的RNAを安定化するために、5'標的化オリゴヌクレオチドと組み合わせて使用されるか、または単独で使用される。

30

40

【0006】

標的化されるRNAがタンパク質をコードするいくつかの実施形態において、そのRNAの定常状態レベルの上昇は、コードされたタンパク質のレベルの上昇を同時にもたらす。したがって、いくつかの実施形態において、細胞に送達されたときに標的RNAのタンパク質レベルを上昇させるオリゴヌクレオチド（5'-標的化オリゴヌクレオチド、3'-標的化オリゴヌクレオチドおよび偽環状化オリゴヌクレオチドを含む）が本明細書中に提供される。いくつかの実施形態において、標的RNAレベルが上昇するだけでなく、結

50

果として生じる翻訳産物も増加することは注目すべきことである。いくつかの実施形態において、翻訳が生じる場合、翻訳を促進するために、リボソーム機構がRNAのある特定の領域（例えば、5' キャップ領域、開始コドンなど）に接近する必要があると理解されているという部分的な理由から、この結果は驚くべきことである。

【0007】

標的化されるRNAが非コードであるいくつかの実施形態において、その非コードRNAの定常状態レベルの上昇は、その非コードRNAに関連する活性の増加を同時にもたらす。例えば、非コードRNAがmiRNAである場合、そのmiRNAの定常状態レベルの上昇は、そのmiRNAによって標的化されるmRNAの分解の増加をもたらし得る。

【0008】

いくつかの実施形態において、RNA転写物を標的化するためおよび安定化するために、送達、ハイブリダイゼーションおよび細胞内での安定性に適した化学的性質を有するオリゴヌクレオチドが提供される。さらに、いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの薬物動態、体内分布、バイオアベイラビリティおよび/または有効性をコントロールするために有用なオリゴヌクレオチドの化学的性質が提供される。

【0009】

本発明のいくつかの態様において、合成RNA（例えば、細胞に送達される合成RNA）を安定化するための方法が提供される。いくつかの実施形態において、それらの方法は、合成RNAの5' 領域および合成RNAの3' 領域に結合し、かつ合成RNAに結合されたときにその合成RNAとともに環状化した生成物を形成する1つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドと合成RNAを接触させる工程を含む。いくつかの実施形態において、合成RNAは、1つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドと細胞の外側で接触する。いくつかの実施形態において、それらの方法は、環状化した生成物を細胞に送達する工程をさらに含む。

【0010】

本発明のいくつかの態様において、細胞においてタンパク質の発現を増加させるための方法が提供され、その方法は、そのタンパク質をコードする環状化した合成RNAを細胞に送達する工程を含み、ここで、その細胞におけるタンパク質の合成は、環状化したRNAが細胞に送達された後に増加する。いくつかの実施形態において、環状化した合成RNAは、1つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、タンパク質をコードする環状化した合成RNAを細胞に送達する工程を含む方法が提供され、ここで、その細胞におけるタンパク質の合成は、環状化した合成RNAが細胞に送達された後に増加する。いくつかの実施形態において、環状化した合成RNAは、一本鎖の共有結合的に閉環状のRNAである。いくつかの実施形態において、一本鎖の共有結合的に閉環状のRNAは、1つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、環状化した合成RNAは、5' 末端および3' を有するRNAを合成し、その5' 末端および3' 末端を互いにライゲートすることによって、形成される。いくつかの実施形態において、環状化した合成RNAは、合成RNAを生成し（例えば、インビトロ転写または人工的な（非天然の）化学合成によって）、その合成RNAの5' 領域およびその合成RNAの3' 領域に結合し、かつ合成RNAに結合されたときに、その合成RNAとともに環状化した生成物を形成する1つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドとその合成RNAを接触させることによって形成される。

【0011】

いくつかの実施形態において、合成RNAを安定化するための方法が提供され、その方法は、合成RNAの5' 領域を標的化する第1の安定化オリゴヌクレオチドおよび合成RNAの3' 領域を標的化する第2の安定化オリゴヌクレオチドと合成RNAを、その第1の安定化オリゴヌクレオチドおよび第2の安定化オリゴヌクレオチドが合成RNA上の標的配列とハイブリダイズする条件下において接触させる工程を含む。いくつかの実施形態において、第1の安定化オリゴヌクレオチドは、合成RNAが、第1および第2の安定化オリゴヌクレオチドとハイブリダイズしたときに、環状化した生成物を形成するように、

10

20

30

40

50

第2の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結される。いくつかの実施形態において、合成RNAは、第1および第2の安定化オリゴヌクレオチドと細胞の外側で接触する。

#### 【0012】

いくつかの実施形態において、合成RNAを細胞に送達する方法が提供され、その方法は、合成RNAの5'領域を標的化する第1の安定化オリゴヌクレオチドおよび合成RNAの3'領域を標的化する第2の安定化オリゴヌクレオチドと合成RNAを、第1の安定化オリゴヌクレオチドおよび第2の安定化オリゴヌクレオチドが合成RNA上の標的配列とハイブリダイズする条件下において接触させる工程；および環状化した生成物を細胞に送達する工程を含む。いくつかの実施形態において、第1の安定化オリゴヌクレオチドは、合成RNAが、第1および第2の安定化オリゴヌクレオチドとハイブリダイズしたときに、環状化した生成物を形成するように、第2の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結される。いくつかの実施形態において、第1の安定化オリゴヌクレオチドおよび第2の安定化オリゴヌクレオチドは、本明細書中に開示される任意の適切なリンカー（例えば、オリゴヌクレオチドリナー）を介して共有結合的に連結される。

10

#### 【0013】

本発明の態様は、細胞においてRNA転写物の安定性を高める方法に関する。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される方法は、RNA転写物を安定化する本明細書中に開示される1つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドを細胞に送達する工程を含む。いくつかの実施形態において、それらの方法は、RNA転写物の5'領域を標的化する第1の安定化オリゴヌクレオチドおよびRNA転写物の3'領域を標的化する第2の安定化オリゴヌクレオチドを細胞に送達する工程を含む。いくつかの実施形態において、第1の安定化オリゴヌクレオチドは、第2の安定化オリゴヌクレオチドと共有結合的に連結される。いくつかの実施形態において、第1の安定化オリゴヌクレオチドは、RNA転写物の5'末端における1番目に転写されたヌクレオチドの10ヌクレオチド以内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、5'-メチルグアノシンキャップを含み、第1の安定化オリゴヌクレオチドは、その5'-メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側のヌクレオチドの10ヌクレオチド以内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、第2の安定化オリゴヌクレオチドは、RNA転写物の3'末端の250ヌクレオチド以内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、3'-ポリ(A)テイルを含み、第2の安定化オリゴヌクレオチドは、RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションの100ヌクレオチド以内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、第2の安定化オリゴヌクレオチドの相補性領域は、RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している。いくつかの実施形態において、細胞は、インピトロにおけるものである。いくつかの実施形態において、細胞は、インピボにおけるものである。いくつかの実施形態において、第2の安定化オリゴヌクレオチドは、3'-ポリ(a)テイル内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、第2の安定化オリゴヌクレオチドは、5~15個のピリミジン（例えば、チミン）ヌクレオチドを含む領域を含む。

20

30

40

#### 【0014】

本発明のさらなる態様は、被験体における低レベルのRNA転写物に関連する状態または疾患を処置する方法に関する。いくつかの実施形態において、その方法は、オリゴヌクレオチドを被験体に投与する工程を含む。

#### 【0015】

前述の方法のいくつかの実施形態において、RNA転写物は、mRNA、非コードRNA、長い非コードRNA、miRNA、snRNAまたは他の任意の好適な転写物である。

#### 【0016】

50



いくつかの実施形態において、RNA転写物は、ABCA1、APOA1、ATP2A2、BDNF、FXN、HBA2、HBB、HBD、HBE1、HBG1、HBG2、SMN、UTRN、PTEN、MECP2およびFOXP3からなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである。

#### 【0017】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、ABCA4、ABCB11、ABCB4、ABCG5、ABCG8、ADIPOQ、ALB、APOE、BCL2L11、BRCA1、CD274、CEP290、CFTR、EPO、F7、F8、FLI1、FMR1、FND C5、GCH1、GCK、GLP1R、GRN、HAMP、HPRT1、IDO1、IGF1、IL10、IL6、KCNMA1、KCNMB1、KCNMB2、KCNMB3、KCNMB4、KLF1、KLF4、LDLR、MSX2、MYBPC3、NANOG、NF1、NKX2-1、NKX2-1-AS1、PAH、PTGS2、RB1、RPS14、RPS19、SCARB1、SERPINF1、SIRT1、SIRT6、SMAD7、ST7、STAT3、TSIXおよびXISTからなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである。

10

#### 【0018】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、HOTAIRおよびANRILからなる群より選択される非コードRNAである。

#### 【0019】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、FXN、EPO、KLF4、ACTB、UTRN、HBF、SMN、FOXP3、PTEN、NFE2L2およびATP2A2からなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである。

20

#### 【0020】

本発明のいくつかの態様において、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含むオリゴヌクレオチドが提供され、ここで、その相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位の10ヌクレオチド以内のヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合または少なくとも1つの架橋ヌクレオチド(bridged nucleotide)によって連結されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、8~50または9~20ヌクレオチド長である。

30

#### 【0021】

本発明のいくつかの態様において、2つの相補性領域を含むオリゴヌクレオチドが提供され、その2つの相補性領域の各々は、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的であり、第1の相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位の100ヌクレオチド以内のヌクレオチドと相補的であり、第2の相補性領域は、RNA転写物の3'末端の300ヌクレオチド以内で終わるRNA転写物の領域と相補的である。

#### 【0022】

本発明のいくつかの態様において、一般式5'-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-3'を含むオリゴヌクレオチドが提供され、式中、X<sub>1</sub>は、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を有する5~20ヌクレオチドを含み、X<sub>1</sub>の相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位におけるヌクレオチドと相補的であり；X<sub>2</sub>は、1~20ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、その5'末端に7-メチルグアノシンキャップを有する。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、7-メチルグアノシンキャップを有し、X<sub>1</sub>の相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、その7-メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側に存在するRNA転写物のヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、X<sub>2</sub>の5'末端における少なくとも1番目のヌクレオチドは、グアニンと相補的なピリミジンである。いくつかの実施形態において、X<sub>2</sub>の5'末端における2番目のヌクレオチド

40

50

は、グアニンと相補的なピリミジンである。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、式 5 ' -  $Y_1$  -  $Y_2$  -  $Y_3$  - 3 ' を含み、ここで、 $X_2$  は、 $Y_2$  のヌクレオチドを含むループ領域および  $Y_3$  の少なくとも 2 個連続したヌクレオチドとハイブリダイズした  $Y_1$  の少なくとも 2 個連続したヌクレオチドを含むステム領域を有するステムループ構造を形成する。いくつかの実施形態において、 $Y_1$ 、 $Y_2$  および  $Y_3$  は、独立して、1 ~ 10 個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_3$  は、ステム領域の 3 ' 末端のすぐ後の位置に、グアニンと相補的なピリミジンを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_3$  は、ステム領域の 3 ' 末端の後に 1 ~ 2 個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、ステム領域の 3 ' 末端の後の  $Y_3$  のヌクレオチドは、DNA ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、ステム領域は、2 ~ 3 個の LNA を含む。いくつかの実施形態において、グアニンと相補的なピリミジンは、シトシンである。いくつかの実施形態において、 $Y_2$  のヌクレオチドは、少なくとも 1 つのアデニンを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$  は、3 ~ 4 個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$  のヌクレオチドは、DNA ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、 $Y_2$  は、少なくとも 1 つのアデニンヌクレオチドを含む 3 ~ 4 個の DNA ヌクレオチドを含む。1 つまたはそれを超える修飾ヌクレオチド（例えば、2 ' - O - メチル、LNA ヌクレオチド）が、 $Y_2$  に存在し得ることが認識されるべきである。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、 $X_1$  の相補性領域と相補的な RNA 転写物の領域と重複しない RNA 転写物の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  の相補性領域は、RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションの 100 ヌクレオチド以内に存在する。いくつかの実施形態において、 $X_2$  の相補性領域は、RNA 転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している RNA 転写物と相補的である。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、RNA 転写物のポリ (A) テイルのアデニンヌクレオチドと相補的な少なくとも 2 個連続したピリミジンヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  の相補性領域は、ポリ (a) テイル内に存在する。いくつかの実施形態において、 $X_2$  の相補性領域は、5 ~ 15 個のピリミジン（例えば、チミン）ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、RNA 転写物は、mRNA、非コード RNA、長い非コード RNA、miRNA、snRNA または他の任意の好適な RNA 転写物である。いくつかの実施形態において、RNA 転写物は、mRNA 転写物であり、 $X_2$  は、その転写物の 3 ' - UTR における少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、RNA 転写物は、ABCA1、APOA1、ATP2A2、BDNF、FXN、HBA2、HBB、HBD、HBE1、HBG1、HBG2、SMN、UTRN、PTEN、MECP2 および FOX P3 からなる群より選択される遺伝子から発現される mRNA である。いくつかの実施形態において、 $X_1$  は、配列 5 ' - CGCCCTCCAG - 3 ' を含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、配列 CC を含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、配列 5 ' - CCAAGGTC - 3 ' を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、配列 5 ' - CGCCCTCCAGCCCAAGGTC - 3 ' を含む。いくつかの実施形態において、RNA 転写物は、ABCA4、ABCB11、ABCB4、ABCG5、ABCG8、ADIPOQ、ALB、APOE、BCL2L11、BRCA1、CD274、CEP290、CFTR、EPO、F7、F8、FLI1、FMR1、FND C5、GCH1、GCK、GLP1R、GRN、HAMP、HPR T1、IDO1、IGF1、IL10、IL6、KCNMA1、KCNMB1、KCNMB2、KCNMB3、KCNMB4、KLF1、KLF4、LDLR、MSX2、MYBPC3、NANOG、NF1、NKX2-1、NKX2-1-AS1、PAH、PTGS2、RB1、RPS14、RPS19、SCARB1、SERPINF1、SIRT1、SIRT6、SMAD7、ST7、STAT3、TSIX および XIST からなる群より選択される遺伝子から発現される mRNA である。

#### 【0023】

本発明のいくつかの態様において、10 ~ 50 または 9 ~ 50 または 9 ~ 20 ヌクレオ

チド長であって、mRNA転写物の5' - UTRの少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な第1の領域、およびmRNA転写物の3' - UTRの、ポリ(A)テイルの、またはポリアデニル化ジャンクションと重複する、少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な第2の領域を有する、オリゴヌクレオチド提供される。いくつかの実施形態において、5' - UTRの少なくとも5個連続したヌクレオチドの1番目は、mRNA転写物の5' - メチルグアノシンキャップの10ヌクレオチド以内に存在する。いくつかの実施形態において、第2の領域は、ポリアデニル化ジャンクションと重複する少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、第2の領域は、ポリ(a)テイルの少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、第2の領域は、5 ~ 15個のピリミジン(例えば、チミン)ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、第1の領域の5'末端を第2の領域の3'末端と連結する2 ~ 20個のヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、第1の領域の3'末端を第2の領域の5'末端と連結する2 ~ 20個のヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、10 ~ 50または9 ~ 50または9 ~ 20ヌクレオチド長である。

#### 【0024】

本発明のいくつかの態様において、一般式5' -  $X_1$  -  $X_2$  - 3'を含むオリゴヌクレオチドが提供され、式中、 $X_1$ は、アデニンと塩基対を形成する2 ~ 20個のピリミジンヌクレオチドを含み； $X_2$ は、ポリアデニル化されたRNA転写物の少なくとも3個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含み、 $X_2$ の相補性領域の5'末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションに対してすぐ内側に存在するRNA転写物のヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、 $X_1$ は、2 ~ 20個のチミジンまたはウリジンを含む。

#### 【0025】

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾されたヌクレオシド間結合を含む。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも1つのヌクレオチドは、2'-O-メチルを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのリボヌクレオチド、少なくとも1つのデオキシリボヌクレオチド、少なくとも1つの2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチドまたは少なくとも1つの架橋ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、架橋ヌクレオチドは、LNAヌクレオチド、cEtヌクレオチドまたはENA修飾ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドは、LNAヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドのヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドと2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチド、2'-O-メチルヌクレオチドまたは架橋ヌクレオチドとが交互になっているものを含む。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドは、ミックスマー(mixer)である。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドは、モルホリノである。

#### 【0026】

本発明のいくつかの態様において、表3、7、8または9に示されているようなヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドが提供される。本発明のいくつかの態様において、表3、7、8または9に示されているようなヌクレオチド配列の少なくとも8ヌクレオチドのフラグメントを含むオリゴヌクレオチドが提供される。

#### 【0027】

本発明のいくつかの態様において、ヌクレオシド間結合を介して連結された5 ~ 25個のヌクレオチドを有する第1のオリゴヌクレオチドおよびヌクレオシド間結合を介して連結された5 ~ 25個のヌクレオチドを有する第2のオリゴヌクレオチドを含む組成物が提供され、ここで、その第1のオリゴヌクレオチドは、RNA転写物の5'末端の100ヌクレオチド以内の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的であり、第2のオリゴヌ

10

20

30

40

50

クレオチドは、RNA 転写物の 3' 末端の 100 ヌクレオチド以内の少なくとも 5 個連続したヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、第 1 のオリゴヌクレオチドと第 2 のオリゴヌクレオチドとは、RNA 転写物と相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドではないリンカーによってつながられている。いくつかの実施形態において、リンカーは、オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、リンカーは、ポリペプチドである。

#### 【0028】

本発明のいくつかの態様において、本明細書中に開示される 1 つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドを含む組成物が提供される。いくつかの実施形態において、複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物が提供され、ここで、それらのオリゴヌクレオチドの各々の少なくとも 75% は、表 3、7、8 または 9 に示されているようなヌクレオチド配列を含むか、またはそのヌクレオチド配列からなる。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、一価カチオン（例えば、Li<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cs<sup>+</sup>）と複合体を形成している。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、凍結乾燥された形態で存在する。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、水溶液中で存在する。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、キャリア（例えば、薬学的に許容され得るキャリア）とともに提供されるか、そのキャリアと組み合わせられるか、または混合される。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、緩衝液中に提供される。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、キャリア（例えば、ペプチド、ステロイドまたは他の分子）と結合体化されている。本発明のいくつかの態様において、組成物が収容されている容器を備えるキットが提供される。

10

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0029】

【図 1】図 1 は、3' RNA 末端を標的化するための例示的なオリゴデザインを描写している説明図である。第 1 の例は、ポリ A テイルの前の、RNA の 3' 末端に相補的なオリゴを示している。第 2 の例は、ポリ A テイルにハイブリダイズする 5' T - ストレッチを有する RNA の 3' 末端に相補的なオリゴを示している。

#### 【0030】

【図 2】図 2 は、5' RNA 末端を標的化するための例示的なオリゴを描写している説明図である。第 1 の例は、RNA の 5' 末端に相補的なオリゴを示している。第 2 の例は、RNA の 5' 末端に相補的なオリゴを示しており、そのオリゴは、3' オーバーハング残基を有することにより、陥凹末端を有する RNA - オリゴ二重鎖をもたらす。オーバーハングは、5' メチルグアノシンキャップと潜在的に相互作用し、さらにそのキャップを安定化する、C を含むがこれに限定されないヌクレオチドの組み合わせを含み得る。

30

#### 【0031】

【図 3 A】図 3 A は、5' RNA 末端を標的化するための例示的なオリゴならびに 5' および 3' RNA 末端を標的化するための例示的なオリゴを描写している説明図である。この例は、5' RNA キャップを安定化するループを有するオリゴ、または 5' および 3' RNA 末端に結合して偽環状化した (pseudocircularized) RNA をもたらすオリゴを示している。

40

#### 【0032】

【図 3 B】図 3 B は、オリゴによって媒介される例示的な RNA 偽環状化を描写している説明図である。この説明図は、例示的な RNA の 5' および 3' 領域に結合する LNA ミックスマーオリゴを示している。

#### 【0033】

【図 4】図 4 は、フラタキシン (FXN) 3' ポリ A 部位を描写している略図である。

#### 【0034】

【図 5】図 5 は、FXN 5' 開始部位を描写している略図である。

#### 【0035】

【図 6】図 6 は、実施例において試験された 5' および 3' オリゴヌクレオチドの位置を

50

描写している略図である。

【0036】

【図7】図7は、3'末端オリゴの試験の結果を描写しているグラフである。スクリーニングをGM03816 FRDA患者細胞株において行い、FXN mRNAのレベルをトランスフェクションの1～3日後に計測した。トランスフェクションのために使用されたオリゴ濃度は、100 nMだった。

【0037】

【図8】図8は、3'末端オリゴの試験の結果を描写しているグラフである。スクリーニングをGM03816 FRDA患者細胞株において行い、FXN mRNAのレベルをトランスフェクションの1～3日後に計測した。トランスフェクションのために使用されたオリゴ濃度は、400 nMだった。

10

【0038】

【図9】図9は、FXN mRNAをアップレギュレートすると示されたFXN 3'オリゴ73、75、76および77の位置および配列を描写している略図である。これらのオリゴのすべてが、ポリT配列を含んでいた。mRNAへの各オリゴの結合の概略図が示されている。

【0039】

【図10】図10は、5'末端オリゴの試験の結果を描写しているグラフである。スクリーニングをGM03816 FRDA患者細胞において行い、FXN mRNAのレベルをトランスフェクションの2日後に計測した。トランスフェクションのために使用されたオリゴ濃度は、100 nM（赤色のバー、各対における左のバー）および400 nM（青色のバー、各対における右のバー）だった。400 nMレベルを用いて得られたより低い反応レベルは、高すぎるオリゴ濃度、および送達のために各オリゴを適切にコーティングするトランスフェクション剤の利用可能性の低下に起因し得る。

20

【0040】

【図11】図11は、GM03816 FRDA患者細胞においてFXN 3'オリゴ75と組み合わせて5'末端オリゴを試験した結果を描写しているグラフである。FXN mRNAのレベルをトランスフェクションの2および3日後に計測した。オリゴA/Bの場合、オリゴAは、5'末端を標的化し、オリゴBは、3'末端を標的化する。トランスフェクションのために使用されたオリゴ濃度は、最終200 nM = 100 nMオリゴA + 100 nMオリゴB）だった。

30

【0041】

【図12】図12は、図8に提示されたものと同じグラフを示している。バーを囲んでいる四角は、GM03816 FRDA患者細胞におけるFXNのアップレギュレートにおいて特に有効だった5'および3'オリゴ対を示している。

【0042】

【図13】図13は、FXN mRNAをアップレギュレートすると示されたFXN 5'オリゴ51、52、57および62の位置および配列を描写している略図である。これらのオリゴのすべてが、モチーフCGCCCTCCAGを含んでいた。オリゴ62によって形成されるステムループ構造の概略図が示されている。

40

【0043】

【図14】図14は、FXNオリゴ62の予測される構造を描写している説明図である。ヌクレオチド1～15は、FXNアイソフォームのうちの1つの5'末端に相補的である。ヌクレオチド2～8において示されている予測されるループは、細胞内では存在しない可能性がある。なぜなら、この部分は、RNAにハイブリダイズし得るがゆえにこのループは開いてRNAにハイブリダイズし得るからである。ヌクレオチド16～24は、最も3'のC残基をFXN mRNAの5'メチルグアノシンキャップと近接して配置するために人工的に付加されたループである。

【0044】

【図15A】図15Aおよび15Bは、処置の2日後における細胞傷害性(cytotoxicity)を示している略図である。

50

c i t y ) ( C T G ) を描写しているグラフである。オリゴによる F R D A 患者細胞株 G M 0 3 8 1 6 の処置は、1 0 0 および 4 0 0 n M でのオリゴ処置の 2 日目 ( 図 1 5 A ) および 3 日目 ( 図 1 5 B ) に細胞傷害性をもたらさなかった。

【図 1 5 B】図 1 5 A および 1 5 B は、処置の 2 日後における細胞傷害性 ( c y t o x i c i t y ) ( C T G ) を描写しているグラフである。オリゴによる F R D A 患者細胞株 G M 0 3 8 1 6 の処置は、1 0 0 および 4 0 0 n M でのオリゴ処置の 2 日目 ( 図 1 5 A ) および 3 日目 ( 図 1 5 B ) に細胞傷害性をもたらさなかった。

【 0 0 4 5 】

【図 1 6】図 1 6 は、G M 0 3 8 1 6 F R D A 患者細胞株における先の実験からのオリゴの組み合わせの試験を示しているグラフのセットである。これらのオリゴのうちのいくつかの F X N m R N A レベルは、G M 0 3 2 1 B 正常線維芽細胞における F X N m R N A のレベルとほぼ等しかった。オリゴ A / B の場合、オリゴ A は、5 ' 末端を標的化し、オリゴ B は、3 ' 末端を標的化する。トランスフェクションのために使用されたオリゴ濃度は、最終 2 0 0 n M = 1 0 0 n M オリゴ A + 1 0 0 n M オリゴ B ) だった。

10

【 0 0 4 6 】

【図 1 7】図 1 7 は、オリゴによる 2 および 3 日間の処置における F X N m R N A のレベルを描写しているグラフである。G M 0 3 8 1 6 F R D A 患者細胞における先の実験でのポジティブヒットの生物学的反復実験 ( B i o l o g i c a l r e p l i c a t e s ) から、2 ~ 3 日後の高い定常状態 F X N m R N A レベルが確かめられた。オリゴ A / B の場合、オリゴ A は、5 ' 末端を標的化し、オリゴ B は、3 ' 末端を標的化する。トランスフェクションのために使用されたオリゴ濃度は、最終 2 0 0 n M = 1 0 0 n M オリゴ A + 1 0 0 n M オリゴ B ) だった。

20

【 0 0 4 7 】

【図 1 8】図 1 8 は、G M 0 4 0 7 8 F R D A 患者線維芽細胞におけるオリゴの試験を描写しているグラフである。

【図 1 9】図 1 9 は、「正常」細胞株である G M 0 3 2 1 B 線維芽細胞におけるオリゴの試験を描写しているグラフである。G M 0 3 2 1 B 細胞は、F R D A 患者細胞よりもおよそ 4 倍多い F X N m R N A を発現する。

【 0 0 4 8 】

【図 2 0】図 2 0 は、5 ' および 3 ' F X N オリゴ組み合わせ 6 2 / 7 7 に対するトランスフェクションの用量反応試験を描写しているグラフである。G M 0 3 8 1 6 F R D A 患者細胞株における F X N オリゴ 6 2 / 7 7 組み合わせの生物学的反復実験および用量反応は、2 ~ 3 日後において高い定常状態 F X N m R N A レベルを示した。オリゴ A / B の場合、オリゴ A は、5 ' 末端を標的化し、オリゴ B は、3 ' 末端を標的化する。トランスフェクション試薬の量は、異なる濃度のオリゴにわたって一定に維持され、これは、オリゴ処置に対する比較的平坦な反応の原因であり得る。濃度は、最終の n M である ( すなわち、最終 1 0 n M = 5 n M オリゴ 6 2 + 5 n M オリゴ 7 7 ) 。

30

【 0 0 4 9 】

【図 2 1】図 2 1 は、オリゴで ( 1 0 0 n M の単一オリゴ ) または組み合わせて ( 2 つのオリゴを最終 2 0 0 n M で ) 処理された G M 0 3 8 1 6 F R D A 患者線維芽細胞における F X N タンパク質レベルおよび G M 0 3 2 1 B 正常線維芽細胞における F X N タンパク質レベルを描写しているグラフである。

40

【 0 0 5 0 】

【図 2 2】図 2 2 は、オリゴ処置したときの F X N タンパク質のレベルを描写しているグラフである。F X N タンパク質 ( 1 0 0 n M , d 3 ) n = 2 。

【 0 0 5 1 】

【図 2 3】図 2 3 A および 2 3 B は、新規転写阻害剤アクチノマイシン D ( A c t D ) の存在下における、オリゴ 6 2 と 7 5 ( それぞれオリゴ 3 8 5 および 3 9 8 とも称される ) の組み合わせによる処置ありおよびなしの m R N A の相対的なレベルを描写しているグラフである。図 2 3 A は、M Y C m R N A の相対的なレベルを描写している。図 2 2 B は

50

、F X N m R N Aの相対的なレベルを描写している。c M y cは、比較的短い半減期（約100分）を有し、A c t D処理に対するポジティブコントロールとして使用された。

【0052】

【図24】図24は、アクチノマイシンD（A c t D）で処理されたG M 0 3 8 1 6細胞におけるオリゴを描写しているグラフである。0、2、4および8時間後におけるF X Nの発現が描写されている。

【0053】

【図25A】図25Aおよび25Bは、5'および3' F X Nオリゴの組み合わせで処理された、G M 1 5 8 5 0およびG M 1 5 8 5 1細胞（図25A）またはG M 1 6 2 0 9およびG M 1 6 2 2 2（図25B）におけるF X N m R N Aレベルを描写しているグラフである。これは、10マイクロモル濃度のオリゴヌクレオチドを用いた裸の（g y m n o t i c）実験だった。

10

【図25B】図25Aおよび25Bは、5'および3' F X Nオリゴの組み合わせで処理された、G M 1 5 8 5 0およびG M 1 5 8 5 1細胞（図25A）またはG M 1 6 2 0 9およびG M 1 6 2 2 2（図25B）におけるF X N m R N Aレベルを描写しているグラフである。これは、10マイクロモル濃度のオリゴヌクレオチドを用いた裸の（g y m n o t i c）実験だった。

【0054】

【図26】図26は、5'末端標的化オリゴと3'末端標的化オリゴとの組み合わせおよび他のF X N標的化オリゴでの細胞の処理が、F X N m R N Aレベルを上昇させることを示しているグラフである。

20

【0055】

【図27】図27は、3'末端オリゴのスクリーニングを示している一連のグラフである。細胞を10または40nMのオリゴでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトランスフェクションの2日後に計測した。

【0056】

【図28】図28は、3'末端オリゴのスクリーニングを示している一連のグラフである。細胞を10または40nMのオリゴでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトランスフェクションの3日後に計測した。

【0057】

30

【図29】図29は、5'末端オリゴのスクリーニングを示しているグラフおよび表である。細胞を10または40nMのオリゴでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトランスフェクションの2日後に計測した。

【0058】

【図30】図30は、5'および3'末端オリゴの組み合わせの試験を示している一連のグラフである。細胞を10または40nMのオリゴの組み合わせでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトランスフェクションの2日後に計測した。

【0059】

【図31】図31は、5'および3'末端オリゴの組み合わせの試験を示している一連のグラフである。細胞を10または40nMのオリゴの組み合わせでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトランスフェクションの3日後に計測した。

40

【0060】

【図32】図32は、F X N m R N Aの定常状態レベルが、5'および3'末端オリゴの組み合わせで処理された細胞において経時的に上昇することを示しているグラフである。細胞を10nMのオリゴの組み合わせでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトランスフェクションの2および3日後に計測した。

【0061】

【図33】図33は、F X N m R N Aの定常状態レベルが、5'および3'末端オリゴの組み合わせで処理された細胞において経時的に上昇することを示しているグラフである。細胞を40nMのオリゴの組み合わせでトランスフェクトし、F X N m R N Aをトラ

50

ンスフェクションの2および3日後に計測した。

【0062】

【図34】図34は、FXNを、例えば、内部において、ポリAテイルの近くで、またはエキソンにわたって、標的化する他のオリゴの試験の結果を示しているグラフである。

【0063】

【図35】図35は、FXN mRNAレベルが、単一のオリゴヌクレオチドを用いたとき上昇することを示しているグラフである。細胞を10 nMのオリゴでトランスフェクトし、FXN mRNAをトランスフェクションの2および3日後に計測した。

【0064】

【図36】図36は、FXN mRNAレベルが、単一のオリゴヌクレオチドを用いたとき上昇することを示しているグラフである。細胞を40 nMのオリゴでトランスフェクトし、FXN mRNAをトランスフェクションの2および3日後に計測した。

10

【0065】

【図37】図37は、FXN mRNAレベルが、5'オリゴヌクレオチドと3'オリゴヌクレオチドとの組み合わせを用いたとき上昇することを示しているグラフである。細胞を10または40 nMのオリゴの組み合わせでトランスフェクトし、FXN mRNAをトランスフェクションの2および3日後に計測した。

【0066】

【図38A】図38Aおよび38Bは、10または40 nMのオリゴによるトランスフェクションが、トランスフェクションの2日後(図38A)または3日後(図38B)の細胞にとって細胞傷害性(cytotoxic)でないことを示しているグラフである。

20

【図38B】図38Aおよび38Bは、10または40 nMのオリゴによるトランスフェクションが、トランスフェクションの2日後(図38A)または3日後(図38B)の細胞にとって細胞傷害性(cytotoxic)でないことを示しているグラフである。

【0067】

【図39A】図39Aおよび39Bは、FXNのタンパク質レベル(図39A)およびmRNAレベル(図39B)が、10 nMのオリゴでトランスフェクトされた細胞において上昇することを示しているグラフである。タンパク質およびmRNAのレベルをトランスフェクションの2または3日後に計測した。

30

【図39B】図39Aおよび39Bは、FXNのタンパク質レベル(図39A)およびmRNAレベル(図39B)が、10 nMのオリゴでトランスフェクトされた細胞において上昇することを示しているグラフである。タンパク質およびmRNAのレベルをトランスフェクションの2または3日後に計測した。

【0068】

【図40A】図40Aおよび40Bは、FXNのタンパク質レベル(図40A)およびmRNAレベル(図40B)が、40 nMのオリゴでトランスフェクトされた細胞において上昇し得ることを示しているグラフである。タンパク質およびmRNAのレベルをトランスフェクションの2または3日後に計測した。

40

【図40B】図40Aおよび40Bは、FXNのタンパク質レベル(図40A)およびmRNAレベル(図40B)が、40 nMのオリゴでトランスフェクトされた細胞において上昇し得ることを示しているグラフである。タンパク質およびmRNAのレベルをトランスフェクションの2または3日後に計測した。

【0069】

【図41】図41は、KLF4 5'および3'末端標的化オリゴで処理された細胞におけるKLF4 mRNAの発現レベルを描写しているグラフである。

【0070】

【図42】図42は、KLF4 5'および3'末端標的化オリゴで処理された細胞におけるKLF4タンパク質の発現レベルを描写しているウエスタンブロットの像である。

【0071】

【図43】図43は、KLF4 5'および3'末端標的化オリゴ(KLF4の5'末端

50



と3'末端の両方を標的化する環状化したオリゴヌクレオチド、ならびにKLF4の5'および3'末端を標的化する個々のオリゴヌクレオチドを含む)で処理された細胞におけるKLF4 mRNAの発現レベルを描写しているグラフである。

【0072】

【図44A】図44Aおよび44Bは、PTENオリゴで処理された細胞における3日目のPTEN mRNAの発現レベルを描写しているグラフである。GM04078線維芽細胞をそれらのオリゴでトランスフェクトし、溶解産物を3日目に回収した。オリゴの配列は、表9に提供されている。

【図44B】図44Aおよび44Bは、PTENオリゴで処理された細胞における3日目のPTEN mRNAの発現レベルを描写しているグラフである。GM04078線維芽細胞をそれらのオリゴでトランスフェクトし、溶解産物を3日目に回収した。オリゴの配列は、表9に提供されている。

10

【0073】

【図45】図45は、PTENオリゴPTEN-108およびPTEN-113のいずれか単独または組み合わせで処理されたGM04078線維芽細胞からの1日目および2日目のPTENタンパク質の発現レベルを描写しているウエスタンブロットの像である。GM04078線維芽細胞をトランスフェクトし、溶解産物を1日目および2日目に回収した。オリゴの配列は、表9に提供されている。

【0074】

【図46】図46は、KLF4オリゴで処理された細胞における3日目のマウスKLF4 mRNAの発現レベルを描写しているグラフである。Hepa1-6細胞をそれらのオリゴでトランスフェクトし、溶解産物を3日目に回収した。オリゴの配列は、表9に提供されている。

20

【0075】

【図47】図47は、偽環状化オリゴで処理された細胞における3日目のマウスKLF4タンパク質の発現レベルを描写しているウエスタンブロットの像である。Hepa1-6細胞をそれらのオリゴでトランスフェクトし、溶解産物を3日目に回収した。試験されたオリゴは、マウスKLF4-8、KLF4-9、KLF4-11、KLF4-12、KLF4-13、KLF4-14およびKLF4-15だった。オリゴの配列は、表9に提供されている。

30

【0076】

【図48】図48は、安定性組み合わせオリゴで処理された細胞における3日目のマウスKLF4タンパク質の発現レベルを描写しているウエスタンブロットの像である。Hepa1-6細胞をそれらのオリゴでトランスフェクトし、溶解産物を3日目に回収した。試験されたオリゴは、様々な組み合わせでの、マウスKLF4-1、KLF4-2、KLF4-3、KLF4-16、KLF4-17、KLF4-18およびKLF4-19だった。オリゴの配列は、表9に提供されている。

【0077】

【図49】図49は、単独でまたは組み合わせで使用された(「/」によって示されている)環状化オリゴおよび個々の安定性オリゴの存在下または非存在下における(in the presence of absence of)ヒトKLF4の安定性の計測を示しているグラフである。オリゴの配列は、表7に提供されている。47=KLF4-47m02、48=KLF4-48m02、50=KLF4-50m02、51=KLF4-51m02、53=KLF4-53m02。

40

【0078】

【図50】図50は、5'/3'末端オリゴ組み合わせおよび環状化オリゴが、長いmRNA半減期を有すると知られているベータアクチンmRNAを増加させるために使用できることを示しているグラフである。

【0079】

【図51】図51は、FXNオリゴで単独でまたは様々な組み合わせで処理されたGM0

50

3 8 1 6 細胞におけるヒト F X N mRNA アップレギュレーションを示しているグラフである。濃度は、総オリゴ濃度として示されている（例えば、2 0 n M は、各オリゴに対して 1 0 n M であることを意味する）。

【 0 0 8 0 】

【 図 5 2 】 図 5 2 および 5 3 は各々、様々な F X N オリゴによって誘導された未成熟 F X N および成熟 F X N のタンパク質レベルを示しているウエスタンブロットの写真である。

【 図 5 3 】 図 5 2 および 5 3 は各々、様々な F X N オリゴによって誘導された未成熟 F X N および成熟 F X N のタンパク質レベルを示しているウエスタンブロットの写真である。

【 0 0 8 1 】

【 図 5 4 】 図 5 4 は、F X N オリゴで単独でまたは様々な組み合わせで処理された G M 0 3 8 1 6 細胞における F X N mRNA アップレギュレーションを示している一連のグラフである。G A P D H ギャップマー ( g a p m e r ) の値は、F X N mRNA レベルに対する G A P D H mRNA レベルを示している。残りの値は、G A P D H mRNA レベルに対する F X N mRNA レベルを示している。

10

【 0 0 8 2 】

【 図 5 5 】 図 5 5 は、単独でまたは様々な組み合わせで F X N オリゴで処理された G M 0 3 8 1 6 細胞における F X N mRNA のアップレギュレーションを示しているグラフである。G A P D H ギャップマーの値は、F X N mRNA レベルに対する G A P D H mRNA レベルを示している。残りの値は、G A P D H mRNA レベルに対する F X N mRNA レベルを示している。

20

【 0 0 8 3 】

【 図 5 6 - 1 】 図 5 6 は、様々な F X N オリゴで単独でまたは組み合わせで処理された細胞における F X N 下流遺伝子候補である P P A R G C 1 および N F E 2 L 2 の mRNA レベルを示している一連のグラフを提供している。

【 図 5 6 - 2 】 図 5 6 は、様々な F X N オリゴで単独でまたは組み合わせで処理された細胞における F X N 下流遺伝子候補である P P A R G C 1 および N F E 2 L 2 の mRNA レベルを示している一連のグラフを提供している。

【 0 0 8 4 】

【 図 5 7 】 図 5 7 は、F X N オリゴで単独でまたは様々な組み合わせで処理された G M 0 3 8 1 6 細胞における F X N mRNA のアップレギュレーションを示しているグラフである。

30

【 0 0 8 5 】

【 図 5 8 - 1 】 図 5 8 A ~ 5 8 C は、様々な F X N オリゴで単独でまたは組み合わせで処理された F R D A マウスモデル線維芽細胞における、それぞれ 4 日目、7 日目および 1 0 日目の F X N mRNA のレベルを示している一連のグラフである。

【 図 5 8 - 2 】 図 5 8 A ~ 5 8 C は、様々な F X N オリゴで単独でまたは組み合わせで処理された F R D A マウスモデル線維芽細胞における、それぞれ 4 日目、7 日目および 1 0 日目の F X N mRNA のレベルを示している一連のグラフである。

【 0 0 8 6 】

【 図 5 9 】 図 5 9 A および 5 9 B は、用量反応研究における、様々な F X N オリゴで処理された G M 0 3 8 1 6 細胞における F X N mRNA のレベルを示している一連のグラフである。図 5 9 A では、計測を 3 日目および 5 日目に行った。図 5 9 B では、計測を 5 日目に行った。

40

【 0 0 8 7 】

【 図 6 0 】 図 6 0 A および 6 0 B は、F X N - 5 3 2 オリゴと組み合わせられた様々な 5 ' F X N オリゴで処理された G M 0 3 8 1 6 細胞における F X N mRNA のレベルを示している一連のグラフである。

【 0 0 8 8 】

【 図 6 1 】 図 6 1 は、様々な F X N オリゴで処理された G M 0 3 8 1 6 細胞における F X N タンパク質のレベルを示しているウエスタンブロットの写真である。

50

【0089】

【図62】図62は、図64におけるウエスタンブロットから定量されたUTRNタンパク質のレベルを示しているグラフである。

【0090】

【図63】図63は、様々なUTRNオリゴで処理された細胞からの上清中のUTRNタンパク質のレベルを示しているウエスタンブロットの写真である。

【0091】

【図64-1】図64Aは、図64Bおよび64Cにおけるウエスタンブロットから定量されたUTRNタンパク質のレベルを示しているグラフである。図64Bおよび64Cは各々、様々なUTRNオリゴで処理された細胞からの上清またはペレットにおけるUTRNタンパク質のレベルを示しているウエスタンブロットの写真である。

10

【図64-2】図64Aは、図64Bおよび64Cにおけるウエスタンブロットから定量されたUTRNタンパク質のレベルを示しているグラフである。図64Bおよび64Cは各々、様々なUTRNオリゴで処理された細胞からの上清またはペレットにおけるUTRNタンパク質のレベルを示しているウエスタンブロットの写真である。

【0092】

【図65-1】図65A～65Cは、様々なAPOA1オリゴで処理された初代マウス肝細胞におけるマウスAPOA1 mRNAレベルのレベルを示している一連のグラフである。

【図65-2】図65A～65Cは、様々なAPOA1オリゴで処理された初代マウス肝細胞におけるマウスAPOA1 mRNAレベルのレベルを示している一連のグラフである。

20

【0093】

【図66】図66は、様々なAPOA1オリゴで処理された初代マウス肝細胞におけるAPOA1タンパク質のレベルを示している2つのウエスタンブロットの写真である。チューブリンを、下の写真に対するローディングコントロールとして使用した。

【0094】

【図67】図67A～67Gは、フリードライヒ運動失調症のマウスモデルにおけるオリゴ処置のショートアーム(short arm)(SA)またはロングアーム(long arm)(LA)研究におけるヒトフラタキシン(A、B、E)またはマウスフラタキシンのレベルを示している一連のグラフである。図67A～67Eは、心臓のデータを示している。図67Fおよび67Gは、肝臓のデータを示している。図67Cおよび67Eは、各群における5匹のマウスを平均すること(図67C)およびそれらの群の中の各個別のマウスにおける値を示すこと(図67E)によって、同じロングアームの心臓のヒトFXN値を示している。このモデルの心臓および肝臓におけるヒトFXNおよびマウスFXNを、QPCRを用いて計測し、PBS群に対して正規化した。各処置群は、5匹のマウスを有した(n=5)。

30

【0095】

【図68】図68は、マウスFXNに対するヒトFXNオリゴの潜在的な標的化を示している一連の略図を示している。左の略図は、ヒトFXN-375(上のパネル)およびFXN-389(下のパネル)の潜在的な相互作用位置に対応するマウスFXNゲノム領域のUSCSゲノムビューを示している。四角は、マウスゲノムに対するこれらのオリゴのマッピング位置を示している。右のパネルは、マウスゲノムに対するヒトオリゴ配列のClustalWアラインメントを示している。

40

【0096】

【図69】図69は、mRNA-Seqシグナルおよびリボソームポジショニングに対するオリゴ位置を示している一連の略図である。各略図の上のパネルにおけるシグナルは、リボソームポジショニングデータのすべて(開始時および伸長時のリボソームを含む)を示している。各略図の下のパネルにおけるシグナルは、mRNA-Seqデータを示している。四角の中の黒色のバーは、示されているオリゴ局在化を示している。

50

## 【0097】

【図70】図70Aおよび70Bは、様々な5'および3'末端APOA1オリゴで処置されたマウスの肝臓におけるAPOA1 mRNAレベルを示している一連のグラフである。図70Aの場合、肝臓の回収を、オリゴまたはコントロール(PBS)の最終投与の2日後である5日目に行った。図70Bの場合、肝臓の回収を、オリゴまたはコントロール(PBS)の最終投与の4日後である7日目に行った。

## 【0098】

図70Cおよび70Dは、様々な5'および3'末端APOA1オリゴで処置されたマウスにおけるAPOA1タンパク質レベルを示しているウエスタンブロットの写真である。図70Cの場合、サンプル1~5は、PBSで処置された動物であり、サンプル6~10は、APOA1\_\_mus-3 + APOA1\_\_mus-17オリゴで処置された動物由来である。星印で示されたレーン10の血液サンプルは、溶血を含んだので、解析から省いた。図70Dの場合、サンプル1~5は、PBSで処置された動物であり、サンプル6~10は、APOA1\_\_mus-7 + APOA1\_\_mus-20オリゴで処置された動物由来である。図70Dにおける上のプロットは、10匹の動物すべての採血前のデータを示している。下のプロットは、オリゴ処置後の血漿APOA1レベルを示している。コントロールで処置されたサンプル4は、研究中に死亡したので、プロットから省いた。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0099】

発明のある特定の実施形態の詳細な説明

本明細書中に開示される方法および組成物は、RNAを分解から保護すること(細胞の内側または外側でRNAを保護することを含む)が望ましい種々の異なる状況において有用である。いくつかの実施形態において、標的化された様式で、細胞においてタンパク質および/またはRNAのレベルを転写後に変化させるために有用な方法および組成物が提供される。例えば、標的化されたRNAの分解またはプロセッシングを減少させるかまたは妨げることにより、標的化されたRNAの定常状態レベルを上昇させる工程を含む方法が提供される。いくつかの実施形態において、RNAの安定性は、そのRNAの一方または両方の末端(5'または3'末端)をエキソヌクレアーゼ活性から保護することにより、そのRNAの安定性を高めることによって、高められる。

## 【0100】

いくつかの実施形態において、遺伝子発現を増加させる方法が提供される。本明細書中で使用されるとき、用語「遺伝子発現」とは、細胞、組織または被験体における遺伝子産物のレベルまたは提示のことを広く指す。遺伝子産物は、例えば、RNA転写物またはタンパク質であり得ることが認識されるべきである。RNA転写物は、タンパク質をコードするものであり得る。RNA転写物は、タンパク質をコードしないもの、例えば、長い非コードRNA、遺伝子間の長い非コードRNA、非コードRNA、miRNA、核内低分子RNA(snRNA)または他の機能性RNAであり得る。いくつかの実施形態において、遺伝子発現を増加させる方法は、RNA転写物の安定性を高め、それにより、細胞内のRNA転写物のレベルを上昇させる工程を含み得る。遺伝子発現を増加させる方法は、代替的にまたは追加的に、RNAの転写または翻訳を増加させる工程を含み得る。いくつかの実施形態において、遺伝子発現を操作する他の機構が、本明細書中に開示される方法に含められ得る。

## 【0101】

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される方法は、RNA転写物と一方もしくは両方の末端または末端付近においてハイブリダイズして、それによりそのRNA転写物をエキソヌクレアーゼ媒介性分解から保護する1つまたはそれを超える配列特異的オリゴヌクレオチドを細胞に送達する工程を含む。標的化されたRNA転写物がタンパク質をコードするものである実施形態では、そのRNAの定常状態レベルの上昇は、代表的には、コードされたタンパク質レベルの上昇を同時にもたらす。標的化されたRNAが非コードである実施形態では、その非コードRNAの定常状態レベルの上昇は、代表的には、

非コードRNAに関連する活性の増加を同時にもたす。

【0102】

いくつかの実施形態において、RNAの安定性および/または翻訳効率を高める機構によって、RNA転写物を標的化するオリゴヌクレオチドを使用してRNAレベルおよび/またはタンパク質レベルを制御することに基づく本明細書中に開示されるアプローチは、他のタイプのオリゴまたは化合物（例えば、シスまたは非コードに基づく機構を使用して標的RNAの転写レベルを変化させるオリゴヌクレオチド）に勝るいくつかの利点を有し得る。例えば、いくつかの実施形態において、複数コピーの標的分子が存在する細胞質においてRNA転写物を標的化する際に、より低い濃度のオリゴが使用され得る。対照的に、いくつかの実施形態において、多くの場合、転写プロセスを標的化するオリゴは、核に入る前、および細胞1つあたり1コピー/2コピーしか存在しない対応するゲノム領域と相互作用する前に、細胞質を飽和させる必要がある場合がある。いくつかの実施形態において、RNAコピーは、転写的に合成される必要がないので、RNA転写物の標的化に対する応答時間は、より短いことがある。いくつかの実施形態において、連続的な用量反応が、より容易に達成され得る。いくつかの実施形態において、明確に定義されたRNA転写物配列は、そのような転写物を標的化するオリゴヌクレオチドのデザインを容易にする。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドデザインアプローチ、例えば、配列オーバーハング、ループおよび他の特徴を有するデザインは、他のタイプのオリゴヌクレオチド、例えば、転写プロセスを標的化するある特定のオリゴヌクレオチドと比べて、高いオリゴ特異性および高感受性を促進する。

10

20

【0103】

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される方法は、RNAの5'および/または3'領域においてハイブリダイズすることによってそのRNAを安定化するオリゴヌクレオチドの使用を含む。いくつかの実施形態において、RNAとハイブリダイズすることによってそのRNAの分解を妨げるかまたは阻害するオリゴヌクレオチドは、本明細書中において「安定化オリゴヌクレオチド」と称され得る。いくつかの例において、そのようなオリゴヌクレオチドは、RNAとハイブリダイズし、エキソヌクレアーゼ媒介性分解を妨げるかまたは阻害する。エキソヌクレアーゼ媒介性分解の阻害には、エキソヌクレアーゼによる特定のRNAの分解の範囲を縮小させることが含まれるが、これに限定されない。例えば、一本鎖RNAだけをプロセッシングするエキソヌクレアーゼは、二重鎖領域を効果的にプロセッシングできない（例えば、通過する）ので、そのエキソヌクレアーゼは、オリゴヌクレオチドがRNAとハイブリダイズしている領域までそのRNAの一部を切断し得る。したがって、いくつかの実施形態において、RNAの特定の領域を標的化するオリゴヌクレオチドを使用することにより、エキソヌクレアーゼによるその領域までのそのRNAの分解の範囲をコントロールすることが可能になる。例えば、RNAの一端においてハイブリダイズするオリゴヌクレオチドの使用は、その末端から一本鎖RNAだけをプロセッシングするエキソヌクレアーゼによる分解を減少させ得るかまたは排除し得る。例えば、RNAの5'末端においてハイブリダイズするオリゴヌクレオチドの使用は、5'から3'への方向で一本鎖RNAをプロセッシングするエキソヌクレアーゼによる分解を減少させ得るかまたは排除し得る。同様に、RNAの3'末端においてハイブリダイズするオリゴヌクレオチドの使用は、3'から5'への方向で一本鎖RNAをプロセッシングするエキソヌクレアーゼによる分解を減少させ得るかまたは排除し得る。いくつかの実施形態において、オリゴがRNAの5'領域と3'領域の両方においてハイブリダイズするとき、より低い濃度のオリゴが使用され得る。いくつかの実施形態において、RNAの5'領域と3'領域の両方にハイブリダイズするオリゴは、そのRNAの5'および3'領域を分解（例えば、エキソヌクレアーゼによる分解）から保護する。いくつかの実施形態において、RNAの5'領域と3'領域の両方にハイブリダイズするオリゴは、偽環状RNA（例えば、その環から突出するポリAテイルの領域を有する環状化したRNA、図3Bを参照のこと）を形成する。いくつかの実施形態において、偽環状RNAは、非偽環状RNAよりも高い効率で翻訳される。

30

40

50

## 【0104】

いくつかの実施形態において、RNAと相補性である複数の領域を含むオリゴヌクレオチドが使用され得、1つの領域では、そのオリゴヌクレオチドは、そのRNAの5'末端または5'末端付近においてハイブリダイズし、別の領域では、それは、そのRNAの3'末端または3'末端付近においてハイブリダイズし、それにより、そのRNAが両方の末端においてエキソヌクレアーゼによって分解されるのが妨げられるかまたは阻害される。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドが、RNAの5'末端または5'末端付近とRNAの3'末端または3'末端付近の両方においてハイブリダイズするとき、エキソヌクレアーゼ媒介性分解から保護される環状化した複合体が、結果として生じる。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドが、mRNAの5'末端または5'末端付近とmRNAの3'末端または3'末端付近の両方においてハイブリダイズするとき、結果として生じる環状化した複合体は、エキソヌクレアーゼ媒介性分解から保護され、その複合体におけるmRNAは、タンパク質に翻訳される能力を保持する。

10

## 【0105】

本明細書中で使用されるとき、用語「合成RNA」とは、インビトロ転写反応または人工的な（非天然の）化学合成によって生成されるRNAのことを指す。いくつかの実施形態において、合成RNAは、RNA転写物である。いくつかの実施形態において、合成RNAは、タンパク質をコードする。いくつかの実施形態において、合成RNAは、機能的RNA（例えば、lncRNA、miRNAなど）である。いくつかの実施形態（embodiments）において、合成RNAは、1つまたはそれを超える修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、合成RNAは、最大0.5キロベース（kb）、1kb、1.5kb、2kb、2.5kb、3kb、4kb、5kb、6kb、7kb、8kb、9kb、10kb、15kb、20kb、25kb、30kbまたはそれを超える長さである。いくつかの実施形態において、合成RNAは、0.1kb~1kb、0.5kb~2kb、0.5kb~10kb、1kb~5kb、2kb~5kb、1kb~10kb、3kb~10kb、5kb~15kbまたは1kb~30kbの長さの範囲内である。

20

## 【0106】

本明細書中で使用されるとき、用語「RNA転写物」とは、ポリメラーゼ酵素によって核酸から転写されたRNAのことを指す。RNA転写物は、細胞の内側または外側で生成され得る。例えば、RNA転写物は、組換えポリメラーゼ酵素または精製されたポリメラーゼ酵素を利用するインビトロ転写反応を用いて、RNA転写物をコードするDNA鋳型から生成され得る。RNA転写物は、細胞において、RNAポリメラーゼ（例えば、RNAポリメラーゼI、IIまたはIII）によってDNA鋳型（例えば、染色体遺伝子、発現ベクター）からも生成され得る。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、タンパク質をコードするmRNAである。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、非コードRNA（例えば、tRNA、rRNA、snRNA、miRNA、ncRNA、長い非コードRNA、shRNA）である。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、最大0.5キロベース（kb）、1kb、1.5kb、2kb、2.5kb、3kb、4kb、5kb、6kb、7kb、8kb、9kb、10kb、15kb、20kb、25kb、30kbまたはそれを超える長さである。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、0.1kb~1kb、0.5kb~2kb、0.5kb~10kb、1kb~5kb、2kb~5kb、1kb~10kb、3kb~10kb、5kb~15kbまたは1kb~30kbの長さの範囲内である。

30

40

## 【0107】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、転写後に、例えば、7'-メチルグアノシンキャップでキャップされる。いくつかの実施形態において、7'-メチルグアノシンは、転写中に（例えば、RNA転写物が20~50ヌクレオチド長になる前に）グアニリルトランスフェラーゼによってRNA転写物に付加される。いくつかの実施形態において、7'-メチルグアノシンは、1番目に転写されたヌクレオチドに5'-5'三リン酸

50

架橋を介して連結される。いくつかの実施形態において、キャップに対してすぐ内側のヌクレオチドは、N6メチル化されたアデノシンである。いくつかの実施形態において、RNA転写物のキャップに対してすぐ内側の1番目および2番目のヌクレオチドは、2'-O-メチル化されていない。いくつかの実施形態において、RNA転写物のキャップに対してすぐ内側の1番目のヌクレオチドは、2'-O-メチル化されている。いくつかの実施形態において、RNA転写物のキャップに対してすぐ内側の2番目のヌクレオチドは、2'-O-メチル化されている。いくつかの実施形態において、RNA転写物のキャップに対してすぐ内側の1番目および2番目のヌクレオチドは、2'-O-メチル化されている。

#### 【0108】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、キャップされていない転写物（例えば、ミトコンドリア遺伝子から生成された転写物）である。いくつかの実施形態において、RNA転写物は、キャップされたが脱キャップされていない核RNAである。いくつかの実施形態において、RNAの脱キャップは、例えば、キャップに結合するeIF-4Eと競合し得る、Dcp1およびDcp2から構成され得る、脱キャップ複合体によって触媒される。いくつかの実施形態において、RNA脱キャップのプロセスは、5'-リン酸を露出しているRNA上における5'キャップ構造の加水分解を含む。いくつかの実施形態において、この5'-リン酸は、エキソヌクレアーゼXRN1に対する基質である。したがって、いくつかの実施形態において、RNAの5'領域を標的化するオリゴヌクレオチドは、脱キャップされたRNAを安定化するため（または安定性を回復するため）に使用され得、例えば、それをXRN1などのエキソヌクレアーゼによる分解から保護する。

#### 【0109】

いくつかの実施形態において、インビトロ転写（例えば、T7RNAポリメラーゼまたは他の好適なポリメラーゼを介して行われる）が、RNA転写物を生成するために使用され得る。いくつかの実施形態において、転写は、抗逆キャップアナログ（ARCA）（Trilink Cat. #N-7003）の存在下において行われ得る。いくつかの実施形態において、ARCAを用いた転写は、望ましい配向での、RNAに対するキャップ（例えば、キャップアナログ（mCAP））の挿入をもたらす。

#### 【0110】

いくつかの実施形態において、転写は、1つまたはそれを超える修飾ヌクレオチド（例えば、シュードウリジン、5-メチルシトシンなど）の存在下において行われ、それらの修飾ヌクレオチドは、RNA転写物に組み込まれる。免疫刺激を減少させ、翻訳を増加させ、ヌクレアーゼ安定性を高める修飾ヌクレオチドを含むがこれらに限定されない任意の好適な修飾ヌクレオチドが使用され得ると認識されるべきである。使用され得る修飾ヌクレオチドの非限定的な例としては、2'-アミノ-2'-デオキシヌクレオチド、2'-アジド-2'-デオキシヌクレオチド、2'-フルオロ-2'-デオキシヌクレオチド、2'-O-メチル-ヌクレオチド、2'糖超修飾剤（sugar super modifier）、2'-修飾熱安定性向上剤（modified thermostability enhancer）、2'-フルオロ-2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルアデノシン-5'-三リン酸、2'-O-メチルシチジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルグアノシン-5'-三リン酸、2'-O-メチルウリジン-5'-三リン酸、シュードウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルイノシン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、2'-アジド-2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸、2'-アジド-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチルシュードウリジン-5'-三リン酸、2'-O-メチル-5-メチルウリジン-5'-三リン酸、2'-アジド-2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸、2'-フルオロ-チミジン

- 5' - 三リン酸、2' - アジド - 2' - デオキシグアノシン - 5' - 三リン酸、2' - アミノ - 2' - デオキシグアノシン - 5' - 三リン酸および N4 - メチルシチジン - 5' - 三リン酸が挙げられる。1つの実施形態において、RNAの分解またはプロセッシングを減少させる／妨げることにより、定常状態のRNAを増加させることができ、少なくともタンパク質をコードする転写物の場合はタンパク質レベルを上昇させることができる。いくつかの実施形態において、RNA転写物の分解の大部分は、エキソヌクレアーゼによって行われる。そのような実施形態において、これらの酵素は、3'または5'末端のいずれかからRNAの破壊を開始する。RNAの安定性は、RNA転写物の末端をエキソヌクレアーゼ酵素活性から保護することによって、例えば、適切な送達、ハイブリダイゼーションおよび細胞内での安定性のために適切な化学的性質を有する配列特異的ブロッキングオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションによって、タンパク質をコードする転写物に対するタンパク質レベルとともに上昇し得る。

10

#### 【0111】

いくつかの実施形態において、5'末端に対しては、RNAの5'末端の10～20 ntに完全／部分的に相補的なオリゴヌクレオチドが使用され得る。いくつかの実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、RNAの5'キャップを保護するためにヘアピンを形成するオーバーハングを有し得る（例えば、オリゴヌクレオチドの3'ヌクレオチドは、mRNAの5'キャップのGヌクレオチドと相互作用するCであり得るがこれに限定されない）。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドのヌクレオチドのすべてが、平滑末端または陥凹末端の5'RNA-オリゴ二重鎖をもたらす数ヌクレオチドのオーバーハングありまたはなしで、RNA転写物の5'末端に相補的であり得る。いくつかの実施形態において、3'末端に対しては、オリゴヌクレオチドは、RNAの3'末端の最後のいくつかのヌクレオチドに部分的に相補的であり得、必要に応じて、ポリ(A)テイルを完全な分解から保護するためにポリ(T)ストレッチを有し得る（ポリ(A)テイルを有する転写物に対して）。いくつかの実施形態において、異なる5'および3'配列の組成および構造を有する他のRNA種（例えば、3'ポリ(U)ストレッチを含む転写物または代替の5'構造を有する転写物）に対しても同様の戦略が使用され得る。いくつかの実施形態において、例えば、オーバーハングを有するオリゴヌクレオチドを含む、本明細書中に記載されるようなオリゴヌクレオチドは、RNA配列に完全に相補的であるようにデザインされたオリゴヌクレオチドと比べて、それらの標的RNA末端領域に対してより高い特異性および感受性を有し得る。なぜなら、オーバーハングは、ミスマッチ領域に不安定化作用をもたらし、それらのRNAの5'または3'末端に存在する領域における結合を好むからである。いくつかの実施形態において、ループ形成機構を有するポリ(A)テイルのまさしく3'末端を保護するオリゴヌクレオチド（例えば、TTTTTTTTTTGGTTTTCC、配列番号458）。いくつかの実施形態において、この後者のアプローチは、タンパク質をコードする転写物のすべてを非特異的に標的化し得る。しかしながら、いくつかの実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、他の標的特異的オリゴとの併用において有用であり得る。

20

30

#### 【0112】

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される方法は、RNA転写物の1番目に転写されたヌクレオチドまたはそのヌクレオチド付近における位置においてRNA転写物と相補的な相補性領域を含むオリゴヌクレオチドの使用を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチド（例えば、RNA転写物を安定化するオリゴヌクレオチド）は、転写物の5'末端の100ヌクレオチド以内、50ヌクレオチド以内、30ヌクレオチド以内、20ヌクレオチド以内、10ヌクレオチド以内または5ヌクレオチド以内に始まる位置にRNA転写物（例えば、少なくとも5個連続したヌクレオチド）と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチド（例えば、RNA転写物を安定化するオリゴヌクレオチド）は、転写物の5'末端から始まる位置にRNA転写物（例えば、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチド）と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチド（例えば、RNA転写物

40

50



を安定化するオリゴヌクレオチド)は、転写物開始部位から、翻訳開始部位(例えば、転写物のKozak配列の中に現れる開始コドンAUG)の5'0、100、150、200、250、500個またはそれを超えるヌクレオチド上流にまでに及び、RNA転写物の5'非翻訳領域(5'UTR)の領域内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。

#### 【0113】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、ポリアデニル化される。ポリアデニル化とは、RNA転写物へのポリアデノシン(ポリ(A))テイルの転写後付加のことを指す。タンパク質をコードするRNA転写物と非コードRNA転写物の両方が、ポリアデニル化され得る。ポリ(A)テイルは、ヌクレオシド間結合を介して互いに連結された複数のアデノシンを含む。いくつかの実施形態において、ポリ(A)テイルは、10~50個、25~100個、50~200個、150~250個またはそれを超えるアデノシンを含み得る。いくつかの実施形態において、ポリアデニル化(polyadenylation)のプロセスは、RNA転写物のその3'末端または3'末端付近でのエンドヌクレアーゼ的(endonucleolytic)切断に続く、ポリアデニル酸ポリメラーゼによる転写物への複数のアデノシンの1つずつの付加を含み、それらのアデノシン(adenosines)の1番目は、3'切断部位において転写物に付加される。したがって、しばしば、ポリアデニル化されたRNA転写物は、3'末端においてポリ(A)テイルに連結される、ヌクレオシド間結合を介して互いに連結された、転写されたヌクレオチド(およびおそらく編集されたヌクレオチド)を含む。転写されたヌクレオチドとポリ(A)テイルとの間の結合の位置は、本明細書中において「ポリアデニル化ジャンクション」と称され得る。いくつかの実施形態において、エンドヌクレアーゼ的切断は、RNA転写物の中の、可能性のあるいくつかの部位のうちのいずれか1つにおいて生じ得る。そのような実施形態において、それらの部位は、エンドヌクレアーゼ機構によって認識されることによりその機構による切断の位置をガイドする、RNA転写物の中の配列モチーフによって決定され得る。したがって、いくつかの実施形態において、ポリアデニル化は、単一の遺伝子から異なるRNA転写物を生成し得、例えば、RNA転写物は、異なるポリアデニル化ジャンクションを有する。いくつかの実施形態において、ポリ(A)テイルの長さは、3'-5'プロセッシング活性を有するエキソヌクレアーゼによる酵素分解に対するRNA転写物の感受性を決定し得る。いくつかの実施形態において、RNA転写物を3'末端または3'末端付近において標的化するオリゴヌクレオチドは、ポリアデニル化ジャンクションと重複する領域を標的化する。いくつかの実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、転写物の転写された部分(ジャンクションに対して5')と相補的な少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個またはそれを超えるヌクレオチドを有し得る。いくつかの実施形態において、ジャンクションのポリA側に相補的な、限られた数のヌクレオチド(例えば、T、U)を有することが有益である。いくつかの実施形態において、ジャンクションのポリA側に相補的な、限られた数のヌクレオチドを有することは、有益である。なぜなら、それにより、細胞において、非標的RNAのポリアデニル化領域とオリゴヌクレオチドとのクロスハイブリダイゼーションに関連する毒性が減少するからである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ポリA領域に相補的なヌクレオチドを1、2、3、4、5または6個しか有しない。

#### 【0114】

いくつかの実施形態において、本明細書中に提供される方法は、標的RNA転写物とその3'末端もしくは3'末端付近においてハイブリダイズするものであって、3'-5'エキソヌクレアーゼによるRNA転写物の分解を妨げるかまたは阻害する、オリゴヌクレオチドの使用を含む。例えば、いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるRNA安定化方法は、RNA転写物の最後に転写されるヌクレオチドの100ヌクレオチド以内、50ヌクレオチド以内、30ヌクレオチド以内、20ヌクレオチド以内、10ヌクレオチド以内、5ヌクレオチド以内の位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含むオリゴヌクレオチドの使用を含む。RNA転写物が、ポリアデニル化された転写物で

ある場合、そのRNA転写物の最後に転写されるヌクレオチドは、ポリアデニル化ジャンクションの上流の1番目のヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるRNA安定化方法は、RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複している位置におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含むオリゴヌクレオチドの使用を含む。いくつかの実施形態において、本明細書中に提供されるRNA安定化方法は、ポリ(A)テイル内のRNA転写物と相補的な相補性領域を含むオリゴヌクレオチドの使用を含む。

#### 【0115】

転写物開始部位およびポリアデニル化ジャンクションを同定するための方法は、当該分野で公知であり、その方法は、RNA転写物を安定させるためにこれらの領域に特異的に結合するオリゴヌクレオチドを選択する際に使用され得る。いくつかの実施形態において、3'末端オリゴヌクレオチドは、ポリAテイルの定量的末端解析を使用してRNAの3'末端を同定することによってデザインされ得る。いくつかの実施形態において、5'末端オリゴヌクレオチドは、キャップ解析遺伝子発現(CAGE)を使用して5'開始部位を同定することによってデザインされ得る。適切な方法は、例えば、Ozsolakら、Comprehensive Polyadenylation Site Maps in Yeast and Human Reveal Pervasive Alternative Polyadenylation. Cell. Volume 143, Issue 6, 2010, 1018-1029頁; Shiraki, Tら、Cap analysis gene expression for high-throughput analysis of transcriptional starting point and identification of promoter usage. Proc Natl Acad Sci USA. 100(26):15776-81. 2003-12-23; およびZhao, Xら(2011). Systematic Clustering of Transcription Start Site Landscapes. PLoS ONE (Public Library of Science) 6(8): e23409 (これらの各々の内容は、参照により本明細書中に援用される)に開示されている。転写物開始部位およびポリアデニル化ジャンクションを同定するための他の適切な方法もまた、使用され得、それらとしては、例えば、RNAペアエンドタグ(RNA-Paired-end tags)(PET)(例えば、Ruan X, Ruan Y. Methods Mol Biol. 2012; 809: 535-62を参照のこと); 標準的なESTデータベースの使用; マイクロアレイまたは配列決定と併用されるRACE、PAS-Seq(例えば、Peter J. Sheparだら、RNA. 2011 April; 17(4): 761-772を参照のこと); および3P-Seq(例えば、Calvin H. Jan, Nature. 2011 January 6; 469(7328): 97-101を参照のこと); などが挙げられる。

#### 【0116】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、真核細胞のRNA転写物である。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、脊椎動物の細胞のRNA転写物である。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、哺乳動物の細胞、例えば、霊長類細胞、マウス細胞、ラット細胞またはヒト細胞のRNA転写物である。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、心筋細胞のRNA転写物である。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、細胞の核において転写されたRNAである。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、細胞のミトコンドリアにおいて転写されたRNAである。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオ

リゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、RNAポリメラーゼII酵素によって転写されたRNA転写物である。

【0117】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、ABCA1、APOA1、ATP2A2、BDNF、FXN、HBA2、HBB、HBD、HBE1、HBG1、HBG2、SMN、UTRN、PTEN、MECP2およびFOX P3からなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドによって標的化されるRNA転写物は、ABCA4、ABCB11、ABCB4、ABCG5、ABCG8、ADIPOQ、ALB、APOE、BCL2L11、BRCA1、CD274、CEP290、CFTR、EPO、F7、F8、FLI1、FMR1、FND C5、GCH1、GCK、GLP1R、GRN、HAMP、HPRT1、IDO1、IGF1、IL10、IL6、KCNMA1、KCNMB1、KCNMB2、KCNMB3、KCNMB4、KLF1、KLF4、LDLR、MSX2、MYBPC3、NANOG、NF1、NKX2-1、NKX2-1-AS1、PAH、PTGS2、RB1、RPS14、RPS19、SCARB1、SERPINF1、SIRT1、SIRT6、SMAD7、ST7、STAT3、TSIXおよびXISTからなる群より選択される遺伝子から発現されるmRNAである。これらのおよび他の遺伝子に対するRNA転写物は、実験によって、例えば、RNA配列決定(RNA-Seq)または他の適切な方法を用いて、選択され得るか、または同定され得る。RNA転写物は、公的なデータベース(例えば、UCSC、EnsemblおよびNCBIゲノムブラウザなど)における情報に基づいても選択され得る。ある特定の遺伝子に対するRNA転写物の非限定的な例を表1に列挙する。

10

20

## 【表 1 A - 1】

表 1 : ある特定の遺伝子に対する RNA 転写物の非限定的な例

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
ABCA1	NM_013454	Mus musculus	ATP結合カセット, サブファミリーA (ABC1), メンバー1
ABCA1	NM_005502	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーA (ABC1), メンバー1
ABCA4	NM_007378	Mus musculus	ATP結合カセット, サブファミリーA (ABC1), メンバー4
ABCA4	NM_000350	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーA (ABC1), メンバー4
ABCB11	NM_003742	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーB (MDR/TAP), メンバー11
ABCB11	NM_021022	Mus musculus	ATP結合カセット, サブファミリーB (MDR/TAP), メンバー11
ABCB4	NM_018850	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーB (MDR/TAP), メンバー4
ABCB4	NM_000443	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーB (MDR/TAP), メンバー4
ABCB4	NM_018849	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーB (MDR/TAP), メンバー4
ABCB4	NM_008830	Mus musculus	ATP結合カセット, サブファミリーB (MDR/TAP), メンバー4
ABCG5	NM_022436	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーG (WHITE), メンバー5
ABCG5	NM_031884	Mus musculus	ATP結合カセット, サブファミリーG (WHITE), メンバー5
ABCG8	NM_026180	Mus musculus	ATP結合カセット, サブファミリーG (WHITE), メンバー8
ABCG8	NM_022437	Homo sapiens	ATP結合カセット, サブファミリーG (WHITE), メンバー8
ADIPOQ	NM_009605	Mus musculus	アディポネクチン, C1Qおよびコラ ーゲンドメイン含有
ADIPOQ	NM_004797	Homo sapiens	アディポネクチン, C1Qおよびコラ ーゲンドメイン含有
ALB	NM_000477	Homo sapiens	アルブミン
ALB	NM_009654	Mus musculus	アルブミン
APOA1	NM_000039	Homo sapiens	アポリポタンパク質A-I

10

20

30

40

【表 1 A - 2】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
APOA1	NM_009692	Mus musculus	アポリポタンパク質A-I
APOE	NM_009696	Mus musculus	アポリポタンパク質E
APOE	XM_001724655	Homo sapiens	仮説的LOC100129500;アポリポタン パク質E
APOE	XM_001722911	Homo sapiens	仮説的LOC100129500;アポリポタン パク質E
APOE	XM_001724653	Homo sapiens	仮説的LOC100129500;アポリポタン パク質E
APOE	NM_000041	Homo sapiens	仮説的LOC100129500;アポリポタン パク質E
APOE	XM_001722946	Homo sapiens	仮説的LOC100129500;アポリポタン パク質E
ATP2A2	NM_009722	Mus musculus	ATPアーゼ, Ca++輸送, 心筋, 遅筋 (slow twitch) 2
ATP2A2	NM_001110140	Mus musculus	ATPアーゼ, Ca++輸送, 心筋, 遅筋2
ATP2A2	NM_001135765	Homo sapiens	ATPアーゼ, Ca++輸送, 心筋, 遅筋2
ATP2A2	NM_170665	Homo sapiens	ATPアーゼ, Ca++輸送, 心筋, 遅筋2
ATP2A2	NM_001681	Homo sapiens	ATPアーゼ, Ca++輸送, 心筋, 遅筋2
BCL2L11	NM_006538	Homo sapiens	BCL2様11 (アポトーシス促進因子)
BCL2L11	NM_207002	Homo sapiens	BCL2様11 (アポトーシス促進因子)
BCL2L11	NM_138621	Homo sapiens	BCL2様11 (アポトーシス促進因子)
BCL2L11	NM_207680	Mus musculus	BCL2様11 (アポトーシス促進因子)
BCL2L11	NM_207681	Mus musculus	BCL2様11 (アポトーシス促進因子)
BCL2L11	NM_009754	Mus musculus	BCL2様11 (アポトーシス促進因子)
BDNF	NM_001143816	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143815	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143814	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143813	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143812	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子

10

20

30

40

【表 1 A - 3】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
BDNF	NM_001143806	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143811	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143805	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143810	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001709	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_170735	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_170734	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_170733	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_170732	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_170731	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143809	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143807	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001143808	Homo sapiens	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_007540	Mus musculus	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001048141	Mus musculus	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001048142	Mus musculus	脳由来神経栄養因子
BDNF	NM_001048139	Mus musculus	脳由来神経栄養因子
BRCA1	NM_009764	Mus musculus	乳癌1
BRCA1	NM_007296	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007300	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007297	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007303	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007298	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型

10

20

30

40

【表 1 A - 4】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
BRCA1	NM_007302	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007299	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007304	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007294	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007305	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
BRCA1	NM_007295	Homo sapiens	乳癌1, 早期発症型
CD274	NM_014143	Homo sapiens	CD274分子
CD274	NM_021893	Mus musculus	CD274抗原
CEP290	NM_025114	Homo sapiens	中心体タンパク質 290kDa
CEP290	NM_146009	Mus musculus	中心体タンパク質 290
CFTR	NM_000492	Homo sapiens	嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御 因子 (ATP結合カセットサブファミ リーC, メンバー7)
CFTR	NM_021050	Mus musculus	嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御 因子ホモログ
EPO	NM_000799	Homo sapiens	エリトロポイエチン
EPO	NM_007942	Mus musculus	エリトロポイエチン
F7	NM_000131	Homo sapiens	凝固因子 VII (血清プロトロンビン 転化促進因子)
F7	NM_019616	Homo sapiens	凝固因子 VII (血清プロトロンビン 転化促進因子)
F7	NM_010172	Mus musculus	凝固因子 VII
F8	NM_019863	Homo sapiens	凝固因子 VIII, 凝血原成分
F8	NM_000132	Homo sapiens	凝固因子 VIII, 凝血原成分
F8	NM_001161373	Mus musculus	凝固因子 VIII
F8	NM_001161374	Mus musculus	凝固因子 VIII
F8	NM_007977	Mus musculus	凝固因子 VIII
FLI1	NM_002017	Homo sapiens	Friend白血病ウイルスインテグラー ション1

10

20

30

40

【表 1 A - 5】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
FLI1	NM_001167681	Homo sapiens	Friend白血病ウイルスインテグレーション1
FLI1	NM_008026	Mus musculus	Friend白血病インテグレーション1
FMR1	NM_008031	Mus musculus	脆弱X精神遅滞症候群1ホモログ
FMR1	NM_002024	Homo sapiens	脆弱X精神遅滞1
FNDC5	NM_001171941	Homo sapiens	フィブロネクチンIII型ドメイン含有5
FNDC5	NM_153756	Homo sapiens	フィブロネクチンIII型ドメイン含有5
FNDC5	NM_001171940	Homo sapiens	フィブロネクチンIII型ドメイン含有5
FNDC5	NM_027402	Mus musculus	フィブロネクチンIII型ドメイン含有5
FOXP3	NM_054039	Mus musculus	フォークヘッドボックス P3
FOXP3	NM_001114377	Homo sapiens	フォークヘッドボックス P3
FOXP3	NM_014009	Homo sapiens	フォークヘッドボックス P3
FXN	NM_001161706	Homo sapiens	フラタキシン
FXN	NM_181425	Homo sapiens	フラタキシン
FXN	NM_000144	Homo sapiens	フラタキシン
FXN	NM_008044	Mus musculus	フラタキシン
GCH1	NM_008102	Mus musculus	GTPシクロヒドロラーゼ1
GCH1	NM_000161	Homo sapiens	GTPシクロヒドロラーゼ1
GCH1	NM_001024070	Homo sapiens	GTPシクロヒドロラーゼ1
GCH1	NM_001024071	Homo sapiens	GTPシクロヒドロラーゼ1
GCH1	NM_001024024	Homo sapiens	GTPシクロヒドロラーゼ1
GCK	NM_010292	Mus musculus	グルコキナーゼ
GCK	NM_000162	Homo sapiens	グルコキナーゼ (ヘキソキナーゼ4)
GCK	NM_033508	Homo sapiens	グルコキナーゼ (ヘキソキナーゼ4)

10

20

30

40



【表 1 A - 6】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
GCK	NM_033507	Homo sapiens	グルコキナーゼ (ヘキソキナーゼ4)
GLP1R	NM_021332	Mus musculus	グルカゴン様ペプチド1レセプター; グルカゴン様ペプチド-1レセプター に類似
GLP1R	XM_001471951	Mus musculus	グルカゴン様ペプチド1レセプター; グルカゴン様ペプチド-1レセプター に類似
GLP1R	NM_002062	Homo sapiens	グルカゴン様ペプチド1レセプター
GRN	NM_002087	Homo sapiens	グラニューリン (granulin)
GRN	NM_008175	Mus musculus	グラニューリン
HAMP	NM_021175	Homo sapiens	ヘプシジン (hepcidin) 抗菌ペプチ ド
HAMP	NM_032541	Mus musculus	ヘプシジン抗菌ペプチド
HBA2	NM_000517	Homo sapiens	ヘモグロビン, アルファ2;ヘモグロ ビン, アルファ1
HBA2	NM_000558	Homo sapiens	ヘモグロビン, アルファ2;ヘモグロ ビン, アルファ1
HBB	NM_000518	Homo sapiens	ヘモグロビン, ベータ
HBB	XM_921413	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_903245	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_921395	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_903244	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_903246	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_909723	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_921422	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_489729	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_903242	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_903243	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体
HBB	XM_921400	Mus musculus	ヘモグロビンベータ鎖複合体

10

20

30

40

【表 1 A - 7】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
HBD	NM_000519	Homo sapiens	ヘモグロビン, デルタ
HBE1	NM_005330	Homo sapiens	ヘモグロビン, イプシロン1
HBG1	NM_000559	Homo sapiens	ヘモグロビン, ガンマA
HBG2	NM_000184	Homo sapiens	ヘモグロビン, ガンマG
HPRT1	NM_000194	Homo sapiens	ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ1
ID01	NM_008324	Mus musculus	インドールアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ1
ID01	NM_002164	Homo sapiens	インドールアミン2, 3-ジオキシゲナーゼ1
IGF1	NM_001111284	Homo sapiens	インスリン様成長因子1 (ソマトメジンC)
IGF1	NM_001111285	Homo sapiens	インスリン様成長因子1 (ソマトメジンC)
IGF1	NM_001111283	Homo sapiens	インスリン様成長因子1 (ソマトメジンC)
IGF1	NM_000618	Homo sapiens	インスリン様成長因子1 (ソマトメジンC)
IGF1	NM_001111274	Mus musculus	インスリン様成長因子1
IGF1	NM_010512	Mus musculus	インスリン様成長因子1
IGF1	NM_184052	Mus musculus	インスリン様成長因子1
IGF1	NM_001111276	Mus musculus	インスリン様成長因子1
IGF1	NM_001111275	Mus musculus	インスリン様成長因子1
IL10	NM_000572	Homo sapiens	インターロイキン10
IL10	NM_010548	Mus musculus	インターロイキン10
IL6	NM_031168	Mus musculus	インターロイキン6
IL6	NM_000600	Homo sapiens	インターロイキン6 (インターフェロン, ベータ2)
KCNMA1	NM_002247	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, アルファメンバー1
KCNMA1	NM_001161352	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, アルファメンバー1

10

20

30

40

【表 1 A - 8】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
KCNMA1	NM_001014797	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, アルファメンバー1
KCNMA1	NM_001161353	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, アルファメンバー1
KCNMA1	NM_010610	Mus musculus	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, アルファメンバー1
KCNMB1	NM_031169	Mus musculus	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー1
KCNMB1	NM_004137	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー1
KCNMB2	NM_028231	Mus musculus	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー2
KCNMB2	NM_005832	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー2
KCNMB2	NM_181361	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー2
KCNMB3	NM_171829	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーMベータメンバー3
KCNMB3	NM_171828	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーMベータメンバー3
KCNMB3	NM_001163677	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーMベータメンバー3
KCNMB3	NM_014407	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーMベータメンバー3
KCNMB3	NM_171830	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーMベータメンバー3
KCNMB3	XM_001475546	Mus musculus	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー3
KCNMB3	XM_912348	Mus musculus	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリーM, ベータメンバー3
KCNMB4	NM_021452	Mus musculus	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリー

10

20

30

40

【表 1 A - 9】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
			M, ベータメンバー4
KCNMB4	NM_014505	Homo sapiens	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル, サブファミリー M, ベータメンバー4
KLF1	NM_010635	Mus musculus	Kruppel様因子1 (赤血球)
KLF1	NM_006563	Homo sapiens	Kruppel様因子1 (赤血球)
KLF4	NM_010637	Mus musculus	Kruppel様因子4 (腸)
KLF4	NM_004235	Homo sapiens	Kruppel様因子4 (腸)
LAMA1	NM_005559.3	Homo sapiens	ラミニン, アルファ1
LAMA1	NM_008480.2	Mus musculus	ラミニン, アルファ1
LDLR	NM_000527	Homo sapiens	低密度リポタンパク質レセプター
LDLR	NM_010700	Mus musculus	低密度リポタンパク質レセプター
MBNL1	NM_021038.3, NM_020007.3, NM_207293.1, NM_207294.1, NM_207295.1, NM_207296.1, NM_207297.1	Homo sapiens	マッスルブラインド様スプライシング制御因子1
MBNL1	NM_001253708.1, NM_001253709.1, NM_001253710.1, NM_001253711.1, NM_001253713.1, NM_020007.3	Mus musculus	マッスルブラインド様1 (Drosophila)
MECP2	NM_010788	Mus musculus	メチルCpG結合タンパク質2
MECP2	NM_001081979	Mus musculus	メチルCpG結合タンパク質2
MECP2	NM_001110792	Homo sapiens	メチルCpG結合タンパク質2 (レット症候群)
MECP2	NM_004992	Homo sapiens	メチルCpG結合タンパク質2 (レット症候群)
MERTK	NM_006343.2	Homo sapiens	MER癌原遺伝子, チロシンキナーゼ
MERTK	NM_008587.1	Mus musculus	c-mer癌原遺伝子チロシンキナーゼ
MSX2	NM_013601	Mus musculus	ホメオボックスタンパク質に類似; ホメオボックス, msh様2
MSX2	XM_001475886	Mus musculus	ホメオボックスタンパク質に類似; ホメオボックス, msh様2

10

20

30

40

【表 1 A - 1 0】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
MSX2	NM_002449	Homo sapiens	mshホメオボックス2
MYBPC3	NM_008653	Mus musculus	ミオシン結合タンパク質C, 心臓
MYBPC3	NM_000256	Homo sapiens	ミオシン結合タンパク質C, 心臓
NANOG	NM_024865	Homo sapiens	Nanog ホメオボックス偽遺伝子8;Nanogホメオボックス
NANOG	XM_001471588	Mus musculus	Nanogホメオボックスに類似;Nanogホメオボックス
NANOG	NM_028016	Mus musculus	Nanogホメオボックスに類似;Nanogホメオボックス
NANOG	NM_001080945	Mus musculus	Nanogホメオボックスに類似;Nanogホメオボックス
NF1	NM_000267	Homo sapiens	ニューロフィブロミン1
NF1	NM_001042492	Homo sapiens	ニューロフィブロミン1
NF1	NM_001128147	Homo sapiens	ニューロフィブロミン1
NF1	NM_010897	Mus musculus	神経線維腫症1
NKX2-1	NM_001079668	Homo sapiens	NK2ホメオボックス1
NKX2-1	NM_003317	Homo sapiens	NK2ホメオボックス1
NKX2-1	XM_002344771	Homo sapiens	NK2ホメオボックス1
NKX2-1	NM_009385	Mus musculus	NK2ホメオボックス1
NKX2-1	NM_001146198	Mus musculus	NK2ホメオボックス1
PAH	NM_008777	Mus musculus	フェニルアラニンヒドロキシラーゼ
PAH	NM_000277	Homo sapiens	フェニルアラニンヒドロキシラーゼ
PTEN	NM_000314	Homo sapiens	ホスファターゼおよびテンシンホモログ;ホスファターゼおよびテンシンホモログ偽遺伝子1
PTEN	NM_177096	Mus musculus	ホスファターゼおよびテンシンホモログ
PTEN	NM_008960	Mus musculus	ホスファターゼおよびテンシンホモログ
PTGS2	NM_011198	Mus musculus	プロスタグランジン-エンドペルオキシドシンターゼ2
PTGS2	NM_000963	Homo sapiens	プロスタグランジン-エンドペルオキシドシンターゼ2 (プロスタグラ

10

20

30

40

【表 1 A - 1 1】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
			ンジンG/Hシンターゼおよびシクロ オキシゲナーゼ)
RB1	NM_009029	Mus musculus	網膜芽細胞腫1
RB1	NM_000321	Homo sapiens	網膜芽細胞腫1
RPS14	NM_020600	Mus musculus	予測遺伝子6204; リボソームタンパク 質S14
RPS14	NM_001025071	Homo sapiens	リボソームタンパク質S14
RPS14	NM_005617	Homo sapiens	リボソームタンパク質S14
RPS14	NM_001025070	Homo sapiens	リボソームタンパク質S14
RPS19	XM_204069	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40Sリボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子 13143; 予測遺伝子9646; リボソーム タンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予 測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_991053	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40Sリボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子 13143; 予測遺伝子9646; リボソーム タンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予 測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_905004	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40Sリボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子 13143; 予測遺伝子9646; リボソーム タンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予 測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_001005575	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40Sリボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子 13143; 予測遺伝子9646; リボソーム タンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予 測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	NM_023133	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40Sリボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子 13143; 予測遺伝子9646; リボソーム タンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予 測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_994263	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40Sリボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子

10

20

30

40

【表 1 A - 1 2】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
			13143; 予測遺伝子9646; リボソームタンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_001481027	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40S リボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子13143; 予測遺伝子9646; リボソームタンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_913504	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40S リボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子13143; 予測遺伝子9646; リボソームタンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_001479631	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40S リボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子13143; 予測遺伝子9646; リボソームタンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_902221	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40S リボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子13143; 予測遺伝子9646; リボソームタンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	XM_893968	Mus musculus	予 測 遺 伝 子 4327; 予 測 遺 伝 子 8683; 40S リボソームタンパク質S19 に類似; 予測遺伝子4510; 予測遺伝子13143; 予測遺伝子9646; リボソームタンパク質S19; 予測遺伝子9091; 予測遺伝子6636; 予測遺伝子14072
RPS19	NM_001022	Homo sapiens	リボソームタンパク質S19偽遺伝子3; リボソームタンパク質S19
SCARB1	NM_016741	Mus musculus	スカベンジャーレセプタークラスB, メンバー1
SCARB1	NM_001082959	Homo sapiens	スカベンジャーレセプタークラスB, メンバー1
SCARB1	NM_005505	Homo sapiens	スカベンジャーレセプタークラスB, メンバー1
SERPINF1	NM_011340	Mus musculus	セリン (またはシステイン) ペプチダーゼ阻害剤, クレードF, メンバー1
SERPINF1	NM_002615	Homo sapiens	セルビンペプチダーゼ阻害剤, クレードF (アルファ-2抗プラスミン, 色素上皮由来因子), メンバー1

10

20

30

40

【表 1 A - 1 3】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
SIRT1	NM_001159590	Mus musculus	サーチュイン1 (サイレント接合型 情報制御2, ホモログ) 1 (S.cerevisiae)
SIRT1	NM_019812	Mus musculus	サーチュイン1 (サイレント接合型 情報制御2, ホモログ) 1 (S.cerevisiae)
SIRT1	NM_001159589	Mus musculus	サーチュイン1 (サイレント接合型 情報制御2, ホモログ) 1 (S.cerevisiae)
SIRT1	NM_012238	Homo sapiens	サーチュイン (サイレント接合型情 報制御2ホモログ) 1 (S.cerevisiae)
SIRT1	NM_001142498	Homo sapiens	サーチュイン (サイレント接合型情 報制御2ホモログ) 1 (S.cerevisiae)
SIRT6	NM_016539	Homo sapiens	サーチュイン (サイレント接合型情 報制御2ホモログ) 6 (S.cerevisiae)
SIRT6	NM_001163430	Mus musculus	サーチュイン6 (サイレント接合型 情報制御2, ホモログ) 6 (S.cerevisiae)
SIRT6	NM_181586	Mus musculus	サーチュイン6 (サイレント接合型 情報制御2, ホモログ) 6 (S.cerevisiae)
SMAD7	NM_005904	Homo sapiens	SMADファミリーメンバー7
SMAD7	NM_001042660	Mus musculus	MADホモログ7 (Drosophila)
SMN1	NM_000344.3	Homo sapiens	生存運動ニューロン1
SMN1	NM_022874.2	Homo sapiens	生存運動ニューロン1
SMN2	NM_017411.3 NM_022875.2 NM_022876.2 NM_022877.2	Homo sapiens	生存運動ニューロン2
SSPN	NM_001135823.1, NM_005086.4	Homo sapiens	サルコスパン (sarcospan)
SSPN	NM_010656.2	Homo sapiens	サルコスパン
ST7	NM_021908	Homo sapiens	腫瘍形成能抑制7
ST7	NM_018412	Homo sapiens	腫瘍形成能抑制7
STAT3	NM_213660	Mus musculus	Stat3Bに類似; シグナル伝達物質兼 転写活性化因子3
STAT3	XM_001474017	Mus musculus	Stat3Bに類似; シグナル伝達物質兼 転写活性化因子3
STAT3	NM_213659	Mus musculus	Stat3Bに類似; シグナル伝達物質兼 転写活性化因子3

10

20

30

40



【表 1 A - 1 4】

遺伝子の 記号	MRNA	種	遺伝子名
STAT3	NM_011486	Mus musculus	Stat3Bに類似;シグナル伝達物質兼 転写活性化因子3
STAT3	NM_213662	Homo sapiens	シグナル伝達物質兼転写活性化因子 3 (急性期応答因子)
STAT3	NM_003150	Homo sapiens	シグナル伝達物質兼転写活性化因子 3 (急性期応答因子)
STAT3	NM_139276	Homo sapiens	シグナル伝達物質兼転写活性化因子 3 (急性期応答因子)
UTRN	NM_007124	Homo sapiens	ユートロフィン
UTRN	NM_011682	Mus musculus	ユートロフィン
NFE2L2	NM_001145412. 2, NM_001145413. 2, NM_006164. 4	Homo sapiens	核因子, 赤血球2様2
NFE2L2	NM_010902. 3	Mus musculus	核因子, 赤血球2様2
ACTB	NM_001101. 3	Homo sapiens	アクチン, ベータ
ACTB	NM_007393. 3	Mus musculus	アクチン, ベータ
ANRIL	NR_003529. 3, NR_047532. 1, NR_047533. 1, NR_047534. 1, NR_047535. 1, NR_047536. 1, NR_047538. 1, NR_047539. 1, NR_047540. 1, NR_047541. 1, NR_047542. 1, NR_047543. 1	Homo sapiens	CDKN2BアンチセンスRNA1 (CDKN2Bと も呼ばれる)
HOTAIR	NR_003716. 3, NR_047517. 1, NR_047518. 1	Homo sapiens	HOX転写物アンチセンスRNA
HOTAIR	NR_047528. 1	Mus musculus	HOX転写物アンチセンスRNA
DINO	JX993265	Homo sapiens	損傷誘発性非コード (NOncoding)
DINO	JX993266	Mus musculus	損傷誘発性非コード
HOTTIP	NR_037843. 3	Homo sapiens	HOXA遠位転写物アンチセンスRNA
HOTTIP	NR_110441. 1, NR_110442. 1	Mus musculus	Hoxa遠位転写物アンチセンスRNA
NEST	NR_104124. 1	Homo sapiens	Homo sapiens IFNGアンチセンスRNA1 (IFNG-AS1), 転写物バリエーション1, 長い非コードRNA.
NEST	NR_104123. 1	Mus musculus	タイラマウス脳脊髄炎ウイルス存 続候補遺伝子1

## 【 0 1 1 8 】

本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドは、RNAの分解（例えば、エキソヌクレアーゼによって媒介される分解）を阻害するかまたは妨げることによってそのRNAを安定化するために有用である。そのようなオリゴヌクレオチドは、「安定化オリゴヌクレオチド」と称され得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、RNAの5'および/または3'領域においてハイブリダイズし、一本鎖プロセッシング活性を有するエキソヌクレアーゼ(exonucleotides)による分解を妨げることによってRNAを安定化する二重鎖領域をもたらす。

## 【 0 1 1 9 】

いくつかの実施形態において、RNA転写物の5'領域の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。いくつかの実施形態において、RNA転写物の3'領域の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。いくつかの実施形態において、RNA転写物の5'領域の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な第1の領域およびRNA転写物の3'領域の少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な第2の領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。

10

## 【 0 1 2 0 】

いくつかの実施形態において、mRNA転写物の5'-UTRの少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。いくつかの実施形態において、mRNA転写物の3'-UTRの、ポリ(A)テイルの、またはポリアダニル化ジャンクションと重複する、少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。いくつかの実施形態において、mRNA転写物の5'-UTRの少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な第1の領域、およびmRNA転写物の3'-UTRの、ポリ(A)テイルの、またはポリアダニル化ジャンクションと重複する、少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的な第2の領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。

20

## 【 0 1 2 1 】

いくつかの実施形態において、RNA転写物の5'末端と近接したRNA転写物に相補的な相補性領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。そのような実施形態において、そのオリゴヌクレオチドの相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位の10ヌクレオチド以内、20ヌクレオチド以内、30ヌクレオチド以内、40ヌクレオチド以内、50ヌクレオチド以内または100ヌクレオチド以内、200ヌクレオチド以内、300ヌクレオチド以内、400ヌクレオチド以内またはそれを超える位置におけるRNA転写物と相補的であり得る。

30

## 【 0 1 2 2 】

いくつかの実施形態において、RNA転写物の3'末端と近接したRNA転写物に相補的な相補性領域を有するオリゴヌクレオチドが提供される。そのような実施形態において、その相補性領域の3'末端および/または5'末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の3'末端の10ヌクレオチド以内、20ヌクレオチド以内、30ヌクレオチド以内、40ヌクレオチド以内、50ヌクレオチド以内、100ヌクレオチド以内、200ヌクレオチド以内、300ヌクレオチド以内、400ヌクレオチド以内またはそれを超える位置におけるRNA転写物と相補的であり得る。いくつかの実施形態において、標的RNA転写物が、ポリアダニル化されている場合、オリゴヌクレオチドの相補性領域の3'末端におけるヌクレオチドは、ポリアダニル化ジャンクションの10ヌクレオチド以内、20ヌクレオチド以内、30ヌクレオチド以内、40ヌクレオチド以内、50ヌクレオチド以内、100ヌクレオチド以内、200ヌクレオチド以内、300ヌクレオチド以内、400ヌクレオチド以内またはそれを超える位置におけるRNA転写物と相補的であり得る。いくつかの実施形態において、RNAの3'領域を標的化するオリゴヌクレオチドは、アデニンと相補的なピリミジンのひと続き（例えば、4~10個または5~15個のチミンヌクレオチド）である相補性領域を含む。

40

50

## 【 0 1 2 3 】

いくつかの実施形態において、5' 標的化オリゴヌクレオチドと3' 標的化オリゴヌクレオチドとの組み合わせを、標的RNAと接触させる。いくつかの実施形態において、5' 標的化オリゴヌクレオチドおよび3' 標的化オリゴヌクレオチドは、リンカー（例えば、標的RNAと相補的でないヌクレオチドのひと続き）を介して互いに連結される。いくつかの実施形態において、5' 標的化オリゴヌクレオチドの相補性領域は、3' 末端標的化オリゴヌクレオチドの相補性領域に相補的な標的RNAの領域から少なくとも2、5、10、20、50、100、500、1000、5000、10000ヌクレオチド上流の、標的RNAの中の領域に相補的である。

## 【 0 1 2 4 】

10

いくつかの実施形態において、一般式5' -  $X_1$  -  $X_2$  - 3' を有するオリゴヌクレオチドが提供され、式中、 $X_1$  は、RNA転写物（例えば、RNA転写物の少なくとも5個連続したヌクレオチド）と相補的な相補性領域を有する。いくつかの実施形態において、 $X_1$  の相補性領域の3' 末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位と近接したヌクレオチドと相補的であり得る。いくつかの実施形態において、 $X_1$  の相補性領域の3' 末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位の1、2、3、4、5、6、7、8、9または10ヌクレオチド以内に存在するヌクレオチドと相補的であり得る。いくつかの実施形態において、 $X_1$  の相補性領域の3' 末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物の転写開始部位におけるヌクレオチドと相補的であり得る。

## 【 0 1 2 5 】

20

いくつかの実施形態において、 $X_1$  は、5～10個のヌクレオチド、5～15個のヌクレオチド、5～25個のヌクレオチド、10～25個のヌクレオチド、5～20個のヌクレオチドまたは15～30個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $X_1$  は、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30個またはそれを超えるヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $X_1$  の相補性領域は、RNA転写物の少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個または少なくとも10個連続したヌクレオチドと相補的であり得る。いくつかの実施形態において、 $X_1$  の相補性領域は、RNA転写物の4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個またはそれを超える数だけ連続したヌクレオチドと相補的であり得る。

30

## 【 0 1 2 6 】

いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、存在しない。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、1～10個、1～20個のヌクレオチド、1～25個のヌクレオチド、5～20個のヌクレオチド、5～30個のヌクレオチド、5～40個のヌクレオチドまたは5～50個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50個またはそれを超えるヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、RNA転写物の少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個または少なくとも10個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$  は、RNA転写物の4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個またはそれを超える数だけ連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含む。

40

## 【 0 1 2 7 】

いくつかの実施形態において、RNA転写物は、その5' 末端に7-メチルグアノシンキャップを有する。いくつかの実施形態において、 $X_1$  の相補性領域の3' 末端におけるヌクレオチドは、7-メチルグアノシンキャップに対してすぐ内側に存在するかまたはそのキャップと近接したRNA転写物のヌクレオチド（例えば、そのキャップの10ヌクレオチド）と相補的である。いくつかの実施形態において、 $X_2$  の5' 末端における少なく

50

とも1番目のヌクレオチドは、グアニンと相補的なピリミジン（例えば、シトシンまたはそのアナログ）である。いくつかの実施形態において、 $X_2$ の5'末端における1番目および2番目のヌクレオチドは、グアニンと相補的なピリミジンである。したがって、いくつかの実施形態において、 $X_2$ の5'末端における少なくとも1つのヌクレオチドは、そのキャップの7-メチルグアノシンと安定化水素結合を形成し得るピリミジンである。

#### 【0128】

いくつかの実施形態において、 $X_2$ は、ステムループ構造を形成する。いくつかの実施形態において、 $X_2$ は、式5'- $Y_1$ - $Y_2$ - $Y_3$ -3'を含み、ここで、 $X_2$ は、 $Y_2$ のヌクレオチドを含むループ領域および $Y_3$ の少なくとも2個連続したヌクレオチドとハイブリダイズした $Y_1$ の少なくとも2個連続したヌクレオチドを含むステム領域を有するステムループ構造を形成する。いくつかの実施形態において、ステム領域は、1~6個、1~5個、2~5個、1~4個、2~4個または2~3個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、ステム領域は、LNAヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、ステム領域は、1~6個、1~5個、2~5個、1~4個、2~4個または2~3個のLNAヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_1$ および $Y_3$ は、独立して、2~10個のヌクレオチド、2~20個のヌクレオチド、2~25個のヌクレオチドまたは5~20個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_1$ および $Y_3$ は、独立して、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25個またはそれを超えるヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$ は、3~10個のヌクレオチド、3~15個のヌクレオチド、3~25個のヌクレオチドまたは5~20個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$ は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25個またはそれを超えるヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$ は、2~8個、2~7個、2~6個、2~5個、3~8個、3~7個、3~6個、3~5個または3~4個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$ は、少なくとも1つのDNAヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、 $Y_2$ のヌクレオチドは、少なくとも1つ（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25個またはそれを超えるアデニン）を含む。いくつかの実施形態において、 $Y_3$ は、ステム領域の3'末端の後に1~5個、1~4個、1~3個または1~2個のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、ステム領域の3'末端の後の $Y_3$ のヌクレオチドは、DNAヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、 $Y_3$ は、グアニンと相補的なピリミジン（例えば、シトシンまたはそのアナログ）を含む。いくつかの実施形態において、 $Y_3$ は、ステム領域の3'末端の後の位置にグアニンと相補的な1つまたはそれを超える（例えば、2つの）ピリミジン（例えば、ステム領域の3'末端の後に1、2、3個またはそれを超えるヌクレオチド）を含む。したがって、RNA転写物がキャップされている実施形態では、 $Y_3$ は、そのキャップの7-メチルグアノシンと安定化水素結合を形成するピリミジンを有し得る。

#### 【0129】

いくつかの実施形態において、 $X_1$ および $X_2$ は、RNA転写物の重複しない領域と相補的である。いくつかの実施形態において、 $X_1$ は、RNA転写物の5'領域と相補的な領域を含み、 $X_2$ は、RNA転写物RNA転写物の3'領域と相補的な領域を含む。例えば、RNA転写物が、ポリアデニル化されている場合、 $X_2$ は、そのRNA転写物のポリアデニル化ジャンクションの100ヌクレオチド以内、50ヌクレオチド以内、25ヌクレオチド以内または10ヌクレオチド以内の領域におけるRNA転写物と相補的な相補性領域を含み得る。いくつかの実施形態において、 $X_2$ は、RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションとすぐ隣接しているかまたは重複しているRNA転写物と相補的な相補性領域を含む。いくつかの実施形態において、 $X_2$ は、RNA転写物のポリ(A)テイルのアデニンヌクレオチドと相補的な少なくとも2個連続したピリミジンヌクレオチド（例えば、5~15個のピリミジンヌクレオチド）を含む。

## 【0130】

いくつかの実施形態において、一般式  $5' - X_1 - X_2 - 3'$  を含むオリゴヌクレオチドが提供され、式中、 $X_1$  は、アデニンと塩基対を形成する少なくとも2つのヌクレオチド（例えば、チミジンもしくはウリジンまたはそれらのアナログ）を含み； $X_2$  は、ポリアデニル化されたRNA転写物の少なくとも3個連続したヌクレオチドと相補的な相補性領域を含み、ここで、 $X_2$  の相補性領域の  $5'$  末端におけるヌクレオチドは、RNA転写物のポリアデニル化ジャンクションに対してすぐ内側に存在するRNA転写物のヌクレオチドと相補的である。そのような実施形態において、 $X_1$  は、2～10個、2～20個、5～15個または5～25個のヌクレオチドを含み得、 $X_2$  は、独立して、2～10個、2～20個、5～15個または5～25個のヌクレオチドを含み得る。

10

## 【0131】

いくつかの実施形態において、ヌクレオシド間結合を介して連結された少なくとも5つのヌクレオチド（例えば、5～25個のヌクレオチド）を含む第1のオリゴヌクレオチドおよびヌクレオシド間結合を介して連結された少なくとも5つのヌクレオチド（例えば、5～25個のヌクレオチド）を含む第2のオリゴヌクレオチドを含む組成物が提供され、ここで、第1のオリゴヌクレオチドは、RNA転写物の  $5'$  末端と近接した少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的であり、第2のオリゴヌクレオチドは、RNA転写物の  $3'$  末端と近接した少なくとも5個連続したヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、第1のオリゴヌクレオチドの  $5'$  末端は、第2のオリゴヌクレオチドの  $3'$  末端と連結される。いくつかの実施形態において、第1のオリゴヌクレオチドの  $3'$  末端は、第2のオリゴヌクレオチドの  $5'$  末端と連結される。いくつかの実施形態において、第1のオリゴヌクレオチドの  $5'$  末端は、第2のオリゴヌクレオチドの  $5'$  末端と連結される。いくつかの実施形態において、第1のオリゴヌクレオチドの  $3'$  末端は、第2のオリゴヌクレオチドの  $3'$  末端と連結される。

20

## 【0132】

いくつかの実施形態において、第1のオリゴヌクレオチドと第2のオリゴヌクレオチドとは、リンカーによってつながられる。用語「リンカー」は、通常、2つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドを共有結合的に連結することができる化学的部分のことを指す。いくつかの実施形態において、リンカーは、ある特定の生物学的状況において、例えば、哺乳動物細胞の抽出物、例えば、エンドソーム抽出物中において、切断に対して抵抗性である。しかしながら、いくつかの実施形態において、リンカー内に構成されるまたは含まれる少なくとも1つの結合は、切断されることが可能であり（例えば、ある生物学的状況において、例えば、哺乳動物の抽出物、例えば、エンドソーム抽出物中において）、結合の切断の後、少なくとも2つのオリゴヌクレオチドは、もはや互いに共有結合的に連結されない。いくつかの実施形態において、リンカーは、RNA転写物と相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドではない。いくつかの実施形態において、リンカーは、オリゴヌクレオチド（例えば、2～8個のチミン）である。いくつかの実施形態において、リンカーは、ポリペプチドである。他の適切なリンカーも使用され得、それには、例えば、2013年3月21日に公開されたMULTIMERIC ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDESという表題の国際特許出願公開WO2013/040429A1に開示されているリンカーが含まれる。リンカーに関するこの公報の内容は、その全体が参照により本明細書中に援用される。

30

40

## 【0133】

オリゴヌクレオチドは、等しい長さのオフターゲットRNA転写物のヌクレオチドの全配列と閾値レベル未満の相補性を有する標的RNA転写物（例えば、哺乳動物（mammalian）mRNA転写物）と相補性領域を有し得る。例えば、オリゴヌクレオチドが、標的RNA転写物以外の細胞内のRNA転写物を標的化する配列を有しないことを保証するように、オリゴヌクレオチドはデザインされ得る。配列同一性の閾値レベルは、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、99%または100%の配列同一性であり得る。

50

## 【0134】

オリゴヌクレオチドは、異なる種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、サルなど）にわたる遺伝子のホモログによってコードされるRNA転写物に相補的であり得る。いくつかの実施形態において、これらの特色を有するオリゴヌクレオチドは、複数の種（例えば、ヒトおよびマウス）において有効性についてインビボまたはインビトロにおいて試験され得る。このアプローチは、ヒトの疾患に対して適切な動物が存在する種を選択することによって、そのヒト疾患を処置するための臨床候補の開発も容易にする。

## 【0135】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの相補性領域は、標的RNAの少なくとも8～15、8～30、8～40または10～50または5～50または5～40塩基、例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49または50個連続したヌクレオチドと相補的である。いくつかの実施形態において、相補性領域は、標的RNAの少なくとも8個連続したヌクレオチドと相補的である。

## 【0136】

相補的とは、この用語が当該分野において使用されているように、2つのヌクレオチドの間で正確に対形成する能力のことを指す。例えば、オリゴヌクレオチドのある特定の位置におけるヌクレオチドが、標的RNAの対応する位置におけるヌクレオチドと水素結合することができる場合、そのオリゴヌクレオチドのヌクレオチドと標的RNAのヌクレオチドとは、その位置において互いに相補的である。オリゴヌクレオチドと標的RNAとは、各分子における十分な数の対応する位置が、それらの塩基を介して互いと水素結合し得るヌクレオチドによって占められているとき、互いに相補的である。したがって、「相補的」は、オリゴヌクレオチドと標的RNAとの間に安定した特異的結合が生じるような十分な程度の相補性または正確な対形成を示すために使用される用語である。例えば、オリゴヌクレオチドの1つの位置における塩基が、標的RNAの対応する位置における塩基と水素結合することができる場合、それらの塩基は、その位置において互いに相補的であると考えられる。100%の相補性は、必要とされない。

## 【0137】

オリゴヌクレオチドは、標的RNAの連続したヌクレオチドに少なくとも80%相補的（必要に応じて、少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的のうちの1つ）であり得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、標的RNAの連続したヌクレオチドの部分と比べて、1、2または3塩基のミスマッチを含み得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、15塩基にわたって最大3つのミスマッチまたは10塩基にわたって最大2つのミスマッチを有し得る。

## 【0138】

いくつかの実施形態において、相補的な核酸配列は、特異的にハイブリダイズ可能であるために、その標的の核酸配列に100%相補的である必要はない。いくつかの実施形態において、本開示の目的のオリゴヌクレオチドと標的RNAとのハイブリダイゼーションが、標的RNAの分解を妨げるかまたは阻害するとき、ならびに非特異的結合の回避が望まれる条件下、例えば、インビボアッセイまたは治療的処置の場合の生理学的条件下、およびインビトロアッセイの場合の、それらのアッセイが好適なストリンジェンシー条件下で行われる条件下において、その配列と非標的配列との非特異的結合を回避するのに十分な程度の相補性が存在するとき、そのオリゴヌクレオチドは、標的RNAと特異的にハイブリダイズ可能である。

## 【0139】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、

26、27、28、29、30、35、40、45、50、60、70、80ヌクレオチド長またはそれを超える。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、8～50、10～30、9～20、15～30または8～80ヌクレオチド長である。

#### 【0140】

塩基対形成には、カノニカルなワトソン - クリック塩基対形成と非ワトソン - クリック塩基対形成（例えば、ゆらぎ塩基対形成およびフーグスティーン塩基対形成）の両方が含まれ得る。相補的な塩基対形成のために、アデノシンタイプの塩基（A）は、チミジンタイプの塩基（T）またはウラシルタイプの塩基（U）に相補的であり、シトシンタイプの塩基（C）は、グアノシンタイプの塩基（G）に相補的であり、ユニバーサル塩基（例えば、3 - ニトロピロールまたは5 - ニトロインドール）は、任意のA、C、UまたはTにハイブリダイズし得、任意のA、C、UまたはTに相補的であると考えられると理解される。イノシン（I）も、ユニバーサル塩基であると当該分野において考えられており、任意のA、C、UまたはTに相補的である。

10

#### 【0141】

いくつかの実施形態において、配列表に提供される配列を含む本明細書中に提供される配列におけるいずれか1つまたはそれを超えるチミジン（T）ヌクレオチド（またはその修飾ヌクレオチド）またはウリジン（U）ヌクレオチド（またはその修飾ヌクレオチド）は、アデノシンヌクレオチドとの塩基対形成（例えば、ワトソン - クリック塩基対を介したもの）に適した他の任意のヌクレオチドで置き換えられてもよい。いくつかの実施形態において、配列表に提供される配列を含む本明細書中に提供される配列におけるいずれか1つまたはそれを超えるチミジン（T）ヌクレオチド（またはその修飾ヌクレオチド）またはウリジン（U）ヌクレオチド（またはその修飾ヌクレオチド）は、異なるピリミジンヌクレオチドで適切に置き換えられてもよいし、逆もまた同じである。いくつかの実施形態において、配列表に提供される配列を含む本明細書中に提供される配列におけるいずれか1つまたはそれを超えるチミジン（T）ヌクレオチド（またはその修飾ヌクレオチド）は、ウリジン（U）ヌクレオチド（またはその修飾ヌクレオチド）で適切に置き換えられてもよいし、逆もまた同じである。

20

#### 【0142】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ひと続きのグアノシンヌクレオチド（例えば、3個またはそれを超える、4個またはそれを超える、5個またはそれを超える、6個またはそれを超える数だけ連続したグアノシンヌクレオチド）を含まない配列を有し得る。いくつかの実施形態において、ひと続きのグアノシンヌクレオチドを有するオリゴヌクレオチドは、ひと続きのグアノシンヌクレオチドを有しないオリゴヌクレオチドと比べて、高い非特異的結合および/またはオフターゲット効果を有する。3個またはそれを超えるGまたはCが連続した一続きは、いくつかの実施形態において、好ましくないことがある。したがって、いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、3個またはそれを超えるひと続きのグアノシンヌクレオチドを含まない。

30

#### 【0143】

オリゴヌクレオチドは、30%超のG - C含量、40%超のG - C含量、50%超のG - C含量、60%超のG - C含量、70%超のG - C含量または80%超のG - C含量を有する配列を有し得る。オリゴヌクレオチドは、最大100%のG - C含量、最大95%のG - C含量、最大90%のG - C含量または最大80%のG - C含量を有する配列を有し得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドのGC含量は、好ましくは、約30～60%である。

40

#### 【0144】

本明細書中に提供される任意のオリゴヌクレオチドが除外され得ることが理解されるべきである。

#### 【0145】

いくつかの実施形態において、本明細書中に開示されるオリゴヌクレオチドは、標的RNAの安定性を少なくとも約50%（すなわち、通常の150%または1.5倍）または

50

約 2 倍～約 5 倍高め得ることが見出された。いくつかの実施形態において、安定性（例えば、細胞における安定性）は、少なくとも約 15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍もしくは 100 倍または前述の数字のいずれかの間の任意の範囲だけ高められ得る。いくつかの実施形態において、mRNA の高い安定性は、高いタンパク質発現に相関することが示されている。同様に、いくつかの実施形態において、非コードの高い安定性は、その RNA の高い活性と正に相関する。

#### 【0146】

この説明全体におけるオリゴヌクレオチドまたは他の分子の使用に対するいずれの言及も、低レベルまたは低活性の RNA 転写物に関連する状態または疾患の処置において使用するための薬学的組成物または薬の調製におけるそれらのオリゴヌクレオチドまたは他の分子の使用を企図していると理解される。したがって、1 つの非限定的な例として、本発明のこの態様は、疾患の処置において使用するための薬の調製におけるオリゴヌクレオチドまたは他の分子の使用を含み、ここで、その処置は、標的化された様式でタンパク質レベルおよび / または RNA レベルを転写後に変化させることを含む。

#### オリゴヌクレオチド修飾

#### 【0147】

いくつかの実施形態において、RNA 転写物を標的化して安定化するために、送達、ハイブリダイゼーションおよび細胞内での安定性に適した化学的性質を有するオリゴヌクレオチドが提供される。さらに、いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの薬物動態、体内分布、バイオアベイラビリティおよび / または有効性をコントロールするために有用なオリゴヌクレオチドの化学的性質が提供される。したがって、本明細書中に記載されるオリゴヌクレオチドは、修飾され得、例えば、修飾された糖部分、修飾されたヌクレオシド間結合、修飾ヌクレオチドおよび / またはそれらの組み合わせを含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、以下の特性のうちの 1 つまたはそれを超える特性を示し得る：標的 RNA の実質的な切断または分解を誘導しない；標的 RNA の実質的に完全な切断または分解を引き起こさない；RNAse H 経路を活性化しない；RISC を活性化しない；いかなる Argonaute ファミリータンパク質もリクルートしない；Dicer によって切断されない；選択的スプライシングを媒介しない；免疫賦活性でない；ヌクレアーゼ抵抗性である；無修飾のオリゴヌクレオチドと比べて改善された細胞取り込みを有する；細胞もしくは哺乳動物に対して毒性でない；および改善されたエンドソーム脱出 (endosomal exit) を有する。

#### 【0148】

遺伝子発現を調節する RNA と相互作用するようにデザインされたオリゴヌクレオチドは、DNA 標的に結合するようにデザインされたものと異なるサブセットの塩基配列である（例えば、RNA が転写される、基礎をなすゲノム DNA 配列と相補的である）。

#### 【0149】

本明細書中に開示される任意のオリゴヌクレオチドが、リンカー、例えば、切断可能なリンカーによって、本明細書中に開示される 1 つまたはそれを超える他のオリゴヌクレオチドに連結され得る。

#### 【0150】

本発明のオリゴヌクレオチドは、修飾、例えば、ヌクレオチド修飾を組み込むことなどによって、核酸分解 (nucleolytic degradation) に対して安定化され得る。例えば、本発明の核酸配列は、ヌクレオチド配列の 5' または 3' 末端の少なくとも 1 番目、2 番目または 3 番目のヌクレオチド間結合にホスホロチオエートを含む。別の例として、核酸配列は、2' - 修飾ヌクレオチド、例えば、2' - デオキシ、2' - デオキシ - 2' - フルオロ、2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル (2' - O - MOE)、2' - O - アミノプロピル (2' - O - AP)、2' - O - ジメチルアミノエチル (2' - O - DMAOE)、2' - O - ジメチルアミノプロピル (2' - O - DMAP)、2' - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル (2' - O - DMAEOE) または 2' - O - N - メチルアセトアミド (2' - O - NMA) を含み得る。別の例とし



て、核酸配列は、少なくとも1つの2'-O-メチル-修飾ヌクレオチドを含み得、いくつかの実施形態において、それらのヌクレオチドのすべてが、2'-O-メチル修飾を含む。いくつかの実施形態において、核酸は、「ロック」されており、すなわち、リボース環が、2'-O原子と4'-C原子とを接続するメチレン橋架けによって「ロック」されている、核酸アナログを含む。

#### 【0151】

本明細書中に記載されるオリゴヌクレオチドの修飾される化学的性質または修飾される形式の任意のものが、互いと組み合わせられ得、その1、2、3、4、5個またはそれを超える異なるタイプの修飾が、同じ分子の中に含められ得る。

#### 【0152】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのリボヌクレオチド、少なくとも1つのデオキシリボヌクレオチドおよび/または少なくとも1つの橋架けヌクレオチドを含み得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、橋架けヌクレオチド（例えば、ロックト（locked）核酸（LNA）ヌクレオチド、拘束（constrained）エチル（cEt）ヌクレオチドまたはエチレン橋架け核酸（ENA）ヌクレオチド）を含み得る。そのようなヌクレオチドの例は、本明細書中に開示され、当該分野で公知である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、以下の米国特許または米国特許出願公開のうちの1つに開示されているヌクレオチドアナログを含む：米国特許第7,399,845号、同第7,741,457号、同第8,022,193号、同第7,569,686号、同第7,335,765号、同第7,314,923号、同第7,335,765号および同第7,816,333号、米国特許出願公開第20110009471号（これらの各々の全内容が、すべての目的のために参照により本明細書中に援用される）。オリゴヌクレオチドは、1つまたはそれを超える2'-O-メチルヌクレオチドを有し得る。オリゴヌクレオチドは、全体的に、2'-O-メチルヌクレオチドからなり得る。

#### 【0153】

しばしば、上記オリゴヌクレオチドは、1つまたはそれを超えるヌクレオチドアナログを有する。例えば、上記オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのヌクレオチドアナログを有しないオリゴヌクレオチドと比べてそのオリゴヌクレオチドの $T_m$ を1、2、3、4または5の範囲内で上昇させる少なくとも1つのヌクレオチドアナログを有し得る。上記オリゴヌクレオチドは、ヌクレオチドアナログを有しないオリゴヌクレオチドと比べてそのオリゴヌクレオチドの $T_m$ を合計で2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45またはそれを超える範囲内で上昇させる複数のヌクレオチドアナログを有し得る。

#### 【0154】

上記オリゴヌクレオチドは、最大50ヌクレオチド長であり得、ここで、そのオリゴヌクレオチドの2~10個、2~15個、2~16個、2~17個、2~18個、2~19個、2~20個、2~25個、2~30個、2~40個、2~45個またはそれを超えるヌクレオチドが、ヌクレオチドアナログである。上記オリゴヌクレオチドは、8~30ヌクレオチド長であり得、ここで、そのオリゴヌクレオチドの2~10個、2~15個、2~16個、2~17個、2~18個、2~19個、2~20個、2~25個、2~30個のヌクレオチドが、ヌクレオチドアナログである。

#### 【0155】

上記オリゴヌクレオチドは、8~15ヌクレオチド長であり得、ここで、そのオリゴヌクレオチドの2~4個、2~5個、2~6個、2~7個、2~8個、2~9個、2~10個、2~11個、2~12個、2~13個、2~14個のヌクレオチドが、ヌクレオチドアナログである。必要に応じて、そのオリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のヌクレオチド以外、すべてのヌクレオチドが修飾され得る。

#### 【0156】

上記オリゴヌクレオチドは、全体的に、橋架けヌクレオチド（例えば、LNAヌクレオ

10

20

30

40

50

チド、c E tヌクレオチド、E N Aヌクレオチド) からなり得る。上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドと2' - フルオロ - デオキシリボヌクレオチドとが交互になっているものを含み得る。上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドと2' - O - メチルヌクレオチドとが交互になっているものを含み得る。上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドとE N Aヌクレオチドアナログとが交互になっているものを含み得る。上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドとL N Aヌクレオチドとが交互になっているものを含み得る。上記オリゴヌクレオチドは、L N Aヌクレオチドと2' - O - メチルヌクレオチドとが交互になっているものを含み得る。上記オリゴヌクレオチドは、橋架けヌクレオチド(例えば、L N Aヌクレオチド、c E tヌクレオチド、E N Aヌクレオチド)である5'ヌクレオチドを有し得る。上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドである5'ヌクレオチドを有し得る。

10

**【0157】**

上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドの5'および3'末端の各々において少なくとも1つの橋架けヌクレオチド(例えば、L N Aヌクレオチド、c E tヌクレオチド、E N Aヌクレオチド)に隣接したデオキシリボヌクレオチドを含み得る。上記オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドの5'および3'末端の各々において1、2、3、4、5、6、7、8個またはそれを超える橋架けヌクレオチド(例えば、L N Aヌクレオチド、c E tヌクレオチド、E N Aヌクレオチド)に隣接したデオキシリボヌクレオチドを含み得る。上記オリゴヌクレオチドの3'位は、3'ヒドロキシル基を有し得る。上記オリゴヌクレオチドの3'位は、3'チオホスフェートを有し得る。

20

**【0158】**

上記オリゴヌクレオチドは、標識に結合体化され得る。例えば、上記オリゴヌクレオチドは、その5'または3'末端において、ビオチン部分、コレステロール、ビタミンA、ホレート(folate)、シグマレセプターリガンド、アプタマー、ペプチド、例えば、C P P、疎水性分子、例えば、脂質、アシアロ糖タンパク質レセプターのリガンド(A S G P R)、例えばG a l N a c、またはダイナミックポリコンジュゲート(dynamic polyconjugate)およびそれらのバリエーションに結合体化され得る。

**【0159】**

好ましくは、上記オリゴヌクレオチドは、修飾された糖部分および/または修飾されたヌクレオシド間結合および/または修飾ヌクレオチドおよび/またはそれらの組み合わせを含む1つまたはそれを超える修飾を含む。所与のオリゴヌクレオチドにおけるすべての位置が均一に修飾される必要はなく、実際に、本明細書中に記載される1つより多い修飾が、単一のオリゴヌクレオチドに、またはあるオリゴヌクレオチドの中の単一のヌクレオシド内に組み込まれ得る。

30

**【0160】**

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2つまたはそれを超える化学的に異なる領域(各々が、少なくとも1つのヌクレオチドで構成されている)を含むキメラオリゴヌクレオチドである。これらのオリゴヌクレオチドは、代表的には、1つまたはそれを超える有益な特性(例えば、高いヌクレアーゼ抵抗性、細胞内への多い取り込み、標的に対する高い結合親和性)を付与する修飾ヌクレオチドの少なくとも1つの領域、およびRNA:DNAまたはRNA:RNAハイブリッドを切断することができる酵素に対する基質である領域を含む。本発明のキメラオリゴヌクレオチドは、上に記載されたような、2つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチド、修飾オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシドおよび/またはオリゴヌクレオチド模倣物の複合構造物として形成され得る。そのような化合物は、当該分野ではハイブリッドまたはギャップマーとも称されている。そのようなハイブリッド構造の調製を教示している代表的な米国特許としては、米国特許第5,013,830号;同第5,149,797号;同第5,220,007号;同第5,256,775号;同第5,366,878号;同第5,403,711号;同第5,491,133号;同第5,565,350号;同第5,623,065号;同第5,652,355号;同第5,652,356号;および同第5,700,922号(これらの

40

50

各々は参照により本明細書中に援用される)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0161】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、糖の2'位において修飾された少なくとも1つのヌクレオチド、最も好ましくは、2'-O-アルキル-修飾ヌクレオチド、2'-O-アルキル-O-アルキル-修飾ヌクレオチドまたは2'-フルオロ-修飾ヌクレオチドを含む。他の好ましい実施形態において、RNA修飾としては、RNAの3'末端のピリミジンのリボース上、無塩基残基上または反転した(inverted)塩基上の2'-フルオロ、2'-アミノおよび2'-O-メチル修飾が挙げられる。そのような修飾は、日常的にオリゴヌクレオチドに組み込まれ、これらのオリゴヌクレオチドは、所与の標的に対して、2'-デオキシオリゴヌクレオチドよりも高いT<sub>m</sub>(すなわち、より高い標的結合親和性)を有することが示されている。

10

【0162】

いくつかのヌクレオチド修飾は、天然のオリゴデオキシヌクレオチドよりもヌクレアーゼ消化に対してより高い抵抗性が組み込まれたオリゴヌクレオチドをもたらすことが示されており；これらの修飾オリゴは、無修飾のオリゴヌクレオチドよりも長い時間にわたってインタクトな状態で残存する。修飾オリゴヌクレオチドの特定の例としては、修飾された骨格、例えば、ホスホロチオエート、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、短鎖アルキル糖間結合もしくはシクロアルキル糖間結合または短鎖ヘテロ原子糖間結合もしくは複素環式糖間結合を含むものが挙げられる。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート骨格；ヘテロ原子骨格(例えば、メチレン(メチルイミ

20

30

40

50

ノ)またはMMI骨格)；アミド骨格(De Mesmaekerら、*Acc. Chem. Res.* 1995, 28:366-374を参照のこと)；モルホリノ骨格(Sumner and Weller、米国特許第5,034,506号を参照のこと)；またはペプチド核酸(PNA)骨格(ここで、オリゴヌクレオチドのホスホジエステル骨格は、ポリアミド骨格で置き換えられ、それらのヌクレオチドは、ポリアミド骨格のアザ窒素原子に直接または間接的に結合される。Nielsenら、*Science* 1991, 254, 1497を参照のこと)を有し得る。リン含有結合としては、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ホスホネートおよび他のアルキルホスホネート、ホスフィネート、3'-アミノホスホルアミデートおよびアミノアルキルホスホルアミデートを含むホスホルアミデート、チオノホスホルアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびに通常の3'-5'結合を有するボラノホスフェート、これらの2'-5'結合アナログおよび極性が反転したもの(ここで、ヌクレオシド単位の隣接する対は、3'-5'と5'-3'または2'-5'と5'-2'とで連結される)が挙げられるが、これらに限定されない；米国特許第3,687,808号；同第4,469,863号；同第4,476,301号；同第5,023,243号；同第5,177,196号；同第5,188,897号；同第5,264,423号；同第5,276,019号；同第5,278,302号；同第5,286,717号；同第5,321,131号；同第5,399,676号；同第5,405,939号；同第5,453,496号；同第5,455,233号；同第5,466,677号；同第5,476,925号；同第5,519,126号；同第5,536,821号；同第5,541,306号；同第5,550,111号；同第5,563,253号；同第5,571,799号；同第5,587,361号；および同第5,625,050号を参照のこと。

20

30

40

50

【0163】

モルホリノに基づくオリゴマー化合物は、Dwaine A. Braasch and David R. Corey, *Biochemistry*, 2002, 41(14), 4503-4510)；Genesis, volume 30, issue 3, 2001；Heasman, J., *Dev. Biol.*, 2002, 243, 209-214；Naseviciusら、*Nat. Genet.*, 2000, 26, 216-220；L

acerraら、Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 97, 9591-9596; および1991年7月23日に発行された米国特許第5,034,506号に記載されている。いくつかの実施形態において、モルホリノに基づくオリゴマー化合物は、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー(PMO)(例えば、Iversen, Curr. Opin. Mol. Ther., 3:235-238, 2001; およびWangら、J. Gene Med., 12:354-364, 2010に記載されているようなもの; これらの開示は、それらの全体が参照により本明細書中に援用される)である。

#### 【0164】

シクロヘキセニル核酸オリゴヌクレオチド模倣物は、Wangら、J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 8595-8602に記載されている。

10

#### 【0165】

中にリン原子を含まない修飾オリゴヌクレオチド骨格は、短鎖アルキルヌクレオシド間結合またはシクロアルキルヌクレオシド間結合、ヘテロ原子ヌクレオシド間結合とアルキルヌクレオシド間結合もしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合とが混合したもの(mixed heteroatom and alkyl or cycloalkyl internucleoside linkages)、または1つもしくはそれを超える短鎖ヘテロ原子ヌクレオシド間結合もしくは複素環式ヌクレオシド間結合によって形成される骨格を有する。これらには、モルホリノ結合を有するもの(ヌクレオシドの糖部分から部分的に形成される); シロキサン骨格; スルフィド骨格、スルホキシド骨格およびスルホン骨格; ホルムアセチル骨格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骨格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; メチレンイミノ骨格およびメチレンヒドラジノ骨格; スルホネート骨格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<sub>2</sub>の構成要素部分が混合したその他のものが含まれる; 米国特許第5,034,506号; 同第5,166,315号; 同第5,185,444号; 同第5,214,134号; 同第5,216,141号; 同第5,235,033号; 同第5,264,562号; 同第5,264,564号; 同第5,405,938号; 同第5,434,257号; 同第5,466,677号; 同第5,470,967号; 同第5,489,677号; 同第5,541,307号; 同第5,561,225号; 同第5,596,086号; 同第5,602,240号; 同第5,610,289号; 同第5,602,240号; 同第5,608,046号; 同第5,610,289号; 同第5,618,704号; 同第5,623,070号; 同第5,663,312号; 同第5,633,360号; 同第5,677,437号; および同第5,677,439号(これらの各々は参照により本明細書中に援用される)を参照のこと。

20

30

#### 【0166】

アラビノヌクレオチド残基もしくは修飾アラビノヌクレオチド残基に基づくかまたはそれらから構築されるオリゴヌクレオチドを含む修飾オリゴヌクレオチドも知られている。アラビノヌクレオシドは、リボヌクレオシドの立体異性体であり、糖環の2'位における配置だけが異なる。いくつかの実施形態において、2'-アラビノ修飾は、2'-Fアラビノである。いくつかの実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、2'-フルオロ-D-アラビノ核酸(FANA)(例えば、Lonra、Biochem., 41:3457-3467, 2002およびMinra、Bioorg. Med. Chem. Lett., 12:2651-2654, 2002に記載されているようなもの; これらの開示は、それらの全体が参照により本明細書中に援用される)である。類似の修飾は、糖における他の位置、特に、3'末端のヌクレオシド上の、または2'-5'連結されたオリゴヌクレオチドにおける糖の3'位および5'末端ヌクレオチドの5'位においても行われ得る。

40

#### 【0167】

PCT公開番号WO99/67378は、相補的なメッセンジャーRNAへの会合を介した遺伝子発現の配列特異的阻害の改善のためのアラビノ核酸(ANA)オリゴマーおよ

50

びそれらのアナログを開示している。

【0168】

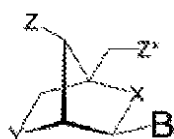
他の好ましい修飾としては、エチレン橋架け核酸 (ENA) (例えば、国際特許公開番号 WO 2005/042777、Morita ら、Nucleic Acid Res., Suppl. 1: 241-242, 2001; Surono ら、Hum. Gene Ther., 15: 749-757, 2004; Koizumi, Curr. Opin. Mol. Ther., 8: 144-149, 2006 および Horie ら、Nucleic Acids Symp. Ser (Oxf), 49: 171-172, 2005; これらの開示は、それらの全体が参照により本明細書中に援用される) が挙げられる。好ましい ENA としては、2'-O, 4'-C-エチレン橋架け核酸が挙げられるが、これに限定されない。

10

【0169】

LNA の例は、WO/2008/043753 に記載されており、それらとしては、以下の一般式の化合物が挙げられる。

【化1】



20

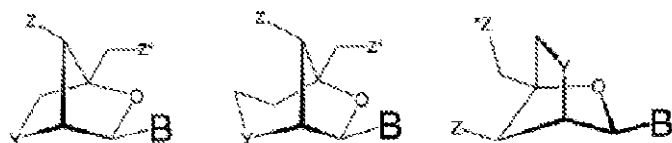
式中、X および Y は、基 -O-、-S-、-N(H)-、N(R)-、-CH<sub>2</sub>- もしくは -CH- (二重結合の一部である場合)、-CH<sub>2</sub>-O-、-CH<sub>2</sub>-S-、-CH<sub>2</sub>-N(H)-、-CH<sub>2</sub>-N(R)-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- もしくは -CH<sub>2</sub>-CH- (二重結合の一部である場合)、-CH=CH- の中から独立して選択され、ここで、R は、水素および C<sub>1</sub>-4-アルキルから選択され; Z および Z\* は、ヌクレオシド間結合、末端基または保護基の中から独立して選択され; B は、天然または非天然のヌクレオチド塩基部分を構成し; 不斉基は、いずれかの配向で見出され得る。

【0170】

好ましくは、本明細書中に記載されるオリゴヌクレオチドにおいて使用される LNA は、以下の式のいずれかに記載の少なくとも 1 つの LNA 単位を含み、

30

【化2】



式中、Y は、-O-、-S-、-NH- または N(R<sup>H</sup>) であり; Z および Z\* は、ヌクレオシド間結合、末端基または保護基の中から独立して選択され; B は、天然または非天然のヌクレオチド塩基部分を構成し、R<sup>H</sup> は、水素および C<sub>1</sub>-4-アルキルから選択される。

40

【0171】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載されるオリゴヌクレオチドにおいて使用されるロックト核酸 (LNA) は、PCT/DK 2006/000512 のスキーム 2 に示されているいずれかの式に記載の少なくとも 1 つのロックト核酸 (LNA) 単位を含む。

【0172】

いくつかの実施形態において、本発明のオリゴマーにおいて使用される LNA は、-O-P(O)<sub>2</sub>-O-、-O-P(O, S)-O-、-O-P(S)<sub>2</sub>-O-、-S-P(

50

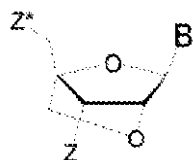
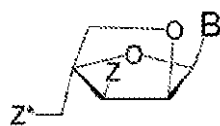
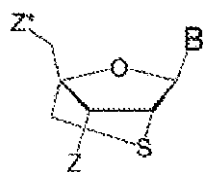
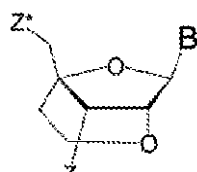
$O)_2 - O -$ 、 $-S - P(O, S) - O -$ 、 $-S - P(S)_2 - O -$ 、 $-O - P(O)_2 - S -$ 、 $-O - P(O, S) - S -$ 、 $-S - P(O)_2 - S -$ 、 $-O - PO(R^H) - O -$ 、 $-O - PO(OCH_3) - O -$ 、 $-O - PO(NR^H) - O -$ 、 $-O - PO(OCH_2CH_2S - R) - O -$ 、 $-O - PO(BH_3) - O -$ 、 $-O - PO(NHR^H) - O -$ 、 $-O - P(O)_2 - NR^H -$ 、 $-NR^H - P(O)_2 - O -$ 、 $-NR^H - CO - O -$  から選択されるヌクレオシド間結合を含み、ここで、 $R^H$  は、水素および  $C_{1-4}$ -アルキルから選択される。

## 【0173】

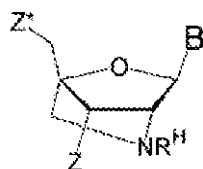
LNA 単位の他の例を下に示す：

## 【化3】

10

 $\beta$ -D-オキシ-LNA $\alpha$ -L-オキシ-LNA $\beta$ -D-チオ-LNA $\beta$ -D-ENA

20

 $\beta$ -D-アミノ-LNA

## 【0174】

用語「チオ-LNA」は、上記の一般式におけるXまたはYのうちの少なくとも1つがSまたは $-CH_2 - S -$ から選択されるロックトヌクレオチドを含む。チオ-LNAは、ベータ-D配置とアルファ-L配置との両方で存在し得る。

30

## 【0175】

用語「アミノ-LNA」は、上記の一般式におけるXまたはYのうちの少なくとも1つが、 $-N(H) -$ 、 $N(R) -$ 、 $CH_2 - N(H) -$ および $-CH_2 - N(R) -$ から選択されるロックトヌクレオチドを含み、ここで、Rは、水素および  $C_{1-4}$ -アルキルから選択される。アミノ-LNAは、ベータ-D配置とアルファ-L配置との両方で存在し得る。

## 【0176】

用語「オキシ-LNA」は、上記の一般式におけるXまたはYのうちの少なくとも1つが $-O -$ または $-CH_2 - O -$ を表わすロックトヌクレオチドを含む。オキシ-LNAは、ベータ-D配置とアルファ-L配置との両方で存在し得る。

40

## 【0177】

用語「ena-LNA」は、上記の一般式におけるYが $-CH_2 - O -$ であるロックトヌクレオチドを含む（ここで、 $-CH_2 - O -$ の酸素原子は、塩基Bに対して2'位に結合する）。

## 【0178】

LNAは、本明細書中でさらに詳細に記載される。

## 【0179】

1つまたはそれを超える置換された糖部分、例えば、以下のうちの1つもまた、2'位

50

に含められ得る：OH、SH、SCH<sub>3</sub>、F、OCN、OCH<sub>3</sub>OCH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>またはO(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>(ここで、nは1～約10である)；C1～C10低級アルキル、アルコキシアルコキシ、置換低級アルキル、アルカリール(alkaryl)またはアラルキル；Cl；Br；CN；CF<sub>3</sub>；OCF<sub>3</sub>；O-、S-またはN-アルキル；O-、S-またはN-アルケニル；SOCH<sub>3</sub>；SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>；ONO<sub>2</sub>；NO<sub>2</sub>；N<sub>3</sub>；NH<sub>2</sub>；ヘテロシクロアルキル；ヘテロシクロアルカリール；アミノアルキルアミノ；ポリアルキルアミノ；置換シリル；RNA切断基；レポーター基；インターカレーター；オリゴヌクレオチドの薬物動態学的特性を改善するための基；またはオリゴヌクレオチドの薬力学的特性を改善するための基および類似の特性を有する他の置換基。好ましい修飾としては、2'-メトキシエトキシ[2'-O-(2-メトキシエチル)]としても知られる2'-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>](Martínら、*Helv. Chim. Acta*, 1995, 78, 486)が挙げられる。他の好ましい修飾としては、2'-メトキシ(2'-O-CH<sub>3</sub>)、2'-プロポキシ(2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)および2'-フルオロ(2'-F)が挙げられる。類似の修飾が、オリゴヌクレオチド上の他の位置、特に、3'末端ヌクレオチド上の糖の3'位および5'末端ヌクレオチドの5'位においても行われ得る。オリゴヌクレオチドは、ペントフラノシル基の代わりにシクロブチルなどの糖模倣物も有し得る。

#### 【0180】

オリゴヌクレオチドは、追加的にまたは代わりに、核酸塩基(当該分野では単純に「塩基」と称されることが多い)の修飾または置換も含み得る。本明細書中で使用されるとき、「無修飾」または「天然」の核酸塩基には、アデニン(A)、グアニン(G)、チミン(T)、シトシン(C)およびウラシル(U)が含まれる。修飾された核酸塩基には、天然の核酸ではまれにまたは一過性にのみ見出される核酸塩基、例えば、ヒポキサンチン、6-メチルアデニン、5-Meピリミジン、特に、5-メチルシトシン(5-メチル-2'デオキシシトシンとも称され、当該分野では5-Me-Cと称されることが多い)、5-ヒドロキシメチルシトシン(HMC)、グリコシルHMCおよびгентビオシル(gentobiosyl)HMC、イソシトシン、シュードイソシトシン(pseudoisocytosine)、ならびに合成核酸塩基、例えば、2-アミノアデニン、2-(メチルアミノ)アデニン、2-(イミダゾリルアルキル)アデニン、2-(アミノアルキルアミノ(aminoalkylamino))アデニンまたは他のヘテロ置換アルキルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン、5-プロモウラシル、5-ヒドロキシメチルウラシル、5-プロピニルウラシル、8-アザグアニン、7-デアザグアニン、N<sup>6</sup>(6-アミノヘキシル)アデニン、6-アミノプリン、2-アミノプリン、2-クロロ-6-アミノプリンおよび2,6-ジアミノプリンまたは他のジアミノプリンが含まれる。例えば、Kornberg, "DNA Replication," W.H. Freeman & Co., San Francisco, 1980, pp 75-77; および Gebeyehu, G.ら、*Nucl. Acids Res.*, 15:4513(1987)を参照のこと。当該分野で公知の「ユニバーサル」塩基、例えば、イノシンも含められ得る。5-Me-C置換は、核酸二重鎖の安定性を0.6～1.2 高めることが示されており(Sanghvi, in Crooke, and Lebleu, eds., *Antisense Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)、塩基置換として使用され得る。

#### 【0181】

所与のオリゴヌクレオチドにおけるすべての位置が均一に修飾される必要はなく、実際に、本明細書中に記載される1つより多い修飾が、単一のオリゴヌクレオチドに、またはあるオリゴヌクレオチドの中の単一のヌクレオチド内に組み込まれ得る。

#### 【0182】

いくつかの実施形態において、糖とヌクレオチド間結合の両方、すなわち、ヌクレオチド単位の骨格は、新規の基で置き換えられる。塩基の単位は、適切な核酸標的化合物との

10

20

30

40

50

ハイブリダイゼーションのために維持される。そのようなオリゴマー化合物の1つである、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴヌクレオチド模倣物 (mimetic) は、ペプチド核酸 (PNA) と称される。PNA 化合物において、オリゴヌクレオチドの糖骨格は、アミド含有骨格、例えば、アミノエチルグリシン骨格で置き換えられている。核酸塩基は、保持され、その骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接または間接的に結合される。PNA 化合物の調製を教示している代表的な米国特許としては、米国特許第 5,539,082 号; 同第 5,714,331 号; および同第 5,719,262 号 (これらの各々は参照により本明細書中に援用される) が挙げられるが、これらに限定されない。PNA 化合物のさらなる教示は、Nielsen ら、Science, 1991, 254, 1497-1500 に見出すことができる。

10

#### 【0183】

オリゴヌクレオチドは、1つまたはそれを超える核酸塩基 (当該分野では単純に「塩基」と称されることが多い) の修飾または置換も含み得る。本明細書中で使用されるとき、「無修飾」または「天然」の核酸塩基には、プリン塩基であるアデニン (A) およびグアニン (G)、ならびにピリミジン塩基であるチミン (T)、シトシン (C) およびウラシル (U) が含まれる。修飾された核酸塩基には、他の合成および天然の核酸塩基 (例えば、5-メチルシトシン (5-me-C)、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、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-メチル誘導体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-プロピル誘導体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 5-ハロシトシン、5-プロピニルウラシルおよび 5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシンおよび 6-アゾチミン、5-ウラシル (シュードウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロアデニン、8-アミノアデニン、8-チオールアデニン、8-チオールアルキルアデニン、8-ヒドロキシルアデニンおよび他の 8-置換アデニン、8-ハログアニン、8-アミノグアニン、8-チオールグアニン、8-チオールアルキルグアニン、8-ヒドロキシルグアニンおよび他の 8-置換グアニン、5-ハロウラシル、特に、5-プロモウラシル、5-トリフルオロメチルウラシルおよび他の 5-置換ウラシル、5-ハロシトシン、特に、5-プロモシトシン、5-トリフルオロメチルシトシンおよび他の 5-置換シトシン、7-メチルグアニン (methylguanine) および 7-メチルアデニン、8-アザグアニンおよび 8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび 7-デアザアデニンならびに 3-デアザグアニンおよび 3-デアザアデニン) が含まれる。

20

30

#### 【0184】

さらに、核酸塩基は、米国特許第 3,687,808 号に開示されているもの、“The Concise Encyclopedia of Polymer Science And Engineering”, 858-859 頁, Kroschwitz, ed. John Wiley & Sons, 1990 に開示されているもの; Englich ら、Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613 頁によって開示されたもの、および Sanghvi, Chapter 15, Antisense Research and Applications, 289-302 頁, Crooke, and Lebleu, eds., CRC Press, 1993 によって開示されたものを含む。これらの核酸塩基のうちのある特定のものが、本発明のオリゴマー化合物の結合親和性を高めるために特に有用である。これらには、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシルおよび 5-プロピニルシトシンを含む、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジンならびに N-2、N-6 および 0-6 置換プリンが含まれる。5-メチルシトシン置換は、核酸二重鎖の安定性を 0.6 ~ 1.2 < 0 > C 高めることが示されており (Sanghvi ら、eds., “Antisense Research and Applications”, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)、より詳細には 2'-O-メトキシエチル糖修飾と組み合わせられるとき、現在、好ましい塩基置換であ

40

50



る。修飾された核酸塩基は、米国特許第 3, 687, 808 号、ならびに同第 4, 845, 205 号；同第 5, 130, 302 号；同第 5, 134, 066 号；同第 5, 175, 273 号；同第 5, 367, 066 号；同第 5, 432, 272 号；同第 5, 457, 187 号；同第 5, 459, 255 号；同第 5, 484, 908 号；同第 5, 502, 177 号；同第 5, 525, 711 号；同第 5, 552, 540 号；同第 5, 587, 469 号；同第 5, 596, 091 号；同第 5, 614, 617 号；同第 5, 750, 692 号および同第 5, 681, 941 号（これらの各々は参照により本明細書中に援用される）に記載されている。

#### 【0185】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、そのオリゴヌクレオチドの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強する 1 つまたはそれを超える部分または結合体に化学的に連結される。例えば、同じまたは異なるタイプの 1 つまたはそれを超えるオリゴヌクレオチドが、互いに結合体化され得るか；またはオリゴヌクレオチドは、ある細胞型もしくは組織型に対して高い特異性を有する標的化部分に結合体化され得る。そのような部分としては、脂質部分、例えば、コレステロール部分 (Lettinger ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コル酸 (Manoharan ら、Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan ら、Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan ら、Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser ら、Nucleic Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールまたはウンデシル残基 (Kabanov ら、FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk ら、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-H-ホスホネート (Manoharan ら、Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea ら、Nucleic Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan ら、Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973) またはアダマンタン酢酸 (Manoharan ら、Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654)、パルミチル部分 (Mishra ら、Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、あるいはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニル-tオキシコレステロール部分 (Crooke ら、J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937) が挙げられるが、これらに限定されない。米国特許第 4, 828, 979 号；同第 4, 948, 882 号；同第 5, 218, 105 号；同第 5, 525, 465 号；同第 5, 541, 313 号；同第 5, 545, 730 号；同第 5, 552, 538 号；同第 5, 578, 717 号；同第 5, 580, 731 号；同第 5, 580, 731 号；同第 5, 591, 584 号；同第 5, 109, 124 号；同第 5, 118, 802 号；同第 5, 138, 045 号；同第 5, 414, 077 号；同第 5, 486, 603 号；同第 5, 512, 439 号；同第 5, 578, 718 号；同第 5, 608, 046 号；同第 4, 587, 044 号；同第 4, 605, 735 号；同第 4, 667, 025 号；同第 4, 762, 779 号；同第 4, 789, 737 号；同第 4, 824, 941 号；同第 4, 835, 263 号；同第 4, 876, 335 号；同第 4, 904, 582 号；同第 4, 958, 013 号；同第 5, 082, 830 号；同第 5, 112, 963 号；同第 5, 214, 136 号；同第 5, 082, 830 号；同第 5, 112, 963 号；同第 5, 214, 136 号；同第 5, 245, 022 号；同第 5, 254, 469 号；同第 5, 258, 506 号；同第 5, 262, 536 号；同第 5, 272, 250 号；同第 5, 292, 873 号；同第 5, 317, 098 号；同第 5, 371, 241 号

、同第5, 391, 723号; 同第5, 416, 203号、同第5, 451, 463号; 同第5, 510, 475号; 同第5, 512, 667号; 同第5, 514, 785号; 同第5, 565, 552号; 同第5, 567, 810号; 同第5, 574, 142号; 同第5, 585, 481号; 同第5, 587, 371号; 同第5, 595, 726号; 同第5, 597, 696号; 同第5, 599, 923号; 同第5, 599, 928号および同第5, 688, 941号(これらの各々は参照により本明細書中に援用される)も参照のこと。

#### 【0186】

これらの部分または結合体には、1級または2級ヒドロキシル基などの官能基に共有結合した結合体基が含まれ得る。本発明の結合体基には、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、ポリエーテル、オリゴマーの薬力学的特性を増強する基およびオリゴマーの薬物動態学的特性を増強する基が含まれる。代表的な結合体基としては、コレステロール、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、ホレート、フェナントリジン、アントラキノン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリンおよび色素が挙げられる。本発明の文脈における薬力学的特性を増強する基としては、取り込みを改善する基、分解に対する抵抗性を増強する基および/または標的核酸との配列特異的ハイブリダイゼーションを強化する基が挙げられる。本発明の文脈における薬物動態学的特性を増強する基としては、本発明の化合物の取り込み、分布、代謝または排泄を改善する基が挙げられる。代表的な結合体基は、1992年10月23日に出版された国際特許出願番号PCT/US92/09196および米国特許第6, 287, 860号(これらは、参照により本明細書中に援用される)に開示されている。結合体部分としては、脂質部分、例えば、コレステロール部分、コール酸、チオエーテル、例えば、ヘキシル-5-トリチルチオール、チオコレステロール、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオール残基もしくはウンデシル残基、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、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖、またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分、あるいはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、米国特許第4, 828, 979号; 同第4, 948, 882号; 同第5, 218, 105号; 同第5, 525, 465号; 同第5, 541, 313号; 同第5, 545, 730号; 同第5, 552, 538号; 同第5, 578, 717号、同第5, 580, 731号; 同第5, 580, 731号; 同第5, 591, 584号; 同第5, 109, 124号; 同第5, 118, 802号; 同第5, 138, 045号; 同第5, 414, 077号; 同第5, 486, 603号; 同第5, 512, 439号; 同第5, 578, 718号; 同第5, 608, 046号; 同第4, 587, 044号; 同第4, 605, 735号; 同第4, 667, 025号; 同第4, 762, 779号; 同第4, 789, 737号; 同第4, 824, 941号; 同第4, 835, 263号; 同第4, 876, 335号; 同第4, 904, 582号; 同第4, 958, 013号; 同第5, 082, 830号; 同第5, 112, 963号; 同第5, 214, 136号; 同第5, 082, 830号; 同第5, 112, 963号; 同第5, 214, 136号; 同第5, 245, 022号; 同第5, 254, 469号; 同第5, 258, 506号; 同第5, 262, 536号; 同第5, 272, 250号; 同第5, 292, 873号; 同第5, 317, 098号; 同第5, 371, 241号、同第5, 391, 723号; 同第5, 416, 203号、同第5, 451, 463号; 同第5, 510, 475号; 同第5, 512, 667号; 同第5, 514, 785号; 同第5, 565, 552号; 同第5, 567, 810号; 同第5, 574, 142号; 同第5, 585, 481号; 同第5, 587, 371号; 同第5, 595, 726号; 同第5, 597, 696号; 同第5, 599, 923号; 同第5, 599, 928号および同第5, 688, 941号を参照のこと。

#### 【0187】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの修飾には、そのオリゴヌクレオチ

10

20

30

40

50

ドの 5' または 3' 末端の修飾が含まれる。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの 3' 末端は、ヒドロキシル基またはチオホスフェートを含む。さらなる分子（例えば、ビオチン部分またはフルオロフォア（fluorophore））が、オリゴヌクレオチドの 5' または 3' 末端に結合体化され得ることが認識されるべきである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、5' ヌクレオチドに結合体化されたビオチン部分を含む。

#### 【0188】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ロックト核酸（LNA）、ENA 修飾ヌクレオチド、2'-O-メチルヌクレオチドまたは 2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドと 2'-フルオロ-デオキシリボヌクレオチドとが交互になっているものを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドと 2'-O-メチルヌクレオチドとが交互になっているものを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドと ENA 修飾ヌクレオチドとが交互になっているものを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドとロックト核酸ヌクレオチドとが交互になっているものを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ロックト核酸ヌクレオチドと 2'-O-メチルヌクレオチドとが交互になっているものを含む。

#### 【0189】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの 5' ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの 5' ヌクレオチドは、ロックト核酸ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドのヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチドの 5' および 3' 末端の各々において少なくとも 1 つのロックト核酸ヌクレオチドに隣接したデオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドの 3' 位のヌクレオチドは、3' ヒドロキシル基または 3' チオホスフェートを有する。

#### 【0190】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 2 つのヌクレオチドの間にホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、すべてのヌクレオチドの間にホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。

#### 【0191】

オリゴヌクレオチドは、本明細書中に記載されるような任意の組み合わせの修飾を有し得ることが認識されるべきである。

#### 【0192】

オリゴヌクレオチドは、以下の修飾パターンのうちの 1 つまたはそれを超えるパターンを有するヌクレオチド配列を含み得る。

(a) (X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX および (X)XXXXXX、

(b) (X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX および (X)XXXXXX、

(c) (X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX および (X)XXXXXX、

(d) (X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX、(X)XXXXXX

10

20

30

40

50

X、(X) x X X X X x、(X) X x x X X X X、(X) X x X x X X、(X) X x X X x X、(X) X x X X x、(X) X X x x X X、(X) X X x X x X、(X) X X x X x x、(X) X X X x x X、(X) X X X x X x および (X) X X X X x x、(e) (X) x X X X X X、(X) X x X X X X、(X) X X x X X X、(X) X X X x X X、(X) X X X X x X および (X) X X X X X x、ならびに (f) X X X X X X、X x X X X X X、X X x X X X X、X X X x X X X、X X X X x X X、X X X X X x X および X X X X X X x (ここで、「X」は、ヌクレオチドアナログを表し、(X)は、任意選択のヌクレオチドアナログを表し、「x」は、DNAまたはRNAヌクレオチド単位を表す)。上に列挙されたパターンの各々は、単独で、または他の開示された修飾パターンのいずれかと組み合わせて、オリゴヌクレオチド内に1回またはそれを超える回数だけ出現し得る。

10

遺伝子発現を調節するための方法

【0193】

1つの態様において、本発明は、細胞においてRNA転写物の安定性を調節する(例えば、高める)ための方法に関する。それらの細胞は、インビトロ、エキソビボまたはインビボにおけるものであり得る。それらの細胞は、RNA転写物またはmRNAの場合はその対応するタンパク質産物の低発現または低活性に起因する疾患を有する被験体内のものであり得る。いくつかの実施形態において、細胞においてRNA転写物の安定性を調節するための方法は、RNAを標的化するものであって、エキソヌクレアーゼによるその分解を妨げるかまたは阻害する、オリゴヌクレオチドをその細胞に送達する工程を含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドを細胞に送達することにより、コントロール細胞における標的RNAの安定性のレベルよりも少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%またはそれより多く、標的RNAの安定性が高まる。適切なコントロール細胞は、オリゴヌクレオチドが送達されていない細胞またはネガティブコントロール(例えば、スクランブルオリゴ、キャリアなど)が送達された細胞であり得る。

20

【0194】

本発明の別の態様は、被験体における特定のRNAの低レベルに関連する疾患または状態を処置する方法を提供する。したがって、いくつかの実施形態において、タンパク質レベルを高める目的で被験体の細胞においてmRNAの安定性を高めるために、本明細書中に記載されるようなオリゴヌクレオチドを含む組成物を被験体(例えば、ヒト)に投与する工程を含む方法が提供される。いくつかの実施形態において、タンパク質レベルの上昇は、投与前の被験体(例えば、被験体の細胞または組織)またはオリゴヌクレオチドを投与されていないかもしくはネガティブコントロール(例えば、スクランブルオリゴ、キャリアなど)を投与されたコントロール被験体におけるタンパク質の量よりも少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%高いかまたはそれを超える。いくつかの実施形態において、非コードRNAの活性を高める目的で、被験体の細胞においてその非コードRNAの安定性を高めるために、本明細書中に記載されるようなオリゴヌクレオチドを含む組成物を被験体(例えば、ヒト)に投与する工程を含む方法が提供される。

30

40

【0195】

被験体には、非ヒト哺乳動物、例えば、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ヤギ、ウシまたはウマが含まれ得る。好ましい実施形態において、被験体は、ヒトである。オリゴヌクレオチドは、ヒトを含む動物における疾患状態の処置において治療用部分として使用され得る。オリゴヌクレオチドは、細胞、組織および動物、特に、ヒトを処置するための処置レジメンにおいて有用であるように設定され得る有用な治療様式であり得る。

【0196】

治療の場合、あるRNAまたはタンパク質の低レベルに関連する疾患を有すると疑われる動物、好ましくは、ヒトは、本発明に係るオリゴヌクレオチドを投与することによって

50

処置される。例えば、1つの非限定的な実施形態において、その方法は、処置を必要とする動物に、治療有効量の本明細書中に記載されるようなオリゴヌクレオチドを投与する工程を含む。表1には、mRNA転写物を安定化オリゴヌクレオチドで標的化することによって処置され得る疾患または状態の例を列挙した。いくつかの実施形態において、本明細書中に開示される方法において使用される細胞は、例えば、表1に列挙される1つまたはそれを超える状態を有する被験体または表1に列挙される1つまたはそれを超える状態の疾患モデルである被験体から得られる細胞であり得る。

【表1B-1】

表1：関連するmRNAを標的化するオリゴヌクレオチドで処置可能な疾患または状態の例

遺伝子	疾患または状態
FXN	フリードライヒ運動失調症
SMN	脊髄性筋萎縮症(SMA) I～IV型
UTRN	筋ジストロフィー(MD) (例えば、Duchenne型筋ジストロフィー、Becker型筋ジストロフィー、筋緊張性ジストロフィー)
ヘモグロビン	貧血、小球性貧血、鎌状赤血球貧血および/またはサラセミア (例えば、アルファ-サラセミア、ベータ-サラセミア (thalassemia)、デルタ-サラセミア (thalassemia))、ベータ-サラセミア (例えば、サラセミアマイナー/中間型サラセミア/サラセミアメジャー)
ATP2A2	心臓の状態 (例えば、先天性心疾患、大動脈瘤、大動脈解離、不整脈、心筋症およびうっ血性心不全)、ダリエ・ホワイト病および疣贅状肢端角化症 (Acrokeratosis verruciformi)
APOA1 / ABCA1	異脂肪血症 (例えば、高脂血症) およびアテローム性動脈硬化症 (例えば、冠動脈疾患 (CAD) および心筋梗塞 (MI))
PTEN	癌、例えば、白血病、リンパ腫、ミエローマ、癌腫、転移性癌腫、肉腫、アデノーマ、神経系の癌および尿生殖器の癌。いくつかの実施形態において、癌は、成人および小児の急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌腫、AIDS関連癌、肛門癌、虫垂癌、星状細胞腫、基底細胞癌腫、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨肉腫、線維性組織球腫、脳腫瘍、脳幹神経膠腫、小脳星状細胞腫、悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、視床下部神経膠腫、乳癌、男性乳癌、気管支腺腫、バーキットリンパ腫、カルチノイド腫瘍、起源不明の癌腫、中枢神経系リンパ腫、小脳星状細胞腫、悪性神経膠腫、子宮頸癌、小児癌、慢性リンパ性白

10

20

30

40

【表 1 B - 2】

遺伝子	疾患または状態
	<p>血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄増殖性障害、直腸結腸癌、皮膚T細胞性リンパ腫、子宮体癌、上衣腫、食道癌、ユーイングファミリー腫瘍、頭蓋外胚細胞性腫瘍、性腺外胚細胞性腫瘍、肝外胆管癌、眼球内黒色腫、網膜芽細胞腫、胆嚢癌、胃癌、消化管間質性腫瘍、頭蓋外胚細胞性腫瘍、性腺外胚細胞性腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛性腫瘍、神経膠腫、ヘアリーセル白血病、頭頸部癌、肝細胞癌、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、視床下部および視覚路神経膠腫、眼球内黒色腫、島細胞腫瘍、カボジ肉腫、腎臓癌、腎細胞癌、喉頭癌、口唇口腔癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、原発性中枢神経系リンパ腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、悪性線維性組織球腫、髄芽腫、メラノーマ、メルケル細胞癌腫、悪性中皮腫、頸部扁平上皮癌、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫、歯状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄増殖性障害、慢性骨髄増殖性障害、鼻腔副鼻腔癌、鼻咽頭癌、神経芽細胞腫、中咽頭癌、卵巣癌、膵癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、褐色細胞腫、松果体芽腫およびテント上原始神経外胚葉性腫瘍、下垂体癌、形質細胞新生物、胸膜肺芽腫、前立腺癌、直腸癌、横紋筋肉腫、唾液腺癌、軟部組織肉腫、子宮肉腫、セザリイ症候群、非メラノーマ皮膚癌、小腸癌、扁平上皮癌腫、頸部扁平上皮癌、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、精巣癌、咽喉癌、胸腺腫および胸腺癌腫、甲状腺癌、移行上皮癌、絨毛性腫瘍、尿道癌、子宮癌、子宮肉腫、膣癌、外陰癌またはウィルムス腫瘍</p>
BDNF	筋萎縮性側索硬化症(ALS、ルー・ゲーリッグ病としても知られる)、アルツハイマー病(AD)およびパーキンソン病(PD)、神経変性
MECP2	レット症候群、MECP2に関連する重篤な新生児脳症、アンジェルマン症候群またはPPM-X症候群
FOXP3	<p>異所性免疫細胞(例えば、T細胞)の活性化に関連する疾患または障害、例えば、自己免疫性または炎症性の疾患または障害。本明細書中に開示される方法に従って処置され得る自己免疫疾患および自己免疫障害の例としては、急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM/抗TBM腎炎、抗リン脂質抗体症候群(APS)、自己免疫性血管性浮腫、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病(ATP)、自己免疫性甲状腺疾患、自己免疫性じんま疹、軸索型および神経型ニューロパシー、バロー病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャッスルマン病、セリアック病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパシー(CIDP)、慢性再発性多巣性骨髄炎(Chronic recurrent multifocal osteomyelitis)(CRMO)、チャージ・ストラウス症候群、癰痕性類天疱瘡/</p>

10

20

30

40

【表 1 B - 3】

遺伝子	疾患または状態	
	<p>           良性粘膜類天疱瘡、炎症性腸疾患(例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎)、コーガン症候群、寒冷凝集素病、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、クレスト病、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性ニューロパシー、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病(視神経脊髄炎)、円板状狼瘡、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エヴァンズ症候群、線維化肺肺炎、巨細胞性動脈炎(側頭動脈炎)、巨細胞心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症(GPA)(以前はウェゲナー肉芽腫症と呼ばれていた)、グレーヴズ病、ギランバレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホシェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA腎症、IgG4関連硬化性疾患、免疫調節性リポタンパク質、封入体筋炎、間質性膀胱炎、IPEX症候群(X連鎖免疫調節異常・多発性内分泌障害腸症候群)、若年性関節炎、若年性糖尿病(1型糖尿病)、若年性筋炎、川崎症候群、ランバート・イートン症候群、白血球破砕性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線状IgA病(LAD)、全身性エリテマトーデス(SLE)、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合結合組織病(MCTD)、モーレン潰瘍、ムッハ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎(デビック病)、好中球減少症、眼球癬痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS(連鎖球菌関連小児自己免疫神経精神疾患)、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間血色素尿症(PNH)、バリー・ロンベルグ症候群、パーソネージ(Parsonnage)・ターナー症候群、扁平部炎(周辺性ブドウ膜炎)、天疱瘡、末梢神経障害、静脈周囲脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発性動脈炎、I、IIおよびIII型自己免疫性多腺症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、赤芽球癆、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、下肢静止不能症候群、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣の自己免疫、スティッフパーソン症候群、亜急性細菌性心内膜炎(SBE)、スジャツ症候群、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病(TTP)、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、1型糖尿病、未分化結合組織病(UCTD)、ブドウ膜炎、脈管炎、小水疱水疱性皮膚病、白斑およびウェゲナー肉芽腫症(多発血管炎性肉芽腫症(GPA)とも呼ばれる)が挙げられるが、これらに限定されない。自己免疫疾患または自己免疫障害のさらなる例としては、炎症性腸疾患(例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎)、IPEX症候群、多発性硬化症、乾癬、関節リウマチ、SLEまたは1型糖尿病が挙げられる。本明細書中に開示される方法に従って処置され得る炎症性疾患または炎症性障害の例としては、尋常性ざ瘡、虫垂炎、関節炎、喘息、アテローム性動脈硬化症、アレルギー(1型過敏症)、滑液包炎、大腸炎、慢性前立腺炎、膀胱炎、皮膚炎、糸球体腎炎、炎症性腸疾患、炎症性ミオパチー(例えば、多発性筋炎、皮膚筋炎または封入体筋炎)、炎症性肺疾患、間質性膀胱炎、髄膜炎、骨盤内炎症性疾患、静脈炎、乾癬、再灌流傷害、関節リウマチ、サルコイドーシス、腱炎、扁桃炎(Tonsillitis)、移植片拒絶および脈管炎が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、炎症性疾患または炎症性障害は喘息である。         </p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>

## 【0197】

本明細書中に記載されるオリゴヌクレオチドは、低レベルの遺伝子発現、または低レベルの遺伝子発現（例えば、低いタンパク質レベルまたは低レベルの機能性RNA（例えば、miRNA、snRNA、lncRNAなど））をもたらすRNA転写物の不安定性もしくは低い安定性に関連する状態を処置するために被験体への投与に向けて製剤化され得る。製剤化、組成物および方法は、本明細書中に開示される任意のオリゴヌクレオチドを用いて実施され得ることが理解されるべきである。

## 【0198】

製剤は、単位剤形で提供されることが便利である場合があり、薬学の分野において周知の任意の方法によって調製され得る。単一の剤形を作製するためにキャリア材料と組み合わせられ得る活性成分（例えば、本発明のオリゴヌクレオチドまたは化合物）の量は、処置される宿主、特定の投与様式、例えば、皮内または吸入に応じて、変動する。単一の剤形を作製するためにキャリア材料と組み合わせられ得る活性成分の量は、一般に、治療効果、例えば、腫瘍退縮をもたらす化合物の量であり得る。

10

## 【0199】

本発明の薬学的製剤は、医薬の製造のために当該分野で公知の任意の方法に従って調製され得る。そのような製剤は、甘味剤、香味剤、着色剤および保存剤を含み得る。製剤は、製造に適した薬学的に許容され得る無毒性の添加剤と混ぜ合わされ得る。製剤は、1つまたはそれを超える賦形剤、乳化剤、保存剤、緩衝剤、添加剤などを含んでよく、液体、粉末、エマルジョン、凍結乾燥粉末、噴霧剤、クリーム、ローション、放出制御製剤、錠剤、丸剤、ゲル、パッチ、埋没物（implant）などのような形態で提供され得る。

20

## 【0200】

製剤化されたオリゴヌクレオチド組成物は、種々の状態を想定し得る。いくつかの例では、その組成物は、少なくとも部分的に結晶性、均一に結晶性、および/または無水（例えば、80、50、30、20または10%未満の水）である。別の例では、そのオリゴヌクレオチドは、水相中、例えば、水を含む溶液中に存在する。水相または結晶性の組成物は、例えば、送達ビヒクル、例えば、リボソーム（特に、水相のための）または粒子（例えば、結晶性組成物に適切であり得るような微小粒子）内に組み込まれ得る。通常、オリゴヌクレオチド組成物は、意図された投与方法と適合した様式で製剤化される。

## 【0201】

いくつかの実施形態において、組成物は、以下の方法のうちの少なくとも1つによって調製される：噴霧乾燥、凍結乾燥、真空乾燥、蒸発、流動層乾燥もしくはこれらの技法の組み合わせ；または脂質を用いた超音波処理、凍結乾燥、凝縮および他の自己集合。

30

## 【0202】

オリゴヌクレオチド調製物は、別の作用物質、例えば、別の治療薬、またはオリゴヌクレオチドを安定させる作用物質、例えば、オリゴヌクレオチドと複合体を形成するタンパク質と組み合わせる製剤化され得るかまたは投与され得る（共にまたは別々に）。なおも他の作用物質としては、キレート剤、例えば、EDTA（例えば、 $Mg^{2+}$ などの二価カチオンを除去するため）、塩、RNAse阻害剤（例えば、広範な特異性のRNAse阻害剤、例えば、RNAsin）などが挙げられる。

40

## 【0203】

1つの実施形態において、オリゴヌクレオチド調製物は、別のオリゴヌクレオチド、例えば、第2の遺伝子の発現を調節する第2のオリゴヌクレオチドまたは第1の遺伝子の発現を調節する第2のオリゴヌクレオチドを含む。なおも他の調製物は、少なくとも3、5、10、20、50もしくは100個またはそれを超える異なるオリゴヌクレオチド種を含み得る。そのようなオリゴヌクレオチドは、同様の数の異なる遺伝子に対する遺伝子発現を媒介し得る。1つの実施形態において、オリゴヌクレオチド調製物は、少なくとも第2の治療薬（例えば、オリゴヌクレオチド以外の作用物質）を含む。

## 【0204】

本明細書中に開示される任意の製剤、賦形剤、ビヒクルなどが、細胞への合成RNA（

50



例えば、環状化した合成RNA)の送達を容易にするために適合され得るかまたは使用され得る。本明細書中に開示される製剤、賦形剤、ビヒクルなどは、インビトロまたはインビボにおける細胞への合成RNAの送達を容易にするために適合され得るかまたは使用され得る。例えば、合成RNA(例えば、環状化した合成RNA)は、ナノ粒子、ポリ(乳酸-co-グリコール酸)(PLGA)ミクロスフェア、リポイド(lipidoid)、リポプレックス(lipoplex)、リポソーム、ポリマー、炭水化物(単糖類を含む)、カチオン性脂質、フィブリンゲル、フィブリンヒドロゲル、フィブリン糊、フィブリンシーラント、フィブリノゲン、トロンビン、迅速に排除される脂質ナノ粒子(re LN P)およびそれらの組み合わせを用いて製剤化され得る。いくつかの実施形態において、合成RNAは、細胞に裸で(gymnotically)送達され得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドまたは合成RNAは、細胞への送達を容易にする因子と結合体化され得る。いくつかの実施形態において、合成RNA、または合成RNAを環状化させるために使用されるオリゴヌクレオチドは、GalNacなどの炭水化物または他の標的化部分に結合体化される。

10

#### 送達経路

##### 【0205】

オリゴヌクレオチドを含む組成物は、種々の経路によって被験体に送達され得る。例示的な経路としては、静脈内、皮内、局所、直腸、非経口、肛門、膣内、鼻腔内、肺、眼が挙げられる。用語「治療有効量」は、期待される生理反応をもたらすように処置される被験体において所望の遺伝子発現レベルを提供する(例えば、RNA転写物を安定化することによって)ために必要な、組成物中に存在するオリゴヌクレオチドの量である。用語「生理的に有効な量」は、所望の緩和効果または治癒効果をもたらすために被験体に送達される量である。用語「薬学的に許容され得るキャリア」は、そのキャリアが、被験体に対して有意な毒物学的有害作用なしにその被験体に投与され得ることを意味する。

20

##### 【0206】

本発明のオリゴヌクレオチド分子は、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。そのような組成物は、代表的には、1つまたはそれを超える種のオリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容され得るキャリアを含む。本明細書中で使用されるとき、術語「薬学的に許容され得るキャリア」は、薬学的投与と適合する任意のおよびすべての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤ならびに吸収遅延剤などを含むことが意図される。薬学的に活性な物質に対するそのような媒体および作用物質の使用は、当該分野で周知である。任意の従来の媒体または作用物質が、活性な化合物と適合しない場合を除いて、その組成物でのそれらの使用が企図される。補助的な活性な化合物もまた、組成物に組み込まれ得る。

30

##### 【0207】

本発明の薬学的組成物は、局所処置が望まれるのか全身処置が望まれるのかに応じて、および処置される領域に応じて、いくつかの方法で投与され得る。投与は、局所(眼、膣、直腸、鼻腔内、経皮を含む)、経口または非経口であり得る。非経口投与には、点滴静注、皮下注射、腹腔内注射もしくは筋肉内注射、または髄腔内もしくは室内(intraventricular)投与が含まれる。

40

##### 【0208】

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、筋細胞を標的とするためには、目的の筋肉への筋肉内注射が、当然の選択である。肺細胞は、オリゴヌクレオチドをエアロゾル形態で投与することによって標的とし得る。血管内皮細胞は、バルーンカテーテルをオリゴヌクレオチドでコーティングすることおよびオリゴヌクレオチドを機械的に導入することによって、標的化とし得る。

##### 【0209】

局所投与とは、被験体の表面に製剤を直接接触させることによって被験体に送達することを指す。局所送達の最も一般的な形態は、皮膚への送達であるが、本明細書中に開示される組成物は、身体の他の表面、例えば、眼、粘膜、体腔の表面または内部の表面にも直

50

接適用され得る。上で述べたように、最も一般的な局所送達は、皮膚への送達である。その用語は、局所および経皮を含むがこれらに限定されないいくつかの投与経路を包含する。これらの投与様式としては、代表的には、皮膚の浸透性障壁の浸透および標的組織または標的層への効率的な送達が挙げられる。局所投与は、表皮および真皮に浸透し、最終的には組成物の全身性送達を達成する手段として使用され得る。局所投与は、オリゴヌクレオチドを被験体の表皮もしくは真皮またはその特定の層あるいはその下にある組織に選択的に送達する手段としても使用され得る。

#### 【0210】

局所投与用の製剤としては、経皮パッチ、軟膏、ローション、クリーム、ゲル、滴剤、坐剤、噴霧剤、液剤および散剤が挙げられ得る。従来の薬学的キャリア、水性基剤、粉末基剤または油性基剤、増粘剤などが必要であり得るか、または所望され得る。コーティングされたコンドーム、手袋などもまた有用であり得る。

10

#### 【0211】

経皮送達は、脂溶性治療剤を投与するための有益な経路である。真皮は、表皮よりも浸透性であるので、擦過した、熱傷したまたは剥皮された皮膚を通じた吸収ははるかにより迅速である。炎症、および皮膚への血流を増加させる他の生理学的状態もまた、経皮吸収を増強する。この経路を介した吸収は、油性ビヒクル（塗膏）を使用することまたは1つもしくはそれを超える浸透促進剤を使用することによって増強され得る。経皮経路を通じて本明細書中に開示される組成物を送達する他の有効な方法としては、皮膚の水和および放出制御局所パッチの使用が挙げられる。経皮経路は、全身治療および/または局所治療のために本明細書中に開示される組成物を送達する潜在的に有効な手段を提供する。さらに、イオン導入（電場の影響下での生体膜を通ったイオン性溶質の移入）、フォノフォレーシスまたはソノフォレーシス（生体膜、特に皮膚および角膜を越えた様々な治療薬の吸収を増強するための超音波の使用）ならびに投与位置および投与部位における保持に関するビヒクルの特色の最適化は、局所に適用された組成物を、皮膚および粘膜部位を越えて輸送するのを増強するために有用な方法であり得る。

20

#### 【0212】

口腔粘膜（oral membrane）と鼻粘膜の両方が、他の投与経路よりも利点を提供する。例えば、これらの膜を通して投与されるオリゴヌクレオチドは、迅速に作用を発生し得、治療的な血漿レベルを提供し得、肝臓代謝の初回通過効果を回避し得、適さない胃腸管（GI）環境へのオリゴヌクレオチドの曝露を回避し得る。さらなる利点としては、その膜部位に容易に接近できることが挙げられ、その結果、オリゴヌクレオチドは、容易に適用され、局在化し、除去され得る。

30

#### 【0213】

経口送達では、組成物は、口腔の表面、例えば、舌の腹側表面の膜を含む舌下粘膜、および口腔底、または頬の裏打ちを構成する頬側粘膜に標的化され得る。舌下粘膜は、比較的浸透性であるので、多くの作用物質の迅速な吸収および許容され得るバイオアベイラビリティをもたらす。さらに、舌下粘膜は、好都合であり、許容可能であり、容易に接近可能である。

#### 【0214】

オリゴヌクレオチドの薬学的組成物は、定量噴霧ディスペンサー、上に記載されたような混合ミセルの薬学的製剤および噴射剤から、吸入なしで、人間の頬腔に噴霧することによっても、頬腔へ投与され得る。1つの実施形態では、まずディスペンサーを振った後、薬学的製剤および噴射剤を頬腔に噴霧する。

40

#### 【0215】

経口投与用の組成物には、散剤もしくは顆粒剤、水の懸濁液もしくは溶液、シロップ剤、スラリー、エマルジョン、エリキシル剤もしくは非水性媒体、錠剤、カプセル剤、舐剤またはトローチ剤が含まれる。錠剤の場合、使用され得るキャリアとしては、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。様々な崩壊剤（例えば、デンプン）および滑沢剤（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

50

ルク)が、錠剤において通常使用される。カプセルの形態での経口投与のための、有用な賦形剤は、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。水性懸濁液が経口使用のために必要とされるとき、核酸組成物は、乳化剤および懸濁化剤と混和され得る。所望であれば、ある特定の甘味剤および/または香味剤を加えることができる。

#### 【0216】

非経口投与には、点滴静注、皮下注射、腹腔内注射もしくは筋肉内注射、髄腔内投与または室内投与が含まれる。いくつかの実施形態において、非経口 (parental) 投与は、疾患部位への直接的な投与 (例えば、腫瘍内への注射) を含む。

#### 【0217】

非経口投与用の製剤には、緩衝剤、賦形剤および他の好適な添加物も含み得る滅菌された水性液剤が含まれ得る。室内注射は、例えば、レザバーに取り付けられた、室内カテーテルによって促進され得る。静脈内で使用する場合、溶質の総濃度は、調製物を等張性にするようにコントロールされるべきである。

#### 【0218】

本明細書中に記載されるいずれのオリゴヌクレオチドも、眼組織に投与され得る。例えば、組成物は、眼または周辺組織の表面、例えば、眼瞼の内側に適用され得る。眼に投与する場合、軟膏または滴下可能な液体が、塗布器または点眼器などの当該分野で公知の眼送達システムによって送達され得る。そのような組成物は、粘膜模倣物 (mucomimetics) (例えば、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヒドロキシプロピルメチルセルロースまたはポリ (ビニルアルコール))、保存剤 (例えば、ソルビン酸、EDTA または塩化ベンジルクロニウム (benzylchroonium chloride)) ならびに通常量の賦形剤および/またはキャリアを含み得る。オリゴヌクレオチドは、眼の内部にも投与され得、選択された領域または構造物にそれを導入することができる針または他の送達デバイスによって導入され得る。

#### 【0219】

肺送達組成物は、ある分散液 (dispersion) を患者が吸入することによって送達され得、その組成物、好ましくは、その分散液中のオリゴヌクレオチドは、肺に到達でき、肺でそれは肺胞領域を通して血液循環中に直接、容易に吸収され得る。肺送達は、全身送達と、肺の疾患を処置するための局所送達の両方にとって有効であり得る。

#### 【0220】

肺送達は、噴霧吸入される製剤、エアロゾル化された製剤、ミセル (micellular) 製剤および乾燥粉末に基づく製剤の使用をはじめとした種々のアプローチによって達成され得る。送達は、液体噴霧吸入器、エアロゾルに基づく吸入器および乾燥粉末分散デバイスを用いて達成され得る。定量デバイスが好ましい。アトマイザまたは吸入器を使用する利点の1つは、それらのデバイスが自己充足型 (self-contained) であるので、汚染のおそれが最小になる点である。乾燥粉末分散デバイスは、例えば、容易に製剤化され得る作用物質を乾燥粉末として送達する。オリゴヌクレオチド組成物は、凍結乾燥粉末もしくは噴霧乾燥粉末として単独で、または好適な粉末キャリアと組み合わせて、安定に保管され得る。吸入用の組成物の送達は、タイマー、ドーズカウンター、計時デバイスまたは時間表示器 (time indicator) を備え得る投与タイミングエレメント (dosing timing element) によって媒介され得、該デバイスに組み込んだとき、エアロゾル薬の投与中の患者に対して用量の追跡、コンプライアンスのモニタリングおよび/または投与の始動 (dose triggering) を可能にする。

#### 【0221】

用語「粉末」は、自由流動性であって、吸入デバイスにおいて容易に分散されることが可能であって、続いて被験体によって吸入されることが可能であり、その結果、それらの粒子が肺に到達して肺胞内への浸透が可能である、細かく分散した固体粒子からなる組成物を意味する。したがって、その粉末は、「呼吸に適する」と言われる。好ましくは、平均粒径は、直径約  $10\text{ }\mu\text{m}$  未満であり、好ましくは、比較的均一な球形の形状の分布を有する。より好ましくは、直径は、約  $7.5\text{ }\mu\text{m}$  未満であり、最も好ましくは、約  $5.0\text{ }\mu$

m未満である。通常、粒径分布は、直径約0.1 μm～約5 μmであり、特に、約0.3 μm～約5 μmである。

【0222】

用語「乾燥(した)」は、組成物が、約10重量%(%w)より少ない水、通常、約5%wより少ない、好ましくは、約3%w未満である水分含有量を有することを意味する。乾燥組成物は、粒子が、吸入デバイスにおいて容易に分散可能であり、それによりエアロゾルが形成されるようなものであり得る。

【0223】

キャリアとして有用な薬学的添加剤のタイプとしては、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミン(HSA))、増量剤(例えば、炭水化物、アミノ酸およびポリペプチド); pH調整剤または緩衝剤; 塩(例えば、塩化ナトリウム)などが挙げられる。これらのキャリアは、結晶性もしくは非晶質の形態で存在し得るか、またはそれら2つの混合物であり得る。

10

【0224】

好適なpH調整剤または緩衝剤としては、有機酸および有機塩基から調製される有機塩(例えば、クエン酸ナトリウム、アスコルビン酸ナトリウム)などが挙げられ; クエン酸ナトリウムが好ましい。オリゴヌクレオチドのミセル製剤の肺投与は、噴射剤(例えば、テトラフルオロエタン、ヘプタフルオロエタン、ジメチルフルオロプロパン、テトラフルオロプロパン、ブタン、イソブタン、ジメチルエーテルならびに他の非CFC噴射剤およびCFC噴射剤)を用いる定量噴霧デバイスを通じて達成され得る。

20

【0225】

例示的なデバイスとしては、脈管構造内に導入されるデバイス、例えば、脈管組織の腔に挿入されるデバイス、またはそのデバイス自体が脈管構造の一部を形成するデバイス(ステント、カテーテル、心臓弁および他の脈管デバイスを含む)が挙げられる。これらのデバイス、例えば、カテーテルまたはステントは、肺、心臓または脚の脈管構造に留置され得る。

【0226】

他のデバイスとしては、非脈管デバイス、例えば、腹膜または臓器もしくは腺組織に埋め込まれるデバイス、例えば、人工臓器が挙げられる。そのデバイスは、オリゴヌクレオチドに加えて治療用物質を放出することができ、例えば、あるデバイスは、インスリンを放出できる。

30

【0227】

1つの実施形態において、単位用量のまたは計量された用量の、オリゴヌクレオチドを含む組成物が、埋め込みデバイスによって分配される。そのデバイスは、被験体内のパラメータをモニターするセンサーを備え得る。例えば、そのデバイスは、例えばポンプ、および必要に応じて、関連する電子機器を備え得る。

【0228】

組織、例えば、細胞または臓器が、エキソビバにおいてオリゴヌクレオチドで処理され得、次いで、被験体に投与され得るかまたは移植され得る。その組織は、自己組織、同種異系組織または異種組織であり得る。例えば、組織は、移植片対宿主病を減少させるために処理され得る。他の実施形態において、その組織は、同種異系であり、その組織は、その組織における望まれない遺伝子発現を特徴とする障害を処置するために処理される。例えば、組織、例えば、造血細胞、例えば、骨髓造血細胞が、望まれない細胞増殖を阻害するために処理され得る。処理された組織の導入は、自己のものであるかまたは移植片であるかに関係なく、他の治療と併用され得る。いくつかの実施において、オリゴヌクレオチドで処理された細胞は、例えば、それらの細胞が埋没物を離れるのを妨げるが、身体からの分子がそれらの細胞に到達することを可能にし、それらの細胞によって産生される分子が身体に入ることを可能にする、半透性の多孔性隔膜によって、他の細胞から隔離される。1つの実施形態において、その多孔性隔膜は、アルギネートから形成されている。

40

【0229】

50

1つの実施形態において、避妊具が、オリゴヌクレオチドでコーティングされるか、またはオリゴヌクレオチドを含む。例示的な避妊具としては、コンドーム、ペッサリー、IUD（植え込み型の子宮用デバイス）、避妊スポンジ（sponges）、膣シース（vaginal sheaths）および受胎調節デバイスが挙げられる。

#### 投与量

##### 【0230】

1つの態様において、本発明は、オリゴヌクレオチドを（例えば、化合物として、または組成物の構成要素として）被験体（例えば、ヒト被験体）に投与する方法を特徴とする。1つの実施形態において、単位用量は、体重1kgあたり約10mg～25mgである。1つの実施形態において、単位用量は、体重1kgあたり約1mg～100mgである。1つの実施形態において、単位用量は、体重1kgあたり約0.1mg～500mgである。いくつかの実施形態において、単位用量は、体重1kgあたり0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、5、10、25、50または100mgより多い。

10

##### 【0231】

規定の量は、疾患または障害、例えば、低レベルのRNAまたはタンパク質に関連する疾患または障害を処置するためまたは予防するために有効な量であり得る。例えば、単位用量は、注射（例えば、静脈内または筋肉内）、吸入投与（inhaled dose）または局所適用によって投与され得る。

20

##### 【0232】

いくつかの実施形態において、単位用量は、毎日投与される。いくつかの実施形態において、1日1回よりも低い頻度、例えば、2、4、8または30日毎未満。別の実施形態において、単位用量は、ある頻度で投与されない（例えば、定期的な頻度で投与されない）。例えば、単位用量は、一度投与され得る。いくつかの実施形態において、単位用量は、1日1回よりも多く、例えば、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間に1回などで投与される。

##### 【0233】

1つの実施形態において、被験体は、初回用量および1つまたはそれを超える維持用量のオリゴヌクレオチドを投与される。維持用量（単数または複数）は、一般に、初回用量より少なく、例えば、初回用量の2分の1より少ない。維持レジメンは、1日あたり体重1kgあたり0.0001～100mgの範囲の用量（単数または複数）、例えば、1日あたり体重1kgあたり100、10、1、0.1、0.01、0.001または0.0001mgで被験体を処置することを含み得る。維持用量は、1、5、10または30日毎に1回以下、投与され得る。さらに、処置レジメンは、特定の疾患の性質、その重症度および患者の全体的な状態に応じて変動する期間にわたって続き得る。いくつかの実施形態において、投与量は、1日1回以下、例えば、24、36、48時間またはそれを超える時間ごとに1回以下、例えば、5または8日毎に1回以下、送達され得る。処置の後、患者は、状態の変化および疾患状態に関する症候の軽減についてモニターされ得る。その患者が現在の投与量レベルに有意に反応しない場合は、オリゴヌクレオチドの投与量を増加させてもよいし、疾患状態に関する症候の軽減が観察された場合、疾患状態が除去された場合、または望まれない副作用が観察された場合は、その用量を減少させてもよい。

30

40

##### 【0234】

有効用量は、所望されるとき、または特定の状況下において適切であると見なされるとき、単回用量または2回もしくはそれ超の用量で投与され得る。繰り返しのまたは頻繁な注入を容易にすることが所望される場合、送達デバイス、例えば、ポンプ、半永久的ステント（例えば、静脈内、腹腔内、槽内または嚢内）またはレザバーの埋め込みが得策であり得る。

##### 【0235】

場合によっては、患者は、他の治療様式と併せてオリゴヌクレオチドで処置される。

##### 【0236】

50

処置が成功した後、その疾患状態の再発を防ぐために患者に維持療法を施すことが望ましい場合があり、その維持療法では、本発明の化合物は、体重 1 k g あたり 0 . 0 0 0 1 m g ~ 1 0 0 m g の範囲の維持用量で投与される。

#### 【 0 2 3 7 】

オリゴヌクレオチド組成物の濃度は、障害の処置または予防において有効であるのに十分な量またはヒトの生理学的状態を制御するのに十分な量である。投与されるオリゴヌクレオチドの濃度または量は、その作用物質に対して測定されるパラメータおよび投与の方法、例えば、経鼻、頬側、肺投与に依存する。例えば、経鼻製剤は、鼻腔の刺激作用または灼熱感 ( b u r n i n g ) を回避するために、いくつかの成分をより低い濃度にする必要がある傾向があり得る。好適な経鼻製剤を提供するために経口製剤を最大 1 0 ~ 1 0 0 10 倍希釈することが時折望ましい。

#### 【 0 2 3 8 】

ある特定の因子は、被験体を効果的に処置するために必要とされる投与量に影響し得、その因子としては、疾患または障害の重症度、以前の処置、被験体の全般的な健康状態および / または年齢、ならびに存在する他の疾患が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、治療有効量のオリゴヌクレオチドでの被験体の処置には、単回の処置を含み得るか、または好ましくは、一連の処置を含み得る。処置のために使用されるオリゴヌクレオチドの有効な投与量は、特定の処置の経過にわたって増加させてもよいし、減少させてもよいことも認識される。例えば、被験体は、オリゴヌクレオチド組成物を投与した後にモニターされ得る。モニタリングからの情報に基づいて、さらなる量のオリゴヌクレオチド 20 組成物が、投与され得る。

#### 【 0 2 3 9 】

投与は、数日間から数ヶ月間続くかまたは治癒がもたらされるまでもしくは疾患状態の減少が達成されるまで続く処置の経過にわたる、処置される疾患状態の重症度および応答性に依存する。当業者は、最適な投与量、投与方法および反復の割合を容易に決定できる。最適な投与量は、個々の化合物の相対的な効力に応じて変動し得、一般に、インビトロおよびインビボ動物モデルにおいて有効であると見出された E C 5 0 に基づいて推定され得る。

#### 【 0 2 4 0 】

1 つの実施形態において、オリゴヌクレオチド組成物の投与は、非経口、例えば、静脈内 ( 例えば、ボラスとしてまたは拡散可能な注入として ) 、皮内、腹腔内、筋肉内、髄腔内、室内、頭蓋内、皮下、経粘膜、頬側、舌下、内視鏡的、直腸、経口、膣、局所、肺、鼻腔内、尿道または眼である。投与は、被験体または別の人間、例えば、医療提供者によって提供され得る。組成物は、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 30 スペンサーにおいて提供され得る。選択される送達様式は、下記で詳細に述べられる。

#### キット

#### 【 0 2 4 1 】

本発明のある特定の態様において、オリゴヌクレオチドを含む組成物が収容されている容器を備えるキットが提供される。いくつかの実施形態において、その組成物は、オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容され得るキャリアを含む薬学的組成物である。いくつか 40 の実施形態において、その薬学的組成物の個々の構成要素は、1 つの容器の中に提供され得る。あるいは、薬学的組成物の構成要素を、2 つまたはそれを超える容器の中に別々に提供すること、例えば、オリゴヌクレオチドに対して 1 つの容器およびキャリア化合物に対して少なくとも別の容器の中に提供することが望ましい場合がある。そのキットは、いくつかの異なる構成で包装され得る ( 例えば、単一の箱の中の 1 つまたはそれを超える容器 ) 。それらの異なる構成要素は、例えば、そのキットとともに提供される指示に従って、混和され得る。それらの構成要素は、例えば、薬学的組成物を調製し、投与するために、本明細書中に記載される方法に従って混和され得る。そのキットは、送達デバイスも備え得る。

#### 【 0 2 4 2 】

10

20

30

40

50

本発明は、さらなる限定と決して解釈されるべきでない以下の実施例によってさらに例証される。本願全体にわたって引用されたすべての参考文献（参考文献、発行された特許、公開された特許出願および同時係属の特許出願を含む）の全内容は、明確に参照により本明細書に援用される。

#### 【実施例】

##### 【0243】

実施例1：RNAの5'および3'末端を標的化するためのオリゴヌクレオチド  
mRNAの安定性を高めるためのいくつかの例示的なオリゴヌクレオチドデザインスキームが、本明細書中で企図される。RNAの3'末端を標的化するオリゴヌクレオチドに関して、少なくとも2つの例示的なデザインスキームが企図される。第1のスキームとして、ポリAテイルの前の、RNAの3'末端に相補的なオリゴヌクレオチドをデザインする（図1）。第2のスキームとして、ポリAテイルにハイブリダイズする5'ポリT領域を有するRNAの3'末端に相補的なオリゴヌクレオチドをデザインする（図1）。

10

##### 【0244】

RNAの5'末端を標的化するオリゴヌクレオチドに関して、少なくとも3つの例示的なデザインスキームが企図される。スキーム1の場合、RNAの5'末端に相補的なオリゴヌクレオチドをデザインする（図2）。スキーム2の場合、RNAの5'末端に相補的であり、陥凹末端を有するRNA-オリゴ二重鎖を形成する3'オーバーハングを有するオリゴヌクレオチドをデザインする。この例では、オーバーハングは、5'メチルグアノシンキャップと潜在的に相互作用し得、そのキャップをさらに安定化し得る1つまたはそれを超えるCヌクレオチド、例えば、2つのCである（図2）。そのオーバーハングは、潜在的に別のタイプのヌクレオチドでもあり得、Cに限定されない。スキーム3の場合、5'RNAキャップを安定化するループ領域を含むようにオリゴヌクレオチドをデザインする。

20

##### 【0245】

実施例1に記載されたようにデザインされたオリゴヌクレオチドが、実施例2において概要が述べられる方法を用いてmRNAの安定性を高めることによってRNAをアップレギュレートする能力について試験され得る。

実施例2：フラタキシンの5'および3'末端を標的化するためのオリゴ

材料および方法：

リアルタイムPCR

30

##### 【0246】

RNA解析、cDNA合成およびQRT-PCRを、Life Technologies Cells-to-CtキットおよびStepOne Plus装置を用いて行った。構成的に発現される様々なハウスキーピング遺伝子のmRNAに対するベースラインレベルも測定した。標的遺伝子とほぼ同じレベルのベースライン発現を有する「コントロール」ハウスキーピング遺伝子を、比較目的のために選択した。

ウエスタンブロット

##### 【0247】

ウエスタンブロットは、以前に報告されたように行った。KLF4抗体（Cell Signaling 4038S）を1:1000希釈で使用した。蛍光標識された抗ウサギ抗体を使用して、UVP ChemiDoc-It装置において、像を取得した。

40

ELISA

##### 【0248】

ELISAアッセイは、Abcam Frataxin ELISAキット（ab115346）を製造者の指示書に従って使用して行った。

細胞株

##### 【0249】

当該分野で公知の条件を用いて細胞を培養した。本明細書中に記載される実験において使用した細胞株の詳細を表2に提供する。

50

【表 2】

表 2：細胞

細胞株	臨床的に影響	細胞型	GAA リピートの数	注
GM15850	Y	B-リンパ芽球	650 & 1030	13歳白人男性, GM15851と兄弟
GM15851	N	B-リンパ芽球	両方が<20	14歳白人男性, GM15850と兄弟
GM16209	Y	B-リンパ芽球	両方が800	41歳白人女性, GM16222と片親が異なる姉妹
GM16222	N	B-リンパ芽球	830 および<20	59歳白人女性, GM16209と片親が異なる姉妹
GM03816	Y	線維芽細胞	330/380	36歳白人女性, GM04078と姉妹
GM03816	Y	線維芽細胞	541-420	30歳白人男性, GM03816と兄弟
GM0321B	N	線維芽細胞	該当せず	健常な40歳女性

10

20

## アクチノマイシン D 処理

## 【0250】

アクチノマイシン D (Life Technologies) を 10 マイクログラム / ml の濃度で細胞培養液に加え、インキュベートした。Trizol (Sigma) を製造者の指示書に従って使用して、RNA の単離を行った。FXN プローブおよび c - Myc プローブは、Life Technologies から購入した。

## オリゴヌクレオチドデザイン

## 【0251】

FXN mRNA の 5' および 3' 末端を標的化するオリゴヌクレオチドをデザインした。以前に記載されたように、ポリ A テイルの定量的末端解析を使用して推定 mRNA の 3' 末端を同定することによって、3' 末端オリゴヌクレオチドをデザインした (例えば、Ozsolakら、Comprehensive Polyadenylation Site Maps in Yeast and Human Reveal Pervasive Alternative Polyadenylation. Cell. Volume 143, Issue 6, 2010, 1018 - 1029 頁を参照のこと)。図 4 は、同定されたポリ A 部位を示している。以前に記載されたように、キャップ解析遺伝子発現 (CAGE) を使用して潜在的な 5' 開始部位を同定することによって、5' 末端オリゴヌクレオチドをデザインした (例えば、Cap analysis gene expression for high-throughput analysis of transcriptional starting point and identification of promoter usage. Proc Natl Acad Sci USA. 100 (26): 15776 - 81. 2003 - 12 - 23 および Zhao, Xiaobei (2011). "Systematic Clustering of Transcription Start Site Landscapes". PLoS ONE (Public Library of Science) 6 (8): e23409 を参照のこと)。図 5 は、同定された 5' 開始部位を示している。図 6 は、デザインされた 5' および 3' 末端オリゴヌクレオチドの位置を提供している。

30

40

50



## 【0252】

mRNA - Seqシグナルおよびリボソームポジショニングに対するある特定のデザインされたオリゴヌクレオチドのオリゴヌクレオチド位置もまた、公的なデータセットを使用して計算した (Guo, H., Ingolia, N. T., Weissman, J. S., & Bartel, D. P. (2010). Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. Nature, 466 (7308), 835 - 40. doi: 10.1038/nature09267)。これらのデータセットに対するオリゴヌクレオチド位置を図69に示す。

## 【0253】

各オリゴヌクレオチドの配列および構造を表3に示す。表5は、表3、7、8、9、10、11および12に記載されている、試験されたある特定のオリゴヌクレオチドに対して使用されたヌクレオチドアナログ、修飾およびヌクレオチド間 (intranucleotide) 結合の説明を提供している。表3および表4におけるある特定のオリゴは、2つのオリゴ名「オリゴ名」および「代替オリゴ名」を有し、これらは、本明細書中で交換可能に使用され、同じオリゴのことを指すと理解されるべきである。

## 【表3 - 1】

表3：FXNの5' および3' 末端を標的化するオリゴヌクレオチド

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
1	オリゴ48	FXN-371	TGACCCAAGGGAGAC	5' 末端	FXN	ヒト	dTs;lnaGs;dAs;lnaCs;dCs;lnaCs;dAs;lnaAs;dGs;lnaGs;dGs;lnaAs;dGs;lnaAs;dC-Sup
2	オリゴ49	FXN-372	TGGCCACTGGCCGCA	5' 末端	FXN	ヒト	dTs;lnaGs;dGs;lnaCs;dCs;lnaAs;dCs;lnaTs;dGs;lnaGs;dCs;lnaCs;dGs;lnaCs;dA-Sup
3	オリゴ50	FXN-373	CGGCGACCCCTGGTG	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs;dGs;lnaAs;dCs;lnaCs;dCs;lnaCs;dTs;lnaGs;dGs;lnaTs;dG-Sup

【表 3 - 2】

4	オリ ゴ51	FXN-37 4	CGCCCTCCAGC GCTG	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dCs ;lNaCs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs ;dAs;lNaGs;dC s;lNaGs;dCs;l NaTs;dG-Sup
5	オリ ゴ52	FXN-37 5	CGCTCCGCCCT CCAG	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dCs ;lNaTs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dT s;lNaCs;dCs;l NaAs;dG-Sup
6	オリ ゴ53	FXN-37 6	TGACCCAAGGG AGACCC	5' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaGs;dAs ;lNaCs;dCs;lNa Cs;dAs;lNaAs ;dGs;lNaGs;dG s;lNaAs;dGs;l NaAs;dCs;lNaC s;dC-Sup
7	オリ ゴ54	FXN-37 7	TGGCCACTGGC CGCACC	5' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaGs;dGs ;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaTs ;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dGs;l NaCs;dAs;lNaC s;dC-Sup
8	オリ ゴ55	FXN-37 8	CGGCGACCCCT GGTGCC	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dGs ;lNaCs;dGs;lNa As;dCs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dT s;lNaGs;dGs;l NaTs;dGs;lNaC s;dC-Sup
9	オリ ゴ56	FXN-37 9	CGCCCTCCAGC GCTGCC	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dCs ;lNaCs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs ;dAs;lNaGs;dC s;lNaGs;dCs;l NaTs;dGs;lNaC s;dC-Sup
10	オリ ゴ57	FXN-38 0	CGCTCCGCCCT CCAGCC	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dCs ;lNaTs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dT s;lNaCs;dCs;l NaAs;dGs;lNaC

10

20

30

40

【表 3 - 3】

							s;dC-Sup
11	オリ ゴ58	FXN-38 1	TGACCCAAGGG AGACGGAAACC AC	5' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaGs;dAs ;lNaCs;dCs;lNa Cs;dAs;lNaAs ;dGs;lNaGs;dG s;lNaAs;dGs;l NaAs;dCs;lNaG s;dGs;dAs;dAs ;dAs;dCs;lNaC s;dAs;lNaC-Su p
12	オリ ゴ59	FXN-38 2	TGGCCACTGGC CGCAGGAAACC AC	5' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaGs;dGs ;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaTs ;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dGs;l NaCs;dAs;lNaG s;dGs;dAs;dAs ;dAs;dCs;lNaC s;dAs;lNaC-Su p
13	オリ ゴ60	FXN-38 3	CGGCGACCCCT GGTGGGAAACC TC	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dGs ;lNaCs;dGs;lNa As;dCs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dT s;lNaGs;dGs;l NaTs;dGs;lNaG s;dGs;dAs;dAs ;dAs;dCs;lNaC s;dTs;lNaC-Su p
14	オリ ゴ61	FXN-38 4	CGCCCTCCAGC GCTGGGAAACC TC	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dCs ;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaCs ;dAs;lNaGs;dC s;lNaGs;dCs;l NaTs;dGs;lNaG s;dGs;dAs;dAs ;dAs;dCs;lNaC s;dTs;lNaC-Su p
15	オリ ゴ62	FXN-38 5	CGCTCCGCCCT CCAGCCAAAGG TC	5' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dCs ;lNaTs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dT s;lNaCs;dCs;l NaAs;dGs;lNaC

10

20

30

40

【表 3 - 4】

							s;dCs;dAs;dAs ;dAs;dGs;lnaG s;dTs;lnaC-Su p
16	オリ ゴ63	FXN-38 6	GGTTTTTAAGG CTTT	3' 末端	FXN	ヒト	dGs;lnaGs;dTs ;lnaTs;dTs;ln aTs;dTs;lnaAs ;dAs;lnaGs;dG s;lnaCs;dTs;l naTs;dT-Sup
17	オリ ゴ64	FXN-38 7	GGGGTCTTGCC CTGA	3' 末端	FXN	ヒト	dGs;lnaGs;dGs ;lnaGs;dTs;ln aCs;dTs;lnaTs ;dGs;lnaGs;dC s;lnaCs;dTs;l naGs;dA-Sup
18	オリ ゴ65	FXN-38 8	CATAATGAAGC TGGG	3' 末端	FXN	ヒト	dCs;lnaAs;dTs ;lnaAs;dAs;ln aTs;dGs;lnaAs ;dAs;lnaGs;dC s;lnaTs;dGs;l naGs;dG-Sup
19	オリ ゴ66	FXN-38 9	AGGAGGCAACA CATT	3' 末端	FXN	ヒト	dAs;lnaGs;dGs ;lnaAs;dGs;ln aGs;dCs;lnaAs ;dAs;lnaCs;dA s;lnaCs;dAs;l naTs;dT-Sup
20	オリ ゴ67	FXN-39 0	ATTATTTTGCT TTTT	3' 末端	FXN	ヒト	dAs;lnaTs;dTs ;lnaAs;dTs;ln aTs;dTs;lnaTs ;dGs;lnaCs;dT s;lnaTs;dTs;l naTs;dT-Sup
21	オリ ゴ68	FXN-39 1	CATTTTCCCTC CTGG	3' 末端	FXN	ヒト	dCs;lnaAs;dTs ;lnaTs;dTs;ln aTs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dC s;lnaCs;dTs;l naGs;dG-Sup
22	オリ ゴ69	FXN-39 2	GTAGGCTACCC TTTA	3' 末端	FXN	ヒト	dGs;lnaTs;dAs ;lnaGs;dGs;ln aCs;dTs;lnaAs ;dCs;lnaCs;dC s;lnaTs;dTs;l naTs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 3 - 5】

23	オリ ゴ70	FXN-39 3	GAGGCTTGTTG CTTT	3' 末端	FXN	ヒト	dGs;lNaAs;dGs ;lNaGs;dCs;l aTs;dTs;lNaGs ;dTts;lNaTs;dG s;lNaCs;dTs;l NaTs;dT-Sup
24	オリ ゴ71	FXN-39 4	CATGTATGATG TTAT	3' 末端	FXN	ヒト	dCs;lNaAs;dTs ;lNaGs;dTs;l aAs;dTs;lNaGs ;dAs;lNaTs;dG s;lNaTs;dTs;l NaAs;dT-Sup
25	オリ ゴ72	FXN-39 5	TTTTTGTTTT TAAGGCTTT	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;l aGs;dGs;lNaTs ;dTts;lNaTs;dT s;lNaTs;dAs;l NaAs;dGs;lNaG s;dCs;lNaTs;d Ts;lNaT-Sup
26	オリ ゴ73	FXN-39 6	TTTTTGGGGTC TTGGCCTGA	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;l aGs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dC s;lNaTs;dTs;l NaGs;dGs;lNaC s;dCs;lNaTs;d Gs;lNaA-Sup
27	オリ ゴ74	FXN-39 7	TTTTTCATAAT GAAGCTGGG	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;l aCs;dAs;lNaTs ;dAs;lNaAs;dT s;lNaGs;dAs;l NaAs;dGs;lNaC s;dTs;lNaGs;d Gs;lNaG-Sup
28	オリ ゴ75	FXN-39 8	TTTTTAGGAGG CAACACATT	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;l aAs;dGs;lNaGs ;dAs;lNaGs;dG s;lNaCs;dAs;l NaAs;dCs;lNaA s;dCs;lNaAs;d Ts;lNaT-Sup
29	オリ ゴ76	FXN-39 9	TTTTTATTATT TTGCTTTTT	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;l

10

20

30

40

【表 3 - 6】

							aAs;dTs;lnaTs ;dAs;lnaTs;dTs; lnaTs;dTs;l naGs;dCs;lnaT s;dTs;lnaTs;d Ts;lnaT-Sup
30	オリ ゴ77	FXN-40 0	TTTTTCATTTT CCCTCCTGG	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dTs;ln aCs;dAs;lnaTs ;dTs;lnaTs;dT s;lnaCs;dCs;l naCs;dTs;lnaC s;dCs;lnaTs;d Gs;lnaG-Sup
31	オリ ゴ78	FXN-40 1	TTTTTGAGGC TACCCTTTA	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaAs ;dGs;lnaGs;dC s;lnaTs;dAs;l naCs;dCs;lnaC s;dTs;lnaTs;d Ts;lnaA-Sup
32	オリ ゴ79	FXN-40 2	TTTTTGAGGCT TGTTGCTTT	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dTs;ln aGs;dAs;lnaGs ;dGs;lnaCs;dT s;lnaTs;dGs;l naTs;dTs;lnaG s;dCs;lnaTs;d Ts;lnaT-Sup
33	オリ ゴ80	FXN-40 3	TTTTTCATGTA TGATGTTAT	3' 末端	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dTs;ln aCs;dAs;lnaTs ;dGs;lnaTs;dA s;lnaTs;dGs;l naAs;dTs;lnaG s;dTs;lnaTs;d As;lnaT-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 1】

表 4 : F X Nを標的化する他のオリゴヌクレオチド

配列 番号	オリ ゴ名	代替オリ ゴ名	塩基配列	標 的 化 領域	遺 伝 子 名	生物	書式付き配列
34	オリ ゴ1	FXN-324	CGGCGCCCGAG AGTCCACAT	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dGs; lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dG s;lNaAs;dGs;ln aAs;dGs;lNaTs; dCs;lNaCs;dAs; lNaCs;dAs;lNaT -Sup
35	オリ ゴ2	FXN-325	CCAGGAGGCCG GCTACTGCG	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaCs;dAs; lNaGs;dGs;lNaA s;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dGs;ln aGs;dCs;lNaTs; dAs;lNaCs;dTs; lNaGs;dCs;lNaG -Sup
36	オリ ゴ3	FXN-326	CTGGGCTGGGC TGGGTGACG	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaTs;dGs; lNaGs;dGs;lNaC s;dTs;lNaGs;dG s;lNaGs;dCs;ln aTs;dGs;lNaGs; dGs;lNaTs;dGs; lNaAs;dCs;lNaG -Sup
37	オリ ゴ4	FXN-327	ACCCGGGTGAG GGTCTGGGC	内部	FXN	ヒト	dAs;lNaCs;dCs; lNaCs;dGs;lNaG s;dGs;lNaTs;dG s;lNaAs;dGs;ln aGs;dGs;lNaTs; dCs;lNaTs;dGs; lNaGs;dGs;lNaC -Sup

10

20

30

【表 4 - 2】

配列 番号	オリ ゴ名	代替オリ ゴ名	塩基配列	標的化 領域	遺伝子 名	生物	書式付き配列
38	オリ ゴ5	FXN-328	CCAACTCTGCC GGCCGCGGG	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaCs;dAs; lNaAs;dCs;lNaT s;dCs;lNaTs;dG s;lNaCs;dCs;lN aGs;dGs;lNaCs; dCs;lNaGs;dCs; lNaGs;dGs;lNaG -Sup
39	オリ ゴ6	FXN-329	ACGGCGCCGC AGAGTGGGG	内部	FXN	ヒト	dAs;lNaCs;dGs; lNaGs;dCs;lNaG s;dGs;lNaCs;dC s;lNaGs;dCs;lN aAs;dGs;lNaAs; dGs;lNaTs;dGs; lNaGs;dGs;lNaG -Sup
40	オリ ゴ7	FXN-330	TCGATGTCGGT GCGCAGGCC	内部	FXN	ヒト	dTs;lNaCs;dGs; lNaAs;dTs;lNaG s;dTs;lNaCs;dG s;lNaGs;dTs;lN aGs;dCs;lNaGs; dCs;lNaAs;dGs; lNaGs;dCs;lNaC -Sup
41	オリ ゴ8	FXN-331	GGCGGGGCGTG CAGGTCGCA	内部	FXN	ヒト	dGs;lNaGs;dCs; lNaGs;dGs;lNaG s;dGs;lNaCs;dG s;lNaTs;dGs;lN aCs;dAs;lNaGs; dGs;lNaTs;dCs; lNaGs;dCs;lNaA -Sup
42	オリ ゴ9	FXN-332	ACGTTGGTTCG AACTGCGC	内部	FXN	ヒト	dAs;lNaCs;dGs; lNaTs;dTs;lNaG s;dGs;lNaTs;dT s;lNaCs;dGs;lN aAs;dAs;lNaCs; dTs;lNaTs;dGs; lNaCs;dGs;lNaC -Sup

10

20

30

40



【表 4 - 3】

配列 番号	オリ ゴ名	代替オリ ゴ名	塩基配列	標的化 領域	遺伝子 名	生物	書式付き配列
43	オリ ゴ10	FXN-333	TTCCAAATCTG GTTGAGGCC	内部	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dCs; lNaCs;dAs;lNaA s;dAs;lNaTs;dC s;lNaTs;dGs;l aGs;dTs;lNaTs; dGs;lNaAs;dGs; lNaGs;dCs;lNaC -Sup
44	オリ ゴ11	FXN-334	AGACACTCTGC TTTTTGACA	内部	FXN	ヒト	dAs;lNaGs;dAs; lNaCs;dAs;lNaC s;dTs;lNaCs;dT s;lNaGs;dCs;l aTs;dTs;lNaTs; dT;lNaTs;dGs; lNaAs;dCs;lNaA -Sup
45	オリ ゴ12	FXN-335	TTTCCTCAAAT TCATCAAAT	内部	FXN	ヒト	dTs;lNaTs;dTs; lNaCs;dCs;lNaT s;dCs;lNaAs;dA s;lNaAs;dTs;l aTs;dCs;lNaAs; dT;lNaCs;dAs; lNaAs;dAs;lNaT -Sup
46	オリ ゴ13	FXN-336	GGGTGGCCCAA AGTTCCAGA	内部	FXN	ヒト	dGs;lNaGs;dGs; lNaTs;dGs;lNaG s;dCs;lNaCs;dC s;lNaAs;dAs;l aAs;dGs;lNaTs; dT;lNaCs;dCs; lNaAs;dGs;lNaA -Sup
47	オリ ゴ14	FXN-337	TGGTCTCATCT AGAGAGCCT	内部	FXN	ヒト	dTs;lNaGs;dGs; lNaTs;dCs;lNaT s;dCs;lNaAs;dT s;lNaCs;dTs;l aAs;dGs;lNaAs; dGs;lNaAs;dGs; lNaCs;dCs;lNaT -Sup

10

20

30

40

【表 4 - 4】

配列 番号	オ リ ゴ名	代替 オ リゴ名	塩基配列	標 的 化 領域	遺 伝 子 名	生物	書式付き配列
48	オ リ ゴ15	FXN-338	CTCTGCTAGTC TTTCATAGG	内部	FXN	ヒ ト	dCs;lNaTs;dCs; lNaTs;dGs;lNaC s;dTs;lNaAs;dG s;lNaTs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs; dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dGs;lNaG -Sup
49	オ リ ゴ16	FXN-339	GCTAAAGAGTC CAGCGTTTC	内部	FXN	ヒ ト	dGs;lNaCs;dTs; lNaAs;dAs;lNaA s;dGs;lNaAs;dG s;lNaTs;dCs;lN aCs;dAs;lNaGs; dCs;lNaGs;dTs; lNaTs;dTs;lNaC -Sup
50	オ リ ゴ17	FXN-340	GCAAGGTCTTC AAAAAACTCT	内部	FXN	ヒ ト	dGs;lNaCs;dAs; lNaAs;dGs;lNaG s;dTs;lNaCs;dT s;lNaTs;dCs;lN aAs;dAs;lNaAs; dAs;lNaAs;dAs; lNaCs;dTs;lNaC s;dT-Sup
51	オ リ ゴ18	FXN-341	CTCAAACGTGT ATGGCTTGTCT	内部	FXN	ヒ ト	dCs;lNaTs;dCs; lNaAs;dAs;lNaA s;dCs;lNaGs;dT s;lNaGs;dTs;lN aAs;dTs;lNaGs; dGs;lNaCs;dTs; lNaTs;dGs;lNaT s;dCs;lNaT-Sup
52	オ リ ゴ19	FXN-342	CCCAAAGGAGA CATCATAGTC	内部	FXN	ヒ ト	dCs;lNaCs;dCs; lNaAs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dA s;lNaGs;dAs;lN aCs;dAs;lNaTs; dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dGs;lNaT s;dC-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 5】

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
53	オリゴ20	FXN-343	CAGTTTGACAG TTAAGACACCA CT	内部	FXN	ヒト	dCs;lnaAs;dGs; lnaTs;dTs;lnaT s;dGs;lnaAs;dC s;lnaAs;dGs;ln aTs;dTs;lnaAs; dAs;lnaGs;dAs; lnaCs;dAs;lnaC s;dCs;lnaAs;dC s;lnaT-Sup
54	オリゴ21	FXN-344	ATAGGTTCCCTA GATCTCCACC	内部	FXN	ヒト	dAs;lnaTs;dAs; lnaGs;dGs;lnaT s;dTs;lnaCs;dC s;lnaTs;dAs;ln aGs;dAs;lnaTs; dCs;lnaTs;dCs; lnaCs;dAs;lnaC s;dC-Sup
55	オリゴ22	FXN-345	GGCGTCTGCTT GTTGATCAC	内部	FXN	ヒト	dGs;lnaGs;dCs; lnaGs;dTs;lnaC s;dTs;lnaGs;dC s;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaTs; dGs;lnaAs;dTs; lnaCs;dAs;lnaC -Sup
56	オリゴ23	FXN-346	AAGATAGCCAG ATTGCTTGTT T	内部	FXN	ヒト	dAs;lnaAs;dGs; lnaAs;dTs;lnaA s;dGs;lnaCs;dC s;lnaAs;dGs;ln aAs;dTs;lnaTs; dTs;lnaGs;dCs; lnaTs;dTs;lnaG s;dTs;lnaTs;dT -Sup
57	オリゴ24	FXN-347	GGTCCACTACA TACCTGGATGG AG	内部	FXN	ヒト	dGs;lnaGs;dTs; lnaCs;dCs;lnaA s;dCs;lnaTs;dA s;lnaCs;dAs;ln aTs;dAs;lnaCs; dCs;lnaTs;dGs; lnaGs;dAs;lnaT s;dGs;lnaGs;dA s;lnaG-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 6】

配列 番号	オリ ゴ名	代替オリ ゴ名	塩基配列	標的化 領域	遺伝子 名	生物	書式付き配列
58	オリ ゴ25	FXN-348	CCCAGTCCAGT CATAACGCTT	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaCs;dCs; lNaAs;dGs;lNaT s;dCs;lNaCs;dA s;lNaGs;dTs;lNa aCs;dAs;lNaTs; dAs;lNaAs;dCs; lNaGs;dCs;lNaT s;dT-Sup
59	オリ ゴ26	FXN-349	CGTGGGAGTAC ACCCAGTTTTT	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dTs; lNaGs;dGs;lNaG s;dAs;lNaGs;dT s;lNaAs;dCs;lNa aAs;dCs;lNaCs; dCs;lNaAs;dGs; lNaTs;dTs;lNaT s;dTs;lNaT-Sup
60	オリ ゴ27	FXN-350	CATGGAGGGAC ACGCCGT	内部	FXN	ヒト	dCs;lNaAs;dTs; lNaGs;dGs;lNaA s;dGs;lNaGs;dG s;lNaAs;dCs;lNa aAs;dCs;lNaGs; dCs;lNaCs;dGs; lNaT-Sup
61	オリ ゴ28	FXN-351	GTGAGCTCTGC GGCCAGCAGCT	内部	FXN	ヒト	dGs;lNaTs;dGs; lNaAs;dGs;lNaC s;dTs;lNaCs;dT s;lNaGs;dCs;lNa aGs;dGs;lNaCs; dCs;lNaAs;dGs; lNaCs;dAs;lNaG s;dCs;lNaT-Sup
62	オリ ゴ29	FXN-352	AGTTTGGTTTT TAAGGCTTTA	内部	FXN	ヒト	dAs;lNaGs;dTs; lNaTs;dTs;lNaG s;dGs;lNaTs;dT s;lNaTs;dTs;lNa aTs;dAs;lNaAs; dGs;lNaGs;dCs; lNaTs;dTs;lNaT s;dA-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 7】

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
63	オリゴ30	FXN-353	TAGGCCAAGGA AGACAAGTCC	内部	FXN	ヒト	dTs;lnaAs;dGs; lnaGs;dCs;lnaC s;dAs;lnaAs;dG s;lnaGs;dAs;ln aAs;dGs;lnaAs; dCs;lnaAs;dAs; lnaGs;dTs;lnaC s;dC-Sup
64	オリゴ31	FXN-354	TCAAGCATCTT TTCCGGAA	内部	FXN	ヒト	dTs;lnaCs;dAs; lnaAs;dGs;lnaC s;dAs;lnaTs;dC s;lnaTs;dTs;ln aTs;dTs;lnaCs; dCs;lnaGs;dGs; lnaAs;dA-Sup
65	オリゴ32	FXN-355	TCCTTAAAACG GGGCTGGGCA	内部	FXN	ヒト	dTs;lnaCs;dCs; lnaTs;dTs;lnaA s;dAs;lnaAs;dA s;lnaCs;dGs;ln aGs;dGs;lnaGs; dCs;lnaTs;dGs; lnaGs;dGs;lnaC s;dA-Sup
66	オリゴ33	FXN-356	TTGGCCTGATA GCTTTAATG	内部	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dGs; lnaGs;dCs;lnaC s;dTs;lnaGs;dA s;lnaTs;dAs;ln aGs;dCs;lnaTs; dTs;lnaTs;dTs; lnaAs;dAs;lnaT s;dG-Sup
67	オリゴ34	FXN-357	CCTCAGCTGCA TAATGAAGCTG GGGTC	内部	FXN	ヒト	dCs;lnaCs;dTs; lnaCs;dAs;lnaG s;dCs;lnaTs;dG s;lnaCs;dAs;ln aTs;dAs;lnaAs; dTs;lnaGs;dAs; lnaAs;dGs;lnaC s;dTs;lnaGs;dG s;lnaGs;dGs;ln aTs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 8】

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
68	オリゴ35	FXN-358	AACAACAACAA CAACAAAAAAC AGA	内部	FXN	ヒト	dAs;lnaAs;dCs; lnaAs;dAs;lnaC s;dAs;lnaAs;dC s;lnaAs;dAs;ln aCs;dAs;lnaAs; dCs;lnaAs;dAs; lnaAs;dAs;lnaA s;dAs;lnaCs;dA s;lnaGs;dA-Sup
69	オリゴ36	FXN-359	CCTCAAAAGCA GGAATAAAAAA AATA	内部	FXN	ヒト	dCs;lnaCs;dTs; lnaCs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dG s;lnaCs;dAs;ln aGs;dGs;lnaAs; dAs;lnaTs;dAs; lnaAs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dA s;lnaAs;dTs;ln aA-Sup
70	オリゴ37	FXN-360	GCTGTGACACA TAGCCCAACTG T	内部	FXN	ヒト	dGs;lnaCs;dTs; lnaGs;dTs;lnaG s;dAs;lnaCs;dA s;lnaCs;dAs;ln aTs;dAs;lnaGs; dCs;lnaCs;dCs; lnaAs;dAs;lnaC s;dTs;lnaGs;dT -Sup
71	オリゴ38	FXN-361	GGAGGCAACAC ATTCTTTCTAC AGA	内部	FXN	ヒト	dGs;lnaGs;dAs; lnaGs;dGs;lnaC s;dAs;lnaAs;dC s;lnaAs;dCs;ln aAs;dTs;lnaTs; dCs;lnaTs;dTs; lnaTs;dCs;lnaT s;dAs;lnaCs;dA s;lnaGs;dA-Sup
72	オリゴ39	FXN-362	CTATTAATATT ACTG	イントロン	FXN	ヒト	dCs;lnaTs;dAs; lnaTs;dTs;lnaA s;dAs;lnaTs;dA s;lnaTs;dTs;ln aAs;dCs;lnaTs; dG-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 9】

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
73	オリゴ40	FXN-363	CATTATGTGTA TGTAT	イントロン	FXN	ヒト	dCs;lnaAs;dTs; lnaTs;dAs;lnaTs; dGs;lnaTs;dGs; lnaTs;dAs;lnaTs; dGs;lnaTs; dAs;lnaT-Sup
74	オリゴ41	FXN-364	TTTATCTATGT TATT	イントロン	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dTs; lnaAs;dTs;lnaCs; dTs;lnaAs;dTs; lnaGs;dTs;lnaTs; dAs;lnaTs; dT-Sup
75	オリゴ42	FXN-365	CTAATTTGAAG TTCT	イントロン	FXN	ヒト	dCs;lnaTs;dAs; lnaAs;dTs;lnaTs; dTs;lnaGs;dAs; lnaAs;dGs;lnaTs; dTs;lnaCs; dT-Sup
76	オリゴ43	FXN-366	TTCGAACTTGC GCGG	エキソン全域	FXN	ヒト	dTs;lnaTs;dCs; lnaGs;dAs;lnaAs; dCs;lnaTs;dTs; lnaGs;dCs;lnaGs; dCs;lnaGs; dG-Sup
77	オリゴ44	FXN-367	TAGAGAGCCTG GGT	エキソン全域	FXN	ヒト	dTs;lnaAs;dGs; lnaAs;dGs;lnaAs; dGs;lnaCs;dCs; lnaTs;dGs;lnaGs; dGs;lnaT-Sup
78	オリゴ45	FXN-368	ACACCACTCCC AAAG	エキソン全域	FXN	ヒト	dAs;lnaCs;dAs; lnaCs;dCs;lnaAs; dCs;lnaTs;dCs; lnaCs;dCs;lnaAs; dAs;lnaAs; dG-Sup
79	オリゴ46	FXN-369	AGGTCCACTAC ATAC	エキソン全域	FXN	ヒト	dAs;lnaGs;dGs; lnaTs;dCs;lnaCs; dAs;lnaCs;dTs; lnaAs;dCs;lnaAs; dTs;lnaAs; dC-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 1 0】

配列 番号	オリ ゴ名	代替オ リゴ名	塩基配列	標 的 化 領 域	遺 伝 子 名	生物	書式付き配列
80	オリ ゴ47	FXN-370	CGTTAACCTGG ATGG	エ キ ソ ン 全 域	FXN	ヒ ト	dCs;lnaGs;dTs; lnaTs;dAs;lnaA s;dCs;lnaCs;dT s;lnaGs;dGs;ln aAs;dTs;lnaGs; dG-Sup
81	オリ ゴ81	FXN-404	AAAGCCTTAAA AACC	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	dAs;lnaAs;dAs; lnaGs;dCs;lnaC s;dTs;lnaTs;dA s;lnaAs;dAs;ln aAs;dAs;lnaCs; dC-Sup
82	オリ ゴ82	FXN-405	TCAGGCCAAGA CCCC	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	dTs;lnaCs;dAs; lnaGs;dGs;lnaC s;dCs;lnaAs;dA s;lnaGs;dAs;ln aCs;dCs;lnaCs; dC-Sup
83	オリ ゴ83	FXN-406	CCCAGCTTCAT TATG	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	dCs;lnaCs;dCs; lnaAs;dGs;lnaC s;dTs;lnaTs;dC s;lnaAs;dTs;ln aTs;dAs;lnaTs; dG-Sup
84	オリ ゴ84	FXN-407	AATGTGTTGCC TCCT	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	dAs;lnaAs;dTs; lnaGs;dTs;lnaG s;dTs;lnaTs;dG s;lnaCs;dCs;ln aTs;dCs;lnaCs; dT-Sup
85	オリ ゴ85	FXN-408	AAAAAGCAAAA TAAT	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dAs;lnaG s;dCs;lnaAs;dA s;lnaAs;dAs;ln aTs;dAs;lnaAs; dT-Sup
86	オリ ゴ86	FXN-409	CCAGGAGGGAA AATG	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	dCs;lnaCs;dAs; lnaGs;dGs;lnaA s;dGs;lnaGs;dG s;lnaAs;dAs;ln aAs;dAs;lnaTs; dG-Sup

10

20

30

40



【表 4 - 1 1】

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
87	オリゴ87	FXN-410	TAAAGGGTAGCCTAC	アンチセンス	FXN	ヒト	dTs;lnaAs;dAs;lnaAs;dGs;lnaGs;dGs;lnaTs;dAs;lnaGs;dCs;lnaCs;dTs;lnaAs;dC-Sup
88	オリゴ88	FXN-411	AAAGCAACAAGCCTC	アンチセンス	FXN	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaGs;dCs;lnaAs;dAs;lnaCs;dAs;lnaAs;dGs;lnaCs;dCs;lnaTs;dC-Sup
89	オリゴ89	FXN-412	ATAACATCATACATG	アンチセンス	FXN	ヒト	dAs;lnaTs;dAs;lnaAs;dCs;lnaAs;dTs;lnaCs;dAs;lnaTs;dAs;lnaCs;dAs;lnaTs;dG-Sup
90	オリゴ90	FXN-413	GATACTATCTTCCTC	アンチセンス	FXN	ヒト	dGs;lnaAs;dTs;lnaAs;dCs;lnaTs;dCs;lnaTs;dTs;lnaCs;dCs;lnaTs;dC-Sup
91	オリゴ91	FXN-414	ATGGGGGACGGGGCA	アンチセンス	FXN	ヒト	dAs;lnaTs;dGs;lnaGs;dGs;lnaGs;dCs;lnaGs;dGs;lnaGs;dGs;lnaCs;dA-Sup
92	オリゴ92	FXN-415	GGTTGAGACTGGGTG	アンチセンス	FXN	ヒト	dGs;lnaGs;dTs;lnaTs;dGs;lnaAs;dGs;lnaAs;dCs;lnaTs;dGs;lnaGs;dGs;lnaTs;dG-Sup
93	オリゴ93	FXN-416	AGACTGAAGAGGTGC	アンチセンス	FXN	ヒト	dAs;lnaGs;dAs;lnaCs;dTs;lnaGs;dAs;lnaAs;dGs;lnaAs;dGs;lnaGs;dTs;lnaGs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 4 - 1 2】

配列 番号	オリ ゴ名	代替オリ ゴ名	塩基配列	標 的 化 領 域	遺 伝 子 名	生物	書式付き配列
94	オリ ゴ94	FXN-417	CGGGACGGCTG TGTT	アンチ センス	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dGs; lNaGs;dAs;lNaC s;dGs;lNaGs;dC s;lNaTs;dGs;lN aTs;dGs;lNaTs; dT-Sup
95	オリ ゴ95	FXN-418	TCTGTGTGGGC AGCA	アンチ センス	FXN	ヒト	dTs;lNaCs;dTs; lNaGs;dTs;lNaG s;dTs;lNaGs;dG s;lNaGs;dCs;lN aAs;dGs;lNaCs; dA-Sup
96	オリ ゴ96	FXN-419	AAAGCCTTAAA AACC	アンチ センス	FXN	ヒト	lNaAs;lNaAs;lN aAs;dGs;dCs;dC s;dTs;dTs;dAs; dAs;dAs;dAs;lN aAs;lNaCs;lNaC -Sup
97	オリ ゴ97	FXN-420	TCAGGCCAAGA CCCC	アンチ センス	FXN	ヒト	lNaTs;lNaCs;lN aAs;dGs;dGs;dC s;dCs;dAs;dAs; dGs;dAs;dCs;lN aCs;lNaCs;lNaC -Sup
98	オリ ゴ98	FXN-421	CCCAGCTTCAT TATG	アンチ センス	FXN	ヒト	lNaCs;lNaCs;lN aCs;dAs;dGs;dC s;dTs;dTs;dCs; dAs;dTs;dTs;lN aAs;lNaTs;lNaG -Sup
99	オリ ゴ99	FXN-422	AATGTGTTGCC TCCT	アンチ センス	FXN	ヒト	lNaAs;lNaAs;lN aTs;dGs;dTs;dG s;dTs;dTs;dGs; dCs;dCs;dTs;lN aCs;lNaCs;lNaT -Sup
100	オリ ゴ 100	FXN-423	AAAAAGCAAAA TAAT	アンチ センス	FXN	ヒト	lNaAs;lNaAs;lN aAs;dAs;dAs;dG s;dCs;dAs;dAs; dAs;dAs;dTs;lN aAs;lNaAs;lNaT -Sup

10

20

30

40

【表 4 - 1 3】

配列 番号	オリ ゴ名	代替オ リゴ名	塩基配列	標 的 化 領 域	遺 伝 子 名	生物	書式付き配列
101	オリ ゴ 101	FXN-424	CCAGGAGGGAA AATG	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaCs;lnaCs;ln aAs;dGs;dGs;dA s;dGs;dGs;dGs; dAs;dAs;dAs;ln aAs;lnaTs;lnaG -Sup
102	オリ ゴ 102	FXN-425	TAAAGGGTAGC CTAC	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaTs;lnaAs;ln aAs;dAs;dGs;dG s;dGs;dTs;dAs; dGs;dCs;dCs;ln aTs;lnaAs;lnaC -Sup
103	オリ ゴ 103	FXN-426	AAAGCAACAAG CCTC	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaAs;lnaAs;ln aAs;dGs;dCs;dA s;dAs;dCs;dAs; dAs;dGs;dCs;ln aCs;lnaTs;lnaC -Sup
104	オリ ゴ 104	FXN-427	ATAACATCATA CATG	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaAs;lnaTs;ln aAs;dAs;dCs;dA s;dTs;dCs;dAs; dTs;dAs;dCs;ln aAs;lnaTs;lnaG -Sup
105	オリ ゴ 105	FXN-428	GATACTATCTT CCTC	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaGs;lnaAs;ln aTs;dAs;dCs;dT s;dAs;dTs;dCs; dT;dTs;dCs;ln aCs;lnaTs;lnaC -Sup
106	オリ ゴ 106	FXN-429	ATGGGGGACGG GGCA	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaAs;lnaTs;ln aGs;dGs;dGs;dG s;dGs;dAs;dCs; dGs;dGs;dGs;ln aGs;lnaCs;lnaA -Sup
107	オリ ゴ 107	FXN-430	GGTTGAGACTG GGTG	ア ン チ セ ン ス	FXN	ヒ ト	lnaGs;lnaGs;ln aTs;dTs;dGs;dA s;dGs;dAs;dCs; dT;dGs;dGs;ln aGs;lnaTs;lnaG -Sup

10

20

30

40

【表 4 - 1 4】

配列番号	オリゴ名	代替オリゴ名	塩基配列	標的化領域	遺伝子名	生物	書式付き配列
108	オリゴ108	FXN-431	AGACTGAAGAGGTGC	アンチセンス	FXN	ヒト	lnaAs;lnaGs;lnaAs;dCs;dTs;dGs;dAs;dAs;dGs;dAs;dGs;dGs;lnaTs;lnaGs;lnaC-Sup
109	オリゴ109	FXN-432	CGGGACGGCTGTGTT	アンチセンス	FXN	ヒト	lnaCs;lnaGs;lnaGs;dGs;dAs;dCs;dGs;dGs;dCs;dTs;dGs;dTs;lnaGs;lnaTs;lnaT-Sup
110	オリゴ110	FXN-433	TCTGTGTGGGCAAGCA	アンチセンス	FXN	ヒト	lnaTs;lnaCs;lnaTs;dGs;dTs;dGs;dTs;dGs;dGs;dGs;dCs;dAs;lnaGs;lnaCs;lnaA-Sup
111	オリゴ111	FXN-115	GAAGAAGAAGAAGAA	アンチセンス	FXN	ヒト	lnaGs;lnaAs;lnaAs;dGs;dAs;dAs;dGs;dAs;dAs;dGs;dAs;dAs;lnaGs;lnaAs;lnaA-Sup
112	オリゴ112	FXN-117	TTCTTCTTCTTCTTC	アンチセンス	FXN	ヒト	lnaTs;lnaTs;lnaCs;dTs;dTs;dCs;dTs;dTs;dCs;dTs;dTs;dCs;lnaTs;lnaTs;lnaC-Sup

【表 5 - 1】

表 5：オリゴヌクレオチドの修飾

記号	特徴の説明
bio	5' ビオチン
dAs	3' チオホスフェートを有するDNA
dCs	3' チオホスフェートを有するDNA
dGs	3' チオホスフェートを有するDNA
dTs	3' チオホスフェートを有するDNA
dG	DNA
enaAs	3' チオホスフェートを有するENA

【表 5 - 2】

enaCs	3' チオホスフェートを有するENA
enaGs	3' チオホスフェートを有するENA
enaTs	3' チオホスフェートを有するENA
fluAs	3' チオホスフェートを有する2'-フルオロ
fluCs	3' チオホスフェートを有する2'-フルオロ
fluGs	3' チオホスフェートを有する2'-フルオロ
fluUs	3' チオホスフェートを有する2'-フルオロ
lnaAs	3' チオホスフェートを有するLNA
lnaCs	3' チオホスフェートを有するLNA
lnaGs	3' チオホスフェートを有するLNA
lnaTs	3' チオホスフェートを有するLNA
omeAs	3' チオホスフェートを有する2'-OMe
omeCs	3' チオホスフェートを有する2'-OMe
omeGs	3' チオホスフェートを有する2'-OMe
omeTs	3' チオホスフェートを有する2'-OMe
lnaAs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するLNA
lnaCs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するLNA
lnaGs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するLNA
lnaTs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するLNA
lnaA-Sup	3' 末端に3' OHを有するLNA
lnaC-Sup	3' 末端に3' OHを有するLNA
lnaG-Sup	3' 末端に3' OHを有するLNA
lnaT-Sup	3' 末端に3' OHを有するLNA
omeA-Sup	3' 末端に3' OHを有する2'-OMe
omeC-Sup	3' 末端に3' OHを有する2'-OMe
omeG-Sup	3' 末端に3' OHを有する2'-OMe
omeU-Sup	3' 末端に3' OHを有する2'-OMe
dAs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するDNA
dCs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するDNA
dGs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するDNA
dTs-Sup	3' 末端に3' チオホスフェートを有するDNA
dA-Sup	3' 末端に3' OHを有するDNA
dC-Sup	3' 末端に3' OHを有するDNA
dG-Sup	3' 末端に3' OHを有するDNA
dT-Sup	3' 末端に3' OHを有するDNA

10

20

30

40

## オリゴヌクレオチドによる細胞のインビトロトランスフェクション

## 【0254】

細胞を24ウェルプレートの各ウェルに25,000細胞/500 $\mu$ Lの密度で播種し、Lipofectamineおよび一本鎖オリゴヌクレオチドを用いてトランスフェクションを行った。コントロールウェルには、Lipofectamineだけを含めた。トランスフェクション後の時点において、およそ200 $\mu$ Lの細胞培養上清をELISA用またはウエスタンブロット解析用に-80℃で保管し、別の細胞アリコートからRNAを回収し、上で概要を述べたように定量的PCRを行った。各オリゴヌクレオチドによる

50

標的 mRNA 発現のパーセント誘導を、オリゴヌクレオチドの存在下の mRNA レベルをコントロールの存在下 (Lipofectamine のみ) の mRNA レベルに対して正規化することによって、測定した。

#### 【0255】

コントロールとして、上記オリゴを細胞傷害作用について試験した。オリゴでトランスフェクトされた細胞は、100 または 400 nM オリゴ濃度において細胞傷害性を示さなかったと判定された (図 15)。

結果：

FXN mRNA の 5' および 3' 末端を標的化する一本鎖オリゴヌクレオチドのインビトロ送達、FXN 発現をアップレギュレートした

10

#### 【0256】

FXN は、アップレギュレートしづらいハウスキーピング遺伝子であるので、FXN を、RNA の安定化のための例示的な標的として選択した。上に記載された方法を使用して、FXN mRNA の推定 5' および 3' 末端に対してオリゴヌクレオチドをデザインした。それらの 3' および 5' オリゴを、まずは別々に試験し、次いで組み合わせて試験した。

#### 【0257】

最初に、3' および 5' オリゴを、フリードライヒ運動失調症を有する患者由来の細胞株 (細胞株 GM03816) においてスクリーニングした。図 7 および 8 は、FXN 3' 末端標的化オリゴヌクレオチドによるその細胞株のトランスフェクトの結果を示しており、いくつかの 3' オリゴが、FXN mRNA をアップレギュレートできたことを証明している。オリゴ 73、75、76 および 77 は、FXN mRNA を可能な最大限までアップレギュレートすると示された。これらの 4 つのオリゴの配列を調べたところ、オリゴ 73、75、76 および 77 は、ポリ T 配列を含むと判定された (図 9)。これらのオリゴは、ポリ A テイルの前の最も 3' 末端に結合し、ゆえに 3' 末端を分解から保護すると仮定された。これらの結果は、3' 末端を標的化するようにデザインされたオリゴが、FXN の発現をアップレギュレートし得ることを証明する。これらの結果は、ポリ A テイルに直接隣接するかまたは重複する最も 3' 末端を標的化するオリゴが、mRNA レベルをアップレギュレートし得ることも示唆する。

20

#### 【0258】

図 10 は、FXN 5' 末端標的化オリゴヌクレオチドによる GM03816 細胞株のトランスフェクトの結果を示しており、いくつかの 5' オリゴが、FXN mRNA 発現をアップレギュレートできることを証明している。図 11 および 12 は、GM03816 細胞株において FXN 3' オリゴ 75 と組み合わせたときの FXN 5' 末端オリゴのスクリーニングの結果を示している。オリゴ 51 と 75、52 と 75、57 と 75 および 62 と 75 との組み合わせは、FXN mRNA 発現の最も高いアップレギュレーションを示した。それらの 5' オリゴの配列を調べたところ、オリゴ 51、52、57 および 62 のすべてが、FXN mRNA アイソフォームに対する推定 (putative) 5' 開始部位にマッピングされるモチーフ CGCCCTCCAG を含むと判定された (図 13)。それらのオリゴは、FXN mRNA の最も 5' 末端に結合し、ゆえに 5' 末端を分解から保護すると仮定された。オリゴ 62 は、そのモチーフを超えて非常に長いオーバーハング配列を含んだことから、5' メチルグアノシンキャップと相互作用することによって 5' 末端をさらに保護するループ構造を形成すると仮定された (図 14)。これらの結果は、mRNA の最も 5' 末端 (5' メチルグアノシンキャップに隣接し得る) の標的化が、mRNA のアップレギュレートにとって有効であることを示唆する。

30

40

#### 【0259】

次に、先の 5' および 3' 実験からのポジティブオリゴヒットの組み合わせのスクリーニングを、GM03816 FRDA 患者細胞株において行った。試験されたオリゴの組み合わせのうちのいくつかに対する FXN mRNA レベルが、GM0321B 正常線維芽細胞における FXN mRNA のレベルとほぼ等しいと判定されたことから、これらの

50

オリゴの組み合わせが、FXN mRNAをアップレギュレートできたと示唆される(図16)。次いで、トランスフェクションの2および3日後のFXN mRNAのレベルを計測したところ、定常状態FXN mRNAレベルの上昇がトランスフェクションの2および3日後に観察されたことが確かめられた(図17)。次いで、ポジティブヒットを検証したところ、第2の細胞株GM04078 FRDA患者線維芽細胞において有効であると示された(図18)。最後に、それらのヒットの検証を「正常」細胞株であるGM0321B線維芽細胞において行った。それらのオリゴが、正常細胞株においてさえFXN mRNAをアップレギュレートできることが見出された(図19)。まとめると、これらの結果から、5'標的化オリゴと3'標的化オリゴとの組み合わせがFXN発現をアップレギュレートできること、およびこれらの組み合わせが、場合によっては、5'または3'オリゴ単独の使用よりも有効であり得ることが示唆される。

10

#### 【0260】

5'オリゴと3'オリゴとの例示的な組み合わせであるオリゴ62およびオリゴ77を、さらなる最適化のために選択した。すべての濃度が、GM03816 FRDA患者細胞株においてFXNをアップレギュレートすると示され、トランスフェクションの2~3日後に定常状態のFXN mRNAレベルの上昇を示した(図20)。これらの結果から、それらのオリゴが、10nMから400nMまでの広範囲の濃度にわたって有効であることが示唆される。

#### 【0261】

次に、FXNのタンパク質レベルに対する個々のオリゴおよびオリゴの組み合わせの影響を調べた。GM03816 FRDA患者線維芽細胞を、100nMの単一のオリゴまたは最終200nMの2つのオリゴで処理し、FXNタンパク質のレベルを計測した。いくつかの単一のオリゴおよびオリゴの組み合わせが、FXNタンパク質発現をある程度アップレギュレートすると示された。オリゴ52と75、オリゴ64と52、オリゴ51と76、オリゴ52と76、オリゴ62と77およびオリゴ62と76との組み合わせによる処理は、トランスフェクションの3日後にFXNタンパク質の有意なアップレギュレーションを引き起こした(図21および22)。これらの結果から、5'標的化オリゴおよび3'標的化オリゴが、FXNタンパク質レベルをアップレギュレートできることが示唆される。

20

#### 【0262】

次に、種々のオリゴの存在下におけるFXN mRNAの安定性を計測した。それらのオリゴが、FXN mRNAの転写を増加させるのではなく、FXN mRNAの安定性を高めると仮定した。このことを試験するために、転写阻害剤アクチノマイシンD(ActD)の存在下においてオリゴで細胞をトランスフェクトした。オリゴ62と75、52と75および57と75の組み合わせは、ActDの存在下においてより高いレベルのFXN mRNAを有したことから、FXN mRNAが、無処理の細胞よりも、それらのオリゴの組み合わせで処理された細胞においてより安定だったことが示唆される(図23および24)。

30

#### 【0263】

最後に、いくつかのオリゴの組み合わせを、さらなる細胞株において試験した。細胞株の1セットを、フリードライヒ運動失調症を有する患者(細胞株GM15850)および罹患していないそれらの同胞(細胞株GM15851)から得た。他の細胞株は、フリードライヒ運動失調症を有する患者(細胞株GM16209)および罹患していないそれらの半同胞(細胞株GM16222)から得た。オリゴ52と76との組み合わせ、オリゴ57と76との組み合わせおよびオリゴ62と76との組み合わせによる処理が、FXN mRNAレベルを有意にアップレギュレートしたことが見出された(図25)。GM15850細胞株では、オリゴ52および76またはオリゴ57および76で処理された細胞におけるFXN mRNAのレベルが、罹患していない同胞由来の細胞におけるFXN mRNAのレベルとほぼ等しかった。これらの結果から、FXN mRNAをアップレギュレートする際の5'および3'末端標的化オリゴヌクレオチドの有効性がさらに示唆

40

50

される。

#### 【 0 2 6 4 】

全体的に見て、これらの結果は、5'および3'末端標的化オリゴが、mRNAおよびタンパク質の発現のアップレギュレートにとって有効であること、ならびにこの発現のアップレギュレーションが、おそらくそのmRNAの安定化によるものであることを示している。

#### 【 0 2 6 5 】

さらなる実験として、5'および3'末端標的化オリゴを、FXN遺伝子内の配列に特異的な他のオリゴ(表6)とさらに組み合わせた。5'および3'オリゴのアップレギュレーションは、これらの他のオリゴのサブセットが追加されるとさらに増強されたことから、RNAまたは遺伝子座の複数の領域を標的化するオリゴ、例えば、5'標的化オリゴ、3'標的化オリゴおよび内部標的化オリゴを提供することが、mRNA発現レベルをアップレギュレートするためのさらなる方法になり得ることが示唆される(図26)。

#### 【表6】

表6：FXNを標的化するその他のもの

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	生物	書式付き配列
113	324	CGGCGCCCGAGA GTCCACAT	FXN	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaTs;dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dAs;lNaT-Sup
114	329	ACGGCGGCCGCA GAGTGGGG	FXN	ヒト	dAs;lNaCs;dGs;lNaGs;dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaG-Sup
115	359	CCTCAAAAGCAG GAATAAAAAAA TA	FXN	ヒト	dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dAs;lNaGs;dGs;lNaAs;dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dTs;lNaA-Sup
116	414	ATGGGGGACGGG GCA	FXN	ヒト	dAs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dCs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaCs;dA-Sup
117	415	GGTTGAGACTGG GTG	FXN	ヒト	dGs;lNaGs;dTs;lNaTs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaTs;dG-Sup
118	429	ATGGGGGACGGG GCA	FXN	ヒト	dAs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dCs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaCs;dA-Sup

#### 実施例3．FXNに関するさらなるオリゴヌクレオチド実験

#### 【 0 2 6 6 】

実施例3において行われる実験は、使用したオリゴヌクレオチド濃度が10および40nMだったことを除いては、実施例2と同じ方法を使用した。10または40nMのオリゴによるトランスフェクションは、トランスフェクションの2日後および3日後において、細胞にとって細胞傷害性でないと見出された(図38)。

#### 【 0 2 6 7 】



3'および5'末端標的化オリゴを、10および40 nMの濃度においてスクリーニングし、FXN mRNAを、トランスフェクションの2および3日後に計測した。オリゴのサブセットは、10または40 nMの用量においてFXN mRNAをアップレギュレートできると見出された(図27~29)。

【0268】

5'末端オリゴと3'末端オリゴとの組み合わせのスクリーニングもまた、10および40 nMの濃度において行い、FXN mRNAをトランスフェクションの2および3日後に計測した。オリゴの組み合わせのサブセットは、10または40 nMの用量においてFXN mRNAをアップレギュレートできると見出された(図30~33)。

【0269】

FXNを、例えば、内部において、ポリAテイルの近くで、またはエキソンにわたって、標的化する他のオリゴもまた、10または40 nMの用量においてFXN mRNAをアップレギュレートできると見出された(図34)。

【0270】

FXN mRNAレベルが、10および40 nMの濃度の単一のオリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドの組み合わせを使用したとき上昇し得ることをさらに証明するために、さらなる実験を行った(図35~37)。

【0271】

次に、5'および3'末端標的化オリゴを、10および40 nMの濃度においてFXNタンパク質レベルをアップレギュレートする能力について個々に試験した。オリゴのサブセットが、10および40 nMの濃度においてトランスフェクションの2および3日後にFXNタンパク質レベルをアップレギュレートできたと判定された(図39および40)。これらの結果から、5'標的化オリゴおよび3'標的化オリゴならびにそれらの組み合わせが、10 nMもの低い濃度でさえ、FXN mRNAおよびタンパク質をアップレギュレートできることが示唆される。

実施例4．mRNAの安定性を高めるためのさらなるオリゴヌクレオチド

【0272】

RNAの5'末端を標的化するか、RNAの3'末端を標的化するか、またはRNAの5'末端と3'末端の両方を標的化する(「架橋オリゴ」)いくつかのさらなるオリゴヌクレオチドをデザインした。これらのオリゴを表7に示す。

【0273】

KLF4に特異的なオリゴヌクレオチドを、各オリゴで細胞を処理することによって試験した。いくつかのKLF4オリゴは、処理された細胞において、KLF4 mRNAのレベルをアップレギュレートできた(図41)。KLF4オリゴのサブセットは、処理された細胞において、KLF4タンパク質のレベルもアップレギュレートできた(図42)。これらの結果は、5'および3'標的化オリゴが、KLF4に対するmRNAおよびタンパク質のレベルをアップレギュレートできたことを示しており、5'および3'標的化オリゴが、RNA(およびまた対応するタンパク質)の発現をアップレギュレートするために広く有用であることが証明される。

【0274】

さらに、KLF4 mRNAの発現レベルを、KLF4 5'および3'末端標的化オリゴ(KLF4の5'末端と3'末端の両方を標的化する環状化したオリゴヌクレオチド、ならびにKLF4の5'および3'末端を標的化する個々のオリゴヌクレオチドを含む)で処理された細胞において評価した。結果を図43に示す。

【0275】

KLF4 5'および3'末端オリゴを、RNAi maxを使用して30 nMの濃度においてHep3B細胞にトランスフェクトした。Life Technologiesから購入したKLF4プライマーおよびアクチン(ハウスキーパーコントロール)プライマーを使用して、Cells-to-CTキット(Life Technologies)を用いてRNA解析を行った。KLF4タンパク質に対するウエスタン、KLF4ウサ

10

20

30

40

50

ギ (Cell Signaling 4038S) を用いて行った。

表 7 : RNA の 5' および 3' 末端を標的化するようにデザインされたオリゴヌクレオチド

【表 7 - 1】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
119	FXN-437 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTGGTTTT TAAGGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dAs;lnaCs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaA s;dGs;lnaGs;dGs;lna As;dGs;lnaAs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;ln aTs;dGs;lnaGs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dTs ;lnaAs;dAs;lnaGs;dG s;lnaCs;dTs;lnaTs;d T-Sup
120	FXN-438 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTGGTTTT TAAGGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaAs;dCs;lnaT s;dGs;lnaGs;dCs;lna Cs;dGs;lnaCs;dAs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;ln aTs;dGs;lnaGs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dTs ;lnaAs;dAs;lnaGs;dG s;lnaCs;dTs;lnaTs;d T-Sup
121	FXN-439 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTGGTTTT TAAGGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Gs;dGs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;ln aTs;dGs;lnaGs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dTs ;lnaAs;dAs;lnaGs;dG s;lnaCs;dTs;lnaTs;d T-Sup
122	FXN-440 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTGGTTTT TAAGGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dAs;lnaGs;dCs;lna Gs;dCs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;ln aTs;dGs;lnaGs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dTs ;lnaAs;dAs;lnaGs;dG s;lnaCs;dTs;lnaTs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2】

123	FXN-441 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTGGTTTT TAAGGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lNa aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dGs;lNaGs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dG s;lNaCs;dTs;lNaTs;d T-Sup
124	FXN-442 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTGGGGTC TTGGCCTGA	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lNa aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dGs;lNaGs;dGs; lNaGs;dTs;lNaCs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d A-Sup
125	FXN-443 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTGGGGTC TTGGCCTGA	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lNa aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dGs;lNaGs;dGs; lNaGs;dTs;lNaCs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d A-Sup
126	FXN-444 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTGGGGTC TTGGCCTGA	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dGs;lNaAs;dCs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dGs;lNa aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dGs;lNaGs;dGs; lNaGs;dTs;lNaCs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d A-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3】

127	FXN-445 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTGGGGTC TTGGCCTGA	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaGs;dGs; lNaGs;dTs;lNaCs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d A-Sup
128	FXN-446 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTGGGGTC TTGGCCTGA	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaGs;dGs; lNaGs;dTs;lNaCs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaGs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d A-Sup
129	FXN-447 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTCATAAT GAAGCTGGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dAs;lNaTs;dGs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dC s;lNaTs;dGs;lNaGs;d G-Sup
130	FXN-448 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTCATAAT GAAGCTGGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dAs;lNaTs;dGs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dC s;lNaTs;dGs;lNaGs;d G-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 4】

131	FXN-449 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTCATAAT GAAGCTGGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dGs;lNaAs;dCs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dAs;lNaTs;dGs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dC s;lNaTs;dGs;lNaGs;d G-Sup
132	FXN-450 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTCATAAT GAAGCTGGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dAs;lNaTs;dGs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dC s;lNaTs;dGs;lNaGs;d G-Sup
133	FXN-451 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTCATAAT GAAGCTGGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaAs;dAs;lNaTs;dGs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dC s;lNaTs;dGs;lNaGs;d G-Sup
134	FXN-452 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTtaggagg CAACACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dAs;lNaGs;dGs; lNaAs;dGs;lNaGs;dCs ;lNaAs;dAs;lNaCs;dA s;lNaCs;dAs;lNaTs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 5】

135	FXN-453 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTAGGAGG CAACACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaAs;dCs;lnaT s;dGs;lnaGs;dCs;lna Cs;dGs;lnaCs;dAs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaGs;dGs; lnaAs;dGs;lnaGs;dCs ;lnaAs;dAs;lnaCs;dA s;lnaCs;dAs;lnaTs;d T-Sup
136	FXN-454 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTAGGAGG CAACACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Gs;dGs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaGs;dGs; lnaAs;dGs;lnaGs;dCs ;lnaAs;dAs;lnaCs;dA s;lnaCs;dAs;lnaTs;d T-Sup
137	FXN-455 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTAGGAGG CAACACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dAs;lnaGs;dCs;lna Gs;dCs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaGs;dGs; lnaAs;dGs;lnaGs;dCs ;lnaAs;dAs;lnaCs;dA s;lnaCs;dAs;lnaTs;d T-Sup
138	FXN-456 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTAGGAGG CAACACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dGs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Cs;dCs;lnaAs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaGs;dGs; lnaAs;dGs;lnaGs;dCs ;lnaAs;dAs;lnaCs;dA s;lnaCs;dAs;lnaTs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 6】

139	FXN-457 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTATTATT TTGCTTTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaAs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaCs;dT s;lNaTs;dTs;lNaTs;d T-Sup
140	FXN-458 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTATTATT TTGCTTTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaAs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaCs;dT s;lNaTs;dTs;lNaTs;d T-Sup
141	FXN-459 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTATTATT TTGCTTTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dGs;lNaAs;dCs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaAs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaCs;dT s;lNaTs;dTs;lNaTs;d T-Sup
142	FXN-460 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTATTATT TTGCTTTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaAs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaCs;dT s;lNaTs;dTs;lNaTs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 7】

143	FXN-461 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTATTATT TTGCTTTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaAs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dGs;lNaCs;dT s;lNaTs;dTs;lNaTs;d T-Sup
144	FXN-462 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTCATTTT CCCTCCTGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dCs ;lNaCs;dCs;lNaTs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d G-Sup
145	FXN-463 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTCATTTT CCCTCCTGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dCs ;lNaCs;dCs;lNaTs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d G-Sup
146	FXN-464 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTCATTTT CCCTCCTGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dGs;lNaAs;dCs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dCs ;lNaCs;dCs;lNaTs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d G-Sup

10

20

30

40



【表 7 - 8】

147	FXN-465 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTCATTTT CCCTCCTGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dCs ;lNaCs;dCs;lNaTs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d G-Sup
148	FXN-466 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTCATTTT CCCTCCTGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dCs ;lNaCs;dCs;lNaTs;dC s;lNaCs;dTs;lNaGs;d G-Sup
149	FXN-467 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTGTAGGC TACCCTTTA	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dGs;lNaTs;dAs; lNaGs;dGs;lNaCs;dTs ;lNaAs;dCs;lNaCs;dC s;lNaTs;dTs;lNaTs;d A-Sup
150	FXN-468 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTGTAGGC TACCCTTTA	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dGs;lNaTs;dAs; lNaGs;dGs;lNaCs;dTs ;lNaAs;dCs;lNaCs;dC s;lNaTs;dTs;lNaTs;d A-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 9】

151	FXN-469 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTGTAGGC TACCCTTTA	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Gs;dGs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dGs;lnaTs;dAs; lnaGs;dGs;lnaCs;dTs ;lnaAs;dCs;lnaCs;dC s;lnaTs;dTs;lnaTs;d A-Sup
152	FXN-470 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTGTAGGC TACCCTTTA	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dAs;lnaGs;dCs;lna Gs;dCs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dGs;lnaTs;dAs; lnaGs;dGs;lnaCs;dTs ;lnaAs;dCs;lnaCs;dC s;lnaTs;dTs;lnaTs;d A-Sup
153	FXN-471 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTGTAGGC TACCCTTTA	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dGs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Cs;dCs;lnaAs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dGs;lnaTs;dAs; lnaGs;dGs;lnaCs;dTs ;lnaAs;dCs;lnaCs;dC s;lnaTs;dTs;lnaTs;d A-Sup
154	FXN-472 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTGAGGCT TGTTGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dAs;lnaCs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaA s;dGs;lnaGs;dGs;lna As;dGs;lnaAs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dGs;lnaAs;dGs; lnaGs;dCs;lnaTs;dTs ;lnaGs;dTs;lnaTs;dG s;lnaCs;dTs;lnaTs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 1 0】

155	FXN-473 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTGAGGCT TGTTGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaAs;dGs; lNaGs;dCs;lNaTs;dTs ;lNaGs;dTs;lNaTs;dG s;lNaCs;dTs;lNaTs;d T-Sup
156	FXN-474 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTGAGGCT TGTTGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dGs;lNaAs;dCs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaAs;dGs; lNaGs;dCs;lNaTs;dTs ;lNaGs;dTs;lNaTs;dG s;lNaCs;dTs;lNaTs;d T-Sup
157	FXN-475 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTGAGGCT TGTTGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaAs;dGs; lNaGs;dCs;lNaTs;dTs ;lNaGs;dTs;lNaTs;dG s;lNaCs;dTs;lNaTs;d T-Sup
158	FXN-476 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTGAGGCT TGTTGCTTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaAs;dGs; lNaGs;dCs;lNaTs;dTs ;lNaGs;dTs;lNaTs;dG s;lNaCs;dTs;lNaTs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 1 1】

159	FXN-477 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTCATGTA TGATGTTAT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dAs;lnaCs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaA s;dGs;lnaGs;dGs;lna As;dGs;lnaAs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dCs;lnaAs;dTs; lnaGs;dTs;lnaAs;dTs ;lnaGs;dAs;lnaTs;dG s;lnaTs;dTs;lnaAs;d T-Sup
160	FXN-478 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTCATGTA TGATGTTAT	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaAs;dCs;lnaT s;dGs;lnaGs;dCs;lna Cs;dGs;lnaCs;dAs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dCs;lnaAs;dTs; lnaGs;dTs;lnaAs;dTs ;lnaGs;dAs;lnaTs;dG s;lnaTs;dTs;lnaAs;d T-Sup
161	FXN-479 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTCATGTA TGATGTTAT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Gs;dGs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dCs;lnaAs;dTs; lnaGs;dTs;lnaAs;dTs ;lnaGs;dAs;lnaTs;dG s;lnaTs;dTs;lnaAs;d T-Sup
162	FXN-480 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTCATGTA TGATGTTAT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dAs;lnaGs;dCs;lna Gs;dCs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dCs;lnaAs;dTs; lnaGs;dTs;lnaAs;dTs ;lnaGs;dAs;lnaTs;dG s;lnaTs;dTs;lnaAs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 1 2】

163	FXN-481 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTCATGTA TGATGTTAT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaGs;dTs;lNaAs;dTs ;lNaGs;dAs;lNaTs;dG s;lNaTs;dTs;lNaAs;d T-Sup
164	FXN-482 m02	CGCCCTCCAGTTT TTGGTTTTTAAG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dTs;l NaTs;dTs;lNaTs;dAs; lNaAs;dG-Sup
165	FXN-483 m02	CGCCCTCCAGTTT TTGGGGTCTTGG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dGs;l NaTs;dCs;lNaTs;dTs; lNaGs;dG-Sup
166	FXN-484 m02	CGCCCTCCAGTTT TTCATAATGAAG	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaTs;dAs;l NaAs;dTs;lNaGs;dAs; lNaAs;dG-Sup
167	FXN-485 m02	CGCCCTCCAGTTT TTAGGAGGCAAC	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dGs;lNaGs;dAs;l NaGs;dGs;lNaCs;dAs; lNaAs;dC-Sup
168	FXN-486 m02	CGCCCTCCAGTTT TTATTATTTTGC	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dTs;lNaTs;dAs;l NaTs;dTs;lNaTs;dTs; lNaGs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 1 3】

169	FXN-487 m02	CGCCCTCCAGTTT TTCATTTTCCCT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaTs;dTs;l NaTs;dTs;lNaCs;dCs; lNaCs;dT-Sup
170	FXN-488 m02	CGCCCTCCAGTTT TTGTAGGCTACC	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Gs;dTs;lNaAs;dGs;l NaGs;dCs;lNaTs;dAs; lNaCs;dC-Sup
171	FXN-489 m02	CGCCCTCCAGTTT TTGAGGCTTGTT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Gs;dAs;lNaGs;dGs;l NaCs;dTs;lNaTs;dGs; lNaTs;dT-Sup
172	FXN-490 m02	CGCCCTCCAGTTT TTCATGTATGAT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaTs;dGs;l NaTs;dAs;lNaTs;dGs; lNaAs;dT-Sup
173	FXN-491 m02	TGACCCAAGGGAG ACTTTTTTTTTT T	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaA s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaAs;dCs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dTs;lNaTs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dT- Sup
174	FXN-492 m02	TGGCCACTGGCCG CATTTTTTTTTT T	FXN	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dAs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dTs;lNaTs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dT- Sup

10

20

30

40

【表 7 - 1 4】

175	FXN-493 m02	CGGCGACCCCTGG TGTTTTTTTTTTT T	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Gs;dGs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dTs;lnaTs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dT- Sup
176	FXN-494 m02	CGCCCTCCAGCGC TGTTTTTTTTTTT T	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dAs;lnaGs;dCs;lna Gs;dCs;lnaTs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dTs;lnaTs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dT- Sup
177	FXN-495 m02	CGCTCCGCCCTCC AGTTTTTTTTTTT T	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dGs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Cs;dCs;lnaAs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dTs;lnaTs;dTs; lnaTs;dTs;lnaTs;dT- Sup
178	FXN-496 m02	AAAATAAACAACA AC	FXN	UTR	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaAs ;dTs;lnaAs;dAs;lnaA s;dCs;lnaAs;dAs;lna Cs;dAs;lnaAs;dC-Sup
179	FXN-497 m02	AGGAATAAAAAAA ATA	FXN	UTR	ヒト	dAs;lnaGs;dGs;lnaAs ;dAs;lnaTs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dAs;lna As;dAs;lnaAs;dTs;ln aA-Sup
180	FXN-498 m02	TCAAAAGCAGGAA TA	FXN	UTR	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaAs ;dAs;lnaAs;dGs;lnaC s;dAs;lnaGs;dGs;lna As;dAs;lnaTs;dA-Sup
181	FXN-499 m02	ACTGTCCTCAAAA GC	FXN	UTR	ヒト	dAs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dTs;lnaCs;dCs;lnaT s;dCs;lnaAs;dAs;lna As;dAs;lnaGs;dC-Sup
182	FXN-500 m02	AGCCCAACTGTCC TC	FXN	UTR	ヒト	dAs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaAs;dAs;lnaC s;dTs;lnaGs;dTs;lna Cs;dCs;lnaTs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 15】

183	FXN-501 m02	TGACACATAGCCC AA	FXN	UTR	ヒ ト	dTs;lNaGs;dAs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dAs;lNaT s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dCs;lNaAs;dA-Sup
184	FXN-502 m02	GAGCTGTGACACA TA	FXN	UTR	ヒ ト	dGs;lNaAs;dGs;lNaCs ;dTts;lNaGs;dTs;lNaG s;dAs;lNaCs;dAs;lNa Cs;dAs;lNaTs;dA-Sup
185	FXN-503 m02	TCTGGGCCTGGGC TG	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dTs;lNaCs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaGs;dCs;lNaC s;dTs;lNaGs;dGs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dG-Sup
186	FXN-504 m02	GGTGAGGGTCTGG GC	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dGs;lNaGs;dTs;lNaGs ;dAs;lNaGs;dGs;lNaG s;dTs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dC-Sup
187	FXN-505 m02	GGGACCCGGGTGA GG	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dGs;lNaGs;dGs;lNaAs ;dCs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dTs;lNa Gs;dAs;lNaGs;dG-Sup
188	FXN-506 m02	CCGGCCGCGGGAC CC	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dCs;lNaCs;dGs;lNaGs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaC s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dCs;lNaCs;dC-Sup
189	FXN-507 m02	CAACTCTGCCGGC CG	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dCs;lNaAs;dAs;lNaCs ;dTts;lNaCs;dTs;lNaG s;dCs;lNaCs;dGs;lNa Gs;dCs;lNaCs;dG-Sup
190	FXN-508 m02	AGTGGGGCCAACT CT	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dAs;lNaGs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaGs;dGs;lNaC s;dCs;lNaAs;dAs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dT-Sup
191	FXN-509 m02	GGCCGCAGAGTGG GG	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dGs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dAs;lNaG s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dG-Sup
192	FXN-510 m02	GCCACGGCGGCCG CA	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dGs;lNaCs;dCs;lNaAs ;dCs;lNaGs;dGs;lNaC s;dGs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dA-Sup
193	FXN-511 m02	GTGCGCAGGCCAC GG	FXN	UTR/内部	ヒ ト	dGs;lNaTs;dGs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dAs;lNaG s;dGs;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaGs;dG-Sup

10

20

30

40



【表 7 - 1 6】

194	FXN-512 m02	GGGGGACGGGGCA GG	FXN	イントロ ン	ヒト	dGs;lnaGs;dGs;lnaGs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaG s;dGs;lnaGs;dGs;lna Cs;dAs;lnaGs;dG-Sup
195	FXN-513 m02	GGGACGGGGCAGG TT	FXN	イントロ ン	ヒト	dGs;lnaGs;dGs;lnaAs ;dCs;lnaGs;dGs;lnaG s;dGs;lnaCs;dAs;lna Gs;dGs;lnaTs;dT-Sup
196	FXN-514 m02	GACGGGGCAGGTT GA	FXN	イントロ ン	ヒト	dGs;lnaAs;dCs;lnaGs ;dGs;lnaGs;dGs;lnaC s;dAs;lnaGs;dGs;lna Ts;dTs;lnaGs;dA-Sup
197	FXN-515 m02	CGGGGCAGGTTGA GA	FXN	イントロ ン	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaGs ;dGs;lnaCs;dAs;lnaG s;dGs;lnaTs;dTs;lna Gs;dAs;lnaGs;dA-Sup
198	FXN-516 m02	GGGCAGGTTGAGA CT	FXN	イントロ ン	ヒト	dGs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dAs;lnaGs;dGs;lnaT s;dTs;lnaGs;dAs;lna Gs;dAs;lnaCs;dT-Sup
199	FXN-517 m02	GCAGGTTGAGACT GG	FXN	イントロ ン	ヒト	dGs;lnaCs;dAs;lnaGs ;dGs;lnaTs;dTs;lnaG s;dAs;lnaGs;dAs;lna Cs;dTs;lnaGs;dG-Sup
200	FXN-518 m02	AGGTTGAGACTGG GT	FXN	イントロ ン	ヒト	dAs;lnaGs;dGs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dAs;lnaG s;dAs;lnaCs;dTs;lna Gs;dGs;lnaGs;dT-Sup
201	FXN-519 m02	GGAAAAATTCCAG GA	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	dGs;lnaGs;dAs;lnaAs ;dAs;lnaAs;dAs;lnaT s;dTs;lnaCs;dCs;lna As;dGs;lnaGs;dA-Sup
202	FXN-520 m02	AATCCAGGAGGG AA	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	dAs;lnaAs;dTs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaG s;dGs;lnaAs;dGs;lna Gs;dGs;lnaAs;dA-Sup
203	FXN-521 m02	GAGGGAAAATGAA TT	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	dGs;lnaAs;dGs;lnaGs ;dGs;lnaAs;dAs;lnaA s;dAs;lnaTs;dGs;lna As;dAs;lnaTs;dT-Sup
204	FXN-522 m02	GAAAATGAATTGT CTTC	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	dGs;lnaAs;dAs;lnaAs ;dAs;lnaTs;dGs;lnaA s;dAs;lnaTs;dTs;lna Gs;dTs;lnaCs;dTs;ln aTs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 17】

205	FXN-512 m08	GGGGGACGGGGCA GG	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaGs;lnaGs;lnaGs;d Gs;dGs;dAs;dCs;dGs; dGs;dGs;dGs;dCs;lna As;lnaGs;lnaG-Sup
206	FXN-513 m08	GGGACGGGGCAGG TT	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaGs;lnaGs;lnaGs;d As;dCs;dGs;dGs;dGs; dGs;dCs;dAs;dGs;lna Gs;lnaTs;lnaT-Sup
207	FXN-514 m08	GACGGGGCAGGTT GA	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaGs;lnaAs;lnaCs;d Gs;dGs;dGs;dGs;dCs; dAs;dGs;dGs;dTs;lna Ts;lnaGs;lnaA-Sup
208	FXN-515 m08	CGGGGCAGGTTGA GA	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaCs;lnaGs;lnaGs;d Gs;dGs;dCs;dAs;dGs; dGs;dTs;dTs;dGs;lna As;lnaGs;lnaA-Sup
209	FXN-516 m08	GGGCAGGTTGAGA CT	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaGs;lnaGs;lnaGs;d Cs;dAs;dGs;dGs;dTs; dTts;dGs;dAs;dGs;lna As;lnaCs;lnaT-Sup
210	FXN-517 m08	GCAGGTTGAGACT GG	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaGs;lnaCs;lnaAs;d Gs;dGs;dTs;dTs;dGs; dAs;dGs;dAs;dCs;lna Ts;lnaGs;lnaG-Sup
211	FXN-518 m08	AGGTTGAGACTGG GT	FXN	イントロ ン	ヒト	lnaAs;lnaGs;lnaGs;d Ts;dTs;dGs;dAs;dGs; dAs;dCs;dTs;dGs;lna Gs;lnaGs;lnaT-Sup
212	FXN-519 m08	GGAAAAATTCCAG GA	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	lnaGs;lnaGs;lnaAs;d As;dAs;dAs;dAs;dTs; dTts;dCs;dCs;dAs;lna Gs;lnaGs;lnaA-Sup
213	FXN-520 m08	AATCCAGGAGGG AA	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	lnaAs;lnaAs;lnaTs;d Ts;dCs;dCs;dAs;dGs; dGs;dAs;dGs;dGs;lna Gs;lnaAs;lnaA-Sup
214	FXN-521 m08	GAGGGAAAAATGAA TT	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	lnaGs;lnaAs;lnaGs;d Gs;dGs;dAs;dAs;dAs; dAs;dTs;dGs;dAs;lna As;lnaTs;lnaT-Sup
215	FXN-522 m08	GAAAATGAATTGT CTTC	FXN	アンチセ ンス/UTR	ヒト	lnaGs;lnaAs;lnaAs;d As;dAs;dTs;dGs;dAs; dAs;dTs;dTs;dGs;dTs ;dCs;lnaTs;lnaTs;ln aC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 18】

216	EP0-37 m02	GGTGGTTTCAGTT CT	EPO	3'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dTs;lNaT s;dCs;lNaAs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dT-Sup
217	EP0-38 m02	TTTTTGGTGGTTT CAGTTCT	EPO	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaGs;dGs;lNaT s;dGs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dAs;lNa Gs;dTs;lNaTs;dCs;l NaT-Sup
218	EP0-39 m02	AGCGTGCTATCTG GG	EPO	5'	ヒ ト	dAs;lNaGs;dCs;lNaGs ;dTs;lNaGs;dCs;lNaT s;dAs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dG-Sup
219	EP0-40 m02	TGGCCCAGGGACT CT	EPO	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dT-Sup
220	EP0-41 m02	TCTGCGGCTCTGG C	EPO	5'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dTs;lNaGs ;dCs;lNaGs;dGs;lNaC s;dTs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaC-Sup
221	EP0-42 m02	CGGTCCGGCTCTG GG	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dGs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dG-Sup
222	EP0-43 m02	TCATCCCGGGAAG CT	EPO	5'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dAs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa As;dGs;lNaCs;dT-Sup
223	EP0-44 m02	CCCCAAGTCCCCG CT	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaAs;dGs;lNaT s;dCs;lNaCs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dT-Sup
224	EP0-45 m02	CCAACCATGCAAG CA	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dAs;lNaAs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dAs;lNa As;dGs;lNaCs;dA-Sup
225	EP0-46 m02	TGGCCCAGGGACT CTTC	EPO	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 19】

226	EPO-47 m02	CGGTCCGGCTCTG GGTTC	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dGs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaC-Sup
227	EPO-48 m02	CCAACCATGCAAG CACC	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dAs;lNaAs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dAs;lNa As;dGs;lNaCs;dAs;lNa Cs;dC-Sup
228	EPO-49 m02	TGGCCCAGGGACT CTCACAAAGTGAC	EPO	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dAs;dCs;dAs;dAs ;dAs;dGs;dTs;lNaGs; dAs;lNaC-Sup
229	EPO-50 m02	CGGTCCGGCTCTG GGAAGAACTTTC	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dGs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;dGs;dAs;dAs ;dAs;dCs;dTs;lNaTs; dTs;lNaC-Sup
230	EPO-51 m02	CCAACCATGCAAG CACTCAAAGAGTC	EPO	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dAs;lNaAs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dAs;lNa As;dGs;lNaCs;dAs;lNa Cs;dTs;dCs;dAs;dAs ;dAs;dGs;dAs;lNaGs; dTs;lNaC-Sup
231	EPO-52 m02	TGGCCCAGGGACT CTTTTGGTGGTT TCAGTTCT	EPO	5' および 3'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Gs;dGs;lNaTs;dGs; lNaGs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaCs;dAs;lNaGs;dTs ;lNaTs;dCs;lNaT-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2 0】

232	EPO-53 m02	CGGTCCGGCTCTG GGTTTTTGGTGGT TTCAGTTCT	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dGs;lnaG s;dCs;lnaTs;dCs;lna Ts;dGs;lnaGs;dGs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dGs;lnaGs;dTs; lnaGs;dGs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dCs;lnaAs;dG s;lnaTs;dTs;lnaCs;d T-Sup
233	EPO-54 m02	CCAACCATGCAAG CATTTTTGGTGGT TTCAGTTCT	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaCs;dAs;lnaAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaT s;dGs;lnaCs;dAs;lna As;dGs;lnaCs;dAs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dGs;lnaGs;dTs; lnaGs;dGs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dCs;lnaAs;dG s;lnaTs;dTs;lnaCs;d T-Sup
234	EPO-55 m02	CAGGGACTCTTTT TGGTGGTTTCA	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaAs;dGs;lnaGs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaT s;dCs;lnaTs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dGs;ln aGs;dTs;lnaGs;dGs;l naTs;dTs;lnaTs;dCs; lnaA-Sup
235	EPO-56 m02	CGGCTCTGGGTTT TTGGTGGTTTCA	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dTts;lnaCs;dTs;lnaG s;dGs;lnaGs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dGs;lnaTs;dGs;l naGs;dTs;lnaTs;dTs; lnaCs;dA-Sup
236	EPO-57 m02	CATGCAAGCATTT TTGGTGGTTTCA	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaAs;dTs;lnaGs ;dCs;lnaAs;dAs;lnaG s;dCs;lnaAs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dGs;lnaTs;dGs;l naGs;dTs;lnaTs;dTs; lnaCs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2 1】

237	EPO-58 m02	TGGCCCAGGGACT CGGTGGTTTCAGT TCT	EPO	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dGs;l aGs;dTs;lNaGs;dGs;l naTs;dTs;lNaTs;dCs; lNaAs;dGs;lNaTs;dTs ;lNaCs;dT-Sup
238	EPO-59 m02	CGGTCCGGCTCTG GTGGTGGTTTCAG TTCT	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaTs ;dCs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dTs;l aGs;dGs;lNaTs;dGs;l naGs;dTs;lNaTs;dTs; lNaCs;dAs;lNaGs;dTs ;lNaTs;dCs;lNaT-Sup
239	EPO-60 m02	CCAACCATGCAAG CAGGTGGTTTCAG TTCT	EPO	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaCs;dAs;lNaAs ;dCs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dAs;lNa As;dGs;lNaCs;dAs;l aGs;dGs;lNaTs;dGs;l naGs;dTs;lNaTs;dTs; lNaCs;dAs;lNaGs;dTs ;lNaTs;dCs;lNaT-Sup
240	KLF4-31 m02	TTTTTAGATAAAA TATTATA	KLF4	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaAs;dGs;lNaA s;dTs;lNaAs;dAs;lNa As;dAs;lNaTs;dAs;l aTs;dTs;lNaAs;dTs;l naA-Sup
241	KLF4-32 m02	TTTTTATTCAGAT AAAATA	KLF4	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaAs;dTs;lNaT s;dCs;lNaAs;dGs;lNa As;dTs;lNaAs;dAs;l aAs;dAs;lNaTs;dA-Su p
242	KLF4-33 m02	TTTTTGTTTATT TAAAACT	KLF4	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaGs;dGs;lNaT s;dTs;lNaTs;dAs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dAs;l aAs;dAs;lNaAs;dCs;l naT-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2 2】

243	KLF4-34 m02	TTTTTAAATTTAT ATTACAT	KLF4	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaAs;dAs;lNaA s;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dTs;lNaAs;dTs;lNa aTs;dAs;lNaCs;dAs;l NaT-Sup
244	KLF4-35 m02	TTTTTCTTAAATT TATATTA	KLF4	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaCs;dTs;lNaT s;dAs;lNaAs;dAs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dAs;lNa aTs;dAs;lNaTs;dTs;l NaA-Sup
245	KLF4-36 m02	TTTTTCACAAAAT GTTTCATT	KLF4	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaCs;dAs;lNaC s;dAs;lNaAs;dAs;lNa As;dTs;lNaGs;dTs;lNa aTs;dCs;lNaAs;dTs;l NaT-Sup
246	KLF4-37 m02	CCTCCGCCTTCTC CC	KLF4	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dTs;lNaCs ;dCs;lNaGs;dCs;lNaC s;dTs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs;dC-Sup
247	KLF4-38 m02	TCTGGTCGGGAAA CT	KLF4	5'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa As;dAs;lNaCs;dT-Sup
248	KLF4-39 m02	GCTACAGCCTTTT CC	KLF4	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dTs;lNaAs ;dCs;lNaAs;dGs;lNaC s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dC-Sup
249	KLF4-40 m02	CCTCCGCCTTCTC CCC	KLF4	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dTs;lNaCs ;dCs;lNaGs;dCs;lNaC s;dTs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs;dCs;lNa aC-Sup
250	KLF4-41 m02	TCTGGTCGGGAAA CTCC	KLF4	5'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lNa aCs;dC-Sup
251	KLF4-42 m02	GCTACAGCCTTTT CCC	KLF4	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dTs;lNaAs ;dCs;lNaAs;dGs;lNaC s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dCs;lNa aC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2 3】

252	KLF4-43 m02	CCTCCGCCTTCTC CCTCTTTGATC	KLF4	5'	ヒ ト	dCs;lnaCs;dTs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dCs;lnaC s;dTs;lnaTs;dCs;lna Ts;dCs;lnaCs;dCs;ln aTs;dCs;dTs;dTs;dTs ;dGs;lnaAs;dTs;lnaC -Sup
253	KLF4-44 m02	TCTGGTCGGGAAA CTCAATTATTGTC	KLF4	5'	ヒ ト	dTs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dGs;lnaTs;dCs;lnaG s;dGs;lnaGs;dAs;lna As;dAs;lnaCs;dTs;ln aCs;dAs;dAs;dTs;dTs ;dAs;dTs;dTs;lnaGs; dTs;lnaC-Sup
254	KLF4-45 m02	GCTACAGCCTTTT CCACTTTGTTC	KLF4	5'	ヒ ト	dGs;lnaCs;dTs;lnaAs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaC s;dCs;lnaTs;dTs;lna Ts;dTs;lnaCs;dCs;ln aAs;dCs;dTs;dTs;dTs ;dGs;lnaTs;dTs;lnaC -Sup
255	KLF4-46 m02	CCTCCGCCTTCTC CCTTTTtagataa AATATTATA	KLF4	5' および 3'	ヒ ト	dCs;lnaCs;dTs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dCs;lnaC s;dTs;lnaTs;dCs;lna Ts;dCs;lnaCs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaGs;dAs; lnaTs;dAs;lnaAs;dAs ;lnaAs;dTs;lnaAs;dT s;lnaTs;dAs;lnaTs;d A-Sup
256	KLF4-47 m02	TCTGGTCGGGAAA CTTTTtagataaa ATATTATA	KLF4	5' および 3'	ヒ ト	dTs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dGs;lnaTs;dCs;lnaG s;dGs;lnaGs;dAs;lna As;dAs;lnaCs;dTs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naAs;dGs;lnaAs;dTs; lnaAs;dAs;lnaAs;dAs ;lnaTs;dAs;lnaTs;dT s;lnaAs;dTs;lnaA-Su p

10

20

30

40



【表 7 - 2 4】

257	KLF4-48 m02	GCTACAGCCTTTT CCTTTTGTAGATAA AATATTATA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dGs;lNaCs;dTs;lNaAs ;dCs;lNaAs;dGs;lNaC s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaGs;dAs; lNaTs;dAs;lNaAs;dAs ;lNaAs;dTs;lNaAs;dT s;lNaTs;dAs;lNaTs;d A-Sup
258	KLF4-49 m02	CCTCCGCCTTCTC CCTTTTGGTTTA TTAAAACT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaCs;dTs;lNaCs ;dCs;lNaGs;dCs;lNaC s;dTs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaGs;dTs; lNaTs;dTs;lNaAs;dTs ;lNaTs;dTs;lNaAs;dA s;lNaAs;dAs;lNaCs;d T-Sup
259	KLF4-50 m02	TCTGGTCGGGAAA CTTTTGGTTTAT TTAAAACT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaCs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dAs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naGs;dGs;lNaTs;dTs; lNaTs;dAs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dAs;lNaAs;dA s;lNaAs;dCs;lNaT-Su p
260	KLF4-51 m02	GCTACAGCCTTTT CCTTTTGGTTTA TTAAAACT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dGs;lNaCs;dTs;lNaAs ;dCs;lNaAs;dGs;lNaC s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dCs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dGs;lNaGs;dTs; lNaTs;dTs;lNaAs;dTs ;lNaTs;dTs;lNaAs;dA s;lNaAs;dAs;lNaCs;d T-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2 5】

261	KLF4-52 m02	CCTCCGCCTTCTC CCTTTTAAATTT ATATTACAT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaCs;dTs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dCs;lnaC s;dTs;lnaTs;dCs;lna Ts;dCs;lnaCs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaTs;dTs;lnaTs;dAs ;lnaTs;dAs;lnaTs;dT s;lnaAs;dCs;lnaAs;d T
262	KLF4-53 m02	TCTGGTCGGGAAA CTTTTAAATTTA TATTACAT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dGs;lnaTs;dCs;lnaG s;dGs;lnaGs;dAs;lna As;dAs;lnaCs;dTs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naAs;dAs;lnaAs;dTs; lnaTs;dTs;lnaAs;dTs ;lnaAs;dTs;lnaTs;dA s;lnaCs;dAs;lnaT-Su p
263	KLF4-54 m02	GCTACAGCCTTTT CCTTTTAAATTT ATATTACAT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dGs;lnaCs;dTs;lnaAs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaC s;dCs;lnaTs;dTs;lna Ts;dTs;lnaCs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaTs;dTs;lnaTs;dAs ;lnaTs;dAs;lnaTs;dT s;lnaAs;dCs;lnaAs;d T-Sup
264	KLF4-55 m02	GCCTTCTCCCTTT TTAGATAAAATA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dGs;lnaCs;dCs;lnaTs ;dTs;lnaCs;dTs;lnaC s;dCs;lnaCs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aAs;dGs;lnaAs;dTs;l naAs;dAs;lnaAs;dAs; lnaTs;dA-Sup
265	KLF4-56 m02	TCGGGAACTTTT TAGATAAAATA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaCs;dGs;lnaGs ;dGs;lnaAs;dAs;lnaA s;dCs;lnaTs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dAs;ln aGs;dAs;lnaTs;dAs;l naAs;dAs;lnaAs;dTs; lnaA-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 26】

266	KLF4-57 m02	AGCCTTTTCCTTT TTAGATAAAATA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dAs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dTts;lNaTs;dTs;lNaT s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dGs;lNaAs;dTs;l NaAs;dAs;lNaAs;dAs; lNaTs;dA-Sup
267	KLF4-58 m02	GCCTTCTCCCTTT TTGGTTTATTTA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dGs;lNaCs;dCs;lNaTs ;dTts;lNaCs;dTs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dGs;lNaTs;dTs;l NaTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaTs;dA-Sup
268	KLF4-59 m02	TCGGGAAACTTTT TGGTTTATTTA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaCs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaAs;dAs;lNaA s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dGs;lNa As;dTs;lNaTs;dTs;l NaAs;dTs;lNaTs;dTs; lNaA-Sup
269	KLF4-60 m02	AGCCTTTTCCTTT TTGGTTTATTTA	KLF4	5' および 3'	ヒト	dAs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dTts;lNaTs;dTs;lNaT s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dGs;lNaTs;dTs;l NaTs;dAs;lNaTs;dTs; lNaTs;dA-Sup
270	KLF4-61 m02	GCCTTCTCCCTTT TTAAATTTATAT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dGs;lNaCs;dCs;lNaTs ;dTts;lNaCs;dTs;lNaC s;dCs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa As;dAs;lNaAs;dTs;l NaTs;dTs;lNaAs;dTs; lNaAs;dT-Sup
271	KLF4-62 m02	TCGGGAAACTTTT TAAATTTATAT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaCs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaAs;dAs;lNaA s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dAs;lNa As;dAs;lNaTs;dTs;l NaTs;dAs;lNaTs;dAs; lNaT-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 27】

272	KLF4-63 m02	AGCCTTTTCCTTT TTAAATTTATAT	KLF4	5' および 3'	ヒト	dAs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dTts;lnaTs;dTs;lnaT s;dCs;lnaCs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aAs;dAs;lnaAs;dTs;l naTs;dTs;lnaAs;dTs; lnaAs;dT-Sup
273	ACTB-01 m02	AGGTGTGCACTTT TA	ACTB	3'	ヒト	dAs;lnaGs;dGs;lnaTs ;dGs;lnaTs;dGs;lnaC s;dAs;lnaCs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dA-Sup
274	ACTB-02 m02	TCATTTTAAAGGT GT	ACTB	3'	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaTs ;dTts;lnaTs;dTs;lnaT s;dAs;lnaAs;dGs;lna Gs;dTs;lnaGs;dT-Sup
275	ACTB-03 m02	TTTTTAGGTGTGC ACTTTTA	ACTB	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTts;lnaAs;dGs;lnaG s;dTs;lnaGs;dTs;lna Gs;dCs;lnaAs;dCs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naA-Sup
276	ACTB-04 m02	TTTTTCATTTTAA AGGTGT	ACTB	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTts;lnaCs;dAs;lnaT s;dTs;lnaTs;dTs;lna Ts;dAs;lnaAs;dGs;ln aGs;dTs;lnaGs;dT-Su p
277	ACTB-05 m02	CGCGGTCTCGGCG GT	ACTB	5'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaGs ;dGs;lnaTs;dCs;lnaT s;dCs;lnaGs;dGs;lna Cs;dGs;lnaGs;dT-Sup
278	ACTB-06 m02	ATCATCCATGGTG AG	ACTB	5'	ヒト	dAs;lnaTs;dCs;lnaAs ;dTts;lnaCs;dCs;lnaA s;dTs;lnaGs;dGs;lna Ts;dGs;lnaAs;dG-Sup
279	ACTB-07 m02	CGCGGTCTCGGCG GTTTTAGGTGTG CACTTTTA	ACTB	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaGs ;dGs;lnaTs;dCs;lnaT s;dCs;lnaGs;dGs;lna Cs;dGs;lnaGs;dTs;ln aTs;dTs;lnaTs;dTs;l naAs;dCs;lnaGs;dTs; lnaGs;dTs;lnaGs;dCs ;lnaAs;dCs;lnaTs;dT s;lnaTs;dTs;lnaA-Su p

10

20

30

40

【表 7 - 2 8】

280	ACTB-08 m02	ATCATCCATGGTG AGTTTTTAGGTGT GCACTTTTA	ACTB	5' および 3'	ヒト	dAs;lNaTs;dCs;lNaAs ;dT;s;lNaCs;dCs;lNaA s;dTs;lNaGs;dGs;lNa Ts;dGs;lNaAs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dAs;lNaGs;dGs; lNaTs;dGs;lNaTs;dGs ;lNaCs;dAs;lNaCs;dT s;lNaTs;dTs;lNaTs;d A-Sup
281	ACTB-09 m02	CGCGGTCTCGGCG GTTTTTCATTTTT AAGGTGT	ACTB	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dCs;lNaT s;dCs;lNaGs;dGs;lNa Cs;dGs;lNaGs;dTs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naCs;dAs;lNaTs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dAs ;lNaAs;dGs;lNaGs;dT s;lNaGs;dT-Sup
282	ACTB-10 m02	ATCATCCATGGTG AGTTTTTCATTTT TAAGGTGT	ACTB	5' および 3'	ヒト	dAs;lNaTs;dCs;lNaAs ;dT;s;lNaCs;dCs;lNaA s;dTs;lNaGs;dGs;lNa Ts;dGs;lNaAs;dGs;lN aTs;dTs;lNaTs;dTs;l naTs;dCs;lNaAs;dTs; lNaTs;dTs;lNaTs;dTs ;lNaAs;dAs;lNaGs;dG s;lNaTs;dGs;lNaT-Su p
283	ACTB-11 m02	TCTCGGCGGTTTT TAGGTGTGCAC	ACTB	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaCs;dTs;lNaCs ;dGs;lNaGs;dCs;lNaG s;dGs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dAs;lN aGs;dGs;lNaTs;dGs;l naTs;dGs;lNaCs;dAs; lNaC-Sup
284	ACTB-12 m02	CCATGGTGAGTTT TTAGGTGTGCAC	ACTB	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaCs;dAs;lNaTs ;dGs;lNaGs;dTs;lNaG s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lN aAs;dGs;lNaGs;dTs;l naGs;dTs;lNaGs;dCs; lNaAs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 2 9】

285	ACTB-13 m02	TCTCGGCGGTTTT TCATTTTAA	ACTB	5' および 3'	ヒト	dTs;lNaCs;dTs;lNaCs ;dGs;lNaGs;dCs;lNaG s;dGs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dCs;lNa As;dTs;lNaTs;dTs;l NaTs;dTs;lNaAs;dA-S up
286	ACTB-14 m02	CCATGGTGAGTTT TTCATTTTAA	ACTB	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaCs;dAs;lNaTs ;dGs;lNaGs;dTs;lNaG s;dAs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaTs;dTs;l NaTs;dTs;lNaTs;dAs; lNaA-Sup
287	ACTB-15 m02	CGCGGTCTCGGCG GTAGGTGTGCACT TTTA	ACTB	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dCs;lNaT s;dCs;lNaGs;dGs;lNa Cs;dGs;lNaGs;dTs;lNa As;dGs;lNaGs;dTs;l NaGs;dTs;lNaGs;dCs; lNaAs;dCs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;lNaA-Sup
288	ACTB-16 m02	ATCATCCATGGTG AGAGGTGTGCACT TTTA	ACTB	5' および 3'	ヒト	dAs;lNaTs;dCs;lNaAs ;dTs;lNaCs;dCs;lNaA s;dTs;lNaGs;dGs;lNa Ts;dGs;lNaAs;dGs;lNa As;dGs;lNaGs;dTs;l NaGs;dTs;lNaGs;dCs; lNaAs;dCs;lNaTs;dTs ;lNaTs;dTs;lNaA-Sup
289	ACTB-17 m02	CGCGGTCTCGGCG GTTTCATTTTAAAG GTGT	ACTB	5' および 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaGs ;dGs;lNaTs;dCs;lNaT s;dCs;lNaGs;dGs;lNa Cs;dGs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dCs;lNaAs;dTs;l NaTs;dTs;lNaTs;dTs; lNaAs;dAs;lNaGs;dGs ;lNaTs;dGs;lNaT-Sup
290	ACTB-18 m02	ATCATCCATGGTG AGTCATTTTAAAG GTGT	ACTB	5' および 3'	ヒト	dAs;lNaTs;dCs;lNaAs ;dTs;lNaCs;dCs;lNaA s;dTs;lNaGs;dGs;lNa Ts;dGs;lNaAs;dGs;lNa Ts;dCs;lNaAs;dTs;l NaTs;dTs;lNaTs;dTs; lNaAs;dAs;lNaGs;dGs ;lNaTs;dGs;lNaT-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3 0】

291	UTRN-19 2 m02	TGGAGCCGAGCGC TG	UTRN	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaAs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dG-Sup
292	UTRN-19 3 m02	GGGCCTGCCCCTT TG	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dCs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dG-Sup
293	UTRN-19 4 m02	CCCCAAGTCACCT GA	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaAs;dGs;lNaT s;dCs;lNaAs;dCs;lNa Cs;dTs;lNaGs;dA-Sup
294	UTRN-19 5 m02	GACATCAATACCT AA	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lNaAs;dCs;lNaAs ;dTts;lNaCs;dAs;lNaA s;dTs;lNaAs;dCs;lNa Cs;dTs;lNaAs;dA-Sup
295	UTRN-19 6 m02	AACTTTACCAAG TC	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lNaAs;dAs;lNaCs ;dTts;lNaTs;dTs;lNaA s;dCs;lNaCs;dAs;lNa As;dGs;lNaTs;dC-Sup
296	UTRN-19 7 m02	TGGAGCCGAGCGC TGCC	UTRN	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaAs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dAs;lNaGs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaTs;dGs;lN aCs;dC-Sup
297	UTRN-19 8 m02	GGGCCTGCCCCTT TGCC	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dGs;lNaCs ;dCs;lNaTs;dGs;lNaC s;dCs;lNaCs;dCs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dGs;lN aCs;dC-Sup
298	UTRN-19 9 m02	CCCCAAGTCACCT GACC	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaAs;dGs;lNaT s;dCs;lNaAs;dCs;lNa Cs;dTs;lNaGs;dAs;lN aCs;dC-Sup
299	UTRN-20 0 m02	GACATCAATACCT AACC	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lNaAs;dCs;lNaAs ;dTts;lNaCs;dAs;lNaA s;dTs;lNaAs;dCs;lNa Cs;dTs;lNaAs;dAs;lN aCs;dC-Sup
300	UTRN-20 1 m02	AACTTTACCAAG TCCC	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lNaAs;dAs;lNaCs ;dTts;lNaTs;dTs;lNaA s;dCs;lNaCs;dAs;lNa As;dGs;lNaTs;dCs;lN aCs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3 1】

301	UTRN-20 2 m1000	TGGAGCCGAGCGC TGGGAAACCAC	UTRN	5'	ヒ ト	dTs;lnaGs;dGs;lnaAs ;dGs;lnaCs;dCs;lnaG s;dAs;lnaGs;dCs;lna Gs;dCs;lnaTs;dGs;ln aGs;dGs;dAs;dAs;dAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaC -Sup
302	UTRN-20 3 m1000	GGGCCTGCCCCTT TGGGAAACCAC	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dGs;lnaC s;dCs;lnaCs;dCs;lna Ts;dTs;lnaTs;dGs;ln aGs;dGs;dAs;dAs;dAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaC -Sup
303	UTRN-20 4 m1000	CCCCAAGTCACCT GAGGAAACCAC	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lnaCs;dCs;lnaCs ;dAs;lnaAs;dGs;lnaT s;dCs;lnaAs;dCs;lna Cs;dTs;lnaGs;dAs;ln aGs;dGs;dAs;dAs;dAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaC -Sup
304	UTRN-20 5 m1000	GACATCAATACCT AAGGAAACCAC	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lnaAs;dCs;lnaAs ;dTs;lnaCs;dAs;lnaA s;dTs;lnaAs;dCs;lna Cs;dTs;lnaAs;dAs;ln aGs;dGs;dAs;dAs;dAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaC -Sup
305	UTRN-20 6 m1000	AAACTTTACCAAG TCGGAAACCAC	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lnaAs;dAs;lnaCs ;dTs;lnaTs;dTs;lnaA s;dCs;lnaCs;dAs;lna As;dGs;lnaTs;dCs;ln aGs;dGs;dAs;dAs;dAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaC -Sup
306	UTRN-20 7 m02	ACTGCAATATATT TC	UTRN	3'	ヒ ト	dAs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dCs;lnaAs;dAs;lnaT s;dAs;lnaTs;dAs;lna Ts;dTs;lnaTs;dC-Sup
307	UTRN-20 8 m02	GTGTAAAAATTAC TT	UTRN	3'	ヒ ト	dGs;lnaTs;dGs;lnaTs ;dTs;lnaAs;dAs;lnaA s;dAs;lnaTs;dTs;lna As;dCs;lnaTs;dT-Sup

10

20

30

40



【表 7 - 3 2】

308	UTRN-20 9 m02	TTTTTACTGCAAT ATATTTC	UTRN	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaAs;dCs;lNaT s;dGs;lNaCs;dAs;lNa As;dTs;lNaAs;dTs;lN aAs;dTs;lNaTs;dTs;l naC-Sup
309	UTRN-21 0 m02	TTTTTGTGTTAAA ATTACTT	UTRN	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaGs;dTs;lNaG s;dTs;lNaTs;dAs;lNa As;dAs;lNaAs;dTs;lN aTs;dAs;lNaCs;dTs;l naT-Sup
310	UTRN-21 1 m02	CCGAGCGCTGTTT TTACTGCAATAT	UTRN	5' および 3'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dGs;lNaAs ;dGs;lNaCs;dGs;lNaC s;dTs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lN aAs;dCs;lNaTs;dGs;l naCs;dAs;lNaAs;dTs; lNaAs;dT-Sup
311	UTRN-21 2 m02	TGCCCTTTGTTT TTACTGCAATAT	UTRN	5' および 3'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaCs;dTs;lNaT s;dTs;lNaGs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lN aAs;dCs;lNaTs;dGs;l naCs;dAs;lNaAs;dTs; lNaAs;dT-Sup
312	UTRN-21 3 m02	AGTCACCTGATTT TTACTGCAATAT	UTRN	5' および 3'	ヒ ト	dAs;lNaGs;dTs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dCs;lNaT s;dGs;lNaAs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lN aAs;dCs;lNaTs;dGs;l naCs;dAs;lNaAs;dTs; lNaAs;dT-Sup
313	UTRN-21 4 m02	CAATACCTAATTT TTACTGCAATAT	UTRN	5' および 3'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dAs;lNaTs ;dAs;lNaCs;dCs;lNaT s;dAs;lNaAs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lN aAs;dCs;lNaTs;dGs;l naCs;dAs;lNaAs;dTs; lNaAs;dT-Sup
314	UTRN-21 5 m02	TTACCAAGTCTTT TTACTGCAATAT	UTRN	5' および 3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dAs;lNaCs ;dCs;lNaAs;dAs;lNaG s;dTs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lN aAs;dCs;lNaTs;dGs;l naCs;dAs;lNaAs;dTs; lNaAs;dT-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3 3】

315	UTRN-21 6 m02	CCGAGCGCTGTTT TTGTGTAAAAAT	UTRN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaCs;dGs;lnaAs ;dGs;lnaCs;dGs;lnaC s;dTs;lnaGs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaGs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dT-Sup
316	UTRN-21 7 m02	TGCCCCCTTTGTTT TTGTGTAAAAAT	UTRN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaCs;dTs;lnaT s;dTs;lnaGs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaGs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dT-Sup
317	UTRN-21 8 m02	AGTCACCTGATTT TTGTGTAAAAAT	UTRN	5' および 3'	ヒト	dAs;lnaGs;dTs;lnaCs ;dAs;lnaCs;dCs;lnaT s;dGs;lnaAs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaGs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dT-Sup
318	UTRN-21 9 m02	CAATACCTAATTT TTGTGTAAAAAT	UTRN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaAs;dAs;lnaTs ;dAs;lnaCs;dCs;lnaT s;dAs;lnaAs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaGs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dT-Sup
319	UTRN-22 0 m02	TTACCAAGTCTTT TTGTGTAAAAAT	UTRN	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaTs;dAs;lnaCs ;dCs;lnaAs;dAs;lnaG s;dTs;lnaCs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aGs;dTs;lnaGs;dTs;l naTs;dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dT-Sup
320	HBF-XXX m02	TGTCTGTAGCTCC AG	HBF	5'	ヒト	dTs;lnaGs;dTs;lnaCs ;dTs;lnaG;dTs;lnaA; dGs;lnaC;dTs;lnaC;d Cs;lnaA;dGs-Sup
321	HBF-XXX m02	TAGCTCCAGTGAG GC	HBF	5'	ヒト	dTs;lnaAs;dGs;lnaCs ;dTs;lnaCs;dCs;lnaA s;dGs;lnaTs;dGs;lna As;dGs;lnaGs;dC-Sup
322	HBF-XXX m02	TTTCTTCTCCAC CA	HBF	5'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaCs ;dTs;lnaTs;dCs;lnaT s;dCs;lnaCs;dCs;lna As;dCs;lnaCs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3 4】

323	HBf-XXX m02	TGTCTGTAGCTCC AGCC	HBf	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dTs;lNaCs ;dTs;lNaG;dTs;lNaA; dGs;lNaC;dTs;lNaC;d Cs;lNaA;dGs;lNaCs;d C-Sup
324	HBf-XXX m02	TAGCTCCAGTGAG GCCC	HBf	5'	ヒ ト	dTs;lNaAs;dGs;lNaCs ;dTs;lNaCs;dCs;lNaA s;dGs;lNaTs;dGs;lNa As;dGs;lNaGs;dC;lNa Cs;dC-Sup
325	HBf-XXX m02	TTTCTTCTCCCAC CACC	HBf	5'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaCs ;dTs;lNaTs;dCs;lNaT s;dCs;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaCs;dA;lNa Cs;dC-Sup
326	HBf-XXX m03	TGTCTGTAGCTCC AGGGAAACCAC	HBf	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dTs;lNaCs ;dTs;lNaG;dTs;lNaA; dGs;lNaC;dTs;lNaC;d Cs;lNaA;dGs;lNaGs;d Gs;dAs;dAs;dAs;dCs; lNaCs;dAs;lNaC-Sup
327	HBf-XXX m04	TAGCTCCAGTGAG GCGGAAACCAC	HBf	5'	ヒ ト	dTs;lNaAs;dGs;lNaCs ;dTs;lNaCs;dCs;lNaA s;dGs;lNaTs;dGs;lNa As;dGs;lNaGs;dC;lNa Gs;dGs;dAs;dAs;dAs; dCs;lNaCs;dAs;lNaC- Sup
328	HBf-XXX m05	TTTCTTCTCCCAC CAGGAAACCAC	HBf	5'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaCs ;dTs;lNaTs;dCs;lNaT s;dCs;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaCs;dA;lNa Gs;dGs;dAs;dAs;dAs; dCs;lNaCs;dAs;lNaC- Sup
329	HBf-XXX m06	TTTTTGTGTGATC TCTTAGC	HBf	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaGs;dATs;lNa Gs;dTs;lNaGs;dAs;lN aTs;dCs;lNaTs;dCs;l NaTs;dTs;lNaAs;dGs; lNaC-Sup
330	HBf-XXX m07	TTTTTGTGATCTC T TAGCAG	HBf	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaGs;dTs;lNaG s;dAs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaTs;dTs;lN aAs;dGs;lNaCs;dAs;l NaG-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3 5】

331	HBf-XXX m08	TTTTTGTCTCT TAGCAGA	HBf	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaTs;dGs;lNaA s;dTs;lNaCs;dTs;lNa Cs;dTs;lNaTs;dAs;lNa Gs;dCs;lNaAs;dGs;l NaA-Sup
332	SMN-XXX m02	ATTCTCTCAATC CT	SMN	5'	ヒ ト	dAs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dCs;lNaT;dCs;lNaT; dCs;lNaA;dAs;lNaT;d Cs;lNaC;dTs-Sup
333	SMN-XXX m03	GGCGTGTATATTT TT	SMN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dCs;lNaGs ;dTs;lNaGs;dTs;lNaA s;dTs;lNaAs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dT-Sup
334	SMN-XXX m04	GGTATCGCCCTC CC	SMN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dTs;lNaTs ;dAs;lNaTs;dCs;lNaG s;dCs;lNaCs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs;dC-Sup
335	SMN-XXX m05	ACGACTTCCGCCG CC	SMN	5'	ヒ ト	dAs;lNaCs;dGs;lNaAs ;dCs;lNaTs;dTs;lNaC s;dCs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dC-Sup
336	SMN-XXX m06	ATTCTCTCAATC CTCC	SMN	5'	ヒ ト	dAs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dCs;lNaT;dCs;lNaT; dCs;lNaA;dAs;lNaT;d Cs;lNaC;dTs;lNaCs;d C-Sup
337	SMN-XXX m07	GGCGTGTATATTT TTCC	SMN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dCs;lNaGs ;dTs;lNaGs;dTs;lNaA s;dTs;lNaAs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dT;lNa Cs;dC-Sup
338	SMN-XXX m08	GGTATCGCCCTC CCCC	SMN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dTs;lNaTs ;dAs;lNaTs;dCs;lNaG s;dCs;lNaCs;dCs;lNa Ts;dCs;lNaCs;dC;lNa Cs;dC-Sup
339	SMN-XXX m09	ACGACTTCCGCCG CCCC	SMN	5'	ヒ ト	dAs;lNaCs;dGs;lNaAs ;dCs;lNaTs;dTs;lNaC s;dCs;lNaGs;dCs;lNa Cs;dGs;lNaCs;dC;lNa Cs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 7 - 3 6】

340	SMN-XXX m10	ATTTCTCTCAATC CTGGAAACCAC	SMN	5'	ヒ ト	dAs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dCs;lnaT;dCs;lnaT; dCs;lnaA;dAs;lnaT;d Cs;lnaC;dTs;lnaGs;d Gs;dAs;dAs;dAs;dCs; lnaCs;dAs;lnaC-Sup
341	SMN-XXX m11	GGCGTGTATATTT TTGGAAACCAC	SMN	5'	ヒ ト	dGs;lnaGs;dCs;lnaGs ;dTs;lnaGs;dTs;lnaA s;dTs;lnaAs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dT;lna Gs;dGs;dAs;dAs;dAs; dCs;lnaCs;dAs;lnaC- Sup
342	SMN-XXX m12	GGTTATCGCCCTC CCGGAAACCAC	SMN	5'	ヒ ト	dGs;lnaGs;dTs;lnaTs ;dAs;lnaTs;dCs;lnaG s;dCs;lnaCs;dCs;lna Ts;dCs;lnaCs;dC;lna Gs;dGs;dAs;dAs;dAs; dCs;lnaCs;dAs;lnaC- Sup
343	SMN-XXX m13	ACGACTTCCGCCG CCGGAAACCAC	SMN	5'	ヒ ト	dAs;lnaCs;dGs;lnaAs ;dCs;lnaTs;dTs;lnaC s;dCs;lnaGs;dCs;lna Cs;dGs;lnaCs;dC;lna Gs;dGs;dAs;dAs;dAs; dCs;lnaCs;dAs;lnaC- Sup
344	SMN-XXX m14	TTTTTTAATTTTT TTTTAAA	SMN	3'	ヒ ト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaTs;dAs;lnaA s;dTs;lnaTs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dTs;ln aTs;dTs;lnaAs;dAs;l naA-Sup
345	SMN-XXX m15	TTTTTATATGCAA AAAAGAA	SMN	3'	ヒ ト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaAs;dTs;lnaA s;dTs;lnaGs;dCs;lna As;dAs;lnaAs;dAs;ln aAs;dAs;lnaGs;dAs;l naA-Sup
346	SMN-XXX m16	TTTTTCAAAATAT GGGCCAA	SMN	3'	ヒ ト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaCs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dTs;lna As;dTs;lnaGs;dGs;ln aGs;dCs;lnaCs;dAs;l naA-Sup

10

20

30

40

実施例 5 . R N A の安定性を高めるためのさらなるオリゴヌクレオチド

【 0 2 7 6】

表 8 は、非コード RNA である H O T A I R および A N R I L の 5 ' および 3 ' 末端を標的化するための例示的なオリゴヌクレオチドを提供している。

【表 8 - 1】

表 8：非コードRNAを標的化するオリゴ

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域 (5' または 3' 末端)	生物	書式付き配列
347	HOTAIR-1	TTCACCACATGTAA A	HOTAIR	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dCs;lnaAs; dCs;lnaCs;dAs;lnaC s;dAs;lnaTs;dGs;lna Ts;dAs;lnaAs;dA-Sup
348	HOTAIR-2	TTTTTTCACCACAT GTAAA	HOTAIR	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaTs;dCs;lnaA s;dCs;lnaCs;dAs;lna Cs;dAs;lnaTs;dGs;ln aTs;dAs;lnaAs;dA-Su p
349	HOTAIR-3	AAATCAGGGCAGAA TGT	HOTAIR	5'	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaG s;dGs;lnaCs;dAs;lna Gs;dAs;lnaAs;dTs;ln aGs;dT-Sup
350	HOTAIR-4	AAATCAGGGCAGAA TGTCC	HOTAIR	5'	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaG s;dGs;lnaCs;dAs;lna Gs;dAs;lnaAs;dTs;ln aGs;dTs;lnaCs;dC-Su p
351	HOTAIR-5	AAATCAGGGCAGAA TGTCCAAAGGTC	HOTAIR	5'	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaG s;dGs;lnaCs;dAs;lna Gs;dAs;lnaAs;dTs;ln aGs;dTs;lnaCs;dCs;l naAs;dAs;lnaAs;dGs; lnaGs;dTs;dC-Sup
352	HOTAIR-6	AAATCAGGGCAGAA TGTTTTTTTCACCA CATGTAAA	HOTAIR	5' およ び 3'	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaG s;dGs;lnaCs;dAs;lna Gs;dAs;lnaAs;dTs;ln aGs;dTs;lnaTs;dTs;l naTs;dTs;lnaTs;dTs; lnaCs;dAs;lnaCs;dCs ;lnaAs;dCs;lnaAs;dT s;lnaGs;dTs;lnaAs;d As;dA-Sup
353	ANRIL-1	TTATTGTCTGAGCC C	ANRIL	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dAs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dTs;lnaC s;dTs;lnaGs;dAs;lna Gs;dCs;lnaCs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 8 - 2】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域 (5' または 3' 末端)	生物	書式付き配列
354	ANRIL-2	TTTTTATTGTCTGAGCCC	ANRIL	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs;dTs;lnaAs;dTs;lnaTs;dGs;lnaTs;dCs;lnaTs;dGs;lnaAs;dGs;lnaCs;dCs;dC-Sup
355	ANRIL-3	TCAGGTGACGGATGT	ANRIL	5'	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaGs;dGs;lnaTs;dGs;lnaAs;dCs;lnaGs;dGs;lnaAs;dTs;lnaGs;dT-Sup
356	ANRIL-4	TCAGGTGACGGATGTCC	ANRIL	5'	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaGs;dGs;lnaTs;dGs;lnaAs;dCs;lnaGs;dGs;lnaAs;dTs;lnaGs;dTs;lnaCs;dC-Sup
357	ANRIL-5	TCAGGTGACGGATGTCCAAAGGTC	ANRIL	5'	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaGs;dGs;lnaTs;dGs;lnaAs;dCs;lnaGs;dGs;lnaAs;dTs;lnaGs;dTs;lnaCs;dCs;lnaAs;dAs;lnaAs;dGs;lnaGs;dTs;dC-Sup
358	ANRIL-6	TCAGGTGACGGATGT TTTTTATTGTCTGAGCCC	ANRIL	5' および 3'	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaGs;dGs;lnaTs;dGs;lnaAs;dCs;lnaGs;dGs;lnaAs;dTs;lnaGs;dTs;lnaTs;dTs;lnaTs;dAs;lnaTs;dTs;lnaGs;dTs;lnaCs;dTs;lnaGs;dAs;lnaGs;dCs;lnaCs;dC-Sup

10

20

30

実施例 6 . 他の安定性オリゴ

【 0 2 7 7 】

【表 9 - 1】

表 9 は、複数のヒト遺伝子およびマウス遺伝子に対するさらなる例示的な RNA 安定性オリゴを提供している。

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
359	FOXP3-61 m02	TGTGGGGAGCT CGGC	FOXP3	3'	ヒト	dTs;lnaGs;dTs;lnaGs ;dGs;lnaGs;dGs;lnaA s;dGs;lnaCs;dTs;lna Cs;dGs;lnaGs;dC-Sup
360	FOXP3-62 m02	GGGAGCTCGG CTGC	FOXP3	3'	ヒト	dGs;lnaGs;dGs;lnaGs ;dAs;lnaGs;dCs;lnaT s;dCs;lnaGs;dGs;lna Cs;dTs;lnaGs;dC-Sup
361	FOXP3-63 m02	TTTTGTGGGG AGCTCGGC	FOXP3	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dTs;lnaG s;dGs;lnaGs;dGs;lna As;dGs;lnaCs;dTs;ln aCs;dGs;lnaGs;dC-Su p
362	FOXP3-64 m02	TTTTGGGGAGC TCGGCTGC	FOXP3	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dGs;lnaGs;dGs;lnaG s;dAs;lnaGs;dCs;lna Ts;dCs;lnaGs;dGs;ln aCs;dTs;lnaGs;dC-Su p
363	FOXP3-65 m02	TTGTCCAAGGG CAGG	FOXP3	5'	ヒト	dTs;lnaTs;dGs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaA s;dGs;lnaGs;dGs;lna Cs;dAs;lnaGs;dG-Sup
364	FOXP3-66 m02	TCGATGAGTGT GTGC	FOXP3	5'	ヒト	dTs;lnaCs;dGs;lnaAs ;dTs;lnaGs;dAs;lnaG s;dTs;lnaGs;dTs;lna Gs;dTs;lnaGs;dC-Sup
365	FOXP3-67 m02	AGAAGAAAAAC CACG	FOXP3	5'	ヒト	dAs;lnaGs;dAs;lnaAs ;dGs;lnaAs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dCs;lna Cs;dAs;lnaCs;dG-Sup
366	FOXP3-68 m02	AATATGATTTC TTCC	FOXP3	5'	ヒト	dAs;lnaAs;dTs;lnaAs ;dTs;lnaGs;dAs;lnaT s;dTs;lnaTs;dCs;lna Ts;dTs;lnaCs;dC-Sup
367	FOXP3-69 m02	GAGATGGGGGA CATG	FOXP3	5'	ヒト	dGs;lnaAs;dGs;lnaAs ;dTs;lnaGs;dGs;lnaG s;dGs;lnaGs;dAs;lna Cs;dAs;lnaTs;dG-Sup
368	PTEN-101 m02	TTCAGTTTATT CAAG	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dCs;lnaAs ;dGs;lnaTs;dTs;lnaT s;dAs;lnaTs;dTs;lna Cs;dAs;lnaAs;dG-Sup

10

20

30

40



【表 9 - 2】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
369	PTEN-102 m02	CTGTCTCCACT TTTT	PTEN	3'	ヒト	dCs;lnaTs;dGs;lnaTs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dAs;lnaCs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dT-Sup
370	PTEN-103 m02	TGGAATAAAAC GGG	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaGs;dGs;lnaAs ;dAs;lnaTs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dCs;lna Gs;dGs;lnaG-Sup
371	PTEN-104 m02	ACAATTGAGAA AACA	PTEN	3'	ヒト	dAs;lnaCs;dAs;lnaAs ;dTs;lnaTs;dGs;lnaA s;dGs;lnaAs;dAs;lna As;dAs;lnaCs;dA-Sup
372	PTEN-105 m02	CAGTTTTAAGT GGAG	PTEN	3'	ヒト	dCs;lnaAs;dGs;lnaTs ;dTs;lnaTs;dTs;lnaA s;dAs;lnaGs;dTs;lna Gs;dGs;lnaAs;dG-Sup
373	PTEN-106 m02	TGACAAGAATG AGAC	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaGs;dAs;lnaCs ;dAs;lnaAs;dGs;lnaA s;dAs;lnaTs;dGs;lna As;dGs;lnaAs;dC-Sup
374	PTEN-107 m02	CCGGCGGAGGG GAGG	PTEN	5'	ヒト	dCs;lnaCs;dGs;lnaGs ;dGs;lnaCs;dGs;lnaA s;dGs;lnaGs;dGs;lna Gs;dAs;lnaGs;dG-Sup
375	PTEN-108 m02	CCGCCGGCCTG CCCC	PTEN	5'	ヒト	dCs;lnaCs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dGs;lnaC s;dCs;lnaTs;dGs;lna Cs;dCs;lnaCs;dG-Sup
376	PTEN-109 m02	CGAGCGCGTAT CCTG	PTEN	5'	ヒト	dCs;lnaGs;dAs;lnaGs ;dCs;lnaGs;dCs;lnaG s;dTs;lnaAs;dTs;lna Cs;dCs;lnaTs;dG-Sup
377	PTEN-110 m02	CTGCTTCTCCT CAGC	PTEN	5'	ヒト	dCs;lnaTs;dGs;lnaCs ;dTs;lnaTs;dCs;lnaT s;dCs;lnaCs;dTs;lna Cs;dAs;lnaGs;dC-Sup
378	PTEN-111 m02	TTTTCAGTTTA TTCAAG	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaT s;dTs;lnaTs;dAs;lna Ts;dTs;lnaCs;dAs;ln aAs;dG-Sup
379	PTEN-112 m02	TTTTCTGTCTC CACTTTTT	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dCs;lnaTs;dGs;lnaT s;dCs;lnaTs;dCs;lna Cs;dAs;lnaCs;dTs;ln aTs;dTs;lnaTs;dT-Su p

10

20

30

40

【表 9 - 3】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
380	PTEN-113 m02	TTTTTGGGAATA AAACGGG	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dGs;lnaA s;dAs;lnaTs;dAs;lna As;dAs;lnaAs;dCs;ln aGs;dGs;lnaG-Sup
381	PTEN-114 m02	TTTTACAATTG AGAAAACA	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dAs;lnaCs;dAs;lnaA s;dTs;lnaTs;dGs;lna As;dGs;lnaAs;dAs;ln aAs;dAs;lnaCs;dA-Su p
382	PTEN-115 m02	TTTTCAGTTTT AAGTGGAG	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaT s;dTs;lnaTs;dTs;lna As;dAs;lnaGs;dTs;ln aGs;dGs;lnaAs;dG-Su p
383	PTEN-116 m02	TTTTTGACAAG AATGAGAC	PTEN	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dAs;lnaC s;dAs;lnaAs;dGs;lna As;dAs;lnaTs;dGs;ln aAs;dGs;lnaAs;dC-Su p
384	NFE2L2-0 1 m02	AACAGTCATAA TAAT	NFE2L2	3'	ヒト	dAs;lnaAs;dCs;lnaAs ;dGs;lnaTs;dCs;lnaA s;dTs;lnaAs;dAs;lna Ts;dAs;lnaAs;dT-Sup
385	NFE2L2-0 2 m02	TAATTTAACAG TCAT	NFE2L2	3'	ヒト	dTs;lnaAs;dAs;lnaTs ;dTs;lnaTs;dAs;lnaA s;dCs;lnaAs;dGs;lna Ts;dCs;lnaAs;dT-Sup
386	NFE2L2-0 3 m02	GCACGCTATAA AGCA	NFE2L2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dAs;lnaCs ;dGs;lnaCs;dTs;lnaA s;dTs;lnaAs;dAs;lna As;dGs;lnaCs;dA-Sup
387	NFE2L2-0 4 m02	CCCCGGGCTGG GCTT	NFE2L2	5'	ヒト	dCs;lnaCs;dCs;lnaGs ;dGs;lnaGs;dGs;lnaC s;dTs;lnaGs;dGs;lna Gs;dCs;lnaTs;dT-Sup
388	NFE2L2-0 5 m02	CCCCGCTCCGC CTCC	NFE2L2	5'	ヒト	dCs;lnaCs;dCs;lnaCs ;dGs;lnaCs;dTs;lnaC s;dCs;lnaGs;dCs;lna Cs;dTs;lnaCs;dC-Sup
389	NFE2L2-0 6 m02	GCGCCTCCCTG ATTT	NFE2L2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaTs;dCs;lnaC s;dCs;lnaTs;dGs;lna As;dTs;lnaTs;dT-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 4】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
390	NFE2L2-07 m02	TCGCCGCGGTG GCTG	NFE2L2	5'	ヒト	dTs;lnaCs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dCs;lnaGs;dGs;lnaTs;dGs;lnaGs;dCs;lnaTs;dG-Sup
391	NFE2L2-08 m02	CAGCGAATGGT CGCG	NFE2L2	5'	ヒト	dCs;lnaAs;dGs;lnaCs ;dGs;lnaAs;dAs;lnaTs;dGs;lnaGs;dTs;lnaCs;dGs;lnaCs;dG-Sup
392	NFE2L2-09 m02	TTTTTAACAGT CATAATAAT	NFE2L2	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaAs;dAs;lnaCs;dAs;lnaGs;dTs;lnaCs;dAs;lnaTs;dAs;lnaAs;dTs;lnaAs;dAs;lnaT-Sup
393	NFE2L2-10 m02	TTTTTAATTTA ACAGTCAT	NFE2L2	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaAs;dAs;lnaTs;dTs;lnaTs;dAs;lnaAs;dCs;lnaAs;dGs;lnaTs;dCs;lnaAs;dT-Sup
394	ATP2A2-56 m02	GCGGCGGCTGC TCTA	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dGs;lnaGs ;dCs;lnaGs;dGs;lnaCs;dTs;lnaGs;dCs;lnaTs;dCs;lnaTs;dA-Sup
395	ATP2A2-34 m02	TTATCGGCCGC TGCC	ATP2A2	5'	ヒト	dTs;lnaTs;dAs;lnaTs ;dCs;lnaGs;dGs;lnaCs;dCs;lnaGs;dCs;lnaTs;dGs;lnaCs;dC-Sup
396	ATP2A2-57 m02	GCGTCGGGGAC GGCT	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dGs;lnaTs ;dCs;lnaGs;dGs;lnaGs;dGs;lnaAs;dCs;lnaGs;dGs;lnaCs;dT-Sup
397	ATP2A2-58 m02	GCGGAGGAAAC TGCG	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dGs;lnaGs ;dAs;lnaGs;dGs;lnaAs;dAs;lnaAs;dCs;lnaTs;dGs;lnaCs;dG-Sup
398	ATP2A2-59 m02	GCCGCACGCC GACA	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dCs;lnaGs ;dCs;lnaAs;dCs;lnaGs;dCs;lnaCs;dCs;lnaGs;dAs;lnaCs;dA-Sup
399	ATP2A2-60 m02	CCTGACCCACC CTCC	ATP2A2	5'	ヒト	dCs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dAs;lnaCs;dCs;lnaCs;dAs;lnaCs;dCs;lnaCs;dTs;lnaCs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 5】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
400	ATP2A2-6 1 m02	AGGGCAGGCCG CGGC	ATP2A2	5'	ヒト	dAs;lnaGs;dGs;lnaGs ;dCs;lnaAs;dGs;lnaG s;dCs;lnaCs;dGs;lna Cs;dGs;lnaGs;dC-Sup
401	ATP2A2-6 2 m02	CTGAATCACCC CGCG	ATP2A2	5'	ヒト	dCs;lnaTs;dGs;lnaAs ;dAs;lnaTs;dCs;lnaA s;dCs;lnaCs;dCs;lna Cs;dGs;lnaCs;dG-Sup
402	ATP2A2-6 3 m02	GGCCCCGAGCT CCGC	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaCs;dGs;lnaA s;dGs;lnaCs;dTs;lna Cs;dCs;lnaGs;dC-Sup
403	ATP2A2-6 4 m02	GCGGCTGCTCT AATA	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dGs;lnaGs ;dCs;lnaTs;dGs;lnaC s;dTs;lnaCs;dTs;lna As;dAs;lnaTs;dA-Sup
404	ATP2A2-6 5 m02	CGCCGCGGCAT GTGG	ATP2A2	5'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dGs;lnaCs;dGs;lnaG s;dCs;lnaAs;dTs;lna Gs;dTs;lnaGs;dG-Sup
405	ATP2A2-6 6 m02	CCCTCCTCCTC TTGC	ATP2A2	5'	ヒト	dCs;lnaCs;dCs;lnaTs ;dCs;lnaCs;dTs;lnaC s;dCs;lnaTs;dCs;lna Ts;dTs;lnaGs;dC-Sup
406	ATP2A2-6 7 m02	GGCCGCGGGCT CGTG	ATP2A2	5'	ヒト	dGs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dGs;lnaCs;dGs;lnaG s;dGs;lnaCs;dTs;lna Cs;dGs;lnaTs;dG-Sup
407	ATP2A2-6 8 m02	GTTATTTTCT CTGT	ATP2A2	3'	ヒト	dGs;lnaTs;dTs;lnaAs ;dTs;lnaTs;dTs;lnaT s;dTs;lnaCs;dTs;lna Cs;dTs;lnaGs;dT-Sup
408	ATP2A2-6 9 m02	ATTTAAATGT TTTA	ATP2A2	3'	ヒト	dAs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dAs;lnaAs;dAs;lnaA s;dTs;lnaGs;dTs;lna Ts;dTs;lnaTs;dA-Sup
409	ATP2A2-7 0 m02	TCTCTGTCCAT TTAA	ATP2A2	3'	ヒト	dTs;lnaCs;dTs;lnaCs ;dTs;lnaGs;dTs;lnaC s;dCs;lnaAs;dTs;lna Ts;dTs;lnaAs;dA-Sup
410	ATP2A2-7 1 m02	TCATTTGGTCA TGTG	ATP2A2	3'	ヒト	dTs;lnaCs;dAs;lnaTs ;dTs;lnaTs;dGs;lnaG s;dTs;lnaCs;dAs;lna Ts;dGs;lnaTs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 6】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
411	ATP2A2-7 2 m02	TAGTTCTCTGT ACAT	ATP2A2	3'	ヒト	dTs;lnaAs;dGs;lnaTs ;dTs;lnaCs;dTs;lnaC s;dTs;lnaGs;dTs;lna As;dCs;lnaAs;dT-Sup
412	ATP2A2-7 3 m02	TCTGCTGGCTC AACT	ATP2A2	3'	ヒト	dTs;lnaCs;dTs;lnaGs ;dCs;lnaTs;dGs;lnaG s;dCs;lnaTs;dCs;lna As;dAs;lnaCs;dT-Sup
413	ATP2A2-7 4 m02	ATCATAGAATA GATT	ATP2A2	3'	ヒト	dAs;lnaTs;dCs;lnaAs ;dTs;lnaAs;dGs;lnaA s;dAs;lnaTs;dAs;lna Gs;dAs;lnaTs;dT-Sup
414	ATP2A2-7 5 m02	TTATCATAGAA TAGA	ATP2A2	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dAs;lnaTs ;dCs;lnaAs;dTs;lnaA s;dGs;lnaAs;dAs;lna Ts;dAs;lnaGs;dA-Sup
415	ATP2A2-7 6 m02	AATTGACATTT AGCA	ATP2A2	3'	ヒト	dAs;lnaAs;dTs;lnaTs ;dGs;lnaAs;dCs;lnaA s;dTs;lnaTs;dTs;lna As;dGs;lnaCs;dA-Sup
416	ATP2A2-7 7 m02	GACATTTAGCA TTTT	ATP2A2	3'	ヒト	dGs;lnaAs;dCs;lnaAs ;dTs;lnaTs;dTs;lnaA s;dGs;lnaCs;dAs;lna Ts;dTs;lnaTs;dT-Sup
417	ATP2A2-7 8 m02	TTAACCATTCA ACAC	ATP2A2	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dAs;lnaAs ;dCs;lnaCs;dAs;lnaT s;dTs;lnaCs;dAs;lna As;dCs;lnaAs;dC-Sup
418	mKLF4-01 m02	CTTGCCCGGG AACT	KLF4	5'	マウス	dCs;lnaTs;dTs;lnaGs ;dGs;lnaCs;dCs;lnaG s;dGs;lnaGs;dGs;lna As;dAs;lnaCs;dT-Sup
419	mKLF4-02 m02	GCCGGGGAAC TGGC	KLF4	5'	マウス	dGs;lnaCs;dCs;lnaGs ;dGs;lnaGs;dGs;lnaA s;dAs;lnaCs;dTs;lna Gs;dCs;lnaCs;dG-Sup
420	mKLF4-03 m02	CGCCCGGAGCC GCGC	KLF4	5'	マウス	dCs;lnaGs;dCs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dGs;lnaA s;dGs;lnaCs;dCs;lna Gs;dCs;lnaGs;dC-Sup
421	mKLF4-04 m02	CTTGCCCGGG AACTCC	KLF4	5'	マウス	dCs;lnaTs;dTs;lnaGs ;dGs;lnaCs;dCs;lnaG s;dGs;lnaGs;dGs;lna As;dAs;lnaCs;dTs;l naCs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 7】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
422	mKLF4-05 m02	GCCGGGGAAC T GCCGC	KLF4	5'	マウス	dGs;lNaCs;dCs;lNaGs ;dGs;lNaGs;dGs;lNaA s;dAs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dCs;lNaCs;dGs;lNaC-Sup
423	mKLF4-06 m02	CGCCCGGAGCC GCGCC	KLF4	5'	マウス	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs ;dCs;lNaGs;dGs;lNaA s;dGs;lNaCs;dCs;lNa Gs;dCs;lNaGs;dCs;lNaC-Sup
424	mKLF4-07 m02	CTTGCCGGGG AACTATAAAAT TC	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lNa As;dTs;dAs;dAs;dAs ;dAs;lNaTs;dTs;lNaC-Sup
425	mKLF4-08 m02	CTTGCCGGGG AACTTTTGTG GTTTCAGATAAA A	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Gs;dTs;lNaCs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dAs;lNa Gs;dAs;lNaTs;dAs;lNa As;dAs;lNaA-Sup
426	mKLF4-09 m02	CTTGCCGGGG AACTTTTTCAG ATAAAATATT	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaGs;dAs;lNa Ts;dAs;lNaAs;dAs;lNa As;dTs;lNaAs;dTs;lNa T-Sup
427	mKLF4-10 m02	CTTGCCGGGG AACTGTCGTC AGATAAAA	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lNa Gs;dTs;lNaCs;dGs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dAs;lNa Gs;dAs;lNaTs;dAs;lNa As;dAs;lNaA-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 8】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
428	mKLF4-11 m02	CTTGCCGGGG AACTTTCAGAT AAAATATT	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dTs;lNaGs ;dGs;lNaCs;dCs;lNaG s;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dTs;lNa aTs;dTs;lNaCs;dAs;l NaGs;dAs;lNaTs;dAs; lNaAs;dAs;lNaAs;dTs ;lNaAs;dTs;lNaT-Sup
429	mKLF4-12 m02	CCGGGGAACCTT TTTGTCGTTCA GA	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaCs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaGs;dAs;lNaA s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dGs;lNa aTs;dCs;lNaGs;dTs;l NaTs;dCs;lNaAs;dGs; lNaA-Sup
430	mKLF4-13 m02	CGGGGAACCTT TTCAGATAAA	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaGs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaAs;dAs;lNaC s;dTs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dTs;lNaCs;dAs;lNa Gs;dAs;lNaTs;dAs;l NaAs;dA-Sup
431	mKLF4-14 m02	CGGGGAACGT CGTTCAGA	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaGs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaAs;dAs;lNaC s;dTs;lNaGs;dTs;lNa Cs;dGs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaGs;dA-Su p
432	mKLF4-15 m02	CCGGGGAACCTT TCAGATAAA	KLF4	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaCs;dGs;lNaGs ;dGs;lNaGs;dAs;lNaA s;dCs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dCs;lNaAs;dGs;lNa aAs;dTs;lNaAs;dAs;l NaA-Sup
433	mKLF4-16 m02	GTCGTTTCAGAT AAAA	KLF4	3'	マウス	dGs;lNaTs;dCs;lNaGs ;dTs;lNaTs;dCs;lNaA s;dGs;lNaAs;dTs;lNa As;dAs;lNaAs;dA-Sup
434	mKLF4-17 m02	TTCAGATAAAA TATT	KLF4	3'	マウス	dTs;lNaTs;dCs;lNaAs ;dGs;lNaAs;dTs;lNaA s;dAs;lNaAs;dAs;lNa Ts;dAs;lNaTs;dT-Sup
435	mKLF4-18 m02	TTTTTGTCGTT CAGATAAAA	KLF4	3'	マウス	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaGs;dTs;lNaC s;dGs;lNaTs;dTs;lNa Cs;dAs;lNaGs;dAs;lNa aTs;dAs;lNaAs;dAs;l NaA-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 9】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
436	mKLF4-19 m02	TTTTTCAGATA AAATATT	KLF4	3'	マウス	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs ;dTs;lNaCs;dAs;lNaG s;dAs;lNaTs;dAs;lNa As;dAs;lNaAs;dTs;ln aAs;dTs;lNaT-Sup
437	mFXN-01 m02	CTCCGCGGCCG CTCC	FXN	5'	マウス	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaCs;dGs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dC-Sup
438	mFXN-02 m02	GCCCACATGCT ACTC	FXN	5'	マウス	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dTs;lNa As;dCs;lNaTs;dC-Sup
439	mFXN-03 m02	TCCGAACGCCC ACAT	FXN	5'	マウス	dTs;lNaCs;dCs;lNaGs ;dAs;lNaAs;dCs;lNaG s;dCs;lNaCs;dCs;lNa As;dCs;lNaAs;dT-Sup
440	mFXN-04 m02	CGAGGACTCGG TGGT	FXN	5'	マウス	dCs;lNaGs;dAs;lNaGs ;dGs;lNaAs;dCs;lNaT s;dCs;lNaGs;dGs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dT-Sup
441	mFXN-05 m02	CCAGCTCCGCG GCCG	FXN	5'	マウス	dCs;lNaCs;dAs;lNaGs ;dCs;lNaTs;dCs;lNaC s;dGs;lNaCs;dGs;lNa Gs;dCs;lNaCs;dG-Sup
442	mFXN-06 m02	CTCCGCGGCCG CTCCC	FXN	5'	マウス	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaCs;dGs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dCs;ln aC-Sup
443	mFXN-07 m02	GCCCACATGCT ACTCC	FXN	5'	マウス	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dTs;lNa As;dCs;lNaTs;dCs;ln aC-Sup
444	mFXN-08 m02	CTCCGCGGCCG CTCCTCAAAGA TC	FXN	5'	マウス	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaCs;dGs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dCs;ln aTs;dCs;dAs;dAs;dAs ;dGs;lNaAs;dTs;lNaC -Sup

10

20

30

40



【表 9 - 10】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
445	mFXN-09 m02	GCCCACATGCT ACTCCCAAAGG TC	FXN	5'	マウス	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dTs;lNa As;dCs;lNaTs;dCs;lNa Cs;dCs;dAs;dAs;dAs ;dGs;lNaGs;dTs;lNaC -Sup
446	mFXN-10 m02	CTCCGCGGCCG CTCCTTTTGG GAGGGAACACA CT	FXN	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaCs;dGs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dCs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dAs;lNa Cs;dAs;lNaCs;dT-Sup
447	mFXN-11 m02	GCCCACATGCT ACTCTTTTGG GAGGGAACACA CT	FXN	5' およ び 3'	マウス	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dTs;lNa As;dCs;lNaTs;dCs;lNa Ts;dTs;lNaTs;dTs;lNa Ts;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dGs;lNaGs;dGs;lNa As;dAs;lNaCs;dAs;lNa Cs;dAs;lNaCs;dT-Sup
448	mFXN-12 m02	CTCCGCGGCCG CTCCGGGAGGG AACACACT	FXN	5' およ び 3'	マウス	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs ;dGs;lNaCs;dGs;lNaG s;dCs;lNaCs;dGs;lNa Cs;dTs;lNaCs;dCs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dAs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dAs;lNa As;dCs;lNaAs;dCs;lNa As;dCs;lNaT-Sup
449	mFXN-13 m02	GCCCACATGCT ACTCGGGAGGG AACACACT	FXN	5' およ び 3'	マウス	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs ;dAs;lNaCs;dAs;lNaT s;dGs;lNaCs;dTs;lNa As;dCs;lNaTs;dCs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dAs;lNa Gs;dGs;lNaGs;dAs;lNa As;dCs;lNaAs;dCs;lNa As;dCs;lNaT-Sup

10

20

30

40

【表 9 - 1 1】

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
450	mFXN-14 m02	CGGCCGCTCCG GGAGGGAAC	FXN	5' およ び 3'	マウス	dCs;lnaGs;dGs;lnaCs ;dCs;lnaGs;dCs;lnaTs s;dCs;lnaCs;dGs;lna Gs;dGs;lnaAs;dGs;ln aGs;dGs;lnaAs;dAs;l naC-Sup
451	mFXN-15 m02	CATGCTACTCG GGAGGGAAC	FXN	5' およ び 3'	マウス	dCs;lnaAs;dTs;lnaGs ;dCs;lnaTs;dAs;lnaC s;dTs;lnaCs;dGs;lna Gs;dGs;lnaAs;dGs;ln aGs;dGs;lnaAs;dAs;l naC-Sup
452	mFXN-16 m02	GGGAGGGAACA CACT	FXN	3'	マウス	dGs;lnaGs;dGs;lnaAs ;dGs;lnaGs;dGs;lnaA s;dAs;lnaCs;dAs;lna Cs;dAs;lnaCs;dT-Sup
453	mFXN-17 m02	GGGGTCTTCAC CTGA	FXN	3'	マウス	dGs;lnaGs;dGs;lnaGs ;dTs;lnaCs;dTs;lnaT s;dCs;lnaAs;dCs;lna Cs;dTs;lnaGs;dA-Sup
454	mFXN-18 m02	GGCTGTTATAT CATG	FXN	3'	マウス	dGs;lnaGs;dCs;lnaTs ;dGs;lnaTs;dTs;lnaA s;dTs;lnaAs;dTs;lna Cs;dAs;lnaTs;dG-Sup
455	mFXN-19 m02	GGCATTTTAAG ATGG	FXN	3'	マウス	dGs;lnaGs;dCs;lnaAs ;dTs;lnaTs;dTs;lnaT s;dAs;lnaAs;dGs;lna As;dTs;lnaGs;dG-Sup
456	mFXN-20 m02	TTTTTGGGAGG GAACACACT	FXN	3'	マウス	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dGs;lnaG s;dAs;lnaGs;dGs;lna Gs;dAs;lnaAs;dCs;ln aAs;dCs;lnaAs;dCs;l naT-Sup
457	mFXN-21 m02	TTTTTGGCTGT TATATCATG	FXN	3'	マウス	dTs;lnaTs;dTs;lnaTs ;dTs;lnaGs;dGs;lnaC s;dTs;lnaGs;dTs;lna Ts;dAs;lnaTs;dAs;ln aTs;dCs;lnaAs;dTs;l naG-Sup

10

20

30

40

#### 実施例 7 . P T E N および K L F 4 オリゴ 方法

##### 【 0 2 7 8 】

タンパク質の計測：H e p a 1 - 6 および G M 0 4 0 7 8 細胞を 1 5 0 0 0 0 細胞 / ウェルでプレーティングした。それらの細胞を、L i p o f e c t a m i n e 2 0 0 0 を使用して P T E N または K L F 4 オリゴでトランスフェクトした。5 0 n M の各 P T E N オリゴをトランスフェクションのために使用した。2 つのオリゴを 1 つの実験において組み合わせる場合、3 0 n M の各 P T E N オリゴをトランスフェクションのために使用した。

50

50 nMの各K L F 4オリゴをトランスフェクションのために使用した。2つのオリゴを1つの実験において組み合わせる場合、50 nMの各P T E Nオリゴをトランスフェクションのために使用した。P T E Nオリゴの場合はトランスフェクションの1もしくは2日後に、またはK L F 4オリゴの場合はトランスフェクションの3日後に、溶解産物を細胞から回収した。検出のために使用した抗体は、C e l l S i g n a l i n g K L F 4 4038およびC e l l S i g n a l i n g P T E N 9552だった。

#### 【0279】

R N Aの計測：H e p a 1 - 6およびG M 0 4 0 7 8を4000細胞/ウェルでプレATINGした。それらの細胞を、L i p o f e c t a m i n e 2000を使用してオリゴでトランスフェクトした。30 nMの各P T E Nオリゴをトランスフェクションのために使用した。2つのオリゴを1つの実験において組み合わせる場合、30 nMの各P T E Nオリゴをトランスフェクションのために使用した。50 nMの各K L F 4オリゴをトランスフェクションのために使用した。2つのオリゴを1つの実験において組み合わせる場合、50 nMの各P T E Nオリゴをトランスフェクションのために使用した。トランスフェクションの3日後に回収された溶解産物からR N Aを抽出した。C e l l s - t o - C t ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) 手順を使用して、製造者のプロトコルに従ってR N Aレベルを解析した。使用したT a q m a n (登録商標)プローブは、L i f e T e c h n o l o g i e s 製だった：

K L F 4 M m 0 0 5 1 6 1 0 4 \_\_ m 1  
P T E N H s 0 2 6 2 1 2 3 0 \_\_ s 1  
アクチン H s 0 1 0 6 0 6 6 5 \_\_ g 1  
G a p d h H s 0 2 7 5 8 9 9 1 \_\_ g 1

#### 【0280】

アクチノマイシンD処理：アクチノマイシンD ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) を10マイクログラム/mlの濃度で細胞培養液に加え、インキュベートした。T r i z o l ( S i g m a ) を製造者の指示書に従って使用して、R N Aの単離を行った。K L F 4プローブは、L i f e T e c h n o l o g i e s から購入した。

#### 【0281】

試験されたオリゴ配列：図44～48において試験されたオリゴは、表9に提供されたものと同じオリゴ配列に対応する。例えば、図44AにおけるP T E N 101は、表9におけるP T E N - 101と同じであり、図46におけるm K L F 4 - 1 m 0 2 は、表9におけるm K L F 4 - 1 m 0 2 と同じであるなど。

#### 結果

#### 【0282】

P T E Nに特異的なオリゴヌクレオチドを、細胞を各オリゴで処理することによって試験した。いくつかのP T E Nオリゴは、処理された細胞においてP T E N m R N Aレベルをアップレギュレートできた(図44Aおよび44B)。P T E Nオリゴ108および113は、組み合わせたとき、別々に使用されたいずれかのオリゴよりも、処理された細胞において、P T E Nタンパク質レベルもアップレギュレートできた(図45)。

#### 【0283】

K L F 4に特異的なオリゴヌクレオチドを、細胞を各オリゴで処理することによって試験した。いくつかのK L F 4オリゴは、処理された細胞においてK L F 4 m R N Aレベルをアップレギュレートできた(図46)。単独でまたは組み合わせて使用されたいくつかのK L F 4オリゴは、処理された細胞において、K L F 4タンパク質レベルもアップレギュレートできた(図47および48)。

#### 【0284】

別の実験では、細胞をアクチノマイシンDおよび環状化オリゴまたは他のタイプの安定性オリゴで処理し、K L F 4の安定性を計測した。R N A安定性の上昇レベル(約2時間対 約4～8時間)は、「環状化」オリゴと個々の5' / 3' 末端オリゴとの間で匹敵していたことが見出されたことから、両方のタイプのオリゴが有効であることが示された

10

20

30

40

50

(図49)。

【0285】

これらの結果から、mRNAレベルとタンパク質レベルの両方が、RNAの安定性を高めることができるオリゴを使用してアップレギュレートされ得ると証明される。

実施例8．mRNA半減期が長い遺伝子におけるmRNA安定性の増大

方法

【0286】

RNAの計測：RNA解析、cDNA合成およびQRT-PCRを、Life Technologies Cells-to-CtキットおよびStepOne Plus装置を用いて行った。ACTBオリゴを、RNAimax (Life Technologies) を使用して30nMの濃度においてHep3B細胞にトランスフェクトした。組み合わせの場合、各オリゴを30nMの濃度でトランスフェクトした。RNA解析を、Life Technologiesから購入したアクチンプライマー (Hs01060665\_\_g1) およびGAPDHプライマー (Hs02758991\_\_g1, ハウスキーパーコントロール) を使用してCells-to-Ctキット (Life Technologies) を用いて行った。

10

【0287】

試験されたオリゴ配列：図50において試験されたオリゴは、表7に提供されたものと同じオリゴ配列に対応する。例えば、図50におけるACTB-8は、表7におけるACTB-8と同じであり、図50におけるACTB-9は、表7におけるACTB-9と同じであるなど。

20

結果

【0288】

アクチン-ベータは、高度に安定したmRNAを有するハウスキーパー遺伝子である。アクチン-ベータmRNAに特異的なオリゴヌクレオチドを、各オリゴまたはそれらの組み合わせで細胞を処理することによって試験した。いくつかのオリゴ、5'標的化オリゴと3'標的化オリゴの両方、ならびに環状化オリゴは、アクチン-ベータmRNAレベルをアップレギュレートできた(図50)。これらのデータは、安定性オリゴが、すでに高度に安定しているmRNAの安定性さえも改善し得ることを示している。

【0289】

30

前述の記載された明細書は、当業者が本発明を実施することを可能にするのに十分であると考えられる。実施例は、本発明の1つの態様の単一の例証として意図されており、他の機能的に等価な実施形態も本発明の範囲内であるので、本発明は、提供された実施例によって範囲を限定されるべきでない。本明細書中に示されたものおよび記載されものに加えて、本発明の様々な改変が、前述の説明から当業者に明らかになるだろうし、そのような改変は、添付の請求項の範囲内に入る。本発明の利点および目的は、必ずしも本発明の各実施形態によって包含されない。

実施例9．さらなる5'および3'末端標的化オリゴヌクレオチド

【0290】

表10は、複数のヒト遺伝子およびマウス遺伝子に対するさらなる例示的なRNA 5'および3'末端標的化オリゴを提供している。

40

【表 10 - 1】

表 10. RNA の 5' および 3' 末端を標的化するようにデザインされたオリゴヌクレオチド

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
459	FXN-654 <sub>m02</sub>	TGTCTCATTTGGAGA	FXN	3'	ヒト	dTs;lNaGs;dTs;lNaCs;dTs;lNaCs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dGs;lNaGs;dAs;lNaGs;dA-Sup
460	FXN-655 <sub>m02</sub>	ATAATGAAGCTGGG	FXN	3'	ヒト	dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaG-Sup
461	FXN-656 <sub>m02</sub>	TTTTCCCTCCTGGAA	FXN	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaAs;dA-Sup
462	FXN-657 <sub>m02</sub>	TGCATAATGAAGCTG	FXN	3'	ヒト	dTs;lNaGs;dCs;lNaAs;dTs;lNaAs;dAs;lNaTs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dCs;lNaTs;dG-Sup
463	FXN-658 <sub>m02</sub>	AAATCCTTCAAAGAA	FXN	3'	ヒト	dAs;lNaAs;dAs;lNaTs;dCs;lNaCs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;dGs;lNaAs;dA-Sup
464	FXN-659 <sub>m02</sub>	TTGGAAGATTTTTTG	FXN	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dG-Sup
465	FXN-660 <sub>m02</sub>	GCATTCTGTAGCAG	FXN	3'	ヒト	dGs;lNaCs;dAs;lNaTs;dTs;lNaCs;dTs;lNaTs;dGs;lNaTs;dAs;lNaGs;dCs;lNaAs;dG-Sup
466	FXN-557 <sub>m02</sub>	ACAACAAAAACAGA	FXN	3'	ヒト	dAs;lNaCs;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dAs;lNaGs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 2】

467	FXN-66 2 m02	TGAAGCTGGGGTCTT	FXN	3'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaTs;dCs;lNaTs;dT-Sup
468	FXN-66 3 m02	CCTGAAAACATTTGT	FXN	3'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaGs;dT-Sup
469	FXN-66 4 m02	TTCATTTTCCCTCCT	FXN	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dT-Sup
470	FXN-66 5 m02	TTATTATTATTATAT	FXN	3'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaAs;dT-Sup
471	FXN-66 6 m02	TAACTTTGCATGAAT	FXN	3'	ヒ ト	dTs;lNaAs;dAs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaGs;dCs;lNaAs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dT-Sup
472	FXN-66 7 m02	ATACAAACATGTATG	FXN	3'	ヒ ト	dAs;lNaTs;dAs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dAs;lNaTs;dGs;lNaTs;dAs;lNaTs;dG-Sup
473	FXN-66 8 m02	ATTGTAAACCTATAA	FXN	3'	ヒ ト	dAs;lNaTs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dAs;lNaAs;dCs;lNaCs;dTs;lNaAs;dTs;lNaAs;dA-Sup
474	FXN-66 9 m02	TGGAGTTGGGGTTAT	FXN	3'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaTs;dTs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaTs;dTs;lNaAs;dT-Sup
475	FXN-67 0 m02	GTTGGGGTTATTTAG	FXN	3'	ヒ ト	dGs;lNaTs;dTs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 3】

476	FXN-67 1 m02	CTCCGCCCTCCAG	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaAs;dG-Sup
477	FXN-67 2 m02	CCGCCCTCCAG	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaAs;dG-Sup
478	FXN-67 3 m02	GCCCTCCAG	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaAs;dG-Sup
479	FXN-67 4 m02	CCCCTCCGCCCTCC	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dC-Sup
480	FXN-67 5 m02	CGCTCCGCCCTCC	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dC-Sup
481	FXN-67 6 m02	CTCCGCCCTCC	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dC-Sup
482	FXN-67 7 m02	CCGCCCTCC	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dC-Sup
483	FXN-67 8 m02	GCCACTGGCCGCA	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dCs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dA-Sup
484	FXN-67 9 m02	CACTGGCCGCA	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dA-Sup
485	FXN-68 0 m02	GCGACCCCTGGTG	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dGs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaTs;dG-Sup
486	FXN-68 1 m02	GACCCCTGGTG	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaTs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 4】

487	FXN-68 2 m02	CTGGCCGCAGGCA	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dAs;lNaGs;dGs;lNaCs;dA-Sup
488	FXN-68 3 m02	GGCCACTGGCCGC	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dC-Sup
489	FXN-68 4 m02	CTGGTGGCCACTG	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dTs;lNaGs;dGs;lNaCs;dCs;lNaAs;dCs;lNaTs;dG-Sup
490	FXN-68 5 m02	GACCCCTGGTGGC	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaTs;dGs;lNaGs;dC-Sup
491	FXN-68 6 m02	GCGGCGACCCCTG	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dGs;lNaGs;dCs;lNaGs;dAs;lNaCs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dG-Sup
492	FXN-68 7 m02	GTGCTGCGGCGAC	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaTs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dCs;lNaGs;dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dCs;lNaAs;dC-Sup
493	FXN-68 8 m02	GCTGGGTGCTGCG	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaGs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dG-Sup
494	FXN-68 9 m02	CCAGCGCTGGGTG	FXN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dAs;lNaGs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaTs;dG-Sup
495	FXN-69 0 m02	GCCCTCCAGCGCT	FXN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaAs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dT-Sup

10

20

30

40



【表 10 - 5】

496	FXN-69 1 m02	CGCCCGCTCCGCC	FXN	5'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dC-Sup
497	FXN-46 0 m1000	CGCCCTCCAGCGCTGT TTTTATTATTTTGCTT TTT	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;dT;dT;dT;dT;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dGs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup
498	FXN-46 1 m1000	CGCTCCGCCCTCCAGT TTTTATTATTTTGCTT TTT	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaAs;dGs;dT;dT;dT;dT;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dGs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup
499	FXN-52 3 m01	CAAGTCCAGTTTGTT T	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeAs;lNaAs;omeGs;lNaTs;omeCs;lNaCs;omeAs;lNaGs;omeUs;lNaTs;s;omeUs;lNaGs;omeGs;lNaTs;omeUs;lNaT-Sup
500	FXN-52 4 m01	GAATAGGCCAAGGAAG A	FXN	3'	ヒト	lNaGs;omeAs;lNaAs;omeUs;lNaAs;omeGs;lNaGs;omeCs;lNaCs;omeAs;lNaAs;omeGs;lNaGs;omeAs;lNaAs;omeGs;lNaA-Sup
501	FXN-52 5 m01	ATCAAGCATCTTTTCC G	FXN	3'	ヒト	lNaAs;omeUs;lNaCs;omeAs;lNaAs;omeGs;lNaCs;omeAs;lNaTs;omeCs;lNaTs;s;omeUs;lNaTs;omeUs;lNaCs;omeCs;lNaG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 6】

502	FXN-52 6 m01	TTAAAACGGGGCTGGG C	FXN	3'	ヒト	lNaTs;omeUs;lNaA s;omeAs;lNaAs;om eAs;lNaCs;omeGs; lNaGs;deaGs;lNaG s;omeCs;lNaTs;om eGs;lNaGs;omeGs; lNaC-Sup
503	FXN-52 7 m01	GATAGCTTTTAATGTC C	FXN	3'	ヒト	lNaGs;omeAs;lNaT s;omeAs;lNaGs;om eCs;lNaTs;omeUs; lNaTs;omeUs;lNaA s;omeAs;lNaTs;om eGs;lNaTs;omeCs; lNaC-Sup
504	FXN-52 8 m01	AGCTGGGGTCTTGGCC T	FXN	3'	ヒト	lNaAs;omeGs;lNaC s;omeUs;lNaGs;de aGs;lNaGs;omeGs; lNaTs;omeCs;lNaT s;omeUs;lNaGs;om eGs;lNaCs;omeCs; lNaT-Sup
505	FXN-52 9 m01	CCTCAGCTGCATAATG A	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaT s;omeCs;lNaAs;om eGs;lNaCs;omeUs; lNaGs;omeCs;lNaA s;omeUs;lNaAs;om eAs;lNaTs;omeGs; lNaA-Sup
506	FXN-53 0 m01	CAACAACAAAAACAG A	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeAs;lNaA s;omeCs;lNaAs;om eAs;lNaCs;omeAs; lNaAs;omeAs;lNaA s;omeAs;lNaAs;om eCs;lNaAs;omeGs; lNaA-Sup
507	FXN-53 1 m01	AAAAAATAAACAACA A	FXN	3'	ヒト	lNaAs;omeAs;lNaA s;omeAs;lNaAs;om eAs;lNaAs;omeUs; lNaAs;omeAs;lNaA s;omeCs;lNaAs;om eAs;lNaCs;omeAs; lNaA-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 7】

508	FXN-53 2 m01	CCTCAAAAGCAGGAAT A	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaTs; omeCs;lNaAs;omeAs; lNaGs;omeCs;lNaAs; omeGs;lNaGs;omeAs; lNaAs;omeUs;lNaA-Sup
509	FXN-53 3 m01	ACACATAGCCCAACTG T	FXN	3'	ヒト	lNaAs;omeCs;lNaAs; omeCs;lNaAs;omeUs; lNaAs;omeGs;lNaCs; omeCs;lNaAs;omeCs; lNaTs;omeGs;lNaT-Sup
510	FXN-53 4 m01	CTTTCTACAGAGCTGT G	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeUs;lNaTs; omeUs;lNaCs;omeUs; lNaAs;omeCs;lNaAs; omeGs;lNaCs;omeUs; lNaGs;omeUs;lNaG-Sup
511	FXN-53 5 m01	GTAGGAGGCAACACAT T	FXN	3'	ヒト	lNaGs;omeUs;lNaAs; omeGs;lNaGs;omeAs; lNaGs;omeGs;lNaCs; omeAs;lNaAs;omeCs; lNaAs;omeUs;lNaT-Sup
512	FXN-53 6 m01	CAGAACTTGGGGCAA G	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeAs;lNaGs; omeAs;lNaAs;omeCs; lNaTs;omeUs;lNaGs; deaGs;lNaGs;omeCs; lNaAs;omeAs;lNaG-Sup
513	FXN-53 7 m01	CCATAGAAATTAAAAA T	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaAs; omeUs;lNaAs;omeGs; lNaAs;omeAs;lNaAs; omeUs;lNaTs;omeAs; lNaAs;omeAs;lNaT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 8】

514	FXN-53 8 m01	ACAATCCAAAAATCT T	FXN	3'	ヒト	lnaAs;omeCs;lnaA s;omeAs;lnaTs;om eCs;lnaCs;omeAs; lnaAs;omeAs;lnaA s;omeAs;lnaAs;om eUs;lnaCs;omeUs; lnaT-Sup
515	FXN-53 9 m01	GTGAGGGAGGAAATCC G	FXN	3'	ヒト	lnaGs;omeUs;lnaG s;omeAs;lnaGs;om eGs;lnaGs;omeAs; lnaGs;omeGs;lnaA s;omeAs;lnaAs;om eUs;lnaCs;omeCs; lnaG-Sup
516	FXN-54 0 m01	AAGATAAGGGTATCA T	FXN	3'	ヒト	lnaAs;omeAs;lnaG s;omeAs;lnaTs;om eAs;lnaAs;omeGs; lnaGs;omeGs;lnaG s;omeUs;lnaAs;om eUs;lnaCs;omeAs; lnaT-Sup
517	FXN-54 1 m01	GGCATAAGACATTATA A	FXN	3'	ヒト	lnaGs;omeGs;lnaC s;omeAs;lnaTs;om eAs;lnaAs;omeGs; lnaAs;omeCs;lnaA s;omeUs;lnaTs;om eAs;lnaTs;omeAs; lnaA-Sup
518	FXN-54 2 m01	TGTTATATTCAGGTAT A	FXN	3'	ヒト	lnaTs;omeGs;lnaT s;omeUs;lnaAs;om eUs;lnaAs;omeUs; lnaTs;omeCs;lnaA s;omeGs;lnaGs;om eUs;lnaAs;omeUs; lnaA-Sup
519	FXN-54 3 m01	TTTGCTTTTTAAAGG T	FXN	3'	ヒト	lnaTs;omeUs;lnaT s;omeGs;lnaCs;om eUs;lnaTs;omeUs; lnaTs;omeUs;lnaT s;omeAs;lnaAs;om eAs;lnaGs;omeGs; lnaT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 9】

520	FXN-54 4 m01	TTTTTCCTTCTTATTA T	FXN	3'	ヒ ト	lnaTs;omeUs;lnaT s;omeUs;lnaTs;om eCs;lnaCs;omeUs; lnaTs;omeCs;lnaT s;omeUs;lnaAs;om eUs;lnaTs;omeAs; lnaT-Sup
521	FXN-54 5 m01	CATTTTCCTCCTGGA A	FXN	3'	ヒ ト	lnaCs;omeAs;lnaT s;omeUs;lnaTs;om eUs;lnaCs;omeCs; lnaCs;omeUs;lnaC s;omeCs;lnaTs;om eGs;lnaGs;omeAs; lnaA-Sup
522	FXN-54 6 m01	GAAGAGTGAAGACAAT T	FXN	3'	ヒ ト	lnaGs;omeAs;lnaA s;omeGs;lnaAs;om eGs;lnaTs;omeGs; lnaAs;omeAs;lnaG s;omeAs;lnaCs;om eAs;lnaAs;omeUs; lnaT-Sup
523	FXN-54 7 m01	TAAATCCTCAAAGAA T	FXN	3'	ヒ ト	lnaTs;omeAs;lnaA s;omeAs;lnaTs;om eCs;lnaCs;omeUs; lnaTs;omeCs;lnaA s;omeAs;lnaAs;om eGs;lnaAs;omeAs; lnaT-Sup
524	FXN-54 8 m01	TCATGTACTTCTTGCA G	FXN	3'	ヒ ト	lnaTs;omeCs;lnaA s;omeUs;lnaGs;om eUs;lnaAs;omeCs; lnaTs;omeUs;lnaC s;omeUs;lnaTs;om eGs;lnaCs;omeAs; lnaG-Sup
525	FXN-54 9 m01	GGTTGACCAGCTGCTC T	FXN	3'	ヒ ト	lnaGs;omeGs;lnaT s;omeUs;lnaGs;om eAs;lnaCs;omeCs; lnaAs;omeGs;lnaC s;omeUs;lnaGs;om eCs;lnaTs;omeCs; lnaT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 10】

526	FXN-55 0 m01	AGATAGAACAGTGAGC A	FXN	3'	ヒト	lnaAs;omeGs;lnaA s;omeUs;lnaAs;om eGs;lnaAs;omeAs; lnaCs;omeAs;lnaG s;omeUs;lnaGs;om eAs;lnaGs;omeCs; lnaA-Sup
527	FXN-55 1 m01	TAATGTGTCTCATTG G	FXN	3'	ヒト	lnaTs;omeAs;lnaA s;omeUs;lnaGs;om eUs;lnaGs;omeUs; lnaCs;omeUs;lnaC s;omeAs;lnaTs;om eUs;lnaTs;omeGs; lnaG-Sup
528	FXN-55 2 m01	ATTGTAGGCTACCCT T	FXN	3'	ヒト	lnaAs;omeUs;lnaT s;omeUs;lnaGs;om eUs;lnaAs;omeGs; lnaGs;omeCs;lnaT s;omeAs;lnaCs;om eCs;lnaCs;omeUs; lnaT-Sup
529	FXN-55 3 m01	GAAAGAAGCCTGAAAA C	FXN	3'	ヒト	lnaGs;omeAs;lnaA s;omeAs;lnaGs;om eAs;lnaAs;omeGs; lnaCs;omeCs;lnaT s;omeGs;lnaAs;om eAs;lnaAs;omeAs; lnaC-Sup
530	FXN-55 4 m01	AGAAGTGCTTACACTT T	FXN	3'	ヒト	lnaAs;omeGs;lnaA s;omeAs;lnaGs;om eUs;lnaGs;omeCs; lnaTs;omeUs;lnaA s;omeCs;lnaAs;om eCs;lnaTs;omeUs; lnaT-Sup
531	FXN-55 5 m01	TCAATGCTAAAGAGCT C	FXN	3'	ヒト	lnaTs;omeCs;lnaA s;omeAs;lnaTs;om eGs;lnaCs;omeUs; lnaAs;omeAs;lnaA s;omeGs;lnaAs;om eGs;lnaCs;omeUs; lnaC-Sup
532	Apoa1_ mus-01 m12	AGTCTGGGTGTCC	Apoa1	5'	マウス	lnaAs;dGs;lnaTs; dCs;lnaTs;dGs;ln aGs;dGs;lnaTs;dG s;lnaTs;dCs;lnaC -Sup

10

20

30

40

【表 10 - 11】

533	Apoa1_ mus-02 m12	CCGACAGTCTGGG	Apoa1	5'	マウス	lnaCs;dCs;lnaGs; dAs;lnaCs;dAs;ln aGs;dTs;lnaCs;dT s;lnaGs;dGs;lnaG -Sup
534	Apoa1_ mus-03 m12	CTCCGACAGTCTG	Apoa1	5'	マウス	lnaCs;dTs;lnaCs; dCs;lnaGs;dAs;ln aCs;dAs;lnaGs;dT s;lnaCs;dTs;lnaG -Sup
535	Apoa1_ mus-04 m12	GACAGTCTGGGTG	Apoa1	5'	マウス	lnaGs;dAs;lnaCs; dAs;lnaGs;dTs;ln aCs;dTs;lnaGs;dG s;lnaGs;dTs;lnaG -Sup
536	Apoa1_ mus-05 m12	CAGTCTGGGTG	Apoa1	5'	マウス	lnaCs;dAs;lnaGs; dTs;lnaCs;dTs;ln aGs;dGs;lnaGs;dT s;lnaG-Sup
537	Apoa1_ mus-06 m12	CTCAGCCTGGCCCTG	Apoa1	5'	マウス	lnaCs;dTs;lnaCs; dAs;lnaGs;dCs;ln aCs;dTs;lnaGs;dG s;lnaCs;dCs;lnaC s;dTs;lnaG-Sup
538	Apoa1_ mus-07 m12	AGTTCAAGGATCAGC	Apoa1	5'	マウス	lnaAs;dGs;lnaTs; dTs;lnaCs;dAs;ln aAs;dGs;lnaGs;dA s;lnaTs;dCs;lnaA s;dGs;lnaC-Sup
539	Apoa1_ mus-08 m12	GCTCTCCGACAGTCT	Apoa1	5'	マウス	lnaGs;dCs;lnaTs; dCs;lnaTs;dCs;ln aCs;dGs;lnaAs;dC s;lnaAs;dGs;lnaT s;dCs;lnaT-Sup
540	Apoa1_ mus-09 m12	TCTCCGACAGTCT	Apoa1	5'	マウス	lnaTs;dCs;lnaTs; dCs;lnaCs;dGs;ln aAs;dCs;lnaAs;dG s;lnaTs;dCs;lnaT -Sup
541	Apoa1_ mus-10 m12	TCCGACAGTCT	Apoa1	5'	マウス	lnaTs;dCs;lnaCs; dGs;lnaAs;dCs;ln aAs;dGs;lnaTs;dC s;lnaT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 12】

542	Apoa1_ mus-11 m12	CGGAGCTCTCCGACA	Apoa1	5'	マウス	lNaCs;dGs;lNaGs; dAs;lNaGs;dCs;ln aTs;dCs;lNaTs;dC s;lNaCs;dGs;lNaA s;dCs;lNaA-Sup
543	Apoa1_ mus-12 m12	GAGCTCTCCGACA	Apoa1	5'	マウス	lNaGs;dAs;lNaGs; dCs;lNaTs;dCs;ln aTs;dCs;lNaCs;dG s;lNaAs;dCs;lNaA -Sup
544	Apoa1_ mus-13 m12	GCTCTCCGACA	Apoa1	5'	マウス	lNaGs;dCs;lNaTs; dCs;lNaTs;dCs;ln aCs;dGs;lNaAs;dC s;lNaA-Sup
545	Apoa1_ mus-14 m12	CTATTCCATTTTGGGA	Apoa1	3'	マウス	lNaCs;dTs;lNaAs; dTs;lNaTs;dCs;ln aCs;dAs;lNaTs;dT s;lNaTs;dTs;lNaG s;dGs;lNaA-Sup
546	Apoa1_ mus-15 m12	CTATTCCATTTTG	Apoa1	3'	マウス	lNaCs;dTs;lNaAs; dTs;lNaTs;dCs;ln aCs;dAs;lNaTs;dT s;lNaTs;dTs;lNaG -Sup
547	Apoa1_ mus-16 m12	ATTCCATTTTGGAAA	Apoa1	3'	マウス	lNaAs;dTs;lNaTs; dCs;lNaCs;dAs;ln aTs;dTs;lNaTs;dT s;lNaGs;dGs;lNaA s;dAs;lNaA-Sup
548	Apoa1_ mus-17 m12	CCATTTTGGAAAGGT	Apoa1	3'	マウス	lNaCs;dCs;lNaAs; dTs;lNaTs;dTs;ln aTs;dGs;lNaGs;dA s;lNaAs;dAs;lNaG s;dGs;lNaT-Sup
549	Apoa1_ mus-18 m12	CCATTTTGGAAAG	Apoa1	3'	マウス	lNaCs;dCs;lNaAs; dTs;lNaTs;dTs;ln aTs;dGs;lNaGs;dA s;lNaAs;dAs;lNaG -Sup
550	Apoa1_ mus-19 m12	CATTTTGGAAAGGTT	Apoa1	3'	マウス	lNaCs;dAs;lNaTs; dTs;lNaTs;dTs;ln aGs;dGs;lNaAs;dA s;lNaAs;dGs;lNaG s;dTs;lNaT-Sup

10

20

30

40



【表 10 - 13】

551	Apoa1_ mus-20 m12	CATTTTGGAAAGG	Apoa1	3'	マウス	lNaCs;dAs;lNaTs; dT;s;lNaTs;dTs;lNa aGs;dGs;lNaAs;dA s;lNaAs;dGs;lNaG -Sup
552	Apoa1_ mus-21 m12	GGAAAGGTTATTGT	Apoa1	3'	マウス	lNaGs;dGs;lNaAs; dAs;lNaAs;dGs;lNa aGs;dTs;lNaTs;dT s;lNaAs;dTs;lNaT s;dGs;lNaT-Sup
553	Apoa1_ mus-22 m22	TCCGACAGTCTCCATT TTGGAA	Apoa1	5' お よ び 3'	マウス	lNaTs;dCs;dCs;lNa aGs;dAs;dCs;lNaA s;dGs;dTs;lNaCs; dT;s;dCs;lNaCs;dA s;dTs;lNaTs;dTs; dT;s;lNaGs;dGs;dA s;lNaA-Sup
554	Apoa1_ mus-23 m22	GCTCTCCGACACCATT TTGGAA	Apoa1	5' お よ び 3'	マウス	lNaGs;dCs;dTs;lNa aCs;dTs;dCs;lNaC s;dGs;dAs;lNaCs; dAs;dCs;lNaCs;dA s;dTs;lNaTs;dTs; dT;s;lNaGs;dGs;dA s;lNaA-Sup
555	Apoa1_ mus-24 m22	TCCGACAGTCTCATT TTGAAA	Apoa1	5' お よ び 3'	マウス	lNaTs;dCs;dCs;lNa aGs;dAs;dCs;lNaA s;dGs;dTs;lNaCs; dT;s;dCs;lNaAs;dT s;dTs;lNaTs;dTs; dGs;lNaGs;dAs;dA s;lNaA-Sup
556	Apoa1_ mus-25 m22	GCTCTCCGACACATT TTGAAA	Apoa1	5' お よ び 3'	マウス	lNaGs;dCs;dTs;lNa aCs;dTs;dCs;lNaC s;dGs;dAs;lNaCs; dAs;dCs;lNaAs;dT s;dTs;lNaTs;dTs; dGs;lNaGs;dAs;dA s;lNaA-Sup
557	FXN-76 1 m01	CCTCAAAAGCAGGAA	FXN	3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaT s;omeCs;lNaAs;om eAs;lNaAs;omeAs; lNaGs;omeCs;lNaA s;omeGs;lNaGs;om eAs;lNaA-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 14】

558	FXN-76 2 m01	CCTCAAAAGCAGG	FXN	3'	ヒト	lnaCs;omeCs;lnaTs; omeCs;lnaAs;omeAs; lnaGs;omeCs;lnaAs; omeGs;lnaG-Sup
559	FXN-76 3 m01	CCTCAAAAGCA	FXN	3'	ヒト	lnaCs;omeCs;lnaTs; omeCs;lnaAs;omeAs; lnaGs;omeCs;lnaA- Sup
560	FXN-76 4 m01	TCAAAAGCAGGAA	FXN	3'	ヒト	lnaTs;omeCs;lnaAs; omeAs;lnaAs;omeAs; lnaGs;omeCs;lnaGs; omeAs;lnaA-Sup
561	FXN-76 5 m01	CAAAAGCAGGA	FXN	3'	ヒト	lnaCs;omeAs;lnaAs; omeAs;lnaAs;omeGs; lnaCs;omeAs;lnaGs; omeGs;lnaA-Sup
562	FXN-76 6 m01	CCGCCCTCCAGCCTCA AAAGCAGGAAT	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lnaCs;omeCs;lnaGs; omeCs;lnaCs;omeCs; lnaTs;omeCs;lnaCs; omeAs;lnaGs;omeAs; lnaTs;lnaCs;omeAs; lnaAs;omeAs;lnaAs; omeGs;lnaCs;omeAs; lnaGs;omeGs;lnaAs; omeAs;lnaT-Sup
563	FXN-76 7 m01	CCGCCCTCCAGCCTCA AAAGCAGGA	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lnaCs;omeCs;lnaGs; omeCs;lnaCs;omeCs; lnaTs;omeCs;lnaCs; omeAs;lnaGs;omeAs; lnaTs;lnaCs;omeAs; lnaAs;omeAs;lnaAs; omeGs;lnaCs;omeAs; lnaGs;omeGs;lnaA- Sup

10

20

30

40

【表 10 - 15】

564	FXN-76 8 m01	CCGCCCTCCAGCCTCA AAAGCAG	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaCs; omeAs;lNaGs;omeCs; lNaCs;omeTs;lNaCs; omeAs;lNaAs;omeAs; lNaAs;omeGs;lNaCs; omeAs;lNaG-Sup
565	FXN-76 9 m01	CCGCCCTCCAGCCTCA AAAGC	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaCs; omeAs;lNaGs;omeCs; lNaCs;omeTs;lNaCs; omeAs;lNaAs;omeAs; lNaAs;omeGs;lNaC-Sup
566	FXN-77 0 m01	GCCCTCCAGCCTCAAA AGCAGGAAT	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaCs; omeCs;lNaTs;omeCs; lNaCs;omeAs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeTs; lNaCs;omeAs;lNaAs; omeAs;lNaAs;omeGs; lNaCs;omeAs;lNaGs; omeGs;lNaAs;omeAs; lNaT-Sup
567	FXN-77 1 m01	GCCCTCCAGCCTCAAA AGCAGGA	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaCs; omeCs;lNaTs;omeCs; lNaCs;omeAs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeTs; lNaCs;omeAs;lNaAs; omeAs;lNaAs;omeGs; lNaCs;omeAs;lNaGs; omeGs;lNaA-Sup
568	FXN-77 2 m01	GCCCTCCAGCCTCAAA AGCAG	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaCs; omeCs;lNaTs;omeCs; lNaCs;omeAs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeTs; lNaCs;omeAs;lNaAs; omeAs;lNaAs;omeGs; lNaCs;omeAs;lNaG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 16】

569	FXN-77 3 m01	GCCCTCCAGCCTCAAA AGC	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaC s;omeCs;lNaTs;om eCs;lNaCs;omeAs; lNaGs;omeCs;lNaC s;omeTs;lNaCs;om eAs;lNaAs;omeAs; lNaAs;omeGs;lNaC -Sup
570	FXN-77 4 m01	CCCTCCAGCCTCAAAA G	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaC s;omeTs;lNaCs;om eCs;lNaAs;omeGs; lNaCs;omeCs;lNaT s;omeCs;lNaAs;om eAs;lNaAs;omeAs; lNaG-Sup
571	FXN-77 6 m01	CCTCCAGCCTCAAAA	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaT s;omeCs;lNaCs;om eAs;lNaGs;omeCs; lNaCs;omeTs;lNaC s;omeAs;lNaAs;om eAs;lNaA-Sup
572	FXN-77 7 m01	GCCCTCCAGTCAAAAG CAGGA	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaC s;omeCs;lNaTs;om eCs;lNaCs;omeAs; lNaGs;omeTs;lNaC s;omeAs;lNaAs;om eAs;lNaAs;omeGs; lNaCs;omeAs;lNaG s;omeGs;lNaA-Sup
573	FXN-77 8 m01	GCCCTCCAGCAAAAGC AGG	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaC s;omeCs;lNaTs;om eCs;lNaCs;omeAs; lNaGs;omeCs;lNaA s;omeAs;lNaAs;om eAs;lNaGs;omeCs; lNaAs;omeGs;lNaG -Sup
574	FXN-77 9 m01	CCGCCCTCCAGTCAAA AGCAGGA	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaG s;omeCs;lNaCs;om eCs;lNaTs;omeCs; lNaCs;omeAs;lNaG s;omeTs;lNaCs;om eAs;lNaAs;omeAs; lNaAs;omeGs;lNaC s;omeAs;lNaGs;om eGs;lNaA-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 17】

575	FXN-780 m01	CCGCCCTCCAGCAAAA GCAGG	FXN	5' お よ び 3'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaCs; omeAs;lNaGs;omeAs; lNaAs;omeAs;lNaGs; omeCs;lNaAs;omeGs; lNaG-Sup
576	FXN-671 m01	CTCCGCCCTCCAG	FXN	5'	ヒト	lNaCs;omeTs;lNaCs; omeCs;lNaGs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaCs; omeAs;lNaG-Sup
577	FXN-672 m01	CCGCCCTCCAG	FXN	5'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaCs; omeAs;lNaG-Sup
578	FXN-673 m01	GCCCTCCAG	FXN	5'	ヒト	lNaGs;omeCs;lNaCs; omeCs;lNaTs;omeCs; lNaCs;omeAs;lNaG-Sup
579	FXN-674 m01	CCCCTCCGCCCTCC	FXN	5'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaCs; omeGs;lNaCs;omeTs; lNaCs;omeCs;lNaGs; omeCs;lNaTs;omeCs; lNaC-Sup
580	FXN-675 m01	CGCTCCGCCCTCC	FXN	5'	ヒト	lNaCs;omeGs;lNaCs; omeTs;lNaCs;omeCs; lNaGs;omeCs;lNaTs; omeCs;lNaC-Sup
581	FXN-676 m01	CTCCGCCCTCC	FXN	5'	ヒト	lNaCs;omeTs;lNaCs; omeCs;lNaGs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaC-Sup
582	FXN-677 m01	CCGCCCTCC	FXN	5'	ヒト	lNaCs;omeCs;lNaGs; omeCs;lNaCs;omeCs; lNaTs;omeCs;lNaC-Sup
配列 番号	オリゴ 名	塩基配列	遺伝子名	標的化 領域	生物	書式付き配列

10

20

30

40

【表 10 - 18】

583	CD247-90 m02	GCCTTTGAGAAAGCA	CD247	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dA-Sup
584	CD247-91 m02	GACTGTGGGGCCTTT	CD247	5'	ヒト	dGs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dTs;lNaTs;dT-Sup
585	CD247-92 m02	AGGAAGTGGAGGACT	CD247	5'	ヒト	dAs;lNaGs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dTs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaGs;dAs;lNaCs;dT-Sup
586	CD247-93 m02	TGCATTTTCACTGAA	CD247	3'	ヒト	dTs;lNaGs;dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaAs;dA-Sup
587	CD247-94 m02	CATTTTCACTGAAGC	CD247	3'	ヒト	dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dC-Sup
588	CD247-95 m02	ACTGAAGCATTTATT	CD247	3'	ヒト	dAs;lNaCs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dAs;lNaTs;dT-Sup
589	CFTR-84 m02	CACACAAATGTATGG	CFTR	3'	ヒト	dCs;lNaAs;dCs;lNaAs;dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dTs;lNaGs;dG-Sup
590	CFTR-85 m02	GGATTTTATTGACAA	CFTR	3'	ヒト	dGs;lNaGs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dGs;lNaAs;dCs;lNaAs;dA-Sup
591	CFTR-86 m02	AAAACAACAAAGTTT	CFTR	3'	ヒト	dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dAs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dTs;lNaTs;dT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 19】

592	CFTR-8 7 m02	AGTGCCATAAAAAAGT	CFTR	3'	ヒト	dAs;lNaGs;dTs;lNaGs;dCs;lNaCs;dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dT-Sup
593	CFTR-8 8 m02	TCAAATATAAAAAATT	CFTR	3'	ヒト	dTs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaTs;dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dAs;lNaTs;dT-Sup
594	CFTR-8 9 m02	TTCCCCCACCACC	CFTR	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dC-Sup
595	CFTR-9 0 m02	CATTGCTTCCAATT	CFTR	5'	ヒト	dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dTs;lNaCs;dCs;lNaAs;dAs;lNaTs;dT-Sup
596	CFTR-9 1 m02	GCTCAACCCTTTTTC	CFTR	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dTs;lNaCs;dAs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dC-Sup
597	CFTR-9 2 m02	AGACCTACTACTCTG	CFTR	5'	ヒト	dAs;lNaGs;dAs;lNaCs;dCs;lNaTs;dAs;lNaCs;dTs;lNaAs;dCs;lNaTs;dCs;lNaTs;dG-Sup
598	FMR1-5 8 m02	CCCTCCACCGGAAGT	FMR1	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dCs;lNaGs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dT-Sup
599	FMR1-5 9 m02	GCCCGCGCTCGCCGT	FMR1	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dTs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dT-Sup
600	FMR1-6 0 m02	ACGCCCCCTGGCAGC	FMR1	5'	ヒト	dAs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaCs;dAs;lNaGs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 20】

601	FMR1-6 1 m02	GCTCAGCCCCCTCGGC	FMR1	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dTs;lNaCs;dAs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dGs;lNaGs;dC-Sup
602	FMR1-6 2 m02	AGCAGAGGAAGATCA	FMR1	3'	ヒト	dAs;lNaGs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaAs;dTs;lNaCs;dA-Sup
603	FMR1-6 3 m02	CAGAGGAAGATCAAA	FMR1	3'	ヒト	dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaAs;dTs;lNaCs;dAs;lNaAs;dA-Sup
604	FMR1-6 4 m02	CAGATTTTGGAACT	FMR1	3'	ヒト	dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dT-Sup
605	FMR1-6 5 m02	CAGACTAATTTTTTG	FMR1	3'	ヒト	dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dCs;lNaTs;dAs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dG-Sup
606	FMR1-6 6 m02	TTTTTGCTTTTTCAT	FMR1	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dT-Sup
607	FMR1-6 7 m02	AATTTTTTGCTTTTT	FMR1	3'	ヒト	dAs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dGs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup
608	FMR1-6 8 m02	ATGTTTGGCAATACT	FMR1	3'	ヒト	dAs;lNaTs;dGs;lNaTs;dTs;lNaTs;dGs;lNaGs;dCs;lNaAs;dAs;lNaTs;dAs;lNaCs;dT-Sup
609	FMR1-6 9 m02	TTGGCAATACTTTTT	FMR1	3'	ヒト	dTs;lNaTs;dGs;lNaGs;dCs;lNaAs;dAs;lNaTs;dAs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup

10

20

30

40



【表 10 - 21】

610	LAMA1- 105 m02	GCTGCCCTGGCCCCG	LAMA1	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dG-Sup
611	LAMA1- 106 m02	CGGACACACCCCTCG	LAMA1	5'	ヒト	dCs;lNaGs;dGs;lNaAs;dCs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dG-Sup
612	LAMA1- 107 m02	ACGGGACGCGAGTCC	LAMA1	5'	ヒト	dAs;lNaCs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dCs;lNaGs;dCs;lNaGs;dAs;lNaGs;dTs;lNaCs;dC-Sup
613	LAMA1- 108 m02	GTCTGGGGAGAAAGC	LAMA1	5'	ヒト	dGs;lNaTs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dAs;lNaGs;dAs;lNaGs;dC-Sup
614	LAMA1- 109 m02	CCACTCGGTGGGTCT	LAMA1	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dTs;lNaCs;dGs;lNaGs;dTs;lNaGs;dGs;lNaGs;dTs;lNaCs;dT-Sup
615	LAMA1- 110 m02	TGATCTGTTATCATC	LAMA1	5'	ヒト	dTs;lNaGs;dAs;lNaTs;dCs;lNaTs;dGs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaCs;dAs;lNaTs;dC-Sup
616	LAMA1- 111 m02	CTGTTATCATCTGTA	LAMA1	3'	ヒト	dCs;lNaTs;dGs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaCs;dAs;lNaTs;dCs;lNaTs;dGs;lNaTs;dA-Sup
617	LAMA1- 112 m02	GTGTATAAAGATTTT	LAMA1	3'	ヒト	dGs;lNaTs;dGs;lNaTs;dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup
618	LAMA1- 113 m02	CAATTTACATTTTAG	LAMA1	3'	ヒト	dCs;lNaAs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dAs;lNaCs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 22】

619	LAMA1- 114 m02	TACATTTTAGACCAT	LAMA1	3'	ヒト	dTs;lNaAs;dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dAs;lNaGs;dAs;lNaCs;dCs;lNaAs;dT-Sup
620	MBNL1- 73 m02	TGCTATAAGATGTAA	MBNL1	5'	ヒト	dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dGs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dA-Sup
621	MBNL1- 74 m02	AAGGAAGCCGCAAG	MBNL1	5'	ヒト	dAs;lNaAs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dAs;lNaAs;dG-Sup
622	MBNL1- 75 m02	CGCCACAACATTC	MBNL1	5'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dAs;lNaCs;dAs;lNaAs;dCs;lNaTs;dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dC-Sup
623	MBNL1- 76 m02	ATGGGAGCATTGTGG	MBNL1	5'	ヒト	dAs;lNaTs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaCs;dAs;lNaTs;dTs;lNaGs;dTs;lNaGs;dG-Sup
624	MBNL1- 77 m02	CGCCCGCCAGCCCC	MBNL1	5'	ヒト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaAs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dC-Sup
625	MBNL1- 78 m02	CCCCTCCCCGCCCCG	MBNL1	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dG-Sup
626	MBNL1- 79 m02	CTTCCGCTGCTGCTG	MBNL1	5'	ヒト	dCs;lNaTs;dTs;lNaCs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dG-Sup
627	MBNL1- 80 m02	CTTCTTAGTACCAAC	MBNL1	5'	ヒト	dCs;lNaTs;dTs;lNaCs;dTs;lNaTs;dAs;lNaGs;dTs;lNaAs;dCs;lNaCs;dAs;lNaAs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 23】

628	MBNL1- 81 m02	TTTAGAGCAAAATCG	MBNL1	5'	ヒ ト	dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dTs;lNaCs;dG-Sup
629	MBNL1- 82 m02	GGTAGTTAAATGTTT	MBNL1	5'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dTs;lNaAs;dGs;lNaTs;dTs;lNaAs;dAs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaTs;dT-Sup
630	MBNL1- 83 m02	TACTTAAGAAAGAGA	MBNL1	3'	ヒ ト	dTs;lNaAs;dCs;lNaTs;dTs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaGs;dA-Sup
631	MBNL1- 84 m02	TATACTTAAGAAAGA	MBNL1	3'	ヒ ト	dTs;lNaAs;dTs;lNaAs;dCs;lNaTs;dTs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dA-Sup
632	MECP2- 61 m02	CGCCGCCGACGCCGG	MECP2	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dAs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dG-Sup
633	MECP2- 62 m02	CTCTCTCCGAGAGGA	MECP2	5'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaGs;dA-Sup
634	MECP2- 63 m02	CGCCCCGCCCTCTTG	MECP2	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dTs;lNaTs;dG-Sup
635	MECP2- 64 m02	CCGCGCGCTGCTGCA	MECP2	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dA-Sup
636	MECP2- 65 m02	CACTTTCACAGAGAG	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 24】

637	MECP2-66 m02	CTTTCACATGTATTAA	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dCs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dAs;dA-Sup
638	MECP2-67 m02	ATGTATTAAAAAACT	MECP2	3'	ヒ ト	dAs;lNaTs;dGs;lNaTs;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dT-Sup
639	MECP2-68 m02	GACATTTTATGTAA	MECP2	3'	ヒ ト	dGs;lNaAs;dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dA-Sup
640	MECP2-69 m02	CATTTTATGTAAAT	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dAs;lNaAs;dT-Sup
641	MECP2-70 m02	AAATTTATAAGGCAA	MECP2	3'	ヒ ト	dAs;lNaAs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dAs;lNaTs;dAs;lNaAs;dGs;lNaGs;dCs;lNaAs;dA-Sup
642	MECP2-71 m02	AGGCAAACCTCTTTAT	MECP2	3'	ヒ ト	dAs;lNaGs;dGs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dTs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dT-Sup
643	MECP2-72 m02	GTCTCTGGAACAATT	MECP2	3'	ヒ ト	dGs;lNaTs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dAs;lNaTs;dT-Sup
644	MECP2-73 m02	CAGTTCAAACACAGA	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dGs;lNaTs;dTs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dAs;lNaCs;dAs;lNaGs;dA-Sup
645	MECP2-74 m02	CAAACACAGAAGAGA	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaGs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 25】

646	MECP2- 75 m02	AACACAGAAGAGATT	MECP2	3'	ヒ ト	dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaGs;dAs;lNaTs;dT-Sup
647	MECP2- 76 m02	GGGGGAGAAGAAAGG	MECP2	3'	ヒ ト	dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dG-Sup
648	MECP2- 77 m02	TCGTTTTTTTTCTT	MECP2	3'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dGs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaTs;dT-Sup
649	MECP2- 78 m02	CTTTTTTCTTTTT	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaCs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup
650	MECP2- 79 m02	CCTATGCTATGGTTA	MECP2	3'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dTs;lNaAs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dAs;lNaTs;dGs;lNaGs;dTs;lNaTs;dA-Sup
651	MECP2- 80 m02	AGTTTACTGAAAGAA	MECP2	3'	ヒ ト	dAs;lNaGs;dTs;lNaTs;dTs;lNaAs;dCs;lNaTs;dGs;lNaAs;dAs;lNaAs;dGs;lNaAs;dA-Sup
652	MECP2- 81 m02	ACTGAAAGAAAAAAA	MECP2	3'	ヒ ト	dAs;lNaCs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dA-Sup
653	MERTK- 66 m02	CCTTATTCATATTTT	MERTK	3'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dTs;lNaTs;dAs;lNaTs;dTs;lNaCs;dAs;lNaTs;dAs;lNaTs;dTs;lNaTs;dT-Sup
654	MERTK- 67 m02	CTTCCTTATTCATAT	MERTK	3'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dTs;lNaCs;dCs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dTs;lNaAs;dT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 26】

655	MERTK- 68 m02	CAATCCTTCAATATT	MERTK	3'	ヒト	dCs;lnaAs;dAs;lnaTs;dCs;lnaCs;dTs;lnaTs;dCs;lnaAs;dAs;lnaTs;dAs;lnaTs;dT-Sup
656	MERTK- 69 m02	GGCATTTCATTTTAC	MERTK	3'	ヒト	dGs;lnaGs;dCs;lnaAs;dTs;lnaTs;dTs;lnaCs;dAs;lnaTs;dTs;lnaTs;dTs;lnaAs;dC-Sup
657	MERTK- 70 m02	CATTTTACAAATATT	MERTK	3'	ヒト	dCs;lnaAs;dTs;lnaTs;dTs;lnaTs;dAs;lnaCs;dAs;lnaAs;dAs;lnaTs;dAs;lnaTs;dT-Sup
658	MERTK- 71 m02	GAAATGAAATAAGTA	MERTK	3'	ヒト	dGs;lnaAs;dAs;lnaAs;dTs;lnaGs;dAs;lnaAs;dAs;lnaTs;dAs;lnaAs;dGs;lnaTs;dA-Sup
659	MERTK- 72 m02	AGATATGCAAGATAA	MERTK	3'	ヒト	dAs;lnaGs;dAs;lnaTs;dAs;lnaTs;dGs;lnaCs;dAs;lnaAs;dGs;lnaAs;dTs;lnaAs;dA-Sup
660	MERTK- 73 m02	GCGGGCCCAGCAGGT	MERTK	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dGs;lnaGs;dGs;lnaCs;dCs;lnaCs;dAs;lnaGs;dCs;lnaAs;dGs;lnaGs;dT-Sup
661	MERTK- 74 m02	CAGTGAGTGCCGAGT	MERTK	5'	ヒト	dCs;lnaAs;dGs;lnaTs;dGs;lnaAs;dGs;lnaTs;dGs;lnaCs;dCs;lnaGs;dAs;lnaGs;dT-Sup
662	MERTK- 75 m02	GCCCCGGCAGTGAGT	MERTK	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dCs;lnaCs;dGs;lnaGs;dGs;lnaCs;dAs;lnaGs;dTs;lnaGs;dAs;lnaGs;dT-Sup
663	MERTK- 76 m02	TGTCCGGGCGGCCCG	MERTK	5'	ヒト	dTs;lnaGs;dTs;lnaCs;dCs;lnaGs;dGs;lnaGs;dCs;lnaGs;dGs;lnaCs;dCs;lnaCs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 27】

664	SSPN-4 7 m02	CGCGCGTGTGCGAGT	SSPN	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dCs;lNaGs;dCs;lNaGs;dTs;lNaGs;dCs;lNaGs;dAs;lNaGs;dT-Sup
665	SSPN-4 8 m02	CTTCAGACAGGCTGC	SSPN	5'	ヒ ト	dCs;lNaTs;dTs;lNaCs;dAs;lNaGs;dAs;lNaCs;dAs;lNaGs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dC-Sup
666	SSPN-4 9 m02	ACCTCTGCACTTCAG	SSPN	5'	ヒ ト	dAs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dAs;lNaCs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dG-Sup
667	SSPN-5 0 m02	CGGCGCGGGTCCCTT	SSPN	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dGs;lNaTs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dT-Sup
668	SSPN-5 1 m02	TGGTATTCGAATTAT	SSPN	5'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dGs;lNaTs;dAs;lNaTs;dTs;lNaCs;dGs;lNaAs;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dT-Sup
669	SSPN-5 2 m02	CGGCCTGCCCTGGTA	SSPN	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaTs;dA-Sup
670	SSPN-5 3 m02	TCAGAGATTATGAAA	SSPN	3'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dAs;lNaGs;dAs;lNaGs;dAs;lNaTs;dTs;lNaAs;dTs;lNaGs;dAs;lNaAs;dA-Sup
671	SSPN-5 4 m02	TGTTTTTCAGAGATTA	SSPN	3'	ヒ ト	dTs;lNaGs;dTs;lNaTs;dTs;lNaTs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dTs;lNaTs;dA-Sup
672	SSPN-5 5 m02	CATGTAGAAATGCTT	SSPN	3'	ヒ ト	dCs;lNaAs;dTs;lNaGs;dTs;lNaAs;dGs;lNaAs;dAs;lNaAs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 28】

673	SSPN-5 6 m02	AAACATGTAGAAATG	SSPN	3'	ヒ ト	dAs;lnaAs;dAs;l naCs;dAs;lnaTs;dG s;lnaTs;dAs;lnaG s;dAs;lnaAs;dAs; lnaTs;dG-Sup
674	SSPN-5 7 m02	TTGATACCATTTATG	SSPN	3'	ヒ ト	dTs;lnaTs;dGs;ln aAs;dTs;lnaAs;dC s;lnaCs;dAs;lnaT s;dTs;lnaTs;dAs; lnaTs;dG-Sup
675	SSPN-5 8 m02	GAACTCAATTATTAT	SSPN	3'	ヒ ト	dGs;lnaAs;dAs;ln aCs;dTs;lnaCs;dA s;lnaAs;dTs;lnaT s;dAs;lnaTs;dTs; lnaAs;dT-Sup
676	UTRN-9 72 m02	AAAACGACTCCACAA	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lnaAs;dAs;ln aAs;dCs;lnaGs;dA s;lnaCs;dTs;lnaC s;dCs;lnaAs;dCs; lnaAs;dA-Sup
677	UTRN-3 12 m02	CTCCGAGGAAAAACG	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lnaTs;dCs;ln aCs;dGs;lnaAs;dG s;lnaGs;dAs;lnaA s;dAs;lnaAs;dAs; lnaCs;dG-Sup
678	UTRN-3 13 m02	GCTCCGAGGAAAAAC	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lnaCs;dTs;ln aCs;dCs;lnaGs;dA s;lnaGs;dGs;lnaA s;dAs;lnaAs;dAs; lnaAs;dC-Sup
679	UTRN-9 75 m02	CTCGGCGGGAGAAAG	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lnaTs;dCs;ln aGs;dGs;lnaCs;dG s;lnaGs;dGs;lnaA s;dGs;lnaAs;dAs; lnaAs;dG-Sup
680	UTRN-9 76 m02	GAACCGAAATTTT	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lnaAs;dAs;ln aCs;dCs;lnaGs;dA s;lnaAs;dAs;lnaT s;dTs;lnaTs;dT-S up
681	UTRN-9 77 m02	GAGAAGGGTGCAGAT	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lnaAs;dGs;ln aAs;dAs;lnaGs;dG s;lnaGs;dTs;lnaG s;dCs;lnaAs;dGs; lnaAs;dT-Sup

10

20

30

40



【表 10 - 29】

682	UTRN-9 78 m02	CTCTCCAGATGAGAA	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaTs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dAs;lNaTs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dA-Sup
683	UTRN-9 79 m02	CAGGGGTCCGCTCTC	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaAs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dTs;lNaCs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dCs;lNaTs;dC-Sup
684	UTRN-9 80 m02	TCCGGGCAGCCAGGG	UTRN	5'	ヒト	dTs;lNaCs;dCs;lNaGs;dGs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaAs;dGs;lNaGs;dG-Sup
685	UTRN-9 81 m02	GGGGCTCGCCTCCGG	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dCs;lNaTs;dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaGs;dG-Sup
686	UTRN-9 82 m02	CCCCCGGAAGGGGC	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dCs;lNaGs;dGs;lNaGs;dAs;lNaAs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dC-Sup
687	UTRN-9 83 m02	CCCACCCCCGGGAA	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dCs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dA-Sup
688	UTRN-9 84 m02	GCGTTGCCGCCCCAC	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dGs;lNaTs;dTs;lNaGs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dAs;dC-Sup
689	UTRN-9 85 m02	GCTGGGTCGCGCGTT	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaGs;dTs;lNaCs;dGs;lNaCs;s;dGs;lNaCs;dGs;lNaTs;dT-Sup
690	UTRN-9 86 m02	GCGCAGGACCGCTGG	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dAs;lNaGs;dGs;lNaAs;dCs;lNaCs;s;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 30】

691	UTRN-9 87 m02	AGGAGGGAGGGTGGG	UTRN	5'	ヒト	dAs;lnaGs;dGs;l naAs;dGs;lnaGs;dG s;lnaAs;dGs;lnaG s;dGs;lnaTs;dGs; lnaGs;dG-Sup
692	UTRN-9 88 m02	CGCTGGAGGCGGAGG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;l naTs;dGs;lnaGs;dA s;lnaGs;dGs;lnaC s;dGs;lnaGs;dAs; lnaGs;dG-Sup
693	UTRN-1 92 m02	TGGAGCCGAGCGCTG	UTRN	5'	ヒト	dTs;lnaGs;dGs;l naAs;dGs;lnaCs;dC s;lnaGs;dAs;lnaG s;dCs;lnaGs;dCs; lnaTs;dG-Sup
694	UTRN-3 03 m02	CTGCCCTTTGTTGG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lnaTs;dGs;l naCs;dCs;lnaCs;dC s;lnaTs;dTs;lnaT s;dGs;lnaTs;dTs; lnaGs;dG-Sup
695	UTRN-9 91 m02	CTCCCCGCTGCGGGC	UTRN	5'	ヒト	dCs;lnaTs;dCs;l naCs;dCs;lnaCs;dG s;lnaCs;dTs;lnaG s;dCs;lnaGs;dGs; lnaGs;dC-Sup
696	UTRN-9 92 m02	CGGCTCCTCCTCCTC	UTRN	5'	ヒト	dCs;lnaGs;dGs;l naCs;dTs;lnaCs;dC s;lnaTs;dCs;lnaC s;dTs;lnaCs;dCs; lnaTs;dC-Sup
697	UTRN-9 93 m02	GGCTCGCTCCTTCGG	UTRN	5'	ヒト	dGs;lnaGs;dCs;l naTs;dCs;lnaGs;dC s;lnaTs;dCs;lnaC s;dTs;lnaTs;dCs; lnaGs;dG-Sup
698	UTRN-9 94 m02	TTTGTGCGCGAGAGA	UTRN	5'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;l naGs;dTs;lnaGs;dC s;lnaGs;dCs;lnaG s;dAs;lnaGs;dAs; lnaGs;dA-Sup
699	UTRN-9 95 m02	ACGACTCCACAACCTT	UTRN	5'	ヒト	dAs;lnaCs;dGs;l naAs;dCs;lnaTs;dC s;lnaCs;dAs;lnaC s;dAs;lnaAs;dCs; lnaTs;dT-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 31】

700	UTRN-9 97 m02	GCCCGCTTCCCTGCT	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dTs;lNaTs;dCs;lNaCs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dT-Sup
701	UTRN-6 62 m02	CGGCCGGCTGCTGCT	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dTs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;lNaCs;dT-Sup
702	UTRN-9 99 m02	GCGGGAGAAAGCCCG	UTRN	5'	ヒ ト	dGs;lNaCs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaAs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dCs;lNaCs;dG-Sup
703	UTRN-1 000 m02	CCTCCTCGCCCTCG	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dG-Sup
704	UTRN-1 001 m02	AGAGGCTCCTCCTCG	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lNaGs;dAs;lNaGs;dGs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dG-Sup
705	UTRN-1 002 m02	TCGGCTTCTGGAGCC	UTRN	5'	ヒ ト	dTs;lNaCs;dGs;lNaGs;dCs;lNaTs;dTs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaCs;dC-Sup
706	UTRN-1 003 m02	CCGTGATTCCCAAT	UTRN	5'	ヒ ト	dCs;lNaCs;dGs;lNaTs;dGs;lNaAs;dTs;lNaTs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dAs;lNaAs;dT-Sup
707	UTRN-1 004 m02	AGGGGGGCGCCGCTC	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaTs;dC-Sup
708	UTRN-3 23 m02	AAATGACCCAAAAGA	UTRN	5'	ヒ ト	dAs;lNaAs;dAs;lNaTs;dGs;lNaAs;dCs;lNaCs;dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;dAs;lNaGs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 32】

709	UTRN-3 28 m02	GTTTTCCGTTTGCAG	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaTs;dTs;lNaTs;dTs;lNaCs;dCs;lNaGs;dTs;lNaTs;dTs;lNaGs;dCs;lNaAs;dG-Sup
710	UTRN-3 34 m02	CCAAACGCTACAGAG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dGs;lNaCs;dTs;lNaAs;dCs;lNaAs;dGs;lNaAs;dG-Sup
711	UTRN-1 008 m02	CAGGCACCAACTTTG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaAs;dGs;lNaGs;dCs;lNaAs;dCs;lNaCs;dAs;lNaAs;dCs;lNaTs;dTs;lNaTs;dG-Sup
712	UTRN-1 009 m02	CCTGGAAGGGGCGCG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dGs;lNaAs;dAs;lNaGs;dGs;lNaGs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dG-Sup
713	UTRN-3 45 m02	CAGTCAAAGCGCAAA	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaAs;dGs;lNaTs;dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;dGs;lNaCs;dGs;lNaCs;dAs;lNaAs;dA-Sup
714	UTRN-1 011 m02	CCAAAAACAAAACAG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dAs;lNaAs;dAs;lNaAs;dAs;lNaCs;dAs;lNaAs;s;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dG-Sup
715	UTRN-6 74 m02	TTCCGCCAAAAACAA	UTRN	5'	ヒト	dTs;lNaTs;dCs;lNaCs;dGs;lNaCs;dCs;lNaAs;dAs;lNaAs;s;dAs;lNaAs;dCs;lNaAs;dA-Sup
716	UTRN-1 013 m02	GGAGGAGGGAGGGTG	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaGs;dAs;lNaGs;dGs;lNaAs;dGs;lNaGs;dGs;lNaAs;s;dGs;lNaGs;dGs;lNaTs;dG-Sup
717	UTRN-1 014 m02	CGAGCGCTGGAGGCG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaGs;dAs;lNaGs;dCs;lNaGs;dCs;lNaTs;dGs;lNaGs;s;dAs;lNaGs;dGs;lNaCs;dG-Sup

10

20

30

40

【表 10 - 33】

718	UTRN-1 015 m02	CCTGCCCCCTTTGTTG	UTRN	5'	ヒト	dCs;lNaCs;dTs;lNaGs;dCs;lNaCs;dCs;lNaCs;dTs;lNaTs;dG-Sup
719	UTRN-1 016 m02	GGCGGCTCCTCCTCC	UTRN	5'	ヒト	dGs;lNaGs;dCs;lNaGs;dGs;lNaCs;dTs;lNaCs;dCs;lNaTs;dCs;lNaCs;dTs;lNaCs;dC-Sup

10

## 実施例 10 . F X N オリゴに対するさらなるデータ

## 【0291】

F X N - 374 および F X N - 375 を 5' オリゴとして使用して、表 3 において入手可能なすべての 3' オリゴを、20 nM、50 nM および 100 nM の濃度でのトランスフェクションによって G M 03816 細胞においてヒト F X N の RNA アップレギュレーションについてスクリーニングした (図 51)。濃度は、総オリゴ濃度だった (例えば、20 nM は、各オリゴに対して 10 nM であることを意味する)。概して、375 オリゴを含むオリゴの組み合わせで処理された細胞は、無処理の細胞と比べて、ヒト F X N のアップレギュレーションを有した。375 と 390 との組み合わせは、最も高いレベルにおいてヒト F X N の用量反応性のアップレギュレーションをもたらした (図 51)。

20

## 【0292】

表 3、表 6、表 7 および表 10 からの様々な F X N オリゴを G M 03816 細胞株にトランスフェクトした (10 または 30 nM における F X N - 375 / F X N - 398 組み合わせ、10 または 30 nM における F X N - 429、10 nM における 511、10 nM における F X N - 456、10 nM または 30 nM における F X N - 485、10 nM における F X N - 458、10 または 30 nM における F X N - 461 m02)。A b c a m a b 48281 抗体を使用して、未成熟 F X N および成熟 F X N タンパク質のレベルを計測した。オリゴ 456、458、485 および 461 は、偽環状化オリゴである。オリゴ 461 は、375 (5') および 390 (3') オリゴの配列を含む偽環状化オリゴである。アクチンをローディングコントロールとして使用した (Cell signaling, 8457)。未成熟 F X N および成熟 F X N のレベルは、概して、オリゴで処理されたすべての細胞においてアップレギュレートされた (図 52)。未成熟 F X N および成熟 F X N は、F X N - 458 および F X N - 461 によって用量反応性様式で劇的にアップレギュレートされた (図 52)。

30

## 【0293】

F X N - 461 m02 オリゴを用いたさらなる研究を行った。F X N - 461 m02 の用量反応を、示されている濃度での G M 03816 細胞株へのトランスフェクションを用いて計測した。A b c a m a b 48281 抗体を使用して、未成熟および成熟 F X N タンパク質のレベルを計測した。アクチンをローディングコントロールとして使用した (Cell signaling, 8457)。F X N タンパク質レベルは、追跡研究においても強くアップレギュレートされた (図 53)。

40

## 【0294】

次に、公的なポリ A - seq データに基づいて潜在的な代替の 3' 位置を調べるために、さらなる 3' - 標的化 F X N オリゴ (表 10 に示されている) をデザインした。F X N - 375 オリゴを、5' オリゴとして使用し、さらなる 3' - 標的化 F X N オリゴと組み合わせた。G M 03816 細胞へのトランスフェクションは、30 nM 濃度で行った。F X N mRNA のアップレギュレーションが、いくつかのオリゴ組み合わせにおいて観察され、3' オリゴ F X N - 527 および F X N - 532 を用いたとき最も高かった (図 5

50

4)。

#### 【0295】

3'オリゴによって媒介されるFXN mRNAのアップレギュレーションの再現性を調べるために、さらなる3'-標的化FXNオリゴのサブセットを、375オリゴの代わりに代替の5'オリゴ(FXN-675)を用いてスクリーニングした。差が観察されたが、類似の3'オリゴ、例えば、FXN-654、FXN-663、FXN-666、FXN-668およびFXN-670が、両方の5'オリゴを用いたとき、リード化合物として同定された(図55)。

#### 【0296】

FXNの下流遺伝子の候補であるPPARGC1およびNFE2L2の発現の変化を3'オリゴ研究において評価した。最も大きな変化が、PPARGC1遺伝子で観察された(図56)。

#### 【0297】

次に、潜在的な代替の5'位置を調べるため、およびより短い長さを有するオリゴを調べるために、さらなる5'-標的化FXNオリゴをデザインした。GM03816細胞へのトランスフェクションは、30nM濃度で行った。FXN-390オリゴを3'オリゴとして使用した。FXN mRNAのアップレギュレーションは、5'オリゴFXN-673を用いたとき最も高かった(図57)。オリゴ671~673は、それぞれFXN-375(15mer)の13mer、11merおよび9merバージョンだった。

#### 【0298】

続いて、いくつかの5'(FXN-374、FXN-375)、3'(FXN-390)および偽環状化(483、484、487)FXNオリゴを、4、7および10日間にわたってインビトロでFRDAマウスモデル(Sarsero)線維芽細胞において裸で試験した。FXN mRNAレベルは、FXN-374+390およびFXN-375+390の組み合わせを用いたとき最も高かった(図58A~C)。

#### 【0299】

次に、様々な3'および5'FXNオリゴ(FXN-527、FXN-528、FXN-532、FXN-533、FXN-553、FXN-674およびFXN-675)を、GM03816細胞におけるトランスフェクションによって、FXN mRNAレベルの用量反応パターンについて調べた(図59AおよびB)。オリゴFXN-527、FXN-532、FXN-674およびFXN-675は、FXN mRNAの用量依存的増加を示した。

#### 【0300】

続いて、様々な5'FXNオリゴを、最重要の(lead)3'オリゴであるFXN-532と組み合わせた。FXN mRNAの用量反応パターンを、GM03816細胞におけるトランスフェクションを用いて計測した。試験されたすべてのオリゴが、FXN mRNAの用量依存的増加を示した。計測は、5日目に行った。FXN-674は、FXN-375と11ヌクレオチド重複する15merである。FXN-675、FXN-676およびFXN-677は、それぞれFXN-674の13mer、11merおよび9merバージョンである。FXN-671、FXN-672およびFXN-673は、それぞれFXN-375の13mer、11merおよび9merバージョンである(図60AおよびB)。

#### 【0301】

次に、5'オリゴ(FXN-375、FXN-671、FXN-672、FXN-673、FXN-674、FXN-675、FXN-676およびFXN-677)を、単独でまたは3'オリゴFXN-532と組み合わせて、FXNタンパク質のアップレギュレーションについて試験した。それらのオリゴを単独でまたは組み合わせて、30nMおよび10nMの濃度において、GM03816細胞にトランスフェクトした。計測は、5日目に行った。未成熟および成熟FXNタンパク質を検出するためにAbcam(ab110328)抗体を用いてウェスタンブロットを行った。概して、FXNタンパク質レベル

10

20

30

40

50

は、単独のまたは組み合わせたオリゴで処理されたすべての細胞においてアップレギュレートされた（図 6 1）。最も高いタンパク質のアップレギュレーションは、F X N - 6 7 2 + 5 3 2 の組み合わせを用いたとき観察された（図 6 1）。

#### 【 0 3 0 2 】

いくつかの最重要の 5'（F X N - 3 7 4、F X N - 3 7 5）、3'（F X N - 3 9 0）、偽環状化オリゴ（F X N - 4 6 0 : F X N - 3 7 4 + 3 9 0 ; F X N - 4 6 1 : F X N - 3 7 5 + 3 9 0）および多重標的化（multi-targeting）オリゴ（F X N - 4 6 0 M T O および F X N - 4 6 1 M T O）を、正常なヒト心筋細胞において、ヒト F X N mRNA のアップレギュレーションについて裸で試験する。多重標的化オリゴ（M T O）は、切断可能なリンカー（例えば、オリゴ-d T リンカー（例えば、d T d T d T d T d T））によって連結された 5' 標的化オリゴおよび 3' 標的化オリゴを含む。オリゴを複数の濃度において 8 日間インキュベートする（培地およびオリゴを 4 日目に交換する）。

10

#### 実施例 1 1 . U T R N オリゴに対するデータ

#### 【 0 3 0 3 】

表 7 に示されているようなユートロフィンに対する偽環状化オリゴ（U T R N - 2 1 1 ~ 2 2 0）を、分化したヒト患者デュシェンヌ型筋ジストロフィー（D M D）筋管において裸でスクリーニングした。M a n c h o 5 抗体を用いてウエスタンを行った。U T R N タンパク質のウエスタンシグナルは、ベータ-アクチンレベルおよび無処理サンプルに対して正規化した。オリゴ U T R N - 2 1 7 は、ネガティブコントロールオリゴ 2 9 3 L M および細胞のみと比べて、U T R N タンパク質のレベルをアップレギュレートすると示された（図 6 2 および 6 3）。

20

#### 【 0 3 0 4 】

次に、U T R N 5' および 3' オリゴを、分化したヒト患者 D M D 筋管において、個々に裸でスクリーニングした。ウエスタン解析に向けて、遠心分離（centrifugation）によってサンプルをペレットと上清に分離した。サンプルを S D S 溶液中で溶解し、氷上で維持し、次いで、遠心することにより、ペレット画分と上清画分に分離した。M a n c h o 5 抗体を用いてウエスタンを行った。U T R N タンパク質のウエスタンシグナルは、ベータ-アクチンレベルおよび無処理サンプルに対して正規化した。U T R N タンパク質の正のアップレギュレーションは、U T R N - 2 0 2、2 0 8、2 0 9、2 1 0 および 2 1 7 オリゴで処理された細胞のペレットにおいて観察された（図 6 4 A ~ C）。

30

#### 実施例 1 2 . A P O A 1 オリゴに対するデータ

#### 【 0 3 0 5 】

マウス A P O A 1 5' オリゴ（A P O A 1 \_\_m u s - 1 - 1 3）と 3' オリゴ（A P O A 1 \_\_m u s - 2 1）との組み合わせを、2 0 μ M および 5 μ M の濃度で初代マウス肝細胞において 2 つ組で、裸でスクリーニングした。A P O A 1 mRNA を計測し、水コントロールのウェルに対して正規化した。試験されたいくつかのオリゴが、水と比べて A P O A 1 のアップレギュレーションを引き起こした（図 6 5）。

#### 【 0 3 0 6 】

次に、マウス A P O A 1 5' オリゴと 3' オリゴとの組み合わせを初代マウス肝細胞において裸でスクリーニングして、A P O A 1 タンパク質レベルを計測した。測定は、2 日目に行った。A b c a m a b 2 0 4 5 3 を A P O A 1 抗体として使用した。チューブリン（a b 1 2 5 2 6 7）をローディングコントロールとして使用した。オリゴ A P O A 1 \_\_m u s - 3 + 1 7、A P O A 1 \_\_m u s - 6 + 1 7 および A P O A 1 \_\_m u s - 7 + 2 0 は、細胞培地と細胞溶解産物の両方において、用量依存的 A P O A 1 タンパク質アップレギュレーションを示す（図 6 6）。

40

#### 【 0 3 0 7 】

続いて、2 つのマウス A P O A 1 5' オリゴと 3' オリゴとの組み合わせ（A P O A 1 \_\_m u s - 3 + A P O A 1 \_\_m u s - 1 7 または A P O A 1 \_\_m u s - 7 + A P O A 1

50

— m u s - 2 0 ) を、マウスにおいてインビボで試験した。それらのオリゴの組み合わせを、試験された組み合わせにおける各オリゴに対して 5 0 m g / k g で 1、2 および 3 日目に皮下に注射した。ビヒクル ( P B S ) 処置をコントロールとして使用した。第 1 の研究 ( 図 7 0 A ) では、最後の投与の 2 日後である 5 日目に回収を行った。第 2 の研究 ( 図 7 0 B ) では、最後の投与の 4 日後である 7 日目に回収を行った。両方の研究での肝臓における R N A の計測 ( 図 7 0 A および B ) から、7 + 2 0 および 3 + 2 0 の A P O A A 1 オリゴ組み合わせを用いたとき最大 8 0 % の A P O A 1 m R N A アップレギュレーションが示唆される。A P O A 1 と近接した 5 つの遺伝子 ( A P O C 3、A P O A 4、A P O A 5、A P O B、S i k 3 ) は、オリゴ処置によって有意に影響されなかった。

#### 【 0 3 0 8 】

A P O A 1 タンパク質のレベルもまた、上記 2 つのインビボ研究において計測した。図 7 0 C は、オリゴ組み合わせ 3 + 1 7 に対する第 1 の研究の A P O A 1 タンパク質データを示している。A P O A 1 タンパク質のアップレギュレーションが、処置された 4 匹すべての動物の血漿において見られた。図 7 0 D は、オリゴ組み合わせ 7 + 2 0 に対する第 2 の研究の A P O A 1 タンパク質データを示している。1 0 匹すべての動物からの採血前データは、処置開始前の動物にわたって比較的等しいレベルの血漿 A P O A 1 を示した ( 上のパネル、図 7 0 D )。サンプル 5 および 1 0 は、オリゴ組み合わせ 7 + 2 0 で処置した後の血漿において、マウス A P O A 1 タンパク質のアップレギュレーションを示した。

#### 【 0 3 0 9 】

タンパク質アップレギュレーションの存在下における ( 図 7 0 C ) オリゴ組み合わせ 3 + 1 7 に対して R N A の変化がなかったこと ( 図 7 0 A )、ならびにオリゴ組み合わせ 7 + 2 0 の処置を受けた 5 匹中 2 匹の動物における A P O A 1 のアップレギュレーション ( 図 7 0 D ) は、オリゴ処置レジメンおよび選択された回収時点に起因し得る。

実施例 1 3 . さらなる非コード R N A 標的化オリゴ

#### 【 0 3 1 0 】

表 1 1 は、さらなる例示的な非コード R N A 5 ' および 3 ' 末端標的化オリゴを提供している。

10

20



【表 1 1 - 1】

表 1 1. 非コード RNA の 5' および 3' 末端を標的化するようにデザインされたオリゴヌクレオチド

配列番号	オリゴ名	塩基配列	遺伝子名	標的領域	生物	書式付き配列
720	DINO-1 m02	TAGACACTTCCA GAA	DINO	3'	ヒト	dTs;lnaAs;dGs;lnaAs; dCs;lnaAs;dCs;lnaTs; dTs;lnaCs;dCs;lnaAs; dGs;lnaAs;dA-Sup
721	DINO-2 m02	TTCCAGAATTGT CCT	DINO	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dCs;lnaCs; dAs;lnaGs;dAs;lnaAs; dTs;lnaTs;dGs;lnaTs; dCs;lnaCs;dT-Sup
722	DINO-3 m02	CAGAATTGTCCT TTA	DINO	3'	ヒト	dCs;lnaAs;dGs;lnaAs; dAs;lnaTs;dTs;lnaGs; dTs;lnaCs;dCs;lnaTs; dTs;lnaTs;dA-Sup
723	DINO-4 m02	CTGCTGGAATC GGC	DINO	5'	ヒト	dCs;lnaTs;dGs;lnaCs; dTs;lnaGs;dGs;lnaAs; dAs;lnaCs;dTs;lnaCs; dGs;lnaGs;dC-Sup
724	DINO-5 m02	GGCCAGGCTCAG CTG	DINO	5'	ヒト	dGs;lnaGs;dCs;lnaCs; dAs;lnaGs;dGs;lnaCs; dTs;lnaCs;dAs;lnaGs; dCs;lnaTs;dG-Sup
725	DINO-6 m02	GCAGCCAGGAGC CTG	DINO	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dAs;lnaGs; dCs;lnaCs;dAs;lnaGs; dGs;lnaAs;dGs;lnaCs; dCs;lnaTs;dG-Sup
726	DINO-7 m02	ACTCGGCCAGGC TCA	DINO	5'	ヒト	dAs;lnaCs;dTs;lnaCs; dGs;lnaGs;dCs;lnaCs; dAs;lnaGs;dGs;lnaCs; dTs;lnaCs;dA-Sup
727	DINO-8 m02	GCTGGCCTGCTG GAA	DINO	5'	ヒト	dGs;lnaCs;dTs;lnaGs; dGs;lnaCs;dCs;lnaTs; dGs;lnaCs;dTs;lnaGs; dGs;lnaAs;dA-Sup
728	HOTTIP -1 m02	TTTAAATTGTAT CGG	HOTTIP	3'	ヒト	dTs;lnaTs;dTs;lnaAs; dAs;lnaAs;dTs;lnaTs; dGs;lnaTs;dAs;lnaTs; dCs;lnaGs;dG-Sup
729	HOTTIP -2 m02	ATTGTATCGGGC AAA	HOTTIP	3'	ヒト	dAs;lnaTs;dTs;lnaGs; dTs;lnaAs;dTs;lnaCs; dGs;lnaGs;dGs;lnaCs; dAs;lnaAs;dA-Sup

10

20

30

40

【表 1 1 - 2】

730	HOTTIP -3 m02	GATTAACAA AGA	HOTTIP	3'	ヒト	dGs;lnaAs;dTs;lnaTs; dAs;lnaAs;dAs;lnaAs; dCs;lnaAs;dAs;lnaAs; dAs;lnaGs;dA-Sup
731	HOTTIP -4 m02	AAAACAAAGAA ACC	HOTTIP	3'	ヒト	dAs;lnaAs;dAs;lnaAs; dCs;lnaAs;dAs;lnaAs; dAs;lnaGs;dAs;lnaAs; dAs;lnaCs;dC-Sup
732	HOTTIP -5 m02	GGGATAAGGAA GGG	HOTTIP	5'	ヒト	dGs;lnaGs;dGs;lnaAs; dTs;lnaAs;dAs;lnaAs; dGs;lnaGs;dAs;lnaAs; dGs;lnaGs;dG-Sup
733	HOTTIP -6 m02	CACTGGGATAAA GGA	HOTTIP	5'	ヒト	dCs;lnaAs;dCs;lnaTs; dGs;lnaGs;dGs;lnaAs; dTs;lnaAs;dAs;lnaAs; dGs;lnaGs;dA-Sup
734	HOTTIP -7 m02	GAGCCGCCGCT TTG	HOTTIP	5'	ヒト	dGs;lnaAs;dGs;lnaCs; dCs;lnaGs;dCs;lnaCs; dCs;lnaGs;dCs;lnaTs; dTs;lnaTs;dG-Sup
735	HOTTIP -8 m02	TCTGGGCCCCAC TG	HOTTIP	5'	ヒト	dTs;lnaCs;dTs;lnaGs; dGs;lnaGs;dCs;lnaCs; dCs;lnaCs;dAs;lnaCs; dTs;lnaG-Sup
736	NEST-1 m02	CAAAAGGTCTTA GCT	NEST	3'	ヒト	dCs;lnaAs;dAs;lnaAs; dAs;lnaGs;dGs;lnaTs; dCs;lnaTs;dTs;lnaAs; dGs;lnaCs;dT-Sup
737	NEST-2 m02	TAGCTATTATTA CTG	NEST	3'	ヒト	dTs;lnaAs;dGs;lnaCs; dTs;lnaAs;dTs;lnaTs; dAs;lnaTs;dTs;lnaAs; dCs;lnaTs;dG-Sup
738	NEST-3 m02	ACTGTTGTTGTT TTA	NEST	3'	ヒト	dAs;lnaCs;dTs;lnaGs; dTs;lnaTs;dGs;lnaTs; dTs;lnaGs;dTs;lnaTs; dTs;lnaTs;dA-Sup
739	NEST-4 m02	ACCTTAGAGGTT GTA	NEST	3'	ヒト	dAs;lnaCs;dCs;lnaTs; dTs;lnaAs;dGs;lnaAs; dGs;lnaGs;dTs;lnaTs; dGs;lnaTs;dA-Sup
740	NEST-5 m02	TACCTGAAATTG CAG	NEST	5'	ヒト	dTs;lnaAs;dCs;lnaCs; dTs;lnaGs;dAs;lnaAs; dAs;lnaTs;dTs;lnaGs; dCs;lnaAs;dG-Sup
741	NEST-6 m02	GTCAGAAAAGCT ACC	NEST	5'	ヒト	dGs;lnaTs;dCs;lnaAs; dGs;lnaAs;dAs;lnaAs; dAs;lnaGs;dCs;lnaTs; dAs;lnaCs;dC-Sup

10

20

30

40

【表 1 1 - 3】

742	NEST-7 m02	CACGCTTGGTGT GCA	NEST	5'	ヒト	dCs;lnaAs;dCs;lnaGs; dCs;lnaTs;dTs;lnaGs; dGs;lnaTs;dGs;lnaTs; dGs;lnaCs;dA-Sup
743	NEST-8 m02	CTGTGAATGTGT GAA	NEST	5'	ヒト	dCs;lnaTs;dGs;lnaTs; dGs;lnaAs;dAs;lnaTs; dGs;lnaTs;dGs;lnaTs; dGs;lnaAs;dA-Sup
744	NEST-9 m02	AACAGGAAGCAC CTG	NEST	5'	ヒト	dAs;lnaAs;dCs;lnaAs; dGs;lnaGs;dAs;lnaAs; dGs;lnaCs;dAs;lnaCs; dCs;lnaTs;dG-Sup

10

実施例 1 4 . フリドライヒ運動失調症 ( F R D A ) マウスモデルからのデータ

## 【 0 3 1 1 】

示されている 5' ( F X N - 3 7 5 、 3 8 0 、 3 8 5 ) 、 3' ( F X N - 3 9 8 ) および多重標的化オリゴ ( F X N - 4 3 4 : 3 7 5 + 3 9 8 、 F X N - 4 3 6 : 3 8 5 + 3 9 8 ) を S a r s e r o F R D A マウスモデルの皮下に注射した。ビヒクル ( P B S ) をコントロールとして注射した。F X N - 4 3 4 および 4 3 6 の配列を下記の表 1 2 に示す。

20

## 【表 1 2】

表 1 2 . F X N - 4 3 4 および F X N - 4 3 6 に対する配列

配列 番号	オリゴ 名	塩基配列	遺伝子 名	標的領域	生物	書式付き配列
745	FXN-43 4 m02	CGCTCCGCCCT CCAGTTTTTTT TTAGGAGGCAA CACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaTs; dCs;lnaCs;dGs;lnaCs;dCs;lnaCs;dTs; lnaCs;dCs;lnaAs;dG ;dT;dT;dT;dT;dTs;l naTs;dTs;lnaTs;dTs ;lnaAs;dGs;lnaGs;d As;lnaGs;dGs;lnaCs ;dAs;lnaAs;dCs;lna As;dCs;lnaAs;dTs;l naT-Sup
746	FXN-43 6 m02	CGCTCCGCCCT CCAGCCTTTTT TTTTAGGAGGC AACACATT	FXN	5' および 3'	ヒト	dCs;lnaGs;dCs;lnaTs; dCs;lnaCs;dGs;lnaCs;dCs;lnaCs;dTs; lnaCs;dCs;lnaAs;dG s;lnaCs;dC;dT;dT;d T;dT;dTs;lnaTs;dTs ;lnaTs;dTs;lnaAs;d Gs;lnaGs;dAs;lnaGs ;dGs;lnaCs;dAs;lna As;dCs;lnaAs;dCs;l naAs;dTs;lnaT-Sup

30

40

## 【 0 3 1 2 】

ショートアーム ( S A ) 研究のために、オリゴおよびコントロールを 2 5 m g / k g で

50

0日目および4日目に注射した。組織を7日目に回収した。ロングアーム(LA)研究のために、注射を同じ用量で0日目、4日目、7日目に行い、回収を14日目に行った。このモデルの心臓および肝臓(livers)におけるヒトFXNおよびマウスFXNをQPCRで計測し、PBS群に対して正規化した。各処置群は、5匹のマウスを有した(n=5)。

#### 【0313】

ヒトFXN標的化オリゴは、ショートアーム研究において、心臓のマウスフラタキシンmRNAをアップレギュレートしたことが見出された(図67)。わずかであって統計的に有意でないアップレギュレーションの傾向もまた、ロングアーム研究において肝臓および心臓のヒトFXNに対して存在した(図67)。2つのオリゴFXN-375および389は、マウスFXN転写物といくつかのミスマッチありで重複していた(図68)。主要なマウスFXN3'部位は、chr19:24261501に存在した。主要なマウスFXN5'部位は、chr19:24280595に存在する。ESTならびにRefSeqのアノテーションは、マウス転写物へのこれらのオリゴの潜在的な結合を示唆した。これらのデータから、FXN RNA転写物に対してミスマッチを含むオリゴが、なおもFXNのアップレギュレーションをもたらし得ることが示唆されることから、ミスマッチが許容され得ると示される。

#### 【0314】

本発明のいくつかの実施形態は、本明細書に記載され、例証されてきたが、当業者は、その機能を行うため、ならびに/または本明細書中に記載された結果および/もしくは1つもしくはそれを超える利点を得るために、他の種々の手段および/または構造を容易に想定し、そのようなバリエーションおよび/または改変の各々は、本発明の範囲内であるとみなされる。より一般的には、当業者は、本明細書中に記載されるすべてのパラメータ、寸法、材料および配置が例示的であるという意味されていること、ならびに実際のパラメータ、寸法、材料および/または配置が、本発明の教示が使用する具体的な用途(複数可)に依存することを容易に認識する。当業者は、本明細書中に記載される本発明の具体的な実施形態に対する多くの等価物を認識するかまたは単なる日常的な実験法を使用して確認することができる。ゆえに、上記の実施形態が単に例として提示されていること、ならびに本発明が、添付の特許請求の範囲およびそれに対する等価物の範囲内で、具体的に記載されたものおよび主張されるものと異なる方法で実施され得ることが理解されるべきである。本発明は、本明細書中に記載される各個別の特徴、システム、物品、材料および/または方法に関する。さらに、2つまたはそれを超えるそのような特徴、システム、物品、材料および/または方法の任意の組み合わせは、そのような特徴、システム、物品、材料および/または方法が、相互に相反しない場合、本発明の範囲内に含まれる。

#### 【0315】

不定冠詞「a」および「an」は、本明細書および特許請求の範囲において使用されるとき、明らかにそれとは反対のことが示されていない限り、「少なくとも1つの」を意味していると理解されるべきである。

#### 【0316】

句「および/または」は、本明細書および特許請求の範囲において使用されるとき、そのように結合されているエレメント、すなわち、いくつかの場合では接続的に存在し、他の場合では離散的に存在するエレメントの「いずれかまたは両方」を意味していると理解されるべきである。反対のことが明らかに示されていない限り、「および/または」節によって具体的に同定されるエレメントに関係するかまたは関係しないかにかかわらず、それらの具体的に同定されるエレメント以外の他のエレメントが、必要に応じて存在し得る。したがって、非限定的な例として、「Aおよび/またはB」に対する言及は、「含む」などのオープンエンドな言語とともに使用されるとき、1つの実施形態では、BなしのA(必要に応じてB以外のエレメントを含む)；別の実施形態では、AなしのB(必要に応じてA以外のエレメントを含む)；なおも別の実施形態では、AとBの両方(必要に応じて他のエレメントを含む)；などのことを言及し得る。

## 【0317】

本明細書および特許請求の範囲において使用されるとき、「または」は、上で定義されたような「および/または」と同じ意味を有すると理解されるべきである。例えば、リストにおける項目を分けているとき、「または」または「および/または」は、包括的である、すなわち、少なくとも1つの包含であると解釈されるものとするが、いくつかのエレメントまたはエレメントのリストのうちの1つより多いエレメント、および必要に応じて、列挙されていないさらなる項目も含むと解釈されるものとする。それとは反対のことを明らかに示す用語、例えば、「～のうちのただ1つ」もしくは「～のうちのまさに1つ」または請求項において使用されるとき「～からなる」だけが、いくつかのエレメントまたはエレメントのリストのうちのまさに1つのエレメントの包含のことを指す。通常、本明細書中で使用される用語「または」は、排他的な用語、例えば、「いずれか」、「～のうちの1つ」、「～のうちのただ1つ」また「～のうちのまさに1つ」が前につくとき、排他的な選択肢（すなわち「一方または他方であって両方ではない」）を示すと単に解釈されるものとする。「～から本質的になる」は、特許請求の範囲において使用されるとき、特許法の分野において使用される通常の意味を有するものとする。

10

## 【0318】

本明細書および特許請求の範囲において使用されるとき、句「少なくとも1つ」は、1つまたはそれを超えるエレメントのリストに照らして、エレメントのリストの中のいずれか1つまたはそれを超えるエレメントから選択される少なくとも1つのエレメントを意味すると理解されるべきであるが、必ずしも、エレメントのリストの中に具体的に列挙された各エレメントおよび全エレメントのうちの少なくとも1つを含むわけでもないし、エレメントのリストの中の任意の組み合わせのエレメントを排除するわけでもない。この定義は、句「少なくとも1つ」が指すエレメントのリスト内に具体的に同定されるエレメント以外のエレメントが、それらの具体的に同定されるエレメントに関係するか関係しないかにかかわらず、必要に応じて存在してもよいことも許容する。したがって、非限定的な例として、「AおよびBの少なくとも1つ」（または、等しく、「AまたはBの少なくとも1つ」、または、等しく、「Aおよび/またはBの少なくとも1つ」）は、1つの実施形態では、必要に応じて、Bが存在せずに1つより多いAを含む（および必要に応じてB以外のエレメントを含む）少なくとも1つ；別の実施形態では、必要に応じて、Aが存在せずに1つより多いBを含む（および必要に応じてA以外のエレメントを含む）少なくとも1つ；なおも別の実施形態では、必要に応じて1つより多いAを含む少なくとも1つおよび必要に応じて1つより多いBを含む少なくとも1つ（および必要に応じて他のエレメントを含む）；などのことを指し得る。

20

30

## 【0319】

特許請求の範囲ならびに上記の明細書において、すべての移行句、例えば、「含む（comprising）」、「含む（including）」、「有する（carrying）」、「有する（having）」、「含む（containing）」、「含む（involving）」、「有する（holding）」などは、オープンエンドである、すなわち、～を含むがこれらに限定されないことを意味していると理解されるべきである。United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03に示されているように、移行句「～からなる」および「～から本質的になる」だけが、それぞれクローズドまたはセミクローズドの移行句であるものとされる。

40

## 【0320】

請求項のエレメントを修飾するために、特許請求の範囲における「第1」、「第2」、「第3」などのような順序の用語の使用は、それ自体が、別のものに対する1つの請求項エレメントの任意の優先権、先例もしくは順序、または方法の行為が行われる時間的順序を意味せず、請求項エレメントを区別するために、ある特定の名称を有する1つの請求項エレメントを、同じ名称を有する（順序の用語の使用を別にすれば）別のエレメントと区別する標示として使用されているだけである。

50

【 図 1 】

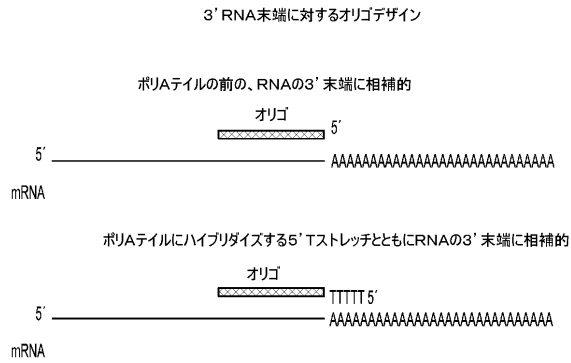


FIG. 1

【 図 2 】

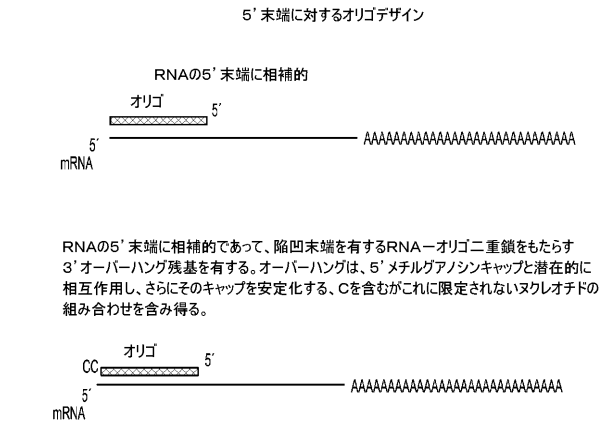
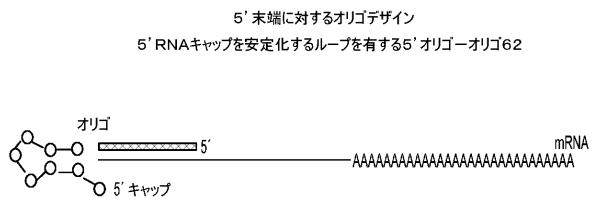


FIG. 2

【 図 3 A 】



5' および3' 末端に対するオリゴデザイン

環状化オリゴは、偽環状化RNAを形成する1つのオリゴによってRNAの両端を保護する

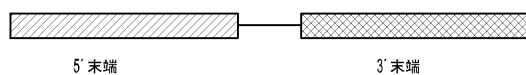


FIG. 3A

【 図 3 B 】

オリゴによって媒介されるRNA偽環状化

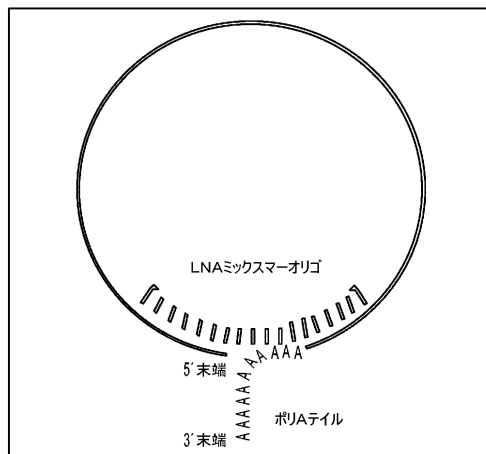


FIG. 3B

【 図 4 】

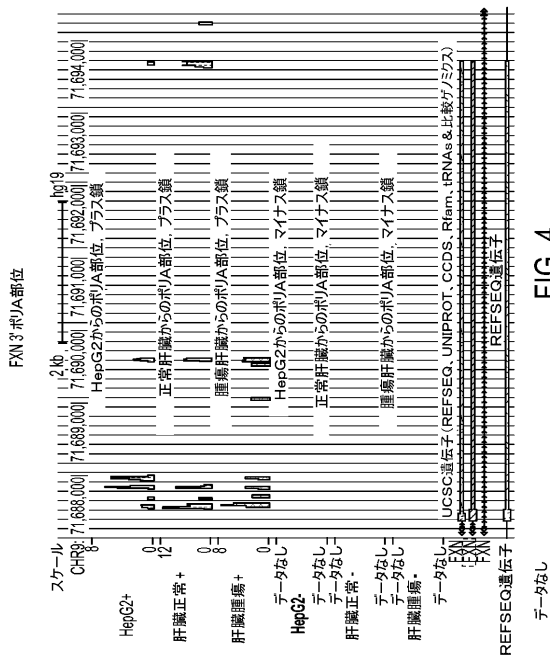


FIG. 4

【 図 5 】

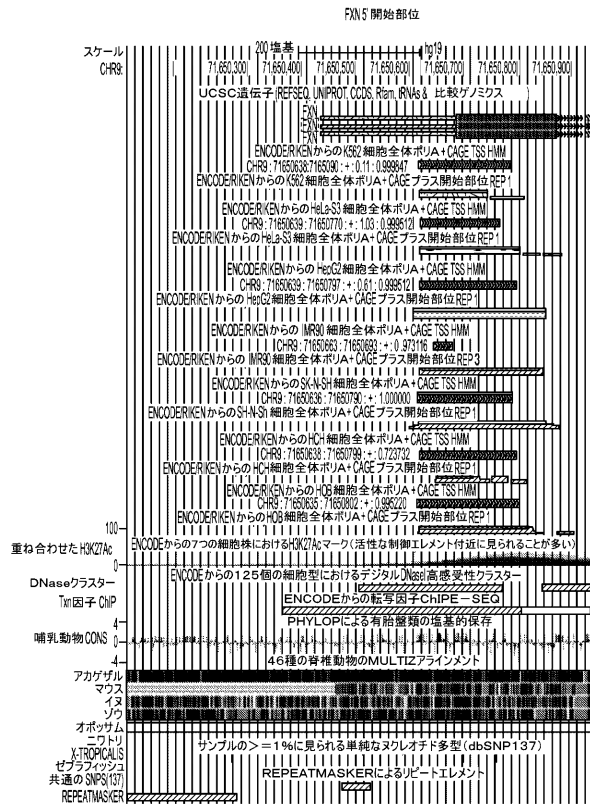


FIG. 5

【 図 6 】

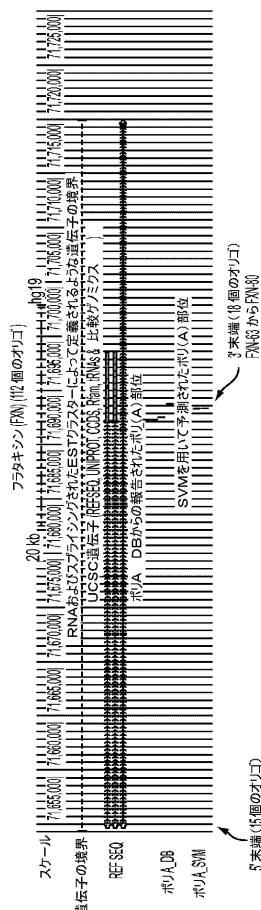


FIG. 6

【 図 7 】

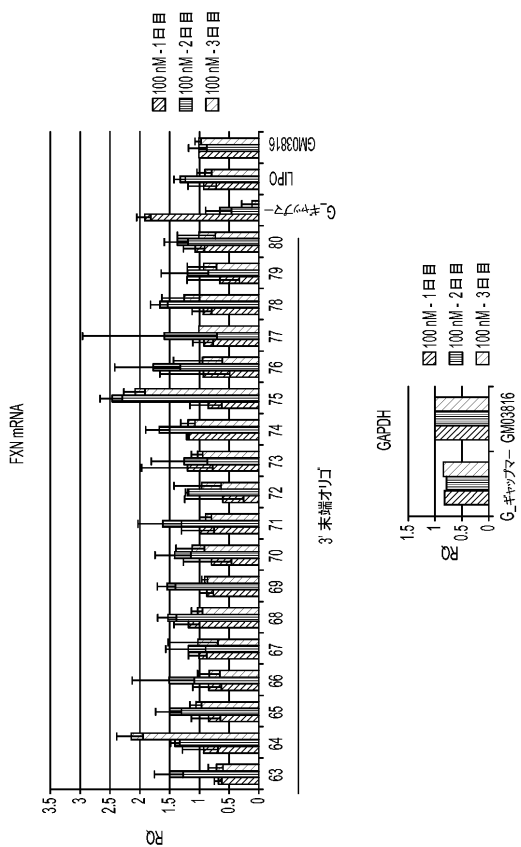


FIG. 7





【 図 1 2 】

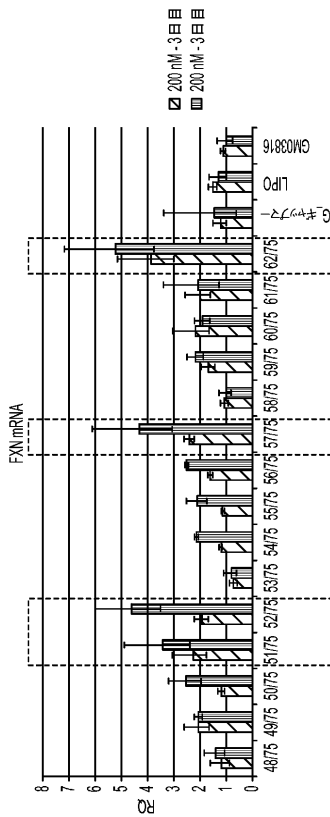


FIG. 12

【 図 1 3 】

[illegible]

オリゴ51'(GGCCCTCCAGGGCTG)は5'末端に一致  
オリゴ52'(GGCTCGGGCTCCAG)は5'末端に一致  
オリゴ57'(GGCTCGGGCTCCAGGC)は5'末端に一致  
オリゴ62'(GGCTCGGGCTCCAGGCCAAGGTC)は完全一致を有しない

潜在的な正の5'オリゴのすべてが以下の配列を有する: CGCCCTCCAG

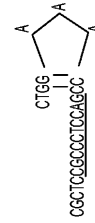


FIG. 13

【 図 1 4 】

5'末端に対するオリゴデザイン  
オプション3: 5' RNAキャップを安定化するループを有する5' オリゴ-オリゴ62

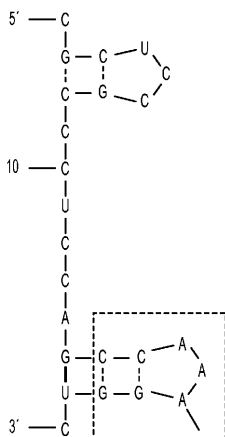


FIG. 14

【 図 1 5 A 】

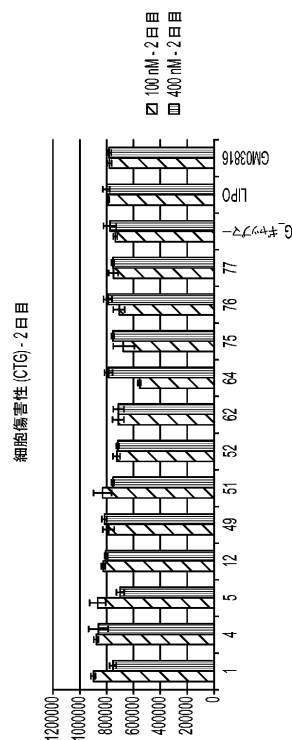
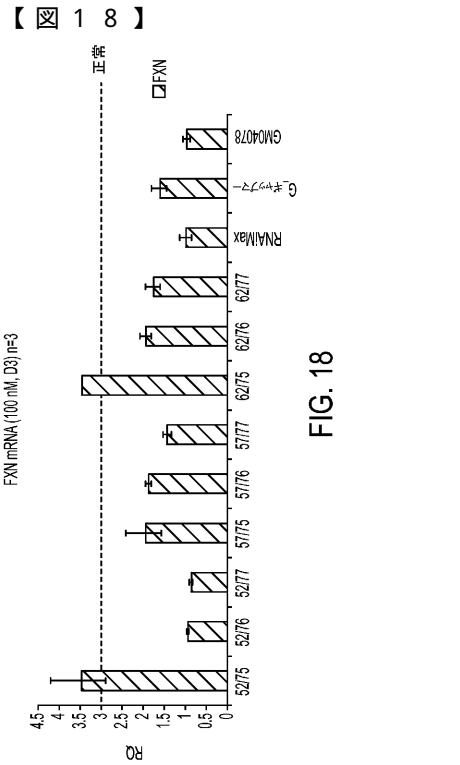
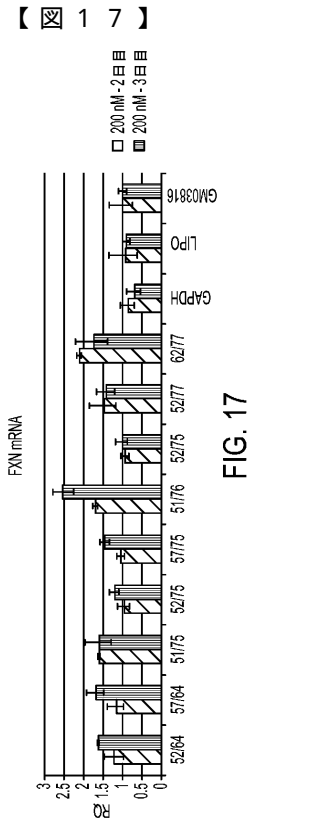
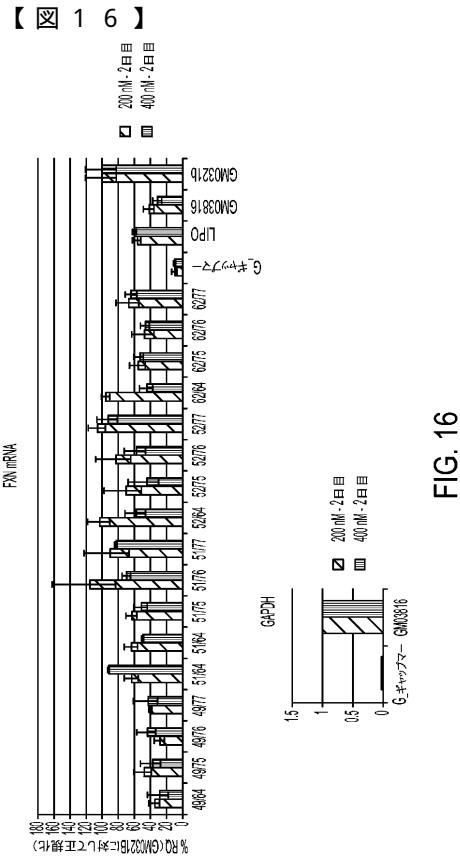
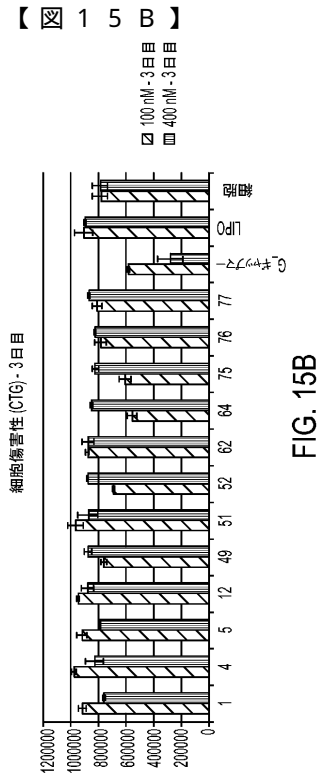


FIG. 15A



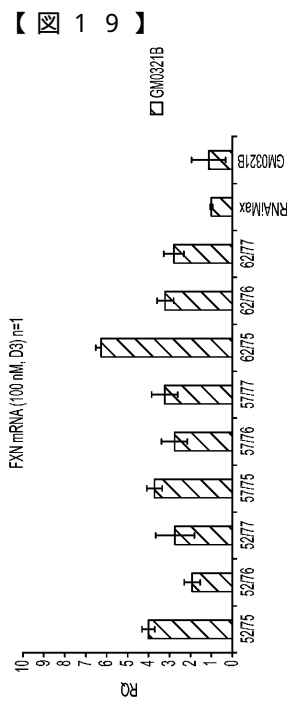


FIG. 19

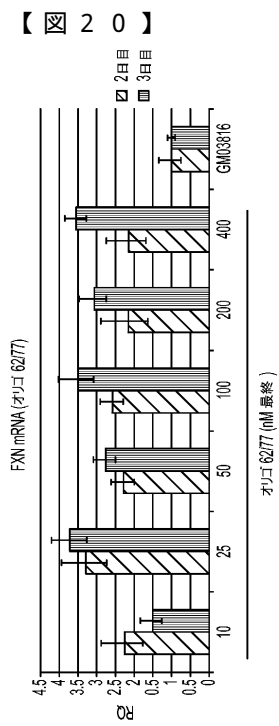


FIG. 20

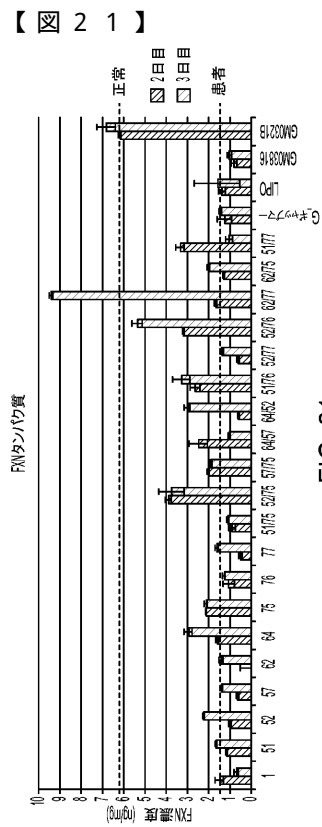


FIG. 21

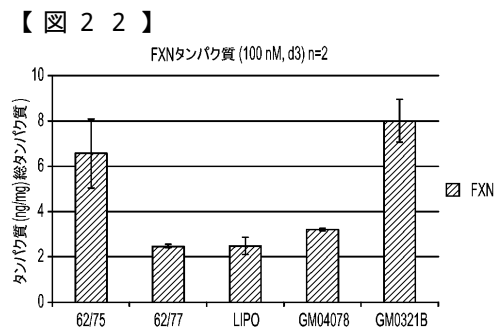
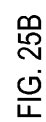
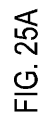
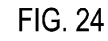
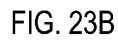
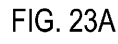


FIG. 22

【 図 2 4 】



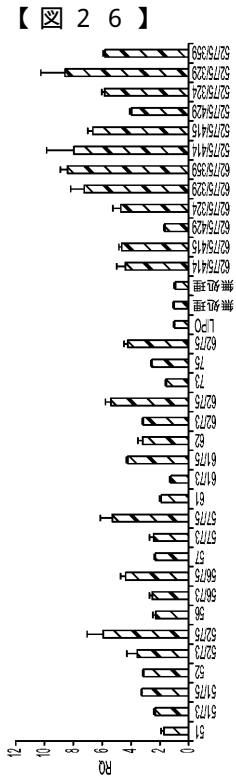


FIG. 26

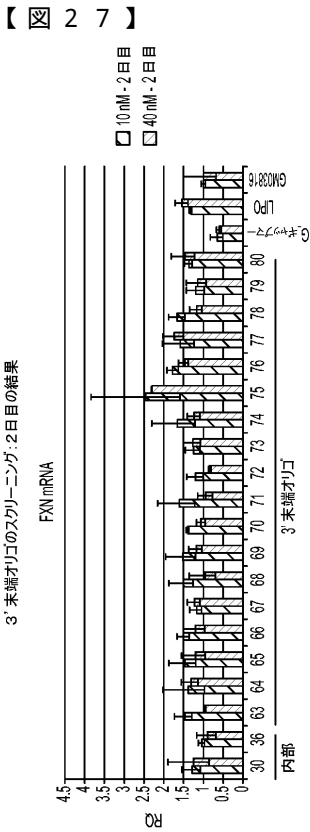


FIG. 27

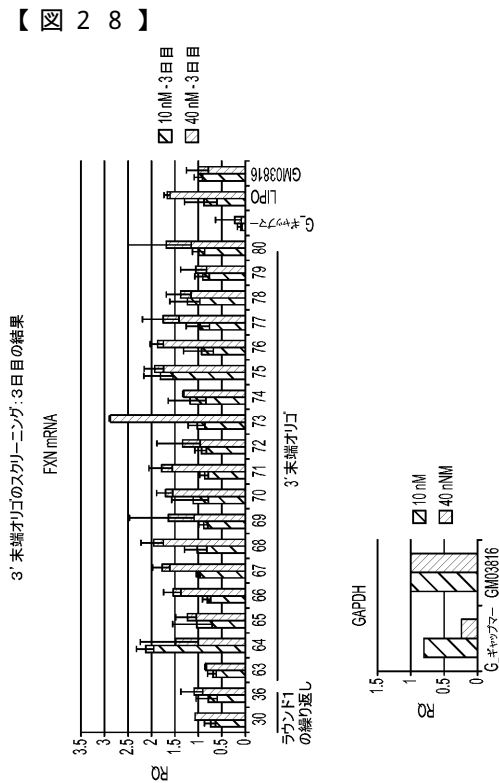


FIG. 28

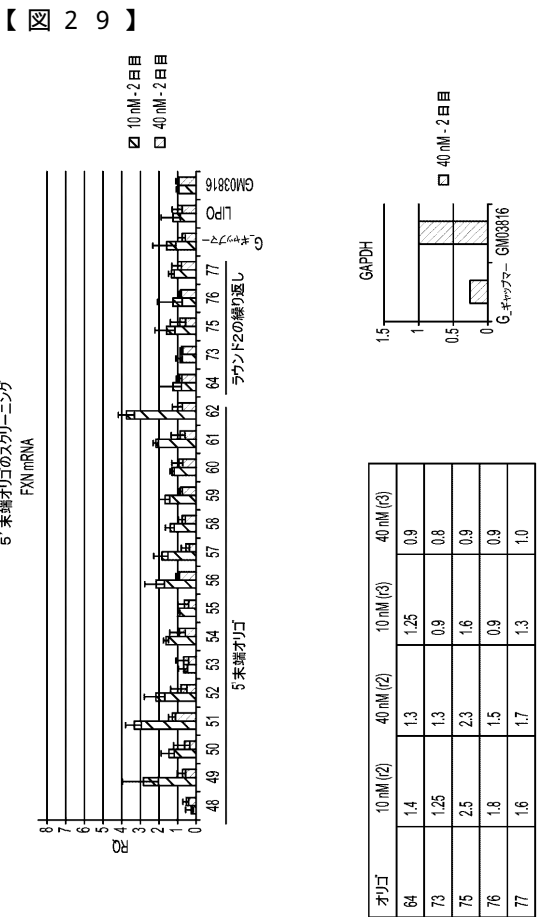


FIG. 29

【図 3 0】

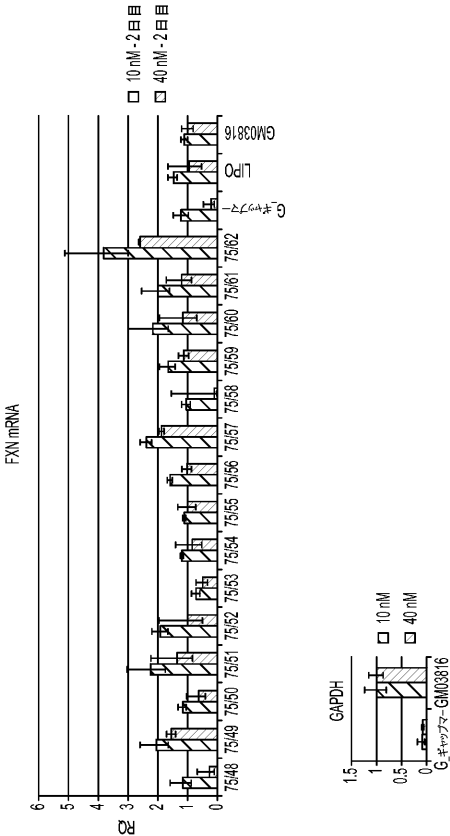


FIG. 30

【図 3 1】

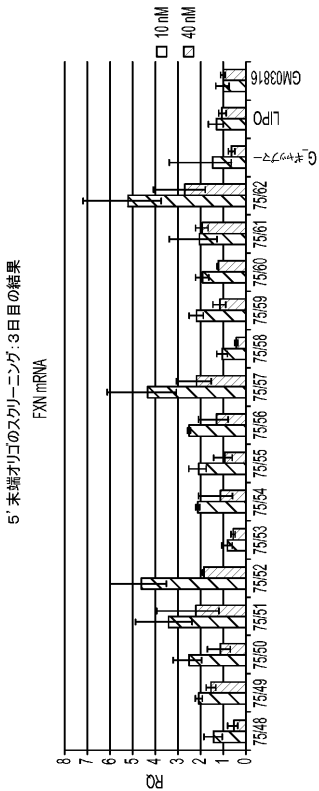


FIG. 31

【図 3 2】

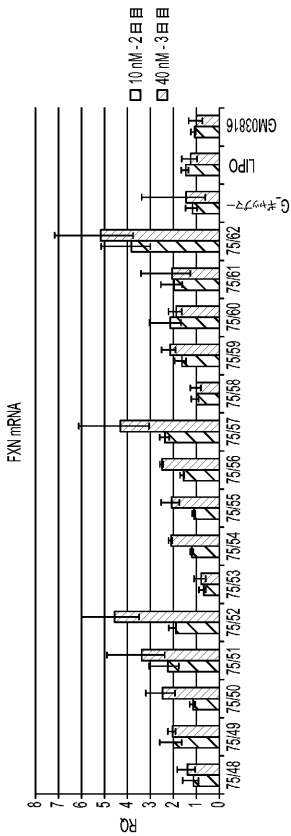


FIG. 32

【図 3 3】

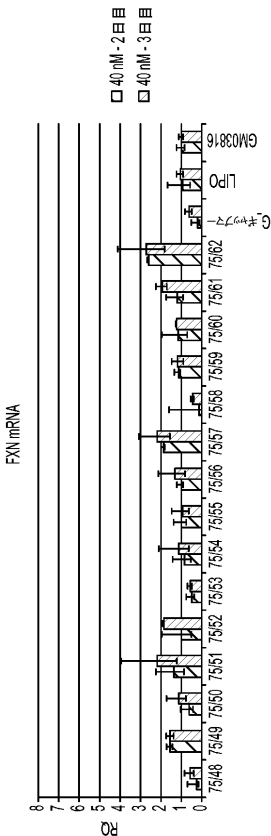


FIG. 33

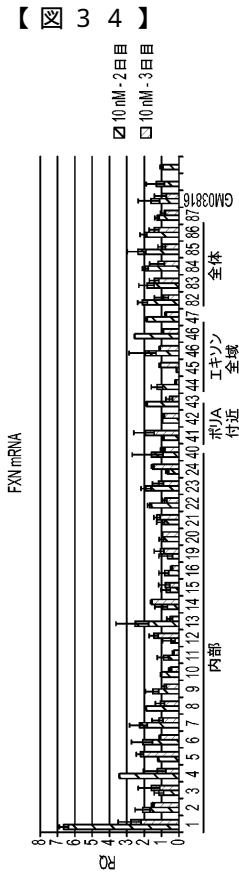


FIG. 34

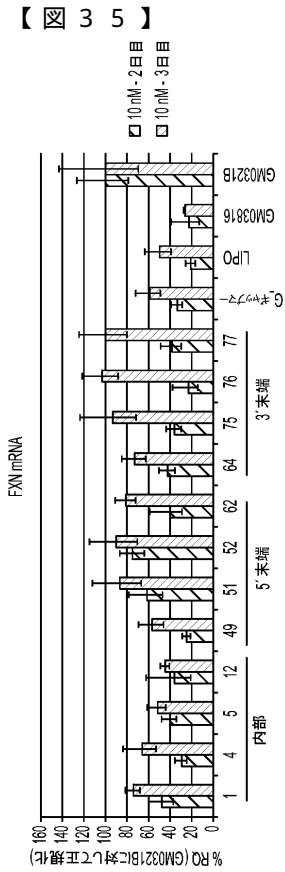


FIG. 35

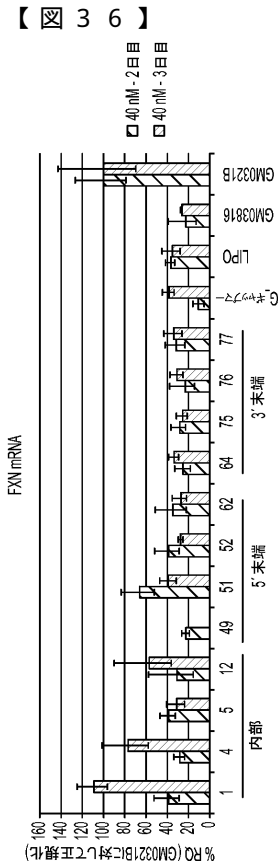


FIG. 36

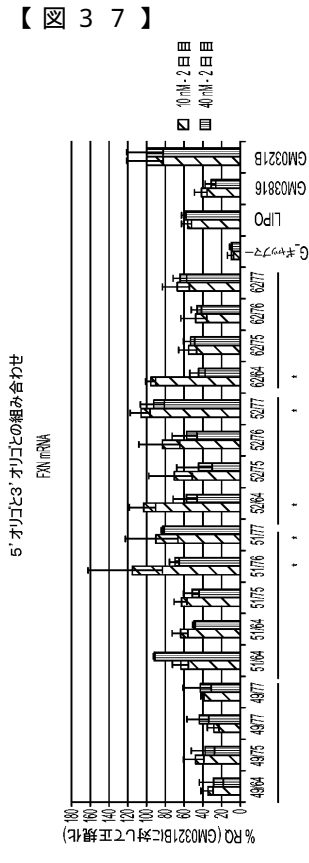


FIG. 37

【図 38 A】

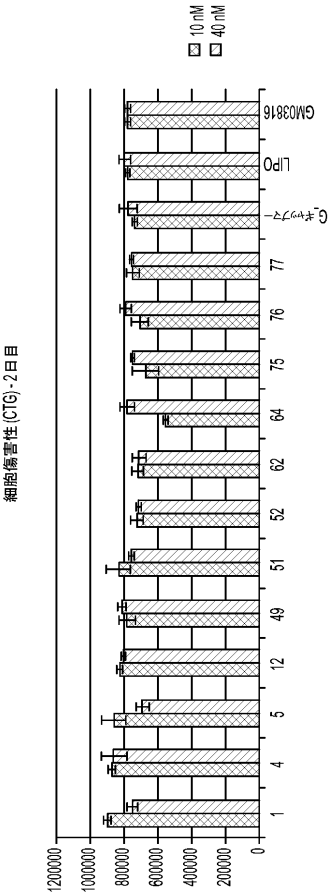


FIG. 38A

【図 38 B】

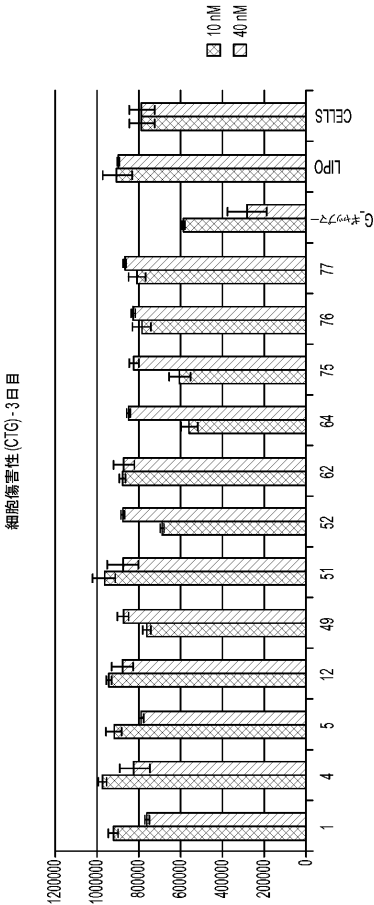


FIG. 38B

【図 39 A】

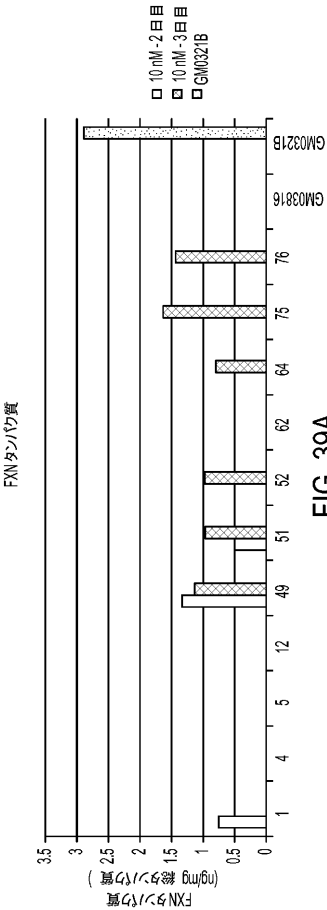


FIG. 39A

【図 39 B】

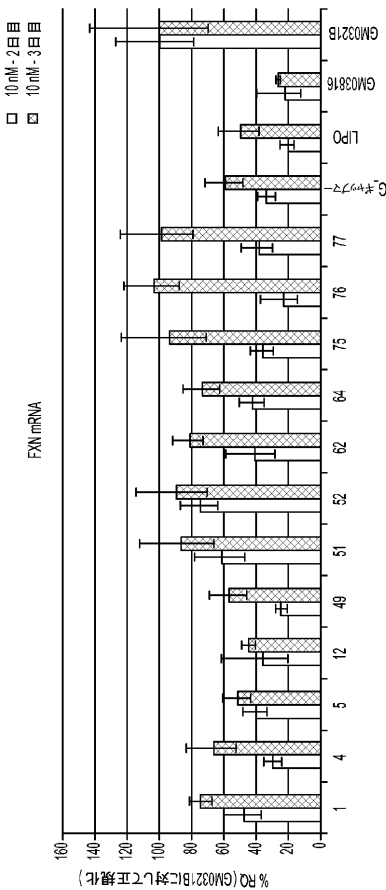
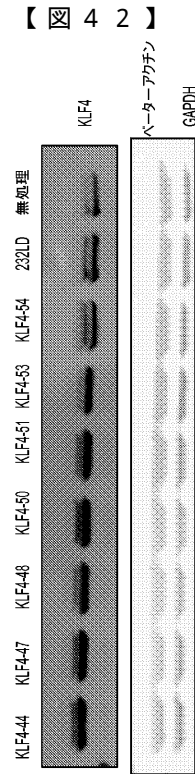
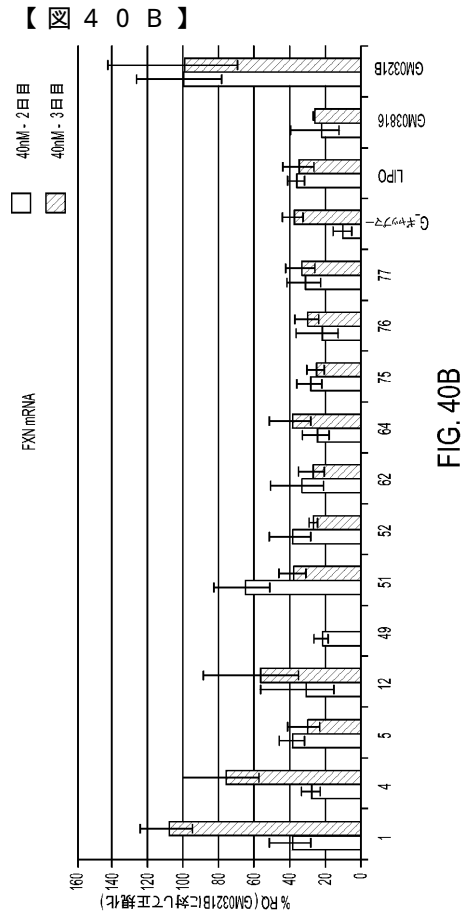
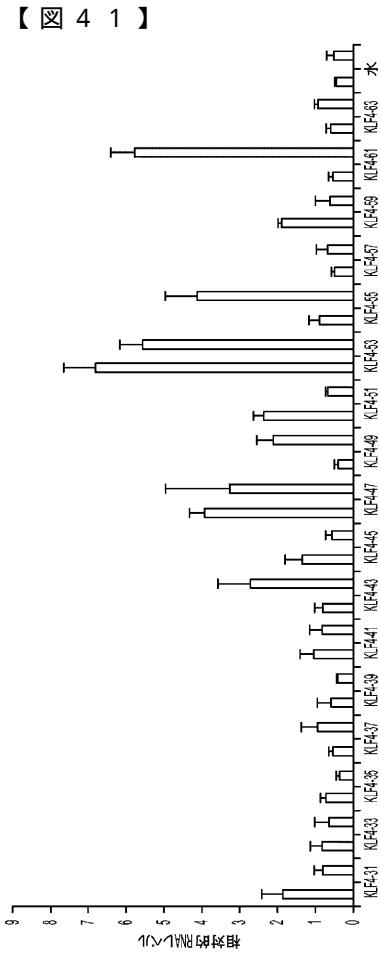
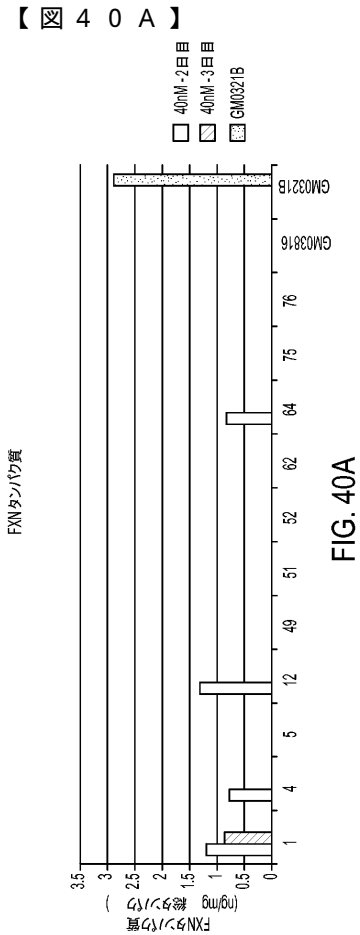


FIG. 39B





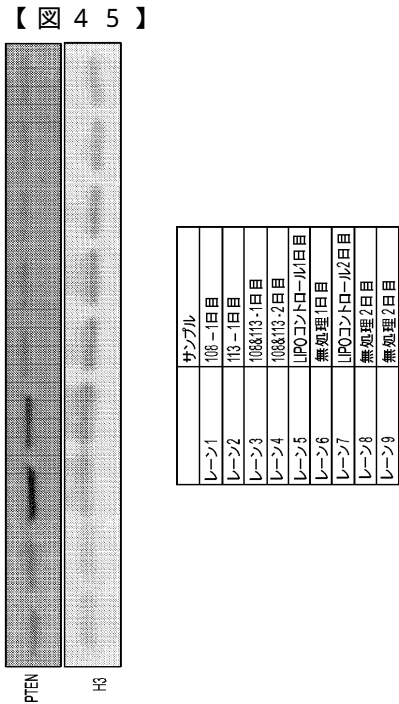
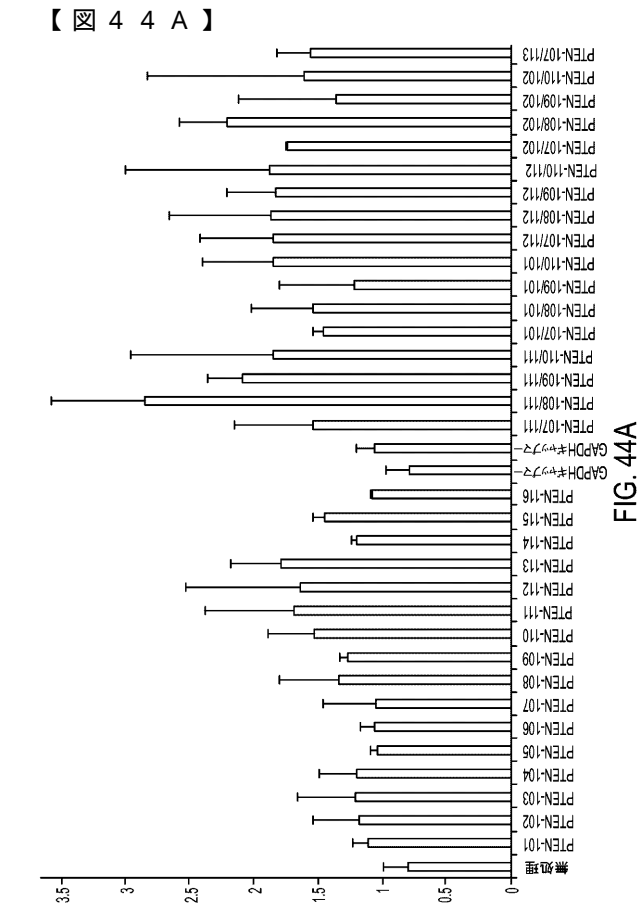
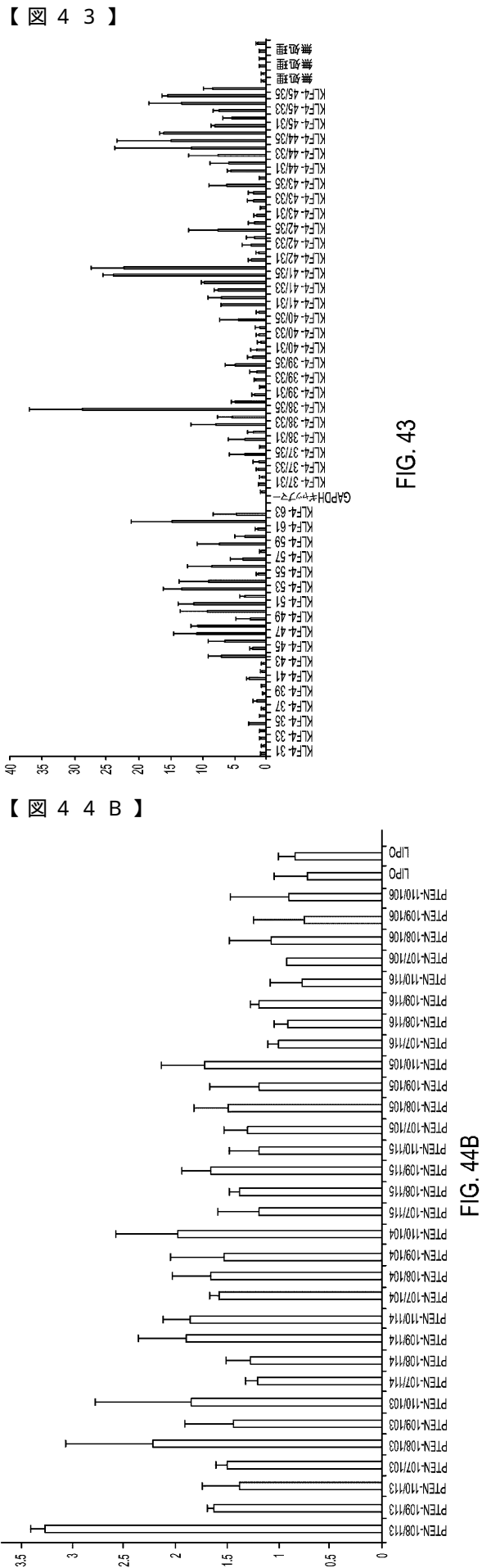
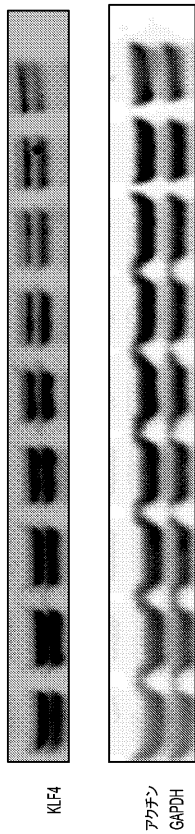


FIG. 45



Hepa1-6細胞におけるマウスKLF4安定化組み合わせオリゴ



オリゴ	
レーン1	1816
レーン2	1817
レーン3	1819
レーン4	2818
レーン5	2819
レーン6	3818
レーン7	3819
レーン8	LPOコントロール
レーン9	無処理

マウスKLF4オリゴを、Hepa1-6細胞においてトランスフェクションを介してタンパク質について3日目にスクリーニングした。

FIG. 48

「環状化オリゴおよび個々の安定化オリゴを用いたアカテノマイシンD KLF4安定性計測

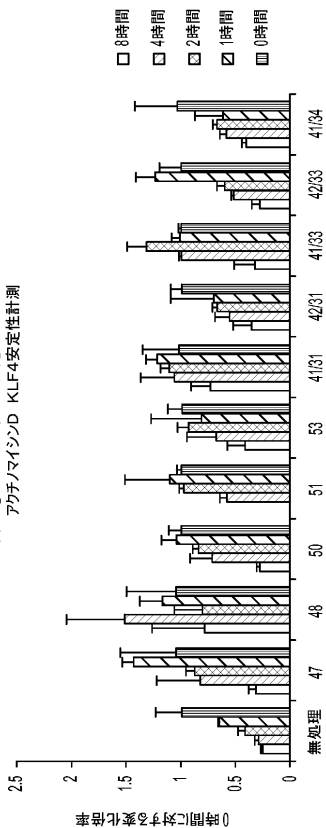
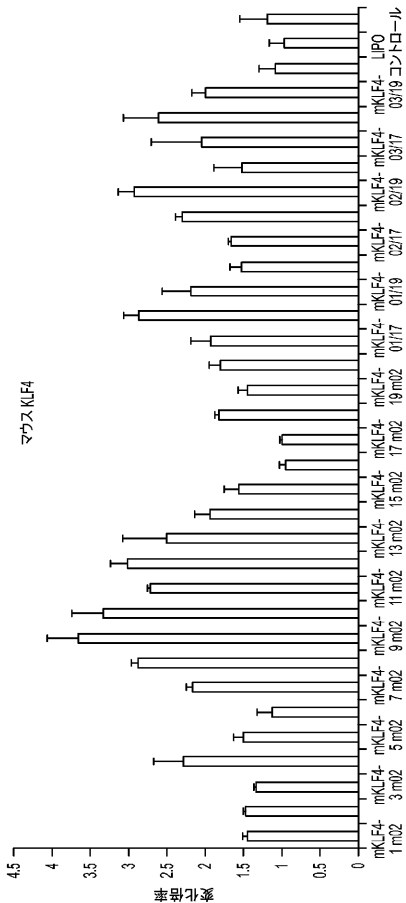


FIG. 49

【図 46】

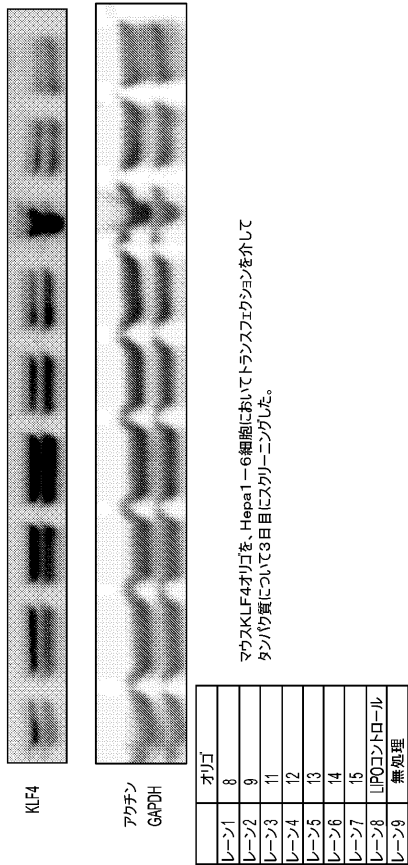


マウスKLF4オリゴを、Hepa1-6細胞においてトランスフェクションを介してタンパク質について3日目にスクリーニングした。

FIG. 46

【図 47】

Hepa1-6細胞におけるマウスKLF4偽環状化オリゴ



マウスKLF4オリゴを、Hepa1-6細胞においてトランスフェクションを介してタンパク質について3日目にスクリーニングした。

FIG. 47

【 図 5 0 】

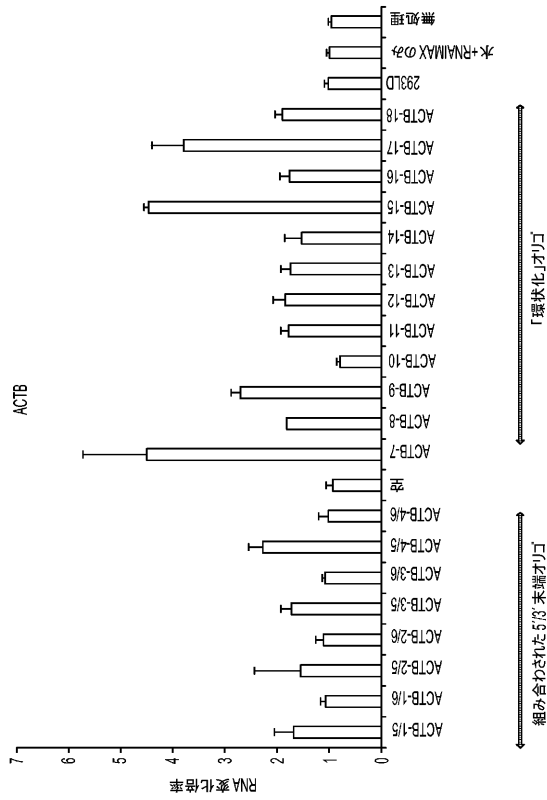


FIG. 50

【 図 5 1 】

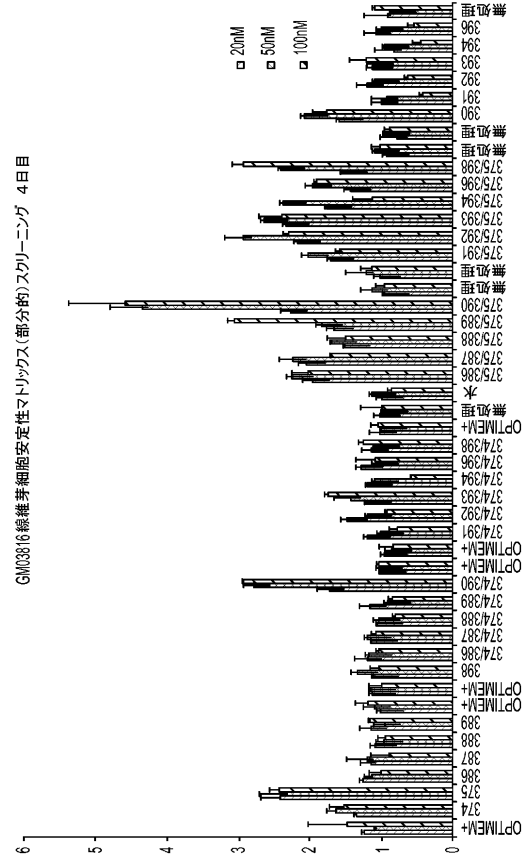


FIG. 51

【 図 5 2 】

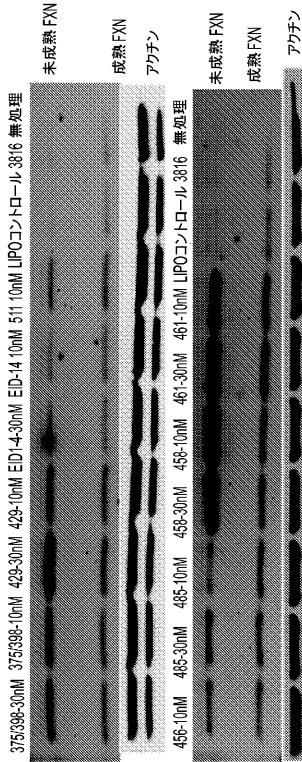
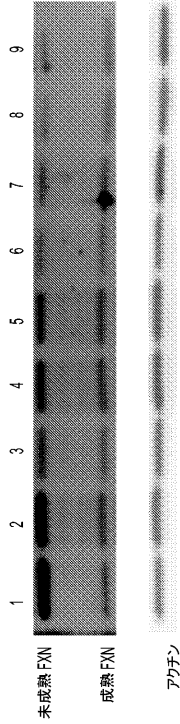


FIG. 52

【 図 5 3 】



レーン	サンプル
1	オリゴ-60nM
2	オリゴ-30nM
3	オリゴ-15nM
4	オリゴ-7.5nM
5	オリゴ-3.75nM
6	トランススクリプションコントロール
7	トランススクリプションコントロール
8	無処理 3816
9	無処理 3816

FIG. 53

【図 5 4】

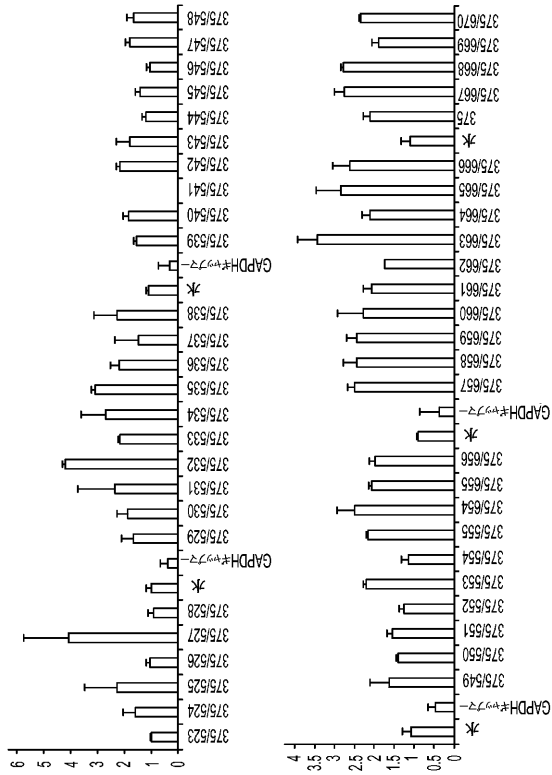


FIG. 54

【図 5 5】

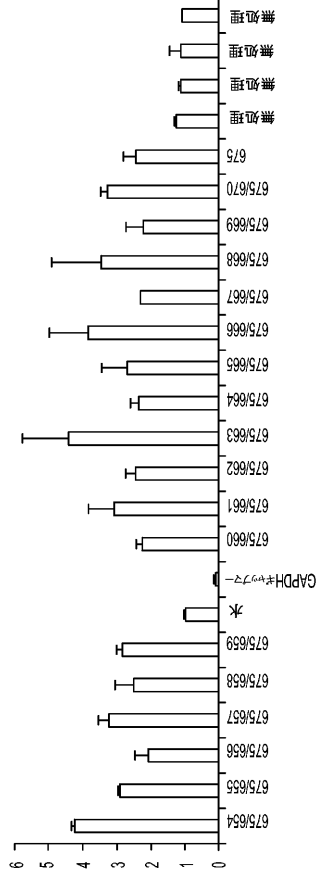


FIG. 55

【図 5 6 - 1】

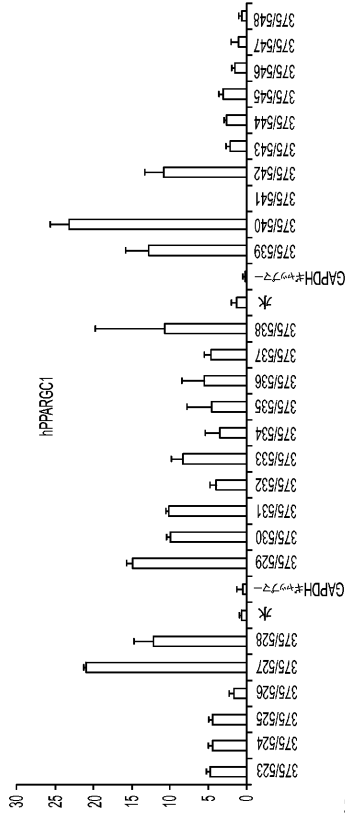


FIG. 56

【図 5 6 - 2】

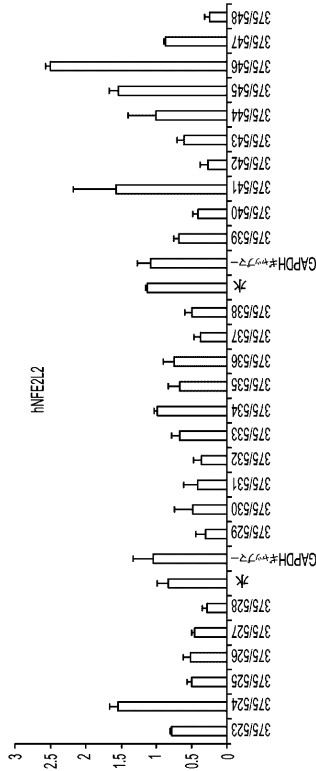
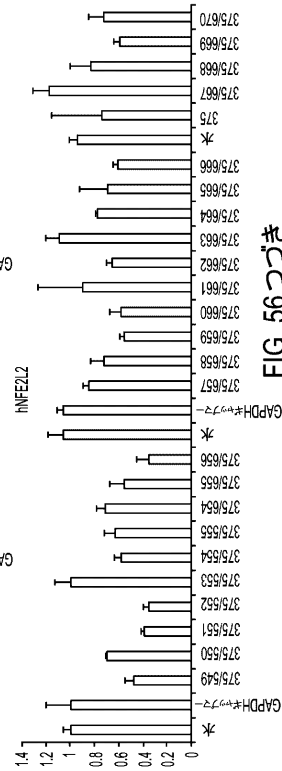
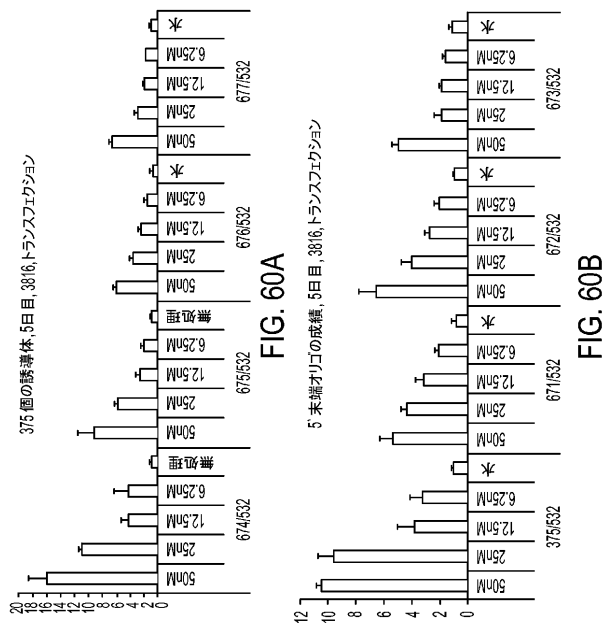


FIG. 56 つづき

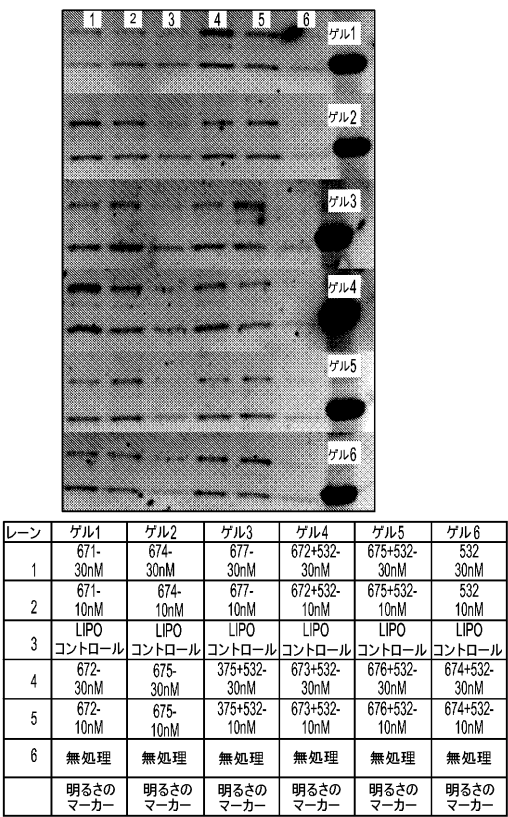




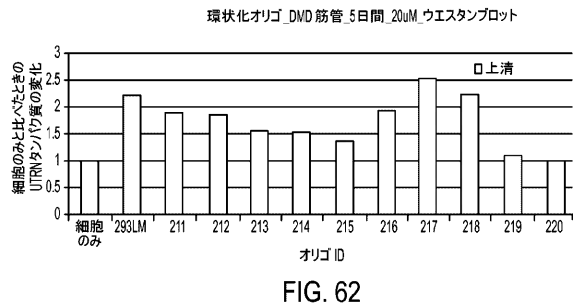
【図 60】



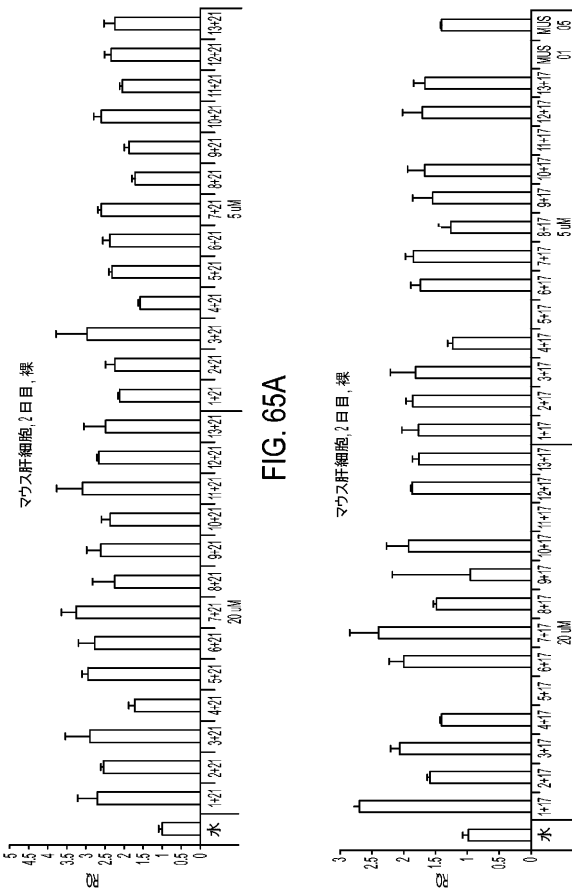
【図 61】



【図 62】



【図 65 - 1】



【 図 6 5 - 2 】

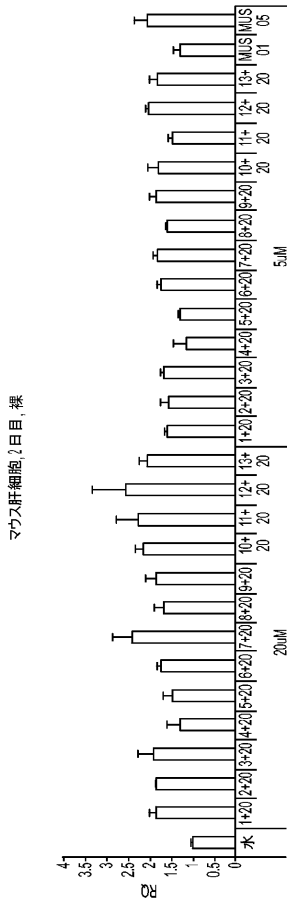


FIG. 65C

【 図 6 6 】

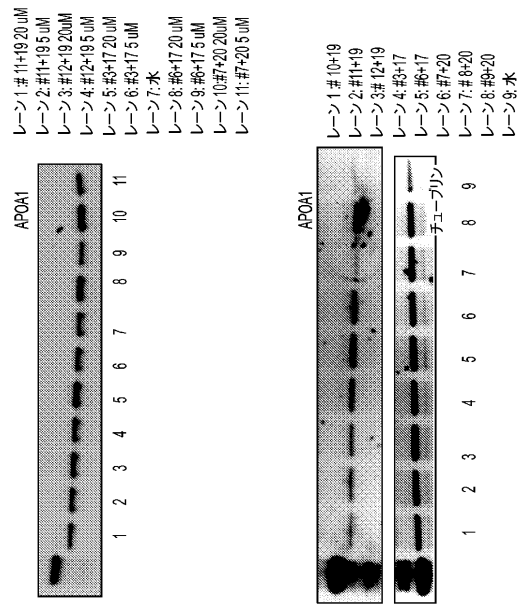
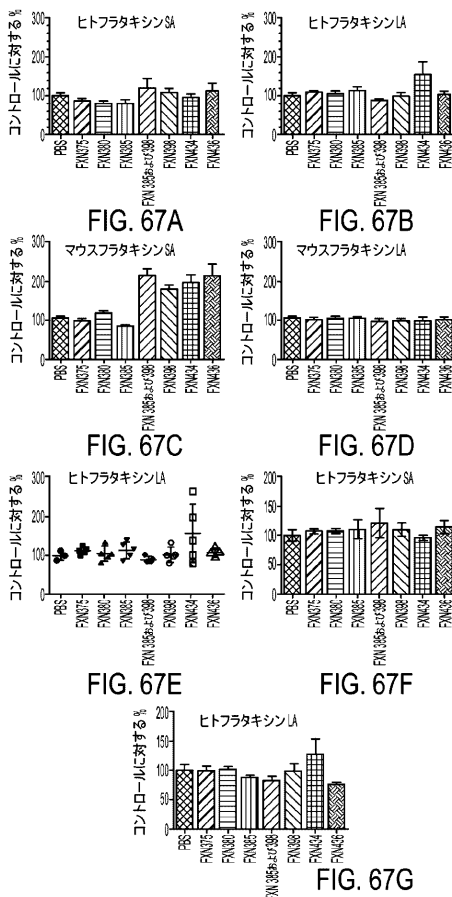


FIG. 66

【 図 6 7 】



【 図 6 8 】

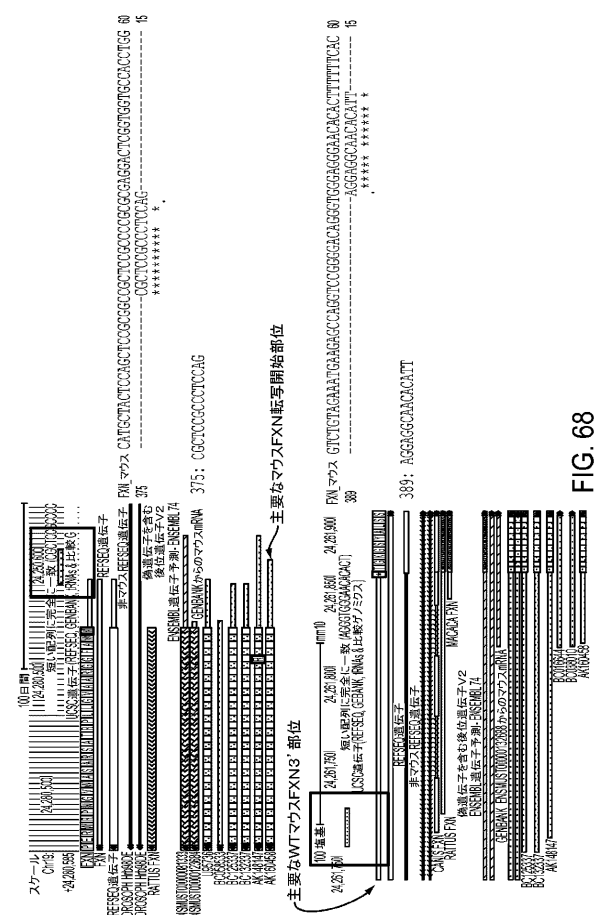
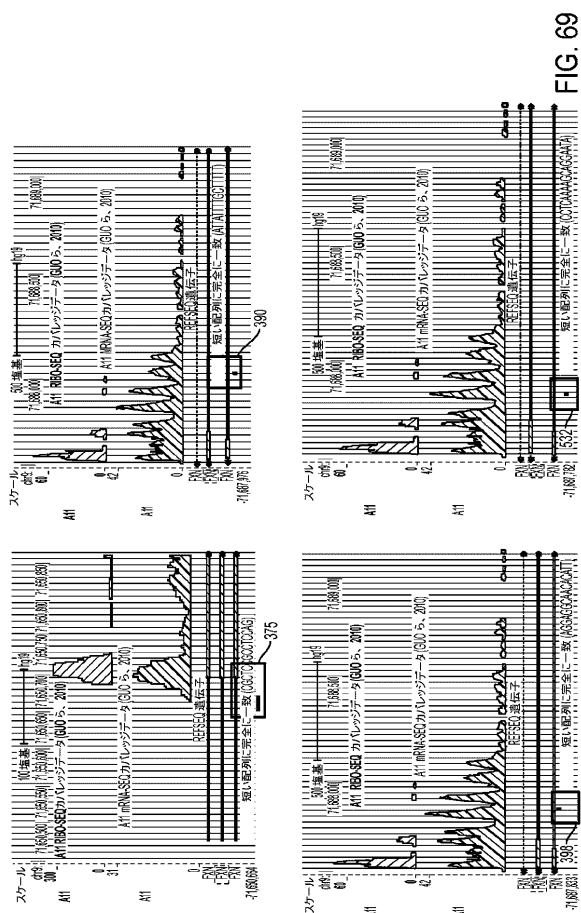


FIG. 68



【 図 6 9 】



【 図 6 3 】

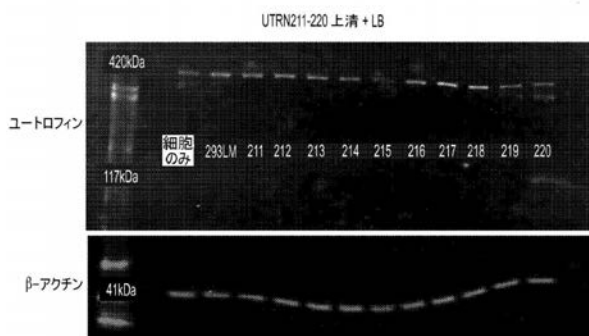
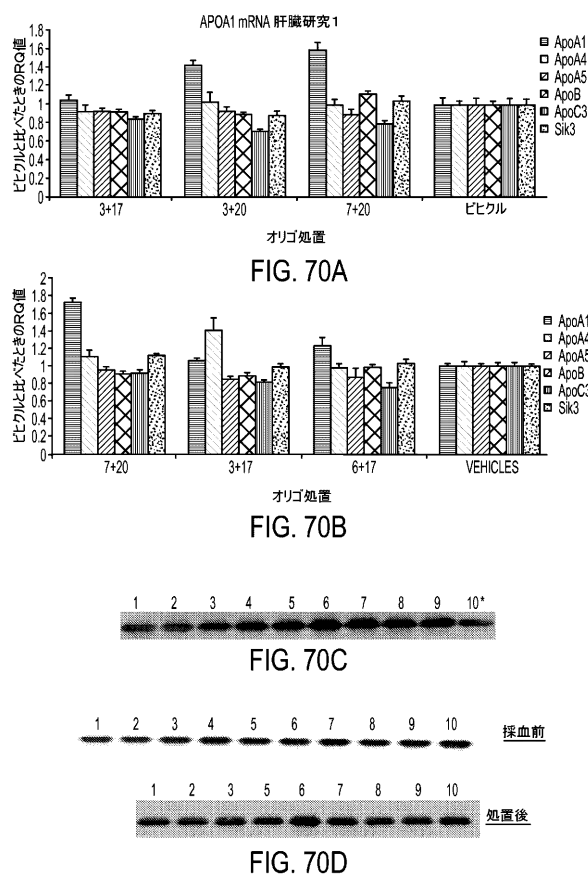


FIG. 63

【 ㊦ 7 0 】【



【 図 6 4 - 1 】

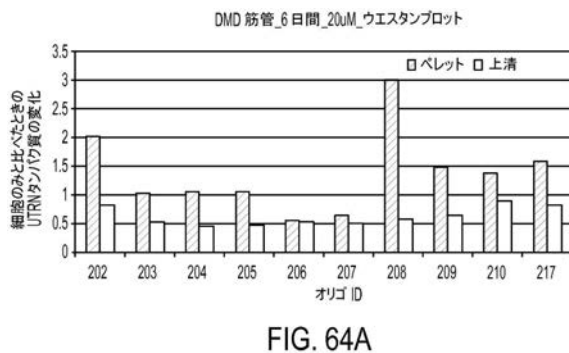


FIG. 64A

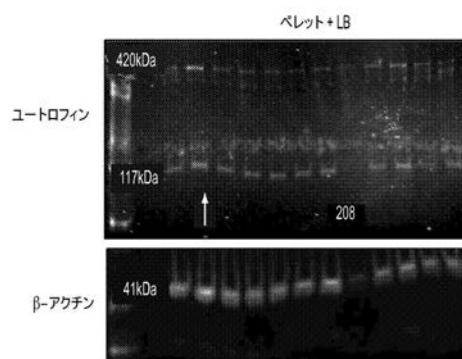


FIG. 64B

【図 6 4 - 2】

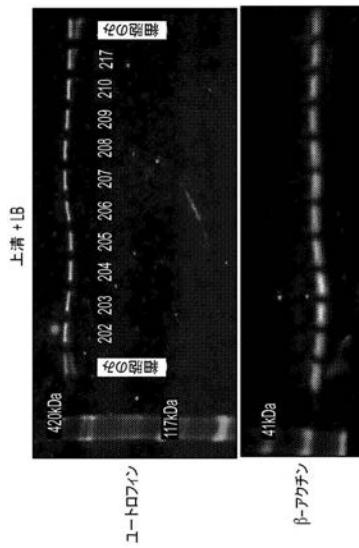


FIG. 64C

【配列表】

2016528897000001.app

## 【 国 際 調 査 報 告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. <b>PCT/US2014/051331</b>
---

**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. a sequence listing filed or furnished

- ☐ on paper  
☒ in electronic form

b. time of filing or furnishing

- ☐ contained in the international application as filed  
☒ filed together with the international application in electronic form  
☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

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 in 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/US2014/051331

**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.: 43,55-61  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 43 and 55-61 are directed to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv), to search.
2. ☒ Claims Nos.: 17, 37, 81-82, 98, 110, 116-117, 127, 134  
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:  
Claims 17, 37, 81-82, 98, 110, 116-117, 127 and 134 are unclear since they are referring to the multiple dependent claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).
3. ☒ Claims Nos.: See extra page  
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:



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 an additional fees, this Authority did not invite payment of any 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.:

**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/US2014/051331**

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>C12N 15/63(2006.01)i, C12N 15/113(2010.01)i</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N 15/63; A61K 31/70; G06F 19/12; C12N 15/67; A61K 31/7105; C07H 21/02; C12N 15/113; C12N 15/11; A61K 31/7088		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eCOMPASS(KIPO internal) & Keywords: gene expression, complement oligonucleotide, transcript, transcription start site, internucleoside linkage, circularized synthetic RNA		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012-170771 A1 (CURNA, INC.) 13 December 2012 See claims 5-6, 18-19 and 32; paragraphs [0029]-[0030], [00161] and [00221].	135, 137-139
A		1-8, 10-13, 19-22 , 24-26, 31-32, 44-48 , 62-71, 73-76, 80, 83 , 85-87, 92-93 , 103-108, 120-125 , 136, 140
A	WO 99-10509 A1 (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, REPRESENTED BY THE SECRETARY OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH) 04 March 1999 See abstract: claims 1, 3-4 and 12.	1-8, 10-13, 19-22 , 24-26, 31-32, 44-48 , 62-71, 73-76, 80, 83 , 85-87, 92-93 , 103-108, 120-125 , 135-140
A	US 2009-0082297 A1 (LIOY, DANIEL T. et al.) 26 March 2009 See claims 1, 11 and 15.	1-8, 10-13, 19-22 , 24-26, 31-32, 44-48 , 62-71, 73-76, 80, 83 , 85-87, 92-93 , 103-108, 120-125 , 135-140
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 "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 04 December 2014 (04.12.2014)		Date of mailing of the international search report <b>05 December 2014 (05.12.2014)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140		Authorized officer HEO, Joo Hyung  Telephone No. +82-42-481-8150

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No. <b>PCT/US2014/051331</b>
---

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2011-0054012 A1 (PLACE, ROBERT F. et al.) 03 March 2011 See claim 1.	1-8, 10-13, 19-22 , 24-26, 31-32, 44-48 , 62-71, 73-76, 80, 83 , 85-87, 92-93 , 103-108, 120-125 , 135-140
A	US 2013-0164846 A1 (SAETROM, PAL) 27 June 2013 See claims 1 and 10.	1-8, 10-13, 19-22 , 24-26, 31-32, 44-48 , 62-71, 73-76, 80, 83 , 85-87, 92-93 , 103-108, 120-125 , 135-140

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2014/051331**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012-170771 A1	13/12/2012	CA 2838588 A1 CN 103620036 A EP 2718439 A1 EP 2718439 A4 JP 2014-519333 A KR 10-2014-0033165 A TW 201302781 A US 2014-0187606 A1	13/12/2012 05/03/2014 16/04/2014 21/05/2014 14/08/2014 17/03/2014 16/01/2013 03/07/2014
WO 99-10509 A1	04/03/1999	AU 8916098 A	16/03/1999
US 2009-0082297 A1	26/03/2009	None	
US 2011-0054012 A1	03/03/2011	AU 2008-345074 A1 CA 2710953 A1 EP 2235033 A2 EP 2235033 A4 JP 2011-507554 A WO 2009-086428 A2 WO 2009-086428 A3	09/07/2009 09/07/2009 06/10/2010 02/11/2011 10/03/2011 09/07/2009 30/12/2009
US 2013-0164846 A1	27/06/2013	CN 103201384 A EP 2585595 A2 GB 201010557 D0 JP 2013-532973 A WO 2011-161460 A2 WO 2011-161460 A3	10/07/2013 01/05/2013 11/08/2010 22/08/2013 29/12/2011 16/02/2012

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No. <b>PCT/US2014/051331</b>
---

**Continuation of Box No. II:**

Claims Nos: 9, 14-16, 18, 23, 27-30, 33-36, 38-43, 49-61, 72, 77-79, 84, 88-91, 94-97, 99-102, 109, 111-115, 118-119, 126, 128-133



## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 オゾラック, ファティール

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02120, ボストン, パーカー ヒル 170, ナンバー7

(72)発明者 ウー, キャロライン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02460, ニュートン, フレデリック ストリート 15

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA12 BA01 BA08 BA44 CA53 DA01 DB01 DC01 NA14  
ZC02 ZC03 ZC19