

(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2020-534253

(P2020-534253A)

(43) 公表日 令和2年11月26日(2020.11.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 H 21/04 (2006.01)	C 0 7 H 21/04 Z	4 C 0 5 7
C 1 2 N 15/11 (2006.01)	C 1 2 N 15/11 Z N A Z	4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	4 C 0 8 6
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 370 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2020-506776 (P2020-506776)	(71) 出願人	515334681 ウェーブ ライフ サイエンス リミ テッド シンガポール国 O 1 8 9 3 6 シンガポ ール, ストレイツ ビュー 7 # 1 2 - O O, マリーナ ワン イースト タ ワー
(86) (22) 出願日	平成30年8月7日 (2018.8.7)	(74) 代理人	110001302 特許業務法人北青山インターナショナル
(85) 翻訳文提出日	令和2年3月11日 (2020.3.11)	(72) 発明者	ドナルド, ジーン-コスメ アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴ ェニュー 7 3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンス リミテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/045653		
(87) 国際公開番号	W02019/032607		
(87) 国際公開日	平成31年2月14日 (2019.2.14)		
(31) 優先権主張番号	62/542, 778		
(32) 優先日	平成29年8月8日 (2017.8.8)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

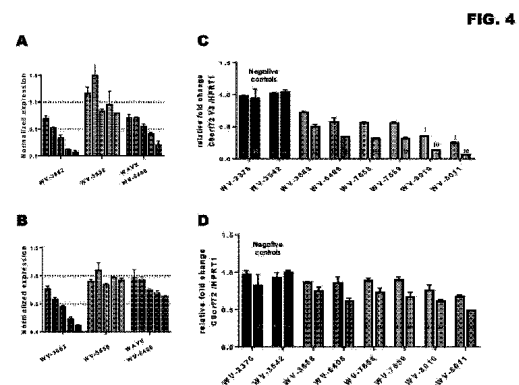
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 オリゴヌクレオチド組成物及びその方法

(57) 【要約】

とりわけ、本開示は、オリゴヌクレオチド、組成物及びその方法を提供する。とりわけ、本開示は、塩基配列、化学修飾（例えば、糖、塩基及び／若しくはヌクレオチド間結合の修飾）若しくはそのパターン、追加の化学的部分とのコンジュゲーション並びに／又は立体化学〔例えば、骨格キラル中心（キラルなヌクレオチド間結合）の立体化学〕及び／若しくはそのパターンなどのオリゴヌクレオチドの構造要素が、オリゴヌクレオチド特性及び活性、例えばノックダウン能力、安定性、送達等に対する大きい影響を有し得るという認識を包含する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、限定はされないが、リピート伸長を含むものを含めた、C 9 o r f 7 2 遺伝子又はその遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させる。一部の実施形態において、本開示は、例えば、C 9 o r f 7 2 関連障害の治療における、提供されるオリゴヌクレオチド組成物を使用した疾患の治療の方法を提供する。

【選択図】 図4



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

オリゴヌクレオチドを含む組成物において、前記オリゴヌクレオチドは、糖、塩基又はヌクレオチド間結合の少なくとも 1 つの修飾を含み、及び前記オリゴヌクレオチドの塩基配列は、C 9 o r f 7 2 遺伝子又はその転写物の塩基配列と同一であるか又はそれに相補的である少なくとも 1 5 隣接塩基の塩基配列を含むことを特徴とする組成物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の組成物において、前記オリゴヌクレオチドは、リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物のレベルを、前記 C 9 o r f 7 2 転写物を含む系に投与されたときに低減することを特徴とする組成物。

10

【請求項 3】

請求項 2 に記載の組成物において、前記リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物は、少なくとも 3 0、5 0、1 0 0、1 5 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0、6 0 0、7 0 0、8 0 0、9 0 0 又は 1 0 0 0 個の G G G G C C リピートを含むことを特徴とする組成物。

【請求項 4】

請求項 4 に記載の組成物において、パーセンテージによって測定されるときの前記リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物のレベルの低減は、パーセンテージによって測定されるときに非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物のレベルの低減の少なくとも 1 . 1、1 . 2、1 . 3、1 . 4、1 . 5、1 . 6、1 . 7、1 . 8、1 . 9、2、2 . 5、3、4、5、6、7、8、9 又は 1 0 倍であることを特徴とする組成物。

20

【請求項 5】

請求項 1 に記載の組成物において、前記オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2 エクソン 1 a、イントロン 1、エクソン 1 b 又はエクソン 2 における部位にハイブリダイズすることを特徴とする組成物。

【請求項 6】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の組成物において、前記オリゴヌクレオチドは、結合リンが S p 配置である少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合を含むことを特徴とする組成物。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の組成物において、前記オリゴヌクレオチドは、コアと少なくとも 2 つのウィングとを含むことを特徴とする組成物。

30

【請求項 8】

請求項 7 に記載の組成物において、前記第 1 のウィングの糖修飾のパターンは、前記第 2 のウィングの糖修飾のパターンと異なることを特徴とする組成物。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の組成物において、前記第 1 のウィングは、2' - O M e を含み、及び前記第 2 のウィングは、含まないことを特徴とする組成物。

【請求項 1 0】

請求項 8 に記載の組成物において、前記第 2 のウィングは、2' - M O E を含み、及び前記第 1 のウィングは、含まないことを特徴とする組成物。

40

【請求項 1 1】

請求項 8 に記載の組成物において、前記第 1 のウィングは、2' - O M e を含み、及び前記第 2 のウィングは、含まず、前記第 2 のウィングは、2' - M O E を含み、及び前記第 1 のウィングは、含まないことを特徴とする組成物。

【請求項 1 2】

- a) 共通の塩基配列、
- b) 共通の骨格結合のパターン、
- c) 共通の骨格キラル中心のパターン

によって特徴付けられる特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドを含む組

50

成物において、

同じ共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドの実質的にラセミ体の製剤と比べて、前記組成物が前記特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されていることにおいてキラル制御されており、

前記オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2を標的とすることを特徴とする組成物。

【請求項 1 3】

ウィングーコアーウィング構造、又はウィングーコア構造、又はコアーウィング構造の又はそれを含むオリゴヌクレオチドにおいて、前記コアは、

(N p) t [(O p / R p) n (S p) m] y

(式中、

t は、1 ～ 5 0 であり、

n は、1 ～ 1 0 であり、

m は、1 ～ 5 0 であり、

y は、1 ～ 1 0 であり、

N p は、R p 又は S p の何れかであり、

S p は、キラル修飾ヌクレオチド間結合のキラルな結合リンの S 配置を示し、

O p は、天然リン酸結合のアキラルな結合リンを示し、及び

R p は、キラル修飾ヌクレオチド間結合のキラルな結合リンの S 配置を示し、

y は、1 ～ 1 0 であり、

各ウィングは、独立に 1 つ以上の核酸塩基を含む)

の骨格キラル中心 (結合リン) のパターンを含み、

前記オリゴヌクレオチドの塩基配列は、C 9 o r f 7 2 遺伝子又はその転写物の塩基配列と同一であるか又はそれに相補的である少なくとも 1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4 又は 2 5 隣接塩基の塩基配列を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 4】

請求項 1 3 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、ウィングーコアーウィング構造のものであることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 5】

請求項 1 3 又は 1 4 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、N p は、S p であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 6】

請求項 1 3 又は 1 4 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記パターンは、少なくとも 1 つの R p を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 7】

請求項 1 3 乃至 1 6 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記パターンは、少なくとも 1 つの O p を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 8】

請求項 1 3 又は 1 4 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記パターンは、(N p) t [(O p) n (S p) m] y であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 9】

請求項 1 3 又は 1 4 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記パターンは、(N p) t [(R p) n (S p) m] y であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 0】

請求項 1 3 乃至 1 9 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、少なくとも 1 つの n は、1 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 1】

請求項 1 3 乃至 1 9 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、各 n は、1 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 2】

10

20

30

40

50

請求項 1 3 乃至 2 1 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、y は、1 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 3】

請求項 1 3 乃至 2 1 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、y は、2 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 4】

請求項 1 3 乃至 2 3 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、t は、2 ～ 2 0 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 5】

請求項 1 3 乃至 2 4 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、少なくとも 1 つの m は、2 ～ 2 0 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。 10

【請求項 2 6】

請求項 1 3 乃至 2 4 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、少なくとも 1 つの m は、3、4、5、6、7、8、9 又は 1 0 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 7】

請求項 1 3 乃至 2 6 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、各 m は、独立に 2 ～ 2 0 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 2 8】

請求項 1 3 乃至 2 7 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記 2 つの環は、異なる糖修飾を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。 20

【請求項 2 9】

請求項 1 3 乃至 2 7 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、一方のウィングは、他方のウィングにない糖修飾を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 3 0】

請求項 1 3 乃至 2 9 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記コアのヌクレオシド単位は、2' - 置換を含まない (2' 位に 2 つの -H を含む) ことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 3 1】

請求項 1 3 乃至 3 0 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記コアのヌクレオシド単位は、糖修飾を含まないことを特徴とするオリゴヌクレオチド。 30

【請求項 3 2】

請求項 1 3 乃至 3 1 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、各ウィングヌクレオシド単位は、独立に糖修飾を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 3 3】

請求項 1 3 乃至 3 2 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記オリゴヌクレオチドの前記塩基配列は、何れのリピートとも同一又は相補的でない配列を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 3 4】

請求項 1 3 乃至 3 2 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記オリゴヌクレオチドの前記塩基配列は、前記 G G G G C C リピートと同一又は相補的でない配列を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。 40

【請求項 3 5】

請求項 1 3 乃至 3 2 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記オリゴヌクレオチドの前記塩基配列は、前記 G G G G C C リピートと同一又は相補的でないことを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 3 6】

請求項 1 3 乃至 3 5 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記オリゴヌクレオチドの前記塩基配列は、C 9 o r f 7 2 イントロン配列を標的とする配列を含むことを特徴とするオリゴヌクレオチド。 50

【請求項 37】

請求項 36 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、疾患関連 C9orf72 産物のレベルを優先的に低減することを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 38】

請求項 37 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記産物は、伸長 GGGGC リピートを含む転写物であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 39】

請求項 37 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記産物は、少なくとも 30、50、100、200、300、400 又は 500 個の GGGGC リピートを含む転写物であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

10

【請求項 40】

請求項 37 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記産物は、伸長 GGGGC リピートを含むアンチセンス転写物であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 41】

請求項 37 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、前記産物は、ジペプチドリピータンパク質であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 42】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-5987、WV-6408、WV-7117、WV-8009、WV-8010、WV-8011、WV-8012、WV-8548、WV-8550、WV-9510、WV-11532、WV-12444、WV-12446、WV-12481、WV-12482、WV-12483 又は WV-12484 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 43】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-12481、WV-12482、WV-12483 又は WV-12484 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 44】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-5987 又は WV-7117 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 45】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-8011 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 46】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-8012 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 47】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-11532 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 48】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-6408 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 49】

請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、WV-12446 であることを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 50】

請求項 13 乃至 49 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドにおいて、少なくとも 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 又は 99% のジアステレオマー純度を有することを特徴とするオリゴヌクレオチド。

【請求項 51】

請求項 1 乃至 12 の何れか 1 項に記載の組成物において、前記オリゴヌクレオチドは、

50

請求項 1 3 乃至 5 0 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドであることを特徴とする組成物。

【請求項 5 2】

医薬組成物において、請求項 1 乃至 5 1 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド又はその薬学的に許容可能な塩を含むことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 5 3】

- a) 共通の塩基配列、
- b) 共通の骨格結合のパターン、
- c) 共通の骨格キラル中心のパターン

を有する複数のオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド組成物において、

前記組成物中の前記複数のオリゴヌクレオチドのレベルがランダムでないことにおいてキラル制御されており、

特定のオリゴヌクレオチドタイプの各オリゴヌクレオチドは、独立に、請求項 1 3 乃至 5 0 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド又はその塩であることを特徴とするオリゴヌクレオチド組成物。

【請求項 5 4】

- a) 共通の塩基配列、
- b) 共通の骨格結合のパターン、
- c) 共通の骨格キラル中心のパターン

によって特徴付けられる特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドを含む組成物において、

同じ共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドの実質的にラセミ体の製剤と比べて、前記組成物が前記特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されていることにおいてキラル制御されており、

前記特定のオリゴヌクレオチドタイプの各オリゴヌクレオチドは、独立に、請求項 1 3 乃至 5 0 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド又はその塩であることを特徴とするオリゴヌクレオチド組成物。

【請求項 5 5】

方法において、C 9 o r f 7 2 伸長リピートに関連する病態、障害及び／又は疾患に罹患しているか又はそれに罹り易い対象に、請求項 1 乃至 5 4 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド又は組成物を投与することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 5 6】

請求項 5 5 に記載の方法において、前記病態、障害及び／又は疾患は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭型認知症（F T D）、大脳皮質基底核変性症候群（C B D）、非定型パーキンソン症候群、オリブ橋小脳変性症（O P C D）又はアルツハイマー病であることを特徴とする方法。

【請求項 5 7】

請求項 5 5 に記載の方法において、前記病態、障害及び／又は疾患は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）であることを特徴とする方法。

【請求項 5 8】

請求項 5 5 に記載の方法において、前記病態、障害及び／又は疾患は、前頭側頭型認知症（F T D）であることを特徴とする方法。

【請求項 5 9】

細胞における C 9 o r f 7 2 標的遺伝子又はその遺伝子産物の活性、発現及び／又はレベルを低下させる方法において、請求項 1 乃至 5 4 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド又は組成物を前記細胞に導入することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 6 0】

細胞において非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A 転写物に対してリピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A 転写物を優先的にノックダウンする方法において、前記リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A 転写物及び前記非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2

10

20

30

40

50

R N A 転写物を含む細胞を、請求項 1 乃至 5 4 の何れか 1 項に記載のオリゴヌクレオチド又は組成物に接触させることを含み、

前記オリゴヌクレオチドは、前記リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A 転写物中に存在するか又はその中の配列に相補的な配列を含み、

前記オリゴヌクレオチドは、細胞において、非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A 転写物に対してリピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A 転写物の優先的なノックダウンを導くことを特徴とする方法。

【請求項 6 1】

化合物、オリゴヌクレオチド、組成物又は方法において、本明細書に記載されるものであることを特徴とする化合物、オリゴヌクレオチド、組成物又は方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0 0 0 1】

遺伝子 C 9 o r f 7 2 を標的とするオリゴヌクレオチド（例えば、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチド）は、様々な適用、例えば、限定はされないが、様々な C 9 o r f 7 2 関連障害の治療を含め、治療、診断及び／又は研究適用において有用である。

【発明の概要】

【0 0 0 2】

本開示は、C 9 o r f 7 2 転写物（又はその産物）のレベルを低減することのできるオリゴヌクレオチド及びその組成物を提供する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド及び組成物は、疾患関連 C 9 o r f 7 2 転写物（又はその産物）のレベルを非疾患関連 C 9 o r f 7 2 転写物に対して優先的に低減することができる（例えば、図 1 を参照されたい）。例示的な C 9 o r f 7 2 転写物には、C 9 o r f 7 2 遺伝子の何れか一方の鎖及び様々な起点からの転写物が含まれる。一部の実施形態において、少なくとも一部の C 9 o r f 7 2 転写物は、タンパク質に翻訳される。一部の実施形態において、少なくとも一部の C 9 o r f 7 2 転写物は、タンパク質に翻訳されない。一部の実施形態において、特定の C 9 o r f 7 2 転写物は、主にイントロン配列を含む。

【0 0 0 3】

C 9 o r f 7 2 におけるヘキサヌクレオチドリピート伸長（9 番染色体、オープンリーディングフレーム 7 2）は、報告によれば、筋萎縮性側索硬化症（A L S）及び前頭側頭型認知症（F T D）の遺伝的原因として最も多く見られる。このリピート伸長を含む C 9 o r f 7 2 遺伝子変異体及び／又はその産物は、大脳皮質基底核変性症候群（C B D）、非定型パーキンソン症候群、オリブ橋小脳変性症（O P C D）、原発性側索硬化症（P L S）、進行性筋萎縮症（P M A）、ハンチントン病（H D）表現型模写、アルツハイマー病（A D）、双極性障害、統合失調症及び他の非運動障害など、他の C 9 o r f 7 2 関連障害にも関連する。一部の実施形態において、本開示は、C 9 o r f 7 2 標的を標的とし（例えば、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチド）、且つ C 9 o r f 7 2 標的遺伝子及び／又はその遺伝子産物（転写物、特にリピート伸長含有転写物、タンパク質等）をノックダウンする能力又はその発現、レベル及び／又は活性を低下させる能力を有するオリゴヌクレオチドに関する組成物及び方法を提供する。

【0 0 0 4】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、リピート伸長を含む病的な又は疾患関連の C 9 o r f 7 2 突然変異又は変異体を標的とする。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 遺伝子産物は、C 9 o r f 7 2 遺伝子から転写された R N A（例えば、m R N A、成熟 R N A 又は プレ m R N A）、C 9 o r f 7 2 R N A 転写物から翻訳されたタンパク質（例えば、ヘキサヌクレオチドリピートから翻訳されたジペプチドリピートタンパク質）又はフォーカス（f o c u s）（複数形：フォーカス（f o c i））（これは、報告によれば、R N A 結合タンパク質が結合したリピート伸長を含む R N A を含む）である。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A（リピート伸長を含有しない C 9 o r f 7 2 R N A）に対して

リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 R N A の優先的なノックダウンを媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、野生型又は非有害 C 9 o r f 7 2 遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させることなく、有害 C 9 o r f 7 2 遺伝子産物（例えば、リピート伸長を含む R N A、ジペプチドリピータンパク質又はフォーカス）の発現、活性及び／又はレベルを低下させる。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、有害 C 9 o r f 7 2 遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させるが、C 9 o r f 7 2 タンパク質の 1 つ又は複数の有益な及び／又は必須の生物学的活性を消失させるか又は大幅に抑制するほど野生型又は非有害 C 9 o r f 7 2 タンパク質の発現、活性及び／又はレベルを低下させない。C 9 o r f 7 2 タンパク質の有益な及び／又は必須の活性は、広く知られており、限定はされないが、炎症の制限、自己免疫の予防及び若年死の予防が挙げられる。

10

【0005】

とりわけ、本開示は、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの構造要素を制御することが、C 9 o r f 7 2 標的遺伝子のノックダウンを含め、オリゴヌクレオチドの特性及び／又は活性に対する大きい影響を有し得るという認識を包含する。一部の実施形態において、標的遺伝子のノックダウンは、R N アーゼ H 又は翻訳に影響を及ぼす立体障害により媒介される。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの制御された構造要素としては、限定はされないが、塩基配列、化学修飾（例えば、糖、塩基及び／若しくはヌクレオチド間結合の修飾）若しくはそのパターン、立体化学（例えば、骨格キラルヌクレオチド間結合の立体化学）の改変若しくはそのパターン、ウィング構造、コア構造、ウィングーコア構造、ウィングーコアーウィング構造若しくはコアーウィング構造及び／又は追加の化学的部分（例えば、炭水化物部分、ターゲティング部分等）とのコンジュゲーションが挙げられる。一部の実施形態において、本開示は、安定性が改善されたオリゴヌクレオチドの組成物を含め、オリゴヌクレオチド活性を維持し又は増加させつつ、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチド安定性を改善するための技術（例えば、化合物、方法等）を提供する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2 又はその産物を標的とする。一部の実施形態において、標的遺伝子は、C 9 o r f 7 2 である。

20

【0006】

一部の実施形態において、本開示は、炭水化物部分、ターゲティング部分など、様々な任意選択の追加の化学的部分が、c 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドに取り込まれると、1 つ以上の特性を改善し得るという認識を包含する。一部の実施形態において、追加の化学的部分は、グルコース、G l u N A c（N-アセチルアミングルコサミン）及びアニスアミド部分から選択される。これら及び他の部分については、本明細書、例えば実施例 1 及び 2 に更に詳細に記載される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 つ以上の追加の化学的部分を含むことができ、ここで、追加の化学的部分は、同一であるか若しくは同一でないか、又は同じカテゴリー（例えば、炭水化物部分、糖部分、ターゲティング部分等）であるか若しくは同じカテゴリーでない。一部の実施形態において、特定の追加の化学的部分は、限定はされないが、中枢神経系の特定の細胞、部位又は一部分（例えば、大脳皮質、海馬、脊髄等）を含め、所望の細胞、組織及び／又は器官へのオリゴヌクレオチドの送達を促進する。一部の実施形態において、特定の追加の化学的部分は、オリゴヌクレオチドのインターナリゼーションを促進する。一部の実施形態において、特定の追加の化学的部分は、オリゴヌクレオチド安定性を増加させる。一部の実施形態において、本開示は、様々な追加の化学的部分をオリゴヌクレオチドに取り込むための技術を提供する。一部の実施形態において、本開示は、ヌクレオチド間結合、糖及び／又は核酸塩基を用いて（例えば、任意選択でリンカーを介した糖、核酸塩基又はヌクレオチド間結合上の部位との共有結合により）追加の化学的部分を導入するための例えば試薬及び方法を提供する。

30

40

【0007】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される通りの 1 つ以上の特徴 [限

50

定はされないが、本明細書に開示される塩基配列（ここで、各Uは、任意選択で、独立にTに置換することができ、逆も同様である）、及び／若しくは化学修飾、及び／若しくは立体化学、及び／若しくはそのパターン並びに／又はこれらの組み合わせ、例えば図2に示される例を含む」がその構造に含まれるオリゴヌクレオチド、例えばC9orf72オリゴヌクレオチドにより、驚くほど高い標的特異性を実現し得ることを実証する。

【0008】

一部の実施形態において、本開示は、特定の提供される構造要素、技術及び／又は特徴が、C9orf72をノックダウンするオリゴヌクレオチドに特に有用であることを実証する。しかしながら、それにも関わらず、本開示の教示は、いかなる特定の生化学的機構に参与するか又はそれによって機能するオリゴヌクレオチドにも限定されない。一部の実施形態において、本開示は、二本鎖RNA干渉、一本鎖RNA干渉などの機構又はRNAアーゼH媒介機構若しくは翻訳の立体障害によってC9orf72遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させるアンチセンスオリゴヌクレオチドとしての役割を果たす機構を介して機能する能力を有するオリゴヌクレオチドを提供する。

【0009】

更に、本開示は、任意の機構を通じて機能する任意のC9orf72オリゴヌクレオチドであって、本明細書に記載される任意の配列、構造又はフォーマット（又はその一部分）を含む任意のC9orf72オリゴヌクレオチドに関し、ここで、オリゴヌクレオチドは、塩基、糖又はヌクレオチド間結合の少なくとも1つの天然に存在しない修飾を含む。一部の実施形態において、本開示は、少なくとも1つの立体制御されたヌクレオチド間結合（限定はされないが、Sp又はRp配置のホスホロチオエート結合を含む）を含む任意のC9orf72オリゴヌクレオチドに関する。一部の実施形態において、本開示は、任意の機構を通じて機能し、且つ少なくとも1つの立体制御されたヌクレオチド間結合（限定はされないが、Sp又はRp配置のホスホロチオエート結合を含む）を含む任意のC9orf72オリゴヌクレオチドに関する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される任意の配列、構造又はフォーマット（又はその一部分）、任意選択の追加の化学的部分（限定はされないが、炭水化物部分及び標的部分を含む）、立体化学又は立体化学のパターン、ヌクレオチド間結合又はヌクレオチド間結合のパターン；糖の修飾又は糖の修飾のパターン；塩基の修飾又は塩基の修飾のパターンを含むC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。

【0010】

一部の実施形態において、C9orf72障害関連標的アレルは、限定はされないが、G4C2又は(GGGGCC)_{ng}（式中、ngは、30以上である）を含めた、ヘキサヌクレオチドリPEAT伸長をイントロン1を含む。一部の実施形態において、ngは、50以上である。一部の実施形態において、ngは、100以上である。一部の実施形態において、ngは、150以上である。一部の実施形態において、ngは、200以上である。一部の実施形態において、ngは、300以上である。一部の実施形態において、ngは、500以上である。

【0011】

イントロン1のC9orf72 G4C2リPEAT伸長は、報告によれば、ヨーロッパ系集団の中で10例中1例のALS症例を占める。G4C2リPEATは、報告によれば、転写物の約10%に過ぎず（例えば、図1に示される病的アレルの転写物V3及びV1）、例えばリPEAT伸長含有転写物、及び／又はスプライスアウトされたりPEAT伸長含有イントロン、及び／又はリPEAT伸長含有領域のアンチセンス転写及び様々な核酸結合タンパク質による、少なくとも部分的にジペプチドリPEATタンパク質及びフォーカス形成によって媒介される機能獲得毒性を伴う。一部の実施形態において、V1は、報告によれば、極めて低いレベルで転写され（C9orf72転写物レベル全体の約1%）、ヘキサヌクレオチドリPEAT伸長を含む転写物のレベルに大きく寄与しない。報告によれば、リPEAT伸長を含有するイントロン核酸は、プレmRNA、部分的にスプライシングされたRNA及び／又はスプライスアウトされたイントロンとして滞留することができ、これら

の核酸を含むRNAフォーカスは、RNA結合タンパク質の隔離に関連する。C9orf72 RNAフォーカスについては、例えば、Liu et al., 2017, Cell Chemical Biology 24, 1-8; Niblock et al. Acta Neuropathologica Communications (2016) 4:18に記載されている。ジペプチドリピータンパク質(DPRタンパク質)を含む異常タンパク質産物は、報告によれば、リピー伸長から産生され、ニューロンに対する毒性を伴う。一部の実施形態において、本開示は、G4C2リピーの近くのイントロン配列を標的とし、且つリピー伸長含有転写物、それによってコードされるタンパク質及び／又は関連するフォーカスのレベルを低減することのできるオリゴヌクレオチド並びにその組成物及び方法を提供する。一部の実施形態において、本開示は、G4C2リピーの近くのイントロン配列を標的とすることにより、正常なC9orf72転写物への影響を最小限に抑えつつ、RNAアーゼーHを介してリピー伸長含有転写物を特異的にノックダウンするC9orf72オリゴヌクレオチド及びその組成物を提供する。一部の実施形態において、既存のデータと比較して、本開示は、イントロン配列(例えば、リピーとエクソン1bとの間)を標的とする提供される技術がリピー伸長含有産物レベルを有効に且つ／又は優先的に低減できることを実証する。

10

【0012】

いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、リピー伸長の有害な疾患関連の効果について幾つかの可能な機構が文献に提案されていることを指摘しておく。例えば、Edbauer et al. 2016 Curr. Opin. Neurobiol. 36:99-106; Conlon et al. Elife. 2016 Sep 13; 5: pii: e17820; Xi et al. 2015 Acta Neuropathol. 129:715-727; Cohen-Hada et al. 2015 Stem Cell Rep. 7:927-940; 及びBurguete et al. Elife 2015; 4: e08881を参照されたい。とりわけ、本開示は、1つ以上又は全ての有害な疾患関連のC9orf72産物及び／又は疾患関連効果を低減又は除去することのできる技術を提供する。

20

【0013】

いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、リピー伸長含有C9orf72転写物の有害効果の可能な機構がフォーカスの生成であることを指摘しておく。報告によれば、リピー伸長は、イントロン1含有C9orf72 mRNAの滞留をもたらす。イントロン1を保持するC9orf72 mRNAの大多数は、核に蓄積し、そこで、G4C2 RNAリピーをプロセッシングできない特異的分解経路の標的となる。RNAは、続いて、凝集してフォーカスとなり、フォーカスは、RNA結合タンパク質も含み、RNA結合タンパク質をその正常機能から隔離する。Niblock Acta Neuropathol Commun. 2016; 4:18。報告によれば、アンチセンスC9orf72産物を含むアンチセンスフォーカスは、小脳プルキンエニューロン及び運動ニューロンに著しく高頻度で存在する一方、センスフォーカスは、小脳顆粒ニューロンに著しく高頻度で存在する。Cooper-Knock et al. Acta Neuropathol (2015) 130:63-75。一部の実施形態において、本開示は、フォーカスレベルを低減する技術を提供する。一部の実施形態において、提供される技術は、1種以上のニューロンにおけるアンチセンスフォーカス及び／又はセンスフォーカスのレベルを低減するか又はそれを除去する。

30

40

【0014】

いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、リピー伸長含有C9orf72転写物の別の可能な有害効果の機構がジペプチドリピー(DPR)タンパク質の生成であることを指摘しておく。イントロン1を保持するC9orf72 mRNAのごく一部が細胞質に輸送され、6つ全てのリーディングフレームにおいてDPRへのRAN(リピー関連非AUG翻訳)翻訳を受ける。Niblock Acta Neuropathol Commun. 2016; 4:18。Cooper-

50

Knock et al. は、センス又はアンチセンス由来ジペプチドリピータンパク質を含有する封入体がそれぞれ小脳顆粒ニューロン又は運動ニューロンに著しく高頻度で存在し；及びALSにおける一次病理標的である運動ニューロンでは、アンチセンスフォークスの存在が、ALS神経変性の顕著な特徴であるTDP-43の誤った局在化と相関するが、センスフォークスについて相関がなかったことも報告した。一部の実施形態において、提供される技術は、C9orf72 DPRタンパク質産物の1つ以上又は全てのレベルを低減する。

【0015】

一部の実施形態では、機能獲得型及び／又は機能喪失型の機構がC9orf72関連障害における神経変性につながる。例えば、Mizielinska et al. 2014 Science 345:1192-94; Chew et al. 2015 Science 348:1151-1154; Jiang et al. 2016 Neuron 90:535-550; 及びLiu et al. 2016 Neuron 90:521-534; Gendron et al. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2017 Jan 27. pii: a024224; Haeusler et al. Nat Rev Neurosci. 2016 Jun; 17(6):383-95; Koppers et al. Ann. Neurol. 2015; 78:426-438; Todd et al. J. Neurochem. 2016 138 (Suppl. 1) 145-162を参照されたい。一部の実施形態において、提供される技術は、望ましくない獲得機能を低減し、且つ／又は所望の機能を回復若しくは亢進させる。

【0016】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド並びにその組成物及び方法は、限定はされないが、筋萎縮性側索硬化症(ALS)を含め、幾つかのC9orf72関連障害の何れかの治療に有用である。一部の実施形態において、ALSは、MIM: 612069である。筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、報告によれば、臨床的に進行性麻痺により特徴付けられる致死性神経変性疾患であり、典型的には症状発症から2～3年以内に多くの場合に呼吸不全によって死亡に至る(Rowland and Shneider, N. Engl. J. Med., 2001, 344, 1688-1700)。ALSは、報告によれば、西欧諸国で3番目によく見られる神経変性疾患であり(Hirtz et al., Neurology, 2007, 68, 326-337)、現在のところ有効な治療法はない。約10%の症例が本質的に家族性である一方、この疾患と診断される患者の大部分は、それが集団全体を通じて無作為に発生するように見えるため、散在性に分類される(Chio et al., Neurology, 2008, 70, 533-537)。報告によれば、臨床的、遺伝的及び疫学的データは、ALS及び前頭側頭型認知症(FTD)が、中枢神経系全体にわたるTDP-43陽性封入体の存在によって病理学的に特徴付けられる一連の重複した疾患に相当するという仮説を裏付けている(Lillo and Hodges, J. Clin. Neurosci., 2009, 16, 1131-1135; Neumann et al., Science, 2006, 314, 130-133)。幾つもの遺伝子、例えばSOD1、TARDBP、FUS、OPTN及びVCPが、古典的家族性ALSの原因である可能性があるものとして発見されている(Johnson et al., Neuron, 2010, 68, 857-864; Kwiatkowski et al., Science, 2009, 323, 1205-1208; Maruyama et al., Nature, 2010, 465, 223-226; Rosen et al., Nature, 1993, 362, 59-62; Sreedharan et al., Science, 2008, 319, 1668-1672; Vance et al., Brain, 2009, 129, 868-876)。報告によれば、ALS、FTD及びALS-FTDの複数の症例を含む血縁の連鎖解析では、C9orf72と同定された、この疾患についての重要な遺伝子座が9番染色体の短腕にあることが示唆されていた(Boxer et al., J. Neurol.

Neurosurg. Psychiatry, 2011, 82, 196-203; Morita et al., Neurology, 2006, 66, 839-844; Pearson et al., J. Neurol., 2011, 258, 647-655; Vance et al., Brain, 2006, 129, 868-876)。この突然変異は、ALS及びFTDの最もよく見られる遺伝的原因であることが分かっていた。一部の実施形態において、ALS-FTDの原因となる突然変異は、9番染色体上のC9orf72遺伝子の第1イントロンにある大型ヘキサヌクレオチド（例えば、GGGGCC又はG₄C₂）リピート伸長である（Renton et al., Neuron, 2011, 72, 257-268; DeJesus-Hernandez et al., Neuron, 2011, 72, 245-256）。この領域に関連付けられる大多数の症例には、C9orf72遺伝子を網羅するファウンダーハプロタイプが存在する（Renton et al., Neuron, 2011, 72, 257-268）。9番染色体p21上のこの遺伝子座は、405人のフィンランド人患者コホートにおいて家族性ALSのほぼ半分を占め、全ALS症例のほぼ4分の1を占める（Laaksovirta et al., Lancet Neurol., 2010, 9, 978-985）。ALS発生率は、報告によれば、1:50,000である。家族性ALSは、報告によれば、全ALS症例の5~10%に相当する；報告によれば、C9orf72突然変異がALSの最もよく見られる原因であり得る（40~50%）。ALSは、報告によれば、脳の運動皮質、脳幹及び脊髄における上位及び下位運動ニューロンの両方の変性に関連する。報告によれば、ALSの症状には、筋脱力及び／又は筋萎縮、嚥下又は呼吸困難、筋痙攣、筋硬直が含まれる。報告によれば、呼吸不全が主な死因である。一部の実施形態において、提供される技術は、ALS又は他のC9orf72関連病態、障害及び／又は疾患に関連する重症度を低減し、且つ／又はその症状の1つ以上を除去する。

【0017】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド並びにその組成物及び方法は、限定はされないが、前頭側頭型認知症（FTD）を含め、幾つかのC9orf72関連障害の何れかの治療に有用である。一部の実施形態において、FTDは、前頭側頭葉変性症又はFTLD、MIM:600274と称される。前頭側頭型認知症は、報告によれば、2番目によく見られる形態の初老期認知症であり、報告によれば、前頭葉又は側頭葉の限局性萎縮に関連する。Boxer et al., 2005 Alzheimer Dis. Assoc. Disord. 19 (Suppl 1): S3-S6。FTDは、筋萎縮性側索硬化症と広範な臨床的、病理学的及び分子的重複を共有する。Gijssels et al., Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2017 Jan 27. pii: a026757によって報告される通り、報告によれば、両方の疾患が起こる家族及び個人の患者（ALS-FTD）があり（Lomen-Hoerth et al., 2002 Neurology 59: 1077-1079）、ALS及びFTLD患者におけるTDP-43封入体（Arai et al., 2006 Biochem. Biophys. Res. Comm. 351: 602-611; Neumann et al., 2006 Science 314: 130-133）は、ALS及びFTLD患者について病理学的分布が異なるにも関わらず、区別不能であり得る（Tsujii et al., 2012 Brain 135: 3380-3391）。報告によれば、ALS及びFTLDには、それらの臨床的及び病理学的に顕著な特徴が重複するため、共通の疾患経路が関与し得るというエビデンスがある。従って、これらの疾患の純粋な形態は、1つの疾患連続体の両極であると思われる（Lillo and Hodges 2009 J. Clin. Neurosci. 16: 1131-1135）。報告によれば、遺伝学的研究では、FTLD及びALSにおいて同じ遺伝子 — 例えば、TBK1、TARDBP、FUS、VCPに突然変異が同定された（Neumann et al., 2006; Kovacs et al., 2009 Mov. Disord. 24: 1843-1847; Johnson et al., 2010 Neuron 68: 857-864; Van Langenhove et al., 2010 Neurology 50

74:366-371; Cirulli et al. 2015 Science 347:1436-1441; Freischmidt et al. 2015 Nat. Neurosci. 18:631-636; Pottier et al. 2015 Acta Neuropathol. 130:77-92)。報告によれば、ALS、FTLD及びALS-FTD患者のC9orf72におけるリピート伸長突然変異の同定により、共通の疾患病理学的機構についての遺伝学的エビデンスが提供された(Gijssels et al. 2010 Arch. Neurol. 67:606-616; De Jesus-Hernandez et al. 2011 Neuron 72:245-256; Renton et al. 2011 Neuron 72:257-268)。

10

【0018】

一部の実施形態において、C9orf72標的は、特異的アレル（例えば、リピート伸長を含むもの）であり、1つ以上の産物（例えば、RNA及び／又はジペプチドリピータンパク質若しくはDPRなどのタンパク質産物）のレベル、発現及び／又は活性を変化させることが意図される。多くの実施形態において、C9orf72標的アレルは、その存在及び／又は発現が、限定はされないが、ALS及びFTD又は他のC9orf72関連障害又はその症状を含め、1つ以上の疾患及び／又は病態の存在、発生率及び／又は重症度に関連する（例えば、相関する）ものである。代わりに又は加えて、一部の実施形態において、C9orf72標的アレルは、それについての1つ以上の遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の変化が、限定はされないが、ALS及びFTD又は他のC9orf72関連障害を含めた疾患及び／又は病態の1つ以上の側面の改善（例えば、発症の遅延、重症度の低減、他の治療法に対する応答性等）に相関するものである。

20

【0019】

一部の実施形態において、神経学的疾患は、神経細胞の過剰興奮性によって特徴付けられる。一部の実施形態において、報告によれば、(GGGGCC)_n伸長に起因して及び／又はその存在下でC9orf72活性が50%減少すると、グルタミン酸受容体NMDA、AMPA及びカイナイトを通じた神経伝達が増加する。加えて、報告によれば、グルタミン酸受容体は、ニューロンに蓄積する。報告によれば、神経伝達の増加及びグルタミン酸受容体の蓄積は、神経細胞の過剰興奮性に起因するグルタミン酸誘導性の興奮毒性につながる。報告によれば、グルタミン酸受容体を阻害すれば、神経細胞の過剰興奮性が治療され得る。報告によれば、伸長から生成されるジペプチドリピータンパク質のクリアランスが障害され、その神経毒性が亢進する。C9orf72は、報告によれば、RAB5の活性化を通じて初期エンドソーム輸送を促進し、この活性化にはホスファチジルイノシトール3-リン酸(phosphatidylinositol 3-phosphate)(PI3P)が必要である。PIKFYVEは、PI3Pをホスファチジルイノシトール(3,5)-二リン酸(PI(3,5)P₂)に変換する。報告によれば、PIKFYVEを阻害すれば、PI3Pレベルの増加によってRAB5レベルの変化が補償され、初期エンドソーム成熟が可能となり、それが最終的にジペプチドリピータンパク質のクリアランスにつながり得る。報告によれば、ニューロンもエンドソーム輸送を用いてナトリウム及びカリウムイオンチャネル局在化を調節する。報告によれば、PIKFYVEの阻害によりまた、神経細胞の過剰興奮性も治療され得る。一部の実施形態において、提供される技術は、神経細胞の過剰興奮性を低減する。一部の実施形態において、提供される技術は、PIKFYVE阻害薬と同じ治療レジームの一環として投与され得る。

30

40

【0020】

一部の実施形態において、本開示は、

- 1) 共通の塩基配列、
- 2) 共通の骨格結合のパターン、及び
- 3) 共通の骨格キラル中心のパターン

を共有する第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド組成物を提供し、この組成物は、組成物中のランダムでないか又は制御されたレベルのオリゴヌクレオチド

50

が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有することにおいて単一のオリゴヌクレオチドの実質的に純粋な製剤である。

【0021】

一部の実施形態において、本開示は、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、

- 1) 共通の塩基配列及び長さ、
- 2) 共通の骨格結合のパターン、及び
- 3) 共通の骨格キラル中心のパターン

によって特徴付けられる特定のオリゴヌクレオチドタイプであり、

この組成物は、同じ塩基配列及び長さを有するオリゴヌクレオチドの実質的にラセミ体の製剤と比べて、この組成物が特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されていることにおいてキラル制御されている。

【0022】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド（これは、C9orf72を標的とするか又はC9orf72以外の標的を標的とすることができる）は、1つ以上のブロックを含む。一部の実施形態において、ブロックは、1つ以上の連続ヌクレオチド、及び／又はヌクレオチド、及び／又は糖又は塩基、及び／又はヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、3つ以上のブロックを含み、ここで、両端のブロックは、同一でなく、従って、オリゴヌクレオチドは、非対称である。一部の実施形態において、ブロックは、ウィング又はコアである。

【0023】

一部の実施形態において、c9orf72オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのウィングと少なくとも1つのコアとを含み、ここで、ウィングがコアと異なる構造〔例えば、立体化学、追加の化学的部分又は糖、塩基若しくはヌクレオチド間結合における化学修飾（又はそのパターン）〕を含むことにおいて又は逆も同様に、ウィングは、コアと構造的に異なる。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ウィングーコア、コアーウィング又はウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、1つのウィングは、構造〔例えば、立体化学、追加の化学的部分又は糖、塩基若しくはヌクレオチド間結合における化学修飾（又はそのパターン）〕において他のウィング及びコアと異なる（例えば、非対称オリゴヌクレオチド）。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコア、コアーウィング又はウィングーコアーウィング構造を有するか又はそれを含み、ブロックは、ウィング又はコアである。一部の実施形態において、コアは、ギャップとも称される。

【0024】

一般に、本明細書に記載される通りのオリゴヌクレオチド組成物の特性は、任意の適切なアッセイを用いて評価することができる。

【0025】

当業者は、特定のオリゴヌクレオチド組成物に適切なアッセイを承知しており、且つ／又はそれを容易に開発することができるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1は、例示的C9orf72転写物を記載する。健常及び病的C9orf72アレルから産生されるV3、V2及びV1転写物が示され、ここで、病的アレルは、ヘキサヌクレオチドリピート伸長〔水平のバー、(GGGGCC)₃₀₊で示される〕を含有する。下向きの矢印は、幾つかの例示的C9orf72オリゴヌクレオチドターゲティングイントロンの位置を示す。

【図2】図2は、オリゴヌクレオチドの特定の提供されるフォーマットを例として提示する。

10

20

30

40

50

【図 3 A】図 3 A は、特定の提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを例として提示する。これらのオリゴヌクレオチドの構造の詳細については、例えば、表 1 A に更に記載される。

【図 3 B】図 3 B は、特定の提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを例として提示する。これらのオリゴヌクレオチドの構造の詳細については、例えば、表 1 A に更に記載される。

【図 4 A】図 4 は、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドが、全 C 9 o r f 7 2 転写物（非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物を含む）に対してリピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物の優先的なノックダウンを提供し得ることを実証する例示的データを提示する。図 4 A は、対照に対して正規化した、WV-3662 及び WV-3536（それぞれ国際公開第 2015054676 号パンフレットの配列番号 0553 及び国際公開第 2016168592 号パンフレットの配列番号 0057 の塩基配列に相当する）及び WV-6408 の投与による反復伸長含有転写物のノックダウンを示す。図 4 A では、使用したオリゴヌクレオチド濃度は、左から右に、0.1、0.3、1、3 及び 10 μ M であった。

10

【図 4 B】図 4 は、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドが、全 C 9 o r f 7 2 転写物（非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物を含む）に対してリピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物の優先的なノックダウンを提供し得ることを実証する例示的データを提示する。図 4 B は、WV-3662、WV-3536 及び WV-6408 の投与による全 C 9 o r f 7 2 転写物のノックダウンを示す。図 4 B では、使用したオリゴヌクレオチド濃度は、左から右に、0.1、0.3、1、3 及び 10 μ M であった。

20

【図 4 C】図 4 は、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドが、全 C 9 o r f 7 2 転写物（非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物を含む）に対してリピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物の優先的なノックダウンを提供し得ることを実証する例示的データを提示する。図 4 C は、対照オリゴヌクレオチド WV-2376 及び WV-3542 並びに例示的オリゴヌクレオチド WV-3688、WV-6408、WV-7658、WV-7659、WV-8010 及び WV-8011 によって提供される反復伸長含有転写物のノックダウンを示す。濃度は、1（左の柱）及び 10 μ M（右の柱）であった。

【図 4 D】図 4 は、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドが、全 C 9 o r f 7 2 転写物（非リピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物を含む）に対してリピート伸長含有 C 9 o r f 7 2 転写物の優先的なノックダウンを提供し得ることを実証する例示的データを提示する。図 4 D は、対照オリゴヌクレオチド WV-2376 及び WV-3542 の投与による全転写物のノックダウンを示す。濃度は、1（左の柱）及び 10 μ M（右の柱）であった。

30

【図 5 A】図 5 は、C 9-BAC マウス脊髄における提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドのインビボ効力を実証する例示的データを提示する。WV-2376 は、陰性対照オリゴヌクレオチドである。本データは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011 及び WV-8012 のものであった。図 5 A は、全転写物（リピート伸長含有及び非リピート伸長含有転写物を含む）のノックダウンを示す（リピート転写物伸長の 3' 側領域を標的とするプローブとし、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む）。PBS、リン酸緩衝生理食塩水（陰性対照）。

40

【図 5 B】図 5 は、C 9-BAC マウス脊髄における提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドのインビボ効力を実証する例示的データを提示する。WV-2376 は、陰性対照オリゴヌクレオチドである。本データは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011 及び WV-8012 のものであった。図 5 B は、V3（リピート伸長含有）転写物のノックダウンを示す（リピート転写物伸長の 3' 側領域を標的とするプローブとし、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む）。PBS、リン酸緩衝生理食塩水（陰性対照）。

【図 5 C】図 5 は、C 9-BAC マウス脊髄における提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌ

50

クレオチドのインビボ効力を実証する例示的データを提示する。WV-2376は、陰性対照オリゴヌクレオチドである。本データは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012のものであった。図5Cは、イントロン／AS転写物のノックダウンを示す（リピー転写物伸長の3'側領域を標的とするプローブとし、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む）。PBS、リン酸緩衝生理食塩水（陰性対照）。

【図6A】図6は、C9-BACマウス皮質における一部のC9orf72オリゴヌクレオチドのインビボ効力を実証する例示的データを提示する。WV-2376は、C9orf72を標的としない陰性対照オリゴヌクレオチドである；提示されるデータは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012のものであった。図6Aは、全転写物（リピー伸長含有及び非リピー伸長含有転写物を含む）のノックダウンを示す（リピー転写物伸長の3'側領域を標的とするプローブとし、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む）。

10

【図6B】図6は、C9-BACマウス皮質における一部のC9orf72オリゴヌクレオチドのインビボ効力を実証する例示的データを提示する。WV-2376は、C9orf72を標的としない陰性対照オリゴヌクレオチドである；提示されるデータは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012のものであった。図6Bは、V3（リピー伸長含有）転写物のノックダウンを示す（リピー転写物伸長の3'側領域を標的とするプローブとし、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む）。

20

【図6C】図6は、C9-BACマウス皮質における一部のC9orf72オリゴヌクレオチドのインビボ効力を実証する例示的データを提示する。WV-2376は、C9orf72を標的としない陰性対照オリゴヌクレオチドである；提示されるデータは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012のものであった。図6Cは、イントロン／AS転写物のノックダウンを示す（リピー転写物伸長の3'側領域を標的とするプローブとし、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む）。

【図7A】図7Aは、様々な化学的部分、例えばスルホンアミド又はアニスアミドにコンジュゲートした提供されるMallat1オリゴヌクレオチドの活性に関する例示的データを提示する。図7Aは、脊髄のMallat1のノックダウンにおけるMallat1オリゴヌクレオチドの例示的データを提示する。提示されるデータは、ICV投与、 $1 \times 50 \mu\text{g}$ のWV-3174、WV-7558、WV-7559及びWV-7560のものであった。

30

【図7B】図7Bは、様々な化学的部分、例えばスルホンアミド又はアニスアミドにコンジュゲートした提供されるMallat1オリゴヌクレオチドの活性に関する例示的データを提示する。図7Bは、脊髄における様々なMallat1オリゴヌクレオチド（ASO、即ちアンチセンスオリゴヌクレオチド）の例示的分布データを提示する。提示されるデータは、ICV投与、 $1 \times 50 \mu\text{g}$ のWV-3174、WV-7558、WV-7559及びWV-7560のものであった。

【図7C】図7Cは、様々な化学的部分、例えばスルホンアミド又はアニスアミドにコンジュゲートした提供されるMallat1オリゴヌクレオチドの活性に関する例示的データを提示する。図7Cは、皮質におけるMallat1のノックダウンを示す。提示されるデータは、ICV投与、 $1 \times 50 \mu\text{g}$ のWV-3174、WV-7558、WV-7559及びWV-7560のものであった。

40

【図7D】図7Dは、様々な化学的部分、例えばスルホンアミド又はアニスアミドにコンジュゲートした提供されるMallat1オリゴヌクレオチドの活性に関する例示的データを提示する。図7Dは、皮質における試験オリゴヌクレオチドの分布を示す。提示されるデータは、ICV投与、 $1 \times 50 \mu\text{g}$ のWV-3174、WV-7558、WV-7559及びWV-7560のものであった。

【図8A】図8Aは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オ

50

リゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、大脳皮質から分析した。分析した転写物は、全転写物であった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

【図8B】図8Bは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、大脳皮質から分析した。分析した転写物は、V3であった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

10

【図8C】図8Cは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、大脳皮質から分析した。分析した転写物は、V3（エクソン1a）であった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

【図8D】図8Dは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、大脳皮質から分析した。分析した転写物は、イントロン1/ASであった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

20

【図8E】図8Eは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、脊髄から分析した。分析した転写物は、全転写物であった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

30

【図8F】図8Fは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、脊髄から分析した。分析した転写物は、V3であった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

40

【図8G】図8Gは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。転写物は、脊髄から分析した。分析した転写物は、全転写物V3（エクソン1a）であった。図9及び図10のデータは、同じインビボマウス試験からのものである。

【図8H】図8Hは、C9-BACマウスにおける提供される特定のC9orf72オリゴヌクレオチドがC9orf72転写物に及ぼす効果を示す。試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011

50

1 及び WV-8012 であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及び C9orf72 を標的としない WV-2376 であった。転写物は、脊髄から分析した。分析した転写物は、イントロン 1 / AS であった。図 9 及び図 10 のデータは、同じインビトロマウス試験からのものである。

【図 9 A】図 9 A は、C9-BAC マウスの脊髄における C9orf72 オリゴヌクレオチドの例示的分布データを示す。試験した C9orf72 オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011 及び WV-8012 であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及び C9orf72 を標的としない WV-2376 であった。

【図 9 B】図 9 B は、C9-BAC マウスの大脳皮質における C9orf72 オリゴヌクレオチドの例示的分布データを示す。試験した C9orf72 オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011 及び WV-8012 であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及び C9orf72 を標的としない WV-2376 であった。

【図 10】図 10 は、C9-BAC マウスの海馬におけるポリ GP（ジペプチドリピータンパク質）のレベルに関する C9orf72 オリゴヌクレオチドの例示的データを示す。試験した C9orf72 オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011 及び WV-8012 であった。陰性対照は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）及び C9orf72 を標的としない WV-2376 であった。

【図 11】図 11 A は、例えば、限定はされないが、動物生検を含めた組織及び体液中のオリゴヌクレオチドレベルを測定するための例示的ハイブリダイゼーション ELISA アッセイを示す。図 11 B は、無水マレイン酸を含むプレートなどのアミノ反応性固体支持体に第一級アミン標識捕捉プローブを結合させるための例示的化学を示す。

【発明を実施するための形態】

【0027】

定義

本明細書で使用される場合、別に記載のない限り、以下の定義が適用されるものとする。本開示の目的のために、化学元素は、元素周期表（Periodic Table of the Elements）、CAS バージョン、Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed に従って同定される。加えて、有機化学の一般的原理は、“Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, 並びに “March’s Advanced Organic Chemistry”, 5th Ed., Ed.: Smith, M. b. 及び March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001 に記載されている。

【0028】

脂肪族：本明細書で使用される場合、「脂肪族」は、完全に飽和であるか、又は 1 つ若しくは複数の不飽和の単位を含む直鎖（即ち非分岐）若しくは分岐、置換若しくは非置換炭化水素鎖、或いは完全に飽和であるか又は 1 つ若しくは複数の不飽和の単位を含む、置換若しくは非置換単環、二環若しくは多環式炭化水素環（しかし、芳香族ではない）又はそれらの組み合わせを意味する。一部の実施形態では、脂肪族基は、1～50 個の脂肪族炭素原子を含む。一部の実施形態では、脂肪族基は、1～20 個の脂肪族炭素原子を含む。他の実施形態では、脂肪族基は、1～10 個の脂肪族炭素原子を含む。他の実施形態では、脂肪族基は、1～9 個の脂肪族炭素原子を含む。他の実施形態では、脂肪族基は、1～8 個の脂肪族炭素原子を含む。他の実施形態では、脂肪族基は、1～7 個の脂肪族炭素原子を含む。他の実施形態では、脂肪族基は、1～6 個の脂肪族炭素原子を含む。更に別の実施形態では、脂肪族基は、1～5 個の脂肪族炭素原子を含み、また別の実施形態では、脂肪族基は、1、2、3 又は 4 個の脂肪族炭素原子を含む。好適な脂肪族基として、限定はされないが、直鎖若しくは分岐状、置換若しくは非置換アルキル、アルケニル、アルキニル基並びに（シクロアルキル）アルキル、（シクロアルケニル）アルキル又は（シク

ロアルキル) アルケニルなどのハイブリッドが挙げられる。

【0029】

アルケニル：本明細書で使用される場合、「アルケニル」という用語は、本明細書に定義する通り、1つ又は複数の二重結合を有するアルキル基を指す。

【0030】

アルキル：本明細書で使用される場合、「アルキル」という用語には、当技術分野での通常の意味が付与され、直鎖アルキル基、分岐アルキル基、シクロアルキル(脂環式)基、アルキル置換シクロアルキル基及びシクロアルキル置換アルキル基をはじめとする飽和脂肪族基が挙げられる。一部の実施形態では、アルキルは、1~100炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、直鎖又は分岐鎖アルキルは、その骨格に約1~20個の炭素原子(例えば、直鎖の場合には $C_1 \sim C_{20}$ 、分岐鎖の場合には $C_2 \sim C_{20}$)或いは約1~10個を有する。一部の実施形態では、シクロアルキル環は、その環構造に約3~10個の炭素原子を有し(その場合、こうした環は、単環、二環若しくは多環式である)或いはその環構造に約5、6又は7個の炭素を有する。一部の実施形態では、アルキル基は、低級アルキル基であり得、ここで、低級アルキル基は、1~4個の炭素原子(例えば、直鎖低級アルキルの場合、 $C_1 \sim C_4$)を含む。

10

【0031】

アルキニル：本明細書で使用される場合、「アルキニル」という用語は、本明細書に定義する通り、1つ又は複数の三重結合を有するアルキル基を指す。

【0032】

動物：本明細書で使用されるとき、用語「動物」は、動物界の任意のメンバーを指す。一部の実施形態において、「動物」は、任意の発育段階にあるヒトを指す。一部の実施形態において、「動物」は、任意の発育段階にある非ヒト動物を指す。特定の実施形態において、非ヒト動物は、哺乳類(例えば、げっ歯類、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウシ、霊長類及び／又はブタ)である。一部の実施形態において、動物には、限定はされないが、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類及び／又は虫が含まれる。一部の実施形態において、動物は、トランスジェニック動物、遺伝子操作された動物及び／又はクローンであり得る。

20

【0033】

おおよそ：本明細書で使用される場合、数値に関する「おおよそ」又は「約」という用語は、一般に、別に記載がないか又は文脈から他の解釈が明らかでない限り、その数値の両方向で5%、10%、15%若しくは20%の範囲内にある(多いか又は少ない)数値を含むと解釈される(但し、そうした数値が、考えられる値の0%に満たなくなるか又は100%を超える場合を除く)。一部の実施形態では、投与量に関して「約」という用語を用いる場合、 $\pm 5 \text{ mg/kg}$ ／日を意味する。

30

【0034】

アリール：本明細書で使用され、単独で又は「アラルキル」、「アラルコキシ」若しくは「アリーロキシアルキル」などのより大きい部分の一部として用いられる「アリール」という用語は、計5~30環員を有する単環、二環若しくは多環系を指し、ここで、その系の少なくとも1つの環は、芳香環である。一部の実施形態では、アリール基は、計5~14環員を有する単環、二環若しくは多環系を指し、ここで、その系の少なくとも1つの環は芳香族であり、且つその系の環は各々、3~7の環員を含む。一部の実施形態では、アリール基は、ビアリール基である。「アリール」という用語は、用語「アリール環」と置き換え可能に用いられ得る。本発明のいくつかの実施形態では、「アリール」は、限定されないが、フェニル、ビフェニル、ナフチル、ビナフチル、アントラシルなどを含む芳香環系を指し、これは、1つ又は複数の置換基を含み得る。また、用語「アリール」の範囲には、本明細書で使用される通り、芳香環が、インダニル、フタリミジル、ナフチミジル、フェナントリジニル又はテトラヒドロナフチルなどの1つ若しくは複数の非芳香環に融合されている基も含まれる。

40

【0035】

50

同等の：「同等の」という用語は、本明細書において、得られる結果又は観察される現象の比較を可能にする上で互いに十分に類似する2つ（以上）のセットの条件若しくは状況を表すために使用される。一部の実施形態では、同等セットの条件若しくは状況は、複数の実質的に同一の特性と、1つ又は少数のまちまちの特性を特徴とする。当業者は、様々なセットの条件若しくは状況下で得られる結果又は観察される現象の差が、まちまちの特性の相違に起因するか、又はそれを示すという合理的結論の根拠となるのに十分な数及び種類の実質的に同一の特性を特徴とすると、複数のセットの条件が互いに同等であることを理解されよう。

【0036】

脂環式：「脂環式」、「炭素環」、「カルボシクリル」、「炭素環式基」及び「炭素環」という用語は、置き換え可能に用いられ、本明細書で使用される場合、別に記載のない限り、3～30の環員を有する、本明細書に記載されるような、飽和若しくは部分不飽和であるが、非芳香族の環状脂肪族単環、二環若しくは多環系を指す。脂環式基として、限定はしないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロヘプテニル、シクロオクチル、シクロオクテニル、ノルボルニル、アダマンチル及びシクロオクタジエニルが挙げられる。一部の実施形態では、脂環式基は、3～6個の炭素を有する。一部の実施形態では、脂環式基は、飽和であり、且つシクロアルキルである。「脂環式」という用語は、デカヒドロナフチル又はテトラヒドロナフチルなどの1つ若しくは複数の芳香環又は非芳香環に融合された脂環も含み得る。一部の実施形態では、脂環式基は二環式である。一部の実施形態では、脂環式基は三環式である。一部の実施形態では、脂環式基は多環式である。一部の実施形態では、「脂環式」は、完全に飽和であるか又は1つ若しくは複数の不飽和単位を含むが、芳香族ではなく、残りの分子に対して単一の結合点を有する $C_3 \sim C_6$ 単環式炭化水素又は $C_8 \sim C_{10}$ 二環式若しくは多環式炭化水素、或いは完全に飽和であるか又は1つ若しくは複数の不飽和単位を含むが、芳香族ではなく、残りの分子に対して単一の結合点を有する $C_9 \sim C_{16}$ 多環式炭化水素を指す。

【0037】

投与レジメン：本明細書で使用されるとき、「投与レジメン」又は「治療レジメン」は、対象に個別に典型的には時間を空けて投与される一組の単位用量（典型的には2用量以上）を指す。一部の実施形態において、所与の治療用薬剤には推奨投与レジメンがあり、これは、1用量以上を含み得る。一部の実施形態において、投与レジメンは、複数の用量を含み、その各々は、互いの間が同じ長さの時間だけ空けられている。一部の実施形態において、投与レジメンは、複数の用量と、個々の用量間に空いた少なくとも2つの異なる時間とを含む。一部の実施形態において、投与レジメン内にある全ての用量は、同じ単位用量値である。一部の実施形態において、投与レジメン内の異なる用量は、異なる値である。一部の実施形態において、投与レジメンは、第1の用量値の第1の用量を含み、続いて第1の用量値と異なる第2の用量値の1つ以上の更なる用量を含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、第1の用量値の第1の用量を含み、続いて第1の用量値と同じ第2の用量値の1つ以上の更なる用量を含む。

【0038】

ヘテロ脂肪族：「ヘテロ脂肪族」という用語は、本明細書で使用される場合、当技術分野におけるその通常の意味が付与され、1つ又は複数の炭素原子が、独立に、1つ又は複数のヘテロ原子（例えば、酸素、窒素、硫黄、ケイ素、リンなど）で置換されている、本明細書に記載の通りの脂肪族基を指す。一部の実施形態では、 C 、 CH 、 CH_2 及び CH_3 から選択される1つ又は複数の単位が、独立に、1つ又は複数のヘテロ原子（それらの酸化及び／若しくは置換形態を含む）により置換される。一部の実施形態では、ヘテロ脂肪族基は、ヘテロアルキルである。一部の実施形態では、ヘテロ脂肪族基は、ヘテロアルケニルである。

【0039】

ヘテロアルキル：「ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、当技

10

20

30

40

50

術分野におけるその通常の意味が付与され、1つ又は複数の炭素原子が、独立に、1つ又は複数のヘテロ原子（例えば、酸素、窒素、硫黄、ケイ素、リンなど）で置換されている本明細書に記載のアルキル基を指す。ヘテロアルキル基の例として、限定はされないが、アルコキシ、ポリ（エチレングリコール）ー、アルキル置換アミノ、テトラヒドロフラニル、ピペリジニル、モルホリニルなどが挙げられる。

【0040】

ヘテロアリール：「ヘテロアリール」及び「ヘテロアルー」という用語は、本明細書で使用される場合、単独又はより大きい部分（例えば、「ヘテロアラルキル」若しくは「ヘテロアラルコキシ」の一部として用いられ、計5～30環員を有する単環、二環若しくは多環系を指し、ここで、その系の少なくとも1つの環は、芳香族であり、少なくとも1つの芳香環原子は、ヘテロ原子である。一部の実施形態では、ヘテロアリール基は、5～10個の環原子（即ち単環、二環又は多環式）を有し、一部の実施形態では、5、6、9若しくは10個の環原子を有する。一部の実施形態では、ヘテロアリール基は、環状アレイ内に共有される6、10又は14 π 電子を有し；炭素原子の他に、1～5個のヘテロ原子を有する。ヘテロアリール基としては、限定しないが、チエニル、フラニル、ピロニル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、オキサジアゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、インドリジニル、プリニル、ナフチリジニル及びプテリジニルが挙げられる。一部の実施形態では、ヘテロアリールは、ビピリジルなどのヘテロビアアリール基である。「ヘテロアリール」及び「ヘテロアルー」という用語は、本明細書で使用される場合、ヘテロ芳香環が、1つ若しくは複数のアリール、脂環式又はヘテロシクリル環と融合しており、結合基若しくは結合点がヘテロ芳香環上にある基も含む。非限定的な例として、インドリル、イソインドリル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、ジベンゾフラニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、4H-キノリジニル、カルバゾリル、アクリジニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル及びピリド〔2, 3-b〕-1, 4-オキサジニル-3（4H）-オンが挙げられる。ヘテロアリール基は、単環、二環又は多環式であり得る。「ヘテロアリール」という用語は、「ヘテロアリール環」、「ヘテロアリール基」又は「ヘテロ芳香族」という用語と置き換え可能に用い得、これらの用語は何れも、任意選択で置換される環を含む。「ヘテロアラルキル」という用語は、ヘテロアリール基により置換されたアルキル基を指し、ここで、アルキル及びヘテロアリール部分は独立に、任意選択で置換される。

【0041】

ヘテロ原子：「ヘテロ原子」という用語は、本明細書で使用される場合、炭素又は水素ではない原子を意味する。一部の実施形態では、ヘテロ原子は、ホウ素、酸素、硫黄、窒素、リン又はケイ素（窒素、硫黄、リン又はケイ素の任意の酸化型；複素環の任意の塩基性窒素若しくは置換可能な窒素の4級化型（例えば、3, 4-ジヒドロ-2H-ピロリルの場合などのN）、NH（ピロリジニルの場合など）又はNR⁺（N-置換ピロリジニルの場合など）；などを含む）である。

【0042】

複素環：本明細書で使用される場合、「複素環」、「ヘテロシクリル」、「複素環式基」及び「複素環」という用語は、本明細書で用いられる通り、置き換え可能に使用され、飽和若しくは部分不飽和で、1つ又は複数のヘテロ原子環原子を有する単環、二環若しくは多環式環部分（例えば、3～30員の）を指す。一部の実施形態では、ヘテロシクリル基は、飽和若しくは部分不飽和の何れかであり、且つ炭素原子以外に、1つ又は複数、好ましくは、1～4個のヘテロ原子（上に定義した通り）を有する、安定な5～7員単環又は7～10員二環式複素環部分である。複素環の環原子に関して用いられるとき、「窒素」という用語は、置換窒素を含む。一例として、酸素、硫黄及び窒素から選択される0～3個のヘテロ原子を有する飽和若しくは部分不飽和環の場合、窒素は、N（3, 4-ジヒ

ドロー 2 H-ピロリルの場合など)、NH (ピロリジニルの場合など) 又は⁺NR (N-置換ピロリジニルの場合など) であり得る。複素環は、任意のヘテロ原子又は炭素原子においてそのペンダント基に結合することができ、これにより、安定な構造が得られ、また、環原子の何れかを任意選択で置換することもできる。こうした飽和若しくは部分不飽和複素環式ラジカル例としては、限定しないが、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピロリニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オキサゾリジニル、ピペラジニル、ジオキサニル、ジオキサソラニル、ジアゼピニル、オキサゼピニル、チアゼピニル、モルホリニル及びキヌクリジニルが挙げられる。「複素環」、「ヘテロシクリル」、「ヘテロシクリル環」、「複素環式基」、「複素環式部分」及び「複素環式ラジカル」という用語は、本明細書では置き換え可能に用いられ、更に、ヘテロシクリル環が、1つ又は複数のアリール、ヘテロアリール若しくは脂環、例えばインドリニル、3H-インドリル、クロマニル、フェナントリジニル又はテトラヒドロキノリニルに融合した基も含む。ヘテロシクリル基は、単環、二環又は多環式であり得る。「ヘテロシクリルアルキル」という用語は、ヘテロシクリルにより置換されたアルキル基を指し、ここで、アルキル及びヘテロシクリル部分は、独立に、任意選択で置換される。

10

【0043】

インビトロ：本明細書で使用される場合、「インビトロ」という用語は、生物（例えば、動物、植物及び／又は微生物）内ではなく、人工の環境、例えば試験管又は反応容器、細胞培養物中で起こる事象を指す。

20

【0044】

インビボ：本明細書で使用される場合、「インビボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物及び／又は微生物）内で起こる事象を指す。

【0045】

任意選択で置換される：本明細書に記載される場合、本開示の化合物、例えばオリゴヌクレオチドは、任意選択で置換される部分及び／又は置換された部分を含み得る。一般に、用語「置換される」は、用語「任意選択で」が前に置かれるか否かに関わらず、指定部分の1つ又は複数の水素が好適な置換基で置換されることを意味する。別に指示されない限り、「任意選択で置換される」基は、基の置換可能な位置の各々に好適な置換基を有することができ、何れか所与の構造内の2つ以上の位置が、指定された群から選択される2つ以上の置換基で置換され得る場合、置換基は、全ての位置で同じであるか又は異なり得る。一部の実施形態では、任意選択で置換される基は、置換されていない。本開示により考慮される置換基の組み合わせは、好ましくは、安定な又は化学的に実現可能な化合物の形成をもたらすものである。「安定な」という用語は、本明細書で使用される場合、その生産、検出並びに特定の実施形態ではその回収、精製及び本明細書に開示される1つ又は複数の目的のための使用を可能にする条件に付されたとき、実質的に変化しない化合物を指す。

30

【0046】

置換可能な原子、例えば好適な炭素原子に対する好適な一価置換基は、独立に、以下：ハロゲン； $-(CH_2)_{0 \sim 4} R^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} OR^{\circ}$ ； $-O(CH_2)_{0 \sim 4} R^{\circ}$ 、 $-O-(CH_2)_{0 \sim 4} C(O)OR^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} CH(OR^{\circ})_2$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} Ph(R^{\circ} \text{で置換され得る})$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} O(CH_2)_{0 \sim 1} Ph(R^{\circ} \text{で置換され得る})$ ； $-CH=CHPh(R^{\circ} \text{で置換され得る})$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} O(CH_2)_{0 \sim 1}$ -ピリジル $(R^{\circ} \text{で置換され得る})$ ； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} N(R^{\circ})_2$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} N(R^{\circ})C(O)R^{\circ}$ ； $N(R^{\circ})C(S)R^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} N(R^{\circ})C(O)NR^{\circ}_2$ ； $-N(R^{\circ})C(S)NR^{\circ}_2$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} N(R^{\circ})C(O)OR^{\circ}$ ； $-N(R^{\circ})N(R^{\circ})C(O)R^{\circ}$ ； $-N(R^{\circ})N(R^{\circ})C(O)NR_2$ ； $-N(R^{\circ})N(R^{\circ})C(O)OR^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} C(O)R^{\circ}$ ； $-C(S)R^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} C(O)OR^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} C(O)SR^{\circ}$ ； $-(CH_2)_{0 \sim 4} C(O)Si$

40

50

R°_3 ; $-(CH_2)_{0 \sim 4} CO(O)R^{\circ}$; $-OC(O)(CH_2)_{0 \sim 4}SR$; $-SC(S)SR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}SC(O)R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}C(O)NR^{\circ}_2$; $-C(S)NR^{\circ}_2$; $-C(S)SR^{\circ}$; $-SC(S)SR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}OC(O)NR^{\circ}_2$; $-C(O)N(OR^{\circ})R^{\circ}$; $-C(O)C(O)R^{\circ}$; $-C(O)CH_2C(O)R^{\circ}$; $-C(NOR^{\circ})R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}SSR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}S(O)_2R^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}S(O)_2OR^{\circ}$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}OS(O)_2R^{\circ}$; $-S(O)_2NR^{\circ}_2$; $-(CH_2)_{0 \sim 4}S(O)R^{\circ}$; $-N(R^{\circ})S(O)_2NR^{\circ}_2$; $-N(R^{\circ})S(O)_2R^{\circ}$; $-N(OR^{\circ})R^{\circ}$; $-C(NH)NR^{\circ}_2$; $-Si(R^{\circ})_3$; $-OSi(R^{\circ})_3$; $-B(R^{\circ})_2$; $-OB(R^{\circ})_2$; $-OB(OR^{\circ})_2$; $-P(R^{\circ})_2$; $-P(OR^{\circ})_2$; $-OP(R^{\circ})_2$; $-OP(OR^{\circ})_2$; $-P(O)(R^{\circ})_2$; $-P(O)(OR^{\circ})_2$; $-OP(O)(R^{\circ})_2$; $-OP(O)(OR^{\circ})_2$; $-OP(O)(OR^{\circ})(SR^{\circ})$; $-SP(O)(R^{\circ})_2$; $-SP(O)(OR^{\circ})_2$; $-N(R^{\circ})P(O)(R^{\circ})_2$; $-N(R^{\circ})P(O)(OR^{\circ})_2$; $-P(R^{\circ})_2[B(R^{\circ})_3]$; $-P(OR^{\circ})_2[B(R^{\circ})_3]$; $-OP(R^{\circ})_2[B(R^{\circ})_3]$; $-OP(OR^{\circ})_2[B(R^{\circ})_3]$; $-(C_{1 \sim 4} \text{直鎖若しくは分岐アルキレン})O-N(R^{\circ})_2$; 又は $-(C_{1 \sim 4} \text{直鎖若しくは分岐アルキレン})C(O)O-N(R^{\circ})_2$ 、ここで、各 R° は、以下に定義する通り置換され得、独立に、水素、 $C_{1 \sim 20}$ 脂肪族、独立に、窒素、酸素、硫黄、ケイ素及びリンから選択される 1～5 個のヘテロ原子を有する $C_{1 \sim 20}$ ヘテロ脂肪族、 $-CH_2-(C_{6 \sim 14} \text{アリール})$ 、 $-O(CH_2)_{0 \sim 1}(C_{6 \sim 14} \text{アリール})$ 、 $-CH_2-(5 \sim 14 \text{員ヘテロアリール環})$ 、独立に、窒素、酸素、硫黄、ケイ素及びリンから選択される 0～5 個のヘテロ原子を有する 5～20 員の単環、二環若しくは多環式、飽和、部分不飽和又はアリール環であるか、或いは上の定義にもかかわらず、 R° の 2 回の独立した出現は、それらの介在原子と一緒に、独立に、窒素、酸素、硫黄、ケイ素及びリンから選択される 0～5 個のヘテロ原子を有する 5～20 員の単環、二環若しくは多環式、飽和、部分不飽和又はアリール環を形成し、これらは、以下に定義する通り置換され得る。

10

20

30

40

50

【0047】

R° (又は R° の 2 回の独立した出現により、それらの介在原子と一緒に形成される環) に対する好適な一価置換基は、独立に、ハロゲン、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}R^{\cdot}$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}OR^{\cdot}$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}CH(OR^{\cdot})_2$; $-O(CH_2)_{0 \sim 2}R^{\cdot}$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}C(O)R^{\cdot}$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}C(O)OR^{\cdot}$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}SR^{\cdot}$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}NHR^{\cdot}$ 、 $-(CH_2)_{0 \sim 2}NR^{\cdot}_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR^{\cdot}_3$ 、 $-OSiR^{\cdot}_3$ 、 $-C(O)SR^{\cdot}$ 、 $-(C_{1 \sim 4} \text{直鎖若しくは分岐アルキレン})C(O)OR^{\cdot}$ 又は $-SSR^{\cdot}$ (ここで、各 $R^{\cdot}$ は、非置換であるか、又は「ハロ」が前に置かれる場合、1 つ又は複数のハロゲンのみで置換されている)、並びに独立に $C_{1 \sim 4}$ 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0 \sim 1}Ph$ 、並びに独立に窒素、酸素、硫黄、ケイ素及びリンから選択される 0～4 個のヘテロ原子を有する 5～6 員飽和、部分不飽和又はアリール環である。 R° の飽和炭素原子に対する好適な二価置換基は、 $=O$ 及び $=S$ を含む。

【0048】

例えば、好適な炭素原子に対する好適な二価置換基は、独立に、以下： $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^*_2$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^*_2))_{2 \sim 3}O-$ 又は $-S(C(R^*_2))_{2 \sim 3}S-$ であり、ここで、 R^* の各々独立した出現は、水素、以下に定義する通りに置換され得る $C_{1 \sim 6}$ 脂肪族並びに独立に窒素、酸素及び硫黄から選択される 0～4 個のヘテロ原子を有する非置換 5～6 員飽和、部分不飽和又はアリール環から選択される。「任意選択で置換された」基の隣接置換可能炭素に結合される好適な二価置換基としては、 $-O(CR^*_2)_{2 \sim 3}O-$ があり、ここで、 R^* の各々独立した出現は、水素、以下に定

義する通り置換され得る $C_1 \sim C_6$ 脂肪族並びに窒素、酸素及び硫黄から選択される 0～4 個のヘテロ原子を有する非置換 5～6 員飽和、部分不飽和又はアリール環から選択される。

【0049】

R^* の脂肪族基に対する好適な置換基は、独立に、ハロゲン、 R^* 、 $-(ハロR^*)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^*$ 、 $-O(ハロR^*)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^*$ 、 $-NH_2$ 、 NHR^* 、 $-NR^*_2$ 又は $-NO_2$ (各 R^* は、非置換であるか、又は「ハロ」が前に置かれる場合、1つ又は複数のハロゲンのみで置換されている) 並びに独立に $C_1 \sim C_4$ 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0 \sim 1}Ph$ 又は独立に、窒素、酸素及び硫黄から選択される 0～4 個のヘテロ原子を有する 5～6 員飽和、部分不飽和又はアリール環である。

10

【0050】

経口：「経口投与」及び「経口投与される」という語句は、本明細書で使用される場合、それらが当技術分野で理解されている意味を有し、化合物又は組成物の口からの投与を指す。

【0051】

非経口：「非経口投与」及び「非経口投与される」という語句は、本明細書で使用される場合、それらが当技術分野で理解されている意味を有し、腸及び局所投与以外の投与方法、通常は、注射による投与を指し、限定されないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼内、心臓内、皮内、腹腔内、気管内、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊髄内及び胸骨内注射及び注入が挙げられる。

20

【0052】

部分不飽和：本明細書で使用される場合、「部分不飽和」という用語は、少なくとも 1 つの二重又は三重結合を含む環部分を指す。「部分不飽和」という用語は、複数の不飽和部位を有する環を包含することが意図されるが、本明細書に定義する通り、アリール又はヘテロアリール部分を含むことは意図されない。

【0053】

医薬組成物：本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、1つ又は複数の薬学的に許容される担体と一緒に製剤化される活性剤を指す。一部の実施形態では、活性剤は、関連集団に投与されると、所定の治療効果を達成する統計的に有意な確率を示す治療レジメンでの投与に適切な単位用量で存在する。一部の実施形態では、医薬組成物は、固体又は液体剤形での投与のために専用に製剤化され得、それは、下記の投与の目的で設計されるものを含む：経口投与、例えば飲薬（水性若しくは非水性溶液若しくは懸濁液）、錠剤、例えば口腔、舌下及び全身吸収を目標とするもの、ボラス、粉末、顆粒、舌への適用のためのペースト；非経口投与、例えば滅菌溶液若しくは懸濁液又は徐放性製剤としての例えば皮下、筋肉内、静脈内若しくは硬膜外注射；局所適用、例えばクリーム、軟膏又は皮膚、肺若しくは口腔に適用される制御放出パッチ若しくはスプレー；腔内若しくは直腸内、例えばベッサリー、クリーム若しくはフォームとして；舌下；眼；経皮；又は鼻内、肺並びに他の粘膜表面への投与。

30

【0054】

薬学的に許容される：本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という語句は、信頼できる医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応又は他の障害若しくは合併症なしに、ヒト及び動物の組織と接触させる使用に好適であり、適正な利益／リスク比と相応する化合物、材料、組成物及び／又は剤形を指す。

40

【0055】

薬学的に許容される担体：本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、1つの器官、又は身体的一部分から対象化合物を別の器官、又は身体の部分へと運搬若しくは輸送することに関与する、液体若しくは固体充填剤、希釈剤、賦形剤又は溶媒封入材などの薬学的に許容される材料、組成物若しくはビヒクルを意味する。各担体は、製剤の他の材料と適合性であり、且つ患者に対して有害ではないという意味で「許

50

容可能」でなければならない。薬学的に許容される担体としては、以下のものが挙げられる：ラクトース、グルコース及びスクロースなどの糖；トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプンなどのデンプン；セルロース並びにその誘導体、例えばナトリウムカルボキシメチルセルロース、エチルセルロース及び酢酸セルロース；粉末状トラガカンズ；麦芽；タルク；ココアバター及び座剤蠟などの賦形剤；ピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及びダイズ油などの油；プロピレングリコールなどのグリコール；グリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコールなどのポリオール；オレイン酸エチル及びラウリン酸エチルなどのエステル；寒天；水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；アルギニン酸；発熱性物質除去蒸留水；等張食塩水；リンガー液；エチルアルコール；pH緩衝溶液；ポリエステル；ポリカーボネート及び／又はポリ無水物；並びに医薬製剤に使用される他の非毒性適合性物質。

10

【0056】

薬学的に許容される塩：「薬学的に許容される塩」という用語は、本明細書で使用される場合、製剤に関連する使用に適した化合物の塩、即ち信頼できる医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応などを起こさずに、ヒト及び下等動物の組織と接触させる使用に好適であり、適正な利益／リスク比と相応する塩を指す。薬学的に許容される塩は、当技術分野で公知である。例えば、S. M. Berge, et al. は、J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977) において、薬学的に許容される塩を詳細に記載している。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩として、限定はされないが、非毒性酸付加塩があり、これらは、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸及び過塩素酸などの無機酸と一緒に又は酢酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸若しくはマロン酸などの有機酸と一緒に又はイオン交換など、当技術分野で使用される他の方法によって形成されるアミノ基の塩である。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩として、限定はされないが、以下のものが挙げられる：アジピン酸塩、アルギニン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファー硫酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタン硫酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキササン酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシーエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、バルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩など。一部の実施形態では、提供される化合物は、1つ又は複数の酸性基、例えばオリゴヌクレオチドを含み、薬学的に許容される塩は、アルカリ、アルカリ土類金属又はアンモニウム（例えば、 $N(R)_3$ のアンモニウム塩、ここで、各Rは、独立に、本開示に定義され、記載される）塩である。代表的なアルカリ又はアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどが挙げられる。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩は、ナトリウム塩である。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩は、カリウム塩である。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩は、カルシウム塩である。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩は、適切であれば、非毒性アンモニウム、4級アンモニウム並びにハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、1～6個の炭素原子を有するアルキル、スルホン酸塩及びアリールスルホン酸塩などの対イオンを用いて形成されるアミンカチオンを含む。一部の実施形態では、提供される化合物は、1を超える酸性基を含み、例えば、提供されるオリゴヌクレオチドは、2つ以上の酸性基を含み得る（例えば、天然のリン酸結合及び／又は修飾されたヌクレオチド間結合に）。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩又は一般にそうした化合物の塩は、2つ以上のカチオンを含み

20

30

40

50

、これらは、同じであるか又は異なり得る。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩（又は一般に、塩）において、酸性基中の全てのイオン化水素は、カチオンで置換される。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩は、提供されるオリゴヌクレオチドのナトリウム塩である。一部の実施形態では、薬学的に許容される塩は、提供されるオリゴヌクレオチドのナトリウム塩であり、各酸性リン酸基は、塩形態（全てナトリウム塩）として存在する。

【0057】

保護基：「保護基」という用語は、本明細書で使用される場合、当技術分野で公知であり、Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene及びP. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999（これらの全体が参照により本明細書に援用される）に詳細に記載されるものを含む。更に、Serge L. Beaucage et al. 06/2012により編集されたCurrent Protocols in Nucleic Acid Chemistry（Chapter 2の全体が参照により本明細書に援用される）に記載のヌクレオシド及びヌクレオチドケミストリーのために専用に設計された保護基も含まれる。好適なアミノ保護基としては、以下のものが挙げられる：カルバミン酸メチル、カルバミン酸エチル、9-フルオレニルメチルカルバメート（Fmoc）、9-（2-スルホ）フルオレニルメチルカルバメート、9-（2, 7-ジブプロモ）フルオロエニルメチルカルバメート、2, 7-ジ-tert-ブチル-〔9-（10, 10-ジオキソ-10, 10, 10, 10-テトラヒドロチオキサンチル）〕メチルカルバメート（DBD-Tmoc）、4-メトキシフェナシルカルバメート（Phenoc）、2, 2, 2-トリクロロエチルカルバメート（Troc）、2-トリメチルシリルエチルカルバメート（Teoc）、2-フェニルエチルカルバメート（hZ）、1-（1-アダマンチル）-1-メチルエチルカルバメート（Adpoc）、1, 1-ジメチル-2-ハロエチルカルバメート、1, 1-ジメチル-2, 2-ジブプロモエチルカルバメート（DB-tert-BOC）、1, 1-ジメチル-2, 2, 2-トリクロロエチルカルバメート（TCBOC）、1-メチル-1-（4-ビフェニル）エチルカルバメート（Bpoc）、1-（3, 5-ジ-tert-ビフェニルカルバメート）-1-メチルエチルカルバメート（t-Bumeoc）、2-（2'-及び4'-ピリジル）エチルカルバメート（Pyoc）、2-（N, N-ジシクロヘキシルカルボキサミド）エチルカルバメート、tert-ブチルカルバメート（BOC）、1-アダマンチルカルバメート（Adoc）、ビニルカルバメート（Voc）、アリルカルバメート（Alloc）、1-イソプロピルアリルカルバメート（Ipaoc）、シンナミルカルバメート（Coc）、4-ニトロシンナミルカルバメート（Noc）、8-キノリルカルバメート、N-ヒドロキシピペリジニルカルバメート、アルキルジチオカルバメート、ベンジルカルバメート（Cbz）、p-メトキシベンジルカルバメート（Moz）、p-ニトロベンジルカルバメート、p-ブプロモベンジルカルバメート、p-クロロベンジルカルバメート、2, 4-ジクロロベンジルカルバメート、4-メチルスルフィニルベンジルカルバメート（MsZ）、9-アントリルメチルカルバメート、ジフェニルメチルカルバメート、2-メチルチオエチルカルバメート、2-メチルスルホニルエチルカルバメート、2-（p-トルエンスルホニル）エチルカルバメート、〔2-（1, 3-ジチアニル）〕メチルカルバメート（Dmoc）、4-メチルチオフェニルカルバメート（Mtpc）、2, 4-ジメチル-チオフェニルカルバメート（Bmpc）、2-ホスフィノエチルカルバメート（Peoc）、2-トリフェニルホスホニオイソプロピルカルバメート（Ppoc）、1, 1-ジメチル-2-シアノエチルカルバメート、m-クロロ-p-アシルオキシベンジルカルバメート、p-（ジヒドロキシボリル）ベンジルカルバメート、5-ベンズイソキサゾリルメチルカルバメート、2-（トリフルオロメチル）-6-クロモニルメチルカルバメート（Tcroc）、m-ニトロフェニルカルバメート、3, 5-ジメトキシベンジルカルバメート、o-ニトロベンジルカルバメート、3, 4-ジメトキシ-6-ニトロベンジルカルバメート、フェニル（o-ニトロフェニル）メチルカルバメート、フェノチアジニル-（10）-カルボニル誘導体、N'-p-

10

20

30

40

50

トルエンシルホニルアミノカルボニル誘導体、N'-フェニルアミノチオカルボニル誘導体、t-アミルカルバメート、S-ベンジルチオカルバメート、p-シアノベンジルカルバメート、シクロブチルカルバメート、シクロヘキシルカルバメート、シクロペンチルカルバメート、シクロプロピルメチルカルバメート、p-デシロキシベンジルカルバメート、2, 2-ジメトキシカルボニルビニルカルバメート、o-(N, N-ジメチルーカルボキサミド)ベンジルカルバメート、1, 1-ジメチルー3-(N, N-ジメチルーカルボキサミド)プロピルカルバメート、1, 1-ジメチループロピニルカルバメート、ジ(2-ピリジル)メチルカルバメート、2-フラニルメチルカルバメート、2-ヨードエチルカルバメート、イソボルニルカルバメート、イソブチルカルバメート、イソニコチルカルバメート、p-(p'-メトキシフェニルアゾ)ベンジルカルバメート、1-メチルシクロブチルカルバメート、1-メチルシクロヘキシルカルバメート、1-メチルー1-シクロプロピルメチルカルバメート、1-メチルー1-(3, 5-ジメトキシフェニル)エチルカルバメート、1-メチルー1-(p-フェニルアゾフェニル)エチルカルバメート、1-メチルー1-フェニルエチルカルバメート、1-メチルー1-(4-ピリジル)エチルカルバメート、フェニルカルバメート、p-(フェニルアゾ)ベンジルカルバメート、2, 4, 6-トリ-t-ブチルフェニルカルバメート、4-(トリメチルアンモニウム)ベンジルカルバメート、2, 4, 6-トリメチルベンジルカルバメート、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、フェニルアセトアミド、3-フェニルプロパンアミド、ピコリンアミド、3-ピリジルカルボキサミド、N-ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、ベンズアミド、p-フェニルベンズアミド、o-ニトロフェニルアセトアミド、o-ニトロフェノキシアセトアミド、アセトアセトアミド、(N'-ジチオベンジルオキシカルボニルアミノ)アセトアミド、3-(p-ヒドロキシフェニル)プロパンアミド、3-(o-ニトロフェニル)プロパンアミド、2-メチルー2-(o-ニトロフェノキシ)プロパンアミド、4-クロロブタンアミド、3-メチルー3-ニトロブタンアミド、o-ニトロシンナミド、N-アセチルメチオニン誘導体、o-ニトロベンズアミド、o-(ベンゾイルオキシメチル)ベンズアミド、4, 5-ジフェニル-3-オキサゾリン-2-オン、N-フタルイミド、N-ジチアスクシンイミド(Dts)、N-2, 3-ジフェニルマレイミド、N-2, 5-ジメチルピロール、N-1, 1, 4, 4-テトラメチルジシリルアザシクロペンタン付加物(STABASE)、5-置換1, 3-ジメチルー1, 3, 5-トリアザシクロヘキサ-2-オン、5-置換1, 3-ジベンジル-1, 3, 5-トリアザシクロヘキサ-2-オン、1-置換3, 5-ジニトロ-4-ピリドン、N-メチルアミン、N-アリルアミン、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシ]メチルアミン(SEM)、N-3-アセトキシプロピルアミン、N-(1-イソプロピル-4-ニトロ-2-オキソ-3-ピロオリ-3-イル)アミン、4級アンモニウム塩、N-ベンジルアミン、N-ジ(4-メトキシフェニル)メチルアミン、N-5-ジベンゾスベリルアミン、N-トリフェニルメチルアミン(Tr)、N-[(4-メトキシフェニル)ジフェニルメチル]アミン(MMTr)、N-9-フェニルフルオレニルアミン(PhF)、N-2, 7-ジクロロ-9-フルオレニルメチレンアミン、N-フェロセニルメチルアミノ(Fcm)、N-2-ピコリルアミノN'-オキシド、N-1, 1-ジメチルチオメチレンアミン、N-ベンジリデンアミン、N-p-メトキシベンジリデンアミン、N-ジフェニルメチレンアミン、N-[(2-ピリジル)メシチル]メチレンアミン、N-(N', N'-ジメチルアミノメチレン)アミン、N, N'-イソプロピリデンジアミン、N-p-ニトロベンジリデンアミン、N-サリチリデンアミン、N-5-クロロサリチリデンアミン、N-(5-クロロ-2-ヒドロキシフェニル)フェニルメチレンアミン、N-シクロヘキシリデンアミン、N-(5, 5-ジメチルー3-オキソ-1-シクロヘキセニル)アミン、N-ボラン誘導体、N-ジフェニルボリン酸誘導体、N-[フェニル(ペンタカルボニルクロミウム-若しくはタングステン)カルボニル]アミン、N-銅キレート、N-亜鉛キレート、N-ニトロアミン、N-ニトロソアミン、アミンN-オキシド、ジフェニルホスフィンアミド(Dpp)、ジメチルチオホスフィン

アミド (M p t)、ジフェニルチオホスフィンアミド (P p t)、ジアルキルホスホロアミド、ジベンジルホスホロアミド、ジフェニルホスホロアミド、ベンゼンスルフェンアミド、*o*-ニトロベンゼンスルフェンアミド (N p s)、2, 4-ジニトロベンゼンスルフェンアミド、ペンタクロロベンゼンスルフェンアミド、2-ニトロ-4-メトキシベンゼンスルフェンアミド、トリフェニルメチルスルフェンアミド、3-ニトロピリジンスルフェンアミド (N p y s)、*p*-トルエンスルホンアミド (T s)、ベンゼンスルホンアミド、2, 3, 6-トリメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (M t r)、2, 4, 6-トリメトキシベンゼンスルホンアミド (M t b)、2, 6-ジメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (P m e)、2, 3, 5, 6-テトラメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (M t e)、4-メトキシベンゼンスルホンアミド (M b s)、2, 4, 6-トリメチルベンゼンスルホンアミド (M t s)、2, 6-ジメトキシ-4-メチルベンゼンスルホンアミド (i M d s)、2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホンアミド (P m c)、メタンスルホンアミド (M s)、 β -トリメチルシリルエタンスルホンアミド (S E S)、9-アントラセンスルホンアミド、4-(4', 8'-ジメトキシナフチルメチル)ベンゼンスルホンアミド (D N M B S)、ベンジルスルホンアミド、トリフルオロメチルスルホンアミド及びフェナシルスルホンアミド。

10

【0058】

好適に保護されたカルボン酸としては、シリル-、アルキル-、アルケニル-、アリール-及びアリールアルキル保護されたカルボン酸が更に挙げられるが、これらに限定されない。適切なシリル基の例としては、トリメチルシリル、トリエチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、トリイソプロピルシリルなどが挙げられる。好適なアルキル基の例としては、メチル、ベンジル、*p*-メトキシベンジル、3, 4-ジメトキシベンジル、トリチル、*t*-ブチル、テトラヒドロピラン-2-イルが挙げられる。好適なアルケニル基の例としては、アリルが挙げられる。適切なアリール基の例としては、任意選択で置換されるフェニル、ビフェニル又はナフチルが挙げられる。好適なアリールアルキル基の例としては、任意選択で置換されるベンジル (例えば、*p*-メトキシベンジル (M P M)、3, 4-ジメトキシベンジル、*o*-ニトロベンジル、*p*-ニトロベンジル、*p*-ハロベンジル、2, 6-ジクロロベンジル、*p*-シアノベンジル)並びに2-及び4-ピコリルが挙げられる。

20

30

【0059】

好適なヒドロキシル保護基としては、メチル、メトキシメチル (M O M)、メチルチオメチル (M T M)、*t*-ブチルチオメチル、(フェニルジメチルシリル)メトキシメチル (S M O M)、ベンジルオキシメチル (B O M)、*p*-メトキシベンジルオキシメチル (P M B M)、(4-メトキシフェノキシ)メチル (*p*-A O M)、グアヤコールメチル (G U M)、*t*-ブトキシメチル、4-ペンテニルオキシメチル (P O M)、シロキシメチル、2-メトキシエトキシメチル (M E M)、2, 2, 2-トリクロロエトキシメチル、ビス(2-クロロエトキシ)メチル、2-(トリメチルシリル)エトキシメチル (S E M O R)、テトラヒドロピラニル (T H P)、3-プロモテトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、1-メトキシシクロヘキシル、4-メトキシテトラヒドロピラニル (M T H P)、4-メトキシテトラヒドロチオピラニル、4-メトキシテトラヒドロチオピラニル S、S-ジオキシド、1-[(2-クロロ-4-メチル)フェニル]-4-メトキシピペリジン-4-イル (C T M P)、1, 4-ジオキサ-2-イル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフラニル、2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7, 7a-オクタヒドロ-7, 8, 8-トリメチル-4, 7-メタノベンゾフラン-2-イル、1-エトキシエチル、1-(2-クロロエトキシ)エチル、1-メチル-1-メトキシエチル、1-メチル-1-ベンジルオキシエチル、1-メチル-1-ベンジルオキシ-2-フルオロエチル、2, 2, 2-トリクロロエチル、2-トリメチルシリルエチル、2-(フェニルセレン)エチル、*t*-ブチル、アリル、*p*-クロロフェニル、*p*-メトキシフェニル、2, 4-ジニトロフェニル、ベンジル、*p*-メトキシベンジル、3, 4-ジメトキシベンジル

40

50

、*o*-ニトロベンジル、*p*-ニトロベンジル、*p*-ハロベンジル、2, 6-ジクロロベンジル、*p*-シアノベンジル、*p*-フェニルベンジル、2-ピコリル、4-ピコリル、3-メチル-2-ピコリル*N*-オキシド、ジフェニルメチル、*p*, *p*'-ジニトロベンゾヒドリル、5-ジベンゾスベリル、トリフェニルメチル、 α -ナフチルジフェニルメチル、*p*-メトキシフェニルジフェニルメチル、ジ(*p*-メトキシフェニル)フェニルメチル、トリ(*p*-メトキシフェニル)メチル、4-(4'-ブromoフェナシルオキシフェニル)ジフェニルメチル、4, 4', 4''-トリス(4, 5-ジクロロフタルイミドフェニル)メチル、4, 4', 4''-トリス(レプリノイルオキシフェニル)メチル、4, 4', 4''-トリス(ベンゾイルオキシフェニル)メチル、3-(イミダゾール-1-イル)ビス(4', 4''-ジメトキシフェニル)メチル、1, 1-ビス(4-メトキシフェニル)-1'-ピレニルメチル、9-アントリル、9-(9-フェニル)キサントニル、9-(9-フェニル-10-オキソ)アントリル、1, 3-ベンゾジチオラン-2-イル、ベンゾイソチアゾリル*S*、*S*-ジオキシド、トリメチルシリル(TMS)、トリエチルシリル(TEs)、トリイソプロピルシリル(TIPS)、ジメチルイソプロピルシリル(IPDMS)、ジエチルイソプロピルシリル(DEIPS)、ジメチルテキシルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル(TBDMS)、*t*-ブチルジフェニルシリル(TBDPS)、トリベンジルシリル、トリ-*p*-キシルイルシリル、トリフェニルシリル、ジフェニルメチルシリル(DPMS)、*t*-ブチルメトキシフェニルシリル(TBMPs)、ギ酸塩、ギ酸ベンゾイル、酢酸塩、クロロ酢酸塩、ジクロロ酢酸塩、トリクロロ酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、メトキシ酢酸塩、トリフェニルメトキシ酢酸塩、フェノキシ酢酸塩、*p*-クロロフェノキシ酢酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、4-オキソ吉草酸塩(レプリナート)、4, 4-(エチレンジチオ)ペンタン酸塩(レプリノイルジチオアセタール)、ピバロエート、アダマントエート、クロトナート、4-メトキシクロトナート、安息香酸塩、*p*-フェニル安息香酸塩、2, 4, 6-トリメチル安息香酸塩(メシトエート)、炭酸アルキルメチル、9-フルオレニルメチル炭酸塩(Fmoc)、炭酸アルキルエチル、アルキル2, 2, 2-トリクロロエチル炭酸塩(Troc)、2-(トリメチルシリル)エチル炭酸塩(TMSEC)、2-(フェニルスルホニル)エチル炭酸塩(Psec)、2-(トリフェニルホスホニオ)エチル炭酸塩(Peoc)、アルキルイソブチル炭酸塩、アルキルビニル炭酸塩、アルキルアリル炭酸塩、アルキル*p*-ニトロフェニル炭酸塩、アルキルベンジル炭酸塩、アルキル*p*-メトキシベンジル炭酸塩、アルキル3, 4-ジメトキシベンジル炭酸塩、アルキル*o*-ニトロベンジル炭酸塩、アルキル*p*-ニトロベンジル炭酸塩、アルキル*S*-ベンジルチオ炭酸塩、4-エトキシ-1-ナフトチル炭酸塩、メチルジチオ炭酸塩、2-ヨード安息香酸塩、4-アジド酪酸塩、4-ニトロ-4-メチル吉草酸塩、*o*-(ジブromoメチル)安息香酸塩、2-ホルミルベンゼンスルホン酸塩、2-(メチルチオメトキシ)エチル、4-(メチルチオメトキシ)酪酸塩、2-(メチルチオメトキシメチル)安息香酸塩、2, 6-ジクロロ-4-メチルフェノキシ酢酸、2, 6-ジクロロ-4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェノキシ酢酸、2, 4-ビス(1, 1-ジメチルプロピル)フェノキシ酢酸、クロロジフェニル酢酸、イソ酪酸塩、モノスクシノエート(monosuccinoate)、(E)-2-メチル-2-ブテン酸塩、*o*-(メトキシカルボニル)安息香酸塩、 α -ナフトエ酸、硝酸塩、アルキル*N*, *N*, *N*', *N*'-テトラメチルホスホロジアミデート、アルキル*N*-フェニルカルバミン酸塩、ホウ酸塩、ジメチルホスフィノチオイル、アルキル2, 4-ジニトロフェニルスルフェン酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩(メシル酸塩)、ベンジルスルホン酸塩及びトシル酸塩(Ts)が挙げられる。1, 2-又は1, 3-ジオールを保護する場合、保護基としては、メチレンアセタール、エチリデンアセタール、1-*t*-ブチルエチリデンケタール、1-フェニルエチリデンケタール、(4-メトキシフェニル)エチリデンアセタール、2, 2, 2-トリクロロエチリデンアセタール、アセトニド、シクロペンチリデンケタール、シクロヘキシリデンケタール、シクロヘプチリデンケタール、ベンジリデンアセタール、*p*-メトキシベンジリデンアセタール、2, 4-ジメトキシベンジリデンケタール、3, 4-ジメトキシベンジリデンアセタール、2-ニトロベンジリデンアセタール

10

20

30

40

50

、メトキシメチレンアセタール、エトキシメチレンアセタール、ジメトキシメチレンオルトエステル、1-メトキシエチリデンオルトエステル、1-エトキシエチリデンオルトエステル、1, 2-ジメトキシエチリデンオルトエステル、 α -メトキシベンジリデンオルトエステル、1-(N, N-ジメチルアミノ)エチリデン誘導体、 α -(N, N'-ジメチルアミノ)ベンジリデン誘導体、2-オキサシクロペンチリデンオルトエステル、ジ-*t*-ブチルシリレン基(DTBS)、1, 3-(1, 1, 3, 3-テトライソプロピルジシロキサニリデン)誘導体(TIPDS)、テトラ-*t*-ブトキシジシロキサン-1, 3-ジイリデン誘導体(TBDS)、環状炭酸塩、環状ボロン酸塩、ボロン酸エチル及びボロン酸フェニルが挙げられる。

【0060】

一部の実施形態では、ヒドロキシル保護基は、アセチル、*t*-ブチル、*t*-ブトキシメチル、メトキシメチル、テトラヒドロピラニル、1-エトキシエチル、1-(2-クロロエトキシ)エチル、2-トリメチルシリルエチル、*p*-クロロフェニル、2, 4-ジニトロフェニル、ベンジル、ベンゾイル、*p*-フェニルベンゾイル、2, 6-ジクロロベンジル、ジフェニルメチル、*p*-ニトロベンジル、トリフェニルメチル(トリチル)、4, 4'-ジメトキシトリチル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、トリフェニルシリル、トリイソプロピルシリル、ギ酸ベンゾイル、クロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチル、ピバロイル、9-フルオレニルメチル炭酸塩、メシル酸塩、トシル酸塩、トリフレート、トリチル、モノメトキシトリチル(MMT_r)、4, 4'-ジメトキシトリチル、(DMT_r)及び4, 4', 4''-トリメトキシトリチル(TMT_r)、2-シアノエチル(CE又はCne)、2-(トリメチルシリル)エチル(TSE)、2-(2-ニトロフェニル)エチル、2-(4-シアノフェニル)エチル2-(4-ニトロフェニル)エチル(NPE)、2-(4-ニトロフェニルスルホニル)エチル、3, 5-ジクロロフェニル、2, 4-ジメチルフェニル、2-ニトロフェニル、4-ニトロフェニル、2, 4, 6-トリメチルフェニル、2-(2-ニトロフェニル)エチル、ブチルチオカルボニル、4, 4', 4''-トリス(ベンゾイルオキシ)トリチル、ジフェニルカルバモイル、レブリニル、2-(ジプロモメチル)ベンゾイル(Dbmb)、2-(イソプロピルチオメトキシメチル)ベンゾイル(Ptmt)、9-フェニルキサンテン-9-イル(ピキシル)又は9-(*p*-メトキシフェニル)キサンチン-9-イル(MOX)である。一部の実施形態では、ヒドロキシル保護基の各々は、独立して、アセチル、ベンジル、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル及び4, 4'-ジメトキシトリチルから選択される。一部の実施形態では、ヒドロキシル保護基は、トリチル、モノメトキシトリチル及び4, 4'-ジメトキシトリチル基からなる群から選択される。一部の実施形態では、リン結合保護基は、オリゴヌクレオチド合成全体を通して、リン結合(例えば、ヌクレオチド間結合)に付加される基である。一部の実施形態では、保護基は、ホスホロチオエート結合の硫黄原子に付加される。一部の実施形態では、保護基は、ヌクレオチド間ホスホロチオエート結合の酸素原子に付加される。一部の実施形態では、保護基は、ヌクレオチド間リン酸結合の酸素原子に付加される。一部の実施形態では、保護基は、2-シアノエチル(CE又はCne)、2-トリメチルシリルエチル、2-ニトロエチル、2-スルホニルエチル、メチル、ベンジル、*o*-ニトロベンジル、2-(*p*-ニトロフェニル)エチル(NPE又はNpe)、2-フェニルエチル、3-(N-*t*-ブチルカルボキサミド)-1-プロピル、4-オキソペンチル、4-メチルチオ-1-ブチル、2-シアノ-1, 1-ジメチルエチル、4-N-メチルアミノブチル、3-(2-ピリジル)-1-プロピル、2-[N-メチル-N-(2-ピリジル)]アミノエチル、2-(N-ホルミル、N-メチル)アミノエチル又は4-[N-メチル-N-(2, 2, 2-トリフルオロアセチル)アミノ]ブチルである。

【0061】

サンプル：サンプルは、本明細書で使用される場合、特定の生物又はそれから得られる材料である。一部の実施形態では、サンプルは、本明細書に記載される通り、目的の供給

10

20

30

40

50

源から得られるか又はそれに由来する生体サンプルである。一部の実施形態では、目的の供給源は、動物又はヒトなどの生物を含む。一部の実施形態では、生体サンプルは、生物組織又は体液を含む。一部の実施形態では、生体サンプルは、骨髓；血液；血球；腹水；組織若しくは細針生検；細胞含有体液；フリーフローティング核酸；喀痰；唾液；尿；脳髄液、腹膜液；胸膜液；糞便；リンパ液；婦人科系体液；皮膚スワブ；膣スワブ；口腔スワブ；鼻腔スワブ；乳管洗浄液若しくは気管支肺胞洗浄液などの洗浄物又は洗浄液；吸引物；剥離物；骨髓検体；組織生検試料；手術検体；糞便、他の体液、分泌物及び／若しくは排泄物；並びに／又はそれら由来の細胞などであるか又はそれを含む。一部の実施形態では、生体サンプルは、個体から得られる細胞であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、サンプルは、任意の適切な手段により目的の供給源から直接得られる「一次サンプル」である。例えば、一部の実施形態では、一次生体サンプルは、生検（例えば、穿刺吸引若しくは組織生検）、手術、体液の採取（例えば、血液、リンパ液、糞便など）などからなる群から選択される方法によって得られる。一部の実施形態では、文脈から明らかになるように、「サンプル」という用語は、一次サンプルを処理する（例えば、それから1つ又は複数の構成要素を取り出す及び／又はそれに1つ又は複数の物質を添加する）ことによって得られる製剤を指す。例えば、半透膜を用いた濾過である。こうした「処理サンプル」は、例えば、サンプルから抽出したか、又はmRNAの増幅若しくは逆転写、特定の構成要素の単離及び／若しくは精製などの技術に一次サンプルを付すことによって得られた核酸若しくはタンパク質を含み得る。一部の実施形態では、サンプルは、生物である。一部の実施形態では、サンプルは、植物である。一部の実施形態では、サンプルは、動物である。一部の実施形態では、サンプルは、ヒトである。一部の実施形態では、サンプルは、ヒト以外の生物である。

10

20

【0062】

被験者：本明細書で使用される場合、「被験者」又は「被験対象」という用語は、例えば、実験、診断、予防及び／又は治療目的のために、提供される化合物又は組成物が本開示に従って投与される任意の生物を指す。典型的な被験者としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類及びヒトなどの哺乳類；昆虫；蠕虫；その他など）並びに植物が挙げられる。一部の実施形態では、被験者は、疾患、障害及び／若しくは状態に罹患し得、且つ／又はそれに対して感受性であり得る。

【0063】

実質的に：本明細書で使用される場合、「実質的に」という用語は、対象となる特徴又は特性の全て若しくはほとんど全ての範囲又は程度を示す定性条件を指す。第2の配列と実質的に相補的な塩基配列は、第2の配列と同一ではないが、第2の配列と大部分が又はほとんど同一である。加えて、生物学分野の当業者であれば、生物学的現象及び化学的現象が、あったとしても、めったに完結に到達しないこと及び／若しくは完了まで進行しないこと又は絶対的帰結を達成若しくは回避しないことを理解するであろう。従って、「実質的」という用語は、多くの生物学的現象及び／又は化学的現象に本来備わる完全性の潜在的欠如を捉えるために、本明細書で使用される。

30

【0064】

に罹患している：疾患、障害及び／又は状態に「罹患している」個体は、疾患、障害及び／又は状態の1つ以上の症状を有すると診断され、且つ／又は示している。

40

【0065】

感受性である：疾患、障害及び／又は状態に対して「感受性である」個体は、一般の人々よりも、その疾患、障害及び／又は状態を発生するリスクが高い個体である。一部の実施形態では、疾患、障害及び／又は状態に対して感受性の個体は、疾患、障害及び／又は状態に罹患しやすい傾向がある。一部の実施形態では、疾患、障害及び／又は状態に対して感受性の個体は、その疾患、障害及び／又は状態を有すると診断されていない場合もある。一部の実施形態では、疾患、障害及び／又は状態に対して感受性の個体は、その疾患、障害及び／又は状態の症状を示す場合もある。一部の実施形態では、疾患、障害及び／又は状態に対して感受性の個体は、その疾患、障害及び／又は状態の症状を示さない場合

50

もある。一部の実施形態では、疾患、障害及び／又は状態に対して感受性の個体は、その疾患、障害及び／又は状態を発生する。一部の実施形態では、疾患、障害及び／又は状態に対して感受性の個体は、その疾患、障害及び／又は状態を発生しない場合もある。

【0066】

全身：「全身投与」、「全身投与される」、「末梢投与」及び「末梢投与される」という語句は、本明細書で使用される場合、レシピエントの全身に入るように化合物又は組成物を投与することを指す、当技術分野で理解されている意味を有する。

【0067】

治療薬：本明細書で使用される場合、「治療薬」という語句は、被験者に投与されると、治療効果を有し、且つ／又は所望の生物学的作用及び／若しくは薬理学的作用を誘発する任意の薬剤を指す。一部の実施形態では、治療薬は、疾患、障害及び／又は状態の1つ以上の症状若しくは特徴を緩和、改善、軽減、阻害、予防する、その発症を遅延させる、その重症度を低下させる、且つ／又はその発生率を低下させるために用いることができる任意の物質である。

10

【0068】

治療有効量：本明細書で使用される場合、「治療有効量」という語は、治療レジメンの一環として投与されると、所望の生物学的応答を誘発する物質（例えば、治療薬、組成物及び／又は製剤）の量を意味する。一部の実施形態では、物質の治療有効量は、疾患、障害及び／若しくは状態に罹患するか又はそれに対して感受性である被験者に投与されるとき、その疾患、障害及び／若しくは状態を治療、診断、予防する、且つ／又はその発症を遅延させる上で十分な量である。当業者によって理解されるように、物質の有効量は、所望の生物学的エンドポイント、送達される物質、標的細胞又は組織などといった要因に応じて変動し得る。例えば、疾患、障害及び／又は状態を治療するための製剤中の化合物の有効量は、その疾患、障害及び／又は状態の1つ若しくは複数の症状又は特徴を、緩和、改善、軽減、阻害、予防する、その発症を遅延させる、その重症度を低下させる、且つ／又はその発生率を低下させる量である。一部の実施形態では、治療有効量は、単回用量で投与され；一部の実施形態では、複数の単位用量が、治療有効量を送達するために必要である。

20

【0069】

治療する：本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療」又は「治療すること」という用語は、疾患、障害及び／又は状態の1つ若しくは複数の症状又は特徴を、部分的に若しくは完全に、緩和、改善、軽減、阻害、予防する、その発症を遅延させる、その重症度を低下させる、且つ／又はその発生率を低下させるために使用される任意の方法を指す。治療は、疾患、障害及び／又は状態の兆候を示さない被験者に対して行い得る。一部の実施形態では、例えば、疾患、障害及び／又は状態に関連した病態を発生するリスクを低減する目的で、その疾患、障害及び／又は状態の初期兆候のみを示す被験者に治療を行い得る。

30

【0070】

不飽和：本明細書で使用される場合、「不飽和」という用語は、一部分が、1つ又は複数の不飽和単位を有することを意味する。

40

【0071】

単位用量：「単位用量」という表現は、本明細書で使用される場合、医薬組成物の単回投与として投与され、且つ／又は物理的に別個の単位で投与される量を指す。多くの実施形態では、単位用量は、所定量の活性剤を含む。一部の実施形態では、単位用量は、薬剤の単回投与全体を含む。一部の実施形態では、2以上の単位用量が、全単回投与を達成するために投与される。一部の実施形態では、意図される効果を達成するために、複数の単位用量の投与が必要であるか又は必要であると予想される。単位用量は、例えば、所定量の1つ又は複数の治療薬、所定量の固形の1つ又は複数の治療薬を含有する液体（例えば、許容可能な担体）の体積であり得、所定量の1つ又は複数の治療薬を含有する徐放製剤若しくは薬剤送達デバイスであり得る。単位用量が、治療薬に加えて各種成分の何れかを

50

含む製剤中に存在し得ることは理解されよう。例えば、許容可能な担体（例えば、薬学的に許容される担体）、希釈剤、安定剤、緩衝剤、防腐剤などが、後述するように含有され得る。当業者であれば、多くの実施形態において、特定の治療薬の適切な1日総投与量が、一部の単位用量又は複数の単位用量を含み得ること、これが、信頼できる医学的判断の範囲内で担当医により決定され得ることは理解されよう。一部の実施形態では、何れか特定の被験者又は生物に対する具体的な有効用量レベルは、治療対象である障害及び障害の重症度、使用される具体的活性化合物の活性；使用される具体的組成物；被験者の年齢、体重、健康状態、性別及び食事；使用される具体的な活性化合物の投与時間及びその排泄率；治療期間；使用される具体的な化合物と組み合わせ若しくは同時に用いられる薬物及び／又は追加療法並びに医学分野で公知の類似要因を含め、様々な要因に応じて変動し得る。

10

【0072】

野生型：本明細書で使用される場合、「野生型」という用語は、（突然変異型、疾患性、改変型などとは対照的に）「正常な」状態又は状況において、自然界に存在する構造及び／又は活性を有する実体を表す、当技術分野で理解される意味を有する。当業者であれば、野生型遺伝子及びポリペプチドが、往々にして、複数の異なる形態（例えば、対立遺伝子）で存在することは、理解されよう。

【0073】

核酸：本明細書で使用される場合、「核酸」という用語は、任意のヌクレオチド及びそのポリマーを含む。本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチド（RNA）又はデオキシリボヌクレオチド（DNA）を含む、任意の長さのヌクレオチドの多量体型を指す。これらの用語は、その分子の一次構造を指しており、従って、二本鎖及び一本鎖DNA並びに二本鎖及び一本鎖RNAを含む。これらの用語は、同等物として、限定されないが、メチル化、保護及び／若しくはキャップヌクレオチド又はポリヌクレオチドなどの修飾ヌクレオチド及び／又は修飾ポリヌクレオチドから作製されるRNA又はDNA何れかの類似体を含む。これらの用語は、ポリリボヌクレオチド又はオリゴリボヌクレオチド（RNA）並びにポリデオキシリボヌクレオチド又はオリゴデオキシリボヌクレオチド（DNA）；核酸塩基及び／若しくは修飾核酸塩基のN-グリコシド又はC-グリコシドから誘導されたRNA又はDNA；糖及び／又は修飾糖から誘導された核酸；並びにリン酸架橋及び／又は修飾リンヌクレオチド間結合から誘導された核酸を包含する。この用語は、核酸塩基、修飾核酸塩基、糖、修飾糖、リン酸架橋又は修飾ヌクレオチド間結合の何れかの組み合わせを含む核酸を包含する。例として、限定はされないが、リボース部分を含む核酸、デオキシリボース部分を含む核酸、リボース部分とデオキシリボース部分の両方を含む核酸、リボース部分と修飾リボース部分を含む核酸が挙げられる。別に記載のない限り、接頭語のポリ-は、2～約10,000のヌクレオチドモノマー単位を含む核酸を指し、接頭語のオリゴ-は、2～約200のヌクレオチドモノマー単位を含む核酸を指す。

20

30

【0074】

ヌクレオチド：「ヌクレオチド」という用語は、本明細書で使用される場合、核酸塩基、糖及び1つ又は複数のヌクレオチド間結合から構成されるポリヌクレオチドのモノマー単位を指す。天然の塩基（グアニン（G）、アデニン（A）、シトシン（C）、チミン（T）及びウラシル（U））は、プリン又はピリミジンの誘導体であるが、天然及び非天然の塩基類似体も含まれると理解すべきである。天然糖は、ペントース（五炭糖）のデオキシリボース（DNAを形成する）又はリボース（RNAを形成する）であるが、天然及び非天然の糖類似体も含まれると理解すべきである。ヌクレオチドは、ヌクレオチド間結合を介して連結されて、核酸又はポリヌクレオチドを形成する。多くのヌクレオチド間結合が当技術分野において公知である（限定はされないが、例えば、リン酸塩、ホスホロチオエート、ボラノリン酸塩など）。人工核酸としては、PNA（ペプチド核酸）、ホスホトリエステル、ホスホロチオナート、H-ホスホン酸塩、ホスホロアミデート、ボラノリン酸塩、メチルホスホン酸塩、ホスホノ酢酸塩、チオホスホノ酢酸塩及び本明細書に記載さ

40

50

れるものなど、ネイティブ核酸のリン酸骨格の他の変異体が挙げられる。一部の実施形態では、天然のヌクレオチドは、天然に存在する塩基、糖及びヌクレオチド間結合を含む。本明細書に記載される通り、一部の実施形態では、「ヌクレオチド」という用語は、修飾ヌクレオチド及びヌクレオチド類似体のように、天然の又は天然に存在するヌクレオチドの代わりに用いられる構造類似体も包含する。

【0075】

修飾ヌクレオチド：「修飾ヌクレオチド」という用語は、天然のヌクレオチドとは構造的に異なるが、天然ヌクレオチドの少なくとも1つの機能を実施することができる任意の化学部分を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、糖、塩基及び／又はヌクレオチド間結合における修飾を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、修飾糖、修飾核酸塩基及び／又は修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、ヌクレオチドの少なくとも1つの機能、例えばポリマー中において、少なくとも相補的な塩基配列を含む核酸と塩基対合することができるサブユニットを形成することができる。

10

【0076】

類似体：「類似体」という用語は、参照化学部分又は参照クラスの化学部分とは構造的に異なるが、そうした参照化学部分又は参照クラスの化学部分の少なくとも1つの機能を実施することができる任意の化学部分を含む。非限定的な例として、ヌクレオチド類似体は、ヌクレオチドと構造的に異なるが、ヌクレオチドの少なくとも1つの機能を実施し；核酸塩基類似体は、核酸塩基と構造的に異なるが、核酸塩基の少なくとも1つの機能を実施する、などである。

20

【0077】

ヌクレオシド：「ヌクレオシド」という用語は、核酸塩基又は修飾核酸塩基が、糖又は修飾糖に共有結合される部分を指す。

【0078】

修飾ヌクレオシド：「修飾ヌクレオシド」という用語は、天然ヌクレオシドに由来するか又は天然ヌクレオチドと化学的に類似するが、天然ヌクレオシドからそれを識別させる化学修飾を含む、部分を指す。修飾ヌクレオシドの非限定的な例として、塩基及び／又は糖の修飾を含むものがある。修飾ヌクレオシドの非限定的な例として、糖に2'修飾を有するものがある。更に、修飾ヌクレオシドの非限定的な例として、脱塩基ヌクレオシド（核酸塩基が欠失している）がある。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、ヌクレオシドの少なくとも1つの機能が可能であり、例えばポリマー中において、少なくとも相補的な塩基配列を含む核酸と塩基対合することができる部分を形成することができる。

30

【0079】

ヌクレオシド類似体：「ヌクレオシド類似体」という用語は、天然ヌクレオシドとは化学的に異なるが、ヌクレオシドの少なくとも1つの機能を実施することができる化学部分を指す。一部の実施形態では、ヌクレオシド類似体は、糖の類似体及び／又は核酸塩基の類似体を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、ヌクレオシドの少なくとも1つの機能、例えばポリマー中において、相補的な塩基配列を含む核酸と塩基対合することができる部分を形成することができる。

40

【0080】

糖：「糖」という用語は、閉状態及び／又は開状態の単糖又は多糖を指す。一部の実施形態では、糖は、単糖である。一部の実施形態では、糖は、多糖である。糖としては、限定はされないが、リボース、デオキシリボース、ペントフラノース、ペントピラノース及びヘキソピラノース部分が挙げられる。本明細書で使用される場合、「糖」という用語は、例えば、グリコールのように、従来の糖分子に代わり使用される構造類似体も包含し、そのポリマーは、核酸類似体のグリコール核酸（GNA）などの骨格を形成する。本明細書で使用される場合、「糖」という用語は、天然又は天然に存在するヌクレオチドの代わりに用いられる構成類似体、例えば修飾糖及びヌクレオチド糖も含む。

【0081】

50

修飾糖：「修飾糖」という用語は、糖を置換することができる部分を指す。修飾糖は、空間配置、電子的性質又は糖の何れか他の物理化学的特性を模倣する。

【0082】

核酸塩基：「核酸塩基」という用語は、配列特異的な様式で1つの核酸鎖を別の相補的な鎖に結合する水素結合に関与する核酸の部分指す。最も一般的な天然核酸塩基は、アデニン（A）、グアニン（G）、ウラシル（U）、シトシン（C）及びチミン（T）である。一部の実施形態では、天然核酸塩基は、修飾されたアデニン、グアニン、ウラシル、シトシン又はチミンである。一部の実施形態では、天然核酸塩基は、メチル化されたアデニン、グアニン、ウラシル、シトシン又はチミンである。一部の実施形態では、核酸塩基は、「修飾核酸塩基」、例えばアデニン（A）、グアニン（G）、ウラシル（U）、シトシン（C）及びチミン（T）以外の核酸塩基である。一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、メチル化されたアデニン、グアニン、ウラシル、シトシン又はチミンである。一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、空間配置、電子的性質又は核酸塩基の何れか他の物理化学的特性を模倣し、配列特異的な様式で、1つの核酸鎖を別の核酸鎖に結合する水素結合の特性を保持する。一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、融解挙動、細胞内酵素による認識又はオリゴヌクレオチド二重らせん鎖の活性に実質的に影響を及ぼすことなく、5種の全ての天然塩基（ウラシル、チミン、アデニン、シトシン又はグアニン）と対合することができる。本明細書で使用される場合、「核酸塩基」という用語は、天然又は天然に存在するヌクレオチドの代わりに用いられる構成類似体、例えば修飾核酸塩基及び核酸塩基類似体も含む。

10

20

【0083】

修飾核酸塩基：「修飾核酸塩基」、「修飾塩基」などといった用語は、核酸塩基と化学的に異なるが、核酸塩基の少なくとも1つの機能を実施することができる化学部分を指す。一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾を含む核酸塩基である。一部の実施形態では、修飾核酸塩基は、核酸塩基の少なくとも1つの機能が可能であり、例えばポリマー中において、少なくとも相補的な塩基配列を含む核酸と塩基対合することができる部分を形成することができる。

【0084】

ブロック基：「ブロック基」という用語は、官能基の反応性をマスキングする基を指す。後に、ブロック基の除去により官能基をアンマスキングし得る。一部の実施形態では、ブロック基は、保護基である。

30

【0085】

部分：「部分」という用語は、分子の官能基の特定のセグメントを指す。化学的部分は、分子中に埋め込まれるか又は分子に付加された、一般に認識されている化学的実体である。

【0086】

固体支持体：「固体支持体」という用語は、核酸の合成を可能にする任意の支持体を指す。一部の実施形態では、この用語は、ガラス又はポリマーを指し、それは、核酸を合成するために実施される反応ステップで使用される培地中で不溶性であり、誘導体化されて反応基を含有する。一部の実施形態では、固体支持体は、高度架橋ポリスチレン（HCP）又は制御ポアガラス（CPG）である。一部の実施形態では、固体支持体は、制御ポアガラス（CPG）である。一部の実施形態では、固体支持体は、制御ポアガラス（CPG）と高度架橋ポリスチレン（HCP）のハイブリッド支持体である。

40

【0087】

相同性：「相同性」又は「同一性」又は「類似性」は、2つの核酸分子間の配列類似性を指す。相同性及び同一性は各々、比較の目的でアラインメントすることができる各配列中の位置の比較により決定され得る。比較される配列の同等位置が、同じ塩基により占有されるとき、その分子はその位置で同一であり；同等部位が、同一又は類似（例えば、立体的及び／又は電子的性質において類似）の核酸残基により占有されるとき、その分子はその位置で相同（類似）と呼称され得る。相同性／類似性又は同一性のパーセンテージと

50

しての表現は、比較配列により共有される位置での、同一又は類似の核酸の数の関数を指す。「非関連」又は「非相同性」配列は、本明細書に記載される配列と、40%未満の同一性、35%未満の同一性、30%未満の同一性又は25%未満の同一性を共有する。2つの配列を比較する際、残基（アミノ酸又は核酸）の非存在又は余剰な残基の存在も、同一性及び相同性／類似性を低減する。

【0088】

一部の実施形態では、「相同性」という用語は、数学に基づいた配列類似性の比較を表すものであり、類似の機能又はモチーフを有する遺伝子を特定するために使用される。本明細書に記載される核酸配列を「クエリ配列」として使用して、公開データベースに対する検索を実行することにより、例えば他のファミリーのメンバー、関連配列又は相同体を特定することができる。一部の実施形態では、こうした検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10のNBLAST及びXBLASTプログラム（バージョン2.0）を使用して実施することができる。一部の実施形態では、BLASTヌクレオチド検索を、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12で実行して、本開示の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を取得することができる。一部の実施形態では、比較目的でギャップ化アライメントを取得するために、Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402に記載されるように、ギャップ化BLASTを使用し得る。BLAST及びギャップ化BLASTプログラムを使用する場合、それぞれのプログラム（例えば、XBLAST及びBLAST）のデフォルトパラメータを用いることができる（www.ncbi.nlm.nih.govを参照されたい）。

【0089】

同一性：本明細書で使用されるとき、「同一性」は、2つ以上の配列を最大限の配列マッチとなるように、即ちギャップ及び挿入を考慮に入れてアラインメントしたとき、それらの配列の対応する位置において同一であるヌクレオチド残基のパーセンテージを意味する。同一性は、限定はされないが、国際公開第2017/192679号パンフレットに引用されるものを含め、限定はされないが、当技術分野において公知のものを含め、公知の方法によって容易に計算することができる。

【0090】

オリゴヌクレオチド：「オリゴヌクレオチド」という用語は、ヌクレオチドのポリマー又はオリゴマーを指し、これは、天然及び非天然の核酸塩基、糖及びヌクレオチド間結合の任意の組み合わせを含み得る。

【0091】

オリゴヌクレオチドは、一本鎖又は二本鎖であり得る。一本鎖オリゴヌクレオチドは、二本鎖領域（一本鎖オリゴヌクレオチドの2つの部分により形成される）を有し得、2つのオリゴヌクレオチド鎖を含む二本鎖オリゴヌクレオチドは、例えば、2つのオリゴヌクレオチド鎖が互いに相補的ではない領域に、一本鎖領域を有し得る。オリゴヌクレオチドの例として、限定はされないが、構造遺伝子、制御領域及び終結領域を含む遺伝子、例えばウィルスDNA又はプラスミドDNAなどの自己複製系、一本鎖及び二本鎖RNA i剤並びに他のRNA干渉試薬（RNA i剤又はiRNA剤）、shRNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、マイクロRNA、マイクロRNA模倣体、スーパーミア（supermir）、アプタマー、アンチミア（antimirs）、アンタゴミア（antagomir）、U1アダプター、三重鎖形成性オリゴヌクレオチド、G-四重鎖オリゴヌクレオチド、RNAアクチベータ、免疫賦活性オリゴヌクレオチド及びデコイオリゴヌクレオチドが挙げられる。

【0092】

ヌクレオチド間結合：本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド間結合」という語句は、概して、オリゴヌクレオチド又は核酸のヌクレオチド単位を連結する結合を指す。一部の実施形態では、ヌクレオチド間結合は、天然DNA分子及び天然RNA分子中に存在するようなホスホジエステル結合（天然リン酸結合）である。一部の実施形態では、ヌク

レオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、ヌクレオチド間結合は、「修飾ヌクレオチド間結合」であり、この場合、ホスホジエステル結合の各酸素原子は、任意選択で、且つ独立に、有機又は無機部分により置換されている。一部の実施形態では、こうした有機又は無機部分は、限定されないが、 $=S$ 、 $=Se$ 、 $=NR'$ 、 $-SR'$ 、 $-SeR'$ 、 $-N(R')_2$ 、 $B(R')_3$ 、 $-S-$ 、 $-Se-$ 及び $N(R')$ から選択され、式中、各 R' は、独立して、本開示に定義され、記載される通りである。一部の実施形態では、ヌクレオチド間結合は、ホスホトリエステル結合、ホスホロチオエートジエステル結合



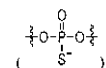
、又は修飾ホスホロチオエートトリエステル結合である。一部の実施形態では、ヌクレオチド間結合は、例えば、PNA（ペプチド核酸）又はPMO（ホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー）結合の1つである。当業者であれば、ヌクレオチド間結合が、結合中の酸性又は塩基性部分の存在によって、所与のpHでアニオン又はカチオンとして存在し得ることを理解されよう。

【0093】

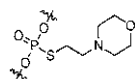
修飾ヌクレオチド間結合の非限定的な例は、国際公開第2017/210647に記載される通り、s、s1、s2、s3、s4、s5、s6、s7、s8、s9、s10、s11、s12、s13、s14、s15、s16、s17及びs18と称される修飾ヌクレオチド間結合である。

【0094】

例えば、 $(Rp, Sp) - ATsCs1GA$ は、1) TとCの間のホスホロチオエートヌクレオチド間結合



；及び2) CとGの間の



の構造を有するホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド間結合を有する。別に指定されない限り、オリゴヌクレオチド配列の前に置かれるRp/Spという記号表示は、そのヌクレオチド間結合中のキラル結合リン原子の配座を、オリゴヌクレオチド配列の5'から3'の方向で順に記載するものである。例えば、 $(Rp, Sp) - ATsCs1GA$ の場合、TとCの間の「s」結合のリンは、Rpの配座を有し、CとGの間の「s1」結合のリンは、Spの配座を有する。一部の実施形態では、「全(A11) - (Rp)」又は「全(A11) - (Sp)」は、オリゴヌクレオチドの全てのキラル結合リン原子が、それぞれ、同じRp又はSpの配座を有することを示すために使用される。

【0095】

オリゴヌクレオチドタイプ：本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチドタイプ」という語句は、特定の塩基配列、骨格結合のパターン（即ちヌクレオチド間結合タイプのパターン、例えばリン酸、ホスホロチオエートなど）、骨格キラル中心のパターン（即ち結合リン立体化学のパターン(Rp/Sp)）及び骨格リン修飾のパターン（例えば、式Iの「 $-XLR^1$ 」基のパターン）を有するオリゴヌクレオチドを定義するために使用される。一部の実施形態では、共通して「タイプ」と称されるオリゴヌクレオチドは、互いに構造的に同一である。

【0096】

当技術分野の当業者であれば、本開示の合成方法が、オリゴヌクレオチド鎖合成を行う間に、ある程度の制御をもたらし、それによってそのオリゴヌクレオチド鎖の各ヌクレオチド単位が、結合リンで特定の立体化学及び／若しくは結合リンで特定の修飾、並びに／又は特定の塩基、並びに／又は特定の糖を有するように、事前に設計可能、且つ／又は選

10

20

30

40

50

択可能であることを理解されるであろう。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖は、結合リンで特定の組み合わせの立体中心を有するように、事前に設計及び／又は選択される。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖は、結合リンで特定の組み合わせの修飾を有するように、設計及び／又は決定される。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖は、特定の組み合わせの塩基を有するように、設計及び／又は選択される。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖は、上述の構造特性のうちの1つ若しくは複数の特定の組み合わせを有するように、設計及び／又は選択される。一部の実施形態では、本開示は、複数のオリゴヌクレオチド分子を含有するか又はそれらから構成される組成物（例えば、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物）を提供する。一部の実施形態では、こうした分子の全てが同じタイプの分子である（即ち互いに構造的に同一である）。多くの実施形態では、提供される組成物は、異なるタイプの複数のオリゴヌクレオチドを、典型的には予め決定された相対量で含有する。

10

【0097】

キラル制御：本明細書で使用される場合、「キラル制御」とは、オリゴヌクレオチド内のキラルヌクレオチド間結合中の、キラル結合リンの立体化学的指定の制御を指す。一部の実施形態では、制御は、オリゴヌクレオチドの糖部分及び塩基部分から非存在のキラル要素を介して達成され、例えば一部の実施形態では、制御は、本開示において例示されるように、オリゴヌクレオチド調製工程中に1つ以上のキラル補助基を介して達成され、このキラル補助剤は、多くの場合、オリゴヌクレオチド調製工程で用いられるキラルホスホロアミダイトの一部である。キラル制御とは対照的に、当業者は、キラル補助剤を使用しない従来のオリゴヌクレオチド合成は、こうした従来のオリゴヌクレオチド合成を用いてキラルヌクレオチド間結合を形成する場合、キラルヌクレオチド間結合での立体化学を制御することができないことを理解されよう。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド内のキラルヌクレオチド間結合中の各キラル結合リンの立体化学指定が制御される。

20

【0098】

キラル制御（された）オリゴヌクレオチド組成物：「キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物」、「キラル制御された核酸組成物」などの用語は、本明細書で使用される場合、1) 共通の塩基配列、2) 骨格結合の共通パターン、及び3) 骨格リン修飾の共通パターンを有する複数のオリゴヌクレオチド（又は核酸）を含む組成物を指し、この場合、上記複数のオリゴヌクレオチド（又は核酸）は、1つ若しくは複数のキラルヌクレオチド間結合で同じ立体化学を有する（キラル制御されたヌクレオチド間結合、そのキラル結合リンは、組成物中R_p又はS_pであり、非キラル制御ヌクレオチド間結合のようにランダムR_p及びS_pではない）。キラル制御オリゴヌクレオチド組成物中の複数のオリゴヌクレオチド（又は核酸）のレベルは、予め決定／制御されている（例えば、キラル制御オリゴヌクレオチド製剤を介して、1つ又は複数のキラルヌクレオチド間結合を立体選択的に形成する）。一部の実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物中の全オリゴヌクレオチドの約1%～100%（例えば、約5%～100%、10%～100%、20%～100%、30%～100%、40%～100%、50%～100%、60%～100%、70%～100%、80%～100%、90%～100%、95%～100%、50%～90%又は約5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%又は少なくとも5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%若しくは99%）が、上記複数のオリゴヌクレオチドである。一部の実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物中の共通の塩基配列、骨格結合の共通パターン及び骨格リン修飾の共通パターンを有する全オリゴヌクレオチドの約1%～100%（例えば、約5%～100%、10%～100%、20%～100%、30%～100%、40%～100%、50%～100%、60%～100%、70%～100%、80%～100%、90%～100%、95%～100%、50%～90%又は約5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%

30

40

50

、 9 1 %、 9 2 %、 9 3 %、 9 4 %、 9 5 %、 9 6 %、 9 7 %、 9 8 % 若しくは 9 9 % 又は少なくとも 5 %、 1 0 %、 2 0 %、 3 0 %、 4 0 %、 5 0 %、 6 0 %、 7 0 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 1 %、 9 2 %、 9 3 %、 9 4 %、 9 5 %、 9 6 %、 9 7 %、 9 8 % 若しくは 9 9 %) が、 上記複数のオリゴヌクレオチドである。 一部の実施形態では、 所定のレベルは、 組成物中の全オリゴヌクレオチド又は組成物中、 共有塩基配列（例えば、 複数のオリゴヌクレオチド若しくはオリゴヌクレオチドタイプの）を有する全オリゴヌクレオチドの、 又は組成物中、 複数のオリゴヌクレオチドの共通の塩基配列、 骨格結合の共通パターン及び骨格リン修飾の共通パターンを有する全オリゴヌクレオチドの、 又は組成物中、 共通の塩基配列、 塩基修飾の共通パターン、 糖修飾の共通パターン、 ヌクレオチド間結合タイプの共通パターン及び／若しくはヌクレオチド間結合修飾の共通パターンを有する全オリゴヌクレオチドの約 1 %～1 0 0 %（例えば、 約 5 %～1 0 0 %、 1 0 %～1 0 0 %、 2 0 %～1 0 0 %、 3 0 %～1 0 0 %、 4 0 %～1 0 0 %、 5 0 %～1 0 0 %、 6 0 %～1 0 0 %、 7 0 %～1 0 0 %、 8 0 %～1 0 0 %、 9 0 %～1 0 0 %、 9 5 %～1 0 0 %、 5 0 %～9 0 % 又は約 5 %、 1 0 %、 2 0 %、 3 0 %、 4 0 %、 5 0 %、 6 0 %、 7 0 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 1 %、 9 2 %、 9 3 %、 9 4 %、 9 5 %、 9 6 %、 9 7 %、 9 8 % 若しくは 9 9 % 又は少なくとも 5 %、 1 0 %、 2 0 %、 3 0 %、 4 0 %、 5 0 %、 6 0 %、 7 0 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 1 %、 9 2 %、 9 3 %、 9 4 %、 9 5 %、 9 6 %、 9 7 %、 9 8 % 若しくは 9 9 %) である。 一部の実施形態では、 複数のオリゴヌクレオチドは、 約 1～5 0（例えば、 約 1～1 0、 1～2 0、 5～1 0、 5～2 0、 1 0～1 5、 1 0～2 0、 1 0～2 5、 1 0～3 0 又は約 1、 2、 3、 4、 5、 6、 7、 8、 9、 1 0、 1 1、 1 2、 1 3、 1 4、 1 5、 1 6、 1 7、 1 8、 1 9 若しくは 2 0 又は少なくとも 1、 2、 3、 4、 5、 6、 7、 8、 9、 1 0、 1 1、 1 2、 1 3、 1 4、 1 5、 1 6、 1 7、 1 8、 1 9 若しくは 2 0）のキラルヌクレオチド間結合で、 同じ立体化学を有する。 一部の実施形態では、 複数のオリゴヌクレオチドは、 キラルヌクレオチド間結合の約 1 %～1 0 0 %（例えば、 約 5 %～1 0 0 %、 1 0 %～1 0 0 %、 2 0 %～1 0 0 %、 3 0 %～1 0 0 %、 4 0 %～1 0 0 %、 5 0 %～1 0 0 %、 6 0 %～1 0 0 %、 7 0 %～1 0 0 %、 8 0 %～1 0 0 %、 9 0 %～1 0 0 %、 9 5 %～1 0 0 %、 5 0 %～9 0 % 又は約 5 %、 1 0 %、 1 5 %、 2 0 %、 2 5 %、 3 0 %、 3 5 %、 4 0 %、 4 5 %、 5 0 %、 5 5 %、 6 0 %、 6 5 %、 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 % 若しくは 1 0 0 % 又は少なくとも 5 %、 1 0 %、 1 5 %、 2 0 %、 2 5 %、 3 0 %、 3 5 %、 4 0 %、 4 5 %、 5 0 %、 5 5 %、 6 0 %、 6 5 %、 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 % 若しくは 9 9 %) で、 同じ立体化学を有する。 一部の実施形態では、 各キラルヌクレオチド間結合は、 キラル制御されたヌクレオチド間結合であり、 組成物は、 完全にキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物である。 一部の実施形態では、 キラルヌクレオチド間結合の全てがキラル制御されたヌクレオチド間結合であるのではなく、 組成物は、 部分的にキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物である。 一部の実施形態では、 キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、 非ランダム若しくは制御レベルの個別のオリゴヌクレオチドタイプ又は核酸タイプを含む。 例えば、 一部の実施形態では、 キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、 1 つのオリゴヌクレオチドタイプを含む。 一部の実施形態では、 キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、 2 種以上のオリゴヌクレオチドタイプを含む。 一部の実施形態では、 キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、 複数のオリゴヌクレオチドタイプを含む。 一部の実施形態では、 キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、 オリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドからなる組成物であり、 この組成物は、 そのオリゴヌクレオチドタイプの非ランダム若しくは制御レベルの複数のオリゴヌクレオチドを含む。

10

20

30

40

【0099】

キラル的に純粋：本明細書で使用される場合、「キラル的に純粋」という語句は、 その中の全て又はほぼ全て（残りは不純物）のオリゴヌクレオチド分子が、 結合リン原子に関して単一のジアステレオマータイプで存在する、 オリゴヌクレオチド又はその組成物を表すために使用される。

50

【0100】

所定（の）：所定の（又は予め決定された）とは、例えば、ランダムに発生するか、ランダムであるか、又は制御なしに達成されるのとは反対に、意図的に選択されるか、又は非ランダムであるか、又は制御されることが意味される。当業者であれば、本明細書を読むことで、本開示が、オリゴヌクレオチド組成物に組み込まれる特定の化学及び／又は立体化学の特徴の選択を可能にし、更に、そのような化学及び／又は立体化学の特徴を有するオリゴヌクレオチド組成物の調製制御も可能にする技術を提供することを理解されよう。提供されるこうした組成物は、本明細書に記載される通り「所定」である。何らかのオリゴヌクレオチドを含有し得る組成物は、特定の化学及び／又は立体化学特徴を意図的に生成するように制御されていないプロセスによって偶然生成された組成物であることから、これは「所定の」組成物ではない。一部の実施形態では、所定の組成物は、（例えば、制御されたプロセスの反復により）意図的に再現することができる組成物である。一部の実施形態では、組成物中の複数のオリゴヌクレオチドの所定レベルとは、組成物中の複数のオリゴヌクレオチドの絶対量及び／又は相対量（比、パーセンテージなど）が制御されていることを意味する。一部の実施形態では、組成物中の上記複数のオリゴヌクレオチドの所定レベルは、キラル制御オリゴヌクレオチドの調製によって達成される。

10

【0101】

結合リン：本明細書において定義されるように、「結合リン」という語句は、関連する特定のリン原子が、ヌクレオチド間結合中に存在するリン原子であり、そのリン原子は、天然のDNA及びRNA中に存在するホスホジエステルヌクレオチド間結合のリン酸原子に相当することを示すために使用される。一部の実施形態では、結合リン原子は、修飾ヌクレオチド間結合中にあり、この場合、ホスホジエステル結合の各酸素原子は、任意選択で、且つ独立に、有機部分又は無機部分により置換される。一部の実施形態では、結合リン原子は、式IのPである。一部の実施形態では、結合リン原子は、キラルである。一部の実施形態では、結合リン原子は、アキラルである。

20

【0102】

P-修飾：本明細書で使用される場合、「P-修飾」という用語は、立体化学的修飾以外の結合リンでの任意の修飾を指す。一部の実施形態では、P-修飾は、結合リンに共有結合したペンダント部分の付加、置換又は除去を含む。一部の実施形態では、「P-修飾」は、 $-X-L-R^1$ であり、式中、X、L及び R^1 の各々は、独立に、本開示に定義され、記載される通りである。

30

【0103】

ブロックマー：「ブロックマー」という用語は、本明細書で使用される場合、その各々個別のヌクレオチド単位を特徴付ける構造特徴のパターンが、そのヌクレオチド間リン結合で共通の構造特徴を有する少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位の存在を特徴とするオリゴヌクレオチド鎖を指す。共通の構造特徴とは、結合リンでの共通立体化学又は結合リンでの共通修飾を意味する。一部の実施形態では、ヌクレオチド間リン結合で共通の構造特徴を有する少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、「ブロック」と呼ばれる。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ブロックマーである。

40

【0104】

一部の実施形態では、ブロックマーは、「ステレオブロックマー」であり、例えば、少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、結合リンで同じ立体化学を有する。このような少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、「ステレオブロック」を形成する。

【0105】

一部の実施形態では、ブロックマーは、「P-修飾ブロックマー」であり、例えば、少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、結合リンで同じ修飾を有する。このような少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、「P-修飾ブロック」を形成する。例えば、 $(Rp, Sp)-ATSCGA$ は、少なくとも2つの連続ヌクレオチド単位、即ちTsとCsが、同じP-修飾を有している（即ち両方ともホスホロチオエートジエステルである）ことから、P-修飾ブロックマーである。同じオリゴヌクレオチドの(Rp, S

50

p) -ATsCsGAにおいて、TsCsはブロックを形成し、これは、P-修飾ブロックである。

【0106】

一部の実施形態では、ブロックマーは、「結合ブロックマー」であり、例えば、少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、結合リンで同一の立体化学及び同一の修飾を有する。少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位は、「結合ブロック」を形成する。例えば、(Rp, Rp) -ATsCsGAは、少なくとも2つの連続したヌクレオチド単位、即ちTsとCsが、同じ立体化学(両方ともRp)とP-修飾(両方ともホスホロチオエート)を有していることから、結合ブロックマーである。同じオリゴヌクレオチドの(Rp, Rp) -ATsCsGAにおいて、TsCsはブロックを形成し、これは、結合ブロックである。

10

【0107】

一部の実施形態では、ブロックマーは、ステレオブロック、P-修飾ブロック及び結合ブロックから独立に選択される1つ又は複数のブロックを含む。一部の実施形態では、ブロックマーは、1つのブロックに関してステレオブロックマーであり、且つ/又は別のブロックに関してP-修飾ブロックマーであり、且つ/又は更に別のブロックに関して結合ブロックマーである。

【0108】

アルトマー:「アルトマー」という用語は、本明細書で使用される場合、その各々個別のヌクレオチド単位を特徴付ける構造特徴のパターンが、オリゴヌクレオチド鎖の2つの連続したヌクレオチド単位が、ヌクレオチド間リン結合で特定の構造的特徴を共有しないことを特徴とするオリゴヌクレオチド鎖を指す。一部の実施形態では、アルトマーは、反復パターンを含むように設計される。一部の実施形態では、アルトマーは、反復パターンを含まないように設計される。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、アルトマーである。

20

【0109】

一部の実施形態では、アルトマーは、「ステレオアルトマー」であり、例えば結合リンで同じ立体化学を有する2つの連続したヌクレオチド単位はない。

【0110】

一部の実施形態では、アルトマーは、「P-修飾アルトマー」であり、例えば結合リンで同じ修飾を有する2つの連続したヌクレオチド単位はない。例えば、各結合リンが、他と異なるP-修飾を有するAll - (Sp) -CaslGst。

30

【0111】

一部の実施形態では、アルトマーは、「結合アルトマー」であり、例えば結合リンで同一の立体化学又は同一の修飾を有する2つの連続したヌクレオチド単位はない。

【0112】

ユニマー(Unimer):「ユニマー」という用語は、本明細書で使用される場合、その各々個別のヌクレオチド単位を特徴付ける構造特徴のパターンが、その鎖内の全てのヌクレオチド単位が、ヌクレオチド間リン結合で少なくとも1つの共通の構造特徴を有するようなパターンであるオリゴヌクレオチド鎖を指す。共通の構造特徴とは、結合リンでの共通立体化学又は結合リンでの共通修飾を意味する。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ユニマーである。

40

【0113】

一部の実施形態では、ユニマーは、「ステレオユニマー」であり、例えば、全てのヌクレオチド単位は、結合リンで、同じ立体化学を有する。

【0114】

一部の実施形態では、ユニマーは、「P-修飾ユニマー」であり、例えば、全てのヌクレオチド単位は、結合リンで同じ修飾を有している。

【0115】

一部の実施形態では、ユニマーは、「結合ユニマー」であり、例えば、全てのヌクレオ

50

チド単位は、結合リンで同じ立体化学及び同じ修飾を有している。

【0116】

ギャップマー：本明細書で使用される場合、「ギャップマー」という用語は、オリゴヌクレオチド鎖の少なくとも1つのヌクレオチド間リン結合が、例えば、天然のDNA又はRNAに存在しているものなどのリン酸ジエステル結合であることを特徴とするオリゴヌクレオチド鎖を指す。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖の2つ以上のヌクレオチド間リン結合が、例えば、天然のDNA又はRNAに存在しているものなどのリン酸ジエステル結合である。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。

【0117】

10

スキップマー：本明細書で使用される場合、「スキップマー」という用語は、オリゴヌクレオチド鎖の1つおきのヌクレオチド間リン結合が、リン酸ジエステル結合、例えば天然のDNA又はRNA中に存在しているものなどであり、また、オリゴヌクレオチド鎖の1つおきのヌクレオチド間リン結合が、修飾ヌクレオチド間結合であるギャップマータイプを指す。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、スキップマーである。

【0118】

本開示の目的のために、化学元素は、元素周期表、CASバージョン、Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87、表紙裏に従って同定する。

20

【0119】

本開示の化合物及び組成物に関して本明細書に記載される方法及び構造は、薬学的に許容される酸付加塩又は塩基付加塩並びにこれら化合物及び組成物のあらゆる立体異性体型にも適用される。

【0120】

特定の実施形態の説明

オリゴヌクレオチドは、幅広い種類の適用において有用な分子ツールを提供する。例えば、オリゴヌクレオチド（例えば、C9orf72を標的とするオリゴヌクレオチド）は、種々の病態、障害及び疾患の治療を含め、治療、診断及び研究適用において有用である。天然に存在する核酸（例えば、非修飾DNA又はRNA）の使用は、例えば、エンド及びエキソヌクレアーゼに対するその感受性によって制限される。そのため、このような欠点を回避する様々な合成対応物が開発されている。そうした対応物には、とりわけ、そうした分子を分解に対する感受性が低いものにし且つオリゴヌクレオチドの他の特性を改善する化学修飾、例えば塩基修飾、糖修飾、骨格修飾等を含む合成オリゴヌクレオチドが含まれる。構造的観点から見れば、ヌクレオチド間結合を修飾するとキラリティーを導入することができ、特定のオリゴヌクレオチド特性は、オリゴヌクレオチドの骨格を形成するリン原子の立体配置の影響を受け得る。例えば、インビトロ研究では、結合親和性、相補的RNAに対する配列特異的結合、ヌクレアーゼに対する安定性などのアンチセンスオリゴヌクレオチド特性は、とりわけ骨格リン原子のキラリティーの影響を受けることが示されている。C9orf72オリゴヌクレオチドには、様々な修飾が効果的である。

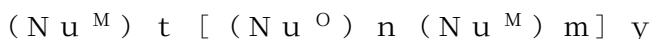
30

40

【0121】

特定のオリゴヌクレオチド及び組成物

一部の実施形態では、本開示は、連続的なヌクレオチド単位の領域：



を含むオリゴヌクレオチドを提供し、

式中、

各 Nu^{M} は、独立に、修飾ヌクレオチド間結合を含むヌクレオチド単位であり；

各 Nu^{O} は、独立に、天然リン酸結合を含むヌクレオチド単位であり；

t、n及びmの各々は、独立に、1～20であり；

yは、1～10である。

50

【0122】

一部の実施形態では、本開示に示す通り、こうしたオリゴヌクレオチドは、改善された特性、例えば改善された安定性及び／又は活性をもたらす。

【0123】

一部の実施形態では、 y は、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10である。一部の実施形態では、 y は、1である。一部の実施形態では、 y は、2である。一部の実施形態では、 y は、3である。一部の実施形態では、 y は、4である。一部の実施形態では、 y は、5である。一部の実施形態では、 y は、6である。一部の実施形態では、 y は、7である。一部の実施形態では、 y は、8である。一部の実施形態では、 y は、9である。一部の実施形態では、 y は、10である。

10

【0124】

本明細書に定義される通り、各 Nu^M は、独立に、修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラルヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、式Iのもの又はその塩である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラルであり、且つ式Iのもの又はその塩である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラルであり、且つキラル制御されている。一部の実施形態では、各修飾ヌクレオチド間結合は、キラル制御される。一部の実施形態では、 Nu^M のヌクレオチド間結合は、キラル制御されたホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドの Nu^M は、異なるタイプの修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドの Nu^M は、異なる配座の結合リン原子を有するキラルヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドの Nu^M は、異なるタイプの修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドの Nu^M は、異なる配座の結合リン原子を有するキラルヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、 Nu^M の少なくとも1つのキラルヌクレオチド間結合は、その結合リンでSpである。一部の実施形態では、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9又は10の Nu^M は、各々独立に、その結合リンでSpのキラルヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、 Nu^M の各キラルヌクレオチド間結合は、その結合リンでSpである。一部の実施形態では、 Nu^M の少なくとも1つのキラルヌクレオチド間結合は、その結合リンでRpである。一部の実施形態では、 Nu^M の少なくとも1つのキラルヌクレオチド間結合は、その結合リンにおいてRpであり、且つ Nu^M の少なくとも1つのキラルヌクレオチド間結合は、その結合リンでSpである。 Nu^M に好適な修飾ヌクレオチド間結合を含む更なるヌクレオチド単位は、当技術分野で公知であり、且つ／又は本開示に記載されており、本開示に従って使用することができる。

20

30

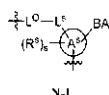
【0125】

本明細書に定義される通り、各 Nu^O は、独立に、天然リン酸結合を含むヌクレオチド単位である。一部の実施形態では、少なくとも1つの Nu^O は、天然リン酸結合を含むヌクレオチド単位であり、ここで、天然リン酸結合は、5'-ヌクレオチド単位及びヌクレオチド単位の糖単位の炭素原子に結合され、炭素原子は、2個未満の水素原子に結合されている。一部の実施形態では、各 Nu^O は、独立に、天然リン酸結合を含むヌクレオチド単位であり、ここで、天然リン酸結合は、5'-ヌクレオチド単位及びヌクレオチド単位の糖単位の炭素原子に結合され、炭素原子は、2個未満の水素原子に結合されている。一部の実施形態では、少なくとも1つの Nu^O は、 $-C(R^5R^S)_2-$ の構造を含み、この構造は、 Nu^O の天然リン酸結合及び Nu^O の糖単位の環部分に直接結合されている。一部の実施形態では、各 Nu^O は、独立に、 $-C(R^5R^S)_2-$ の構造を含み、この構造は、 Nu^O の天然リン酸結合及び Nu^O の糖単位の環部分に直接結合されている。

40

【0126】

一部の実施形態では、各 Nu^O は、独立に、式N-I：



の構造又はその塩を有し、式中、

BAは、 $C_{1 \sim 30}$ 脂環式、 $C_{6 \sim 30}$ アリール、1～10個のヘテロ原子を有する $C_{5 \sim 30}$ ヘテロアリール、1～10個のヘテロ原子を有する $C_{3 \sim 30}$ ヘテロシクリル、天然の核酸塩基部分及び修飾核酸塩基部分から選択される、任意選択で置換された基であり；

L^O は、天然リン酸結合であり；

L^S は、 $-C(R^{5S})_2-$ 又はLであり；

10

各 R^{5S} 及び R^S は、独立に、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-L-R'$ 、 $-L-OR'$ 、 $-L-SR'$ 、 $-L-N(R')_2$ 、 $-O-L-OR'$ 、 $-O-L-SR'$ 又は $-O-L-N(R')_2$ であり、

各Lは、独立に、共有結合であるか、又は $C_{1 \sim 30}$ 脂肪族基並びに酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1 \sim 30}$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1 \sim 6}$ アルキレン、 $C_{1 \sim 6}$ アルケニレン、 $-C \equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')-$ 、 $-P(O)(SR')-$ 、 $-P(O)(R')-$ 、 $-P(O)(NR')-$ 、 $-P(S)(OR')-$ 、 $-P(S)(SR')-$ 、 $-P(S)(R')-$ 、 $-P(S)(NR')-$ 、 $-P(R')-$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]-$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 又は $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ で置換されており；1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 Cy^L で置換されており；

20

環Aは、0～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換された3～20員の単環、二環若しくは多環であり；

30

sは、0～20であり；

各 R' は、独立に、 $-R$ 、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 若しくは $-S(O_2)R$ であり；

各Rは、独立に、 $-H$ 又は $C_{1 \sim 30}$ 脂肪族、1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1 \sim 30}$ ヘテロ脂肪族、 $C_{6 \sim 30}$ アリール、 $C_{6 \sim 30}$ アリール脂肪族、1～10個のヘテロ原子を有する $C_{6 \sim 30}$ アリールヘテロ脂肪族、1～10個のヘテロ原子を有する5～30員ヘテロアリール及び1～10個のヘテロ原子を有する3～30員ヘテロシクリルから選択される、任意選択で置換された基であるか、又は

2つのR基は、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか；又は

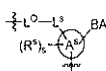
40

同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、その原子以外に、0～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換された3～30員の単環、二環若しくは多環を形成するか、又は

2個以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、介在原子以外に、0～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換された3～30員の単環、二環若しくは多環を形成する。

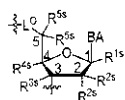
【0127】

一部の実施形態では、

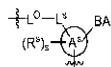


50

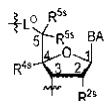
は、



の構造を有し、式中、 R^1s 、 R^2s 、 R^3s 及び R^4s の各々は、独立に、 R^5 及び本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、

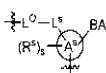


は、

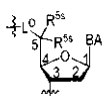


10

の構造を有し、式中、 R^1s 、 R^2s 、 R^3s 及び R^4s の各々は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、



は、



20

の構造を有し、式中、 R^1s 、 R^2s 、 R^3s 及び R^4s の各々は、独立に、本開示に記載される通りである。

【0128】

一部の実施形態では、 L^s は、 $-C(R^5s)_2-$ である。一部の実施形態では、1つの R^5s は、 $-H$ であり、 L^s は、 $-CHR^5s-$ である。一部の実施形態では、各 R^5s は、独立に、 R である。一部の実施形態では、一部の実施形態では、 $-C(R^5s)_2-$ は、 $-C(R)_2-$ である。一部の実施形態では、1つの R^5s は、 $-H$ であり、 $-C(R^5s)_2-$ は、 $-CHR-$ である。一部の実施形態では、 R は、水素ではない。一部の実施形態では、 R は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 R は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 R は、置換されている。一部の実施形態では、 R は、置換されていない。一部の実施形態では、 R は、メチルである。別の R 基の例は、本開示に広く記載されている。一部の実施形態では、 $-C(R^5s)_2-$ の C は、キラルであり、且つ R である。一部の実施形態では、 $-C(R^5s)_2-$ の C は、キラルであり、且つ S である。一部の実施形態では、 $-C(R^5s)_2-$ は、 $-(R)-CHMe-$ である。一部の実施形態では、 $-C(R^5s)_2-$ は、 $-(S)-CHMe-$ である。

30

【0129】

一部の実施形態において、連続ヌクレオチド単位領域は、 $(Np)t[(Op)n(Sp)m]y$ の骨格キラル中心（結合リン）のパターンを含み、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、連続ヌクレオチド単位領域は、 $(Sp)t[(Op)n(Sp)m]y$ の骨格キラル中心（結合リン）のパターンを含み、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

40

【0130】

一部の実施形態において、本開示は、1つ又は2つのウィングとコアとを含み、且つウィングーコアーウィング、コアーウィング又はウィングーコア構造を含む又はその構造のものであるオリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはウィングーコアーウィング構造を含むか又はその構造のものである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはコアーウィング構造を含むか又はその構造のものである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはウィ

50

ングーコア構造を含むか又はその構造のものである。一部の実施形態において、コアは本開示に記載される通りの連続ヌクレオチド単位領域である。一部の実施形態において、各ウィングは、独立に、本開示に記載される通りの1つ以上の核酸塩基を含む。

【0131】

一部の実施形態では、ウィングーコアーウィングモチーフは、「X-Y-Z」と表され、ここで、「X」は、5'ウィングの長さを示し、「Y」は、コアの長さを示し、また「Z」は、3'ウィングの長さを示す。一部の実施形態では、コアは、5'ウィング及び3'ウィングの各々に隣接して位置する。一部の実施形態では、X及びZは、同じ若しくは異なる長さであり、且つ／又は同じ若しくは異なる修飾若しくは修飾パターンを有する。好ましい実施形態では、Yは、8～15ヌクレオチドである。X、Y又はZは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30若しくはそれを超えるヌクレオチドの何れでもあり得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、例えば、5-10-5、5-10-4、4-10-4、4-10-3、3-10-3、2-10-2、5-9-5、5-9-4、4-9-5、5-8-5、5-8-4、4-8-5、5-7-5、4-7-5、5-7-4又は4-7-4のウィングーコアーウィング構造を有するか又は含む。一部の実施形態において、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、例えば、5-10、8-4、4-12、12-4、3-14、16-2、18-1、10-3、2-10、1-10、8-2、2-13、5-13、5-8又は6-8のウィングーコア又はコアーウィング構造を有するか又は含む。一部の実施形態において、ウィング又はコアはブロックであり、ウィングーコア、コアーウィング又はウィングーコアーウィング構造は、2つ又は3つのブロックを含むブロックマーである。

【0132】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を有し、ここで、第1ウィングの長さ（塩基で）は、Xにより表され、コアの長さは、Yにより表され、また第2ウィングの長さは、Zにより表され、ここで、X-Y-Zは、以下の何れでもあり得る：1-5-1、1-6-1、1-7-1、1-8-1、1-9-1、1-10-1、1-11-1、1-12-1、1-13-1、1-14-1、1-15-1、1-16-1、1-17-1、1-18-1、1-19-1、1-20-1、1-5-2、1-6-2、1-7-2、1-8-2、1-9-2、1-10-2、1-11-2、1-12-2、1-13-2、1-14-2、1-15-2、1-16-2、1-17-2、1-18-2、1-19-2、1-20-2、1-5-3、1-6-3、1-7-3、1-8-3、1-9-3、1-10-3、1-11-3、1-12-3、1-13-3、1-14-3、1-15-3、1-16-3、1-17-3、1-18-3、1-19-3、1-20-3、1-5-4、1-6-4、1-7-4、1-8-4、1-9-4、1-10-4、1-11-4、1-12-4、1-13-4、1-14-4、1-15-4、1-16-4、1-17-4、1-18-4、1-19-4、1-20-4、1-5-5、1-6-5、1-7-5、1-8-5、1-9-5、1-10-5、1-11-5、1-12-5、1-13-5、1-14-5、1-15-5、1-16-5、1-17-5、1-18-5、1-19-5、1-20-5、2-5-1、2-6-1、2-7-1、2-8-1、2-9-1、2-10-1、2-12-1、2-12-1、2-13-1、2-14-1、2-15-1、2-16-1、2-17-1、2-18-1、2-19-1、2-20-1、2-5-2、2-6-2、2-7-2、2-8-2、2-9-2、2-10-2、2-12-2、2-12-2、2-13-2、2-14-2、2-15-2、2-16-2、2-17-2、2-18-2、2-19-2、2-20-2、2-5-3、2-6-3、2-7-3、2-8-3、2-9-3、2-10-3、2-12-3、2-12-3、2-13-3、2-14-3、2-15-3、2-16-3、2-17-3、2-18-3、2-19-3、2-20-3、2-5-4、2-6-4、2-7-4、2-8-4、2-9-4、2-10-4、2-12-4、2-12-4、2-13-4、2-14-4、2-15-4、2-16-4、2-17-4、2-18-4、2-19

- 4、2-20-4、2-5-5、2-6-5、2-7-5、2-8-5、2-9-5、
 2-10-5、2-12-5、2-12-5、2-13-5、2-14-5、2-15-
 5、2-16-5、2-17-5、2-18-5、2-19-5、2-20-5、3-5
 -1、3-6-1、3-7-1、3-8-1、3-9-1、3-10-1、3-13-1
 、3-14-1、3-13-1、3-14-1、3-15-1、3-16-1、3-17
 -1、3-18-1、3-19-1、3-20-1、3-5-2、3-6-2、3-7-
 2、3-8-2、3-9-2、3-10-2、3-13-2、3-14-2、3-13-
 2、3-14-2、3-15-2、3-16-2、3-17-2、3-18-2、3-1
 9-2、3-20-2、3-5-3、3-6-3、3-7-3、3-8-3、3-9-3
 、3-10-3、3-13-3、3-14-3、3-13-3、3-14-3、3-15 10
 -3、3-16-3、3-17-3、3-18-3、3-19-3、3-20-3、3-
 5-4、3-6-4、3-7-4、3-8-4、3-9-4、3-10-4、3-13-
 4、3-14-4、3-13-4、3-14-4、3-15-4、3-16-4、3-1
 7-4、3-18-4、3-19-4、3-20-4、3-5-5、3-6-5、3-7
 -5、3-8-5、3-9-5、3-10-5、3-13-5、3-14-5、3-13
 -5、3-14-5、3-15-5、3-16-5、3-17-5、3-18-5、3-
 19-5、3-20-5、4-5-1、4-6-1、4-7-1、4-8-1、4-9-
 1、4-10-1、4-14-1、4-14-1、4-13-1、4-14-1、4-1
 5-1、4-16-1、4-17-1、4-18-1、4-19-1、4-20-1、4
 -5-2、4-6-2、4-7-2、4-8-2、4-9-2、4-10-2、4-14 20
 -2、4-14-2、4-13-2、4-14-2、4-15-2、4-16-2、4-
 17-2、4-18-2、4-19-2、4-20-2、4-5-3、4-6-3、4-
 7-3、4-8-3、4-9-3、4-10-3、4-14-3、4-14-3、4-1
 3-3、4-14-3、4-15-3、4-16-3、4-17-3、4-18-3、4
 -19-3、4-20-3、4-5-4、4-6-4、4-7-4、4-8-4、4-9
 -4、4-10-4、4-14-4、4-14-4、4-13-4、4-14-4、4-
 15-4、4-16-4、4-17-4、4-18-4、4-19-4、4-20-4、
 4-5-5、4-6-5、4-7-5、4-8-5、4-9-5、4-10-5、4-1
 4-5、4-14-5、4-13-5、4-14-5、4-15-5、4-16-5、4
 -17-5、4-18-5、4-19-5、4-20-5、5-5-1、5-6-1、5 30
 -7-1、5-8-1、5-9-1、5-10-1、5-15-1、5-12-1、5-
 13-1、5-14-1、5-15-1、5-16-1、5-17-1、5-18-1、
 5-19-1、5-20-1、5-5-2、5-6-2、5-7-2、5-8-2、5-
 9-2、5-10-2、5-15-2、5-12-2、5-13-2、5-14-2、5
 -15-2、5-16-2、5-17-2、5-18-2、5-19-2、5-20-2
 、5-5-3、5-6-3、5-7-3、5-8-3、5-9-3、5-10-3、5-
 15-3、5-12-3、5-13-3、5-14-3、5-15-3、5-16-3、
 5-17-3、5-18-3、5-19-3、5-20-3、5-5-4、5-6-4、
 5-7-4、5-8-4、5-9-4、5-10-4、5-15-4、5-12-4、5 40
 -13-4、5-14-4、5-15-4、5-16-4、5-17-4、5-18-4
 、5-19-4、5-20-4、5-5-5、5-6-5、5-7-5、5-8-5、5
 -9-5、5-10-5、5-15-5、5-12-5、5-13-5、5-14-5、
 5-15-5、5-16-5、5-17-5、5-18-5、5-19-5、5-20-
 5、1-5-6、1-6-6、1-7-6、1-8-6、1-9-6、1-10-6、1
 -11-6、1-12-6、1-13-6、1-14-6、1-15-6、1-16-6
 、1-17-6、1-18-6、1-19-6、1-20-6、2-5-6、2-6-6
 、2-7-6、2-8-6、2-9-6、2-10-6、2-11-6、2-12-6、
 2-13-6、2-14-6、2-15-6、2-16-6、2-17-6、2-18-
 6、2-19-6、2-20-6、3-5-6、3-6-6、3-7-6、3-8-6、
 3-9-6、3-10-6、3-11-6、3-12-6、3-13-6、3-14-6 50

、3-15-6、3-16-6、3-17-6、3-18-6、3-19-6、3-20-6、4-5-6、4-6-6、4-7-6、4-8-6、4-9-6、4-10-6、4-11-6、4-12-6、4-13-6、4-14-6、4-15-6、4-16-6、4-17-6、4-18-6、4-19-6、4-20-6、5-5-6、5-6-6、5-7-6、5-8-6、5-9-6、5-10-6、5-11-6、5-12-6、5-13-6、5-14-6、5-15-6、5-16-6、5-17-6、5-18-6、5-19-6、5-20-6、6-5-6、6-6-6、6-7-6、6-8-6、6-9-6、6-10-6、6-11-6、6-12-6、6-13-6、6-14-6、6-15-6、6-16-6、6-17-6、6-18-6、6-19-6、6-20-6、7-5-6、7-6-6、7-7-6、7-8-6、7-9-6、7-10-6、7-11-6、7-12-6、7-13-6、7-14-6、7-15-6、7-16-6、7-17-6、7-18-6、7-19-6、7-20-6、1-5-7、1-6-7、1-7-7、1-8-7、1-9-7、1-10-7、1-11-7、1-12-7、1-13-7、1-14-7、1-15-7、1-16-7、1-17-7、1-18-7、1-19-7、1-20-7、2-5-7、2-6-7、2-7-7、2-8-7、2-9-7、2-10-7、2-11-7、2-12-7、2-13-7、2-14-7、2-15-7、2-16-7、2-17-7、2-18-7、2-19-7、2-20-7、3-5-7、3-6-7、3-7-7、3-8-7、3-9-7、3-10-7、3-11-7、3-12-7、3-13-7、3-14-7、3-15-7、3-16-7、3-17-7、3-18-7、3-19-7、3-20-7、4-5-7、4-6-7、4-7-7、4-8-7、4-9-7、4-10-7、4-11-7、4-12-7、4-13-7、4-14-7、4-15-7、4-16-7、4-17-7、4-18-7、4-19-7、4-20-7、5-5-7、5-6-7、5-7-7、5-8-7、5-9-7、5-10-7、5-11-7、5-12-7、5-13-7、5-14-7、5-15-7、5-16-7、5-17-7、5-18-7、5-19-7、5-20-7、6-5-7、6-6-7、6-7-7、6-8-7、6-9-7、6-10-7、6-11-7、6-12-7、6-13-7、6-14-7、6-15-7、6-16-7、6-17-7、6-18-7、6-19-7、6-20-7、7-5-7、7-6-7、7-7-7、7-8-7、7-9-7、7-10-7、7-11-7、7-12-7、7-13-7、7-14-7、7-15-7、7-16-7、7-17-7、7-18-7、7-19-7又は7-20-7。

10

20

30

【0133】

一部の実施形態において、本開示は、ウィングーコアーウィング、コアーウィング又はウィングーコア構造を含むか又はその構造のオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、コアは



の骨格キラル中心（結合リン）のパターンを含み、式中：

NpはRp又はSpの何れかであり；

Spはキラル修飾ヌクレオチド間結合のキラルな結合リンのS配置を示し；

Opは天然リン酸結合のアキラルな結合リンを示し；及び

Rpはキラル修飾ヌクレオチド間結合のキラルな結合リンのS配置を示し；及び各ウィングは、独立に、1つ以上の核酸塩基を含む。

40

【0134】

一部の実施形態において、本開示は、ウィングーコアーウィング、コアーウィング又はウィングーコア構造を含むか又はその構造のオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、

コアは連続ヌクレオチド単位領域 $(Nu^M) t [(Nu^O) n (Nu^M) m] y$ であるか又はそれを含み、この連続ヌクレオチド単位領域は $(Np) t [(Op) n (Sp) m] y$ の骨格キラル中心（結合リン）のパターンを有し、

式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

50

【0135】

一部の実施形態において、 $(Np) t [(Op/Rp) n (Sp) m] y$ は少なくとも1つのOpを含む。一部の実施形態において、 $(Np) t [(Op/Rp) n (Sp) m] y$ は少なくとも1つのRpを含む。一部の実施形態において、 $(Np) t [(Op/Rp) n (Sp) m] y$ は $(Np) t [(Op) n (Sp) m] y$ である。一部の実施形態において、 $(Np) t [(Op/Rp) n (Sp) m] y$ は $(Np) t [(Rp) n (Sp) m] y$ である。

【0136】

一部の実施形態ではウィングは、1つ又は複数の糖修飾を含む。一部の実施形態では、ウィングーコアウィング構造の2つのウィングは、異なる糖修飾を含む。一部の実施形態では、糖修飾により、糖修飾のない場合と比較して、向上した安定性がもたらされる。

【0137】

一部の実施形態において、特定の糖修飾、例えば2'-MOEは、他の点で同一の条件下で2'-OMeと比べてより高い安定性を提供する。一部の実施形態では、ウィングは、2'-MOE修飾を含む。一部の実施形態では、ピリミジン塩基（例えば、C、U、Tなど）を含むウィングの各ヌクレオシド単位は、2'-MOE修飾を含む。一部の実施形態では、ウィングの各糖単位は、2'-MOE修飾を含む。一部の実施形態では、プリン塩基（例えば、A、Gなど）を含むウィングの各ヌクレオシド単位は、2'-MOE修飾（例えば、2'-OMe、2'-修飾なしなど）を含まない。一部の実施形態では、プリン塩基を含むウィングの各ヌクレオシド単位は、2'-OMe修飾を含む。一部の実施形態では、2'-MOE修飾を含む糖単位の3'位における各ヌクレオチド間結合は、天然のリン酸結合である。一部の実施形態では、2'-MOE修飾を含む糖単位の3'位における各ヌクレオチド間結合は、天然のリン酸結合であるが、但し、ウィングが、コアに対し5'ウィングであれば、ウィングの第1ヌクレオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合、例えばホスホロチオエートジエステル結合であり、且つウィングの3'末端ヌクレオシド単位とコアの5'末端ヌクレオシド単位とを連結するヌクレオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合、例えばホスホロチオエートジエステル結合であり；ウィングが、コアに対し3'ウィングであれば、ウィングの最後のヌクレオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合、例えばホスホロチオエートジエステル結合であり、且つコアの3'末端ヌクレオシド単位とウィングの5'末端ヌクレオシド単位とを連結するヌクレオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合、例えばホスホロチオエートジエステル結合である（例えば、WV-7127、WV7128等を参照されたい）。一部の実施形態では、こうしたウィングは、5'ウィングである。一部の実施形態では、こうしたウィングは、3'ウィングである。

【0138】

一部の実施形態では、ウィングは、2'-MOE修飾を含まない。一部の実施形態では、ウィングは、2'-OMe修飾を含む。一部の実施形態では、ウィングの各ヌクレオシド単位は、独立に、2'-OMe修飾を含む。中でも、本開示は、2'-OMe修飾を含むオリゴヌクレオチドが、特定の条件下で、2'-MOE修飾を含む同等のオリゴヌクレオチドより不安定であるという認識を包含する。一部の実施形態では、修飾された非天然ヌクレオチド間結合、例えばホスホロチオエートジエステル結合など、一部の事例では、特にSpホスホロチオエートジエステル結合を使用して、オリゴヌクレオチドの特性、例えば安定性を改善することができる。一部の実施形態では、ウィングは、2'-MOE修飾を含まず、ウィングのヌクレオシド単位同士の各ヌクレオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、ウィングは、2'-MOE修飾を含まず、ウィングの各ヌクレオシド単位は、2'-OMe修飾を含み、ウィングのヌクレオシド単位同士の各ヌクレオチド間結合は、修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラル制御されたヌクレオチド間結合であり、

ここで、結合リンは、S p 配座である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラル制御されたヌクレオチド間結合であり、ここで、結合リンは、R p 配座である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、S p ホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、R p ホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、こうしたウィングは、5' ウィングである。一部の実施形態では、こうしたウィングは、3' ウィングである。

【0139】

とりわけ、本開示は、オリゴヌクレオチドの特性、例えば安定性及び／又は活性を微調整するために2'-修飾及び／又は修飾ヌクレオチド間結合を個別に又は組み合わせて利用することができるという認識を包含する。

10

【0140】

一部の実施形態では、ウィングは、1つ又は複数の天然のリン酸結合を含む。一部の実施形態では、ウィングは、1つ又は複数の連続した天然のリン酸結合を含む。一部の実施形態では、ウィングは、1つ又は複数の天然のリン酸結合と1つ又は複数の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、S p ホスホロチオエートジエステル結合である。

【0141】

一部の実施形態では、ウィングは、天然のリン酸結合を含まず、ウィングの各ヌクレオチド間結合は、独立に、修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、キラルであり、キラル制御されている。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートジエステル結合である。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、S p ホスホロチオエートジエステル結合である。

20

【0142】

一部の実施形態では、ウィングーコアーウィング構造を含むか、又はウィングーコアーウィング構造であるオリゴヌクレオチドの場合、2つのウィングは、それらが異なるレベル及び／若しくはタイプの化学修飾、骨格キラル中心立体化学並びに／又はそれらのパターンを含むという点で異なっている。一部の実施形態では、2つのウィングは、それらが異なるレベル及び／若しくはタイプの糖修飾、並びに／又はヌクレオチド間結合、並びに／又はヌクレオチド間結合立体化学、並びに／又はそれらのパターンを含むという点で異なっている。例えば、一部の実施形態では、一方のウィングは、2' OR 修飾（Rは、任意選択で置換されたC₁~₆アルキル（例えば、2-MOE）である）を含むのに対し、他方のウィングは、こうした修飾を含まないか又はより低レベルの（例えば、数及び／又はパーセンテージで）そうした修飾を含み；加えて且つ代わりに、一方のウィングは、天然リン酸結合を含むが、他方のウィングは、天然リン酸結合を含まないか又はより低レベルの（例えば、数及び／又はパーセンテージで）天然リン酸結合を含み；加えて且つ代わりに、一方のウィングは、特定のタイプの修飾ヌクレオチド間結合（例えば、ホスホロチオエートジエステルヌクレオチド間結合）を含み得るが、他方のウィングは、天然リン酸結合を含まないか又はより低レベルの（例えば、数及び／又はパーセンテージで）そのタイプの修飾ヌクレオチド間結合を含み；加えて且つ代わりに、一方のウィングは、特定の配座（例えば、R p 若しくはS p）の結合リン原子を含むキラル修飾ヌクレオチド間結合を含み得るが、他方のウィングは、特定の配座の結合リン原子を含むキラル修飾ヌクレオチド間結合を含まないか、より低レベルで含み；加えて且つ代わりに、各ウィングは、異なるパターンの糖修飾、ヌクレオチド間結合及び／又は骨格キラル中心を含み得る。一部の実施形態では、一方のウィングは、1つ又は複数の天然リン酸結合と、1つ又は複数の2'-OR 修飾（Rは、-H若しくは-Meではない）を含み、他方のウィングは、天然リン酸結合を含まず、2'-OR 修飾（Rは、-H若しくは-Meではない）を含まない。一部の実施形態では、一方のウィングは、1つ又は複数の天然リン酸結合と、1つ又は複数の2'-MOE 修飾を含み、他方のウィングの各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、他方のウィングの各糖単位は、2'-OMe 修飾を含む。一部の実

30

40

50

施形態では、一方のウィングは、1つ又は複数の天然リン酸結合と、1つ又は複数の2'-MOE修飾を含み、他方のウィングの各ヌクレオチド間結合は、Spホスホロチオエート結合であり、他方のウィングの各糖単位は、2'-OMe修飾を含む。

【0143】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングは、2'-OMeを含み、他方のウィングは、二環式糖を含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングは、2'-OMeを含み、他方のウィングは、二環式糖を含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0144】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングの大部分の糖は、二環式糖である。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングの大部分の糖は、二環式糖であり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0145】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、二環式糖であり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて少なくとも1つの糖は、二環式糖であり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0146】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、二環式糖であり、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、二環式糖であり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、二環式糖であり、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、二環式糖であり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0147】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて少なくとも2つの糖は、二環式糖であり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて少なくとも2つの糖は、二環式糖であり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0148】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、二環式糖であり、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、二環式糖であり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、二環式糖であり、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、二環式糖であり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0149】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、

【 0 1 5 0 】

【 0 1 5 1 】

【 0 1 5 2 】

【 0 1 5 3 】

【 0 1 5 4 】

【 0 1 5 5 】

【 0 1 5 6 】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも2つの糖は、二環式糖である。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、

ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも2つの糖は、二環式糖であり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0157】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、二環式糖であり、他方のウィングの各糖は、2'-MOEを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、二環式糖であり、他方のウィングの各糖は、2'-MOEを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0158】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングの各糖は、二環式糖であり、コアの各糖は、2'-デオキシを含む。

【0159】

一部の実施形態では、二環式糖は、LNA、cEt又はBNAである。

【0160】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングは、2'-OMeを含み、他方のウィングは、2'-Fを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングは、2'-OMeを含み、他方のウィングは、2'-Fを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0161】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングの大部分の糖は、2'-Fである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングの大部分の糖は、2'-Fであり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0162】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-Fであり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-Fであり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0163】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fであり、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-Fであり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fであり、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-Fであり、少なくとも1つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0164】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-Fであり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングにおいて

、少なくとも2つの糖は、2'-Fであり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0165】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fであり、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-Fであり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fであり、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-Fであり、少なくとも2つの糖は、2'-OMeを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

10

【0166】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングの各糖は、2'-Fを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-OMeを含み、他方のウィングの各糖は、2'-Fを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0167】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-Fを含み、他方のウィングの各糖は、2'-OMeを含み、コアの各糖は、2'-デオキシを含む。

20

【0168】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングは、2'-Fを含み、他方のウィングは、2'-MOEを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングは、2'-Fを含み、他方のウィングは、2'-MOEを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0169】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fを含み、他方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fを含み、他方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

30

【0170】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも1つの糖は、2'-Fである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも1つの糖は、2'-Fであり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

40

【0171】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも1つの糖は、2'-Fである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも1つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも1つの糖は、2'-Fであり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0172】

50

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも2つの糖は、2'-Fである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-Fを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも2つの糖は、2'-Fであり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0173】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも2つの糖は、2'-Fである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの大部分の糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングにおいて、少なくとも2つの糖は、2'-MOEを含み、少なくとも2つの糖は、2'-Fであり、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0174】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-Fであり、他方のウィングの各糖は、2'-MOEを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-Fであり、他方のウィングの各糖は、2'-MOEを含み、コアの大部分の糖は、2'-デオキシを含む。

【0175】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ウィングーコアーウィング構造を含み、ここで、一方のウィングの各糖は、2'-MOEを含み、他方のウィングの各糖は、2'-Fであり、コアの各糖は、2'-デオキシを含む。

【0176】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはウィングーコアーウィング構造を有し、且つ非対称フォーマットを有する。非対称フォーマットを有するC9orf72オリゴヌクレオチドの一部の実施形態において、一方のウィングは他方と異なる。非対称フォーマットを有するC9orf72オリゴヌクレオチドの一部の実施形態において、一方のウィングは、糖修飾若しくはそのパターン、又は骨格ヌクレオチド間結合若しくはそのパターン、又は骨格キラル中心若しくはそのパターンにおいて他方と異なる。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態では、コアは、1つ又は複数の2'-デオキシ糖を含む。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態では、コアは、5つ以上の連続した2'-デオキシ糖を含む。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態では、コアは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15又はそれを超える連続した2'-デオキシ糖を含む。非対称フォーマットを有するC9orf72オリゴヌクレオチドのいくつかの非限定な例は、本明細書に示す。C9orf72オリゴヌクレオチドの一部の実施形態では、第1ウィング及び第2ウィングは、独立に、1パターンの糖の2'-修飾を有し、これは、以下：F、FF、FFF、FFFF、FFFFF、FMMMF、FMMMF、LMMMm、m、M、mm、MM、mmm、mMm、MMm、MMM、mmm、mmmm、mMMm、MMm、MMMM、mmmm、mmmmm、MMMMM、mMMMm、MMMMM、mmmmm又は本明細書に記載する任意のオリゴヌクレオチドの何れかのウィングの2'-修飾の任意のパターンであるか又はそれを含み、ここで、第1及び第2ウィングの2'-修飾のパターンは異なっており、m=2'-OMe；M=2'-MOE；F=2'-F；及びL=LNAである。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態において、第1ウィング及び第2ウィングは、独立に、PS、PO、PS-PS、PS-PO、PO-PS、PO-PO、PO-PS-PS、PS-PO-PO-PO-PS、PS-PO-PO-PS、PS-PS-PS-PS、PS-PS-PS-PS-PS、

$PS-Xn-Xn-Xn-PS$ 又は本明細書に記載される何れかのオリゴヌクレオチドの任意のウィングのヌクレオチド間結合の任意のパターンであるか、又はそれを含むヌクレオチド間結合のパターンを有し、ここで、第1及び第2ウィングのヌクレオチド間結合のパターンは、異なっており、 PS =ホスホロチオエート； PO =ホスホジエステル； Xn =任意の中性ヌクレオチド間結合である。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態において、第1ウィング及び第2ウィングは、独立に、 PO 、 SR 、 Sp 、 Rp 、 $Sp-PO$ 、 $Rp-PO$ 、 $PO-Sp$ 、 $PO-Rp$ 、 $PO-PO-PO$ 、 $Sp-PO-PO$ 、 $Rp-PO-PO$ 、 $Rp-PO-PO-PO-Rp$ 、 $Rp-PO-PO-Rp-Rp$ 、 $Rp-PO-Rp-PO-Rp$ 、 $Rp-Rp-PO-PO-Rp$ 、 $Sp-PO-PO-PO-Sp$ 、 $Sp-Sp-Sp-Sp$ 、 $Sp-Sp-Sp-Sp$ 、 $Sp-Sp-Sp-Sp$ 、 $Sp-Sp-Sp-Sp$ 、 $Sp-Xn-Xn-Xn-Sp$ 、 $SR-PO-PO-PO-SR$ 、 $SR-SR-SR-SR$ 、 $SR-SR-SR-SR-SR$ 、 $SR-Xn-Xn-Xn-SR$ 又は本明細書に記載される何れかのオリゴヌクレオチドの任意のウィングのヌクレオチド間結合の立体化学の任意のパターンであるか又はそれを含むヌクレオチド間結合の立体化学のパターンを有し、ここで、第1及び第2ウィングのヌクレオチド間結合の立体化学のパターンは、異なっており、 SR =ステレオランダムである（例えば、キラル制御されていない）ヌクレオチド間結合； PO =ホスホジエステル（キラル中心がない）； Sp = Sp 配座のヌクレオチド間結合； Rp = Rp 配座のヌクレオチド間結合； Xn =独立に、立体制御である（ Rp 若しくは Sp 配座で）か若しくはステレオランダムであり得る、中性ヌクレオチド間結合である。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態において、第1ウィングは、5'ウィング（オリゴヌクレオチドの5'-末端に近い方のウィング）であり、第2ウィングは、3'ウィング（オリゴヌクレオチドの3'-末端に近い方のウィング）である。非対称フォーマットを有するオリゴヌクレオチドの一部の実施形態において、第1ウィングは、3'ウィング（オリゴヌクレオチドの3'-末端に近い方のウィング）であり、第2ウィングは、5'ウィング（オリゴヌクレオチドの5'-末端に近い方のウィング）である。一部の実施形態では、第1及び第2ウィングは、同じであるか又は異なる長さである。

10

20

30

40

50

【0177】

一部の実施形態において、非対称構造を有するオリゴヌクレオチド（例えば、ここでは、一方のウィングが他方のウィングと化学的に異なる）は、同じ塩基配列を有するが異なる構造（例えば、両方のウィングが同じ化学修飾のパターンを有する対称構造；又は別の非対称構造）を有するオリゴヌクレオチドと比較して生物学的活性が改善されている。一部の実施形態において、生物学的活性の改善には、発現、活性若しくは／又はレベル又は遺伝子若しくは遺伝子産物の低下の改善が含まれる。一部の実施形態において、生物学的活性の改善は、細胞核への送達の改善である。一部の実施形態において、生物学的活性の改善は細胞核への送達の改善であり、非対称構造を有するオリゴヌクレオチドの一方のウィングが1つ又は2つ以上の2'-Fを含む。一部の実施形態において、生物学的活性の改善は細胞核への送達の改善であり、非対称構造を有するオリゴヌクレオチドの一方のウィングが1つ又は2つ以上の2'-MOEを含む。一部の実施形態において、生物学的活性の改善は細胞核への送達の改善であり、非対称構造を有するオリゴヌクレオチドの一方のウィングが1つ又は2つ以上の2'-OMeを含む。一部の実施形態において、生物学的活性の改善は細胞核への送達の改善であり、非対称構造を有するオリゴヌクレオチドの一方のウィングが1つ又は2つ以上の二環式糖類を含む。

【0178】

一部の実施形態において、コアは2'-置換を含まず、各糖単位は、天然の非修飾DNAに見られる天然糖単位である。一部の実施形態において、コアは1つ以上の2'-ハロゲン修飾を含む。一部の実施形態において、コアは1つ以上の2'-F修飾を含む。一部の実施形態では、コア中の70%、80%、90%又は100%以上ものヌクレオチド間結合が、修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、コア中の70%、80%又は90%以上ものヌクレオチド間結合が、独立に、 Sp 配座の修飾ヌクレオチド間結合

であり、コアは、R_p配座の修飾ヌクレオチド間結合及び天然リン酸結合から選択される1、2、3、4若しくは5つのヌクレオチド間結合も更に含む。一部の実施形態では、コアは、R_p配座の修飾ヌクレオチド間結合及び天然リン酸結合から選択される1又は2つのヌクレオチド間結合を更に含む。一部の実施形態では、コアは、R_p配座の修飾ヌクレオチド間結合及び天然リン酸結合から選択される1つ以下のヌクレオチド間結合を更に含み、残りのヌクレオチド間結合は、独立に、S_p配座の修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、コアは、R_p配座の修飾ヌクレオチド間結合及び天然リン酸結合から各々独立に選択される2つ以下のヌクレオチド間結合を更に含み、残りのヌクレオチド間結合は、独立に、S_p配座の修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、コアは、1つ以下の天然リン酸結合を更に含み、残りのヌクレオチド間結合は、独立に、S_p配座の修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、コアは、2つ以下の天然リン酸結合を更に含み、残りのヌクレオチド間結合は、独立に、S_p配座の修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、コアは、1つ以下のR_p配座の修飾ヌクレオチド間結合を更に含み、残りのヌクレオチド間結合は、独立に、S_p配座の修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、コアは、2つ以下のR_p配座の修飾ヌクレオチド間結合を更に含み、残りのヌクレオチド間結合は、独立に、S_p配座の修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態では、2つの天然リン酸結合又は2つのR_p配座の修飾ヌクレオチド間結合は、2つ以上のS_p配座の修飾ヌクレオチド間結合によって隔てられる。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、式Iのものである。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートジエステル結合である。

10

20

【0179】

コア及びウィングは様々な長さであり得る。一部の実施形態において、コアは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20核酸塩基以上を含む。一部の実施形態において、ウィングは、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10核酸塩基以上を含む。一部の実施形態において、ウィングは、2、3、4、5、6、7、8、9又は10核酸塩基以下を含む。一部の実施形態において、ウィングーコアーウィング構造について、両方のウィングが同じ長さ、例えば5核酸塩基である。一部の実施形態において、2つのウィングは異なる長さである。一部の実施形態において、コアは、コア内のヌクレオチド単位のパーセンテージによって測定したとき、オリゴヌクレオチド全長の40%、45%、50%、60%、70%、80%又は90%以上である。一部の実施形態において、コアはオリゴヌクレオチド全長の50%以上である。

30

【0180】

一部の実施形態では、本開示は、任意選択で、リンカーを介してオリゴヌクレオチド部分に連結された追加化学部分を含むオリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態では、本開示は、(R^D)b-L^{M1}-L^{M2}-L^{M3}-を含むオリゴヌクレオチドを提供し、式中、

各R^Dは、独立に、化学部分であり；

L^{M1}、L^{M2}及びL^{M3}の各々は、独立に、共有結合又はC₁~₃₀脂肪族基及び1~10個のヘテロ原子を有するC₁~₃₀ヘテロ脂肪族基から選択される二価若しくは多価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁~₆アルキレン、C₁~₆アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR') [B(R')₃]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-

40

50

OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-又は-OP(OR')
[B(R')₃]O-で置換されており；1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、
且つ独立に、Cy^Lで置換されており；

各Cy^Lは、独立に、C₃～20脂環、C₆～20アリール環、1～10個のヘテロ原子を有する5～20員ヘテロアリール環及び3～20員ヘテロシクリル環から選択される、任意選択で置換された四価の基であり；

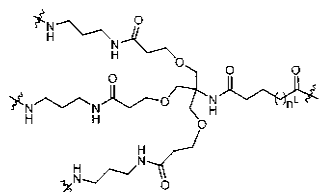
bは、1～1000である。

【0181】

一部の実施形態では、L^{M1}、L^{M2}及びL^{M3}の各々は、独立に、共有結合又はC₁～10脂肪族基及び1～5個のヘテロ原子を有するC₁～10ヘテロ脂肪族基から選択される二価若しくは多価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁～6アルキレン、C₁～6アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')₃]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-又は-OP(OR')[B(R')₃]O-で置換されており；1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、Cy^Lで置換されている。

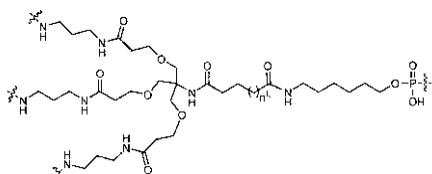
【0182】

一部の実施形態では、L^{M1}は、1つ若しくは複数の-N(R')-及び1つ若しくは複数の-C(O)-を含む。一部の実施形態では、リンカー、即ちL^{M1}は、



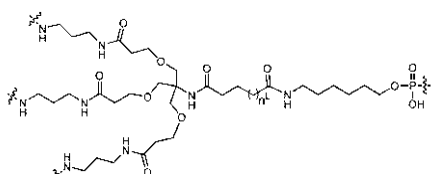
(n^Lは、1～8である)

であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、リンカー、即ちL^{M1}—L^{M2}—L^{M3}は、



(n^Lは、1～8である)

又はその塩形態である。一部の実施形態では、リンカー、即ちL^{M1}—L^{M2}—L^{M3}は、

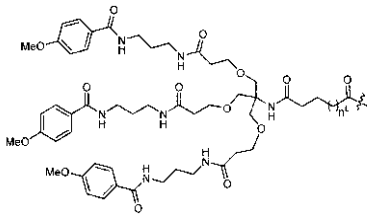


又はその塩形態であり、式中、

n^L は、1～8であり；

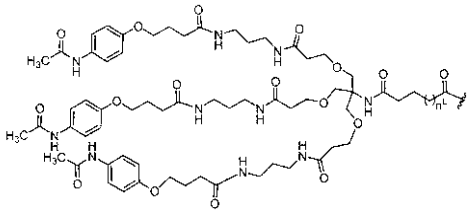
各アミノ基は、独立に、一部分に連結し；

P原子は、オリゴヌクレオチドの5'-OHに連結する。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D) b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、



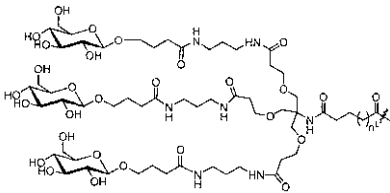
10

であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D) b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、



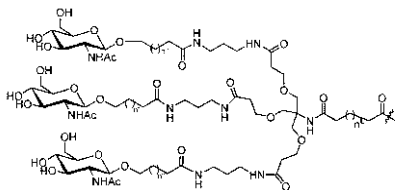
であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D) b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、

20



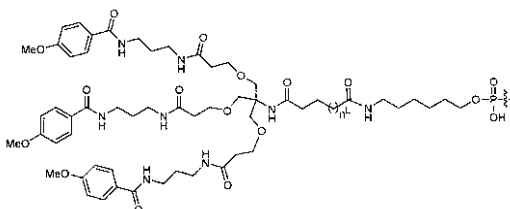
であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D) b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、

30

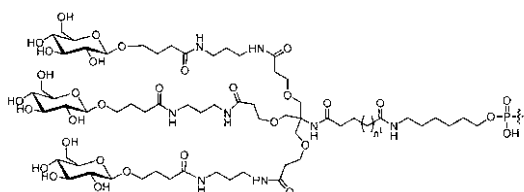


であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D) b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、

40

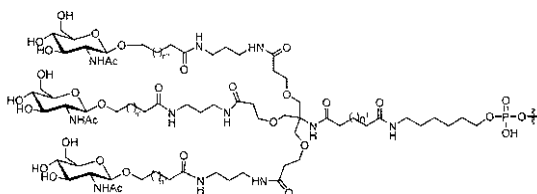


であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D) b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、

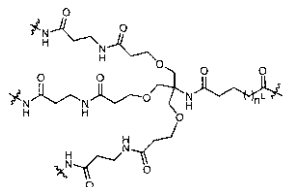


50

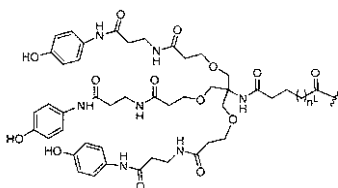
であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D)b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、



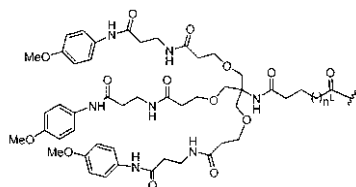
であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、リンカー、即ち $(R^D)b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、



であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D)b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、



であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、上記部分及びリンカー、即ち $(R^D)b - L^{M1} - L^{M2} - L^{M3}$ は、



であるか又はそれを含む。

【0183】

一部の実施形態では、 n^L は、1～8である。一部の実施形態では、 n^L は、1、2、3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態では、 n^L は、1である。一部の実施形態では、 n^L は、2である。一部の実施形態では、 n^L は、3である。一部の実施形態では、 n^L は、4である。一部の実施形態では、 n^L は、5である。一部の実施形態では、 n^L は、6である。一部の実施形態では、 n^L は、7である。一部の実施形態では、 n^L は、8である。

【0184】

一部の実施形態では、 L^{M2} は、共有結合又は $C_1 \sim 10$ 脂肪族基及び1～5個のヘテロ原子を有する $C_1 \sim 10$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ又若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_1 \sim 6$ アルキレン、 $C_1 \sim 6$ アルケニレン、 $-C \equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、 $-P(OR')$ $[B(R')_3]-$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$

$-O-P(O)(NR')O-$ 、 $-O-P(OR')O-$ 、 $-O-P(SR')O-$ 、 $-O-P(NR')O-$ 、 $-O-P(R')O-$ 又は $-O-P(OR')[B(R')_3]O-$ で置換されており；また、1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 C_{Y^L} で置換されている。一部の実施形態では、 L^{M^2} は、共有結合又は $C_{1\sim 10}$ 脂肪族基及び1～5個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 10}$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')-$ 、 $-P(O)(SR')-$ 又は $-P(O)(R')-$ で置換されている。一部の実施形態では、 L^{M^2} は、共有結合又は二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐 $C_{1\sim 10}$ 脂肪族基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R')-$ 又は $-C(O)-$ で置換されている。一部の実施形態では、 L^{M^2} は、 $-NH-(CH_2)_6-$ であり、ここで、 $-NH-$ は、 L^{M^1} に結合されている。

【0185】

一部の実施形態では、 L^{M^3} は、 $-P(O)(OR')-$ 、 $-P(O)(SR')-$ 、 $-P(O)(R')-$ 、 $-P(O)(NR')-$ 、 $-P(S)(OR')-$ 、 $-P(S)(SR')-$ 、 $-P(S)(R')-$ 、 $-P(S)(NR')-$ 、 $-P(R')-$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]$ 、 $-OP(O)(OR')-$ 、 $-OP(O)(SR')-$ 、 $-OP(O)(R')-$ 、 $-OP(O)(NR')-$ 、 $-OP(S)(OR')-$ 、 $-OP(S)(SR')-$ 、 $-OP(S)(R')-$ 、 $-OP(S)(NR')-$ 、 $-OP(R')-$ 、 $-OP(OR')-$ 、 $-OP(SR')-$ 、 $-OP(NR')-$ 又は $-OP(OR')[B(R')_3]$ である。一部の実施形態では、 L^{M^3} は、 $-OP(O)(OR')-$ 又は $-OP(O)(SR')-$ であり、ここで、 $-O-$ は、 L^{M^2} に結合されている。一部の実施形態では、P原子は、糖単位、核酸塩基単位又はヌクレオチド間結合に連結されている。一部の実施形態では、P原子は、P-O結合の形成を介して、 $-OH$ 基に連結されている。一部の実施形態では、P原子は、P-O結合の形成を介して、 $5'-OH$ 基に連結されている。

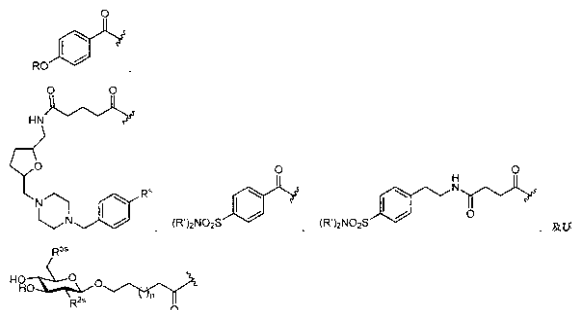
【0186】

一部の実施形態では、 L^{M^1} は、共有結合である。一部の実施形態では、 L^{M^2} は、共有結合である。一部の実施形態では、 L^{M^3} は、共有結合である。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、本開示に記載される通りの L^{M^2} である。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、本開示に記載される通りの L^{M^3} である。一部の実施形態では、 L^{M^2} は、本開示に記載される通りの L^{M^1} である。一部の実施形態では、 L^{M^2} は、本開示に記載される通りの L^{M^3} である。一部の実施形態では、 L^{M^3} は、本開示に記載される通りの L^{M^1} である。一部の実施形態では、 L^{M^3} は、本開示に記載される通りの L^{M^2} である。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、本開示に記載される通りの L^{M^1} である。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、本開示に記載される通りの L^{M^2} である。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、本開示に記載される通りの L^{M^3} である。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、 $L^{M^1}-L^{M^2}$ であり、ここで、 L^{M^1} 及び L^{M^2} の各々は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、 $L^{M^1}-L^{M^3}$ であり、ここで、 L^{M^1} 及び L^{M^3} の各々は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、 $L^{M^2}-L^{M^3}$ であり、ここで、 L^{M^2} 及び L^{M^3} の各々は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 L^{M^1} は、 $L^{M^1}-L^{M^2}-L^{M^3}$ であり、ここで、 L^{M^1} 、 L^{M^2} 及び L^{M^3} の各々は、独立に、本開示に記載される通りである。

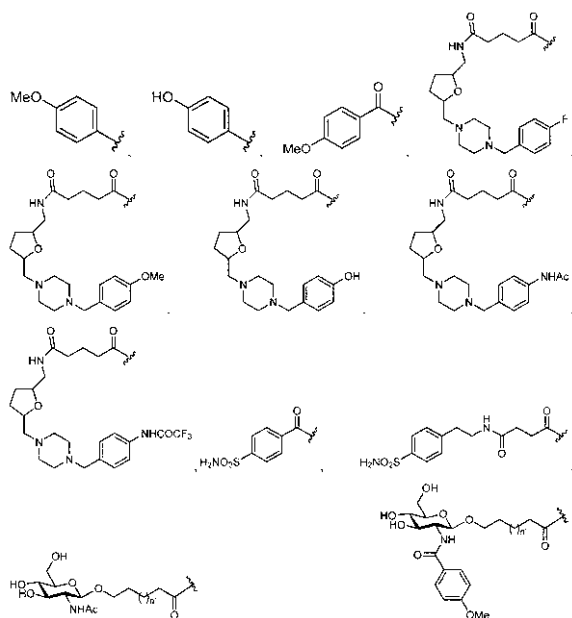
【0187】

一部の実施形態では、各 R^D は、独立に、本開示に記載される化学部分である。一部の

10

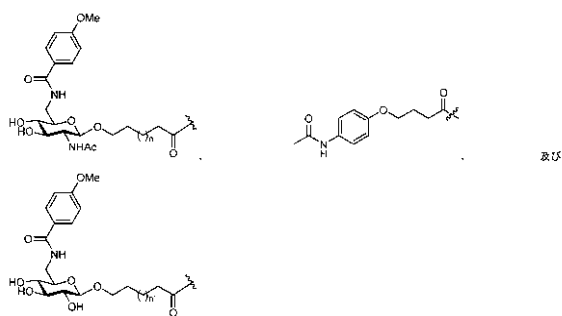


20



30

40



から選択される。R^Dの更なる実施形態は、追加の化学部分実施形態、例えば実施例、実施例2等に記載のものを含む。

【0188】

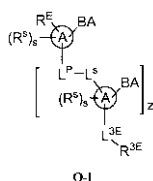
一部の実施形態では、n'は、1である。一部の実施形態では、n'は、0である。

【0189】

一部の実施形態では、n''は、1である。一部の実施形態では、n''は、2である。

【0190】

一部の実施形態において、本開示は、式O-Iの構造：



20

又はその塩を有する提供される化合物、例えば提供される組成物のオリゴヌクレオチドを提供し、式中：

R^Eは5'-末端基であり；

各BAは、独立に、C₃~C₃₀脂環族と、C₆~C₃₀アリールと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1~10個のヘテロ原子を有するC₅~C₃₀ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1~10個のヘテロ原子を有するC₃~C₃₀ヘテロシクリルと、天然核酸塩基部分と、修飾核酸塩基部分とから選択される任意選択で置換されている基であり；

30

各R^Sは、独立に、-F、-Cl、-Br、-I、-CN、-N₃、-NO、-NO₂、-L-R'、-L-OR'、-L-SR'、-L-N(R')₂、-O-L-OR'、-O-L-SR'又は-O-L-N(R')₂であり；

sは0~20であり；

L^Sは-C(R^S)₂-又はLであり；

各Lは、独立に、共有結合であるか、又はC₁~C₃₀脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1~10個のヘテロ原子を有するC₁~C₃₀ヘテロ脂肪族基とから選択される二価の任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁~C₆アルキレン、C₁~C₆アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')₃]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R'

40

50

）O—又は—OP（OR'）[B（R'）₃]O—に置き換えられ；及び1つ以上の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、Cy^Lに置き換えられ；

各Cy^Lは、独立に、C₃～₂₀脂環族環と、C₆～₂₀アリール環と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～20員環ヘテロアリール環と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～20員環ヘテロシクリル環とから選択される任意選択で置換されている四価の基であり；

各環Aは、独立に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環であり；

各L^Pは、独立に、ヌクレオチド間結合であり；

Zは1～1000であり；

L^{3E}はL又は—L—L—であり；

R^{3E}は、—R'、—L—R'、—OR'又は固体支持体であり；

各R'は、独立に、—R、—C（O）R、—C（O）OR又は—S（O）₂Rであり；

各Rは、独立に、—Hであるか、又はC₁～₃₀脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₁～₃₀ヘテロ脂肪族と、C₆～₃₀アリールと、C₆～₃₀アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₆～₃₀アリールヘテロ脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～30員環ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～30員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基であるか、又は

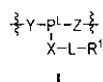
2つのR基が、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか、又は：

同じ原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成し；又は

2つ以上の原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

【0191】

一部の実施形態において、各L^Pは、独立に、式Iの構造：



又はその塩形態を有し、式中：

P^Lは、P（=W）、P又はP→B（R'）₃であり；

Wは、O、S又はSeであり；

R¹は、—L—R、ハロゲン、—CN、—NO₂、—Si（R'）₃、—OR'、—SR'又は—N（R'）₂であり；

X、Y及びZの各々は、独立に、—O—、—S—、—N（—L—R¹）—又はLであり；

各R'は、独立に、—R、—C（O）R、—C（O）OR又は—S（O）₂Rであり；

各Lは、独立に、共有結合であるか、又はC₁～₃₀脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₁～₃₀ヘテロ脂肪族基とから選択される二価の任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁～₆アルキレン、C₁～₆アルケニレン、—C≡C—、—C（R'）₂—、—O—、—S—、—S—

10

20

30

40

50

S—、—N(R')—、—C(O)—、—C(S)—、—C(NR')—、—C(O)N(R')—、—N(R')C(O)N(R')—、—N(R')C(O)O—、—S(O)—、—S(O)₂—、—S(O)₂N(R')—、—C(O)S—、—C(O)O—、—P(O)(OR')—、—P(O)(SR')—、—P(O)(R')—、—P(O)(NR')—、—P(S)(OR')—、—P(S)(SR')—、—P(S)(R')—、—P(S)(NR')—、—P(R')—、—P(OR')—、—P(SR')—、—P(NR')—、—P(OR')[B(R')₃]—、—OP(O)(OR')O—、—OP(O)(SR')O—、—OP(O)(R')O—、—OP(O)(NR')O—、—OP(OR')O—、—OP(SR')O—、—OP(NR')O—、—OP(R')O—又は—OP(OR')[B(R')₃]O—に置き換えられ；及び1つ以上の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、C^y_Lに置き換えられ；

各Rは、独立に、—Hであるか、又はC₁～₃₀脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₁～₃₀ヘテロ脂肪族と、C₆～₃₀アリールと、C₆～₃₀アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₆～₃₀アリールヘテロ脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～30員環ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～30員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基であるか、又は

2つのR基が、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか、又は：同じ原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成し；又は

2つ以上の原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

【0192】

一部の実施形態において、各L^Pは、独立に、式Iの構造を有し、及びR^Eは、—C(R^{5s})₃、—L—P^{DB}、—C(R^{5s})₂OH、—L—R^{5s}若しくは—L—P^{5s}—L—R^{5s}又はその塩形態であり、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

【0193】

一部の実施形態において、各L^Pは、独立に、式Iの構造を有し、及びR^Eは、—C(R^{5s})₃、—L—P^{DB}、—C(R^{5s})₂OH、—L—R^{5s}若しくは—L—P^{5s}—L—R^{5s}又はその塩形態であり、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

【0194】

一部の実施形態において、R^Eは、—C(R^{5s})₃、—C(R^{5s})₂OH又は—L—R^{5s}であり；

各BAは、独立に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₅～₃₀ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₃～₃₀ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基であり；

各環Aは、独立に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環であり；及び

各L^Pは、独立に、式Iの構造を有し、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

10

20

30

40

50

【0195】

一部の実施形態において、 R^E は、 $-C(R^{5s})_3$ 、 $-C(R^{5s})_2OH$ 又は $-L-R^{5s}$ であり

各BAは、独立に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている $C_{5\sim 30}$ ヘテロアリールであり、ここで、ヘテロアリールは、酸素及び窒素から選択される1つ以上のヘテロ原子を含み；

各環Aは、独立に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～5つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～10員環の単環式又は二環式飽和環であり、ここで、環は、少なくとも1つの酸素原子を含み；及び

各 L^P は、独立に、式Iの構造を有し、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

10

【0196】

一部の実施形態において、 R^E は、 $-C(R^{5s})_3$ 、 $-C(R^{5s})_2OH$ 又は $-L-R^{5s}$ であり；

各BAは、独立に、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン及びウラシルから選択される任意選択で置換又は保護されている核酸塩基であり；

各環Aは、独立に、1つ以上の酸素原子を有する任意選択で置換されている5～7員環の単環式又は二環式飽和環であり；及び

各 L^P は、独立に、式Iの構造を有し、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

20

【0197】

一部の実施形態において、 R^E は、本明細書に記載される通りの5'-末端基である。一部の実施形態において、 R^E は、 $-C(R^{5s})_3$ 、 $-L-P^{DB}$ 、 $-C(R^{5s})_2OH$ 、 $-L-R^{5s}$ 若しくは $-L-P^{5s}-L-R^{5s}$ 又はその塩形態であり、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OH$ である。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(OR)(SR)$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(SH)(OH)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $(E)-CH=CHP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $(E)-CH=CHP(O)(OH)_2$ である。

30

【0198】

一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OH$ である。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(R)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(OH)_2$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(OR)(SR)$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH_2OP(O)(SH)(OH)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $(E)-CH=CHP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各Rは、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $(E)-CH=CHP(O)(OH)_2$ である。

40

【0199】

一部の実施形態において、 R^E は $-CH(R^{5s})-OH$ であり、式中、 R^{5s} は本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH(R^{5s})-OP(O)(R)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各 R^{5s} 及びRは、独立に、本開示に記載さ

50

れる通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH(R^{5s})-OP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各 R^{5s} 及び R は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-CH(R^{5s})-OP(O)(OH)_2$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-CH(R^{5s})-OP(O)(OR)(SR)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-CH(R^{5s})-OP(O)(OH)(SH)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-(R)-CH(R^{5s})-OH$ であり、式中、 R^{5s} は本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-(R)-CH(R^{5s})-OP(O)(R)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各 R^{5s} 及び R は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-(R)-CH(R^{5s})-OP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各 R^{5s} 及び R は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-(R)-CH(R^{5s})-OP(O)(OH)_2$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-(R)-CH(R^{5s})-OP(O)(OR)(SR)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-(R)-CH(R^{5s})-OP(O)(OH)(SH)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-(S)-CH(R^{5s})-OH$ であり、式中、 R^{5s} は本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-(S)-CH(R^{5s})-OP(O)(R)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各 R^{5s} 及び R は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-(S)-CH(R^{5s})-OP(O)(OR)_2$ 又はその塩形態であり、式中、各 R^{5s} 及び R は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^E は $-(S)-CH(R^{5s})-OP(O)(OH)_2$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-(S)-CH(R^{5s})-OP(O)(OR)(SR)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^E は $-(S)-CH(R^{5s})-OP(O)(OH)(SH)$ 又はその塩形態である。一部の実施形態において、 R^{5s} は、任意選択で置換されている C_1 、 C_2 、 C_3 又は C_4 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{5s} は、 C_1 、 C_2 、 C_3 又は C_4 脂肪族又はハロ脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{5s} は、任意選択で置換されている $-CH_3$ である。一部の実施形態において、 R^{5s} は $-CH_3$ である。

10

20

30

40

50

【0200】

一部の実施形態では、 BA は、 $C_3 \sim 30$ 脂環式、 $C_6 \sim 30$ アリール、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_5 \sim 30$ ヘテロアリール、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_3 \sim 30$ ヘテロシクリル、天然の核酸塩基部分並びに修飾核酸塩基部分から選択される任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、 BA は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_5 \sim 30$ ヘテロアリール、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_3 \sim 30$ ヘテロシクリル、天然の核酸塩基部分並びに修飾核酸塩基部分から選択される任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、 BA は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_5 \sim 30$ ヘテロアリール、天然の核酸塩基部分並びに修飾核酸塩基部分から選択される任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、 BA は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換された $C_5 \sim 30$ ヘテロアリールである。一部の実施形態では、 BA は、任意選択で置換された天然の核酸塩基及びその互変異性体である。一部の実施形態では、 BA は、保護された天然の核酸塩基及びその互変異性体である。オリゴヌクレオチド合成のための様々な核酸塩基保護基が知られており、それらを本開示に従って使用することができる。一部の実施形態では、 BA は、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン及びウラシル並びにそれらの互変異性体から選択される、任意選択で置換された核酸塩基である。一部の実施形態では、 BA は、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン及びウラシル並びにそれらの互変異性体から選択される、任意選択で保護された核酸塩基である。

【0201】

一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された $C_3 \sim 30$ 脂環式基である。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された $C_6 \sim 30$ アリールである。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された $C_3 \sim 30$ ヘテロシクリルである。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された $C_5 \sim 30$ ヘテロアリールである。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された天然の塩基部分である。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された修飾塩基部分である。BAは、 $C_3 \sim 30$ 脂環式基、 $C_6 \sim 30$ アリール、 $C_3 \sim 30$ ヘテロシクリル及び $C_5 \sim 30$ ヘテロアリールから選択される、任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、BAは、 $C_3 \sim 30$ 脂環式基、 $C_6 \sim 30$ アリール、 $C_3 \sim 30$ ヘテロシクリル、 $C_5 \sim 30$ ヘテロアリール及び天然の核酸塩基部分から選択される、任意選択で置換された基である。

10

【0202】

一部の実施形態では、BAは、芳香環を介して連結される。一部の実施形態では、BAは、ヘテロ原子を介して連結される。一部の実施形態では、BAは、芳香環の環ヘテロ原子を介して連結される。一部の実施形態では、BAは、芳香環の環窒素原子を介して連結される。

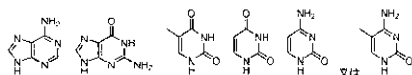
【0203】

一部の実施形態では、BAは、天然の核酸塩基部分である。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された天然の核酸塩基部分である。一部の実施形態では、BAは、置換された天然の核酸塩基部分である。一部の実施形態では、BAは、天然の核酸塩基A、T、C、U又はGである。一部の実施形態では、BAは、天然の核酸塩基A、T、C、U及びGから選択される、任意選択で置換された基である。

20

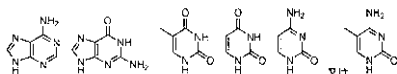
【0204】

一部の実施形態では、BAは、

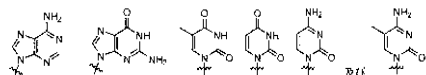


から-Hを除去することにより形成される、任意選択で置換された基又はその互変異性体である。一部の実施形態では、BAは、任意選択で置換された基であり、この基は、

30

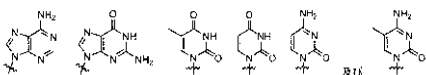


から-Hを除去することにより形成される。一部の実施形態では、BAは、

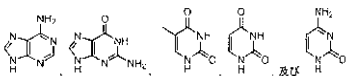


から選択される任意選択で置換された基並びにその互変異性体である。一部の実施形態では、BAは、

40

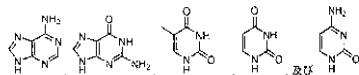


から選択される、任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、BAは、



から-Hを除去することにより形成される、任意選択で置換された基並びにその互変異性体である。

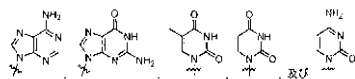
一部の実施形態では、BAは、



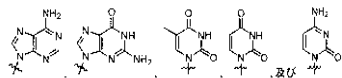
から-Hを除去することにより形成される、任意選択で置換された基である。一部の実施

50

形態では、B Aは、



から選択される、任意選択で置換された基並びにその互変異性体である。一部の実施形態では、B Aは、



から選択される、任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



又はその互変異性体である。

一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



又はその互変異性体である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



又はその互変異性体である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



又はその互変異性体である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



又はその互変異性体である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、B A は、



である。一部の実施形態では、B A は、



10

である。一部の実施形態では、B A は、



である。一部の実施形態では、B A は、

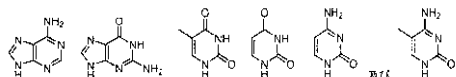


である。一部の実施形態では、B A は、

20

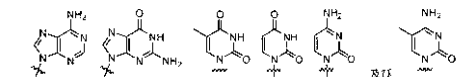


である。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチド、例えば式V I I Iのオリゴヌクレオチドの5'-末端ヌクレオシド単位のB Aは、任意選択で置換された基であり、この基は、

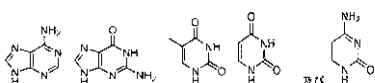


から-Hを除去することにより形成される。一部の実施形態では、5'-末端ヌクレオシド単位のB Aは、

30

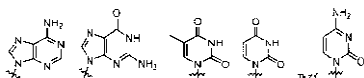


から選択される、任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、5'-末端ヌクレオシド単位のB Aは、任意選択で置換された基であり、この基は、



から-Hを除去することにより形成される。一部の実施形態では、5'-末端ヌクレオシド単位のB Aは、

40



から選択される、任意選択で置換された基である。一部の実施形態では、5'-末端ヌクレオシド単位のB Aは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、5'-末端ヌクレオシド単位のB Aは、任意選択で置換さ

50

れた



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、任意選択で置換された



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、



である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、



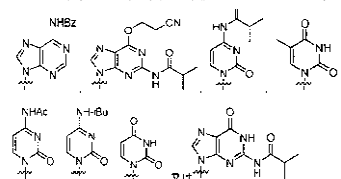
である。一部の実施形態では、5'末端ヌクレオシド単位のBAは、



である。

【0205】

一部の実施形態では、BAは、



である。一部の実施形態では、BAは、

10

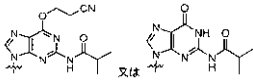
20

30

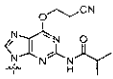
40



である。一部の実施形態では、B Aは、

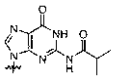


である。一部の実施形態では、B Aは、



10

である。一部の実施形態では、B Aは、



である。一部の実施形態では、B Aは、



である。一部の実施形態では、B Aは、

20



である。一部の実施形態では、B Aは、



である。一部の実施形態では、B Aは、



30

である。一部の実施形態では、B Aは、



である。一部の実施形態では、保護基は、-A cである。一部の実施形態では、保護基は、-B zである。一部の実施形態では、保護基は、核酸塩基に対する-i B uである。

【0206】

一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換されたプリン塩基残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護プリン塩基残基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換されたアデニン残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護アデニン残基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換されたグアニン残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護グアニン残基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換されたシトシン残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護シトシン残基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換されたチミン残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護チミン残基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換されたウラシル残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護ウラシル残基である。一部の実施形態では、B Aは、任意選択で置換された5-メチルシトシン残基である。一部の実施形態では、B Aは、保護5-メチルシトシン残基である。

40

【0207】

一部の実施形態では、B Aは、オリゴヌクレオチド調製に用いられるような保護残基で

50

ある。一部の実施形態では、BAは、米国特許第2011/0294124号明細書、米国特許第2015/0211006号明細書、米国特許第2015/0197540号明細書及び国際公開第2015/107425号パンフレットに示される塩基残基であり、それらの各々は、参照により本明細書に援用される。

【0208】

一部の実施形態では、BAは、国際公開第2017/192679号パンフレットに示される修飾核酸塩基である。

【0209】

一部の実施形態では、各 R^S は、本開示に記載される通り、独立に、 $-H$ 、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-L^S-R'$ 、 $-L^S-Si(R)_3$ 、 $-L^S-OR'$ 、 $-L^S-SR'$ 、 $-L^S-N(R')_2$ 、 $-O-L^S-R'$ 、 $-O-L^S-Si(R)_3$ 、 $-O-L^S-OR'$ 、 $-O-L^S-SR'$ 又は $-O-L^S-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-H$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-H$ ではない。

10

【0210】

一部の実施形態では、 R^S は、 R' であり、ここで、 R は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 R^S は、 R であり、ここで、 R は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 R^S は、任意選択で置換された $C_{1\sim30}$ ヘテロ脂肪族である。一部の実施形態では、 R^S は、1つ又は複数のケイ素原子である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-CH_2Si(Ph)_2CH_3$ である。

20

【0211】

一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-R'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-R'$ であり、ここで、 $-L^S-$ は、二価であり、任意選択で置換された $C_{1\sim30}$ ヘテロ脂肪族基である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-CH_2Si(Ph)_2CH_3$ である。

【0212】

一部の実施形態では、 R^S は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-Si(R)_3$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-Si(R)_3$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-R'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-L^S-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-O-L^S-R'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-O-L^S-Si(R)_3$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-O-L^S-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-O-L^S-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-O-L^S-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 R^S は、本開示に記載される通りの2'-修飾である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-OR$ であり、ここで、 R は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 R^S は、 $-OR$ であり、ここで、 R は、任意選択で置換された $C_{1\sim6}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 R^S は、 $-OCH_2CH_2OMe$ である。

30

40

【0213】

一部の実施形態では、 s は、0~20である。一部の実施形態では、 s は、1~20である。一部の実施形態では、 s は、1~5である。一部の実施形態では、 s は、1である。一部の実施形態では、 s は、2である。一部の実施形態では、 s は、3である。一部の実施形態では、 s は、4である。一部の実施形態では、 s は、5である。一部の実施形態

50

では、s は、6 である。一部の実施形態では、s は、7 である。一部の実施形態では、s は、8 である。一部の実施形態では、s は、9 である。一部の実施形態では、s は、10 である。一部の実施形態では、s は、11 である。一部の実施形態では、s は、12 である。一部の実施形態では、s は、13 である。一部の実施形態では、s は、14 である。一部の実施形態では、s は、15 である。一部の実施形態では、s は、16 である。一部の実施形態では、s は、17 である。一部の実施形態では、s は、18 である。一部の実施形態では、s は、19 である。一部の実施形態では、s は、20 である。

【0214】

一部の実施形態では、R^s は、L であり、ここで、L は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、L は、二価の任意選択で置換されたメチレン基である。

10

【0215】

本明細書に記載される通り、各 L は、独立に、共有結合又は C₁ ~ C₃₀ 脂肪族基並びに酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される 1 ~ 10 個のヘテロ原子を有する C₁ ~ C₃₀ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1 つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁ ~ C₆ アルキレン、C₁ ~ C₆ アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR') [B(R')₃]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-又は-OP(OR') [B(R')₃] O-で置換されており；1 つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、C_y^Lで置換されている。

20

【0216】

一部の実施形態では、L は、共有結合又は C₁ ~ C₃₀ 脂肪族基並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1 ~ 10 個のヘテロ原子を有する C₁ ~ C₃₀ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1 つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁ ~ C₆ アルキレン、C₁ ~ C₆ アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR') [B(R')₃]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-又は-OP(OR') [B(R')₃] O-から選択される任意選択で置換された基で置換されており；1 つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、C_y^Lで置換されている。一部の実施形態では、L は、共有結合又は二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐 C₁ ~ C₃₀ 脂肪族基であり、ここで、1 つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁ ~ C₆ アルキレン、C₁ ~ C₆ アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)

30

40

50

$N(R')$ —、— $N(R')$ $C(O)O$ —、— $S(O)$ —、— $S(O)_2$ —、— $S(O)_2$ $N(R')$ —、— $C(O)S$ —、— $C(O)O$ —、— $P(O)(OR')$ —、— $P(O)(SR')$ —、— $P(O)(R')$ —、— $P(O)(NR')$ —、— $P(S)(OR')$ —、— $P(S)(SR')$ —、— $P(S)(R')$ —、— $P(S)(NR')$ —、— $P(R')$ —、— $P(OR')$ —、— $P(SR')$ —、— $P(NR')$ —、— $P(OR')$ [$B(R')_3$]—、— $OP(O)(OR')O$ —、— $OP(O)(SR')O$ —、— $OP(O)(R')O$ —、— $OP(O)(NR')O$ —、— $OP(OR')O$ —、— $OP(SR')O$ —、— $OP(NR')O$ —、— $OP(R')O$ —又は— $OP(OR')$ [$B(R')_3$] O —から選択される任意選択で置換された基で置換されており；1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 Cy^L で置換されている。一部の実施形態では、 L は、共有結合又は酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 30}$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、— $C\equiv C$ —、— $C(R')_2$ —、— O —、— S —、— $S-S$ —、— $N(R')$ —、— $C(O)$ —、— $C(S)$ —、— $C(NR')$ —、— $C(O)N(R')$ —、— $N(R')C(O)N(R')$ —、— $N(R')C(O)O$ —、— $S(O)$ —、— $S(O)_2$ —、— $S(O)_2N(R')$ —、— $C(O)S$ —、— $C(O)O$ —、— $P(O)(OR')$ —、— $P(O)(SR')$ —、— $P(O)(R')$ —、— $P(O)(NR')$ —、— $P(S)(OR')$ —、— $P(S)(SR')$ —、— $P(S)(R')$ —、— $P(S)(NR')$ —、— $P(R')$ —、— $P(OR')$ —、— $P(SR')$ —、— $P(NR')$ —、— $P(OR')$ [$B(R')_3$]—、— $OP(O)(OR')O$ —、— $OP(O)(SR')O$ —、— $OP(O)(R')O$ —、— $OP(O)(NR')O$ —、— $OP(OR')O$ —、— $OP(SR')O$ —、— $OP(NR')O$ —、— $OP(R')O$ —又は— $OP(OR')$ [$B(R')_3$] O —から選択される任意選択で置換された基で置換されており；1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 Cy^L で置換されている。一部の実施形態では、 L は、共有結合又は $C_{1\sim 30}$ 脂肪族基並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 30}$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、— $C\equiv C$ —、— $C(R')_2$ —、— O —、— S —、— $S-S$ —、— $N(R')$ —、— $C(O)$ —、— $C(S)$ —、— $C(NR')$ —、— $C(O)N(R')$ —、— $N(R')C(O)N(R')$ —、— $N(R')C(O)O$ —、— $S(O)$ —、— $S(O)_2$ —、— $S(O)_2N(R')$ —、— $C(O)S$ —又は— $C(O)O$ —から選択される任意選択で置換された基で置換されており；1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 Cy^L で置換されている。一部の実施形態では、 L は、共有結合又は $C_{1\sim 10}$ 脂肪族基並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 10}$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、— $C(R')_2$ —、— O —、— S —、— $S-S$ —、— $N(R')$ —、— $C(O)$ —、— $C(S)$ —、— $C(NR')$ —、— $C(O)N(R')$ —、— $N(R')C(O)N(R')$ —、— $N(R')C(O)O$ —、— $S(O)$ —、— $S(O)_2$ —、— $S(O)_2N(R')$ —、— $C(O)S$ —及び— $C(O)O$ —から選択される任意選択で置換された基で置換されており、また、1つ若しくは複数の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 Cy^L で置換されている。一部の実施形態では、 L は、共有結合又は $C_{1\sim 10}$ 脂肪族基並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 10}$ ヘテロ脂肪族基から選択される二価の、任意選択で置換された、直鎖若しくは分岐基であり、ここで、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、— $C(R')_2$ —、— O —、— S —、— $S-S$ —、— $N(R')$ —、— $C(O)$ —、— $C(S)$ —、— $C(NR')$ —、

10

20

30

40

50

—C(O)N(R')—、—N(R')C(O)N(R')—、—N(R')C(O)O—、—S(O)—、—S(O)₂—、—S(O)₂N(R')—、—C(O)S—及び—C(O)O—から選択される任意選択で置換された基で置換されている。

【0217】

一部の実施形態では、Lは、二重結合である。一部の実施形態では、Lは、任意選択で置換された二価C₁～C₃₀脂肪族である。一部の実施形態では、Lは、ホウ素、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された二価C₁～C₃₀ヘテロ脂肪族である。

【0218】

一部の実施形態では、一価又は二価又は多価何れかの脂肪族部分、例えばL、Rなどの部分は、その範囲内の（あらゆる任意選択の置換前の）任意の数の炭素原子、例えばC₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、C₁₂、C₁₃、C₁₄、C₁₅、C₁₆、C₁₇、C₁₈、C₁₉、C₂₀、C₂₁、C₂₂、C₂₃、C₂₄、C₂₅、C₂₆、C₂₇、C₂₈、C₂₉、C₃₀などを含有し得る。一部の実施形態では、一価又は二価又は多価何れかのヘテロ脂肪族部分、例えばL、Rなどの部分は、その範囲内の（あらゆる任意選択の置換前の）任意の数の炭素原子、例えばC₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁、C₁₂、C₁₃、C₁₄、C₁₅、C₁₆、C₁₇、C₁₈、C₁₉、C₂₀、C₂₁、C₂₂、C₂₃、C₂₄、C₂₅、C₂₆、C₂₇、C₂₈、C₂₉、C₃₀などを含有し得る。

【0219】

一部の実施形態では、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、—O—、—S—、—N(R')—、—C(O)—、—S(O)—、—S(O)₂—、—P(O)(OR')—、—P(O)(SR')—、—P(S)(OR')—又は—P(S)(OR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—O—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—S—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—N(R')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—C(O)—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—S(O)—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—S(O)₂—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(O)(OR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(O)(SR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(O)(R')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(O)(NR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(S)(OR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(S)(SR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(S)(R')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(S)(NR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(R')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(OR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(SR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(NR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—P(OR') [B(R')₃]—で置換されている。一部の実施形態では、1つ若しくは複数のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、—O—、—S—、—N(R')—、—C(O)—、—S(O)—、—S(O)₂—、—P(O)(OR')—、—P(O)(SR')—、—P(S)(OR')—又は—P(S)(OR')—で置換されている。一部の実施形態では、メチレン単位は、—OP(O)(OR')O—、—OP(O)(SR')O—、—OP(O)(R')O—、—OP(O)(NR')O—、—OP(OR')O—、—OP(SR')O—、—OP(NR')O—、—OP(R')O—又は—OP(OR') [B(R')₃] O—で置換されており、それらの各々は、独立に、ヌクレオチド間結合であり得る。

【0220】

一部の実施形態では、Lは、例えば、Rに連結されているとき、—CH₂—である。一

10

20

30

40

50

部の実施形態では、Lは、 $-C(R)_2-$ であり、ここで、少なくとも1つのRは、水素ではない。一部の実施形態では、Lは、 $-CH_2R-$ である。一部の実施形態では、Rは、水素である。一部の実施形態では、Lは、 $-CH_2R-$ であり、ここで、Rは、水素ではない。一部の実施形態では、 $-CH_2R-$ のCは、キラルである。一部の実施形態では、Lは、 $-(R)-CH_2R-$ であり、ここで、 $-CH_2R-$ のCは、キラルである。一部の実施形態では、Lは、 $-(S)-CH_2R-$ であり、ここで、 $-CH_2R-$ のCは、キラルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 5$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 5$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 4$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 4$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 3$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_1 \sim 3$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された C_2 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたメチルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 5$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 5$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 4$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 4$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 3$ 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 3$ アルキルである。一部の実施形態では、Rは、 C_2 脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、メチルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 6$ ハロ脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 6$ ハロアルキルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 5$ ハロ脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 5$ ハロアルキルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 4$ ハロ脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 4$ ハロアルキルである。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 3$ ハロ脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、 $C_1 \sim 3$ ハロアルキルである。一部の実施形態では、Rは、 C_2 ハロ脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、1つ又は複数のハロゲンで置換されたメチルである。一部の実施形態では、Rは、 $-CF_3$ である。一部の実施形態では、Lは、任意選択で置換された $-CH=CH-$ である。一部の実施形態では、Lは、任意選択で置換された $(E)-CH=CH-$ である。一部の実施形態では、Lは、任意選択で置換された $(Z)-CH=CH-$ である。一部の実施形態では、Lは、 $-C \equiv C-$ である。

10

20

30

【0221】

一部の実施形態では、Lは、少なくとも1つのリン原子を含む。一部の実施形態では、Lの少なくとも1つのメチレン単位は、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、 $-P(OR')$ [$B(R')_3$]、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 又は $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ で置換されている。

40

【0222】

一部の実施形態では、 Cy^L は、 $C_3 \sim 20$ 脂環、 $C_6 \sim 20$ アリール環並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～20員ヘテロアリール環並びに酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～20員ヘテロシクリル環から選択される、任意選択で置換された四価の基である。

【0223】

一部の実施形態では、 Cy^L は、単環式である。一部の実施形態では、 Cy^L は、二環式である。一部の実施形態では、 Cy^L は、多環式である。

50

【0224】

一部の実施形態では、 Cy^L は、飽和である。一部の実施形態では、 Cy^L は、部分不飽和である。一部の実施形態では、 Cy^L は、芳香族である。一部の実施形態では、 Cy^L は、飽和環部分であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、 Cy^L は、部分不飽和環部分であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、 Cy^L は、芳香環部分であるか又はそれを含む。

【0225】

一部の実施形態では、 Cy^L は、本開示に記載される通り、任意選択で置換された $C_3 \sim 20$ 脂環（例えば、四価を除くRについて記載されるもの）である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換された飽和 $C_3 \sim 20$ 脂環である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換された部分不飽和 $C_3 \sim 20$ 脂環である。脂環は、本開示に記載されるような様々なサイズのものであり得る。一部の実施形態では、環は、3、4、5、6、7、8、9又は10員である。一部の実施形態では、環は、3員である。一部の実施形態では、環は、4員である。一部の実施形態では、環は、5員である。一部の実施形態では、環は、6員である。一部の実施形態では、環は、7員である。一部の実施形態では、環は、8員である。一部の実施形態では、環は、9員である。一部の実施形態では、環は、10員である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたシクロプロピル部分である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたシクロブチル部分である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたシクロペンチル部分である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたシクロヘキシル部分である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたシクロヘプチル部分である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたシクロオクタニル部分である。一部の実施形態では、脂環は、シクロアルキル環である。一部の実施形態では、脂環は、単環式である。一部の実施形態では、脂環は、二環式である。一部の実施形態では、脂環は、多環式である。一部の実施形態では、環は、より多くの原子価を有するRについて本開示に記載されるような脂環式部分である。

【0226】

一部の実施形態では、 Cy^L は、任意選択で置換された6～20員アリール環である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換された四価フェニル部分である。一部の実施形態では、環は、四価フェニル部分である。一部の実施形態では、環は、任意選択で置換されたナフタレン部分である。環は、本開示に記載される通り、様々なサイズであり得る。一部の実施形態では、アリール環は、6員である。一部の実施形態では、アリール環は、10員である。一部の実施形態では、アリール環は、14員である。一部の実施形態では、アリール環は、単環式である。一部の実施形態では、アリール環は、二環式である。一部の実施形態では、アリール環は、多環式である。一部の実施形態では、環は、より多くの原子価を有するRについて本開示に記載されるようなアリール部分である。

【0227】

一部の実施形態では、 Cy^L は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～20員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、 Cy^L は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～20員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、本開示に記載される通り、ヘテロアリール環は、様々なサイズであり得、また、様々な数及び／又は種類のヘテロ原子を含有し得る。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、1個のヘテロ原子のみを含む。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、2個以上のヘテロ原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、1種のヘテロ原子のみを含む。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、2種以上のヘテロ原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、5員である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、6員である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、8員である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、9員である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、10員である。一部の実施形態では、ヘテロアリール

環は、単環式である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、二環式である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、多環式である。一部の実施形態では、ヘテロアリール環は、核酸塩基部分、例えばA、T、C、G、Uなどである。一部の実施形態では、環は、より多くの原子価を有するRについて本開示に記載されるようなヘテロアリール部分である。

【0228】

一部の実施形態では、 Cy^L は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、3～20員ヘテロシクリル環である。一部の実施形態では、 Cy^L は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、3～20員ヘテロシクリル環である。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、飽和である。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、部分不飽和である。ヘテロシクリル環は、本開示に記載される通り、様々なサイズであり得る。一部の実施形態では、環は、3、4、5、6、7、8、9又は10員である。一部の実施形態では、環は、3員である。一部の実施形態では、環は、4員である。一部の実施形態では、環は、5員である。一部の実施形態では、環は、6員である。一部の実施形態では、環は、7員である。一部の実施形態では、環は、8員である。一部の実施形態では、環は、9員である。一部の実施形態では、環は、10員である。ヘテロシクリル環は、様々な数及び／又は種類のヘテロ原子を含有し得る。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、1個のヘテロ原子のみを含む。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、2個以上のヘテロ原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、1種のヘテロ原子のみを含む。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、2種以上のヘテロ原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、単環式である。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、二環式である。一部の実施形態では、ヘテロシクリル環は、多環式である。一部の実施形態では、環は、より多くの原子価を有するRについて本開示に記載されるようなヘテロシクリル部分である。

【0229】

当業者には容易に理解されるように、本開示には多くの好適な環部分が詳細に記載されており、これらは、本開示に従って使用することができ、そうしたものとして、例えばRについて記載したもの（これは、 Cy^L の場合、より多くの原子価を有し得る）などがある。

【0230】

一部の実施形態では、 Cy^L は、核酸中の糖部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、任意選択で置換されたフラノース部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、ピラノース部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、DNAに見出される、任意選択で置換されたフラノース部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、RNAに見出される、任意選択で置換されたフラノース部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、任意選択で置換された2'-デオキシリボフラノース部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、任意選択で置換されたリボフラノース部分である。一部の実施形態では、置換は、本開示に記載されるような糖修飾を提供する。一部の実施形態では、任意選択で置換された2'-デオキシリボフラノース部分及び／又は任意選択で置換されたリボフラノース部分は、2'-一位に置換を含む。一部の実施形態では、2'-一位は、本開示に記載される通りの2'-修飾である。一部の実施形態では、2'-修飾は、-Fである。一部の実施形態では、2'-修飾は、-ORであり、Rは、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、Rは、水素ではない。一部の実施形態では、 Cy^L は、修飾糖部分、例えばLNA中の糖部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、修飾糖部分、例えばENA中の糖部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、ヌクレオチド間結合と核酸塩基を連結するオリゴヌクレオチドの末端糖部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、例えば、その末端が、任意選択で、リンカーを介して固体支持体に連結される場合、オリゴヌクレオチドの末端糖部分である。一部の実施形態では、 Cy^L は、2つのヌクレオチド間結合と核酸塩基を連結する糖部分である。糖及び糖部分の例は、本開示に詳細に記載されている。

【0231】

一部の実施形態では、 Cy^L は、核酸塩基部分である。一部の実施形態では、核酸塩基は、A、T、C、G、Uなど、天然の核酸塩基である。一部の実施形態では、核酸塩基は、修飾核酸塩基である。一部の実施形態では、 Cy^L は、A、T、C、G、U及び5mCから選択される任意選択で置換された核酸塩基部分である。核酸塩基及び核酸塩基部分の例は、本開示に詳細に記載されている。

【0232】

一部の実施形態では、2つの Cy^L 部分は、互いに結合されており、ここで、一方の Cy^L は、糖部分であり、他方は、核酸塩基部分である。一部の実施形態では、こうした糖部分及び核酸塩基部分は、ヌクレオシド部分を形成する。一部の実施形態では、ヌクレオシド部分は、天然である。一部の実施形態では、ヌクレオシド部分は、修飾されている。一部の実施形態では、 Cy^L は、アデノシン、5-メチルウリジン、シチジン、グアノシン、ウリジン、5-メチルシチジン、2'-デオキシアデノシン、チミジン、2'-デオキシシチジン、2'-デオキシグアノシン、2'-デオキシウリジン及び5-メチル-2'-デオキシシチジンから選択される任意選択で置換された天然ヌクレオシド部分である。ヌクレオシド及びヌクレオシド部分の例は、本開示に詳細に記載されている。

【0233】

一部の実施形態では、例えば、 L^S において、 Cy^L は、ヌクレオチド間結合、例えば $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 、 $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ などに結合した、任意選択で置換されたヌクレオシド部分であり、これは、任意選択で置換されたヌクレオチド単位を形成し得る。ヌクレオチド及びヌクレオシド部分の例は、本開示に詳細に記載されている。

【0234】

一部の実施形態では、各環Aは、独立に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1~10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された3~20員単環、二環若しくは多環である。一部の実施形態では、環Aは、任意選択で置換された環であり、この環は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、環は、



である。一部の実施形態では、環は、



である。一部の実施形態では、環Aは、糖部分の環であるか又はそれ含む。一部の実施形態では、環Aは、修飾糖部分の環であるか又はそれ含む。

【0235】

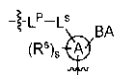
一部の実施形態では、糖単位は、構造



のものであり、ここで、各変数は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、ヌクレオシド単位は、構造



のものであり、ここで、各変数は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、ヌクレオチド単位、例えば Nu^M 、 Nu^O などは、構造



のものであり、ここで、各変数は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、Nu^Oの場合、L^Pは、天然のリン酸結合であり、L^Sは、本開示に記載される通り、 $-C(R^{5S})_2-$ である。

【0236】

一部の実施形態では、L^Sは、 $-C(R^{5S})_2-$ であり、

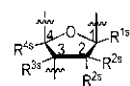


10

は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、



は、



であり、BAは、C1で連結され、R^{1S}、R^{2S}、R^{3S}、R^{4S}及びR^{5S}の各々は 20
独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、



は、



であり、ここで、R^{2S}は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、

30



は、



であり、ここで、R^{2S}は、 $-OH$ ではない。一部の実施形態では、



40

は、



であり、ここで、R^{2S}及びR^{4S}は、Rであり、2つのR基は、それらの介在原子と一緒に
なって、任意選択で置換された環を形成する。一部の実施形態では、



、即ち環Aは、任意選択で置換された

50



である。一部の実施形態では、



、即ち環 A は、



である。一部の実施形態では、



、即ち環 A は、



である。

【0237】

一部の実施形態では、 R^1S 、 R^2S 、 R^3S 、 R^4S 及び R^5S の各々は、独立に、 R^S であり、ここで、 R^S は、本開示に記載される通りである。

【0238】

一部の実施形態では、 R^1S は、 R^S であり、ここで、 R^S は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 R^1S は、 $1'$ 位にある (BA は、 $1'$ 位にある)。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-H$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-L-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $L-L-N(R')$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-N(R')$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_{1\sim6}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_{1\sim6}$ アルキルである。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、水素である。一部の実施形態では、一方の $1'$ 位の R^S は、水素であり、他方の $1'$ 位の R^S は、本明細書に記載の通り、水素ではない。一部の実施形態では、両方の $1'$ 位の R^S が、水素である。一部の実施形態では、一方の $1'$ 位の R^S は、水素であり、他方の $1'$ 位は、ヌクレオチド間結合に連結されている。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-L-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $L-L-N(R')$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-N(R')$ である。一部の実施形態では、 R^1S は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された C

10

20

30

40

50

$1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-OH$ である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、水素である。一部の実施形態では、一方の $1'$ 位の $R^1 S$ は、水素であり、他方の $1'$ 位の $R^1 S$ は、本明細書に記載の通り、水素ではない。一部の実施形態では、両方の $1'$ 位の $R^1 S$ が、水素である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-O-L^S-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-O-L^S-OR'$ であり、ここで、 L^S は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキレンであり、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-O-($ 任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキレン $)-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-O-($ 任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキレン $)-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^1 S$ は、 $-OCH_2CH_2OMe$ である。

10

【0239】

一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 R^S であり、ここで、 R^S は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 $2'$ 位に 2 つの $R^2 S$ があるとき、一方の $R^2 S$ は、 $-H$ であり、他方はそうではない。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $2'$ 位にある (B は、 $1'$ 位にある)。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-H$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $L-L-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、水素である。一部の実施形態では、一方の $2'$ 位の R^S は、水素であり、他方の $2'$ 位の R^S は、本明細書に記載の通り、水素ではない。一部の実施形態では、両方の $2'$ 位の R^S が、水素である。一部の実施形態では、一方の $2'$ 位の R^S は、水素であり、他方の $2'$ 位は、ヌクレオチド間結合に連結されている。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-L-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-N(R')_2$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OH$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、水素である。一部の実施形態では、一方の $2'$ 位の $R^2 S$ は、水素であり、他方の $2'$ 位の

20

30

40

50

$R^2 S$ は、本明細書に記載の通り、水素ではない。一部の実施形態では、両方の 2' 位の $R^2 S$ が、水素である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-O-L^S-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-O-L^S-OR'$ であり、ここで、 L^S は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキレンであり、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-O-($ 任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキレン $)-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-O-($ 任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキレン $)-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^2 S$ は、 $-OCH_2CH_2OMe$ である。

【0240】

一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 R^S であり、ここで、 R^S は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、3' 位にある (BA は、1' 位にある)。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-H$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-N(R')$ $_2$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-N(R')$ $_2$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、水素である。一部の実施形態では、一方の 3' 位の R^S は、水素であり、他方の 3' 位の R^S は、本明細書に記載の通り、水素ではない。一部の実施形態では、両方の 3' 位の R^S が、水素である。一部の実施形態では、一方の 3' 位の R^S は、水素であり、他方の 3' 位は、ヌクレオチド間結合に連結されている。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-NO_2$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-L-N(R')$ $_2$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-N(R')$ $_2$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OH$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^3 S$ は、水素である。

【0241】

一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 R^S であり、ここで、 R^S は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、4' 位にある (BA は、1' 位にある)。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-H$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-F$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実施形態で

は、 $R^4 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-NO_2$ である。一部の
 実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-R'$ で
 ある。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 R^4
 S は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-SR'$ である。一部の実
 施形態では、 $R^4 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-N(R$
 $)_2$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-N(R')$ である。一部の実施形態
 では、 $R^4 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ 脂肪
 族である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択
 で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-OMe$ である
 。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、水
 素である。一部の実施形態では、一方の 4'-位の R^S は、水素であり、他方の 4'-位の
 R^S は、本明細書に記載の通り、水素ではない。一部の実施形態では、両方の 4'-位の
 R^S が、水素である。一部の実施形態では、一方の 4'-位の R^S は、水素であり、他
 方の 4'-位は、ヌクレオチド間結合に連結されている。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は
 、 $-F$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 R
 $^4 S$ は、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態で
 は、 $R^4 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実
 施形態では、 $R^4 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-NO_2$ である
 。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、
 $-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態で
 は、 $R^4 S$ は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-L-SR'$ である。
 一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $L-L-N$
 (R') である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-N(R')$ である。一部の
 実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された C
 $_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は
 、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-O$
 H である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 R^4
 S は、 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^4 S$ は、水素である。

【0242】

一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 R^S であり、ここで、 R^S は、本開示に記載される通
 りである。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 R' であり、ここで、 R' は、本開示に記載
 される通りである。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-H$ である。一部の実施形態では、
 2つ以上の $R^5 S$ は、同じ炭素原子に連結されており、少なくとも1つは、 $-H$ ではない
 。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-H$ ではない。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-F$
 である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-Cl$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は
 、 $-Br$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-I$ である。一部の実施形態では、 R
 $^5 S$ は、 $-CN$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-N_3$ である。一部の実施形態
 では、 $R^5 S$ は、 $-NO$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-NO_2$ である。一部
 の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-L-R'$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-R'$
 である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-L-OR'$ である。一部の実施形態では、 R
 $^5 S$ は、 $-OR'$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-L-SR'$ である。一部の
 実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-SR'$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $L-L-N$
 (R') である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-N(R')$ である。一部の実施
 形態では、 $R^5 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意選択で置換された $C_1 \sim 6$
 脂肪族である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-OR'$ であり、ここで、 R' は、任意
 選択で置換された $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-OH$ であ
 る。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、 $-OMe$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、
 $-MOE$ である。一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、水素である。

【0243】

一部の実施形態では、 $R^5 S$ は、本開示に記載される通り、任意選択で置換された C_1

～₆ 脂肪族、例えば R 又は他の変数について記載される C₁～₆ 脂肪族実施形態である。一部の実施形態では、R^{5S} は、任意選択で置換された C₁～₆ アルキルである。一部の実施形態では、R^{5S} は、メチルである。一部の実施形態では、R^{5S} は、エチルである。

【0244】

一部の実施形態では、R^{5S} は、オリゴヌクレオチド合成に好適な保護ヒドロキシル基である。一部の実施形態では、R^{5S} は、—OR' であり、ここで、R' は、任意選択で置換された C₁～₆ 脂肪族である。一部の実施形態では、R^{5S} は、DMTrO—である。本開示に従い使用される保護基の例は、広く知られている。更に別の例については、Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991 並びに国際公開第 2011/005761 号パンフレット、国際公開第 2013/012758 号パンフレット、国際公開第 2014/012081 号パンフレット、国際公開第 2015/107425 号パンフレット、国際公開第 2010/064146 号パンフレット、国際公開第 2014/010250 号パンフレット、国際公開第 2011/108682 号パンフレット、国際公開第 2012/039448 号パンフレット及び国際公開第 2012/073857 号パンフレット（それらの各々の保護基は、参照により本明細書に援用される）を参照されたい。

10

【0245】

一部の実施形態では、R^{1S}、R^{2S}、R^{3S}、R^{4S} 及び R^{5S} の 2 つ以上は、R であり、これらは、介在原子と一緒にあって、本開示に記載されるような環を形成することができる。一部の実施形態では、R^{2S} と R^{4S} は、一緒にあって環を形成する R であり、また、糖部分は、二環式糖部分、例えば LNA 糖部分であり得る。

20

【0246】

一部の実施形態では、L^S は、—C(R^{5S})₂—であり、ここで、各 R^{5S} は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、R^{5S} の一方は、H であり、他方は H ではない。一部の実施形態では、R^{5S} はどれも H ではない。一部の実施形態では、L^S は、—CHR^{5S}—であり、ここで、各 R^{5S} は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、—C(R^{5S})₂—は、糖部分の 5'—C であり、これは、任意選択で置換される。一部の実施形態では、—C(R^{5S})₂—の C は、結合リン及び糖ウィング部分に連結されている。一部の実施形態では、—C(R^{5S})₂—の C は、R 配座のものである。一部の実施形態では、—C(R^{5S})₂—の C は、S 配座のものである。本開示に記載される通り、一部の実施形態では、R^{5S} は、任意選択で置換された C₁～₆ 脂肪族であり；一部の実施形態では、R^{5S} は、メチルである。

30

【0247】

一部の実施形態では、提供される化合物は、1 つ若しくは複数の二価又は多価の、任意選択で置換された環、例えば環 A、Cy^L、一緒になった 2 つ以上の R 基（R 及び R であり得る変数（の組み合わせ））により形成されるものを含む。一部の実施形態では、環は、脂環式、アリール、ヘテロアリール又は二価若しくは多価を除く R について記載したヘテロシクリル基である。当業者には理解されるように、他の変数の要件、例えばヘテロ原子、原子価などの数が満たされれば、1 つの変数、例えば環 A について記載される環部分は、他の変数、例えば Cy^L にも適用可能であり得る。環の例を本開示に詳細に記載する。

40

【0248】

一部の実施形態では、例えば、環 A、R などにおける環は、任意選択で置換されており、これは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1～10 個のヘテロ原子を有する、3～20 員単環、二環若しくは多環である。

【0249】

一部の実施形態では、環は、その範囲内の任意のサイズ、例えば 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 若しくは 20 員

50

であり得る。

【0250】

一部の実施形態では、環は、単環式である。一部の実施形態では、環は、飽和単環式である。一部の実施形態では、環は、単環式且つ部分不飽和である。一部の実施形態では、環は、単環式且つ芳香族である。

【0251】

一部の実施形態では、環は、二環式である。一部の実施形態では、環は、多環式である。一部の実施形態では、二環又は多環は、2つ以上の単環部分を含み、それらの各々は、飽和、部分不飽和又は芳香族であり得、それらの各々は、ヘテロ原子を全く含まないか又は1～10個のヘテロ原子を含有し得る。一部の実施形態では、二環又は多環は、飽和単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、ヘテロ原子を含有しない飽和単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、1つ若しくは複数のヘテロ原子を含有する飽和単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、部分飽和単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、ヘテロ原子を含有しない部分飽和単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、1つ若しくは複数のヘテロ原子を含有する部分飽和単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、芳香族単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、ヘテロ原子を含有しない芳香族単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、1つ若しくは複数のヘテロ原子を含有する芳香族単環を含む。一部の実施形態では、二環又は多環は、飽和環と部分飽和環を含み、それらの各々は、独立に、1つ若しくは複数のヘテロ原子を含有する。一部の実施形態では、二環は、飽和環と部分飽和環を含み、それらの各々は、独立に、ヘテロ原子を含まないか又は1つ若しくは複数のヘテロ原子を含む。一部の実施形態では、二環は、芳香環と部分飽和環を含み、それらの各々は、独立に、ヘテロ原子を含まないか又は1つ若しくは複数のヘテロ原子を含む。一部の実施形態では、多環は、飽和環と部分飽和環を含み、それらの各々は、独立に、ヘテロ原子を含まないか又は1つ若しくは複数のヘテロ原子を含む。一部の実施形態では、多環は、芳香環と部分飽和環を含み、それらの各々は、独立に、ヘテロ原子を含まないか又は1つ若しくは複数のヘテロ原子を含む。一部の実施形態では、多環は、芳香環、飽和環及び部分飽和環を含み、それらの各々は、独立に、ヘテロ原子を含まないか又は1つ若しくは複数のヘテロ原子を含む。一部の実施形態では、環は、少なくとも1個のヘテロ原子を含む。一部の実施形態では、環は、少なくとも1個の窒素原子を含む。一部の実施形態では、環は、少なくとも1個の酸素原子を含む。一部の実施形態では、環は、少なくとも1個の硫黄原子を含む。

【0252】

本開示により当業者には理解されるように、環は、典型的に、任意選択で置換されている。一部の実施形態では、環は、非置換である。一部の実施形態では、環は、置換されている。一部の実施形態では、環は、その炭素原子の1つ又は複数の置換されている。一部の実施形態では、環は、そのヘテロ原子の1つ又は複数の置換されている。一部の実施形態では、環は、その炭素原子の1つ又は複数の置換及びそのヘテロ原子の1つ又は複数の置換されている。一部の実施形態では、2つ以上の置換基を同じ環原子に配置することができる。一部の実施形態では、全ての利用可能な原子が置換される。一部の実施形態では、利用可能な環原子の全てが置換されているわけではない。一部の実施形態では、環が他の構造（例えば、



の環A)に連結していることが示される、提供される構造において、「任意選択で置換された」とは、既に連結された構造の他に、存在する場合、残っている置換可能な環位置が、任意選択で置換されていることを意味する。

【0253】

一部の実施形態では、環は、二価又は多価C₃～₃₀脂環である。一部の実施形態では

、環は、二価又は多価 $C_3 \sim 20$ 脂環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 $C_3 \sim 10$ 脂環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 3～30 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 3～7 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 3 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 4 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 5 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 6 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 7 員飽和若しくは部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価シクロヘキシル環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価シクロペンチル環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価シクロブチル環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価シクロプロピル環である。

10

【0254】

一部の実施形態では、環は、二価又は多価 $C_6 \sim 30$ アリール環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価フェニル環である。

【0255】

一部の実施形態では、環は、二価又は多価 8～10 員二環式飽和、部分不飽和若しくはアリール環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 8～10 員二環式飽和環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 8～10 員二環式部分不飽和環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価 8～10 員二環式アリール環である。一部の実施形態では、環は、二価又は多価ナフチル環である。

20

【0256】

一部の実施形態では、環は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1～10 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5～30 員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される 1～10 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5～30 員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1～5 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5～30 員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される 1～5 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5～30 員ヘテロアリール環である。

30

【0257】

一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5～6 員単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、窒素、硫黄及び酸素から独立に選択される 1～3 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5～6 員単環式ヘテロアリール環である。

【0258】

一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5 員単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 6 員単環式ヘテロアリール環である。

40

【0259】

一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 8～10 員二環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～5 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する、二価又は多価 6, 6-融合ヘテロアリール環である。

【0260】

50

一部の実施形態では、環は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、二価又は多価3～30員複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価3～7員飽和若しくは部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価5～7員部分不飽和単環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価5員部分不飽和単環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価5員部分不飽和単環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価6員部分不飽和単環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1個のヘテロ原子を有する、二価又は多価3員複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価4員複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価5員複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価6員複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、二価又は多価7員複素環である。

10

20

【0261】

一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、二価又は多価7～10員二環式飽和若しくは部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、二価又は多価8～10員二環式ヘテロアリール環である。

【0262】

一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、二価又は多価5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、環は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、二価又は多価6, 6-融合ヘテロアリール環である。

30

【0263】

一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、典型的に、任意選択で置換されており、これは、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に追加ヘテロ原子を含まない単環式飽和5～7員環である。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に追加ヘテロ原子を含まない単環式飽和5員環である。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に追加ヘテロ原子を含まない単環式飽和6員環である。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に追加ヘテロ原子を含まない単環式飽和7員環である。

40

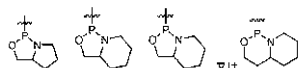
【0264】

一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子を有する、二環式、飽和、部分不飽和若しくはアリール5～30員環である。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される0～10個のヘテロ原子を有する、二環式、飽和、部分不飽和若しくはアリール5～30員環である。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、追加ヘテロ原子を含まない二環式且つ飽和8～10員二環である。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、存在する場合

50

、介在ヘテロ原子以外に、追加ヘテロ原子を含まない二環式且つ飽和 8 員二環である。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、追加ヘテロ原子を含まない二環式且つ飽和 9 員二環である。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、追加ヘテロ原子を含まない二環式且つ飽和 10 員二環である。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、二環式であり、且つ 5 員環に融合した 5 員環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、二環式であり、且つ 6 員環に融合した 5 員環を含む。一部の実施形態では、5 員環は、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び酸素原子を環原子として含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、

10



の骨格構造を有する環系を含む。

【0265】

一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 0 ～ 10 個のヘテロ原子を有する、多環式、飽和、部分不飽和若しくはアリール 3 ～ 30 員環である。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、存在する場合、介在ヘテロ原子以外に、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される 0 ～ 10 個のヘテロ原子を有する、多環式、飽和、部分不飽和若しくはアリール 3 ～ 30 員環である。

20

【0266】

一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 5 ～ 10 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 5 ～ 9 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 5 ～ 8 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 5 ～ 7 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 5 ～ 6 員単環を含む。

30

【0267】

一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 5 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 6 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 7 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 8 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 9 員単環を含む。一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、1 つ又は複数の介在窒素、リン及び／若しくは酸素原子を含む 10 員単環を含む。

40

【0268】

一部の実施形態では、一緒になった 2 つ以上の基により形成される環は、単環、二環若

50

しくは多環式であり、その環原子が、炭素原子と、介在窒素、リン及び酸素原子とから構成される5員環を含む。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、炭素原子と、介在窒素、リン及び酸素原子とから構成される6員環を含む。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、炭素原子と、介在窒素、リン及び酸素原子とから構成される7員環を含む。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、炭素原子と、介在窒素、リン及び酸素原子とから構成される8員環を含む。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、炭素原子と、介在窒素、リン及び酸素原子とから構成される9員環を含む。一部の実施形態では、一緒になった2つ以上の基により形成される環は、単環、二環若しくは多環式であり、その環原子が、炭素原子と、介在窒素、リン及び酸素原子とから構成される10員環を含む。

10

【0269】

一部の実施形態では、本明細書に記載の環は、非置換である。一部の実施形態では、本明細書に記載の環は、置換されている。一部の実施形態では、置換基は、本開示に提供される化合物の例に記載されるものから選択される。

【0270】

本明細書に記載される通り、各 L^P は、独立に、本開示に記載される通りのヌクレオチド間結合、例えば天然リン酸結合、ホスホロチオエートジエステル結合、修飾ヌクレオチド間結合、キラルなヌクレオチド間結合等である。一部の実施形態において、各 L^P は、独立に、式Iの構造を有する結合である。一部の実施形態において、 L^{3E} は $-L^S-$ 又は $-L^S-L^S-$ である。一部の実施形態において、 L^{3E} は $-L^S-$ である。一部の実施形態において、 L^{3E} は $-L^S-L^S-$ である。一部の実施形態において、 L^{3E} は共有結合である。一部の実施形態において、 L^{3E} は、オリゴヌクレオチド合成において使用されるリンカーである。一部の実施形態において、 L^{3E} は、固相オリゴヌクレオチド合成において使用されるリンカーである。各種のリンカーが公知であり、本開示において利用することができる。一部の実施形態において、リンカーはコハク酸リンカー($-O-C(O)-CH_2-CH_2-C(O)-$)である。一部の実施形態において、リンカーはオキサリルリンカー($-O-C(O)-C(O)-$)である。一部の実施形態において、 L^{3E} はスクシニル-ピペリジンリンカー(SP)リンカーである。一部の実施形態において、 L^{3E} はスクシニルリンカーである。一部の実施形態において、 L^{3E} はQ-リンカーである。

20

30

【0271】

一部の実施形態において、 R^{3E} は、 $-R'$ 、 $-L^S-R'$ 、 $-OR'$ 又は固体支持体である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-R'$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-L^S-R'$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-OR'$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は固体支持体である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-H$ である。一部の実施形態において、 $-L^3-R^{3E}$ は $-H$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-OH$ である。一部の実施形態において、 $-L^3-R^{3E}$ は $-OH$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は、任意選択で置換されている $C_1 \sim 6$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{3E} は、任意選択で置換されている $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-OR'$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-OH$ である。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-OR'$ であり、式中、 R' は水素でない。一部の実施形態において、 R^{3E} は $-OR'$ であり、式中、 R' は、任意選択で置換されている $C_1 \sim 6$ アルキルである。一部の実施形態において、 R^{3E} は3'末端キャップ(例えば、RNAi技術において使用されるもの)である。

40

【0272】

一部の実施形態において、 R^{3E} は固体支持体である。一部の実施形態において、 R^3

50

^E はオリゴヌクレオチド合成用の固体支持体である。各種の固体支持体が公知であり、本開示において利用することができる。一部の実施形態において、固体支持体はHCPである。一部の実施形態において、固体支持体はCPGである。

【0273】

一部の実施形態では、R' は、-R、-C(O)R、-C(O)OR若しくは-S(O₂)Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、R' は、-C(O)Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、R' は、-C(O)ORであり、ここで、Rは、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、R' は、-S(O₂)Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通りである。一部の実施形態では、R' は、水素である。一部の実施形態では、R' は、水素ではない。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換されたC₁ ~ C₂₀ 脂肪族である。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換されたC₁ ~ C₂₀ ヘテロ脂肪族である。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換されたC₆ ~ C₂₀ アリールである。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換されたC₆ ~ C₂₀ アリール脂肪族である。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換されたC₆ ~ C₂₀ アリールヘテロ脂肪族である。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換された5 ~ 20員ヘテロアリールである。一部の実施形態では、R' は、Rであり、ここで、Rは、本開示に記載される通り、任意選択で置換された3 ~ 20員ヘテロシクリルである。一部の実施形態では、2つ以上のR' は、Rであり、任意選択で、且つ独立に、一緒になって、本開示に記載される通り、任意選択で置換された環を形成する。

【0274】

一部の実施形態では、各Rは、独立に、-H又はC₁ ~ C₃₀ 脂肪族、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有するC₁ ~ C₃₀ ヘテロ脂肪族、C₆ ~ C₃₀ アリール、C₆ ~ C₃₀ アリール脂肪族、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有するC₆ ~ C₃₀ アリールヘテロ脂肪族、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有する5 ~ 30員ヘテロアリール並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有する3 ~ 30員ヘテロシクリルから選択される、任意選択で置換された基であるか、又は

2つのR基は、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか；又は

同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、その原子以外に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0 ~ 10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された3 ~ 30員の単環、二環若しくは多環を形成；又は

2つ以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、介在原子以外に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0 ~ 10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された3 ~ 30員の単環、二環若しくは多環を形成する。

【0275】

一部の実施形態において、各Rは、独立に、-Hであるか、又はC₁ ~ C₃₀ 脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有するC₁ ~ C₃₀ ヘテロ脂肪族と、C₆ ~ C₃₀ アリールと、C₆ ~ C₃₀ アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有するC₆ ~ C₃₀ アリールヘテロ脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有する5 ~ 30員環ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫

黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～30員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基であるか、又は

2つのR基が、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか、又は：

同じ原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

2つ以上の原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

10

【0276】

一部の実施形態において、各Rは、独立に、-Hであるか、又はC₁～20脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₁～20ヘテロ脂肪族と、C₆～20アリールと、C₆～20アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₆～20アリールヘテロ脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～20員環ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～20員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基であるか、又は

20

2つのR基が、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか、又は：

同じ原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

2つ以上の原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

【0277】

30

一部の実施形態において、各Rは、独立に、-Hであるか、又はC₁～30脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₁～30ヘテロ脂肪族と、C₆～30アリールと、C₆～30アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₆～30アリールヘテロ脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～30員環ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～30員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基である。

【0278】

40

一部の実施形態において、各Rは、独立に、-Hであるか、又はC₁～20脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₁～20ヘテロ脂肪族と、C₆～20アリールと、C₆～20アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有するC₆～20アリールヘテロ脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～20員環ヘテロアリールと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～20員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基である。

【0279】

一部の実施形態では、Rは、水素である。一部の実施形態では、Rは、水素ではない。一部の実施形態では、Rは、C₁～30脂肪族、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から

50

独立に選択される 1～10 個のヘテロ原子を有する $C_{1 \sim 30}$ ヘテロ脂肪族、 $C_{6 \sim 30}$ アリール、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1～10 個のヘテロ原子を有する 5～30 員ヘテロアリール環並びに酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1～10 個のヘテロ原子を有する 3～30 員ヘテロシクリル環から選択される、任意選択で置換された基である。

【0280】

一部の実施形態では、R は、水素又は $C_{1 \sim 20}$ 脂肪族、フェニル、3～7 員飽和若しくは部分不飽和炭素環、8～10 員二環式飽和、部分不飽和若しくはアリール環、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～4 個のヘテロ原子を有する 5～6 員単環式ヘテロアリール環、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～3 個のヘテロ原子を有する 4～7 員飽和若しくは部分不飽和複素環、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～5 個のヘテロ原子を有する 7～10 員二環式飽和若しくは部分不飽和複素環又は窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1～5 個のヘテロ原子を有する 8～10 員二環式ヘテロアリール環から選択される、任意選択で置換された基である。

10

【0281】

一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{1 \sim 30}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{1 \sim 20}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{1 \sim 15}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{1 \sim 10}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{1 \sim 6}$ 脂肪族である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{1 \sim 6}$ アルキルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたヘキシル、ペンチル、ブチル、プロピル、エチル又はメチルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたヘキシルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたペンチルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたブチルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたプロピルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたエチルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたメチルである。一部の実施形態では、R は、ヘキシルである。一部の実施形態では、R は、ペンチルである。一部の実施形態では、R は、ブチルである。一部の実施形態では、R は、プロピルである。一部の実施形態では、R は、エチルである。一部の実施形態では、R は、メチルである。一部の実施形態では、R は、イソプロピルである。一部の実施形態では、R は、*n*-プロピルである。一部の実施形態では、R は、*tert*-ブチルである。一部の実施形態では、R は、*sec*-ブチルである。一部の実施形態では、R は、*n*-ブチルである。一部の実施形態では、R は、 $-(CH_2)_2CN$ である。

20

30

【0282】

一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{3 \sim 30}$ 脂環式である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{3 \sim 20}$ 脂環式である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された $C_{3 \sim 10}$ 脂環式である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたシクロヘキシルである。一部の実施形態では、R は、シクロヘキシルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたシクロペンチルである。一部の実施形態では、R は、シクロペンチルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたシクロブチルである。一部の実施形態では、R は、シクロブチルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたシクロプロピルである。一部の実施形態では、R は、シクロプロピルである。

40

【0283】

一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 3～30 員飽和又は部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 3～7 員飽和又は部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 3 員飽和又は部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 4 員飽和又は部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 5 員飽和又は部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 6 員飽和又は

50

部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された7員飽和又は部分不飽和炭素環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたシクロヘプチルである。一部の実施形態では、Rは、シクロヘプチルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたシクロヘキシルである。一部の実施形態では、Rは、シクロヘキシルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたシクロペンチルである。一部の実施形態では、Rは、シクロペンチルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたシクロブチルである。一部の実施形態では、Rは、シクロブチルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたシクロプロピルである。一部の実施形態では、Rは、シクロプロピルである。

【0284】

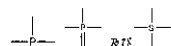
一部の実施形態において、Rが環構造、例えば脂環族、シクロヘテロ脂肪族、アリール、ヘテロアリール等であるか又はそれを含むとき、環構造は単環、二環又は多環であり得る。一部の実施形態において、Rは単環構造であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、Rは二環構造であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、Rは多環構造であるか又はそれを含む。

【0285】

一部の実施形態では、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換されたC₁～₃₀ヘテロ脂肪族基である。一部の実施形態では、Rは、1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換されたC₁～₂₀ヘテロ脂肪族基である。一部の実施形態では、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素（任意選択で、窒素、硫黄、リン又はセレンウムの1つ若しくは複数の酸化形態を含む）から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換されたC₁～₂₀ヘテロ脂肪族基である。一部の実施形態では、Rは、



、 ---N= 、 $\equiv\text{N}$ 、 ---S--- 、 ---S(O)--- 、 $\text{---S(O)}_2\text{---}$ 、 ---O--- 、 $=\text{O---}$ 、



から独立に選択される1～10の基を含む、任意選択で置換されたC₁～₃₀ヘテロ脂肪族基である。

【0286】

一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたC₆～₃₀アリールである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたフェニルである。一部の実施形態では、Rは、フェニルである。一部の実施形態では、Rは、置換フェニルである。

【0287】

一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された8～10員の二環式飽和若しくは部分不飽和又はアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された8～10員の二環式飽和環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された8～10員の二環式部分不飽和環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された8～10員の二環式アリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたナフチルである。

【0288】

一部の実施形態では、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～30員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～30員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～30員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～30員ヘテロアリール環である。

【0289】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～6員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、置換された5～6員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、置換されていない5～6員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、硫黄及び酸素から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5～6員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、置換された5～6員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、硫黄及び酸素から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、置換されていない5～6員の単環式ヘテロアリール環である。

10

【0290】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素又は硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の単環式ヘテロアリール環である。

【0291】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から選択される1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたピロリル、フラニル又はチエニルから選択される。

20

【0292】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、1個の窒素原子と、硫黄又は酸素から選択される別の1個のヘテロ原子とを有する、任意選択で置換された5員ヘテロアリール環である。R基の例として、限定はされないが、任意選択で置換されたピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル又はイソキサゾリルが挙げられる。

【0293】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員ヘテロアリール環である。R基の例として、限定はされないが、任意選択で置換されたトリアゾリル、オキサジアゾリル又はチアジアゾリルが挙げられる。

30

【0294】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員ヘテロアリール環である。R基の例として、限定はされないが、任意選択で置換されたテトラゾリル、オキサトリアゾリル及びチアトリアゾリルが挙げられる。

【0295】

一部の実施形態では、Rは、1～4個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、1～3個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。他の実施形態では、Rは、1～2個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、4個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、3個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、2個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、1個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員ヘテロアリール環である。R基の例として、限定はされないが、任意選択で置換されたピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニ

40

50

ル、トリアジニル又はテトラジニルが挙げられる。

【0296】

いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された8～10員の二環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。他の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインドリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたアザビシクロ[3. 2. 1]オクタニルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたアザインドリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンズイミダゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾチアゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾキサゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインダゾリルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。

10

20

【0297】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。

30

【0298】

いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインドリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾフラニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾ[b]チエニルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたアザインドリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンズイミダゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾチアゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾキサゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインダゾリルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたオキサゾロピリジイル、チアゾロピリジニル又はイミダゾピリジニルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される4個のヘテロ

40

50

原子を有する、任意選択で置換された 5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたプリニル、オキサゾロピリミジニル、チアゾロピリミジニル、オキサゾロピラジニル、チアゾロピラジニル、イミダゾピラジニル、オキサゾロピリダジニル、チアゾロピリダジニル又はイミダゾピリダジニルである。いくつかの実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 5 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 5, 6-融合ヘテロアリール環である。

【0299】

一部の実施形態では、R は、任意選択で置換された 1, 4-ジヒドロピロロ [3, 2-b] ピロリル、4H-フロ [3, 2-b] ピロリル、4H-チエノ [3, 2-b] フラニル、フロ [3, 2-b] フラニル、チエノ [3, 2-b] フラニル、チエノ [3, 2-b] チエニル、1H-ピロロ [1, 2-a] イミダゾリル、ピロロ [2, 1-b] オキサゾリル又はピロロ [2, 1-b] チアゾリルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたジヒドロピロロイミダゾリル、1H-フロイミダゾリル、1H-チエノイミダゾリル、フロオキサゾリル、フロイソキサゾリル、4H-ピロロオキサゾリル、4H-ピロロイソキサゾリル、チエノオキサゾリル、チエノイソキサゾリル、4H-ピロロチアゾリル、フロチアゾリル、チエノチアゾリル、1H-イミダゾイミダゾリル、イミダゾオキサゾリル又はイミダゾ [5, 1-b] チアゾリルである。

【0300】

一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~4 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~2 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 6, 6-融合ヘテロアリール環である。他の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたキノリニルである。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたイソキノリニルである。一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 2 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、R は、任意選択で置換されたキナゾリン又はキノキサリンである。

【0301】

一部の実施形態では、R は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1~10 個のヘテロ原子を有する、3~30 員複素環である。一部の実施形態では、R は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される 1~10 個のヘテロ原子を有する、3~30 員複素環である。一部の実施形態では、R は、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される 1~5 個のヘテロ原子を有する、3~30 員複素環である。一部の実施形態では、R は、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される 1~5 個のヘテロ原子を有する、3~30 員複素環である。

【0302】

一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~3 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 3~7 員の飽和又は部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~3 個のヘテロ原子を有する、置換された 3~7 員の飽和又は部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~3 個のヘテロ原子を有する、置換されていない 3~7 員の飽和又は部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~3 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 5~7 員の部分不飽和単環である。いくつかの実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~3 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 5~6 員の部分不飽和単環である。一部の実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1~3 個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された 5 員の部分不飽和単環である。いくつかの実施形態では、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択され

10

20

30

40

50

【0305】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の飽和若しくは部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環であり、ここで、ヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環であり、ここで、ヘテロ原子は、酸素である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環であり、ここで、ヘテロ原子は、硫黄である。一部の実施形態では、Rは、2個の酸素原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、2個の窒素原子を有する、任意選択で置換された5員の部分不飽和複素環である。

10

【0306】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の飽和若しくは部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環であり、ここで、ヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環であり、ここで、ヘテロ原子は、酸素である。一部の実施形態では、Rは、ただ1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環であり、ここで、ヘテロ原子は、硫黄である。一部の実施形態では、Rは、2個の酸素原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、2個の窒素原子を有する、任意選択で置換された6員の部分不飽和複素環である。

20

【0307】

いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2個のヘテロ原子を有する、3～7員の飽和若しくは部分不飽和複素環である。いくつかの実施形態では、Rは、任意選択で置換されたオキシラニル、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、オキセパネイル、アジリジネイル、アゼチジネイル、ピロリジニル、ペペリジニル、アゼパニル、チイラニル、チエタニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロチオピラニル、チエパニル、ジオキシラニル、オキサチオラニル、オキサゾリジニル、イミダゾリジニル、チアゾリジニル、ジチオラニル、ジオキサニル、モルホリニル、オキサチアニル、ピペラジニル、チオモルホリニル、ジチアニル、ジオキセパニル、オキサゼパニル、オキサチエパニル、ジチエパニル、ジアゼパニル、ジヒドロフラノニル、テトラヒドロピラノニル、オキセパノニル、ピロリジノニル、ペペリジノニル、アゼパノニル、ジヒドロチオフェノニル、テトラヒドロチオピラノニル、チエパノニル、オキサゾリジノニル、オキサジナノニル、オキセゼパノニル、ジオキサラノニル、ジオキサノニル、ジオキセパノニル、オキサチオリノニル、オキサチアノニル、オキサチエパノニル、チアゾリジノニル、チアジナノニル、チアゼパノニル、イミダゾリジノニル、テトラヒドロピリミジノニル、ジアゼパノニル、イミダゾリジンジオニル、オキサゾリジンジオニル、チアゾリジンジオニル、ジオキソランジオニル、オキサチオランジオニル、ペペラジンジオニル、モルホリンジオニル、チオモルホリンジオニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ペペリジニル、ピペラジニル、ピロリジニル、テトラヒドロチオフェニル又はテトラヒドロチオピラニルである。

30

40

【0308】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2個のヘテ

50

ロ原子を有する、任意選択で置換された5～6員の部分不飽和単環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたテトラヒドロピリジニル、ジヒドロチアゾリル、ジヒドロオキサゾリル又はオキサゾリニル基である。

【0309】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された7～10員の二環式飽和若しくは部分不飽和複素環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインドリニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたイソインドリニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノリニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたアザビシクロ[3. 2. 1]オクタニルである。

10

【0310】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された8～10員の二環式ヘテロアリール環である。

【0311】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された1, 4-ジヒドロピロロ[3, 2-b]ピロリル、4H-フロ[3, 2-b]ピロリル、4H-チエノ[3, 2-b]ピロリル、フロ[3, 2-b]フラニル、チエノ[3, 2-b]フラニル、チエノ[3, 2-b]チエニル、1H-ピロロ[1, 2-a]イミダゾリル、ピロロ[2, 1-b]オキサゾリル又はピロロ[2, 1-b]チアゾリルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたジヒドロピロロイミダゾリル、1H-フロイミダゾリル、1H-チエノイミダゾリル、フロオキサゾリル、フロイソキサゾリル、4H-ピロロオキサゾリル、4H-ピロロイソキサゾリル、チエノオキサゾリル、チエノイソキサゾリル、4H-ピロロチアゾリル、フロチアゾリル、チエノチアゾリル、1H-イミダゾイミダゾリル、イミダゾオキサゾリル又はイミダゾ[5, 1-b]チアゾリルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。

20

30

【0312】

一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。他の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインドリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾフラニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾ[b]チエニルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一

40

50

部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたアザインドリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンズイミダゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾチアゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたベンゾキサゾリルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたインダゾリルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたオキサゾロピリジイル、チアゾロピリジニル又はイミダゾピリジニルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたプリニル、オキサゾロピリミジニル、チアゾロピリミジニル、オキサゾロピラジニル、チアゾロピラジニル、イミダゾピラジニル、オキサゾロピリダジニル、チアゾロピリダジニル又はイミダゾピリダジニルである。いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された5, 6-融合ヘテロアリール環である。

10

【0313】

いくつかの実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1~5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1~2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。他の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたキノリニルである。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたイソキノリニルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたキナゾリニル、フタラジニル、キノキサリニル又はナフチリジニルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される3個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたピリドピリミジニル、ピリドピリダジニル、ピリドピラジニル又はベンゾトリアジニルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される4個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換されたピリドトリアジニル、プテリジニル、ピラジノピラジニル、ピラジノピリダジニル、ピリダジノピリダジニル、ピリミドピリダジニル又はピリミドピリミジニルである。一部の実施形態では、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される5個のヘテロ原子を有する、任意選択で置換された6, 6-融合ヘテロアリール環である。

20

30

【0314】

一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_{6 \sim 30}$ アリール脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_{6 \sim 20}$ アリール脂肪族である。一部の実施形態では、Rは、任意選択で置換された $C_{6 \sim 10}$ アリール脂肪族である。一部の実施形態では、アリール脂肪族のアリール部分は、6、10又は14個のアリール炭素原子を有する。一部の実施形態では、アリール脂肪族のアリール部分は、6個のアリール炭素原子を有する。一部の実施形態では、アリール脂肪族のアリール部分は、10個のアリール炭素原子を有する。一部の実施形態では、アリール脂肪族のアリール部分は、14個のアリール炭素原子を有する。一部の実施形態では、アリール部分は、任意選択で置換されたフェニルである。

40

【0315】

一部の実施形態において、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1~10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている $C_{6 \sim 30}$ アリールヘテ

50

ロ脂肪族である。一部の実施形態において、Rは、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されているC₆～₃₀アリールヘテロ脂肪族である。一部の実施形態において、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されているC₆～₂₀アリールヘテロ脂肪族である。一部の実施形態において、Rは、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されているC₆～₂₀アリールヘテロ脂肪族である。一部の実施形態において、Rは、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～5つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されているC₆～₁₀アリールヘテロ脂肪族である。一部の実施形態において、Rは、酸素、窒素及び硫黄から独立に選択される1～5つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されているC₆～₁₀アリールヘテロ脂肪族である。

10

【0316】

一部の実施形態では、2つのR基は、任意選択で、且つ独立に、一緒になって、共有結合を形成する。一部の実施形態では、 $-C=O$ が形成される。一部の実施形態では、 $-C=C-$ が形成される。一部の実施形態では、 $-C\equiv C-$ が形成される。

【0317】

一部の実施形態において、同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～5つのヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～10員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～3つのヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～6員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、同じ原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～3つのヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～5員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

20

30

【0318】

一部の実施形態において、2つ以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、2つ以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、2つ以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～5つのヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～10員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

40

50

一部の実施形態において、2つ以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒にあって、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～3つのヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～6員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、2つ以上の原子上の2つ以上のR基は、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒にあって、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～3つのヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～5員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

【0319】

一部の実施形態では、R基又は2つ以上のR基が一緒になって形成される構造中のヘテロ原子は、酸素、窒素及び硫黄から選択される。一部の実施形態では、形成される環は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20員である。一部の実施形態では、形成される環は、飽和である。一部の実施形態では、形成される環は、部分飽和である。一部の実施形態では、形成される環は、芳香族である。一部の実施形態では、形成される環は、飽和、部分飽和又は芳香環部分を含む。一部の実施形態では、形成される環は、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20個の芳香環原子を含む。一部の実施形態では、形成される環は、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20個の芳香環原子のみを含む。一部の実施形態では、芳香環原子は、炭素、窒素、酸素及び硫黄から選択される。

【0320】

一部の実施形態では、2つ以上のR基（又はR及びRであり得る変数から選択される2つ以上の基）が一緒になって形成される環は、 $C_3 \sim 30$ 脂環、 $C_6 \sim 30$ アリール、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、5～30員ヘテロアリール又は酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する、3～30員ヘテロシクリル、二価若しくは多価を除くRについて記載される環である。

【0321】

一部の実施形態では、 P^L は、 $P (=W)$ である。一部の実施形態では、 P^L は、 P である。一部の実施形態では、 P^L は、 $P \rightarrow B(R')$ である。一部の実施形態では、 P^L のPは、キラルである。一部の実施形態では、 P^L のPは、 R_p である。一部の実施形態では、 P^L のPは、 S_p である。一部の実施形態では、式Iの結合は、リン酸結合又はその塩形態である。一部の実施形態では、式Iの結合は、ホスホロチオエート結合又はその塩形態である。一部の実施形態では、 P^L は、 $P^* (=W)$ であり、式中、 P^* は、キラル結合リンである。一部の実施形態では、 P^L は、 $P^* (=O)$ であり、式中、 P^* は、キラル結合リンである。

【0322】

一部の実施形態において、WはOである。一部の実施形態において、WはSである。一部の実施形態において、WはSeである。

【0323】

X、Y、Z及び R^1 の各々は、独立に、本開示に記載される通りであり、例えば、記載される通り、一部の実施形態において、 R^1 はHである。一部の実施形態において、 $-X-L-R^1$ は $-X-R^1$ である。一部の実施形態において、 $-X-L-R^1$ は $-X-H$ である。一部の実施形態において、Y及びZはOであり、及びXはSである。一部の実施形態において、Y及びZはOであり、及びXはOである。これらの可変要素の各々の更なる実施形態は、独立に、本開示に記載される。

【0324】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは式O-Iの構造を有する。一部の実施形態において、式O-Iのオリゴヌクレオチドは、本開示に記載される通りの化学修飾（例えば、糖修飾、塩基修飾、修飾ヌクレオチド間結合等及びそのパターン）、

立体化学（5'-C、キラルリン等の立体化学及びそのパターン）、塩基配列等を含む。一部の実施形態において、式O-Iの提供されるオリゴヌクレオチドは、表1A、表17等から選択されるものである。

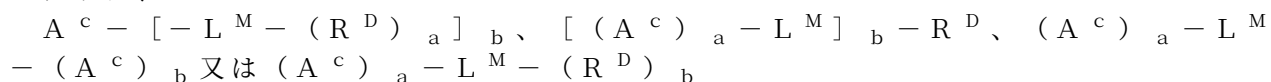
【0325】

一部の実施形態では、本開示は、オリゴヌクレオチドの多量体を提供する。一部の実施形態では、少なくとも1つのモノマーは、C9orf72オリゴヌクレオチドである。一部の実施形態では、多量体は、同じオリゴヌクレオチドの多量体である。一部の実施形態では、多量体は、構造的に異なるオリゴヌクレオチドの多量体である。一部の実施形態では、多量体の各オリゴヌクレオチドは、それ自身の経路、例えばRNA干渉（RNAi）、RNAアーゼH依存性などを介して、独立に、その機能を果たす。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはオリゴマー又はポリマー形態で存在し、ここで、1つ以上のオリゴヌクレオチド部分は、オリゴヌクレオチド部分の核酸塩基、糖及び／又はヌクレオチド間結合を通じてリンカー、例えばL、L^M等によって一緒につながり合っている。例えば、一部の実施形態において、提供されるマルチマー化合物は(A^c)_a-L^M-(A^c)_bの構造を有し、式中、各可変要素は、独立に、本開示に記載される通りである。

10

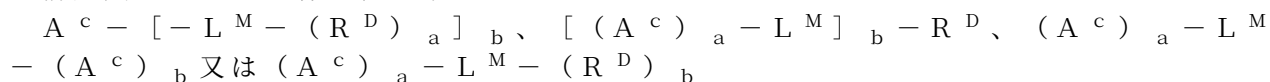
【0326】

一部の実施形態において、提供される化合物、例えば提供される組成物のオリゴヌクレオチドは、



20

の構造又はその塩を有し、式中：



の構造又はその塩を有し、式中：

各A^cは、独立に、オリゴヌクレオチド部分であり（例えば、[H]_a-A^c又は[H]_b-A^cがオリゴヌクレオチドであり）；

aは1～1000であり；

bは1～1000であり；

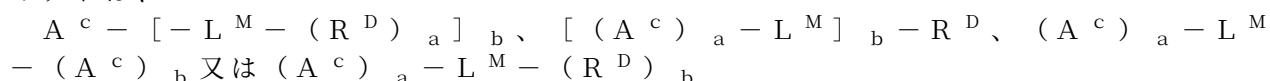
L^Mは多価リンカーであり；及び

30

各R^Dは、独立に、化学的部分である。

【0327】

一部の実施形態において、提供される化合物、例えば提供される組成物のオリゴヌクレオチドは、



の構造又はその塩を有し、式中：

各A^cは、独立に、オリゴヌクレオチド部分であり（例えば、[H]_a-A^c又は[H]_b-A^cがオリゴヌクレオチドであり）；

aは1～1000であり；

40

bは1～1000であり；

各R^Dは、独立に、R^L^D、R^C^D又はR^T^Dであり；

R^C^Dは、C₁～100脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～30個のヘテロ原子を有するC₁～100ヘテロ脂肪族基とから選択される任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁～6アルキレン、C₁～6アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(

50

O) (SR')-, -P(O)(R')-, -P(O)(NR')-, -P(S)(OR')-, -P(S)(SR')-, -P(S)(R')-, -P(S)(NR')-, -P(R')-, -P(OR')-, -P(SR')-, -P(NR')-, -P(OR') [B(R')₃] -, -OP(O)(OR')O-, -OP(O)(SR')O-, -OP(O)(R')O-, -OP(O)(NR')O-, -OP(OR')O-, -OP(SR')O-, -OP(NR')O-, -OP(R')O-又は-OP(OR') [B(R')₃] O-に置き換えられ; 及び1つ以上の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、Cy^Lに置き換えられ;

R^{L D}は、C₁ ~ 100 脂肪族基から選択される任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁ ~ 6 アルキレン、C₁ ~ 6 アルケニレン、-C≡C-, -C(R')₂-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S-, -C(O)O-, -P(O)(OR')-, -P(O)(SR')-, -P(O)(R')-, -P(O)(NR')-, -P(S)(OR')-, -P(S)(SR')-, -P(S)(R')-, -P(S)(NR')-, -P(R')-, -P(OR')-, -P(SR')-, -P(NR')-, -P(OR') [B(R')₃] -, -OP(O)(OR')O-, -OP(O)(SR')O-, -OP(O)(R')O-, -OP(O)(NR')O-, -OP(OR')O-, -OP(SR')O-, -OP(NR')O-, -OP(R')O-又は-OP(OR') [B(R')₃] O-に置き換えられ; 及び1つ以上の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、Cy^Lに置き換えられ;

R^{T D}はターゲティング部分であり;

各L^Mは、独立に、共有結合であるか、又はC₁ ~ 100 脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1 ~ 30個のヘテロ原子を有するC₁ ~ 100 ヘテロ脂肪族基とから選択される二価若しくは多価の任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁ ~ 6 アルキレン、C₁ ~ 6 アルケニレン、-C≡C-, -C(R')₂-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -C(O)S-, -C(O)O-, -P(O)(OR')-, -P(O)(SR')-, -P(O)(R')-, -P(O)(NR')-, -P(S)(OR')-, -P(S)(SR')-, -P(S)(R')-, -P(S)(NR')-, -P(R')-, -P(OR')-, -P(SR')-, -P(NR')-, -P(OR') [B(R')₃] -, -OP(O)(OR')O-, -OP(O)(SR')O-, -OP(O)(R')O-, -OP(O)(NR')O-, -OP(OR')O-, -OP(SR')O-, -OP(NR')O-, -OP(R')O-又は-OP(OR') [B(R')₃] O-に置き換えられ; 及び1つ以上の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、Cy^Lに置き換えられ;

各Cy^Lは、独立に、C₃ ~ 20 脂環族環と、C₆ ~ 20 アリール環と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有する5 ~ 20員環ヘテロアリール環と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有する3 ~ 20員環ヘテロシクリル環とから選択される任意選択で置換されている四価の基であり;

各R'は、独立に、-R、-C(O)R、-C(O)OR又は-S(O)₂Rであり; 及び

各Rは、独立に、-Hであるか、又はC₁ ~ 30 脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有するC₁ ~ 30 ヘテロ脂肪族と、C₆ ~ 30 アリールと、C₆ ~ 30 アリール脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1 ~ 10個のヘテロ原子を有するC₆ ~ 30 アリールヘテロ

10

20

30

40

50

脂肪族と、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する5～30員環ヘテロアリアルと、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する3～30員環ヘテロシクリルとから選択される任意選択で置換されている基であるか、又は

2つのR基が、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか、又は：

同じ原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成し；又は

2つ以上の原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、酸素、窒素、硫黄、リン及びケイ素から独立に選択される0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

10

【0328】

一部の実施形態において、 $A^c - [- L^M - (R^D)_a]_b$ 、 $[(A^c)_a - L^M]_b - R^D$ 又は $(A^c)_a - L^M - (R^D)_b$ は、提供されるオリゴヌクレオチドと1つ以上の化学的部分、例えばターゲティング部分、炭水化物部分、脂質部分等とのコンジュゲートである。

【0329】

一部の実施形態において、 $(R^D)_b - L^M -$ は、本開示に記載される通りの $(R^D)_b - L^{M1} - L^{M2}$ である。

20

【0330】

一部の実施形態において、 $[H]_a - A^c$ 又は $[H]_b - A^c$ は、本開示に記載される通りのオリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、 $[H]_a - A^c$ 又は $[H]_b - A^c$ は、式O-Iのものである。

【0331】

一部の実施形態において、 R^D は、本開示に記載される通りの追加の化学的部分である。一部の実施形態において、 R^D は、本開示に記載される通りのターゲティング部分である。一部の実施形態において、 R^D は R^{TD} であり、これは本開示に記載される通りのターゲティング部分（例えば、ターゲティング部分としての R^D についての実施形態として記載されるターゲティング部分）である。一部の実施形態において、一部の実施形態において、 R^D は R^{CD} であり、式中、 R^{CD} は本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 R^{CD} は1つ以上の炭水化物部分を含む。一部の実施形態において、 R^D は R^{LD} である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、本開示に記載される通りの脂質部分である。

30

【0332】

一部の実施形態において、 a は1～100である。一部の実施形態において、 a は1～50である。一部の実施形態において、 a は1～40である。一部の実施形態において、 a は1～30である。一部の実施形態において、 a は1～20である。一部の実施形態において、 a は1～15である。一部の実施形態において、 a は1～10である。一部の実施形態において、 a は1～9である。一部の実施形態において、 a は1～8である。一部の実施形態において、 a は1～7である。一部の実施形態において、 a は1～6である。一部の実施形態において、 a は1～5である。一部の実施形態において、 a は1～4である。一部の実施形態において、 a は1～3である。一部の実施形態において、 a は1～2である。一部の実施形態において、 a は1である。一部の実施形態において、 a は2である。一部の実施形態において、 a は3である。一部の実施形態において、 a は4である。一部の実施形態において、 a は5である。一部の実施形態において、 a は6である。一部の実施形態において、 a は7である。一部の実施形態において、 a は8である。一部の実施形態において、 a は9である。一部の実施形態において、 a は10である。一部の実施形態において、 a は10より大きい。

40

50

【0333】

一部の実施形態において、bは1～100である。一部の実施形態において、bは1～50である。一部の実施形態において、bは1～40である。一部の実施形態において、bは1～30である。一部の実施形態において、bは1～20である。一部の実施形態において、bは1～15である。一部の実施形態において、bは1～10である。一部の実施形態において、bは1～9である。一部の実施形態において、bは1～8である。一部の実施形態において、bは1～7である。一部の実施形態において、bは1～6である。一部の実施形態において、bは1～5である。一部の実施形態において、bは1～4である。一部の実施形態において、bは1～3である。一部の実施形態において、bは1～2である。一部の実施形態において、bは1である。一部の実施形態において、bは2である。一部の実施形態において、bは3である。一部の実施形態において、bは4である。一部の実施形態において、bは5である。一部の実施形態において、bは6である。一部の実施形態において、bは7である。一部の実施形態において、bは8である。一部の実施形態において、bは9である。一部の実施形態において、bは10である。一部の実施形態において、bは1である。一部の実施形態において、bは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20又はそれを超える。

10

【0334】

一部の実施形態において、zは1～1000である。一部の実施形態において、z+1は、本開示に記載される通りのオリゴヌクレオチド長さである。一部の実施形態において、zは4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18又は19以上である。一部の実施形態において、zは4、5、6、7、8、9、10、11、12、13又は14以上である。一部の実施形態において、zは50、60、70、80、90、100、150又は200以下である。一部の実施形態において、zは5～50、10～50、14～50、14～45、14～40、14～35、14～30、14～25、14～100、14～150、14～200、14～250、14～300、15～50、15～45、15～40、15～35、15～30、15～25、15～100、15～150、15～200、15～250、15～300、16～50、16～45、16～40、16～35、16～30、16～25、16～100、16～150、16～200、16～250、16～300、17～50、17～45、17～40、17～35、17～30、17～25、17～100、17～150、17～200、17～250、17～300、18～50、18～45、18～40、18～35、18～30、18～25、18～100、18～150、18～200、18～250、18～300、19～50、19～45、19～40、19～35、19～30、19～25、19～100、19～150、19～200、19～250又は19～300である。一部の実施形態において、zは10である。一部の実施形態において、zは11である。一部の実施形態において、zは12である。一部の実施形態において、zは13である。一部の実施形態において、zは14である。一部の実施形態において、zは15である。一部の実施形態において、zは16である。一部の実施形態において、zは17である。一部の実施形態において、zは18である。一部の実施形態において、zは19である。一部の実施形態において、zは20である。一部の実施形態において、zは21である。一部の実施形態において、zは22である。一部の実施形態において、zは23である。一部の実施形態において、zは24である。一部の実施形態において、zは25である。一部の実施形態において、zは26である。一部の実施形態において、zは27である。一部の実施形態において、zは28である。一部の実施形態において、zは29である。一部の実施形態において、zは30である。一部の実施形態において、zは31である。一部の実施形態において、zは32である。一部の実施形態において、zは33である。一部の実施形態において、zは34である。

20

30

40

【0335】

一部の実施形態において、 L^M は、本開示に記載される通りの $-L^M{}^1-L^M{}^2-L^M{}^3-$ である。一部の実施形態において、 L^M は、本開示に記載される通りの $L^M{}^1$ である

50

。一部の実施形態において、 L^M は、本開示に記載される通りの L^{M2} である。一部の実施形態において、 L^M は、本開示に記載される通りの L^{M3} である。

【0336】

一部の実施形態において、少なくとも1つの L^M は、提供されるオリゴヌクレオチドの糖単位に直接結合される。一部の実施形態において、 L^M は糖単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに脂質部分を取り込む。一部の実施形態において、 L^M は糖単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに炭水化物部分を取り込む。一部の実施形態において、 L^M は糖単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに R^{LD} 基を取り込む。一部の実施形態において、 L^M は糖単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに R^{CD} 基を取り込む。一部の実施形態において、 L^M はオリゴヌクレオチド鎖の5'-OHを用いて直接結合される。一部の

10

【0337】

一部の実施形態において、少なくとも1つの L^M は、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合単位に直接結合される。一部の実施形態において、 L^M はヌクレオチド間結合単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに脂質部分を取り込む。一部の実施形態において、 L^M はヌクレオチド間結合単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに炭水化物部分を取り込む。一部の実施形態において、 L^M はヌクレオチド間結合単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに R^{LD} 基を取り込む。一部の実施形態において、 L^M はヌクレオチド間結合単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに R^{CD} 基を取り込む。

20

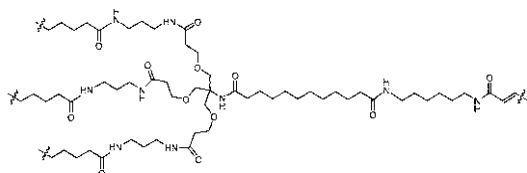
【0338】

一部の実施形態において、少なくとも1つの L^M は、提供されるオリゴヌクレオチドの核酸塩基単位に直接結合する。一部の実施形態において、 L^M は核酸塩基単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに脂質部分を取り込む。一部の実施形態において、 L^M は核酸塩基単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに炭水化物部分を取り込む。一部の実施形態において、 L^M は核酸塩基単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに R^{LD} 基を取り込む。一部の実施形態において、 L^M は核酸塩基単位に直接結合し、オリゴヌクレオチドに R^{CD} 基を取り込む。

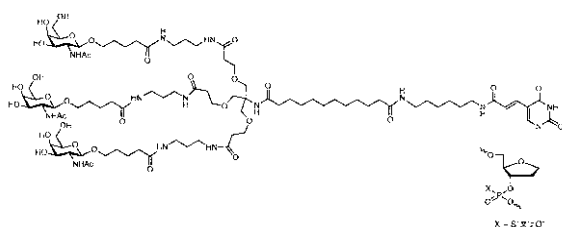
【0339】

一部の実施形態において、 L^M は二価である。一部の実施形態において、 L^M は多価である。一部の実施形態において、 L^M は

30

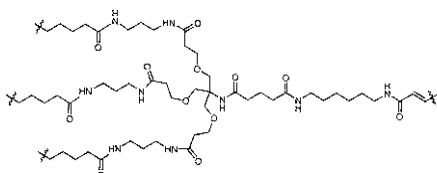


であり、式中、 L^M は、例えば、



40

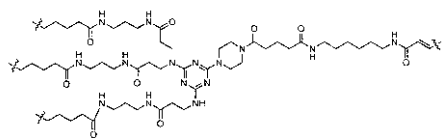
にある通り、核酸塩基に直接結合する。一部の実施形態において、 L^M は



50

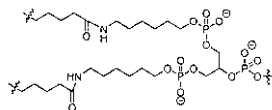
である。

一部の実施形態において、 L^M は

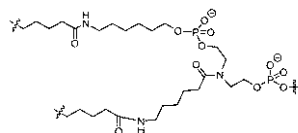


である。

一部の実施形態において、 L^M は



である。一部の実施形態において、 L^M は



である。

【0340】

一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている C_{10} 、 C_{15} 、 C_{16} 、 C_{17} 、 C_{18} 、 C_{19} 、 C_{20} 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 、 C_{24} 又は $C_{25} \sim C_{20}$ 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 、 C_{24} 、 C_{25} 、 C_{26} 、 C_{27} 、 C_{28} 、 C_{29} 、 C_{30} 、 C_{35} 、 C_{40} 、 C_{45} 、 C_{50} 、 C_{60} 、 C_{70} 又は C_{80} 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{10} \sim 80$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{20} \sim 80$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{10} \sim 70$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{20} \sim 70$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{10} \sim 60$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{20} \sim 60$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{10} \sim 50$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{20} \sim 50$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{10} \sim 40$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{20} \sim 40$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{10} \sim 30$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、任意選択で置換されている $C_{20} \sim 30$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 C_{10} 、 C_{15} 、 C_{16} 、 C_{17} 、 C_{18} 、 C_{19} 、 C_{20} 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 、 C_{24} 又は $C_{25} \sim C_{20}$ 、 C_{21} 、 C_{22} 、 C_{23} 、 C_{24} 、 C_{25} 、 C_{26} 、 C_{27} 、 C_{28} 、 C_{29} 、 C_{30} 、 C_{35} 、 C_{40} 、 C_{45} 、 C_{50} 、 C_{60} 、 C_{70} 又は C_{80} 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{10} \sim 80$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{20} \sim 80$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{10} \sim 70$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{20} \sim 70$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{10} \sim 60$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{20} \sim 60$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{10} \sim 50$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{20} \sim 50$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{10} \sim 40$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{20} \sim 40$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{10} \sim 30$ 脂肪族である。一部の実施形態において、 R^{LD} は、非置換 $C_{20} \sim 30$ 脂肪族である。

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、R^{L D}は水素でない。一部の実施形態において、R^{L D}は脂質部分である。一部の実施形態において、R^{L D}はターゲティング部分である。一部の実施形態において、R^{L D}は、炭水化物部分を含むターゲティング部分である。一部の実施形態において、R^{L D}はG a l N A c部分である。

一部の実施形態において、 $R^{T\ D}$ は $R^{L\ D}$ であり、式中、 $R^{L\ D}$ は、独立に、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、 $R^{T\ D}$ は $R^{C\ D}$ であり、式中、 $R^{C\ D}$ は、独立に、本開示に記載される通りである。

一部の実施形態において、 R^{CD} は、 $C_{1\sim 30}$ 脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 30}$ ヘテロ脂肪族基とから選択される任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')-$ 、 $-P(O)(SR')-$ 、 $-P(O)(R')-$ 、 $-P(O)(NR')-$ 、 $-P(S)(OR')-$ 、 $-P(S)(SR')-$ 、 $-P(S)(R')-$ 、 $-P(S)(NR')-$ 、 $-P(R')-$ 、 $-P(OR')-$ 、 $-P(SR')-$ 、 $-P(NR')-$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]-$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 又は $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ に置き換えられ；及び1つ以上の炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、 C_{y^L} に置き換えられる。一部の実施形態において、 R^{CD} は、 $C_{1\sim 30}$ 脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 30}$ ヘテロ脂肪族基とから選択される任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')-$ 、 $-P(O)(SR')-$ 、 $-P(O)(R')-$ 、 $-P(O)(NR')-$ 、 $-P(S)(OR')-$ 、 $-P(S)(SR')-$ 、 $-P(S)(R')-$ 、 $-P(S)(NR')-$ 、 $-P(R')-$ 、 $-P(OR')-$ 、 $-P(SR')-$ 、 $-P(NR')-$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]-$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 又は $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ に置き換えられ；及び1つ以上の炭素原子は、独立に、単糖、二糖又は多糖部分に置き換えられる。一部の実施形態において、 R^{CD} は、 $C_{1\sim 30}$ 脂肪族基と、酸素、窒素、硫黄、リン、ホウ素及びケイ素から独立に選択される1～10個のヘテロ原子を有する $C_{1\sim 30}$ ヘテロ脂肪族基とから選択される任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン、 $C_{1\sim 6}$ アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')-$ 、 $-P(O)(SR')-$ 、 $-P(O)(R')-$ 、 $-P(O)(NR')-$ 、 $-P(S)(OR')-$ 、 $-P(S)(SR')-$ 、 $-P(S)(R')-$ 、 $-P(S)(NR')-$ 、 $-P(R')-$ 、 $-P(OR')-$ 、 $-P(SR')-$ 、 $-P(NR')-$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]-$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 又は $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ に置き換えられ；及び1つ以上の炭素原子は、独立に、単糖、二糖又は多糖部分に置き換えられる。

50

NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、
 -P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-
 P(NR')-、-P(OR')[B(R')₃]-、-OP(O)(OR')O-、-
 OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、
 -OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')
 O-又は-OP(OR')[B(R')₃]O-に置き換えられ；及び1つ以上の炭素原
 子は、独立に、GalNac部分に置き換えられる。

【0344】

一部の実施形態では、本開示は、オリゴヌクレオチドの塩及びその医薬組成物を提供す
 る。一部の実施形態では、塩は、薬学的に許容される塩である。一部の実施形態では、塩
 基に供与され得る（例えば、水溶液、医薬組成物などの条件下で）各水素イオンは、非H
⁺カチオンにより置換される。例えば、一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの薬学
 的に許容される塩は、全金属（all-metal）イオン塩であり、ここで、各ヌクレ
 オチド間結合（例えば、天然リン酸結合、ホスホロチオエートジエステル結合など）の各
 水素イオン（例えば、-OH、-SHなどの）は、金属イオンにより置換される。一部の
 実施形態では、提供される塩は、全ナトリウム塩である。一部の実施形態では、提供され
 る薬学的に許容される塩は、全ナトリウム塩である。一部の実施形態では、提供される塩
 は、全ナトリウム塩であり、ここで、天然リン酸結合（酸形態-O-P(O)(OH)-
 O-）である各ヌクレオチド間結合は、存在する場合、そのナトリウム塩形態（-O-P
 (O)(ONa)-O-）として存在し、ホスホロチオエートジエステル結合（酸形態-O-P
 (O)(SH)-O-）である各ヌクレオチド間結合は、存在する場合、そのナト
 リウム塩形態（-O-P(O)(SNa)-O-）として存在する。

【0345】

一部の実施形態では、提供される化合物、例えば提供されるオリゴヌクレオチドは、6
 0%~100%の純度を有する。一部の実施形態では、純度は、少なくとも60%、65
 %、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95
 %、96%、97%、98%又は99%である。一部の実施形態では、純度は、少なくと
 も60%である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも70%である。一部の実施形
 態では、純度は、少なくとも80%である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも8
 5%である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも90%である。一部の実施形態で
 は、純度は、少なくとも91%である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも92%
 である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも93%である。一部の実施形態では、
 純度は、少なくとも94%である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも95%であ
 る。一部の実施形態では、純度は、少なくとも96%である。一部の実施形態では、純度
 は、少なくとも97%である。一部の実施形態では、純度は、少なくとも98%である。
 一部の実施形態では、純度は、少なくとも99%である。一部の実施形態では、純度は、
 少なくとも99.5%である。

【0346】

一部の実施形態において、提供される化合物、例えば提供されるオリゴヌクレオチドは
 、60%~100%のジASTEレオマー純度を有する。一部の実施形態において、ジASTE
 レオマー純度は少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%
 、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%である
 。一部の実施形態において、提供される化合物、例えば提供されるオリゴヌクレオチドの
 キラル要素、例えばキラル中心（炭素、リン等）は、60%~100%のジASTEレオマ
 ー純度を有する。一部の実施形態において、キラル要素、例えばキラル中心（炭素、リン
 等）は、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%
 、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%のジASTEレオ
 マー純度を有する。一部の実施形態において、ジASTEレオマー純度は少なくとも60%
 である。一部の実施形態において、ジASTEレオマー純度は少なくとも70%である。一
 部の実施形態において、ジASTEレオマー純度は少なくとも80%である。一部の実施形

10

20

30

40

50

態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 85 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 90 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 91 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 92 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 93 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 94 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 95 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 96 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 97 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 98 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 99 % である。一部の実施形態において、ジアステレオマー純度は少なくとも 99.5 % である。 10

【0347】

一部の実施形態において、提供される化合物の少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9 つ又はそれを超えるキラル要素が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、提供される化合物の少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9 つ又はそれを超えるキラル炭素中心が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、提供される化合物の少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9 つ又はそれを超えるキラルリン中心が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。 20

【0348】

一部の実施形態において、提供される化合物の全キラル要素の少なくとも 5 % ~ 100 % が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、提供される化合物の全キラル要素の少なくとも 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % 又は 100 % が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、提供される化合物の全キラルリン中心の少なくとも 5 % ~ 100 % が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、提供される化合物の全キラルリン中心の少なくとも 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % 又は 100 % が、各々独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。 30

【0349】

一部の実施形態において、各キラル要素が、独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、各キラル中心が、独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、各キラル炭素中心が、独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。一部の実施形態において、各キラルリン中心が、独立に、本明細書に記載される通りのジアステレオマー純度を有する。 40

【0350】

一部の実施形態において、提供される化合物、例えばオリゴヌクレオチド及び／又はその組成物は、C9orf72 標的の活性及び／又は機能を調節することができる。一部の実施形態において、C9orf72 標的遺伝子は、それに関する 1 つ以上の C9orf72 遺伝子産物（例えば、RNA 及び／又はタンパク質産物）の発現及び／又は活性を変化させることが意図される遺伝子である。多くの実施形態において、C9orf72 標的遺伝子は阻害することが意図される。従って、本明細書に記載される通りの C9orf72 オリゴヌクレオチドが特定の C9orf72 標的遺伝子に作用すると、そのオリゴヌクレオチドが存在するときは、それが存在しないときと比較して、その C9orf72 遺伝子の 1 つ以上の遺伝子産物の存在及び／又は活性が変化する。 50

【0351】

一部の実施形態において、C9orf72 標的は、それに関する1つ以上の産物（例えば、RNA 及び／又はタンパク質産物）の発現及び／又は活性を変化させることが意図される特異的アレル（例えば、病的アレル）である。多くの実施形態において、C9orf72 標的アレルは、その存在及び／又は発現が、1つ以上の疾患及び／又は病態、例えば C9orf72 関連障害の存在、発生率及び／又は重症度に関連する（例えば、関連する）ものである。代わりに又は加えて、一部の実施形態において、C9orf72 標的アレルは、それについての1つ以上の遺伝子産物のレベル及び／又は活性の変化が疾患及び／又は病態の1つ以上の側面の改善（例えば、発生の遅延、重症度の低減、他の治療法に対する応答性等）に関連するものである。一部のかかる実施形態において、本明細書に記載される通りの C9orf72 オリゴヌクレオチド及びその方法は、非病的アレル、例えば 1つ以上の関連性が低い／関連性のないアレルと比べて病的アレルを優先的又は特異的に標的とし得る。一部の実施形態において、C9orf72 の病的アレルは、リピート伸長、例えばヘキサヌクレオチドリピート伸長（HRE）、例えば約30超500又は1000以下又はそれを超えるヘキサヌクレオチドリピート伸長を含む。

10

【0352】

一部の実施形態において、C9orf72 標的配列は、本明細書に記載される通りのオリゴヌクレオチドが結合する配列である。多くの実施形態において、C9orf72 標的配列は、提供されるオリゴヌクレオチドの配列又はその中の連続残基の配列と同一であるか、又はその正確な相補体である（例えば、提供されるオリゴヌクレオチドは、C9orf72 標的配列と同一であるか又はその正確な相補体である標的結合配列を含む）。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチド（の関連性のある一部分）とその標的配列との間に少数の差異／ミスマッチが許容される。多くの実施形態において、C9orf72 標的配列は C9orf72 標的遺伝子内に存在する。多くの実施形態において、C9orf72 標的配列は、C9orf72 標的遺伝子から産生される転写物（例えば、mRNA 及び／又はプレmRNA）の範囲内に存在する。一部の実施形態において、C9orf72 標的配列は、1つ以上のアレル部位（即ち C9orf72 標的遺伝子内においてアレル変異が出現する位置）を含む。一部のかかる実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の他のアレルと比べて優先的に又は特異的に、ある1つのアレルに結合する。

20

30

【0353】

一部の実施形態において、C9orf72（9番染色体オープンリーディングフレーム72）は、C9ORF72、C9、ALSFTD、FTDAL S、FTDAL S1、DENNL72；外部ID: MGI: 1920455 HomoloGene: 10137 GeneCards: C9orf72とも称される遺伝子又はその遺伝子産物である。C9orf72は、非公式にはC9とも称される。C9orf72 オルソログ: 種: ヒト Entrez: 203228; Ensembl: ENSG00000147894; UniProt: Q96LT7; RefSeq (mRNA): NM_014500.5 NM_012560.54 NM_018325; RefSeq (タンパク質): NP_001242983 NP_060795 NP_659442; 位置 (UCSC): Chr9: 27.55~27.57Mb; 種: マウス Entrez: 73205; Ensembl: ENSMUSG00000028300; UniProt: Q6DFW0; RefSeq (mRNA): NM_001081343; RefSeq (タンパク質): NP_00107481; 位置 (UCSC): Chr4: 35.19~35.23Mb。C9orf72をコードするヌクレオチドとしては、限定なしに、GENBANK受託番号NM_012560.54.1; GENBANK受託番号NT_008413.18; GENBANK受託番号BQ068108.1; GENBANK受託番号NM_018325.3; GENBANK受託番号DN993522.1; GENBANK受託番号NM_145005.5; GENBANK受託番号DB079375.1; GENBANK受託番号BU194591.1; 配列識別番号4141_014_A5; 配列識別番号4008_73

40

50

— A ; 及び G E N B A N K 受託番号 N T _ 0 0 8 4 1 3 . 1 8 が挙げられる。C 9 o r f 7 2 は、報告によれば、分子質量が 5 4 3 2 8 D a の 4 8 1 アミノ酸タンパク質であり、これはユビキチン化及びリン酸化の翻訳後修飾を受け得る。C 9 o r f 7 2 の発現レベルは、報告によれば中枢神経系で最も高いことができ、タンパク質はニューロンの細胞質並びにシナプス前終末に局在化する。C 9 o r f 7 2 は、報告によれば、エンドソーム及びリソソーム輸送調節において役割を果たし、オートファジー及びエンドサイトーシス輸送に参与する R A B タンパク質と相互作用することが示されている。C 9 o r f 7 2 は、報告によれば、初期エンドソーム輸送を媒介する G T P アーゼである R A B 5 を活性化する。C 9 o r f 7 2 における突然変異は、報告によれば、A L S 及び F T D と関連付けられている。De Jesus-Hernandez et al. 2011 Neuron 72: 245-256; Renton et al. 2011 Neuron 72: 257-268; 及び Itzovich et al. 2016. Neurobiol. Aging. Volume 40, Pages 192. e13-192. e15。報告によれば、C 9 o r f 7 2 関連障害などの神経学的疾患に罹患している対象では、C 9 o r f 7 2 にヘキサヌクレオチドリピート伸長（例えば、(G G G G C C) n）が存在し得る。

10

【0354】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 は大文字で始めず、c 9 o r f 7 2 と表記される。

【0355】

20

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、様々なリンカー、追加の部分（限定はされないが、ターゲティング部分を含む）の何れを含むこともでき、且つ／又はキラル制御されることもでき、且つ／又は本明細書に記載される通りの様々な塩基配列及び／又は化学構造又はフォーマットの何れを有することもできる。

【0356】

当技術分野で公知である多くのものを含め、様々なリンカー、炭水化物部分及びターゲティング部分を本開示に従って使用することができる。一部の実施形態では、炭水化物部分は、ターゲティング部分である。一部の実施形態では、ターゲティング部分は、炭水化物部分である。

【0357】

30

一部の実施形態において、本開示は、キラル制御されているオリゴヌクレオチド及びオリゴヌクレオチド組成物を提供する。例えば、一部の実施形態において、提供される組成物は、ランダムでない又は制御されたレベルの 1 つ以上の個別のオリゴヌクレオチドタイプを含み、ここで、オリゴヌクレオチドタイプは、1) 塩基配列；2) 骨格結合のパターン；3) 骨格キラル中心のパターン；及び 4) 骨格 P 修飾のパターンによって定義される。一部の実施形態において、特定のオリゴヌクレオチドタイプは、1 A) 塩基同一性；1 B) 塩基修飾のパターン；1 C) 糖修飾のパターン；2) 骨格結合のパターン；3) 骨格キラル中心のパターン；及び 4) 骨格 P 修飾のパターンによって定義され得る。一部の実施形態において、同じオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドは同一である。一部の実施形態において、本開示は、オリゴヌクレオチドのキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、組成物は、ランダムでない又は制御されたレベルの複数のオリゴヌクレオチドを含み、この複数中のオリゴヌクレオチドは共通の塩基配列を共有し、且つ少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 又は 25 個のキラルなヌクレオチド間結合に同じ立体配置の結合リンを含む（キラル制御されたヌクレオチド間結合）。一部の実施形態において、所定レベルの及び／又は提供される複数中のオリゴヌクレオチド、例えば式 $O-I$ 、 $A^c - [-L^M - (R^D)_a]_b$ 、 $[(A^c)_a - L^M]_b - R^D$ 、 $(A^c)_a - L^M - (A^c)_b$ 又は $(A^c)_a - L^M - (R^D)_b$ のオリゴヌクレオチドは、1～30 個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは 2～30

40

50

個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは5～30個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは10～30個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは1つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは2つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは3つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは4つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは5つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは6つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは7つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは8つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは9つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは10個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは11個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは12個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは13個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは14個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは15個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を有する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは16個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を有する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは17個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を有する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは18個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を有する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは19個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を有する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは20個のキラル制御されたヌクレオチド間結合を有する。一部の実施形態において、全ヌクレオチド間結合の約1～100%が、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、パーセンテージは約5%～100%である。一部の実施形態において、パーセンテージは少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%である。一部の実施形態において、パーセンテージは約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%又は99%である。

【0358】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはユニマーである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはP修飾ユニマーである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはステレオユニマーである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは立体配置R_pのステレオユニマーである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは立体配置S_pのステレオユニマーである。

【0359】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、アルトマーである。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、P-修飾アルトマーである。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ステレオアルトマーである。

【0360】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ブロックマーである。一部の
実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、P-修飾ブロックマーである。一部の
実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ステレオブロックマーである。

【0361】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。

【0362】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、スキップマーである。

【0363】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはヘミマー (hemimer)
) である。一部の実施形態において、ヘミマーは、5' 末端又は 3' 末端領域にオリゴヌ
クレオチドの残りの部分が有しない構造特徴を備えた配列があるオリゴヌクレオチドであ
る。一部の実施形態において、5' 末端又は 3' 末端領域は 2 ~ 20 ヌクレオチドを有す
るか又は含む。一部の実施形態において、構造的特徴は塩基修飾である。一部の実施形態
において、構造的特徴は糖修飾である。一部の実施形態において、構造的特徴は P 修飾で
ある。一部の実施形態において、構造的特徴はキラルなヌクレオチド間結合の立体化学で
ある。一部の実施形態において、構造的特徴は、塩基修飾、糖修飾、P 修飾若しくはキラ
ルなヌクレオチド間結合の立体化学又はこれらの組み合わせであるか又はそれを含む。一
部の実施形態において、ヘミマーは、5' 末端領域の各糖部分が共通の修飾を共有するオ
リゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、ヘミマーは、3' 末端領域の各糖部
分が共通の修飾を共有するオリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、5' 又
は 3' 末端領域の共通の糖修飾は、オリゴヌクレオチドのいかなる他の糖部分によっても
共有されない。一部の実施形態において、例示的ヘミマーは、一方の末端領域に置換又は
非置換 2'-O-アルキル糖修飾ヌクレオシド、二環式糖修飾ヌクレオシド、β-D-リ
ボヌクレオシド又は β-D-デオキシリボヌクレオシド (例えば、2'-MOE 修飾ヌク
レオシド及び LNA (商標) 又は ENA (商標) 二環式糖修飾ヌクレオシド) の配列を含
み、且つ他方の末端領域に異なる糖部分を有するヌクレオシド (置換又は非置換 2'-O
-アルキル糖修飾ヌクレオシド、二環式糖修飾ヌクレオシド又は天然のものなど) の配列
を含むオリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオ
チドは、ユニマー、アルトマー、ブロックマー、ギャップマー、ヘミマー及びスキップマ
ーの 1 つ以上の組み合わせである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオ
チドは、ユニマー、アルトマー、ブロックマー、ギャップマー及びスキップマーの 1 つ以
上の組み合わせである。例えば、一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチ
ドは、アルトマー及びギャップマーの両方である。一部の実施形態において、提供される
ヌクレオチドは、ギャップマー及びスキップマーの両方である。化学及び合成技術分野の
当業者は、パターンの組み合わせを他にも多数利用可能であり、本開示の方法に係る提供
されるオリゴヌクレオチドの合成に必要な構成要素が市販されているか及び／又は合成上
利用可能かによってのみ制限されることを認識するであろう。一部の実施形態において、
ヘミマー構造は有利な利益をもたらす。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌク
レオチドは、5' 末端配列に修飾糖部分を含む 5'-ヘミマーである。一部の実施形態に
おいて、提供されるオリゴヌクレオチドは、5' 末端配列に修飾 2'-糖部分を含む 5'-
ヘミマーである。

【0364】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1 つ以上の任意選択で置
換されているヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオ
チドは、1 つ以上の修飾ヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、提供されるオリ
ゴヌクレオチドは、1 つ以上の任意選択で置換されているヌクレオシドを含む。一部の実
施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1 つ以上の修飾ヌクレオシドを含む
。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1 つ以上の任意選択で置
換されている LNA を含む。

【0365】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の任意選択で置換された核酸塩基を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の任意選択で置換された天然の核酸塩基を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の任意選択で置換された修飾核酸塩基を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の5-メチルシチジン；5-ヒドロキシメチルシチジン、5-ホルミルシトシン又は5-カルボキシシトシンを含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の5-メチルシチジンを含む。

【0366】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチド、例えば式O-I、 $A^c - [- L^M - (R^D)_a]_b$ 、 $[(A^c)_a - L^M]_b - R^D$ 、 $(A^c)_a - L^M - (A^c)_b$ 又は $(A^c)_a - L^M - (R^D)_b$ のものの各々は、独立に、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン若しくはウラシルの任意選択で置換されているか又は保護された核酸塩基である。一部の実施形態では、各BAは、独立に、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン若しくはウラシルの任意選択で置換されているか又は保護された核酸塩基である。当業者には理解されるように、当技術分野で広く知られるもの、例えばオリゴヌクレオチドの調製に使用されているもの（例えば、国際公開第2010/064146号パンフレット、同第2011/005761号パンフレット、同第2013/012758号パンフレット、同第2014/010250号パンフレット、米国特許第2013/0178612号明細書、国際公開第2014/012081号パンフレット、同第2015/107425号パンフレット、同第2017/015555号パンフレット及び同第2017/062862号パンフレット（それらの各々の保護核酸基は、参照により本明細書に援用される）を含め、様々な保護核酸塩基を本開示に従って使用することができる。

【0367】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されている糖を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、天然に存在するDNA及びRNAに見られる1つ以上の任意選択で置換されている糖を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているリボース又はデオキシリボースを含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているリボース又はデオキシリボースを含み、ここで、リボース又はデオキシリボース部分の1つ以上のヒドロキシル基は、任意選択で、且つ独立に、ハロゲン、 R' 、 $-N(R')_2$ 、 $-OR'$ 又は $-SR'$ によって置き換えられ、式中、各 R' は、独立に、本開示に記載される。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、ハロゲン、 R' 、 $-N(R')_2$ 、 $-OR'$ 又は $-SR'$ で置換され、式中、各 R' は、独立に、本開示に記載される。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、ハロゲンで置換されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、 $-F$ 、ハロゲンで置換されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、 $-OR'$ で置換され、式中、各 R' は、独立に、本開示に記載される。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、 $-OR'$ で置換され、式中、各 R' は、独立に、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_6$ 脂肪族である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に

、 $-OR'$ で置換され、式中、各 R' は、独立に、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_6$ アルキルである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、 $-OMe$ で置換されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ以上の任意選択で置換されているデオキシリボースを含み、ここで、デオキシリボースの2'位は、任意選択で、且つ独立に、 $-O$ -メトキシエチルで置換されている。

【0368】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、一本鎖オリゴヌクレオチドである。一部の実施形態では、提供される一本鎖 $C9orf72$ オリゴヌクレオチドは、一本鎖 $C9orf72$ オリゴヌクレオチドと部分的又は完全に相補的な1つ若しくは複数の別の鎖も更に含む。

10

【0369】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、ハイブリダイズしたオリゴヌクレオチド鎖である。いくつかの実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、部分的にハイブリダイズしたオリゴヌクレオチド鎖である。いくつかの実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、完全にハイブリダイズしたオリゴヌクレオチド鎖である。いくつかの実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、二本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、三本鎖オリゴヌクレオチド（例えば、三重鎖）である。

20

【0370】

一部の実施形態では、提供される $C9orf72$ オリゴヌクレオチドは、キメラである。例えば、一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチド（例えば、本明細書に開示される $C9orf72$ オリゴヌクレオチドの塩基配列を含む、それから構成されるか又はその一部分を含む塩基配列を有する $C9orf72$ オリゴヌクレオチド）は、DNA-RNAキメラ、DNA-LNAキメラ、DNA、RNA、LNA、2'-修飾糖などのうち何れか2つ以上を含むキメラである。

【0371】

一部の実施形態では、 $C9orf72$ オリゴヌクレオチドは、国際公開第2012/030683号パンフレットに記載される化学構造を含み得る。

30

【0372】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、治療薬である。

【0373】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、核酸類似体、例えばGNA、LNA、PNA、TNA、F-HNA（F-THP又は3'-フルオロテトラヒドロピラン）、MNA（マンニトール核酸、例えばLeumann 2002 Bioorg. Med. Chem. 10:841-854）、ANA（アニトール核酸）及びモルホリノを含む。

【0374】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、長さが約2～500ヌクレオチド単位である。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、長さが約5～500ヌクレオチド単位である。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、長さが約10～50ヌクレオチド単位である。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、長さが約15～50ヌクレオチド単位である。一部の実施形態では、各ヌクレオチド単位は、独立に、ヘテロアリアル核酸塩基単位（例えば、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン及びウラシル、その各々は、任意選択で、且つ独立に、置換又は保護されている）、5～10員ヘテロシクリル環を含む糖単位並びに式Iの構造を有するヌクレオチド間結合を含む。

40

【0375】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約15～約30ヌクレオチ

50

ド単位長である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約10～約25ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約15～約22ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は25ヌクレオチド単位長である。

【0376】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも15ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも16ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも17ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも18ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも19ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも20ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも21ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも22ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも23ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも24ヌクレオチド単位長である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも25ヌクレオチド単位長である。一部の他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも30ヌクレオチド単位長である。一部の他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも18ヌクレオチド単位長の相補鎖の二重鎖である。一部の他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも21ヌクレオチド単位長の相補鎖の二重鎖である。

10

20

【0377】

一部の実施形態では、1) 共通の塩基配列及び長さ、2) 骨格結合の共通のパターン、及び3) 骨格キラル中心の共通のパターンを特徴とするオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドは、同じ化学構造を有する。例えば、これらは、同じ塩基配列、ヌクレオシド修飾の同じパターン、骨格結合の同じパターン（即ちヌクレオチド間結合タイプ、例えばリン酸、ホスホロチオエートなどのパターン）、骨格キラル中心の同じパターン（即ち結合リン立体化学（R_p/S_p）のパターン）及び骨格リン修飾の同じパターン（即ち式Iにおける「-XLR¹」基のパターン）を有する。

30

【0378】

オリゴヌクレオチド

一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令ことができ、これは、本明細書に開示される何れかのC9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列から構成されるか、それを含むか又はその一部分（例えば、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19若しくはそれを超える連続塩基の区間）を含む塩基配列を有し、オリゴヌクレオチドは、塩基、糖及び／又はヌクレオチド間結合の少なくとも1つの非天然修飾を含む。

40

【0379】

一部の実施形態では、提供される組成物は、オリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の炭水化物部分を含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数のターゲティング部分を含む。オリゴヌクレオチドに共役させることができる追加化学部分の非限定的な例を実施例1に示す。

【0380】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子若

50

しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、RNアーゼH媒介ノックダウンを介してC9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子mRNAとの結合後に翻訳を立体的にブロックすることにより、且つ／又はmRNAスプライシングを改変若しくは妨害することにより、C9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる。一部の実施形態では、C9orf72標的遺伝子は、ヘキサヌクレオチドリピート伸長を含む。

【0381】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、限定はされないが、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)、オリゴヌクレオチド、二本鎖及び一本鎖siRNAを含めた核酸(アンチセンス化合物を含む)を含み；及びC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72アンチセンス転写物又は遺伝子及び／又はその発現産物若しくは遺伝子産物又はリピート伸長を含むC9orf72転写物又はその遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを増加させる遺伝子若しくは遺伝子産物又はC9orf72関連障害に関連する遺伝子若しくは遺伝子産物の発現を阻害する能力を有するアプタマー、抗体、ペプチド、小分子及び／又は他の薬剤と共に共投与するか、又は治療レジメンの一環として使用することができる。

【0382】

一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する提供されるオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される塩基配列(又はその一部分)、化学修飾(又はその一部分)のパターン、構造要素又はその一部分又はフォーマット又はその一部分を有する。一部の実施形態では、C9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる、提供されるオリゴヌクレオチドは、塩基配列(若しくはその部分)、化学修飾のパターン(若しくはその部分)、本明細書において、例えば表1A若しくは図に開示されるか又はそれ以外に本明細書に開示される何れかのオリゴヌクレオチドのフォーマット或いは本明細書に記載の構造要素又はそのフォーマット若しくは部分を有する。

【0383】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、何れかのDNA鎖に由来するC9orf72核酸にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72アンチセンス又はセンス転写物にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、限定はされないがプレmRNA又は成熟mRNAを含めた、RNAプロセシングの任意の段階にあるC9orf72核酸にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、限定はされないが、C9orf72核酸のプロモーター領域、エンハンサー領域、転写終止領域、翻訳開始シグナル、翻訳終止コドン、コード領域、非コード領域、エクソン、イントロン、5'UTR、3'UTR、リピート領域、ヘキサヌクレオチドリピート伸長、スプライスジャンクション、イントロン／エクソン又はエクソン／イントロンジャンクション、エクソン：エクソンスプライスジャンクション、エクソンスプライシングサイレンサー(ESS)、エクソンスプライシングエンハンサー(ESE)、エクソン1a、エクソン1b、エクソン1c、エクソン1d、エクソン1e、エクソン2、エクソン3、エクソン4、エクソン5、エクソン6、エクソン7、エクソン8、エクソン9、エクソン10、エクソン11、イントロン1、イントロン2、イントロン3、イントロン4、イントロン5、イントロン6、イントロン7、イントロン8、イントロン9又はイントロン10を含め、C9orf72核酸の任意の要素又はその相補体にハイブリダイズすることができる。イントロンとエクソンとは交互に並ぶ；イントロン1はエクソン1(又は1a又は1b又は1c等)とエクソ

10

20

30

40

50

【 0 3 8 4 】

[illegible][illegible]

20

30

10

20

30

40

10

20

30

40

10

20

30

40

20

40

8 1 2 2、WV-8 3 1 1、WV-8 3 1 5、WV-8 3 1 2、WV-8 3 1 3、WV-8 3 1 4、WV-8 3 1 6、WV-8 3 1 7 若しくはWV-8 3 1 8又はこれらのオリゴヌクレオチドの何れかの同じ塩基配列を有する任意のオリゴヌクレオチドから選択される。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2アンチセンス (A S) 転写物の範囲内にある部位を認識し、WV-3 7 2 3、WV-3 7 3 7、WV-3 7 1 9、WV-3 7 3 0、WV-3 7 2 2、WV-3 7 4 3、WV-3 7 4 5、WV-3 7 3 9、WV-3 7 2 4、WV-3 7 3 2、WV-3 7 3 4、WV-3 7 3 3、WV-3 7 2 0、WV-3 7 2 1、WV-3 7 3 1又はこれらのオリゴヌクレオチドの何れかの同じ塩基配列を有する任意のオリゴヌクレオチドから選択される。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2エクソン2転写物の範囲内にある部位を認識し、WV-3 6 6 2及びWV-7 1 1 8又はこれらのオリゴヌクレオチドの何れかの同じ塩基配列を有する任意のオリゴヌクレオチドから選択される。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、G E N B A N K受託番号N T _ 0 0 8 4 1 3 . 1 8で表されるC 9 o r f 7 2配列の一部分又はその相補体にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、エクソン1 aの開始部位からエクソン1 bの開始部位までの領域において始まる領域によって表されるC 9 o r f 7 2プレmRNAの一部分にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、エクソン1 aの終了部位からエクソン1 bの開始部位までの領域において始まる領域によって表されるC 9 o r f 7 2プレmRNAの一部分にハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、c 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、イントロンとエクソンとの間のジャンクションにまたがる部位を認識する。

10

20

【0387】

一部の実施形態において、c 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドはエクソン1 bとイントロン1との間のジャンクションにまたがる。一部の実施形態において、c 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドはエクソン1 bとイントロン1との間のジャンクションにまたがり、配列C C T C A C T C A C C C A C T C G C C Aであるか、それを含むか、又はその1 5隣接塩基を含む塩基配列を有する。

【0388】

いかなる特定の科学理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、配列C C T C A C T C A C C C A C T C G C C Aが、c 9 o r f 7 2 mRNA変異体2又はV2 (ヘキサヌクレオチドリピートが欠損している) について報告されているエクソン1 bとイントロン1とのジャンクションにまたがること、及びこの部位は、配列C C T C A C T C A C C C A C T C G C C Aであるか、それを含むか、又はその1 5隣接塩基を含む配列を有するオリゴヌクレオチドによる結合がスプライシング機構によって妨害され得ることを指摘しておく。この配列はc 9 o r f 7 2 mRNA変異体V1、V2及びV3に存在するが、配列C C T C A C T C A C C C A C T C G C C Aであるか、それを含むか、又はその1 5隣接塩基を含む配列を有するオリゴヌクレオチドは、非疾患関連V2と比べて疾患関連変異体V1及びV3の分解において特に効果的である。いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、配列C C T C A C T C A C C C A C T C G C C AがV1及びV3において報告されているイントロンの中央にあること；配列C C T C A C T C A C C C A C T C G C C Aが、V2について報告されているエクソン (1 b) とイントロン (1) とのジャンクションにまたがり、この部位への接触はスプライシング機構によって立体的に妨害され得ることを提唱する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、イントロン-エクソンジャンクションにおける5'分岐部位と相補的な塩基配列を含む。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2エクソン1とC 9 o r f 7 2イントロン1とのジャンクションにおける5'分岐部位と相補的な配列を含む。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2エクソン1とイントロン1とのジャンクションにおける5'分岐部位は、G T G A G Tの塩基配列を含む。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌ

30

40

50

クレオチドは、G T G A G Tと相補的な塩基配列を含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、遺伝子の疾患関連アレル又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性を、その遺伝子の対応する野生型アレル又はその遺伝子産物と比べて優先的に低下させる能力を有し、ここで、オリゴヌクレオチドは、疾患関連アレル及び野生型アレルの両方と相補的な塩基配列を有し、及び疾患関連アレルのmRNA又はDNAにおけるオリゴヌクレオチドの結合部位は、野生型アレルを発現するmRNA又はDNAにおけるオリゴヌクレオチドの結合部位と比べてオリゴヌクレオチドと接触しにくい。一部の実施形態において、疾患関連アレルのmRNA又はDNAにおける結合部位へのオリゴヌクレオチドの接触し易さは、スプライシング機構及び／又は他の核酸又はタンパク質が疾患関連アレルのmRNA又はDNAに結合することにより低下する。一部の実施形態において、本開示は、遺伝子又はその遺伝子産物の突然変異又は疾患関連アレルの発現、レベル及び／又は活性を、その遺伝子の対応する野生型又は非疾患関連アレル又はその遺伝子産物と比べて優先的に低下させる（ノックダウンする）能力を有するオリゴヌクレオチドに関し、ここで、オリゴヌクレオチドは、突然変異又は疾患関連アレル及び野生型又は非疾患関連アレルの両方と相補的な塩基配列を有し、及び突然変異又は疾患関連アレルの核酸（例えば、染色体DNA、mRNA、プレmRNA等）におけるオリゴヌクレオチドの結合部位（例えば、そのオリゴヌクレオチドと相補的な配列）は、野生型又は非疾患関連アレルの核酸におけるオリゴヌクレオチドの結合部位と比べて（例えば、スプライシング機構及び／又は他の核酸又はタンパク質の結合の増加に起因して）オリゴヌクレオチドと接触しにくい。

10

20

【0389】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、GENBANK受託番号NT_008413.18、ヌクレオチド27535000～27565000又はその相補体によって表されるC9orf72プレmRNAの一部にハイブリダイズすることができる。

【0390】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはイントロンにハイブリダイズすることができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、ヘキサヌクレオチドリピートを含むイントロンにハイブリダイズすることができる。

【0391】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、センス鎖に由来する全てのC9orf72変異体にハイブリダイズする。一部の実施形態において、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、限定はされないがヘキサヌクレオチドリピート伸長を含むものを含め、センス鎖に由来するC9orf72変異体に選択的にハイブリダイズする。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドリピート伸長は、任意のヘキサヌクレオチドの少なくとも24リピートを含む。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドリピート伸長は、任意のヘキサヌクレオチドの少なくとも30リピートを含む。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドリピート伸長は、ヘキサヌクレオチドの何れかの少なくとも50リピートを含む。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドリピート伸長は、ヘキサヌクレオチドの何れかの少なくとも100リピートを含む。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドリピート伸長は、任意のヘキサヌクレオチドの少なくとも200リピートを含む。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドリピート伸長は、任意のヘキサヌクレオチドの少なくとも500リピートを含む。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドは、GGGGCC、GGGGGG、GGGGGC、GGGGCG、CCCCGG、CCCCCC、CCCCCC及び／又はCGCCCCである。一部の実施形態において、ヘキサヌクレオチドGGGGCCはGGGGCCexp又は(GGGGCC)_nと表記され、即ちヘキサヌクレオチドGGGGCCのリピートである。

30

40

【0392】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドのC9orf72標的は

50

、mRNAでないC9orf72 RNAである。一部の実施形態において、提供される組成物中の提供されるオリゴヌクレオチド、例えば第1の複数中のオリゴヌクレオチドは、塩基修飾、糖修飾及び／又はヌクレオチド間結合修飾を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは塩基修飾及び糖修飾を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは塩基修飾及びヌクレオチド間結合修飾を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは糖修飾及びヌクレオチド間修飾を含む。一部の実施形態において、提供される組成物は、塩基修飾、糖修飾及びヌクレオチド間結合修飾を含む。塩基修飾、糖修飾、ヌクレオチド間結合修飾などの例示的化学修飾は、限定はされないが、本開示に記載されるものを含め、当技術分野において広く公知である。一部の実施形態において、修飾塩基は、置換されたA、T、C、G又はUである。一部の実施形態において、糖修飾は2'-修飾である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-F修飾である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OR¹である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OR¹であり、式中、R¹は、任意選択で置換アルキルである。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OMeである。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-MOEである。一部の実施形態において、修飾糖部分は、架橋された二環式又は多環式の環である。一部の実施形態において、修飾糖部分は、5〜20個の環原子を有する架橋された二環式又は多環式の環であり、ここで、1つ以上の環原子は、任意選択で、且つ独立に、ヘテロ原子である。例示的環構造は、BNA、LNA等に見られるものなど、当技術分野において広く公知である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは1つ以上の修飾ヌクレオチド間結合と1つ以上の天然リン酸結合との両方を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合と天然リン酸結合との両方を含むオリゴヌクレオチド及びその組成物は、改善された特性、例えば活性等をもたらす。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はキラルなヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はホスホロチオエート結合である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は置換ホスホロチオエート結合である。

10

20

【0393】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される任意のオリゴヌクレオチドの塩基配列であるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有するステレオランダムなオリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、塩基配列の一部分は、その少なくとも15隣接塩基である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される任意のオリゴヌクレオチドの塩基配列であるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、1つ以上のステレオランダムなヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される任意のオリゴヌクレオチドの塩基配列であるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、1つ以上のステレオランダムなホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。

30

【0394】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチド特性は、立体化学（骨格キラル中心のパターン）及び化学修飾（塩基、糖及び／又はヌクレオチド間結合の修飾）又はそのパターンを最適化することにより調整し得る。

40

【0395】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドにおける骨格キラル中心のパターンは安定性の増加をもたらす。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは意外にも、活性の増加をもたらす。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは安定性及び活性の増加をもたらす。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは意外にも、特定のタンパク質への結合の増加をもたらす。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは意外にも、送達の亢進をもたらす。

【0396】

50

一部の実施形態において、本開示はc 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドに関し、ここで、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのキラル中心を含む骨格を含む。一部の実施形態において、本開示はc 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドに関し、ここで、オリゴヌクレオチドは、R p又はS p配置のホスホロチオエートである少なくとも1つのキラル中心を含む骨格を含む。

【0397】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは骨格キラル中心のパターンを有する。

【0398】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド又はその一領域（例えば、コア）の骨格キラル中心のパターンは、(S p) m (R p) n、(R p) n (S p) m、(N p) t [(O p) n (S p) m] y、(S p) t [(O p) n (S p) m] y、(N p) t [(R p) n (S p) m] y又は(S p) t [(R p) n (S p) m] yを含むか又はそれであり、ここで、各可変要素は、本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、yは1である。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは、(S p) m (R p) n、(R p) n (S p) m、(N p) t (R p) n (S p) m、(S p) t (R p) n (S p) m、(N p) t [(R p) n (S p) m] 2、(S p) t [(R p) n (S p) m] 2、(N p) t (O p) n (S p) m、(S p) t (O p) n (S p) m、(N p) t [(O p) n (S p) m] 2又は(S p) t [(O p) n (S p) m] 2を含むか又はそれである。一部の実施形態において、yは2である。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) m (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) 1~5 (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) 2~5 (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) 2 (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) 3 (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) 4 (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、パターンは(N p) t (O p/R p) n (S p) 5 (O p/R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、N pはS pである。一部の実施形態において、(O p/R p)はO pである。一部の実施形態において、(O p/R p)はR pである。一部の実施形態において、N pはS pであり、及び(O p/R p)はR pである。一部の実施形態において、N pはS pであり、及び(O p/R p)はO pである。一部の実施形態において、N pはS pであり、少なくとも1つの(O p/R p)はR pであり、及び少なくとも1つの(O p/R p)はO pである。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは、(R p) n (S p) m、(N p) t (R p) n (S p) m又は(S p) t (R p) n (S p) mを含むか又はそれであり、式中、m>2である。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは、(R p) n (S p) m、(N p) t (R p) n (S p) m又は(S p) t (R p) n (S p) mを含むか又はそれであり、式中、nは1であり、少なくとも1つのt>1であり、及び少なくとも1つのm>2である。一部の実施形態において、少なくとも1つのnは1であり、少なくとも1つのtは1以上であり、及び少なくとも1つのmは2以上である。一部の実施形態において、少なくとも1つのnは1であり、少なくとも1つのtは2以上であり、及び少なくとも1つのmは3以上である。一部の実施形態において、各nは1である。一部の実施形態において、少なくとも1つのt>1である。一部の実施形態において、少なくとも1つのt>2である。一部の実施形態において、少なくとも1つのt>3である。一部の実施形態において、少なくとも1つのt>4である。一部の実施形態において、少なくとも1つのm>1である。一部の実施形態において、少なくとも1つのm>2である。一部の実施形態において、少なくとも1つのm>3である。一部の実施形態において、少なくとも1つのm>4である。一部の実施形態において、骨格キラル中心のパターンは1つ以上のアキラルな天然リン酸結合を含む。一部の実施

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

50

50

50

一部の実施形態において、共通の骨格キラル中心のパターン（例えば、C9orf72 オリゴヌクレオチドにおける、又はそのコア若しくはウィングにおける、又は2つのウィングにおける骨格キラル中心のパターン）は、O S O S O、O S S S O、O S S S O S、S O S O、S O S O、S O S O S、S O S O S O、S O S O S O S O、S O S S S O、S S O S S S O S S、S S S O S O S S S、S S S S O S O S S S S、S S S S S、S S S S S S、S S S S S S S、S S S S S S S S、S S S S S S S S S又はR R Rのパターン

を含み、ここで、Sは、S p配置のホスホロチオエートを表し、Oは、ホスホジエステルを表し、及びRは、R p配置のホスホロチオエートを表す。

【0403】

一部の実施形態において、非キラル中心はホスホジエステル結合の結合リンである。一部の実施形態において、S p配置のキラル中心はホスホロチオエート結合の結合リンである。一部の実施形態において、R p配置のキラル中心はホスホロチオエート結合の結合リンである。

【0404】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の5%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の10%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の15%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の20%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の25%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の30%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の35%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の40%以上が修飾ヌクレオチド間結合である。

10

20

【0405】

一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、オリゴヌクレオチドの投与によって少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、オリゴヌクレオチドに導かれるRNアーゼH媒介ノックダウンによって全体で少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、インビトロでの細胞におけるオリゴヌクレオチドの投与によって少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、インビトロでの細胞におけるオリゴヌクレオチドに導かれるRNアーゼH媒介ノックダウンによって少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、インビトロでの細胞における25nm以下の濃度のオリゴヌクレオチドの投与によって少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、インビトロでの細胞における10nm以下の濃度のオリゴヌクレオチドの投与によって少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは、インビトロでの細胞における5nm以下の濃度のオリゴヌクレオチドに導かれるRNアーゼH媒介ノックダウンによって少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、細胞は哺乳類細胞である。一部の実施形態において、細胞はヒト細胞である。

30

40

50

部の実施形態において、細胞は肝細胞である。一部の実施形態において、細胞はH u h 7又はH e p 3 B細胞である。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約2 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約3 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約4 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約5 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約6 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約7 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約8 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約9 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約2 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約3 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約4 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約5 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約6 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約7 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約8 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2 5 n M以下の濃度でインビトロで細胞においてC 9 o r f 7 2標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルを少なくとも約9 0 %低下させる能力を有する。一部の実施形態において、I C 5 0は、インビトロで細胞において発現若しくはレベル又はC 9 o r f 7 2標的遺伝子若しくはその遺伝子産物を5 0 %低下させるための阻害濃度である。

【0 4 0 6】

一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p) m R p又はR p (S p) mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンがR p (S p) mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p)

10

20

30

40

50

m R pを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、mは2である。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンがR p (S p)₂を含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p)₂ R p (S p)₂を含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(R p)₂ R p (S p)₂を含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンがR p S p R p (S p)₂を含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンがS p R p R p (S p)₂を含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p)₂ R pを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。

10

【0407】

本明細書に定義する通り、mは1～50である。一部の実施形態において、mは1である。一部の実施形態において、mは2～50である。一部の実施形態において、mは2、3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、mは3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、mは4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、mは5、6、7又は8である。一部の実施形態において、mは6、7又は8である。一部の実施形態において、mは7又は8である。一部の実施形態において、mは2である。一部の実施形態において、mは3である。一部の実施形態において、mは4である。一部の実施形態において、mは5である。一部の実施形態において、mは6である。一部の実施形態において、mは7である。一部の実施形態において、mは8である。一部の実施形態において、mは9である。一部の実施形態において、mは10である。一部の実施形態において、mは11である。一部の実施形態において、mは12である。一部の実施形態において、mは13である。一部の実施形態において、mは14である。一部の実施形態において、mは15である。一部の実施形態において、mは16である。一部の実施形態において、mは17である。一部の実施形態において、mは18である。一部の実施形態において、mは19である。一部の実施形態において、mは20である。一部の実施形態において、mは21である。一部の実施形態において、mは22である。一部の実施形態において、mは23である。一部の実施形態において、mは24である。一部の実施形態において、mは25である。一部の実施形態において、mは25より大きい。

20

30

【0408】

一部の実施形態において、繰り返しパターンは(S p)_m (R p)_nであり、式中、nは1～10であり、及びmは、独立に、本開示に記載される。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p)_m (R p)_nを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p)_m (R p)_nを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、繰り返しパターンは(R p)_n (S p)_mであり、式中、nは1～10であり、及びmは、独立に、本開示に記載される。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(R p)_n (S p)_mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(R p)_n (S p)_mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、(R p)_n (S p)_mは(R p)₂ (S p)₂である。一部の実施形態において、(S p)_n (R p)_mは(S p)₂ (R p)₂である。

40

【0409】

一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p)_m (R

50

p) n (S p) tを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、繰り返しパターンは(S p) m (R p) n (S p) tであり、式中、nは1～10であり、tは1～50であり、及びmは本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p) m (R p) n (S p) tを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、繰り返しパターンは(S p) t (R p) n (S p) mであり、式中、nは1～10であり、tは1～50であり、及びmは本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p) t (R p) n (S p) mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(S p) t (R p) n (S p) mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。

10

【0410】

一部の実施形態において、繰り返しパターンは(N p) t (R p) n (S p) mであり、式中、nは1～10であり、tは1～50であり、N pは、独立にR p又はS pであり、及びmは本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(N p) t (R p) n (S p) mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(N p) t (R p) n (S p) mを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、繰り返しパターンは(N p) m (R p) n (S p) tであり、式中、nは1～10であり、tは1～50であり、N pは、独立にR p又はS pであり、及びmは本開示に記載される通りである。一部の実施形態において、本開示は、その骨格キラル中心のパターンが(N p) m (R p) n (S p) tを含むオリゴヌクレオチドタイプのC 9 o r f 7 2オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、N pはR pである。一部の実施形態において、N pはS pである。一部の実施形態において、N pは全て同じである。一部の実施形態において、N pは全てS pである。一部の実施形態において、少なくとも1つのN pが他のN pと異なる。一部の実施形態において、tは2である。

20

30

【0411】

本明細書に定義する通り、nは1～10である。一部の実施形態において、nは1、2、3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、nは1である。一部の実施形態において、nは2、3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、nは3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、nは4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、nは5、6、7又は8である。一部の実施形態において、nは6、7又は8である。一部の実施形態において、nは7又は8である。一部の実施形態において、nは1である。一部の実施形態において、nは2である。一部の実施形態において、nは3である。一部の実施形態において、nは4である。一部の実施形態において、nは5である。一部の実施形態において、nは6である。一部の実施形態において、nは7である。一部の実施形態において、nは8である。一部の実施形態において、nは9である。一部の実施形態において、nは10である。

40

【0412】

本明細書に定義する通り、tは1～50である。一部の実施形態において、tは1である。一部の実施形態において、tは2～50である。一部の実施形態において、tは2、3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、tは3、4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、tは4、5、6、7又は8である。一部の実施形態において、tは5、6、7又は8である。一部の実施形態において、tは6、7又は8である。一部の実施形態において、tは7又は8である。一部の実施形態において、tは2である。一部の実施形態において、tは3である。一部の実施形態において、tは4で

50

10

10

20

30

40

40

50

部の実施形態において、 m と t との和は6より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は7より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は8より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は9より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は10より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は11より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は12より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は13より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は14より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は15より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は16より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は17より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は18より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は19より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は20より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は21より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は22より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は23より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は24より大きい。一部の実施形態において、 m と t との和は25より大きい。

10

【0416】

一部の実施形態において、 n は1であり、 m 及び t の少なくとも一方は1より大きい。一部の実施形態において、 n は1であり、 m 及び t の各々は、独立に、1より大きい。一部の実施形態において、 $m > n$ 及び $t > n$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)m(Rp)n(Sp)t$ は $(Sp)_2Rp(Sp)_2$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_2Rp(Sp)_2$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $SpRp(Sp)_2$ である。一部の実施形態において、 $(Np)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Np)tRp(Sp)m$ である。一部の実施形態において、 $(Np)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Np)_2Rp(Sp)m$ である。一部の実施形態において、 $(Np)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Rp)_2Rp(Sp)m$ である。一部の実施形態において、 $(Np)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_2Rp(Sp)m$ である。一部の実施形態において、 $(Np)t(Rp)n(Sp)m$ は $RpSpRp(Sp)m$ である。一部の実施形態において、 $(Np)t(Rp)n(Sp)m$ は $SpRpRp(Sp)m$ である。

20

【0417】

一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $SpRpSpSp$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_2Rp(Sp)_2$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_3Rp(Sp)_3$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_4Rp(Sp)_4$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)tRp(Sp)_5$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $SpRp(Sp)_5$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_2Rp(Sp)_5$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_3Rp(Sp)_5$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_4Rp(Sp)_5$ である。一部の実施形態において、 $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$ は $(Sp)_5Rp(Sp)_5$ である。

30

40

【0418】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはブロックマーである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはアルトマーである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、交互に並んだブロックを含むアルトマーである。一部の実施形態において、ブロックマー又はアルトマーは、化学修飾（有無を含む）、例えば塩基修飾、糖修飾、ヌクレオチド間結合修飾、立体化学等又はそのパターンによって定義することができる。ブロック及び／又は交互単位の例示的化学修飾、立体化学及びそのパターンとしては、限定はされないが、オリゴヌクレオチドについて記載されるものなど、本開示に記載されるものが挙げられる。一部の実施形態において、ブロックマーは、 $\dots SS \dots RR \dots SS \dots RR \dots$ のパターンを含む。一部の実施形態に

50

において、アルトマーは、S R S R S R S Rのパターンを含む。

【0419】

一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは、繰り返しの(S p) m (R p) n、(R p) n (S p) m、(N p) t (R p) n (S p) m又は(S p) t (R p) n (S p) m単位を含む。一部の実施形態において、繰り返し単位は(S p) m (R p) nである。一部の実施形態において、繰り返し単位はS p R pである。一部の実施形態において、繰り返し単位はS p S p R pである。一部の実施形態において、繰り返し単位はS p R p R pである。一部の実施形態において、繰り返し単位はR p R p S pである。一部の実施形態において、繰り返し単位は(R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、繰り返し単位は(N p) t (R p) n (S p) mである。一部の実施形態において、繰り返し単位は(S p) t (R p) n (S p) mである。

10

【0420】

一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p / S p) x - (全てR p又は全てS p) - (R p / S p) yであるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p / S p) - (全てR p又は全てS p) - (R p / S p)であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p) x - (全てS p) - (R p) yであるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p) - (全てS p) - (R p)であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(S p) x - (全てR p) - (S p) yであるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(S p) - (全てR p) - (S p)であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p / S p) x - (繰り返しの(S p) m (R p) n) - (R p / S p) yであるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p / S p) - (繰り返しの(S p) m (R p) n) - (R p / S p)であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p / S p) x - (繰り返しのS p S p R p) - (R p / S p) yであるか又はそれを含む。一部の実施形態において、提供される骨格キラル中心のパターンは(R p / S p) - (繰り返しのS p S p R p) - (R p / S p)であるか又はそれを含む。

20

【0421】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の立体化学のパターン又は任意の糖修飾を含む。

30

【0422】

一部の実施形態において、修飾糖部分は2' - 修飾を含む。一部の実施形態において、修飾糖部分は2' - 修飾を含む。一部の実施形態において、2' - 修飾は2' - OR¹である。一部の実施形態において、2' - 修飾は2' - OMeである。一部の実施形態において、2' - 修飾は2' - MOEである。一部の実施形態において、2' - 修飾はLNA糖修飾である。一部の実施形態において、2' - 修飾は2' - Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - 修飾である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - OR¹又は2' - Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - OR¹又は2' - Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁ ~ C₆アルキルである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - OR¹又は2' - Fであり、ここで、少なくとも1つは、2' - Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - OR¹又は2' - Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁ ~ C₆アルキルであり、及び少なくとも1つは2' - OR¹である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - OR¹又は2' - Fであり、ここで、少なくとも1つは、2' - Fであり、少なくとも1つは2' - OR¹である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2' - OR¹又は2' - Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁ ~ C₆アルキルであり、ここで、少なくとも1つは、2' - Fであり、少なくとも1つは2' - OR¹である。

40

50

【0423】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の5%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の10%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の15%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の20%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の25%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の30%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の35%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の40%以上は修飾されている。10
 一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の45%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の50%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の55%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の60%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の65%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の70%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の75%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の80%以上は修飾されている。20
 一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の85%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の90%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの糖部分の95%以上は修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの各糖部分が修飾されている。一部の実施形態において、修飾糖部分は2'-修飾を含む。一部の実施形態において、修飾糖部分は2'-修飾を含む。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OR¹である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OMeである。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-MOEである。一部の実施形態において、2'-修飾はLNA糖修飾である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-修飾である。一部の30
 実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁~₆アルキルである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、ここで、少なくとも1つは、2'-Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁~₆アルキルであり、及び少なくとも1つは2'-OR¹である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、ここで、少なくとも1つは、2'-Fであり、及び少なくとも1つは2'-OR¹である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁~₆アルキルであり、ここで、少なくとも1つは、2'-Fであり、少なくとも1つは2'-OR¹である。40

【0424】

一部の実施形態において、2'-修飾を含むヌクレオシドは修飾ヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態において、2'-修飾を含むヌクレオシドは修飾ヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はキラルなヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。一部の実施形態において、キラルなヌクレオチド間結合はS_pである。一部の実施形態において、2'-修飾を含むヌクレオシドはS_pのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態において、2'-Fを含むヌクレオシドはS_pのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態において、2'-修飾を含むヌクレオシドはS_pのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、2'- 50

Fを含むヌクレオシドはS pのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、キラルなヌクレオチド間結合はR pである。一部の実施形態において、2'-修飾を含むヌクレオシドはR pのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態において、2'-Fを含むヌクレオシドはR pのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態において、2'-修飾を含むヌクレオシドはR pのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、2'-Fを含むヌクレオシドはR pのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。

【0425】

提供されるオリゴヌクレオチドは様々な数の天然リン酸結合を含むことができる。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは天然リン酸結合を含まない。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは1つの天然リン酸結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは1〜30個又はそれを超える天然リン酸結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約25個以上の連続修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約1〜20個又はそれを超える連続修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは約5%〜90%以下の非修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中のオリゴヌクレオチドの各糖部分は、独立に、修飾されている。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。

【0426】

一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは1つ以上の修飾糖部分及び修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは2つ以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは3つ以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは4つ以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは5つ以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは10個以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは約15個以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは約20個以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは約25個以上の修飾糖部分を含む。

【0427】

一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは2つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは3つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは4つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは5つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは10個以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは約15個以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは約20個以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドは約25個以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む。

【0428】

一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約5%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約10%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約20%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約30%が修飾ヌ

クレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約40%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約50%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約60%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約70%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約80%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約85%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約90%が修飾ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、第1の複数中の各オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチド間結合の約95%が修飾ヌクレオチド間結合である。

10

【0429】

一部の実施形態では、参照条件と比較して、提供されるキラル制御C9orf72オリゴヌクレオチド組成物は、驚くほど有効である。一部の実施形態では、所望の生物学的効果（例えば、不要なmRNA、タンパク質などのレベル低下により測定されるような）は、5、10、15、20、25、30、40、50又は100倍を超えて増強することができる。一部の実施形態では、変化は、参照条件と比較した、所望のmRNAレベルの増大により測定される。一部の実施形態では、変化は、参照条件と比較した、不要なmRNAレベルの低下により測定される。一部の実施形態では、参照条件は、オリゴヌクレオチド処置の非存在である。一部の実施形態では、参照条件は、同じ塩基配列及び化学修飾を有するオリゴヌクレオチドのステレオランダム組成物である。

20

【0430】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の異性体の増大したレベルを含む。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、例えば、1つ又は複数の元素、例えば水素、炭素、窒素などの1つ又は複数の異性体により標識される。一部の実施形態では、提供される組成物中の提供されるオリゴヌクレオチド、例えば第1の複数のオリゴヌクレオチドは、塩基修飾、糖修飾及び／又はヌクレオチド間結合修飾を含み、ここで、オリゴヌクレオチドは、濃縮レベルのデューテリウムを含有する。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の位置がデューテリウムで標識される（ $-^1\text{H}$ を $-^2\text{H}$ で置換する）。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの1つ若しくは複数の $-^1\text{H}$ 又はオリゴヌクレオチドと共役した任意の部分（例えば、ターゲティング部分など）を $-^2\text{H}$ で置換する。こうしたオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の組成物又は方法に使用することができる。

30

【0431】

一部の実施形態では、本開示は、以下：

- 1) 転写物中にC9orf72標的配列と相補的な共通の塩基配列を有し；且つ
- 2) 1つ又は複数の修飾糖部分と、修飾ヌクレオチド間結合を含む

第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド組成物を提供する。

40

【0432】

一部の実施形態において、連続ヌクレオシド単位の各々は、独立に、修飾ヌクレオチド間結合の後及び／又は前にある。一部の実施形態において、連続ヌクレオシド単位の各々は、独立に、ホスホロチオエート結合の後及び／又は前にある。一部の実施形態において、連続ヌクレオシド単位の各々は、独立に、キラル制御された修飾ヌクレオチド間結合の後及び／又は前にある。一部の実施形態において、連続ヌクレオシド単位の各々は、独立に、キラル制御されたホスホロチオエート結合の後及び／又は前にある。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は式Iの構造を有する。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は式I-aの構造を有する。

【0433】

50

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は式 I の構造を有する。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は式 I - a の構造を有する。

【0434】

一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さは、共通の塩基配列と呼ばれる場合もある。一部の実施形態では、共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド修飾、例えば糖修飾、塩基修飾などの同じパターンを有し得る。一部の実施形態では、ヌクレオシド修飾のパターンは、位置と修飾の組み合わせにより表され得る。一部の実施形態では、骨格結合のパターンは、各ヌクレオチド間結合の位置及びタイプ（例えば、リン酸、ホスホロチオエート、置換ホスホロチオエートなど）を含む。オリゴヌクレオチドの骨格キラル中心のパターンは、5' から 3' への結合リン立体化学 (R_p/S_p) の組み合わせにより示すこともできる。上に例示したように、非キラル結合の位置は、例えば、骨格結合のパターンから取得し得る。

【0435】

当業者には理解されるように、オリゴヌクレオチドのステレオランダム又はラセミ製剤は、典型的には、不斉補助基、キラル修飾試薬及び／又はキラル触媒を一切用いずに、ヌクレオチドモノマーの非立体選択的及び／又は低立体選択的カップリングにより調製される。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの実質的なラセミ（又はキラル制御されていない）調製において、全て又は大部分のカップリングステップは、立体選択性増強を達成するためのカップリングステップを特に実施しないことにおいてキラル制御されていない。オリゴヌクレオチドの実質的なラセミ調製の一例は、当技術分野では公知の方法である、テトラエチルチウラムジスルフィド (TETD) 又は 3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン 1, 1-ジオキシド (BDTD) の何れかを用いて常用されるホスホロアミダイトオリゴヌクレオチド合成からの垂リン酸トリエステルを硫化することによるホスホロチオエートオリゴヌクレオチドの調製である。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの実質的なラセミ調製は、実質的なラセミオリゴヌクレオチド組成物（又はキラル非制御オリゴヌクレオチド組成物）を提供する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの少なくとも 1 つのカップリングは、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの少なくとも 2 つのカップリングは、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの少なくとも 3 つのカップリングは、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの少なくとも 4 つのカップリングは、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの少なくとも 5 つのカップリングは、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの各カップリングは、独立に、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ステレオランダム又はラセミ調製において、少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合は、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも 2 つのヌクレオチド間結合は、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも 3 つのヌクレオチド間結合は、約 60 : 40、70 : 30、80 : 20、85 : 15、90 : 10、91 : 9、92 : 8、97 : 3、98 : 2 又は 99 : 1 より低いジア

10

20

30

40

50

ステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも4つのヌクレオチド間結合は、約60:40、70:30、80:20、85:15、90:10、91:9、92:8、97:3、98:2又は99:1より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも5つのヌクレオチド間結合は、約60:40、70:30、80:20、85:15、90:10、91:9、92:8、97:3、98:2又は99:1より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、各ヌクレオチド間結合は、約60:40、70:30、80:20、85:15、90:10、91:9、92:8、97:3、98:2又は99:1より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約60:40より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約70:30より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約80:20より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約90:10より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約91:9より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約92:8より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約93:7より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約94:6より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約95:5より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約96:4より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約97:3より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約98:2より低い。一部の実施形態では、ジアステレオ選択性は、約99:1より低い。一部の実施形態では、少なくとも1つのカップリングは、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも2つのカップリングは、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも3つのカップリングは、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも4つのカップリングは、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも5つのカップリングは、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングは、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも1つのヌクレオチド間結合は、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも2つのヌクレオチド間結合は、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも3つのヌクレオチド間結合は、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも4つのヌクレオチド間結合は、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、少なくとも5つのヌクレオチド間結合は、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、各ヌクレオチド間結合は、約90:10より低いジアステレオ選択性を有する。

【0436】

一部の実施形態では、キラル制御C9orf72オリゴヌクレオチド組成物のオリゴヌクレオチドのものなど、キラル制御ヌクレオチド間結合は、90:10以上のジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、キラル制御C9orf72オリゴヌクレオチド組成物のオリゴヌクレオチドのものなど、各キラル制御ヌクレオチド間結合は、約90:10以上のジアステレオ選択性を有する。一部の実施形態では、選択性は、91:9以上である。一部の実施形態では、選択性は、92:8以上である。一部の実施形態では、選択性は、97:3以上である。一部の実施形態では、選択性は、94:6以上である。一部の実施形態では、選択性は、95:5以上である。一部の実施形態では、選択性は、96:4以上である。一部の実施形態では、選択性は、97:3以上である。一部の実施形態では、選択性は、98:2以上である。一部の実施形態では、選択性は、99:1以上である。

【0437】

当業者には理解されるように、一部の実施形態では、カップリング又は結合のジアステレオ選択性は、同じであるか若しくは同等の条件下での二量体形成のジアステレオ選択性を通して評価することができ、その場合、二量体は、同じ5'ー及び3'ーヌクレオシド

並びにヌクレオチド間結合を有する。

【0438】

一部の実施形態では、本開示は、以下：

- 1) 共通の塩基配列及び長さ；
- 2) 共通の骨格結合のパターン；及び
- 3) 共通の骨格キラル中心のパターン

を有することにより定義される第1の複数のオリゴヌクレオチドを含む、キラル制御（及び／又は立体化学的に純粋な）オリゴヌクレオチド組成物を提供し、この組成物は、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約10%が、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有することから、単一オリゴヌクレオチドの実質的に純粋な製剤である。

10

【0439】

一部の実施形態では、本開示は、第1の複数のオリゴヌクレオチドのキラル制御 C9orf72 オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、組成物は、同じオリゴヌクレオチドの実質的なラセミ製剤と比較して、単一のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されている。一部の実施形態では、本開示は、第1の複数のオリゴヌクレオチドのキラル制御 C9orf72 オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、組成物は、同じオリゴヌクレオチドの実質的なラセミ製剤と比較して、以下：

- 1) 共通の塩基配列及び長さ；
- 2) 共通の骨格結合のパターン；及び
- 3) 共通の骨格キラル中心のパターン

を有する単一のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されている。

20

【0440】

一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及び塩基修飾の共通のパターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及びヌクレオシド修飾の共通のパターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、同じ構造を有する。

30

【0441】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及び糖修飾の共通パターンを有する。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及び塩基修飾の共通パターンを有する。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及びヌクレオシド修飾の共通パターンを有する。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドは、同一である。

【0442】

一部の実施形態では、C9orf72 オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドタイプの実質的に純粋な製剤であり、この場合、組成物中、そのオリゴヌクレオチドタイプではないオリゴヌクレオチドは、前記オリゴヌクレオチドタイプの調製工程からの、一部の場合、特定の精製手順後の、不純物である。

40

【0443】

一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及びヌクレオシド修飾の共通のパターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有

50

するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及び糖修飾の共通のパターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及び塩基修飾の共通のパターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターン及びヌクレオシド修飾の共通のパターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドは、同一である。

【0444】

一部の実施形態では、提供される組成物中のオリゴヌクレオチドは、骨格リン修飾の共通パターンを有する。一部の実施形態では、共通の塩基配列は、オリゴヌクレオチドタイプの塩基配列である。一部の実施形態では、提供される組成物は、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物であり、組成物は、非ランダム又は制御レベルの個別のオリゴヌクレオチドタイプの第1の複数のC9orf72オリゴヌクレオチドを含み、ここで、オリゴヌクレオチドタイプは、以下：

- 1) 塩基配列；
- 2) 骨格結合のパターン；
- 3) 骨格キラル中心のパターン；及び
- 4) 骨格リン修飾のパターン

により区別される。

【0445】

上に明示されると共に、当技術分野で理解されるように、オリゴヌクレオチドの塩基配列は、オリゴヌクレオチド中のヌクレオシド残基（例えば、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン及びウラシルなどの標準的な天然のヌクレオチドに対する、糖及び／若しくは塩基構成体）の同一性及び／若しくは修飾状態並びに／又はそうした残基のハイブリダイゼーション特性（即ち特定の相補性残基とハイブリダイズする能力）に適用される場合もある。

【0446】

一部の実施形態では、特定のオリゴヌクレオチドタイプは、

- 1 A) 塩基同一性；
- 1 B) 塩基修飾のパターン；
- 1 C) 糖修飾のパターン；
- 2) 骨格結合のパターン；
- 3) 骨格キラル中心のパターン；及び
- 4) 骨格リン修飾のパターン

により定義することができる。従って、一部の実施形態では、特定のタイプのオリゴヌクレオチドは、同じ塩基を有し得るが、それらの塩基修飾及び／又は糖修飾のパターンは異なる可能性がある。一部の実施形態では、特定のタイプのオリゴヌクレオチドは、同じ塩基及び塩基修飾のパターン（例えば、塩基修飾の非存在を含む）を有するが、糖修飾のパターンは異なる可能性がある。

【0447】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの純度は、その調製工程における各カップリングステップの立体選択性により制御することができる。一部の実施形態では、カップリングステップは、60%の立体選択性（例えば、ジアステレオ選択性）を有する（カップリングステップから形成された新しいヌクレオチド間結合の60%が意図される立体化学を有する）。こうしたカップリングステップの後、形成された新しいヌクレオチド間結合は、60%純度を有すると言うことができる。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも60%の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも70%の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも80%の立体選択性を有する。一部の実施形

態では、各カップリングステップは、少なくとも 85 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 90 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 91 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 92 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 93 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 94 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 95 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 96 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 97 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 98 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 99 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、少なくとも 99.5 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、各カップリングステップは、ほぼ 100 % の立体選択性を有する。一部の実施形態では、カップリングステップは、ほぼ 100 % の立体選択性を有し、この場合、分析方法（例えば、NMR、HPLC など）により、カップリングステップからの全ての検出可能な生成物が、意図される立体選択性を有する。 10

【0448】

とりわけ、本開示は、オリゴヌクレオチド構造要素の組み合わせ（例えば、化学修飾、骨格結合、骨格キラル中心及び／又は骨格リン修飾のパターン）が、意外にも、生物活性などの特性の改善をもたらし得ると認識する。 20

【0449】

一部の実施形態では、提供されるキラル制御（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、1 つ又は複数の修飾骨格結合、塩基及び／又は糖を含むオリゴヌクレオチドからなる。

【0450】

一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 15 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 16 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 17 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 18 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 19 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 20 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 21 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 22 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 23 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 24 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 25 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドのものである。一部の実施形態において、提供されるキラル制御された（及び／又は立体化学的に純粋な）製剤は、少なくとも 30、35、40、45、50、55、60、65、70 又は 75 塩基の共通の塩基配列を有するオリゴ 40 50

ヌクレオチドのものである。

【0451】

一部の実施形態において、提供される組成物は、糖部分が修飾されている1つ以上の残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、提供される組成物は、糖部分の2'位が修飾されている（本明細書において「2'-修飾」と称される）1つ以上の残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む。かかる修飾の例は上記及び本明細書に記載され、限定はされないが、2'-OMe、2'-MOE、2'-LNA、2'-F、FRNA、FANA、5'-ビニル、モルホリノ、S-cEt等が挙げられる。一部の実施形態において、提供される組成物は、2'修飾されている1つ以上の残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む。例えば、一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、2'-O-メトキシエチル（2'-MOE）修飾残基である1つ以上の残基を含有する。一部の実施形態において、提供される組成物は、いかなる2'-修飾も含有しないオリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、提供される組成物は、いかなる2'-MOE残基も含有しないオリゴヌクレオチドである。即ち、一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドはMOE修飾されていない。更なる例示的糖修飾が本開示に記載される。

10

【0452】

一部の実施形態では、1つ又は複数は、1つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、2つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、3つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、4つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、5つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、6つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、7つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、8つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、9つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、10である。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも1つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも2つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも3つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも4つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも5つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも6つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも7つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも8つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも9つである。一部の実施形態では、1つ又は複数は、少なくとも10である。

20

30

【0453】

当業者には理解されるように、提供されるオリゴヌクレオチド組成物及び方法は、当業者が周知の様々な用途を有する。提供される組成物を評価する方法並びにそれらの特性及び用途も、広く知られ、当業者によって実施されている。特性、用途及び／又は方法の例として、限定はされないが、国際公開第2014/012081号パンフレット及び同第2015/107425号パンフレットに記載されているものが挙げられる。

【0454】

一部の実施形態において、キラルなヌクレオチド間結合は式Iの構造を有する。一部の実施形態において、キラルなヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。一部の実施形態において、提供される組成物の単一のオリゴヌクレオチドにおける各キラルなヌクレオチド間結合は、独立に、式Iの構造を有する。一部の実施形態において、提供される組成物の単一のオリゴヌクレオチドにおける各キラルなヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。

40

【0455】

一部の実施形態において、本開示のオリゴヌクレオチドは1つ以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、本開示のC9orf72オリゴヌクレオチドは1つ以上の修飾塩基部分を含む。当業者に公知であり、且つ本開示に記載される通り、糖及び／又は部分に様々な修飾を導入することができる。例えば、一部の実施形態において、修飾は、米国特許第9006198号明細書、国際公開第2014/012081号パンフレット及

50

び国際公開第2015/107425号パンフレットに記載される修飾であり、これらの明細書の各々の糖及び塩基修飾は、参照により本明細書に援用される。

【0456】

一部の実施形態において、糖修飾は2'-修飾である。よく使用される2'-修飾としては、限定はされないが2'-OR¹が挙げられ、式中、R¹は水素ではない。一部の実施形態において、修飾は2'-ORであり、式中、Rは、任意選択で置換されている脂肪族である。一部の実施形態において、修飾は2'-OMeである。一部の実施形態において、修飾は2'-OMOEである。一部の実施形態において、本開示は、特定のキラル的に純粋なヌクレオチド間結合の包含及び／又は位置が、修飾された骨格結合、塩基及び／又は糖の使用によって実現するものと同等か又はそれより良好な安定性の改善をもたらし得ることを実証する。一部の実施形態において、提供される組成物の提供される単一のオリゴヌクレオチドは、糖に修飾を有しない。一部の実施形態において、提供される組成物の提供される単一のオリゴヌクレオチドは、糖の2'-位に修飾を有しない（即ち、2'-位における2つの基は、-H／-H又は-H／-OHの何れかである）。一部の実施形態において、提供される組成物の提供される単一のオリゴヌクレオチドはいかなる2'-MOE修飾も有しない。

10

【0457】

一部の実施形態において、2'-修飾は、ある糖部分の2'-炭素をある糖部分の別の炭素に連結する-O-L-又は-L-である。一部の実施形態において、2'-修飾は、ある糖部分の2'-炭素をある糖部分の4'-炭素に連結する-O-L-又は-L-である。一部の実施形態において、2'-修飾はS-c E tである。一部の実施形態において、修飾糖部分はLNA部分である。

20

【0458】

一部の実施形態において、2'-修飾は-Fである。一部の実施形態において、2'-修飾はFANAである。一部の実施形態において、2'-修飾はFRNAである。

【0459】

一部の実施形態において、糖修飾は5'-修飾、例えばR-5'-Me、S-5'-Me等である。

【0460】

一部の実施形態において、糖修飾は糖環のサイズを変化させる。一部の実施形態において、糖修飾はFHNAにおける糖部分である。

30

【0461】

一部の実施形態において、糖修飾は糖部分を別の環式又は非環式部分に置き換える。かかる部分の例は、限定はされないが、モルホリノにおいて（任意選択でそのホスホロジアミデート結合と共に）使用されるもの、グリコール核酸等を含め、当技術分野において広く公知である。

【0462】

一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約25%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約30%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約35%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約40%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約45%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約50%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約55%をSp配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチド

40

50

は、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 60 % を S p 配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 65 % を S p 配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 70 % を S p 配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 75 % を S p 配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 80 % を S p 配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 85 % を S p 配置で有する。一部の実施形態において、提供される組成物における単一のオリゴヌクレオチドは、そのヌクレオチド間結合の少なくとも約 90 % を S p 配置で有する。

10

【0463】

一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドは、WV-3536、WV-3537、WV-3538、WV-3539、WV-3540、WV-3541、WV-3542、WV-3561、WV-3562、WV-3563、WV-3564、WV-3565、WV-3566、WV-3567、WV-3568、WV-3569、WV-3570、WV-3571、WV-3572、WV-3573、WV-3574、WV-3575、WV-3576、WV-3577、WV-3578、WV-3579、WV-3580、WV-3581、WV-3582、WV-3583、WV-3584、WV-3585、WV-3586、WV-3587、WV-3588、WV-3589、WV-3590、WV-3591、WV-3592、WV-3593、WV-3594、WV-3595、WV-3596、WV-3597、WV-3598、WV-3599、WV-3600、WV-3601、WV-3602、WV-3603、WV-3604、WV-3605、WV-3606、WV-3607、WV-3608、WV-3609、WV-3610、WV-3611、WV-3612、WV-3613、WV-3614、WV-3615、WV-3616、WV-3617、WV-3618、WV-3619、WV-3620、WV-3621、WV-3622、WV-3623、WV-3624、WV-3625、WV-3626、WV-3627、WV-3628、WV-3629、WV-3630、WV-3631、WV-3632、WV-3633、WV-3634、WV-3635、WV-3636、WV-3637、WV-3638、WV-3639、WV-3640、WV-3641、WV-3642、WV-3643、WV-3644、WV-3645、WV-3646、WV-3647、WV-3648、WV-3649、WV-3650、WV-3651、WV-3652、WV-3653、WV-3654、WV-3655、WV-3656、WV-3657、WV-3658、WV-3659、WV-3660、WV-3661、WV-3662、WV-3663、WV-3664、WV-3665、WV-3666、WV-3667、WV-3668、WV-3669、WV-3670、WV-3671、WV-3672、WV-3673、WV-3674、WV-3675、WV-3676、WV-3677、WV-3678、WV-3679、WV-3680、WV-3681、WV-3682、WV-3683、WV-3684、WV-3685、WV-3686、WV-3687、WV-3688、WV-3689、WV-3690、WV-3691、WV-3692、WV-3693、WV-3694、WV-3695、WV-3696、WV-3697、WV-3698、WV-3699、WV-3700、WV-3701、WV-3702、WV-3703、WV-3704、WV-3705、WV-3706、WV-3707、WV-3708、WV-3709、WV-3710、WV-3711、WV-3712、WV-3713、WV-3714、WV-3715、WV-3716、WV-3717、WV-3718、WV-3719、WV-3720、WV-3721、WV-3722、WV-3723、WV-3724、WV-3725、WV-3726、WV-3727、WV-3728、WV-3729、WV-3730、WV-3731、WV-3732、WV-3733、WV-3734、W

20

30

40

50

V-3735、WV-3736、WV-3737、WV-3738、WV-3739、W	
V-3740、WV-3741、WV-3742、WV-3743、WV-3744、W	
V-3745、WV-3746、WV-3747、WV-3748、WV-3749、W	
V-3750、WV-3751、WV-3752、WV-5905、WV-5906、W	
V-5907、WV-5908、WV-5909、WV-5910、WV-5911、W	
V-5912、WV-5913、WV-5914、WV-5915、WV-5916、W	
V-5917、WV-5918、WV-5919、WV-5920、WV-5921、W	
V-5922、WV-5923、WV-5924、WV-5925、WV-5926、W	
V-5927、WV-5928、WV-5929、WV-5930、WV-5931、W	
V-5932、WV-5933、WV-5934、WV-5935、WV-5936、W	10
V-5937、WV-5938、WV-5939、WV-5940、WV-5941、W	
V-5942、WV-5943、WV-5944、WV-5945、WV-5946、W	
V-5947、WV-5948、WV-5949、WV-5950、WV-5951、W	
V-5952、WV-5953、WV-5954、WV-5955、WV-5956、W	
V-5957、WV-5958、WV-5959、WV-5960、WV-5961、W	
V-5962、WV-5963、WV-5964、WV-5965、WV-5966、W	
V-5967、WV-5968、WV-5969、WV-5970、WV-5971、W	
V-5972、WV-5973、WV-5974、WV-5975、WV-5976、W	
V-5977、WV-5978、WV-5979、WV-5980、WV-5981、W	
V-5982、WV-5983、WV-5984、WV-5985、WV-5986、W	20
V-5987、WV-5988、WV-5989、WV-5990、WV-5991、W	
V-5992、WV-5993、WV-5994、WV-5995、WV-5996、W	
V-5997、WV-5998、WV-5999、WV-6000、WV-6408、W	
V-6471、WV-6472、WV-6473、WV-6474、WV-6475、W	
V-6476、WV-6477、WV-6478、WV-6479、WV-6480、W	
V-6481、WV-6482、WV-6483、WV-6484、WV-6485、W	
V-6486、WV-6487、WV-6488、WV-6489、WV-6490、W	
V-6491、WV-6492、WV-6831、WV-6832、WV-6833、W	
V-6834、WV-6835、WV-6836、WV-6837、WV-6838、W	
V-6839、WV-6840、WV-6841、WV-6842、WV-6843、W	30
V-6844、WV-6845、WV-6846、WV-6847、WV-6848、W	
V-6849、WV-6850、WV-6851、WV-6852、WV-6853、W	
V-6854、WV-6855、WV-6856、WV-6857、WV-6858、W	
V-6859、WV-6860、WV-6861、WV-6862、WV-6863、W	
V-6864、WV-6865、WV-6866、WV-6867、WV-6868、W	
V-6869、WV-6870、WV-6871、WV-6872、WV-6873、W	
V-6874、WV-6875、WV-6876、WV-6877、WV-6878、W	
V-6879、WV-6880、WV-6881、WV-6882、WV-6883、W	
V-6884、WV-6885、WV-6886、WV-6887、WV-6888、W	
V-6889、WV-6890、WV-6891、WV-6892、WV-6893、W	40
V-6894、WV-6895、WV-6896、WV-6897、WV-6898、W	
V-6899、WV-6900、WV-6901、WV-6902、WV-6903、W	
V-6904、WV-6905、WV-6906、WV-6907、WV-6908、W	
V-6909、WV-6910、WV-6911、WV-6912、WV-6913、W	
V-6914、WV-6915、WV-6916、WV-6917、WV-6918、W	
V-6919、WV-6920、WV-6921、WV-6922、WV-6923、W	
V-6924、WV-6925、WV-6926、WV-6927、WV-6928、W	
V-6929、WV-6930、WV-6931、WV-6932、WV-6933、W	
V-6934、WV-6935、WV-6936、WV-6937、WV-6938、W	
V-6939、WV-6940、WV-6941、WV-6942、WV-6943、W	50

V-6944、WV-6945、WV-6946、WV-6947、WV-6948、W
 V-6949、WV-6950、WV-6951、WV-6952、WV-6953、W
 V-6954、WV-6955、WV-6956、WV-6957、WV-6958、W
 V-6959、WV-6960、WV-6961、WV-6962、WV-6963、W
 V-6964、WV-6965、WV-6966、WV-6967、WV-6968、W
 V-6969、WV-6970、WV-6971、WV-6972、WV-6973、W
 V-6974、WV-6975、WV-6976、WV-6977、WV-6978、W
 V-6979、WV-6980、WV-6981、WV-6982、WV-6983、W
 V-6984、WV-6985、WV-6986、WV-6987、WV-6988、W
 V-6989、WV-6990、WV-6991、WV-6992、WV-6993、W 10
 V-6994、WV-6995、WV-6996、WV-6997、WV-6998、W
 V-6999、WV-7000、WV-7001、WV-7002、WV-7003、W
 V-7004、WV-7005、WV-7006、WV-7007、WV-7008、W
 V-7009、WV-7010、WV-7011、WV-7012、WV-7013、W
 V-7014、WV-7015、WV-7016、WV-7017、WV-7018、W
 V-7019、WV-7020、WV-7021、WV-7022、WV-7023、W
 V-7024、WV-7025、WV-7026、WV-7027、WV-7028、W
 V-7029、WV-7030、WV-7031、WV-7032、WV-7033、W
 V-7034、WV-7035、WV-7036、WV-7037、WV-7038、W
 V-7039、WV-7040、WV-7041、WV-7042、WV-7043、W 20
 V-7044、WV-7045、WV-7046、WV-7047、WV-7048、W
 V-7049、WV-7050、WV-7051、WV-7052、WV-7053、W
 V-7054、WV-7055、WV-7056、WV-7057、WV-7058、W
 V-7059、WV-7060、WV-7061、WV-7062、WV-7063、W
 V-7064、WV-7065、WV-7066、WV-7067、WV-7068、W
 V-7069、WV-7070、WV-7071、WV-7072、WV-7073、W
 V-7074、WV-7075、WV-7076、WV-7077、WV-7078、W
 V-7079、WV-7080、WV-7081、WV-7082、WV-7083、W
 V-7084、WV-7085、WV-7086、WV-7087、WV-7088、W
 V-7089、WV-7090、WV-7091、WV-7092、WV-7093、W 30
 V-7094、WV-7095、WV-7096、WV-7097、WV-7098、W
 V-7099、WV-7100、WV-7101、WV-7102、WV-7103、W
 V-7117、WV-7118、WV-7119、WV-7120、WV-7121、W
 V-7122、WV-7123、WV-7124、WV-7125、WV-7126、W
 V-7127、WV-7128、WV-7129、WV-7130、WV-7131、W
 V-7132、WV-7405、WV-7434、WV-7435、WV-7601、W
 V-7602、WV-7603、WV-7604、WV-7605、WV-7606、W
 V-7657、WV-7658、WV-7659、WV-7773、WV-7774、W
 V-7775、WV-7866、WV-8005、WV-8006、WV-8007、W
 V-8008、WV-8009、WV-8010、WV-8011、WV-8012、W 40
 V-8114、WV-8115、WV-8116、WV-8117、WV-8118、W
 V
 -8119、WV-8120、WV-8121、WV-8122、WV-8123、WV
 -8124、WV-8125、WV-8126、WV-8127、WV-8128、WV
 -8129、WV-8311、WV-8312、WV-8313、WV-8314、WV
 -8315、WV-8316、WV-8317、WV-8318、WV-8319、WV
 -8320、WV-8321、WV-8322、WV-8329、WV-8444、WV
 -8445、WV-8446、WV-8447、WV-8452、WV-8453、WV
 -8454、WV-8455、WV-8456、WV-8457、WV-8458、WV
 -8459、WV-8460、WV-8461、WV-8462、WV-8463、WV 50

－8464、WV－8465、WV－8466、WV－8467、WV－8468、WV－8469、WV－8470、WV－8471、WV－8472、WV－8473、WV－8474、WV－8475、WV－8476、WV－8477、WV－8547、WV－8548、WV－8549、WV－8550、WV－8551、WV－8568、WV－8569、WV－8594、WV－8595、WV－8691、WV－8692、WV－8693、WV－8694、WV－8695、WV－8696、WV－9062、WV－9063、WV－9228、WV－9285、WV－9286、WV－9380、WV－9381、WV－9394、WV－9395、WV－9396、WV－9397、WV－9398、WV－9399及びWV－9421並びに本明細書に記載される任意のC9orf72オリゴヌクレオチドからなる群から選択されるC9orf72オリゴヌクレオチドであるか又はそれを含む。

10

【0464】

当業者は、本明細書を読めば、任意のC9orf72オリゴヌクレオチド又はアンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）と呼ばれる本明細書に記載される他のオリゴヌクレオチドがまた、同様に又は代わりに、別の機構によっても（例えば、RISCを利用するssRNAiとして）機能し得る可能性を本開示は特に除外しないことを理解するであろう；本開示は、様々なオリゴヌクレオチドが異なる機構（RNアーゼHを利用する、翻訳又は他の転写後プロセスを立体的に妨害する、C9orf72標的核酸の立体配座を変化させる等）を介して機能し得ることも指摘しておく。

20

【0465】

キラル制御されたオリゴヌクレオチド及びキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子mRNAへのアニーリング後に翻訳を立体的に妨害することにより、且つ／又はmRNAスプライシングを改変し又はそれに干渉することによりC9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはキラル制御されている。

30

【0466】

本開示は、高い粗純度及び高いジアステレオマー純度のキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。一部の実施形態において、本開示は、高い粗純度のキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。一部の実施形態において、本開示は、高いジアステレオマー純度のキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。

【0467】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、組成物中のそのオリゴヌクレオチドタイプでないオリゴヌクレオチドが、前記オリゴヌクレオチドタイプの調製過程からの、ある場合には特定の精製手順後の不純物であることにおいて、あるC9orf72オリゴヌクレオチドタイプの実質的に純粋な製剤である。

40

【0468】

一部の実施形態において、本開示は、キラルな結合リンに関して1つ以上のジアステレオマー的に純粋なヌクレオチド間結合を含むC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、式Iの構造を有する1つ以上のジアステレオマー的に純粋なヌクレオチド間結合を含むC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、キラルな結合リンに関して1つ以上のジアステレオマー的に純粋なヌクレオチド間結合と、1つ以上のリン酸ジエステル結合とを含むC9o

50

r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の構造を有する 1 つ以上のジアステレオマー的に純粋なヌクレオチド間結合と、1 つ以上のリン酸ジエステル結合とを含む C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、式 I - c の構造を有する 1 つ以上のジアステレオマー的に純粋なヌクレオチド間結合と、1 つ以上のリン酸ジエステル結合とを含む C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、かかるオリゴヌクレオチドは、本願に記載される通りの立体選択的オリゴヌクレオチド合成を用いて、予め設計されたキラルな結合リンに関してジアステレオマー的に純粋なヌクレオチド間結合を形成することにより調製される。例示的ヌクレオチド間結合について、式 I の構造を有するものを含め、以下に更に記載する。

10

【0469】

ヌクレオチド間結合

一部の実施形態において、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意のヌクレオチド間結合を含む。

【0470】

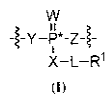
ヌクレオチド間結合又は非修飾ヌクレオチド間結合の非限定的な例はホスホジエステルである；修飾ヌクレオチド間結合の非限定的な例には、ホスホジエステルの 1 つ以上の酸素が、非限定的な例として、硫黄（ホスホロチオエートにおいて見られる通り）、H、アルキル又は酸素でない別の部分若しくは要素に置き換えられているものが含まれる。ヌクレオチド間結合の非限定的な例は、リンを含まないが、2 つの糖をつなぐ役割を果たす部分である。ヌクレオチド間結合の非限定的な例は、リンを含まないが、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの骨格における 2 つの糖をつなぐ役割を果たす部分である。本明細書には、ヌクレオチド、修飾ヌクレオチド、ヌクレオチド類似体、ヌクレオチド間結合、修飾ヌクレオチド間結合、塩基、修飾塩基及び塩基類似体、糖、修飾糖及び糖類似体並びにヌクレオシド、修飾ヌクレオシド及びヌクレオシド類似体の更なる非限定的な例が開示される。

20

【0471】

特定の実施形態において、ヌクレオチド間結合は式 I の構造：

30



を有し、式中、各可変要素は以下に定義及び記載する通りである。一部の実施形態において、式 I の結合はキラルである。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる P 修飾を有する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる -X-L-R¹ を有する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる X を有する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる -L-R¹ を有する。一部の実施形態において、キラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、特定のオリゴヌクレオチドタイプである提供される組成物中の C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチ

40

50

ドである。一部の実施形態において、キラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する提供される組成物中のC9orf72オリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、キラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドは、特定のオリゴヌクレオチドタイプであるキラル制御された組成物中のC9orf72オリゴヌクレオチドであり、このキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドはそのタイプである。一部の実施形態において、キラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の塩基配列、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを共有するランダムでない又は制御されたレベルの複数のオリゴヌクレオチドを含む提供される組成物中にあるC9orf72オリゴヌクレオチドであり、このキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の塩基配列、共通の骨格結合のパターン及び共通の骨格キラル中心のパターンを共有する。

10

【0472】

一部の実施形態において、本開示はキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる立体化学及び／又は異なるP修飾を有する。一部の実施形態において、本開示はキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる立体化学を有し、及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドの構造の少なくとも一部分は、立体化学が交互に並んだ繰り返しパターンによって特徴付けられる。

20

【0473】

一部の実施形態において、本開示はキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、それらがその-XLR¹部分に異なるX原子を有すること、及び／又はそれらがその-XLR¹部分に異なるL基を有すること、及び／又はそれらがその-XLR¹部分に異なるR¹原子を有することにおいて（ここで、XLR¹は、X-L-R¹と等価であり、X、L及びR¹は、本明細書に開示される式Iに定義される通りである）、互いと比べて異なるP修飾を有する。

【0474】

30

一部の実施形態において、本開示はキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる立体化学及び／又は異なるP修飾を有し、及びオリゴヌクレオチドは、以下の式によって表される構造を有する：

$$[S^{B_{n1}}R^{B_{n2}}S^{B_{n3}}R^{B_{n4}}\dots S^{B_{nx}}R^{B_{ny}}]$$

式中：

各R^Bは、独立に、結合リンにR配置を有するヌクレオチド単位のブロックを表し；

各S^Bは、独立に、結合リンにS配置を有するヌクレオチド単位のブロックを表し；

n1～nyの各々は0又は整数であり、但し、互いと比べて異なる立体化学を有する少なくとも2つの個別のヌクレオチド間結合がオリゴヌクレオチドに含まれるように少なくとも1つの奇数のn及び少なくとも1つの偶数のnが0以外でなければならないことを必要条件とし；及び

40

式中、n1～nyの和は2～200であり、一部の実施形態では、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25又はそれを超えるものからなる群から選択される下限～5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190及び200からなる群から選択される上限（上限は下限より大きい）である。

【0475】

50

一部のかかる実施形態において、各 n は同じ値を有する；一部の実施形態において、偶数の各 n は、他の偶数の各 n と同じ値を有する；一部の実施形態において、奇数の各 n は、他の奇数の各 n と同じ値を有する；一部の実施形態において、少なくとも2つの偶数の n は互いに異なる値を有する；一部の実施形態において、少なくとも2つの奇数の n は互いに異なる値を有する。

【0476】

一部の実施形態では、少なくとも2つの隣接する n が互いに等しく、従って提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは等しい長さのS立体化学結合及びR立体化学結合の隣接ブロックを含むことになる。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、等しい長さのS及びR立体化学結合のブロックの繰り返しを含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、S及びR立体化学結合のブロックの繰り返しを含み、ここで、少なくとも2つのかかるブロックは、互いに異なる長さである；一部のかかる実施形態において各S立体化学ブロックは同じ長さであり、且つ任意選択で互いに同じ長さであり得る各R立体化学長さとは異なる長さである。

10

【0477】

一部の実施形態では、少なくとも2つの、1つ間を飛ばして隣接する n が互いに等しく、従って提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、互いに長さが等しい且つ他の立体化学の結合のブロックによって分離された第1の立体化学の結合のブロックを少なくとも2つ含み、この分離しているブロックは第1の立体化学のブロックと同じ長さ又は異なる長さであり得る。

20

【0478】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドの末端にある結合ブロックに関連する n は同じ長さである。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは同じ結合立体化学の末端ブロックを有する。一部のかかる実施形態において、末端ブロックは他の結合立体化学の中間ブロックにより互いに分離されている。

【0479】

一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはステレオブロックマーである。一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはステレオスキップマーである。一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはステレオアルトマーである。一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはギャップマーである。

30

【0480】

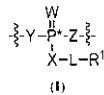
一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは上記に記載されるパターンの何れかであり、更にP修飾のパターンを含む。例えば、一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはステレオスキップマー及びP修飾スキップマーである。一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはステレオブロックマー及びP修飾アルトマーである。一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはステレオアルトマー及びP修飾ブロックマーである。

40

【0481】

一部の実施形態において、式 $[S^{Bn1}R^{Bn2}S^{Bn3}R^{Bn4}\dots S^{Bnx}R^{Bny}]$ の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、式Iの構造：

50



を独立に有する1つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドであり、式中：

P*は均斉なリン原子又はR_p若しくはS_pの何れかである不斉リン原子であり；

Wは、O、S又はSeであり；

X、Y及びZの各々は、独立に、-O-、-S-、-N(-L-R¹)-又はLであり；

Lは共有結合であるか、又は任意選択で置換されている直鎖若しくは分枝状C₁～C₁₀アルキレンであり、ここで、Lの1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁～C₆アルキレン、C₁～C₆アルケニレン、-C≡C-、C₁～C₆ヘテロ脂肪族部分、-C(R')₂-, -Cy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -OC(O)N(R')-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')S(O)₂-, -SC(O)-, -C(O)S-, -OC(O)-及び-C(O)O-から選択される任意選択で置換されている基によって置き換えられ；

R¹は、ハロゲン、R又は任意選択で置換されているC₁～C₅₀脂肪族であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁～C₆アルキレン、C₁～C₆アルケニレン、-C≡C-、C₁～C₆ヘテロ脂肪族部分、-C(R')₂-, -Cy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -OC(O)N(R')-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')S(O)₂-, -SC(O)-, -C(O)S-, -OC(O)-及び-C(O)O-から選択される任意選択で置換されている基によって置き換えられ、

各R'は、独立に、-R、-C(O)R、-CO₂R又は-SO₂Rであるか、又は：

2つのR'が、それらの介在原子と一緒に、任意選択で置換されているアリール環、炭素環、複素環又はヘテロアリール環を形成し；

-Cy-は、フェニレン、カルボシクリレン、アリーレン、ヘテロアリーレン及びヘテロシクリレンから選択される任意選択で置換されている二価の環であり；

各Rは、独立に、水素であるか、又はC₁～C₆脂肪族、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基であり；

及び

各

は、独立に、ヌクレオシドへの連結を表す。

【0482】

一部の実施形態において、Lは共有結合であるか、又は任意選択で置換されている直鎖又は分枝状C₁～C₁₀アルキレンであり、ここで、Lの1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、任意選択で置換されているC₁～C₆アルキレン、C₁～C₆アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-, -Cy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)O-, -OC(O)N(R')-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')S(O)₂-, -SC(O)-, -C(O)S-, -OC(O)-又は-C(O)O-によって置き換えられ；

R¹は、ハロゲン、R又は任意選択で置換されているC₁～C₅₀脂肪族であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、任意選択で置換されているC

$C_1 \sim C_6$ アルキレン、 $C_1 \sim C_6$ アルケニレン、 $-C \equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R')-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')-$ 、 $-N(R')S(O)_2-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-OC(O)-$ 又は $-C(O)O-$ によって置き換えられ；

各 R' は、独立に、 $-R$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 又は $-SO_2R$ であるか、又は：同じ窒素上の2つの R' が、それらの介在原子と一緒にあって、任意選択で置換されている複素環又はヘテロアリール環を形成するか、又は

同じ炭素上の2つの R' が、それらの介在原子と一緒にあって、任意選択で置換されているアリール環、炭素環、複素環又はヘテロアリール環を形成し；

$-Cy-$ は、フェニレン、カルボシクリレン、アリーレン、ヘテロアリーレン及びヘテロシクリレンから選択される任意選択で置換されている二価の環であり；

各 R は、独立に、水素であるか、又は $C_1 \sim C_6$ 脂肪族、フェニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基であり；及び

各

+

は、独立に、ヌクレオシドへの連結を表す。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは1つ以上の修飾ヌクレオチド間リン結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは、例えば、ホスホロチオエート又はホスホロチオエートトリエステル結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドはホスホロチオエートトリエステル結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも2つのホスホロチオエートトリエステル結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも3つのホスホロチオエートトリエステル結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも4つのホスホロチオエートトリエステル結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも5つのホスホロチオエートトリエステル結合を含む。かかる修飾ヌクレオチド間リン結合の例は、本明細書に更に記載される。

【0483】

一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは異なるヌクレオチド間リン結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも1つの修飾ヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも1つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも2つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも3つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも4つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含む。一部の実施形態において、キラル制御された C_{9orf72} オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも5つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含む。かかる修飾ヌクレオチドリ間結合の例は、本明細書に更に記載される。

。

【0484】

【 0 4 8 5 】

【 0 4 8 6 】

【 0 4 8 7 】

、X X O X O X X X X O O X O O X X X X X O、X X O X O X X X X X O X O O O O O O 50

[illegible]

40

50

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される式 I の構造を独立に有する 1 つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。式 I の構造を有するヌクレオチド間結合の例は当技術分野において広く公知である。

【0490】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合は、キラルな結合リンを有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合は、式 I の構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、式 I の構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合は、式 I - c の構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、式 I - c の構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合は、



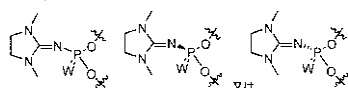
である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、



である。

【0491】

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は非負電荷ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は中性ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは 1 つ以上の非負電荷ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は正電荷ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は中性ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合（例えば、非負電荷ヌクレオチド間結合）は、任意選択で置換されているトリアゾリルを含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合（例えば、非負電荷ヌクレオチド間結合）は、任意選択で置換されているアルキニルを含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はトリアゾール又はアルキン部分を含む。一部の実施形態において、トリアゾール部分、例えばトリアゾリル基は任意選択で置換されている。一部の実施形態において、トリアゾール部分、例えばトリアゾリル基）は置換されている。一部の実施形態において、トリアゾール部分は置換されていない。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されている環状グアニジン部分を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されている環状グアニジン部分を含み、且つ

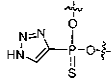


の構造を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、WはOである。一

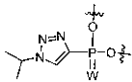
部の実施形態において、WはSである。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は立体化学的に制御されている。

【0492】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド、例えばC9orf72オリゴヌクレオチドにおけるトリアゾール部分（例えば、任意選択で置換されているトリアゾリル基）を含むヌクレオチド間結合は、



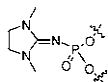
の構造を有する。一部の実施形態において、トリアゾール部分を含むヌクレオチド間結合は、



の式を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、アルキン部分（例えば、任意選択で置換されているアルキニル基）を含むヌクレオチド間結合は、



の式を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合は環状グアニジン部分を含む。一部の実施形態において、環状グアニジン部分を含むヌクレオチド間結合は、



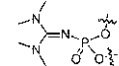
の構造を有する。一部の実施形態において、中性ヌクレオチド間結合又は環状グアニジン部分を含むヌクレオチド間結合は立体化学的に制御されている。

【0493】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは脂質部分を含む。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合は、Tmg基



を含む。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合はTmg基を含み、且つ



の構造を有する（「Tmgヌクレオチド間結合」）。一部の実施形態において、中性ヌクレオチド間結合としては、PNA及びPMOのヌクレオチド間結合及びTmgヌクレオチド間結合が挙げられる。

【0494】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等の構造又はその塩形態を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている3～20員環ヘテロシクリル又はヘテロアリール基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている3～20員環ヘテロシクリル又はヘテロアリール基を含み、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、かかるヘテロシクリル又はヘテロアリール基は5員環である。一部の実施形態において、かかるヘテロシクリル又はヘテロアリール基は6員環である。

10

20

30

40

50

【0495】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～20員環ヘテロアリール基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～20員環ヘテロアリール基を含み、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～4つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～6員環ヘテロアリール基を含み、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されているトリアゾリル基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、非置換トリアゾリル基、例えば、



を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、置換トリアゾリル基、例えば、



を含む。

【0496】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～20員環ヘテロシクリル基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～20員環ヘテロシクリル基を含み、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～4つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～6員環ヘテロシクリル基を含み、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、1～4つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5員環ヘテロシクリル基を含み、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、少なくとも2つのヘテロ原子が窒素である。一部の実施形態において、ヘテロシクリル基は結合リンに直接結合する。一部の実施形態において、ヘテロシクリル基は結合リンにリンカーを介して、例えばその=N-で結合リンに直接結合したグアニジン部分の一部であるヘテロシクリル基の場合には=N-を介して結合する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されている



基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、置換されている



基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



基を含む。一部の実施形態において、各R¹は、独立に、任意選択で置換されているC₁～₆アルキルである。一部の実施形態において、各R¹は、独立に、メチルである。

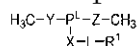
【0497】

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合はトリアゾール又はアルキン部分を含み、その各々は任意選択で置換されている。一部

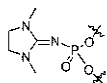
の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はトリアゾール部分を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は非置換トリアゾール部分を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は置換トリアゾール部分を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はアルキル部分を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されているアルキニル基を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は非置換アルキニル基を含む。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は置換アルキニル基を含む。一部の実施形態において、アルキニル基は結合リンに直接結合する。

【0498】

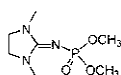
一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは異なる種類のヌクレオチド間リン結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは少なくとも1つの天然リン酸結合と少なくとも1つの修飾（非天然）ヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも1つの天然リン酸結合と少なくとも1つのホスホロチオエートとを含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも1つの天然リン酸結合と少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオチド間結合と少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、1つ以上、例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれを超える非負電荷ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、水溶液中所与のpHにおいて負電荷塩形態で存在するヌクレオチド間結合が50%、40%、40%、30%、20%、10%、5%又は1%未満であることにおいて負電荷でない。一部の実施形態において、pHは約pH7.4である。一部の実施形態において、pHは約4~9である。一部の実施形態において、パーセンテージは10%未満である。一部の実施形態において、パーセンテージは5%未満である。一部の実施形態において、パーセンテージは1%未満である。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合は、中性形態のヌクレオチド間結合が水中で約1、2、3、4、5、6又は7以下のpKaでないことにおいて、非負電荷ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、7以下のpKaでない。一部の実施形態において、6以下のpKaでない。一部の実施形態において、5以下のpKaでない。一部の実施形態において、4以下のpKaでない。一部の実施形態において、3以下のpKaでない。一部の実施形態において、2以下のpKaでない。一部の実施形態において、1以下のpKaでない。一部の実施形態において、中性形態のヌクレオチド間結合のpKaは、CH₃-ヌクレオチド間結合-CH₃の構造を有する中性形態の化合物のpKaによって表すことができる。例えば、式Iの構造を有する中性形態のヌクレオチド間結合のpKaは、



の構造を有する中性形態の化合物のpKaによって表され得、



のpKaは、pKa



によって表すことができる。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は中

性ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は正電荷ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はグアニジン部分を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はヘテロアリール塩基部分を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はトリアゾール部分を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はアルキニル部分を含む。

【0499】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2 の構造又はその塩形態（負電荷でない）を有する。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I-n-1 の構造又はその塩形態：



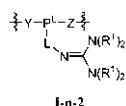
を有する。

【0500】

一部の実施形態において、Xは共有結合であり、及び-X-Cy-R¹は-Cy-R¹である。一部の実施形態において、-Cy-は、1～10個のヘテロ原子を有する5～20員環ヘテロアリール環及び1～10個のヘテロ原子を有する3～20員環ヘテロシクリル環から選択される任意選択で置換されている二価の基である。一部の実施形態において、-Cy-は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている二価の5～20員環ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、-Cy-R¹は、1～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～20員環ヘテロアリール環であり、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、-Cy-R¹は、1～4つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5員環ヘテロアリール環であり、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、-Cy-R¹は、1～4つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている6員環ヘテロアリール環であり、ここで、少なくとも1つのヘテロ原子は、窒素である。一部の実施形態において、-Cy-R¹は、任意選択で置換されているトリアゾリルである。

【0501】

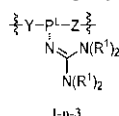
一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I-n-2 の構造又はその塩形態：



を有する。

【0502】

一部の実施形態において、R¹はR'である。一部の実施形態において、Lは共有結合である。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I-n-3 の構造又はその塩形態：



を有する。

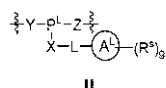
【0503】

一部の実施形態において、異なる窒素原子上の2つのR'が一緒になって、記載される通りの環を形成する。一部の実施形態において、形成される環は5員環である。一部の実施形態において、形成される環は6員環である。一部の実施形態において、形成される環は置換されている。一部の実施形態において、一緒になって環を形成しない2つのR'基

は、各々独立に、Rである。一部の実施形態において、一緒になって環を形成しない2つのR'基は、各々独立に、水素又は任意選択で置換されているC₁～₆脂肪族である。一部の実施形態において、一緒になって環を形成しない2つのR'基は、各々独立に、水素又は任意選択で置換されているC₁～₆アルキルである。一部の実施形態において、一緒になって環を形成しない2つのR'基は同じである。一部の実施形態において、一緒になって環を形成しない2つのR'基は異なる。一部の実施形態において、これらの両方が-CH₃である。

【0504】

一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式I Iの構造又はその塩形態：



又はその塩形態を有し、式中：

P^Lは、P(=W)、P又はP→B(R')₃であり；

Wは、O、N(-L-R⁵)、S又はSeであり；

X、Y及びZの各々は、独立に、-O-、-S-、-N(-L-R⁵)-又はLであり；

環A^Lは、0～10個のヘテロ原子を有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式、二環式又は多環式の環であり；

各R^Sは、独立に、-H、ハロゲン、-CN、-N₃、-NO、-NO₂、-L-R'、-L-Si(R)₃、-L-OR'、-L-SR'、-L-N(R')₂、-O-L-R'、-O-L-Si(R)₃、-O-L-OR'、-O-L-SR'又は-O-L-N(R')₂であり；

gは0～20であり；

各Lは、独立に、共有結合であるか、又はC₁～₃₀脂肪族基及び1～10個のヘテロ原子を有するC₁～₃₀ヘテロ脂肪族基から選択される二価の任意選択で置換されている直鎖又は分枝状の基であり、ここで、1つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、C₁～₆アルキレン、C₁～₆アルケニレン、-C≡C-、1～5つのヘテロ原子を有する二価C₁～₆ヘテロ脂肪族基、-C(R')₂、-Cy、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')、-C(O)N(R')、-N(R')C(O)N(R')、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)₂、-S(O)₂N(R')、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')、-P(O)(SR')、-P(O)(R')、-P(O)(NR')、-P(S)(OR')、-P(S)(SR')、-P(S)(R')、-P(S)(NR')、-P(OR')[B(R')₃]、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-又は-OP(OR')[B(R')₃]O-に置き換えられ、及び1つ以上のCH又は炭素原子は、任意選択で、且つ独立に、Cy^Lに置き換えられ；

各-Cyは、独立に、C₃～₂₀脂環族環、C₆～₂₀アリール環、1～10個のヘテロ原子を有する5～20員環ヘテロアリール環及び1～10個のヘテロ原子を有する3～20員環ヘテロシクリル環から選択される任意選択で置換されている二価の基であり；

各Cy^Lは、独立に、C₃～₂₀脂環族環、C₆～₂₀アリール環、1～10個のヘテロ原子を有する5～20員環ヘテロアリール環及び1～10個のヘテロ原子を有する3～20員環ヘテロシクリル環から選択される任意選択で置換されている三価又は四価の基であり；

各R'は、独立に、-R、-C(O)R、-C(O)OR又は-S(O)₂Rであり；

各Rは、独立に、-Hであるか、又はC₁～₃₀脂肪族、1～10個のヘテロ原子を有

10

20

30

40

50

する $C_{1 \sim 30}$ ヘテロ脂肪族、 $C_{6 \sim 30}$ アリール、 $C_{6 \sim 30}$ アリール脂肪族、1～10個のヘテロ原子を有する $C_{6 \sim 30}$ アリールヘテロ脂肪族、1～10個のヘテロ原子を有する5～30員環ヘテロアリール及び1～10個のヘテロ原子を有する3～30員環ヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基であるか、又は

2つのR基が、任意選択で、且つ独立に、一緒になって共有結合を形成するか、又は

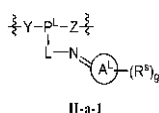
同じ原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、その原子と一緒に、0～10個のヘテロ原子をその原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成するか、又は

2つ以上の原子上の2つ以上のR基が、任意選択で、且つ独立に、それらの介在原子と一緒に、0～10個のヘテロ原子をそれらの介在原子に加えて有する任意選択で置換されている3～30員環の単環式、二環式又は多環式の環を形成する。

10

【0505】

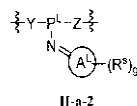
一部の実施形態において、式 I I のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - a - 1 の構造又はその塩形態：



又はその塩形態を有する。

【0506】

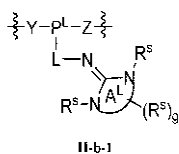
一部の実施形態において、式 I I のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - a - 2 の構造又はその塩形態：



又はその塩形態を有する。

【0507】

一部の実施形態において、 A^L は炭素原子を介して $-N=$ 又は L に結合する。一部の実施形態において、式 I I 又は I I - a - 1、I I - a - 2 のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - b - 1 の構造又はその塩形態：



30

を有する。

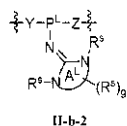
【0508】

一部の実施形態において、式 I I - a - 1 又は I I - a - 2 の構造は式 I I - a の構造を参照し得る。一部の実施形態において、式 I I - b - 1 又は I I - b - 2 の構造は式 I I - b の構造を参照し得る。一部の実施形態において、式 I I - c - 1 又は I I - c - 2 の構造は式 I I - c の構造を参照し得る。一部の実施形態において、式 I I - d - 1 又は I I - d - 2 の構造は式 I I - d の構造を参照し得る。

40

【0509】

一部の実施形態において、 A^L は炭素原子を介して $-N=$ 又は L に結合する。一部の実施形態において、式 I I 又は I I - a - 1、I I - a - 2 のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - b - 2 の構造又はその塩形態：



を有する。

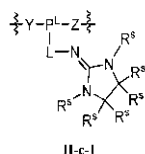
【0510】

50

一部の実施形態において、環 A^L は、0～10個のヘテロ原子を（式 I I - b については2つの窒素原子に加えて）有する任意選択で置換されている3～20員環の単環式の環である。一部の実施形態において、環 A^L は、任意選択で置換されている5員環の単環式飽和環である。

【0511】

一部の実施形態において、式 I I、I I - a 又は I I - b のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - c - 1 の構造又はその塩形態：

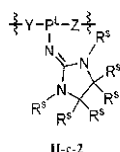


10

を有する。

【0512】

一部の実施形態において、式 I I、I I - a 又は I I - b のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - c - 2 の構造又はその塩形態：

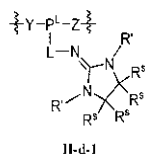


20

を有する。

【0513】

一部の実施形態において、式 I I、I I - a、I I - b 又は I I - c のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - d - 1 の構造又はその塩形態：

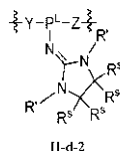


30

を有する。

【0514】

一部の実施形態において、式 I I、I I - a、I I - b 又は I I - c のヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I I - d - 2 の構造又はその塩形態：



40

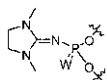
を有する。

【0515】

一部の実施形態において、各 R' は、独立に、任意選択で置換されている C_{1-6} 脂肪族である。一部の実施形態において、各 R' は、独立に、任意選択で置換されている C_{1-6} アルキルである。一部の実施形態において、各 R' は、独立に、 $-CH_3$ である。一部の実施形態において、各 R^S は $-H$ である。

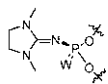
【0516】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、

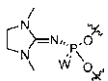


50

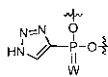
の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、

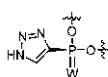


の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、

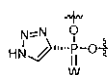


10

の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、

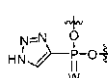


の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、

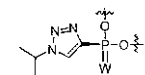


20

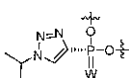
の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



30

の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



40

の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、WはOである。一部の実施形態において、WはSである。

【0517】

一部の実施形態において、各 L^P は、独立に、式 I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2 の構造又はその

50

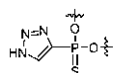
塩形態を有する。

【0518】

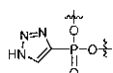
一部の実施形態において、本開示は、1つ以上の非負電荷ヌクレオチド間結合を含むオリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は中性ヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、本開示は、1つ以上の中性ヌクレオチド間結合を含むオリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、式 I-n-1、I-n-2、I-n-3、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2 の構造又はその塩形態を有する。

【0519】

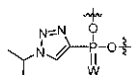
一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はトリアゾール部分を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されているトリアゾリル基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は置換トリアゾリル基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



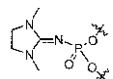
の構造を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、任意選択で置換されているアルキニル基を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、



の構造を有し、式中、WはO又はSである。

【0520】

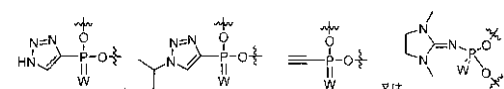
一部の実施形態において、本開示は、環状グアニジン部分を含むヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合を含むオリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、ヌクレオチド間結合は環状グアニジンを含み、且つ



の構造を有する。一部の実施形態において、環状グアニジンを含むヌクレオチド間結合、例えば非負電荷ヌクレオチド間結合は、立体化学的に制御されている。

【0521】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合又は中性ヌクレオチド間結合は、



から選択される構造であるか又はそれを含み、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合は、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、中性ヌクレオチド間結合は、キラル制御されたヌクレオチ

10

20

30

40

50

ド間結合である。一部の実施形態において、環状グアニジン部分を含む修飾ヌクレオチド間結合を含む核酸又はオリゴヌクレオチドは、s i R N A、二本鎖s i R N A、一本鎖s i R N A、ギャップマー、スキップマー、ブロックマー、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アンタゴm i r、マイクロR N A、プレマイクロR N、アンチm i r、スーパーm i r、リボザイム、U l アダプター、R N A アクチベータ、R N A i 剤、デコイオリゴヌクレオチド、三重鎖形成性オリゴヌクレオチド、アプタマー又はアジュバントである。

【0522】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは中性ヌクレオチド間結合とキラル制御されたヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、中性ヌクレオチド間結合と、R p 又はS p 配置のホスホロチオエートであるキラル制御されたヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、本開示は、1つ以上の非負電荷ヌクレオチド間結合と1つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合とを含むオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドにおける各ホスホロチオエートヌクレオチド間結合は、独立に、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、本開示は、1つ以上の中性ヌクレオチド間結合と1つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合とを含むオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドにおける各ホスホロチオエートヌクレオチド間結合は、独立に、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、少なくとも5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個又はそれを超えるキラル制御されたホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。

【0523】

いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、中性ヌクレオチド間結合が、ホスホジエステル結合（天然リン酸結合、P O）よりも疎水性が高いホスホロチオエートヌクレオチド間結合（P S）よりも疎水性が高いことができることを指摘しておく。典型的には、P S 又はP O と異なり、中性ヌクレオチド間結合は低い電荷を持つ。いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、オリゴヌクレオチドに1つ以上の中性ヌクレオチド間結合を取り込むと、オリゴヌクレオチドが細胞によって取り込まれる能力及び／又はエンドソームから逃れる能力が増加し得ることを指摘しておく。いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、1つ以上の中性ヌクレオチド間結合の取り込みを利用して、オリゴヌクレオチドとその標的核酸との間の融解温度を調節し得ることを指摘しておく。

【0524】

いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、オリゴヌクレオチドに1つ以上の非負電荷ヌクレオチド間結合、例えば中性ヌクレオチド間結合を取り込むと、オリゴヌクレオチドがエクソンスキッピング又は遺伝子ノックダウンなどの機能を媒介する能力を増加させることが可能であり得ることを指摘しておく。一部の実施形態において、核酸又はそれによってコードされる産物のレベルのノックダウンを媒介する能力を有するオリゴヌクレオチドは、1つ以上の非負電荷ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、標的遺伝子の発現のノックダウンを媒介する能力を有するオリゴヌクレオチドは、1つ以上の非負電荷ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、標的遺伝子の発現のノックダウンを媒介する能力を有するオリゴヌクレオチドは、1つ以上の中性ヌクレオチド間結合を含む。

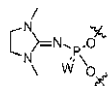
【0525】

一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はキラル制御されていない。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はキラル制御されている。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はキラル制御されており、その結合リンはR p である。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合はキラル制御されており、その結合リンはS p である。

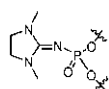
【0526】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はそれを超える非負電荷ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はそれを超える中性ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、非負電荷ヌクレオチド間結合及び／又は中性ヌクレオチド間結合の各々は、任意選択で、且つ独立に、キラル制御されている。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドにおける各非負電荷ヌクレオチド間結合は、独立に、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドにおける各中性ヌクレオチド間結合は、独立に、キラル制御されたヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

10

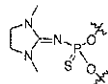


の構造を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は

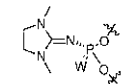


の構造を有する。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

20

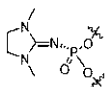


の構造を有する。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

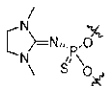


の構造を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

30

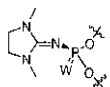


の構造を有する。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

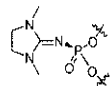


の構造を有する。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

40

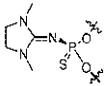


の構造を有し、式中、WはO又はSである。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、



の構造を有する。一部の実施形態において、少なくとも1つの非負電荷ヌクレオチド間結合／中性ヌクレオチド間結合は、

50



の構造を有する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、その結合リンが R p 配置である少なくとも 1 つの非負電荷ヌクレオチド間結合と、その結合リンが S p 配置である少なくとも 1 つの非負電荷ヌクレオチド間結合とを含む。

【0527】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも 1 つの結合リンは、R p である。当業者によれば、キラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドが塩基配列を含む特定の実施形態において、各 T は、独立に、且つ任意選択で、U に置き換えられることが理解される。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各結合リンは、R p である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも 1 つの結合リンは、S p である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各結合リンは、S p である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、ブロックマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、ステレオブロックマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、P 修飾ブロックマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、結合ブロックマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、アルトマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、ステレオアルトマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、P 修飾アルトマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、結合アルトマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、ユニマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、ステレオユニマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、P 修飾ユニマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、結合ユニマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレ

オチドの配列を有するキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、スキップマーである。

【0528】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各シトシンは、任意選択で、且つ独立に、5-メチルシトシンによって置き換えられる。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも1つのシトシンは、任意選択で、且つ独立に、5-メチルシトシンによって置き換えられる。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各シトシンは、任意選択で、且つ独立に、5-メチルシトシンによって置き換えられる。

【0529】

一部の実施形態において、キラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドは、一定の条件下で「自己放出」を起こし易いリン修飾を1つ以上のヌクレオチドが含むように設計される。即ち、一定の条件下で、特定のリン修飾は、それがオリゴヌクレオチドから自己切断して、例えば天然に存在するDNA及びRNAに見られるものなどのリン酸ジエステルを提供するように設計される。一部の実施形態において、かかるリン修飾は—O—L—R¹の構造を有し、式中、L及びR¹の各々は、独立に、本開示に記載される。一部の実施形態において、自己放出基はモルホリノ基を含む。一部の実施形態において、自己放出基は、薬剤をヌクレオチド間リンリンカーに送達する能力によって特徴付けられ、この薬剤は、例えば、脱硫など、リン原子の更なる修飾を促進するものである。一部の実施形態において、薬剤は水であり、更なる修飾は、天然に存在するDNA及びRNAに見られる通りのリン酸ジエステルを形成する加水分解である。

【0530】

一部の実施形態において、キラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドは、得られる薬学的特性がリンにおける1つ以上の特定の修飾によって改善されるように設計される。当技術分野では、特定のオリゴヌクレオチドがヌクレアーゼによって急速に分解され、細胞質の細胞膜を通じた細胞取り込みの不良を呈することが十分に裏付けられている (Poijarvi-Virta et al., Curr. Med. Chem. (2006), 13(28):3441-65; Wagner et al., Med. Res. Rev. (2000), 20(6):417-51; Peyrottes et al., Mini Rev. Med. Chem. (2004), 4(4):395-408; Gosselin et al., (1996), 43(1):196-208; Bologna et al., (2002), Antisense & Nucleic Acid Drug Development 12:33-41)。例えば、Vives et al., (Nucleic Acids Research (1999), 27(20):4071-76) は、tert-ブチルSATEプロオリゴヌクレオチドが親オリゴヌクレオチドと比較して細胞透過の顕著な増加を示したことを見出した。

【0531】

C9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは本明細書に記載される任意の塩基配列又はその一部分を含むことができ、ここで、一部分は、少なくとも15

隣接塩基のスパン又は1～5つのミスマッチを含む少なくとも15隣接塩基のスパンである。

【0532】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列は、標的特異的ノックダウンを媒介する上で、C9orf72転写物標的に対して十分な長さ及び同一性を有する。一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドは、転写物標的配列の部分と相補的である。

【0533】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列は、C9orf72標的転写物のそれと相補的である。本明細書で使用される通り、「標的転写物配列」、「標的配列」、「標的遺伝子」などは、一次転写産物のRNAプロセシングの産物であるmRNAを含め、C9orf72遺伝子の転写中に形成されるmRNA分子のヌクレオチド配列の連続部分を指す。

10

【0534】

用語「相補的」、「完全に相補的」及び「実質的に相補的」という用語は、それらの使用の状況から理解されるように、C9orf72オリゴヌクレオチドとC9orf72標的配列同士の塩基マッチングに関して使用することができる。一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列は、最大にアライメントされたとき、オリゴヌクレオチドの各塩基が標的鎖上の連続塩基と塩基対合することができる場合、C9orf72標的配列の塩基配列と相補的である。非限定的な例として、標的配列が、例えば、5'-GCAUAGCGAGCGAGGGAAC-3'の塩基配列を有する場合、5'-GUUUUCCUCGCU CGCUAUGC-3'の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドは、そのような標的配列と相補的であるか又は完全に相補的である。当然ながら、TによるUの又はその逆の置換は、相補性の量を変化させないことに留意されたい。

20

【0535】

本明細書に記載される通り、C9orf72標的配列と「実質的に相補的な」ポリヌクレオチドは、主に又は大部分が相補的であるが、100%相補的ではない。一部の実施形態では、実質的に相補的な配列（例えば、C9orf72オリゴヌクレオチド）は、標的配列に対して100%相補的な配列から1、2、3、4又は5つのミスマッチを有する。

【0536】

本開示は、表1A及び他所に様々なオリゴヌクレオチドを示し、それらの各々は、規定の塩基配列を有する。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に開示されるオリゴヌクレオチドの何れかの塩基配列であるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する任意のオリゴヌクレオチドを包含する。一部の実施形態では、本開示は、任意の化学修飾、立体化学、フォーマット、構造特徴（例えば、修飾の任意の構造若しくはパターン又はその部分）並びに／又は本明細書に記載される何れか他の修飾（例えば、ターゲティング部分、炭水化物部分などの別の部分との共役；及び／若しくは多量体化）を有する、本明細書に開示される何れかのオリゴヌクレオチドの塩基配列であるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する任意のオリゴヌクレオチドを包含する。一部の実施形態では、（例えば、塩基配列又は修飾のパターンの）「部分」は、少なくとも5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20長である。一部の実施形態では、塩基配列の「部分」は、少なくとも5nt長である。一部の実施形態では、塩基配列の「部分」は、少なくとも10nt長である。一部の実施形態では、塩基配列の「部分」は、少なくとも15nt長である。一部の実施形態では、塩基配列の「部分」は、少なくとも20nt長である。

30

40

【0537】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCCCACACCTGCTCTTGCTAGであるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0538】

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C G G G C A G C A G G G A C G G C T Gであるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0539】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C G G T T G C G G T G C C T G C G C Cであるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0540】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C G G T T G T T T C C C T C C T T G Tであるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0541】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T T G T T C A C C C T C A G C G A G Tであるか、それを含むか又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0542】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C C C C A T C T C A T C C C G C A Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0543】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G A C C C G C T G G G A G C G C T G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

20

【0544】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G C C G C C T C C T C A C T C A C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0545】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C T C T C T T T C C T A G C G G G A Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0546】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C C C C A T T C C A G T T T C C A T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0547】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G C C T C T C A G T A C C C G A G G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0548】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G A T G C C G C C T C C T C A C T C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

40

【0549】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G C A G C A G G G A C G G C T G A C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0550】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T A C C C G C G C C T C T T C C C G G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩

50

基配列を有する。

【0551】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACAGGCTGCGGT TGT T T C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0552】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTCTTCCCGGCA G C C G A A C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0553】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GGGAGGTCC T G C A C T T T C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0554】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCTGGGTGTCGGGCT T T T C G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0555】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTTCC T T G C T T T C C C G C C C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0556】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CGCTTCTACCCGCGCCTCTTTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0557】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTTCTACCCGCGCCTCTTTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0558】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCAGGCGGTGGCGAGTGGGTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0559】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCCGCC T C C T C A C T C A C C C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0560】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACATCC C C T C A C A G G C T C T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0561】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCCTCCTTGTT T T T C T T C T G Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0562】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTGGCTCTCCAGAA G G C T G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0563】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A G G C T G T C A G C T C G G A T C T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0564】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C G C C T C C T C A C T C A C C C A C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0565】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T C T T T C C T A G C G G G A C A C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0566】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C A C C C A C T C G C C A C C G C C T Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0567】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T A C A G G C T G C G G T T G T T T C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0568】

20

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C G C A C C T C T C T T T C C T A G C Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0569】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G G C G A G T G G G T G A G T G A G G A G G C G G C A T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0570】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C A C C C G C C A G G A T G C C G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0571】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G A T G C A C C T G A C A T C C C C T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0572】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T T G C T A C A G G C T G C G G T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0573】

40

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T C A C T C A C C C A C T C G C C A Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0574】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T C C T C A C T C A C C C A C T C G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0575】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G G A A G G C C G G A G G G T G G G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩

50

基配列を有する。

【0576】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GGGCAGCGGACGGCTGACであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0577】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GGCAGGCGGTGGCGAGTGGGTGAGTGAAGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0578】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GGCTGCGGTGTTTCCCTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0579】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TCTCAGTACCCGAGGCTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0580】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCTTG GTGTGTCTAGCCGTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

20

【0581】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTGTCTCTGTTTGAGCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0582】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CGCATAGAAATCCAGTACCAATであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0583】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AGCGCGCGACTCTCTGAGTTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0584】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AGGCTGCGGTGTGTTTCCCTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0585】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTCAGTACCCGAGGCTCCCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

40

【0586】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTTCCCGGCGAGCCGAACCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0587】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CACCCGCCAGGATGCCGCCCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0588】

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C T C T C T T T C C T A G C G G G Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0589】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T A C A G G C T G C G G T T G T T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0590】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C G C G A C T C C T G A G T T C C A Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0591】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C C C G G C A G C C G A A C C C C A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0592】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C A G A T C C C C A T C C C T T G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0593】

20

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T C A C C C A C T C G C C A C C G C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0594】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A G C A A C C G G G C A G C A G G G A Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0595】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T G C G G T T G T T T C C C T C C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0596】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A A C C G G G C A G C A G G G A C G G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0597】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G T T G T T T C C C T C C T T G T T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0598】

40

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T T G G T G T G T C A G C C G T C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0599】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T G G A G A T G G C G G T G G G C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0600】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C C G C G C C T C T T C C C G G C A Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

50

基配列を有する。

【0601】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTTGCTAGACCCCGCCCCCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0602】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GGCTCTCCAGAAAGGCTGTCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0603】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TCCCTCACTCACCCCACTCGCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0604】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CAGGA TGCCGCTCTCTCACTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0605】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTGGTTGCTTCAACAGCTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0606】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CGGGCAGCAGGGACGGCTGAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0607】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTGCTGCGATCCCCATTCCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0608】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCCGCCAGGATGCGCGCTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0609】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GATCCCCATCCCTTGTCCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0610】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCCTTACTCTAGGACCAAGAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0611】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACCGGGCAGCAGGGACGGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0612】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TGCCAGGCTGGTTATGACTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0613】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C A T C C T G G C G G G T G G C T G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0614】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C T C T T C C C G G C A G C C G A A Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0615】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C C C A A A C A G C C A C C C G C C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0616】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T T G C G G T G C C T G C G C C C G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0617】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C C A A A C A G C C A C C C G C C A Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0618】

20

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C C G C C A G G A T G C C G C C T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0619】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C T T C C C G G C A G C C G A A C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0620】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C T C C G G C C T T C C C C C A G G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0621】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C A T C C G G G C C C C G G G C T T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0622】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C A C C C C C A T C T C A T C C C G C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0623】

40

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C A G A G C T T G C T A C A G G C T G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0624】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C G C T T C T A C C C G C G C C T C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0625】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T G C A G G C G T C T C C A C A C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

50

基配列を有する。

【0626】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACCTCACCCACTCGCCACCGCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0627】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCAGGCGTCTCCACACCGCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0628】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTAGAGTTCCAGAGCTTGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0629】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GAGAGCCCCCGCTTCTACCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0630】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TCCGTGAGTTCCAGAGCTTGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0631】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AGCTTGCTACAGGCTGCGGTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0632】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCAAACAGCCACCCGCCAGGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0633】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCGCAGGCGGTGGCGAGTGGGTGAGTGAGGAGGCGGCATCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0634】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTGGCGGTGTTTCCCTCCTTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0635】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AGCCGTCCCTGCTGCCCGGTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0636】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、G CCTCCTCACTCACCCACTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0637】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TGCTACAGGCTGCGGTGTTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0638】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C A G G G A C G G C T G A C A C A C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0639】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A G G A T G C C G C C T C C T C A C T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0640】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G T C T T T T C T T G T T C A C C C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0641】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C T G C T C T T G C T A G A C C C C Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0642】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T T C A C C C T C A G C G A G T A C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0643】

20

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C T A G C G G G A C A C C G T A G G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0644】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C C T C A G T A C C C G A G C T G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0645】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T A C C C G C G C C T C T T C C C G Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0646】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T C T T T T C T T G T T C A C C C T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0647】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G G T G T C G G G C T T T C G C C T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0648】

40

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C G G T T G T T T C C C T C C T T G T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0649】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C A C C C T C C G G C C T T C C C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0650】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C T C T C A G T A C C C G A G G C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

50

基配列を有する。

【0651】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTCACTCACCCACTCGCCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0652】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GAGCTTGCTACAGGCTGCGGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0653】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTGACCATCCCCCTCACAGGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0654】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCTGTTTTGACGCACCTCTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0655】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TGGAAATGGGGAATCGCAGCACであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0656】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCGCCCTCCTCACCTCACCCACであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0657】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTCTGCCAAGGCCCTGCCACであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0658】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCGACCTTGCAATTGCTGCCCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0659】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TCACCCTCAGCGAGTACTGTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0660】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCGCCGCTCTTCCCGGCAGCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0661】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CGCCTCTTCCCGGCAGCCGAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0662】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TTGCTACAGGCTGCGGTGTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0663】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C G G G A A G A G G C G C G G G T A Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0664】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C A A C C G G G C A G C A G G G A C Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0665】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C T T G C T A G A C C C C G C C C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0666】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T A G A C C C C G C C C C C A A A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0667】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T G C G A T C C C C A T T C C A G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0668】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C C A C T C G C C A C C G C C T G C Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

20

【0669】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T G G C A G G C C T T G G C A G A G Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0670】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C G C A C C T C T C T T T C C T A G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0671】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A G G G C C A C C C C T C C T G G G A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0672】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C A G G A T G C C G C C T C C T C A Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0673】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C C G C G C C T C T T C C C G G C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

40

【0674】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C C G A G C T G T C T C C T T C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0675】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C T C T T C C C G G C A G C C G A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩

50

基配列を有する。

【0676】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACTCCCTGAGTTCCAGAGCTTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0677】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ATTGCCCTGCATCCGGGGCCCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0678】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TTCTACCCGCGCCTCTTCCCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0679】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTACCCGAGGCTCCCCCTTTTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0680】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTGCCTGCCCGGTTCCTTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0681】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCGCGCGACTCCTGAGTTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0682】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTCGGTGTCCTCCCCATTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0683】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACCCACTCGCCACCGCCTGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0684】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GACATTCCCCCTCACAGGCTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0685】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GAGCTGCCCAAGGACCACTTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0686】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCGGCATCCTGGCGGGTGGCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0687】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTCCGTGTGCTCATTTGGGTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0688】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G G A A T G G G G A T C G C A G C A C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0689】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G C G G A G G C G C A G G C G G T G Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0690】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C A G G A T G C C G C C T C C T C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0691】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C A C T C G C C A C C G C C T G C G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0692】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G C C T G C A T C C G G G C C C C G Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0693】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T T G C T A G A C C C C G C C C C A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

20

【0694】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C A G G C T G C G G T T G T T T C C C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0695】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C C G T C C C T G C T G C C C G G T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0696】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T T T C C C C A C A C C A C T G A G C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0697】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T T C C A G A G C T T G C T A C A G G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0698】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C C G G C A G C C G A A C C C C A A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

40

【0699】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G T G C T G C G A T C C C C A T T C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0700】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G A G G C C A G A T C C C C A T C C C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩

50

基配列を有する。

【0701】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTCGCTGTTTGACGCCACCTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0702】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CTCTTGCTAGACCCCGCCCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0703】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCGCCAGGATGCCGCTCTCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0704】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTCCCTCACTCACCCACCTCGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0705】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ATCCCTCTCACAGGCTCTTTGTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0706】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCTCTTTGCTAGACCCCGCCCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0707】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GGTCCCTGCGCGCGAGGAGGAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0708】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCTTCCCTGAAGGTTCTCTCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0709】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TCCCTCTCACAGGCTCTTTGTGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0710】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TGCTCTTTGCTAGACCCCGCCCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0711】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TTCCCGGCGAGCCGAACCCCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0712】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GTCCCTGCTGCCCCGGTTGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0713】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T T C T A C C C G C G C C T C T T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0714】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T T T C C T A G C G G G A C A C C G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0715】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T G C A G G A C C T C C C T C C T G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0716】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T G C T C C C C A T T C T G T G G G Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0717】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C C A G A G C T T G C T A C A G G C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0718】

20

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C C C T C A C A G G C T C T T G T G Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0719】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G C T A G A C C C C G C C C C C A A Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0720】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C A C C C A C T C G C C A C C G C C Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0721】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C T G C T C T T G C T A G A C C C C G Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0722】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T G C G G T T G T T T C C C T C C T T Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0723】

40

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T T G T T T C C C T C C T T G T T T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0724】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G C G T C T C C A C A C C C C C A T Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0725】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G G C T C T C C T C A G A G C T C G Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩

50

基配列を有する。

【0726】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、ACCTCCGGCCCTTCCCCCA Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0727】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCGCAAGCCTGTAGCAAGCTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0728】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AACCCACACCTGCTCTTGCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0729】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AGTGGTCCCTGGGCAAGCTCCTであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0730】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、TCCCTTGCTTTTCCCCGCCCTCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0731】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GAGCTCTGAGGAGAGCCCCCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0732】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCACCTCTCTTTTCTAGCGGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0733】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CGCCAGGATGCCGCCCTCCTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0734】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、AACAGCCACCCGCCAGGATGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0735】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CAGGGTGGCATCTGCTTCA Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0736】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CACTCACCCACTCGCCACCGであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0737】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCACC CGCCAGGATGCCGCC Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0738】

10

20

30

40

50

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C C A C A C C T G C T C T T G C T Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0739】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A T G C C G C C T C C T C A C T C A C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0740】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C A C C T C T C T T T C C T A G C G G Gであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

10

【0741】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G A T C C C C A T T C C A G T T T C C Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0742】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G T C A G C C G T C C C T G C T G C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0743】

20

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、T C A C T C A C C C A C T C G C C A C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0744】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G C T C C C T T T T C T C G A G C C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0745】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C A G G A C C T C C C T C C T G T T Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

30

【0746】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G C T T T C C C G C C C T C A G T A C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0747】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G A T G C C G C C T C C T C A C T C A Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0748】

40

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、A C C C C A A A C A G C C A C C C G C Cであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0749】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、C C T C C T T G T T T T C T T C T G G Tであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0750】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC 9 o r f 7 2を標的とし、G G C C T T G G C A G A G G T G G T G Aであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

50

基配列を有する。

【0751】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GCTCTGAGGAGAGCCCCCGCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0752】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、GACAGGGTGGCATCTGCTTCであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0753】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CGCGCGACTCTCTGAGTTCCAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0754】

一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72を標的とし、CCACAACCTGCTCTTGCTAGAであるか、それを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する。

【0755】

一部の実施形態において、塩基配列の一部分は、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19個又はそれを超える隣接（連続）塩基のスパンである。

【0756】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される配列のC9orf72オリゴヌクレオチドを開示する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に記載される配列のC9orf72オリゴヌクレオチドを開示し、ここで、オリゴヌクレオチドは、C9orf72遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、記載される配列のC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の構造を含む。様々な配列において、UはTに置き換えることができるか又は逆も同様であり、又は配列はU及びTの混合物を含み得る。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは長さが約49、45、40、30、35、25、23個以下の総ヌクレオチドである。一部の実施形態において一部分は、0～3つのミスマッチを含む少なくとも15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は25個の総ヌクレオチドである。一部の実施形態において、一部分は、0～3つのミスマッチを有する少なくとも15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は25個の総ヌクレオチドのスパンであり、ここで、0ミスマッチのスパンは、相補的であり、1つ以上のミスマッチを有するスパンは実質的な相補性の非限定的な例である。上記に記載される配列の5'末端がUで始まる一部の実施形態において、Uは欠失させ、且つ／又は別の塩基に置き換えることができる。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示されるフォーマット又はフォーマットの一部分を有する本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの塩基配列であるか、又はそれを含むか、又はその一部分を含む塩基配列を有する任意のオリゴヌクレオチドを包含する。

【0757】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の塩基配列を含むことができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の塩基配列又はその一部分を含むことができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の塩基配列又はその一部分を含むことができ、ここで、一部分は、15隣接塩基のスパン又は1～5つのミスマッチを含む15隣接塩基のスパンである。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の塩基配列又はその一部分を、本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾と組み合わせて含むことができる。

【0758】

様々な塩基配列及び修飾を有するC9orf72オリゴヌクレオチドの非限定的な例を以下の表1Aに開示する。

表1A. C9orf72オリゴヌクレオチド。

WAVE ID	修飾配列	塩基配列	塩基化学-インターヌクレオチド結合
WV-3536	T ₅₀ *A ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *A ₅₀ *G ₅₀ *G*G*ms ² C* ⁺ T	TACAGGCTGTGTGTGTGTGTTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3537	G ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *T* ⁺ A*G*G* ⁺ A*ms ² C	GCTTACTCTTAGGACCAAGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3538	T ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *A ₅₀ *ms ² C ₅₀ *T ₅₀ *A*ms ² C	CGCATAGAATCCAGTACAT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3539	G ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *T* ⁺ A*G*G* ⁺ A*ms ² C	UACAGGCTGGGTGTGTTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3540	T ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *A ₅₀ *ms ² C ₅₀ *T ₅₀ *A*ms ² C	GCTULACTCTAGGACCAAGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3541	G ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *T* ⁺ A*G*G* ⁺ A*ms ² C	CGCALAGATCCAGTACCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3542	T ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *A ₅₀ *ms ² C ₅₀ *T ₅₀ *A*ms ² C	CTTCTCTTAGGTTCTTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3561	G ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *T* ⁺ A*G*G* ⁺ A*ms ² C	GCTGGAGATGGCGTGGGCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3562	T ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *A ₅₀ *ms ² C ₅₀ *T ₅₀ *A*ms ² C	CTGTLCTGTCTTGGAGCCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3563	G ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *T* ⁺ A*G*G* ⁺ A*ms ² C	UCCCATCTCAGTTCCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3564	T ₅₀ *m ⁵ C ₅₀ *A ₅₀ *ms ² C ₅₀ *T ₅₀ *A*ms ² C	GAUCCCATCTCAGTTCCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

WV-3565	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3566	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3567	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3568	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3569	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3570	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3571	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3572	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3573	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3574	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3575	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-3576	m ⁵ C* ⁺ C* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ m ⁵ C* ⁺ G* ⁺ A* ⁺ T* ⁺ C* ⁺ C	CTGCTGATCTCCATCTCAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

10

20

30

40

WV- 3577	mU mA * mC * mA * mU * mC * C * C * T * C * A * C * A * G * G * mC * mU * mC * mU *	ACAUCCCTTCACAGGCTCUU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3578	mU mG * mA * mC * mA * mU * C * C * C * T * C * A * C * A * G * mG * mC * mU * mC *	GACAUCCCTTCACAGGCTCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3579	mU mC * mU * mG * mA * mC * A * T * C * C * C * C * T * C * A * C * mA * mG * mC * mC *	CUGACATCCCTTCACAGGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3580	mU mG * mA * mU * mG * mC * A * C * C * T * G * A * C * A * T * C * mC * mC * mC * mU *	GAGCACCCTTGACATCCCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3581	mU mG * mC * mA * mC * mC * T * C * T * C * T * T * T * C * C * T * mA * mG * mC * mC *	GCACCTCTCTTCTAGCGG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3582	mU mG * mG * mG * mC * mA * G * C * A * G * G * mC * mC * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GGGAGCAGGAGCGGCGGCGAC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3583	mU mU * mG * mC * mU * mA * G * A * C * C * * C * G * C * C * C * mC * mC * mC * mC *	UGCUAGATCTCGGCTCCAAA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3584	mU mU * mC * mU * mG * mC * mC * T * G * A * * A * C * C * C * G * mC * mC * mC * mC *	UCUUGCTAGACCTCGCTCCCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3585	mU mG * mC * mU * mC * mU * T * G * A * T * A * A * C * C * mC * mC * mC * mC * mC *	GCUCUTGCTAGACCTCGCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3586	mU mC * mU * mG * mC * mU * C * T * T * G * C * T * A * G * A * C * mC * mC * mC * mC *	CUUATCTTGCTAGACCTCGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3587	mU mG * mC * mG * mC * mU * T * G * A * T * T * C * C * C * T * C * mC * mU * mC * mC *	GGGCUCTGTTCTCTCTCCUUGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3588	mU mG * mC * mU * mG * mC * G * G * T * T * G * T * T * C * C * mC * mC * mC * mC *	CCUCGCTGTTCTCTCTCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

10

20

WV- 3589	mU mG * mC * mC * mU * mG * C * G * G * T * T * G * T * T * C * mC * mC * mC * mU * mC *	GGCUCGCGTGTTCCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3590	mU mC * mA * mG * mC * mC * T * G * C * G * * T * T * G * T * mU * mU * mC * mC * mC *	CAGGCTGCGGTGTTUCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3591	mU mU * mC * mA * mC * mU * C * A * C * C * C * A * C * T * C * G * mC * mC * mC * mA * mC *	UCACUCACCCACTGTCACU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3592	mU mC * mC * mU * mC * mA * C * T * C * A * C * C * C * A * C * T * mC * mG * mC * mC *	CCUCACTCACCCACTTGCCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3593	mU mG * mG * mA * mU * mG * C * C * G * C * * C * T * C * C * T * mC * mA * mC * mU * mC *	GGAGUCGCGCTCTCACTCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3594	mU mG * mC * mC * mA * mG * G * A * T * G * C * C * G * C * C * T * mC * mC * mC * mC *	GCCAGGATGCTGCTTCUCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3595	mU mC * mC * mC * mA * A * A * C * C * A * G * C * C * A * C * mC * mC * mC * mC * mC *	CCCTAAGCAGGCACTCGCCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3596	mU mG * mA * mG * mA * mG * C * C * C * C * C * G * C * T * T * mU * mA * mC * mC *	CAGAGCTCTCTTTCTCACTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3597	mU mG * mC * mU * mC * mU * G * A * G * G * * A * G * A * G * C * mC * mC * mC * mC *	GCUCUGAGGAGAGCTCTGAC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3598	mU mG * mA * mG * mC * mU * C * T * T * G * A * G * A * G * A * mC * mC * mC * mC *	GAGCTCTTGAGGAGAGCTCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3599	mU mG * mA * mC * mC * C * C * A * T * A * C * C * C * T * T * G * mU * mC * mC * mC *	GAUCCCACTCCCTTGUCUU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3600	mU mG * mC * mC * mA * mG * A * T * C * C * C * C * A * T * C * mC * mC * mU * mU *	CCCAGATCCCTCACTCCUUGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

30

40

WV- 3601	mU *C * A * mG * mC * mC * C * A * G * A *	GAGCCAGATCCACUCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3602	mU *T * C * T * C * G * mC * mC * mC * mC *	GGCUCCTTTCTCGAGCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3603	mC *T * C * T * C * C * C * mC * mC * mC * mC *	GUACCCGAGGCTCCUUCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3604	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	CUCAGTACCCGAGGCTCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3605	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	UUCAGTACCCGAGGCTCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3606	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GGCUCCTCAGTACCCGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3607	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GGCUCCTCAGTACCCGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3608	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	UUCUCAGCTTTCTCGAGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3609	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	ACCCUCGAGGCTTTCTCGAG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3610	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	UUCAGCTTTCTCGAGCTTTCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3611	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	ACCCGAGCTTTCTCGAGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3612	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	CACCTCCATTTCTCGAGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

10

20

WV- 3613	mA *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GGCUCCTTCCACACCTCCAGC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3614	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GCAGGCTTTCTCGAGCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3615	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GUACCCGAGGCTCCACACCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3616	mC *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	CCGACCTTGCATTCCTGCTCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3617	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GCAGGCTTTCTCGAGCTCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3618	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GGCUCCTCAGTACCCGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3619	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	AGGCTCAGCTTTCTCGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3620	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GGCUCCTCAGTACCCGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3621	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	GUACCCGAGGCTTTCTCGAGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3622	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	UUCAGCTTTCTCGAGCTTTCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3623	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	ACCCGAGCTTTCTCGAGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3624	mU *C * A * mC * mC * mC * mC * mC * mC *	UUCAGCTTTCTCGAGCTTTCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

30

40

10

20

30

40

WV- 3625	mC mG * mU * mC * mA * mG * C * G * T * C * C * T * G * C * mU * mG * mC * mC *	GUACGCGTCTCTGCTGCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3626	mC mG * mC * mC * mG * mU * C * C * T * G * C * T * G * C * C * mC * mG * mG * mU *	GGCTGCTCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3627	mU mG * mU * mC * mC * mC * T * G * C * T * G * C * C * G * G * G * mU * mU * mG * mC *	GUUCCCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3628	mU mC * mC * mU * mG * mC * T * G * C * T * C * T * A * G * C * A * mA * mC * mU * mC *	CTUGCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3629	mC mC * mC * mG * mC * mA * G * C * T * T * G * T * A * G * C * A * mA * mC * mU *	CCGCAGCTTGTAGCAAGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3630	mC mG * mC * mG * mG * mU * T * G * C * T * G * T * G * T * C * T * T * mG * mC * mC * mC *	GGGCTGCTGCTGCTGCTGCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3631	mC mG * mU * mU * mG * mC * G * T * G * T * G * C * T * G * C * G * mC * mC * mC * mC *	GUUCCGCTGCTGCTGCTGCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3632	mG mG * mU * mC * mG * mU * mG * mU * mG * mC * A * G * C * mC * mG * mU * mG *	GGCTGAGCTGCTGCTGCTGCTG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3633	mC mG * mC * mA * mG * mC * G * G * T * T * * mU * mC * mG * mC * mC * mC * mC * mC *	GCAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3634	mC mG * mC * mA * mG * mC * G * G * T * T * * mU * mC * mG * mC * mC * mC * mC * mC *	GGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3635	mU mG * mC * mA * mG * mC * T * G * G * T * C * G * G * G * T * G * mC * mC * mU * mG *	GGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3636	mC mG * mG * mG * mC * mU * C * T * C * T * * C * A * G * A * G * mC * mU * mC * mG *	GGGCTCTCTCAGAGCTGCTGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

WV- 3637	mA mG * mU * mU * mG * mG * G * T * G * T * C * G * G * G * C * T * mU * mU * mC * mG *	GUUGGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3638	mC mG * mG * mG * mU * mG * T * C * G * G * * G * C * T * T * T * C * mG * mC * mC * mU *	GGGCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3639	mC mA * mU * mU * mG * mC * C * T * G * C * A * T * C * T * G * G * mG * mC * mC * mC *	AUUUCCCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3640	mC mU * mG * mC * mC * mU * G * C * A * T * C * C * G * G * C * mC * mC * mC * mC * mG *	UGCTUGCACTGCTGCTGCTGCTG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3641	mG mG * mC * mA * mU * mC * C * G * G * G * * C * C * C * C * G * mG * mC * mU * mU *	GCATCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3642	mC mC * mU * mU * mC * mC * T * G * C * T * * T * T * C * C * mG * mC * mC * mU *	GUUCCCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3643	mU mU * mC * mC * mU * mU * G * C * T * T * T * * C * C * C * G * C * mC * mC * mU * mC *	GUUCCCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3644	mA mG * mU * mU * mU * mU * C * G * C * C * * C * C * T * C * A * mG * mC * mA * mC *	GUUCCCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3645	mG mG * mC * mC * mC * mU * C * A * G * T * A * mC * C * C * A * mC * mC * mU * mC *	GUUCCCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3646	mU mA * mC * mC * mC * mG * A * G * C * T * G * * T * C * T * C * mU * mU * mC * mC *	GUUCCCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3647	mC mG * mG * mA * mC * mC * C * G * C * T * G * G * G * A * G * C * mC * mC * mU * mG *	GGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3648	mC mG * mG * mG * mA * mC * mC * G * C * C * * G * A * G * G * mU * mU * mC * mG *	GGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

WV-2640	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{C}$ $\ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{G} \ast \text{A} \ast \text{mG} \ast \text{mG} \ast \text{mA} \ast \text{mG}$ mA	GGGCTCTGGCTGGCTGGAGAG	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2640	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{C}$ $\ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{mA} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mC}$ mL	GLCTGGTGGCTGGCTGCALHCU	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2651	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{A}$ $\ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{mL} \ast \text{mG} \ast \text{mG} \ast \text{mG}$ mA	GHGCUUCUCCATCTGTGCGGGA	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2652	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{C} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{T}$ $\ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{C} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{T}$ mC	CCUGGTTGGCTTCACAGCUC	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2653	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{C}$ $\ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{C} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{mC}$ mC	GLCTGGTGGCTGCATTGGGGUC	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2654	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{C} \ast \text{mL} \ast \text{mG} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{T}$ $\ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mC}$ mC	GGGAGGCTCTGGCAGCTUHFCC	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2655	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mA}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{mA}$ mC	CTTCDGGCAAGGUCCTGGCAC	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2656	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{G} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{G} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{mC}$ mL	AGUUGTCTTGGGAGGCTHCU	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2657	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{mC} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{G}$ $\ast \text{C} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{mC} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{C} \ast \text{T} \ast \text{G}$ mL	GAUGGAGATGGGCGTGGGGA	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2658	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{T} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{mA} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{T}$ $\ast \text{T} \ast \text{T} \ast \text{G} \ast \text{C} \ast \text{mA} \ast \text{mG} \ast \text{mC} \ast \text{mC} \ast \text{T}$ mL	CGUHUCTGTCTTGGAGGCTC	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2659	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{T} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{C} \ast \text{A}$ $\ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{T} \ast \text{mC} \ast \text{mL} \ast \text{mC} \ast \text{C} \ast \text{A}$ mL	UCCTCATTCAGTTTCALC	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2660	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mC}$ $\ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{G} \ast \text{T} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mC}$ mL	GAGCTCTCATTCAGTTHKCTA	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2661	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{T} \ast \text{T} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mC}$ $\ast \text{C} \ast \text{A} \ast \text{T} \ast \text{T} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mL} \ast \text{mC}$ mL	CGHGGATCTTCCATTCCAGLU	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
WV-2662	$\ast \text{mC}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{A} \ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{C}$ $\ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{G} \ast \text{A} \ast \text{T} \ast \text{C} \ast \text{C} \ast \text{C}$ mL	GGGCGGGAATCCGCGGALHCU	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

[illegible]

[illegible][illegible]

3716	$A^*G \cdot C^*G \cdot T^*mdufmgfmg \cdot m\lambda$	GLGGCAGGCTTGGGAGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3717	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*A^*G \cdot C^*C^*T^*C^*$	GAGTGGCTTGGGAGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3718	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*G^*C^*G^*C^*A^*G^*$	GAGTGGCTTGGGAGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3719	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*G^*T^*G^*T^*G^*T^*$	GCTTGGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3720	$m^*C^*A^*G^*m^*mdufmgfmg \cdot m\lambda$	CTTGGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3721	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GLTGGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3722	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3723	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3724	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	CTTGGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3725	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	CTTGGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3726	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3727	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GLTGGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3728	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3729	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3730	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3731	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3732	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X
3733	$m^*G \cdot m^*mGmGm^*m^*C^*G^*T^*C^*C^*$	GCTTGGCTTGGGAGG	N000XXXXXXXXXXXXXG000X

[illegible]

3742	G * C * A * G * mCnT nCnG * mLi	GC166AGATGGCGTGGGCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3743	m5Coo * Tco * Goo * A * G * A *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3905	T * G * G * C * G * T * Goo * Goo *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3906	m5Coo * Tco * Goo * Tco * C * T * G * T	CTGTCTGTCTTTGGAGCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3907	C * A * T * T * G * A * Goo * m5Coo *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3908	m5Coo * m5Coo *	TCGCCATCCAGTTTCATC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3909	Tco * m5Coo * m5Coo * m5Coo * A *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3910	T * T * C * A * G * T * T * T * m5Coo *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3911	m5Coo * Aoo * Tco * m5Coo	GAATCCATCCAGTTTCCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3912	Goo * Aoo * Tco * m5Coo * C * C * A *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3913	T * T * C * A * G * T * Tco * Tco *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3914	m5Coo * m5Coo *	GC166GATCCCATTCAGT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3915	C * C * C * G * A * T * T * m5Coo * m5Coo		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3916	Aoo * Goo * Tco		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3917	Goo * Tco * C * G * A * Tco * C * G *	GTGCTGGCAATCCATCCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3918	A * T * C * C * A * Tco * Tco * m5Coo *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3919	m5Coo * Aoo	GTGCTGGCAATCCATCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3920	Tco * Goo * Tco * Goo * m5Coo * T * G * C *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3921	WV * A * T * C * C * C * Aoo * Tco * Tco *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3922	m5Coo * m5Coo *	CAGGCTGGCATCTGGATTAC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3923	C * A * T * C * T * G * Tco * m5Coo *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3924	Aoo * m5Coo	GAAGAGGAGGATCTGGCTTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3925	Goo * Aoo * m5Coo * Aoo * Goo * G * G *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3926	C * G * C * A * T * C * T * Tcoo * m5Coo * Tco *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3927	Tco * m5Coo	AGGATGGTGGATCTGGATCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3928	A * G * G * T * C * G * Aoo * Tco *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3929	WV * Goo * m5Coo * Tco * m5Coo *	GGCTTCAGAGAGGCTGTCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3930	Goo * m5Coo * Tco * m5Coo * T * C * C *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3931	A * G * A * G * C * Tco * Tco * Tco *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3932	m5Coo * Aoo	GTGGCTTCCAGAGAGGCTGT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3933	Goo * Tco * Aoo * Goo * m5Coo * T * C * T *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
3934	C * C * A * G * A * A * Goo * m5Coo *		XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

WV ₁ S917	$\begin{aligned} &T_{10} \cdot G_{10} \cdot T_{10} \\ &+ C \cdot A \cdot T_{10} \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot C \cdot C \cdot A \\ &\cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \end{aligned}$	TTTCTCCACACGACACGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₂ S918	$\begin{aligned} &m_{5C_{10}} \cdot G_{10} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot C \cdot T_{10} \cdot G_{10} \cdot A_{10} \cdot G_{10} \\ &+ C \cdot A \cdot A \cdot G \cdot G \cdot C \cdot T_{10} \cdot C \cdot T_{10} \cdot A_{10} \cdot G_{10} \\ &\cdot T_{10} \cdot G_{10} \cdot A_{10} \end{aligned}$	CCCCCTACAGGCTCTTTGGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₃ S919	$\begin{aligned} &T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \\ &+ C \cdot A \cdot C \cdot A \cdot G \cdot G \cdot C \cdot T_{10} \cdot C \cdot T_{10} \cdot A_{10} \\ &\cdot G_{10} \cdot T_{10} \cdot G_{10} \end{aligned}$	TCTCTCTCAGAGCTCTTTGTG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₄ S920	$\begin{aligned} &A_{10} \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot C \cdot T_{10} \\ &+ C \cdot A \cdot A \cdot G \cdot G \cdot C \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \\ &\cdot T_{10} \cdot G_{10} \cdot T_{10} \end{aligned}$	AATCCCTACAGGCTCTTTGT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₅ S921	$\begin{aligned} &A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A_{10} \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot C \cdot C \cdot C \\ &+ T_{10} \cdot C \cdot A \cdot C \cdot A \cdot G \cdot C \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \\ &\cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \cdot T_{10} \end{aligned}$	AGATCTCTCAGAGGCTCTTT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₆ S922	$\begin{aligned} &G_{10} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A_{10} \cdot T_{10} \cdot C \cdot C \cdot C \\ &+ C \cdot C \cdot A \cdot G \cdot C \cdot A \cdot G \cdot G_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \\ &\cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \end{aligned}$	GACATCTCTCAGAGGCTCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₇ S923	$\begin{aligned} &m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \cdot G_{10} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A \cdot T_{10} \cdot C \\ &+ C \cdot C \cdot C \cdot T_{10} \cdot A \cdot C \cdot A_{10} \cdot G_{10} \cdot G_{10} \\ &\cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \end{aligned}$	CTGATCATCTCTCAGAGGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₈ S924	$\begin{aligned} &G_{10} \cdot A_{10} \cdot T_{10} \cdot G_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A \cdot C \cdot C \\ &+ T_{10} \cdot G \cdot A \cdot C \cdot A \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \\ &\cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \end{aligned}$	GATCTCATCTCTCTCTCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₉ S925	$\begin{aligned} &G_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \cdot C \\ &+ T_{10} \cdot C \cdot T_{10} \cdot T_{10} \cdot C \cdot T_{10} \cdot A_{10} \cdot G_{10} \cdot T_{10} \\ &\cdot m_{5C_{10}} \cdot G_{10} \end{aligned}$	GCACTCTCTCTCTTAGAGG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₁₀ S926	$\begin{aligned} &G_{10} \cdot G \cdot G \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot A_{10} \cdot G \cdot C \cdot A \\ &+ G_{10} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \\ &\cdot G_{10} \cdot A_{10} \cdot m_{5C_{10}} \end{aligned}$	GAGATAGAGGATGAGTTAAT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₁₁ S927	$\begin{aligned} &T_{10} \cdot G_{10} \cdot m_{5C_{10}} \cdot T_{10} \cdot A_{10} \cdot G \cdot A \cdot C \\ &+ C \cdot C \cdot G \cdot C \cdot C \cdot C \cdot m_{5C_{10}} \cdot m_{5C_{10}} \\ &\cdot A_{10} \cdot A_{10} \end{aligned}$	TGCTAGAGCTCTGGCCCCAAA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV ₁₂ S928	$\begin{aligned} &T_{10} \cdot A_{10} \cdot C \cdot C \cdot T_{10} \cdot G_{10} \cdot C \cdot T \cdot A \cdot A \\ &+ A_{10} \cdot C \cdot C \cdot C \cdot C \cdot G \cdot C \cdot T_{10} \cdot m_{5C_{10}} \\ &\cdot m_{5C_{10}} \end{aligned}$	TCTTTGCTAGAGCTCTGGCCCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

WV-5929	$\text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{T}^* \text{A}^* \text{G}^* \text{A}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Gop}^*$ $\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$	GGCTCTGGCTAGACCCGCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5930	$\text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{G}^* \text{G}^* \text{C}^*$ $\text{C}^* \text{C}^* \text{T}^* \text{A}^* \text{A}^* \text{G}^* \text{A}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{G}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$	CTGCTCTGTGTAGACCTGGC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5931	$\text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Gop}^* \text{Gop}^* \text{Top}^* \text{G}^* \text{G}^* \text{C}^*$ $\text{T}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{Top}^*$ $\text{Gop}^* \text{Top}^*$	GGGGTGTGTCTCTCTGTGTGT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5932	$\text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{G}^* \text{G}^* \text{C}^*$ $\text{T}^* \text{G}^* \text{T}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^*$ $\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^*$	GC TGG GGTGTGTCTCTCTCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5933	$\text{Gop}^* \text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{Gop}^* \text{G}^* \text{G}^* \text{C}^*$ $\text{T}^* \text{T}^* \text{G}^* \text{T}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$	GGCTGGGGTGTGTCTCTCTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5934	$\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Gop}^* \text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{G}^* \text{G}^* \text{C}^*$ $\text{G}^* \text{C}^* \text{T}^* \text{A}^* \text{G}^* \text{T}^* \text{T}^* \text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^*$	CAGGG TGGGGTGTGTCTCTCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5935	$\text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Gop}^* \text{C}^* \text{A}^* \text{C}^*$ $\text{C}^* \text{C}^* \text{A}^* \text{C}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{Aop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$	TGACTACCCACTCTGGCAGCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5936	$\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^* \text{C}^* \text{T}^*$ $\text{C}^* \text{A}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{A}^* \text{C}^* \text{T}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Gop}^*$ $\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^*$	CTCTACTACCTACTGGCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5937	$\text{Gop}^* \text{Gop}^* \text{Aop}^* \text{Top}^* \text{Gop}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{G}^* \text{C}^*$ $\text{C}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{Aop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Top}^*$ $\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^*$	GGATGGCGCTCTCTACTCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5938	$\text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^* \text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{G}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{G}^* \text{C}^* \text{T}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{Top}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^*$	GGCTAGGGATGGCTCTCTCTA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5939	$\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^* \text{A}^*$ $\text{A}^* \text{C}^* \text{A}^* \text{G}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{A}^* \text{C}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{Gop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{Aop}^*$	CCCCAAGCAAGCACTGGCCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-5940	$\text{Gop}^* \text{Aop}^* \text{T}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{Aop}^* \text{Gop}^* \text{C}^* \text{C}^* \text{C}^*$ $\text{C}^* \text{G}^* \text{G}^* \text{T}^* \text{T}^* \text{C}^* \text{Aop}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$ $\text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^* \text{ms}^* \text{Coo}^*$	GAGAGCTCTCTGGCTCTACCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

[illegible]

WV- 3977	Gao * mScop T * G * C * G * A * G * Tso * Gao * Gao	GCAGGCGGGTGCGAGTG6GT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3978	Gao * mScop C * T * G * G * C * G * G * Gao * Tso * Gao	GTGGATTC TGCGGGTG6G	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3979	Gao * mScop G * C * G * G * G * T * G * Gao * mScop	GCATCTGGCGGGTG6GT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3980	Gao * mScop C * T * C * A * G * A * G * mScop * Tso	GGGCTCTCTAGAGCTCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3981	Gao * mScop T * C * G * G * C * T * T * Tso * mScop	GTGGGGTGCTGGGGTTTGCT	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3982	Gao * mScop G * C * T * T * T * C * Gao * mScop * mScop	GGGTGTHGGGGTTTGCTTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3983	Ago * Tso * Tso * Gao * mScop * C * T * G * C * A * T * C * G * G * Gao * mScop	ATTGCTGGCATCCGGGCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3984	Tso * Tso * mScop T * C * G * G * C * G * C * mScop * mScop	TGCTGGCATCTGGGGCTGG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3985	Gao * mScop G * C * C * C * G * G * Gao * mScop * Tso * Tso * mScop	GCATCTGGGGCCCCGGGGTTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3986	mScop * Tso * mScop * mScop * T * G * C * T * T * C * C * C * Gao * mScop	CTTCTGGTTCTGGGGCTTC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3987	Tso * mScop T * T * C * C * G * C * mScop * mScop	TCTTGGTTTCTGGGGCTCA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV- 3988	Gao * mScop G * C * G * C * T * C * A * Gao * Tso * Tso	GGTTTCTGGGGCTTCAGTACC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

[illegible]

WV-6838	mG wA * mC * mG * mC * mA * C * C * T * C * T * C * T * T * C * mC * mU * mA * mG * mC	ACGCACCTCTCTTTCUAGC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6839	mG mG * mC * mU * mC * mU * mU * T * T * G * A * C * G * A * C * C * mU * mC * mU * mC	GCUGUTTGACGACUCCU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6840	mG mG * mC * mU * mC * mU * mC * T * G * T * T * G * A * C * G * mA * mC * mC * mU * mC	GUCCGTGTTGACGACUCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6941	mG mG * mC * mA * mU * mG * mG * G * A * C * G * C * T * U * A * C * mU * mC * mA * mC	GCAGGGACGGCTGACACC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6942	mG mG * mG * mC * mU * mC * C * A * G * G * G * G * A * C * G * C * mU * mG * mU * mC	GGCAGCAGGGACGGUACA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6943	mG mC * mG * mU * mG * mC * mC * A * G * C * mC * G * G * A * C * G * mG * mC * mC * mU * mC	CGGGGACGACGGGUGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6944	mG mC * mU * mG * mU * mG * mG * C * A * C * G * C * A * G * G * A * C * mG * mG * mC * mU * mC	CGGGGACGACGGGUGG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6945	mG wA * mC * mG * mU * mG * mG * G * C * A * G * C * A * G * G * G * A * mC * mC * mG * mU * mC	ACCTGGGACGACGGGACU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6946	mG wA * mU * mG * mU * mG * mG * G * G * C * A * C * A * G * C * A * G * G * G * mC * mC * mG * mU * mC	AMCGGGCAGCAGGGACGGC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6947	mG mG * mU * mG * mU * mG * mG * C * G * G * G * G * C * A * G * C * A * G * mG * mU * mC	GCACCTGGGACGAGGGACG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6948	mG wA * mG * mC * mU * mU * mC * C * C * G * G * C * A * G * C * A * G * mG * mG * mU * mC	AGCAACUGGGACAGCGGGAC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6949	mG mG * mC * mU * mU * mC * mC * mC * A * C * C * C * G * C * G * C * G * C * mC * mC * mU * mC	GCUAGACCCGCCCCAAAA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

WV-6850	$m\bar{u} + m\bar{d} + m\bar{c} + m\bar{u} + A^+ G^+ A^+ C^+$ $C^+ C^+ G^+ C^+ C^+ m\bar{c}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+$	UUUGUAGACCCGCTCCAA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6851	$m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{d}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ A^+ C^+$ $C^+ C^+ G^+ C^+ m\bar{c}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+$	CUUGCTAGACCCGCTCCGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6852	$m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ G^+ C^+ T^+ A^+ G^+$ $A^+ C^+ C^+ C^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+$	CUUGGCTAGACCCGCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6853	$m\bar{u}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ T^+ T^+ G^+ C^+ T^+$ $A^+ G^+ A^+ C^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+$	UGUGCTUGCTAGACCCGCTCC	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6854	$m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ T^+ C^+ T^+ T^+ G^+$ $C^+ T^+ A^+ G^+ A^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+$	CGUGCTCTTGCTAGACCTCG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6855	$m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ C^+ C^+ T^+ G^+ C^+$ $T^+ C^+ T^+ T^+ G^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{A}^+ m\bar{d}^+$	CGACACCTGCTCTTGCTAGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6856	$m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ m\bar{C}^+ A^+ C^+ C^+ T^+ G^+$ $C^+ T^+ C^+ T^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{A}^+$	CGACACCTGCTCTTGCTAG	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6857	$m\bar{A}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ C^+ A^+ C^+ C^+ T^+$ $G^+ C^+ T^+ C^+ T^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+$	ACCGACACCTGCTCTTGCTGA	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6858	$m\bar{A}^+ m\bar{A}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ A^+ C^+ A^+ C^+ C^+$ $T^+ G^+ C^+ T^+ T^+ m\bar{u}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+$	AMCCACACCTGCTCTTGCTAU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6859	$m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ T^+ C^+ A^+ G^+$ $C^+ G^+ A^+ G^+ T^+ m\bar{A}^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{d}^+$	UGACCTCTAGCGAGTATUGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6860	$m\bar{d}^+ m\bar{u}^+ m\bar{u}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ C^+ C^+ C^+ T^+ C^+$ $A^+ G^+ C^+ G^+ A^+ m\bar{d}^+ m\bar{u}^+ m\bar{A}^+ m\bar{C}^+$	GUUCACCTCTAGCGAGUACU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
WV-6861	$m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{u}^+ m\bar{d}^+ m\bar{C}^+ T^+ C^+ A^+ C^+ C^+$ $C^+ T^+ C^+ A^+ G^+ m\bar{C}^+ m\bar{C}^+ m\bar{A}^+ m\bar{d}^+$	CUUGCTTACCTCTAGCGAGU	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

10

20

30

40

WV-7060	Gco * AcoGcomScomTco * T * G * mSc * T * A * mSc * A * G * G * mSc	GAGCTTGGCTACAGGCTTGGG	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7061	TcoGcomScomTco * Gco	CAGAGCTTGGCTACAGGCTGC	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7062	GcomScomTco * mSc	TCCAGAGCTTGGCTACAGGCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7063	Tco * mSc comScomTco * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	TTCAGAGCTTGGCTACAGGCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7064	Tco * mSc comScomTco * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CTTGAGTTCCAGAGCTTGGCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7065	Tco * mSc comScomTco * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	TTCAGAGTTCCAGAGCTTGGC	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7066	Aco * mSc comScomTco * T * G * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	ACTCTTGAGTTCCAGAGCTT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7067	Gco * mSc comScomTco * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	GGCGGACTCTTGAGTTCCAG	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7068	Tco * mSc comScomTco * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CTTGAGCTCTTGAGTTCCA	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7069	Gco * mSc comScomTco * mSc * G * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	GGCGGCTCTTGAGTTCC	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7070	Aco * mSc comScomTco * mSc * G * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	AGCGGCTCTTGAGTTCC	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7071	Aco * mSc comScomTco * mSc * G * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	AGGATGCTCTTGCTCTCTC	X000XXXXXXXXXXXX000X

WV-7072	mSc * AcoGcomScomTco * T * G * mSc * mSc * G * mSc * A * G * mSc	CACGATGCTGCTCTCTCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7073	TcoGcomScomTco * Gco	CCAGGATGCTGCTCTCTCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7074	GcomScomTco * mSc	CGCCAGGATGCTGCTCTCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7075	Tco * mSc comScomTco * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CCCTAGGATGCTGCTCTCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7076	Tco * mSc comScomTco * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CCGCTAGGATGCTGCTCTCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7077	Aco * mSc comScomTco * mSc * mSc * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	ACCCGCTAGGATGCTGCTCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7078	mSc * AcoGcomScomTco * T * G * mSc * mSc * G * mSc * A * G * mSc	CACCTGCTAGGATGCTGCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7079	Gco * mSc comScomTco * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CCACTGCTAGGATGCTGCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7080	Tco * mSc comScomTco * A * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	GGCTCTGCTAGGATGCTGCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7081	Aco * mSc comScomTco * mSc * mSc * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	AACAGCTAGGATGCTGCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7082	Gco * mSc comScomTco * mSc * mSc * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CCAAAGCTAGGATGCTGCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X
WV-7083	Aco * mSc comScomTco * mSc * mSc * A * G * mSc * T * T * G * mSc * T * A * mSc	CCCAAGCTAGGATGCTGCTCT	X000XXXXXXXXXXXX000X

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]

[illegible]

WV-13708	WV-13709	WV-13710	WV-13711	WV-13712	WV-13713	WV-13714	WV-13715	WV-13716	WV-13717	WV-13718	WV-13719	WV-13720	WV-13721	WV-13722	WV-13723	WV-13724	WV-13725	WV-13726	WV-13727	WV-13728	WV-13729	WV-13730	WV-13731	WV-13732	WV-13733	WV-13734	WV-13735	WV-13736	WV-13737	WV-13738	WV-13739	WV-13740	WV-13741	WV-13742	WV-13743	WV-13744	WV-13745	WV-13746	WV-13747	WV-13748	WV-13749	WV-13750	WV-13751	WV-13752	WV-13753	WV-13754	WV-13755	WV-13756	WV-13757	WV-13758	WV-13759	WV-13760	WV-13761	WV-13762	WV-13763	WV-13764	WV-13765	WV-13766	WV-13767	WV-13768	WV-13769	WV-13770	WV-13771	WV-13772	WV-13773	WV-13774	WV-13775	WV-13776	WV-13777	WV-13778	WV-13779	WV-13780	WV-13781	WV-13782	WV-13783	WV-13784	WV-13785	WV-13786	WV-13787	WV-13788	WV-13789	WV-13790	WV-13791	WV-13792	WV-13793	WV-13794	WV-13795	WV-13796	WV-13797	WV-13798	WV-13799	WV-13800	WV-13801	WV-13802	WV-13803	WV-13804	WV-13805	WV-13806	WV-13807	WV-13808	WV-13809	WV-13810	WV-13811	WV-13812	WV-13813	WV-13814	WV-13815	WV-13816	WV-13817	WV-13818	WV-13819	WV-13820	WV-13821	WV-13822	WV-13823	WV-13824	WV-13825	WV-13826	WV-13827	WV-13828	WV-13829	WV-13830	WV-13831	WV-13832	WV-13833	WV-13834	WV-13835	WV-13836	WV-13837	WV-13838	WV-13839	WV-13840	WV-13841	WV-13842	WV-13843	WV-13844	WV-13845	WV-13846	WV-13847	WV-13848	WV-13849	WV-13850	WV-13851	WV-13852	WV-13853	WV-13854	WV-13855	WV-13856	WV-13857	WV-13858	WV-13859	WV-13860	WV-13861	WV-13862	WV-13863	WV-13864	WV-13865	WV-13866	WV-13867	WV-13868	WV-13869	WV-13870	WV-13871	WV-13872	WV-13873	WV-13874	WV-13875	WV-13876	WV-13877	WV-13878	WV-13879	WV-13880	WV-13881	WV-13882	WV-13883	WV-13884	WV-13885	WV-13886	WV-13887	WV-13888	WV-13889	WV-13890	WV-13891	WV-13892	WV-13893	WV-13894	WV-13895	WV-13896	WV-13897	WV-13898	WV-13899	WV-13900	WV-13901	WV-13902	WV-13903	WV-13904	WV-13905	WV-13906	WV-13907	WV-13908	WV-13909	WV-13910	WV-13911	WV-13912	WV-13913	WV-13914	WV-13915	WV-13916	WV-13917	WV-13918	WV-13919	WV-13920	WV-13921	WV-13922	WV-13923	WV-13924	WV-13925	WV-13926	WV-13927	WV-13928	WV-13929	WV-13930	WV-13931	WV-13932	WV-13933	WV-13934	WV-13935	WV-13936	WV-13937	WV-13938	WV-13939	WV-13940	WV-13941	WV-13942	WV-13943	WV-13944	WV-13945	WV-13946	WV-13947	WV-13948	WV-13949	WV-13950	WV-13951	WV-13952	WV-13953	WV-13954	WV-13955	WV-13956	WV-13957	WV-13958	WV-13959	WV-13960	WV-13961	WV-13962	WV-13963	WV-13964	WV-13965	WV-13966	WV-13967	WV-13968	WV-13969	WV-13970	WV-13971	WV-13972	WV-13973	WV-13974	WV-13975	WV-13976	WV-13977	WV-13978	WV-13979	WV-13980	WV-13981	WV-13982	WV-13983	WV-13984	WV-13985	WV-13986	WV-13987	WV-13988	WV-13989	WV-13990	WV-13991	WV-13992	WV-13993	WV-13994	WV-13995	WV-13996	WV-13997	WV-13998	WV-13999	WV-14000	WV-14001	WV-14002	WV-14003	WV-14004	WV-14005	WV-14006	WV-14007	WV-14008	WV-14009	WV-14010	WV-14011	WV-14012	WV-14013	WV-14014	WV-14015	WV-14016	WV-14017	WV-14018	WV-14019	WV-14020	WV-14021	WV-14022	WV-14023	WV-14024	WV-14025	WV-14026	WV-14027	WV-14028	WV-14029	WV-14030	WV-14031	WV-14032	WV-14033	WV-14034	WV-14035	WV-14036	WV-14037	WV-14038	WV-14039	WV-14040	WV-14041	WV-14042	WV-14043	WV-14044	WV-14045	WV-14046	WV-14047	WV-14048	WV-14049	WV-14050	WV-14051	WV-14052	WV-14053	WV-14054	WV-14055	WV-14056	WV-14057	WV-14058	WV-14059	WV-14060	WV-14061	WV-14062	WV-14063	WV-14064	WV-14065	WV-14066	WV-14067	WV-14068	WV-14069	WV-14070	WV-14071	WV-14072	WV-14073	WV-14074	WV-14075	WV-14076	WV-14077	WV-14078	WV-14079	WV-14080	WV-14081	WV-14082	WV-14083	WV-14084	WV-14085	WV-14086	WV-14087	WV-14088	WV-14089	WV-14090	WV-14091	WV-14092	WV-14093	WV-14094	WV-14095	WV-14096	WV-14097	WV-14098	WV-14099	WV-14100	WV-14101	WV-14102	WV-14103	WV-14104	WV-14105	WV-14106	WV-14107	WV-14108	WV-14109	WV-14110	WV-14111	WV-14112	WV-14113	WV-14114	WV-14115	WV-14116	WV-14117	WV-14118	WV-14119	WV-14120	WV-14121	WV-14122	WV-14123	WV-14124	WV-14125	WV-14126	WV-14127	WV-14128	WV-14129	WV-14130	WV-14131	WV-14132	WV-14133	WV-14134	WV-14135	WV-14136	WV-14137	WV-14138	WV-14139	WV-14140	WV-14141	WV-14142	WV-14143	WV-14144	WV-14145	WV-14146	WV-14147	WV-14148	WV-14149	WV-14150	WV-14151	WV-14152	WV-14153	WV-14154	WV-14155	WV-14156	WV-14157	WV-14158	WV-14159	WV-14160	WV-14161	WV-14162	WV-14163	WV-14164	WV-14165	WV-14166	WV-14167	WV-14168	WV-14169	WV-14170	WV-14171	WV-14172	WV-14173	WV-14174	WV-14175	WV-14176	WV-14177	WV-14178	WV-14179	WV-14180	WV-14181	WV-14182	WV-14183	WV-14184	WV-14185	WV-14186	WV-14187	WV-14188	WV-14189	WV-14190	WV-14191	WV-14192	WV-14193	WV-14194	WV-14195	WV-14196	WV-14197	WV-14198	WV-14199	WV-14200	WV-14201	WV-14202	WV-14203	WV-14204	WV-14205	WV-14206	WV-14207	WV-14208	WV-14209	WV-14210	WV-14211	WV-14212	WV-14213	WV-14214	WV-14215	WV-14216	WV-14217	WV-14218	WV-14219	WV-14220	WV-14221	WV-14222	WV-14223	WV-14224	WV-14225	WV-14226	WV-14227	WV-14228	WV-14229	WV-14230	WV-14231	WV-14232	WV-14233	WV-14234	WV-14235	WV-14236	WV-14237	WV-14238	WV-14239	WV-14240	WV-14241	WV-14242	WV-14243	WV-14244	WV-14245	WV-14246	WV-14247	WV-14248	WV-14249	WV-14250	WV-14251	WV-14252	WV-14253	WV-14254	WV-14255	WV-14256	WV-14257	WV-14258	WV-14259	WV-14260	WV-14261	WV-14262	WV-14263	WV-14264	WV-14265	WV-14266	WV-14267	WV-14268	WV-14269	WV-14270	WV-14271	WV-14272	WV-14273	WV-14274	WV-14275	WV-14276	WV-14277	WV-14278	WV-14279	WV-14280	WV-14281	WV-14282	WV-14283	WV-14284	WV-14285	WV-14286	WV-14287	WV-14288	WV-14289	WV-14290	WV-14291	WV-14292	WV-14293	WV-14294	WV-14295	WV-14296	WV-14297	WV-14298	WV-14299	WV-14300	WV-14301	WV-14302	WV-14303	WV-14304	WV-14305	WV-14306	WV-14307	WV-14308	WV-14309	WV-14310	WV-14311	WV-14312	WV-14313	WV-14314	WV-14315	WV-14316	WV-14317	WV-14318	WV-14319	WV-14320	WV-14321	WV-14322	WV-14323	WV-14324	WV-14325	WV-14326	WV-14327	WV-14328	WV-14329	WV-14330	WV-14331	WV-14332	WV-14333	WV-14334	WV-14335	WV-14336	WV-14337	WV-14338	WV-14339	WV-14340	WV-14341	WV-14342	WV-14343	WV-14344	WV-14345	WV-14346	WV-14347	WV-14348	WV-14349	WV-14350	WV-14351	WV-14352	WV-14353	WV-14354	WV-14355	WV-14356	WV-14357	WV-14358	WV-14359	WV-14360	WV-14361	WV-14362	WV-14363	WV-14364	WV-14365	WV-14366	WV-14367	WV-14368	WV-14369	WV-14370	WV-14371	WV-14372	WV-14373	WV-14374	WV-14375	WV-14376	WV-14377	WV-14378	WV-14379	WV-14380	WV-14381	WV-14382	WV-14383	WV-14384	WV-14385	WV-14386	WV-14387	WV-14388	WV-14389	WV-14390	WV-14391	WV-14392	WV-14393	WV-14394	WV-14395	WV-14396	WV-14397	WV-14398	WV-14399	WV-14400	WV-14401	WV-14402	WV-14403	WV-14404	WV-14405	WV-14406	WV-14407	WV-14408	WV-14409	WV-14410	WV-14411	WV-14412	WV-14413	WV-14414	WV-14415	WV-14416	WV-14417	WV-14418	WV-14419	WV-14420	WV-14421	WV-14422	WV-14423	WV-14424	WV-14425	WV-14426	WV-14427	WV-14428	WV-14429	WV-14430	WV-14431	WV-14432	WV-14433	WV-14434	WV-14435	WV-14436	WV-14437	WV-14438	WV-14439	WV-14440	WV-14441	WV-14442	WV-14443	WV-14444	WV-14445	WV-14446	WV-14447	WV-14448	WV-14449	WV-14450	WV-14451	WV-14452	WV-14453	WV-14454	WV-14455	WV-14456	WV-14457	WV-14458	WV-14459	WV-14460	WV-14461	WV-14462	WV-14463	WV-14464	WV-14465	WV-14466	WV-14467	WV-14468	WV-14469	WV-14470	WV-14471	WV-14472	WV-14473	WV-14474	WV-14475	WV-14476	WV-14477	WV-14478	WV-14479	WV-14480	WV-14481	WV-14482	WV-14483	WV-14484	WV-14485	WV-14486	WV-14487	WV-14488	WV-14489	WV-14490	WV-14491	WV-14492	WV-14493	WV-14494	WV-14495	WV-14496	WV-14497	WV-14498	WV-14499	WV-14500	WV-14501	WV-14502	WV-14503	WV-14504	WV-14505	WV-14506	WV-14507	WV-14508	WV-14509	WV-14510	WV-14511	WV-14512	WV-14513	WV-14514	WV-14515	WV-14516	WV-14517	WV-14518	WV-14519	WV-14520	WV-14521	WV-14522	WV-14523	WV-14524	WV-14525	WV-14526	WV-14527	WV-14528	WV-14529	WV-14530	WV-14531	WV-14532	WV-14533	WV-14534	WV-14535	WV-14536	WV-14537	WV-14538	WV-14539	WV-14540	WV-14541	WV-14542	WV-14543	WV-14544	WV-14545	WV-14546	WV-14547	WV-14548	WV-14549	WV-14550	WV-14551	WV-14552	WV-14553	WV-14554	WV-14555	WV-14556	WV-14557	WV-14558	WV-14559	WV-14560	WV-14561	WV-14562	WV-14563	WV-14564	WV-14565	WV-14566	WV-14567	WV-14568	WV-14569	WV-14570	WV-14571	WV-14572	WV-14573	WV-14574	WV-14575	WV-14576	WV-14577	WV-14578	WV-14579	WV-14580	WV-14581	WV-14582	WV-14583	WV-14584	WV-14585	WV-14586	WV-14587	WV-14588	WV-14589	WV-14590	WV-14591	WV-14592	WV-14593	WV-14594	WV-14595	WV-14596	WV-14597	WV-14598	WV-14599	WV-14600	WV-14601	WV-14602	WV-14603	WV-14604	WV-14605	WV-14606	WV-14607	WV-14608	WV-14609	WV-14610	WV-14611	WV-14612	WV-14613	WV-14614	WV-14615	WV-14616	WV-14617	WV-14618	WV-14619	WV-14620	WV-14621	WV-14622	WV-14623	WV-14624	WV-14625	WV-14626	WV-14627	WV-14628	WV-14629	WV-14630	WV-14631	WV-14632	WV-14633	WV-14634	WV-14635	WV-14636	WV-14637	WV-14638	WV-14639	WV-14640	WV-14641	WV-14642	WV-14643	WV-14644	WV-14645	WV-14646	WV-14647	WV-14648	WV-14649	WV-14650	WV-14651	WV-14652	WV-14653	WV-14654	WV-14655	WV-14656	WV-14657	WV-14658	WV-14659	WV

[illegible][illegible]

【 0 7 5 9 】

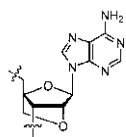
表 1 A の解説

本開示は、いくつかの配列が、その長さのために、表 1 A の複数の行に分割される（例えば、WV-9 4 2 1、WV-9 3 9 9、WV-9 3 9 8、WV-9 3 9 7、WV-9 3 9 6 など）ことを示す；しかし、これらの配列は、表 1 A に示す全てのオリゴヌクレオチドと同様に、一本鎖である（別に注記のない限り）。

【0760】

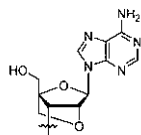
表に列記した部分若しくは修飾（又はこれらの部分若しくは修飾を含むオリゴヌクレオチドを構築するために用いられる化合物）：

1：LNA糖部分（2'-O-CH²-4'）、例えば1A〔5'-末端基とヌクレオチド間結合の間又はヌクレオチド間結合の間であれば、

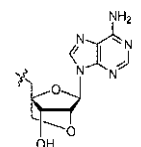


；5'-末端で、且つ5'-末端基がない場合、

10

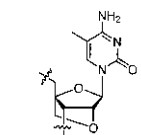


；又は3'-末端の場合（例えば、WV-12575において）、



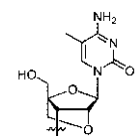
〕；並びにm5lC〔5'-末端基とヌクレオチド間結合の間又はヌクレオチド間結合の間であれば、

20



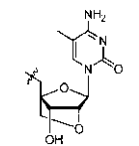
；5'-末端で、且つ5'-末端基がない場合（例えば、WV-12575において）は、

30



；又は3'-末端の場合、

40



〕

m：2'-OMe

m5：Cの5位のメチル（核酸塩基は、5-メチルシトシン）

m5Ceo：5-メチル2'-O-メトキシエチルC

40

5MRd：5'-Cが、Rp配座である5'-メチル基、2'-デオキシ

5MSd：5'-Cが、Sp配座である5'-メチル基、2'-デオキシ

OMe：2'-OMe

eo：2'-MOE（2'-OCH₂CH₂OCH₃）；

F、f：2'-F；

r：2'-OH；

O、PO：ホスホジエステル（リン酸）；末端基又は結合、例えばリンカーとオリゴヌクレオチド鎖との結合、ヌクレオチド間結合などであり得る。立体化学／ヌクレオチド間結合の列に表示するホスホジエステルは、修飾配列の列には繰り返さない；

修飾配列の列にヌクレオチド間結合が表示されていない場合、それは、ホスホジエステル

50

である。

*、P S：ホスホロチオエート；これは、末端基又は結合、例えばリンカーとオリゴヌクレオチド鎖との結合、ヌクレオチド間結合などであり得る。

R、R p：R p配座のホスホロチオエート；* Rは、R p配座の単一ホスホロチオエートを示すことに留意されたい

S、S p：S p配座のホスホロチオエート；* Sは、S p配座の単一ホスホロチオエートを示すことに留意されたい

n 0 0 1：



10

n X：ステレオランダム n 0 0 1

X：ステレオランダムホスホロチオエート

L 0 0 1：-NH- (CH₂)₆-リンカー (C 6 リンカー、C 6 アミンリンカー又はC 6 アミノリンカーとしても知られる)、これは、図示されるように、存在する場合、M o d に-NH-を介して、また、リン酸結合 (O若しくはP O) 又はホスホロチオエート結合 (ホスホロチオエートがキラル制御されていない場合、*；キラル制御されており、S p配座を有すれば、S p、また、キラル制御されており、R p配座を有すれば、R p) の何れかを介してオリゴヌクレオチド鎖の5'-末端に連結される。M o dが存在しない場合、L 0 0 1は、例えば、W V-9 3 8 0又はW V-9 2 8 5において、-Hに連結される。例えば、W V-9 3 8 1では、L 0 0 1は、-NH-を介してM o d 0 0 7に連結され (アミド基-C (O)-NH-を形成する)、リン酸結合 (

20

OSOOSSSRSSSSSSSSSS

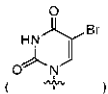
に下線付きの太字で示す) を介してオリゴヌクレオチド鎖に連結され；W V-9 0 6 2では、L 0 0 1は、どのM o dにも連結されないが、-Hに-NH-を介して連結され、また、ホスリン酸結合 (

OSOOSSSRSSSSSSSSSS

に下線付きの太字で示す) を介してオリゴヌクレオチド鎖に連結される。

M o d 0 0 7：

B r d U：核酸塩基が、B r U



30

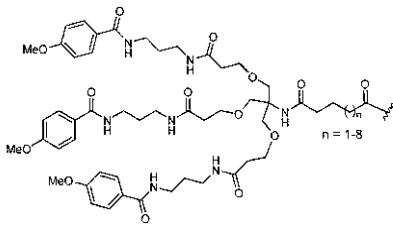
であり、且つ糖が、2-デオキシリボース (天然DNAに広く存在するものなど；2'-デオキシ (d)) である、ヌクレオシド単位；

L 0 0 4：-NH (CH₂)₄ CH (CH₂ OH) CH₂-の構造を有するリンカー、式中、-NH-はM o d (-C (O)-を介して) 又は-Hに連結し、及び-CH₂-連結部位はオリゴヌクレオチド鎖の3'-末端で結合、例えばホスホジエステル結合 (-O-P (O) (OH)-O-)。塩形態として存在し得る。表中ではO又はP Oとして示され得る) 、ホスホロチオエート結合 (-O-P (O) (SH)-O-)。塩形態として存在し得る。表中では、ホスホロチオエートがキラル制御されていない場合、*として示され；キラル制御されていて、且つS p配置を有する場合、* S、S又はS pとして示され、及びキラル制御されていて、且つR p配置を有する場合、* R、R又はR pとして示され得る) 又はホスホロチオエート結合 (-O-P (S) (SH)-O-)。塩形態として存在し得る。表中では、P S 2又は：又はDとして示され得る) に連結している。例えば、L 0 0 4の直前に付されたアスタリスク (例えば、* L 0 0 4) は、その結合がホスホロチオエート結合であることを示し、L 0 0 4の直前にアスタリスクがなければ、その結合がホスホジエステル結合であることを示す。例えば、末端がm A L 0 0 4であるW V-1 2 5 4 9では、リンカーL 0 0 4は3'-末端糖 (これは2'-OMeであり、核酸塩基Aに連結している) の3'位でホスホジエステル結合に (-CH₂-部位を介して) 連結し、及

40

50

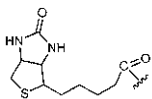
び L 0 0 4 リンカーは $-NH-$ を介して $-H$ に連結している；同様に、WV-12552、WV-12550 及び WV-12551 では、L 0 0 4 リンカーは 3'-末端糖の 3' 位で ($-CH_2-$ 部位を介して) ホスホジエステル結合に連結し、及び L 0 0 4 は $-NH-$ を介して Mod 0 1 2 (WV-12552)、Mod 0 8 5 (WV-12550) 又は Mod 0 8 6 (WV-12551) に連結している；



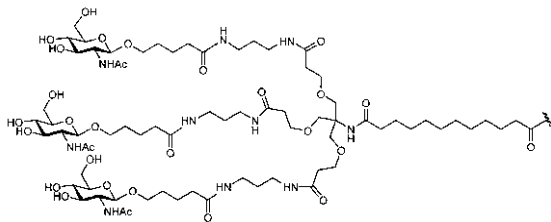
10

Mod 0 0 7 では、 $n = 8$ である。

Mod 0 1 2 (L 0 0 1 などのリンカーの $-NH-$ に連結する $-C(O)-$ を含む)：

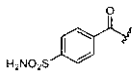


Mod 0 2 4：

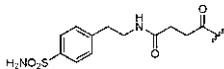


20

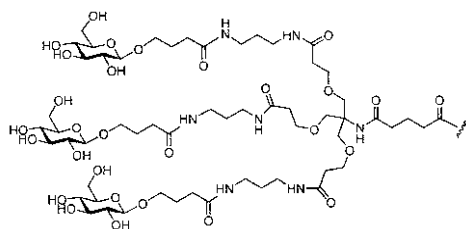
Mod 0 2 7：



Mod 0 2 8：

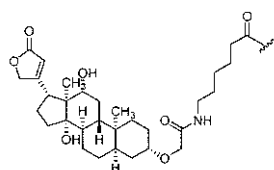


Mod 0 5 9：

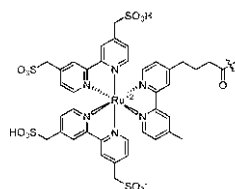


Mod 0 8 5 (L 0 0 1 又は L 0 0 4 などのリンカーの $-NH-$ に連結する $-C(O)-$ を含む)：

40



Mod 0 8 6 (L 0 0 1 又は L 0 0 4 の $-NH-$ に連結する $-C(O)-$ を含む)：



【0761】

オリゴヌクレオチド

一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる。一部の実施形態では、C9orf72標的遺伝子は、ヘキサヌクレオチドリピート伸長を含む。

10

【0762】

一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される構造要素若しくはフォーマット又はその部分を有する。

【0763】

一部の実施形態では、C9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載の構造要素若しくはフォーマット又はその部分を有する。

【0764】

20

一部の実施形態では、C9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低減を指令することができる、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書において、例えば表1A若しくは図に或いはそうでなければ本明細書の他所に開示される何れかのオリゴヌクレオチドのフォーマット又はそれらの構造要素若しくはその部分を有する。

【0765】

一部の実施形態において、共通の骨格キラル中心のパターン（例えば、C9orf72オリゴヌクレオチドにおける骨格キラル中心のパターン）は、OSOSO、OSSSO、OSSSOS、SOSO、SOSO、SOSOS、SOSOSO、SOSOSOSO、SOSSSO、SSOSSSSOSS、SSSOSOSSSS、SSSSOSOSSSSS、SSSSSSS、SSSSSSS、SSSSSSSS、SSSSSSSSSS又はRRRのパターンを含み、式中、SはSp配置のホスホロチオエートを表し、及びOはホスホジエステルを表す。式中、RはRp配置のホスホロチオエートを表す。

30

【0766】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも2対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも3対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも4対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも5対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも6対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも7対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも8対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも9対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。

40

50

。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも10対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも2対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも3対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の
10 実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも4対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の
20 実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも5対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも6対の交互に並んだ
30 実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも7対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも8対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の
40 実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも9対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも10対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び5つ以上の連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の
50 実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは少なくとも2対の交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み；及び3、4、5、6、7つ又はそれを超える連続するホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含むブロックを更に含み、ここで、少なくとも1つのホスホロチオエート結合は、キラル制御されている。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは1つ以上の天然リン酸結合と1つ以上の修飾ヌクレオチド間結合とを含む。提供されるオリゴヌクレオチドは様々な数の天然リン酸結合を含むことができる。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベ

10

20

30

40

50

ル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72 標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の5%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の10%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の15%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の20%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の25%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の30%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の35%以上が天然リン酸結合である。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の40%以上が天然リン酸結合である。

10

【0767】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドは転写物に結合し、転写物のC9orf72 ノックダウンを改善することができる。一部の実施形態において、提供されるC9orf72 オリゴヌクレオチドはC9orf72 ノックダウンを改善し、1つ以上の好適な条件下で比較可能なオリゴヌクレオチドと比べて効率が高い。

【0768】

一部の実施形態において、提供される改善されたC9orf72 ノックダウンは、1つ以上の好適な条件下で比較可能なオリゴヌクレオチドと比べて少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190% 高いか又はその2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50倍以上である。

20

【0769】

一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドの投与により、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80% 低下する。一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドによって導かれるノックダウンにより、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80% 低下する。一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドによって導かれるRNアーゼH媒介性C9orf72 ノックダウンにより、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80% 低下する。一部の実施形態において、インビトロでのC9orf72 オリゴヌクレオチドの投与により、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80% 低下する。一部の実施形態において、インビトロでC9orf72 オリゴヌクレオチドによって導かれるノックダウンにより、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80% 低下する。一部の実施形態において、インビトロでC9orf72 オリゴヌクレオチドによって導かれるRNアーゼH媒介性C9orf72 ノックダウンにより、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80% 低下する。一部の実施形態において、インビトロでの細胞におけるC9orf72 オリゴヌクレオチドの投与により、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少な

30

40

50

くとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロで細胞においてC9orf72オリゴヌクレオチドによって導かれるノックダウンにより、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロで細胞においてC9orf72オリゴヌクレオチドによって導かれるRNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンにより、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロでの細胞における1uM以下の濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドの投与により、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロで細胞において1uM以下の濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドによって導かれるノックダウンにより、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロで細胞において1uM以下の濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドによって導かれるRNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンにより、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロでの細胞における10uM以下の濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドの投与により、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロで細胞において10uM以下の濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドによって導かれるRNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンにより、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、インビトロで細胞において10uM以下の濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドによって導かれるRNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンにより、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現又はレベルは少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%又は80%低下する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは1nm以下の濃度でインビトロで細胞において非リピート伸長含有C9orf72転写物と比べたリピート伸長含有C9orf72転写物の発現、レベル及び／又は活性の少なくとも10%の低下を媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは5nm以下の濃度でインビトロで細胞において非リピート伸長含有C9orf72転写物と比べたリピート伸長含有C9orf72転写物の発現、レベル及び／又は活性の少なくとも10%の低下を媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは10nm以下の濃度でインビトロで細胞において非リピート伸長含有C9orf72転写物と比べたリピート伸長含有C9orf72転写物の発現、レベル及び／又は活性の少なくとも10%の低下を媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは1nm以下の濃度でインビトロで細胞において非リピート伸長含有C9orf72転写物と比べたリピート伸長含有C9orf72転写物の発現、レベル及び／又は活性の少なくとも20%の低下を媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは5nm以下の濃度でインビトロで細胞において非リピート伸長含有C9orf72転写物と比べたリピート伸長含有C9orf72転写物の発現、レベル及び／又は活性の少なくとも20%の低下を媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは10nm以下の

10

20

30

40

50

50

レベル及び／又は活性の少なくとも90%の低下を媒介する能力を有する。

【0770】

一部の実施形態において、IC50は、インビトロで細胞において発現若しくはレベル又はC9orf72標的遺伝子若しくはその遺伝子産物を50%低下させるための阻害濃度である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約10nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約5nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約2nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約1nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約0.5nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約0.1nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約0.01nM以下のIC50を有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドはインビトロで細胞において約0.001nM以下のIC50を有する。

10

【0771】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の立体化学のパターンを含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の立体化学のパターンを含み、RNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンを導く能力を有する。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の立体化学のパターンを含み、RNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンを導く能力を有する。

20

【0772】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の修飾又は修飾のパターンを含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の修飾のパターンを含み、RNアーゼH媒介性C9orf72ノックダウンを導く能力を有する。一部の実施形態において、修飾又は修飾のパターンは糖の2'位における修飾又は修飾のパターンである。一部の実施形態において、修飾又は修飾のパターンは糖の2'位における修飾又は修飾のパターンであり、これには限定はされないが、2'-デオキシ、2'-F、2'-OMe、2'-MOE及び2'-OR1が含まれ、式中、R1は、任意選択で置換されているC1~6アルキルである。

30

【0773】

一部の実施形態において、本開示は、とりわけ、5'末端及び3'末端におけるSpヌクレオチド間結合がオリゴヌクレオチド安定性を改善し得ることを実証する。一部の実施形態において、本開示は、とりわけ、天然リン酸結合及び／又はRpヌクレオチド間結合が系からのオリゴヌクレオチドの除去を改善し得ることを実証する。当業者が理解する通り、本開示に係るかかる特性の評価には、当技術分野において公知の様々なアッセイを利用することができる。

40

【0774】

一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、修飾糖部分は2'-修飾を含む。一部の実施形態において、修飾糖部分は2'-修飾を含む。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OR¹である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-OMeである。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-MOEである。一部の実施形態において、2'-修飾はLNA糖修飾である。一部の実施形態において、2'-修飾は2'-Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-修飾である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-

50

OR¹又は2'-Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁～₆アルキルである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、ここで、少なくとも1つは、2'-Fである。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁～₆アルキルであり、及び少なくとも1つは2'-OR¹である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、ここで、少なくとも1つは、2'-Fであり、少なくとも1つは2'-OR¹である。一部の実施形態において、各糖修飾は、独立に、2'-OR¹又は2'-Fであり、式中、R¹は、任意選択で置換されているC₁～₆アルキルであり、及び少なくとも1つは2'-Fであり、少なくとも1つは2'-OR¹である。

10

【0775】

一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ以上の2'-Fを含む。一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの2'-OMeを含む。一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、少なくとも2つ以上の連続2'-Fを含む。一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、少なくとも2つ以上の連続2'-OMeを含む。

20

【0776】

一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、交互に並んだ2'-F修飾糖部分及び2'-OR¹修飾糖部分を含む。一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、交互に並んだ2'-F修飾糖部分及び2'-OMe修飾糖部分、例えば[(2'-F)(2'-OMe)]_x、[(2'-OMe)(2'-F)]_x等(式中、xは1～50である)を含む。一部の実施形態において、C9orf72ノックダウンを導く能力を有する提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、少なくとも2対の交互に並んだ2'-F及び2'-OMe修飾を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、交互に並んだホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合、例えば[(PO)(PS)]_x、[(PS)(PO)]_x等(式中、xは1～50である)を含む。

30

【0777】

一部の実施形態では、本開示は、第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、

第1の複数のオリゴヌクレオチドは、同じ塩基配列を有し；

第1の複数のオリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の修飾糖部分を含むか、又は1つ若しくは複数の天然リン酸結合と、1つ若しくは複数の修飾ヌクレオチド間結合を含む。

【0778】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは1つ以上の2'-Fを含む。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-修飾を含むヌクレオシドは修飾ヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-修飾を含むヌクレオシドは修飾ヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はキラルなヌクレオチド間結合である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。一部の実施形態において、キラルなヌクレオチド間結合はS_pである。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-修飾を含むヌクレオシドはS_pのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-Fを含むヌクレオシドはS_pのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一

40

50

部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-修飾を含むヌクレオシドはSpのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-Fを含むヌクレオシドはSpのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、キラルなヌクレオチド間結合はRpである。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-修飾を含むヌクレオシドはRpのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-Fを含むヌクレオシドはRpのキラルなヌクレオチド間結合の前にある。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-修飾を含むヌクレオシドはRpのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドにおいて、2'-Fを含むヌクレオシドはRpのキラルなヌクレオチド間結合の後にある。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、第1の複数中のC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ以上の天然リン酸結合と1つ以上の修飾ヌクレオチド間結合とを含む。

【0779】

一部の実施形態では、提供される組成物は、不要な標的及び／又は生物学的機能が抑制されるように、転写物C9orf72ノックダウンを改変する。一部の実施形態では、こうした場合、提供される組成物は、ハイブリダイゼーション後の転写物の切断も誘導することができる。

【0780】

一部の実施形態では、参照条件と比較して、提供されるキラル制御C9orf72オリゴヌクレオチド組成物は、驚くほど有効である。一部の実施形態では、所望の生物学的効果（例えば、所望のmRNA、タンパク質などのレベル増大、不要なmRNA、タンパク質などのレベル低下により測定されるような）は、5、10、15、20、25、30、40、50又は100倍を超えて増強することができる。一部の実施形態では、変化は、参照条件と比較した、所望のmRNAレベルの増大により測定される。

【0781】

一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の異性体の増大したレベルを含む。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、例えば、1つ又は複数の元素、例えば水素、炭素、窒素などの1つ又は複数の異性体により標識される。一部の実施形態では、提供される組成物中の提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド、例えば第1の複数のC9orf72オリゴヌクレオチドは、塩基修飾、糖修飾及び／又はヌクレオチド間結合を含み、ここで、オリゴヌクレオチドは、濃縮レベルのデューテリウムを含有する。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の位置がデューテリウムで標識される（ $-^1\text{H}$ を $-^2\text{H}$ で置換する）。一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの1つ若しくは複数の $-^1\text{H}$ 又はオリゴヌクレオチドと共役した任意の部分（例えば、ターゲティング部分など）を $-^2\text{H}$ で置換する。こうしたオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される任意の組成物又は方法に使用することができる。

【0782】

一部の実施形態では、本開示は、以下：

- 1) 転写物中にC9orf72標的配列と相補的な共通の塩基配列を有し；且つ
- 2) 1つ又は複数の修飾糖部分と、修飾ヌクレオチド間結合を含む

第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。

【0783】

一部の実施形態では、本開示は、C9orf72ノックダウンを指令することができる

第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、C9orf72オリゴヌクレオチドタイプは、以下：

- 1) 塩基配列；
- 2) 骨格結合のパターン；
- 3) 骨格キラル中心のパターン；及び
- 4) 骨格リン修飾のパターン

により定義され、この組成物は、同じ塩基配列を有するオリゴヌクレオチドの実質的なラセミ製剤と比べて、特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されていることにおいてキラル制御されており、

オリゴヌクレオチド組成物は、C9orf72ノックダウン系中の転写物と接触させると、組成物の非存在、参照組成物の存在及びそれらの組み合わせからなる群から選択される参照条件下で観察されるものと比較して、転写物のC9orf72ノックダウン媒介性C9orf72ノックダウンが改善されることを特徴とする。

【0784】

一部の実施形態では、本開示は、第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、同じ塩基配列を有し；、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a) 2'-F、2'-OMe、2'-デオキシ及び／又は2'-MOE修飾糖部分を含む、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれを超えるヌクレオチド単位；(b) 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれを超える修飾ヌクレオチド間結合、(c) 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれを超えるキラル制御修飾ヌクレオチド間結合、並びに(d) 2、3、4、5、6、7、8、9、10又はそれを超える天然リン酸結合を含む。一部の実施形態において、第1の複数中のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a)、(b)及び(c)を含む。一部の実施形態において、第1の複数中のオリゴヌクレオチドは、構造要素(b)、(c)及び(d)を含む。一部の実施形態において、第1の複数中のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a)、(b)及び(d)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a)、(b)及び(c)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a)及び(b)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a)及び(c)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(a)及び(d)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(b)及び(c)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(b)及び(d)を含む。一部の実施形態では、第1の複数のオリゴヌクレオチドは、構造要素(c)及び(d)を含む。

【0785】

一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、式Iの構造を有する。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、式I-aの構造を有する。

【0786】

本開示で実証される通り、一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド組成物は、C9orf72ノックダウン系中の転写物と接触させると、組成物の非存在、参照組成物の存在及びそれらの組み合わせからなる群から選択される参照条件下で観察されるものと比較して、転写物のC9orf72ノックダウン媒介性C9orf72ノックダウンが改善されることを特徴とする。一部の実施形態では、C9orf72ノックダウンは、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900又は1000倍若しくはそれ以上増大する。一部の実施形態では、本開示に例示される通り、提供され

る組成物中の複数のヌクレオチド、例えば第1の複数のオリゴヌクレオチドのレベルは、予め決定される。

【0787】

一部の実施形態では、共通の塩基配列及び長さは、共通の塩基配列と呼ばれる場合もある。一部の実施形態では、共通の塩基配列を有するC9orf72オリゴヌクレオチドは、ヌクレオチド修飾、例えば糖修飾、塩基修飾などの同じパターンを有し得る。一部の実施形態では、ヌクレオチド修飾のパターンは、位置及び修飾の組み合わせによって表すことができる。一部の実施形態では、骨格結合のパターンは、各ヌクレオチド間結合の位置及び種類（例えば、リン酸、ホスホロチオエート、置換ホスホロチオエートなど）を含む。C9orf72オリゴヌクレオチドの骨格キラル中心のパターンは、5'から3'への結合リン立体化学(Rp/Sp)の組み合わせにより示すことができる。上に例示される通り、非キラル結合の位置は、例えば、骨格結合のパターンから取得することができる。

10

【0788】

一部の実施形態では、本開示は、C9orf72ノックダウンを指令することができる第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、以下：

- 1) 共通の塩基配列及び長さ；
- 2) 共通の骨格結合のパターン；及び
- 3) 共通の骨格キラル中心のパターン

を特徴とする特定のオリゴヌクレオチドタイプのものであり、

20

この組成物は、同じ塩基配列及び長さを有するオリゴヌクレオチドの実質的ラセミ製剤と比較して、上記特定のオリゴヌクレオチドタイプのオリゴヌクレオチドについて集積されていることにおいてキラル制御されている。

【0789】

当業者には理解されるように、オリゴヌクレオチドのステレオランダム又はラセミ製剤は、典型的には、不斉補助基、キラル修飾試薬及び／又はキラル触媒を一切用いずに、ヌクレオチドモノマーの非立体選択的及び／又は低立体選択的カップリングにより調製される。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの実質的なラセミ（又はキラル制御されていない）調製において、全て又は大部分のカップリングステップは、増強された立体選択性を提供するためのカップリングステップを特に実施しないことにおいてキラル制御されていない。オリゴヌクレオチドの実質的なラセミ調製の一例は、テトラエチルチウラムジスルフィド(TETD)又は3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン1, 1-ジオキシド(BDTD)の何れかをを用いて常用されるホスホロアミダイトオリゴヌクレオチド合成からの垂リン酸トリエステルを硫化することによるホスホロチオエートオリゴヌクレオチドの調製であり、当技術分野では公知の方法である。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの実質的なラセミ調製は、実質的なラセミオリゴヌクレオチド組成物（又はキラル非制御オリゴヌクレオチド組成物）を提供する。一部の実施形態では、ヌクレオチドモノマーの少なくとも1つのカップリングは、約60:40、70:30、80:20、85:15、90:10、91:9、92:8、97:3、98:2又は99:1より低いジアステレオ選択性を有する。

30

40

【0790】

当業者には理解されるように、一部の実施形態では、カップリング又は結合のジアステレオ選択性は、同じであるか若しくは同等の条件下での二量体形成のジアステレオ選択性を通して評価することができ、その場合、二量体は、同じ5'-及び3'-ヌクレオチド並びにヌクレオチド間結合を有する。

【0791】

一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有するC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通の塩基修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心の

50

パターンを有するC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通のヌクレオシド修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有するC9orf72オリゴヌクレオチドは、同一の構造を有する。

【0792】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドタイプのC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通の糖修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドタイプのC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通の塩基修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドタイプのC9orf72オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通のヌクレオシド修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドタイプのC9orf72オリゴヌクレオチドは同一である。

10

【0793】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、組成物中のそのオリゴヌクレオチドタイプでないオリゴヌクレオチドが、前記オリゴヌクレオチドタイプの調製過程からの、ある場合には特定の精製手順後の不純物であることにおいて、あるC9orf72オリゴヌクレオチドタイプの実質的に純粋な製剤である。

【0794】

一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約20%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約25%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約30%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約35%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約40%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約45%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約50%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約55%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約60%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約65%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約70%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約75%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約80%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約85%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約90%が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並び

20

30

40

50

に共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約 92 % が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約 94 % が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約 95 % が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの少なくとも約 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 % 又は 99 % が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、組成物中のオリゴヌクレオチドの約 99 % 超が共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する。一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドの C9orf72 オリゴヌクレオチドの純度は、組成物において共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有するオリゴヌクレオチドのパーセンテージとして表現することができる。

10

【0795】

一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する C9orf72 オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する C9orf72 オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通のヌクレオシド修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する C9orf72 オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通の糖修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する C9orf72 オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通の塩基修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する C9orf72 オリゴヌクレオチドは、共通の骨格リン修飾のパターン及び共通のヌクレオシド修飾のパターンを有する。一部の実施形態において、共通の塩基配列及び長さ、共通の骨格結合のパターン並びに共通の骨格キラル中心のパターンを有する C9orf72 オリゴヌクレオチドは同一である。

20

30

【0796】

上記に指摘され、且つ当技術分野において理解される通り、一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドの塩基配列は、オリゴヌクレオチド中のヌクレオシド残基（例えば、アデニン、シトシン、グアノシン、チミン及びウラシルなど、天然に存在する標準ヌクレオチドと比べた、糖及び／又は塩基成分のもの）の同一性及び／又は修飾状態及び／又はかかる残基のハイブリダイゼーション特性（即ち特定の相補的残基とハイブリダイズする能力）を指し得る。

40

【0797】

一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドの純度は、その調製過程における各カップリングステップの立体選択性により制御することができる。一部の実施形態において、カップリングステップは 60 % の立体選択性（例えば、ジアステレオ選択性）を有する（カップリングステップで形成される新規ヌクレオチド間結合の 60 % が、意図された立体化学を有する）。

【0798】

一部の実施形態において、提供される組成物は、糖部分が修飾されている 1 つ以上の残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、提供される組成物は、糖部分の 2' 位が修飾されている 1 つ以上の残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む

50

(本明細書において「2' - 修飾」と称される)。かかる修飾の例は上記及び本明細書に記載され、限定はされないが、2' - OMe、2' - MOE、2' - LNA、2' - F、FRNA、FANA、S - c E t 等が挙げられる。一部の実施形態において、提供される組成物は、2' 修飾されている1つ以上の残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む。例えば、一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、2' - O - メトキシエチル(2' - MOE)修飾残基である1つ以上の残基を含有する。一部の実施形態において、提供される組成物は、いかなる2' - 修飾も含有しないオリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、提供される組成物は、いかなる2' - MOE残基も含有しないオリゴヌクレオチドである。即ち、一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドはMOE修飾されていない。更なる例示的糖修飾については、本開示に記載される。

10

【0799】

一部の実施形態では、2' - 修飾のない糖部分は、天然のDNAヌクレオシドに見出される糖部分である。

【0800】

当業者は、提供される組成物及び方法によってC9orf72標的転写物の様々な領域をターゲティングすることができることを理解する。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列は、イントロン配列を含む。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列は、エクソン配列を含む。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドの塩基配列は、イントロン及びエクソン配列を含む。

20

【0801】

当業者には理解されるように、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド及び組成物は、中でも、多数の核酸ポリマーをターゲティングすることができる。例えば、一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド及び組成物は、核酸配列の転写物をターゲティングすることができ、ここで、オリゴヌクレオチドの共通の塩基配列(例えば、C9orf72オリゴヌクレオチドタイプの塩基配列)は、転写物の配列と相補的な配列である。

【0802】

一部の実施形態において、本開示に記載される通り、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド及び組成物は、新規切断パターン、より高い切断率、より高い切断度、より高い切断選択性等を提供し得る。一部の実施形態において、提供される組成物は、対象又は集団内に存在する1つ以上の類似配列を有するC9orf72標的核酸配列からの転写物を選択的に抑制する(例えば、切断する)ことができ、標的及びその類似配列の各々は、類似配列と比べて標的配列を定義付ける特異的ヌクレオチド特徴的配列エレメントを含有する。

30

【0803】

一部の実施形態では、類似配列は、C9orf72標的配列に対して60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%超の配列同一性を有する。一部の実施形態では、C9orf72標的配列は、1つ若しくは複数の突然変異を含む核酸配列の病原性コピーであり、類似配列は、疾患を引き起こさない(野生型)コピーである。一部の実施形態では、C9orf72標的配列は、突然変異を含み、その際、類似配列は、対応する野生型配列である。一部の実施形態では、C9orf72標的配列は、突然変異型対立遺伝子であるのに対して、類似配列は、野生型対立遺伝子である。一部の実施形態では、C9orf72標的配列は、ヘキサヌクレオチドリピート伸長を含むイントロンである。一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド組成物の共通の塩基配列と相補的なC9orf72標的配列の領域は、類似配列の対応する領域と、5塩基対未満、4塩基対未満、3塩基対未満、2塩基対未満又はただ1塩基対だけ異なる。

40

【0804】

50

一部の実施形態では、共通の塩基配列は、特徴的な配列エレメントを含むか又はそれと相補的な配列である。一部の実施形態では、共通の塩基配列は、特徴的な配列エレメントと相補的な配列を含む。一部の実施形態では、共通の塩基配列は、特徴的な配列エレメントと相補的な配列である。一部の実施形態では、共通の塩基配列は、特徴的な配列エレメントと100%相補的な配列を含むか又はその配列である。一部の実施形態では、共通の塩基配列は、特徴的な配列エレメントと100%相補的な配列を含む。一部の実施形態では、共通の塩基配列は、特徴的な配列エレメントと100%相補的な配列である。一部の実施形態では、特徴的な配列エレメントは、突然変異であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、特徴的な配列エレメントは、点突然変異であるか又はそれを含む。一部の実施形態では、特徴的な配列エレメントは、SNPであるか又はそれを含む。

10

【0805】

本開示は、とりわけ、塩基配列が、オリゴヌクレオチドの特性に影響を及ぼし得ることを認める。一部の実施形態では、塩基配列を有するオリゴヌクレオチドが、例えば、RNAアーゼHを伴う経路を介して、C9orf72標的を抑制するために使用されるとき、塩基配列は、C9orf72標的の切断パターンに影響を及ぼし得る：例えば、異なる配列を有する構造的に類似した（全ホスホロチオエート結合、全ステレオランダム）オリゴヌクレオチドは、異なる切断パターンを有し得る。

【0806】

当業者には理解されるように、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド組成物及び方法は、当業者には周知である多様な用途を有する。提供される組成物、その特性及び使用を評価する方法も、当業者には広く知られ、且つ実施されている。特性、使用及び／又は方法の例として、限定はされないが、国際公開第2014/012081号パンフレット及び同第2015/107425号パンフレットに記載のものがあ

20

【0807】

一部の実施形態では、キラルヌクレオチド間結合は、式Iの構造を有する。一部の実施形態では、キラルヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートである。一部の実施形態では、提供される組成物の単一オリゴヌクレオチド中の各キラルヌクレオチド間結合は、独立に、式Iの構造を有する。一部の実施形態では、提供される組成物の単一オリゴヌクレオチド中の各キラルヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートである。

【0808】

一部の実施形態では、本開示のC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の修飾糖部分を含む。一部の実施形態では、本開示のC9orf72オリゴヌクレオチドは、1つ又は複数の修飾塩基部分を含む。当業者には周知であり、また本明細書にも記載される通り、様々な修飾を糖及び／又は部分に導入することができる。例えば、一部の実施形態では、修飾は、米国特許第9006198号明細書、国際公開第2014/012081号パンフレット及び同第2015/107425号パンフレットに記載される修飾であり、それらの各々の糖及び塩基修飾は、参照により本明細書に援用される。

30

【0809】

一部の実施形態では、糖修飾は、2'-修飾を含む。一般に用いられる2'-修飾は、限定はされないが、2'-OR¹を含み、ここで、R¹は、水素ではない。一部の実施形態では、修飾は、2'-ORであり、ここで、Rは、任意選択で置換された脂肪族である。一部の実施形態では、修飾は、2'-OMeである。一部の実施形態では、修飾は、2'-O-MOEである。一部の実施形態では、本開示は、特定のキラル純粋ヌクレオチド間結合の含有及び／若しくは位置が、修飾骨格結合、塩基及び／若しくは糖の使用により達成されるものと同等の又はそれより優れた安定性の改善をもたらし得ることを実証する。一部の実施形態では、提供される組成物の提供される単一オリゴヌクレオチドは、糖に対する修飾を含まない。一部の実施形態では、提供される組成物の提供される単一オリゴヌクレオチドは、糖の2'-位に修飾を含まない（即ち、2'-位の2つの基は、-H/-H又は-H/-OHである）。一部の実施形態では、提供される組成物の提供される単一オリゴヌクレオチドは、2'-MOE修飾を一切含まない。

40

50

【0810】

一部の実施形態では、2'-修飾は、糖部分の2'-炭素を糖部分の別の炭素とつなぐ-O-L-又は-L-である。一部の実施形態では、2'-修飾は、糖部分の2'-炭素を糖部分の4'-炭素とつなぐ-O-L-又は-L-である。一部の実施形態では、2'-修飾は、S-c E tである。一部の実施形態では、修飾糖部分は、L N A部分である。

【0811】

一部の実施形態では、ロックド核酸、即ちL N A又はL N Aヌクレオシド若しくはL N Aヌクレオチドは、ヌクレオシド糖単位の4'及び2'位の間の2つの炭素原子をつなぎ、それによって二環式糖を形成する架橋を有する核酸モノマーであるか又はそれを含む。こうした二環式糖の例として、限定はされないが、 α -L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2') L N A、 β -D-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2') L N A、エチレンオキシ(4'-(CH₂)₂-O-2') L N A、アミノオキシ(4'-CH₂-O-N(R)-2') L N A及びオキシアミノ(4'-CH₂-N(R)-O-2') L N Aが挙げられる。一部の実施形態では、Rは、R₁又はR₂である。

【0812】

一部の実施形態では、L N A化合物として、限定はされないが、糖の4'及び2'位の間に少なくとも1つ架橋を有する化合物が挙げられ、ここで、架橋の各々は、独立に、以下：

-[C(R₁)(R₂)]_n-, -C(R₁)=C(R₂)-, -C(R₁)=N-, -C(=NR₁)-, -C(=O)-, -C(=S)-, -O-, -Si(R₁)₂-, -S(=O)_x-及び-N(R₁)-(xは、0、1若しくは2であり；nは、1、2、3若しくは4であり；R₁及びR₂の各々は、独立に、H、保護基、ヒドロキシル、C₁~C₁₂アルキル、置換C₁~C₁₂アルキル、C₂~C₁₂アルケニル、置換C₂~C₁₂アルケニル、C₂~C₁₂アルキニル、置換C₂~C₁₂アルキニル、C₅~C₂₀アリール、置換C₅~C₂₀アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、C₅~C₇脂環式ラジカル、置換C₅~C₇脂環式ラジカル、ハロゲン、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、COOJ₁、アシル(C(=O)-H)、置換アシル、CN、スルホニル(S(=O)₂-J₁)若しくはスルホキシル(S(=O)-J₁)であり；各J₁及びJ₂は、独立に、H、C₁~C₁₂アルキル、置換C₁~C₁₂アルキル、C₂~C₁₂アルケニル、置換C₂~C₁₂アルケニル、C₂~C₁₂アルキニル、置換C₂~C₁₂アルキニル、C₅~C₂₀アリール、置換C₅~C₂₀アリール、アシル(C(=O)-H)、置換アシル、ヘテロシクリルラジカル、置換ヘテロシクリルラジカル、C₁~C₁₂アミノアルキル、置換C₁~C₁₂アミノアルキル又は保護基である)から選択される1つ又は2~4つの連結基を含む架橋を独立に含む。L N Aの定義に包含される4'-2'架橋基の非限定的な例として、限定はされないが、式：-[C(R₁)(R₂)]_n-, -[C(R₁)(R₂)]_n-O-, -C(R₁R₂)-N(R₁)-O-又は-C(R₁R₂)-O-N(R₁)-の1つが挙げられる。更に、L N Aの定義に包含される他の架橋基は、4'-CH₂-2'、4'-(CH₂)₂-2'、4'-(CH₂)₃-2'、4'-CH₂-O-2'、4'-(CH₂)₂-O-2'、4'-CH₂-O-N(R₁)-2'及び4'-CH₂-N(R₁)-O-2'架橋であり、式中、R₁及びR₂は、独立に、H、保護基又はC₁~C₁₂アルキルである。また、L N Aの定義には、リボシル糖環の2'-ヒドロキシル基が、糖環の4'炭素原子に連結され、それによってメチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')架橋を形成することにより、二環式糖部分を形成するL N Aも含まれる。架橋は、2'酸素原子と4'炭素原子をつなぐメチレン(-CH₂-)基でもあり得、それについては、メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2') L N Aという用語が用いられる。一部の実施形態において、二環式糖部分が、この位置にエチレン架橋基を有する場合、エチレンオキシ(4'-CH₂CH₂-O-2') L N Aという用語が用いられる。メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2') L N Aの異性体である、 α -L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')も、本明細書で使用される通り、L N Aの定義に含まれる。

【0813】

一部の実施形態では、2' - 修飾は、- Fである。一部の実施形態では、2' - 修飾は、FANAである。一部の実施形態では、2' - 修飾は、FRNAである。

【0814】

一部の実施形態では、糖修飾は、5' - 修飾、例えばR - 5' - Me、S - 5' - Meなどである。

【0815】

一部の実施形態では、糖修飾は、糖環のサイズを変化させる。一部の実施形態では、糖修飾は、FHNAの糖部分である。

【0816】

一部の実施形態では、糖修飾は、糖部分を別の環状又は非環状部分で置換する。こうした部分の例は、当技術分野で公知であり、限定はされないが、モルホリノ（任意選択で、そのホルホロジアミダイト結合を有する）、グリコール核酸などが挙げられる。

【0817】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に開示されるC9orf72オリゴヌクレオチド及び本明細書に記載される任意のフォーマットの任意のC9orf72オリゴヌクレオチドからなる群から選択される。当業者は、本明細書を読めば、C9orf72オリゴヌクレオチドと呼ばれる本明細書に記載される任意のオリゴヌクレオチドがまた、同様に又は代わりに、別の機構（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドとして；RNアーゼH機構を介したノックダウンを媒介する；翻訳を立体的に妨害する；又は任意の他の生化学的機構）によっても機能し得る可能性を本開示は特に除外しないことを理解するであろう。

【0818】

一部の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）は、本明細書に開示される任意のC9orf72オリゴヌクレオチド及び本明細書に記載される任意のフォーマットの任意のオリゴヌクレオチドからなる群から選択されるC9orf72オリゴヌクレオチドであるか又はそれを含む。当業者は、本明細書を読めば、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）と呼ばれる本明細書に記載される任意のオリゴヌクレオチドがまた、同様に又は代わりに、別の機構によっても（例えば、C9orf72ノックダウンを利用するRISCとして）機能し得る可能性を本開示は特に除外しないことを理解するであろう；本開示は、様々なオリゴヌクレオチドが異なる機構（RNアーゼHを利用する、翻訳又は他の転写後プロセスを立体的に妨害する、C9orf72標的核酸の立体配座を変化させる等）を介して機能し得ることも指摘しておく。

【0819】

キラル制御されたオリゴヌクレオチド及びキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子はヘキサヌクレオチドリピート伸長を含む。

【0820】

本開示は、高い粗純度及び高いジアステレオマー純度のキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。一部の実施形態において、本開示は、高い粗純度のキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。一部の実施形態において、本開示は、高いジアステレオマー純度のキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド及びキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチド組成物を提供する。

【0821】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、組成物中のそのオリ

10

20

30

40

50

ゴヌクレオチドタイプでないオリゴヌクレオチドが、前記オリゴヌクレオチドタイプの調製過程からの、ある場合には特定の精製手順後の不純物であることにおいて、ある C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドタイプの実質的に純粋な製剤である。

【0822】

一部の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる立体化学及び／又は異なる P 修飾を有する。特定の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある少なくとも2つの個別のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる P 修飾を有する。特定の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる P 修飾を有し、キラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合を含む。特定の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる P 修飾を有し、キラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも1つのホスホロチオエートジエステルヌクレオチド間結合とを含む。特定の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる P 修飾を有し、キラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド間結合を含む。特定の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも2つは、互いと比べて異なる P 修飾を有し、キラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも1つのホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド間結合とを含む。

【0823】

ヌクレオチド間結合

一部の実施形態において、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、提供される C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意のヌクレオチド間結合を含む。

【0824】

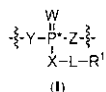
一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意のヌクレオチド間結合を含むことができる。

【0825】

ヌクレオチド間結合又は非修飾ヌクレオチド間結合の非限定的な例はホスホジエステルである；修飾ヌクレオチド間結合の非限定的な例には、ホスホジエステルの1つ以上の酸素が、非限定的な例として、硫黄（ホスホロチオエートにおいて見られる通り）、H、アルキル又は酸素でない別の部分若しくは要素に置き換えられているものが含まれる。ヌクレオチド間結合の非限定的な例は、リンを含まないが、2つの糖をつなぐ役割を果たす部分である。ヌクレオチド間結合の非限定的な例は、リンを含まないが、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの骨格における2つの糖をつなぐ役割を果たす部分である。本明細書には、ヌクレオチド、修飾ヌクレオチド、ヌクレオチド類似体、ヌクレオチド間結合、修飾ヌクレオチド間結合、塩基、修飾塩基及び塩基類似体、糖、修飾糖及び糖類似体並びにヌクレオシド、修飾ヌクレオシド及びヌクレオシド類似体の更なる非限定的な例が開示される。

【0826】

特定の実施形態において、ヌクレオチド間結合は式 I の構造を有し：



式中、各可変要素は以下に定義及び記載する通りである。一部の実施形態において、式 I の結合はキラルである。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる P 修飾を有する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる $-X-L-R^1$ を有する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる X を有する。一部の実施形態において、本開示は、式 I の修飾ヌクレオチド間結合を 1 つ以上含むキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個々の式 I のヌクレオチド間結合は、互いと比べて異なる $-L-R^1$ を有する。

【0827】

一部の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも 2 つは、互いと比べて異なる立体化学及び／又は異なる P 修飾を有する。一部の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも 2 つは、互いと比べて異なる立体化学を有し、及びキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの構造の少なくとも一部分は、立体化学が交互に並んだ繰り返しパターンによって特徴付けられる。

【0828】

一部の実施形態において、本開示はキラル制御された C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチド内にある個別のヌクレオチド間結合の少なくとも 2 つは、それらがその $-XLR^1$ 部分に異なる X 原子を有すること、及び／又はそれらがその $-XLR^1$ 部分に異なる L 基を有すること、及び／又はそれらがその $-XLR^1$ 部分に異なる R^1 原子を有することにおいて（ここで、 XLR^1 は、 $-X-L-R^1$ と等価であり、X、L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りである）、互いと比べて異なる P 修飾を有する。

【0829】

一部の実施形態において、L は共有結合であるか、又は任意選択で置換されている直鎖又は分枝状 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレンであり、ここで、L の 1 つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_6$ アルキレン、 $C_1 \sim C_6$ アルケニレン、 $-C \equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R')$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-N(R')S(O)_2-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-OC(O)-$ 又は $-C(O)O-$ によって置き換えられ；

R^1 は、ハロゲン、R 又は任意選択で置換されている $C_1 \sim C_{50}$ 脂肪族であり、ここで、1 つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_6$ アルキレン、 $C_1 \sim C_6$ アルケニレン、 $-C \equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C$

NR')—、— $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')$ —、— $\text{N}(\text{R}')$ $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')$ —、— $\text{N}(\text{R}')$ $\text{C}(\text{O})$ —、— $\text{N}(\text{R}')$ $\text{C}(\text{O})\text{O}$ —、— $\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}')$ —、— $\text{S}(\text{O})$ —、— $\text{S}(\text{O})_2$ —、— $\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}')$ —、— $\text{N}(\text{R}')$ $\text{S}(\text{O})_2$ —、— $\text{SC}(\text{O})$ —、— $\text{C}(\text{O})\text{S}$ —、— $\text{OC}(\text{O})$ —又は— $\text{C}(\text{O})\text{O}$ —によって置き換えられ；

各 R' は、独立に、— R —、— $\text{C}(\text{O})\text{R}$ —、— CO_2R —又は— SO_2R —であるか、又は：同じ窒素上の2つの R' が、それらの介在原子と一緒にあって、任意選択で置換されている複素環又はヘテロアリール環を形成するか、又は

同じ炭素上の2つの R' が、それらの介在原子と一緒にあって、任意選択で置換されているアリール環、炭素環、複素環又はヘテロアリール環を形成し；

— Cy —は、フェニレン、カルボシクリレン、アリーレン、ヘテロアリーレン及びヘテロシクリレンから選択される任意選択で置換されている二価の環であり；

各 R は、独立に、水素であるか、又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ 脂肪族、フェニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基であり；及び

各

は、

独立に、ヌクレオシドへの連結を表す。

【0830】

一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは1つ以上の修飾ヌクレオチド間リン結合を含む。かかる修飾ヌクレオチド間リン結合の例は、本明細書に更に記載される。

【0831】

一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは異なるヌクレオチド間リン結合を含む。一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも1つの修飾ヌクレオチド間結合とを含む。かかる修飾ヌクレオチド間リン結合の例は、本明細書に更に記載される。

【0832】

一部の実施形態において、ホスホロチオエートトリエステル結合はキラル補助基を含み、これは、例えば、反応の立体選択性の制御に使用される。一部の実施形態において、ホスホロチオエートトリエステル結合はキラル補助基を含まない。一部の実施形態において、ホスホロチオエートトリエステル結合は対象への投与まで及び／又は投与の最中に意図的に維持される。

【0833】

一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは固体支持体に結合される。一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは固体支持体から切断される。

【0834】

一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも2つの連続する修飾ヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態において、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と少なくとも2つの連続するホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド間結合とを含む。

【0835】

一部の実施形態において、本開示は、複数の提供される $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドを含む又はそれからなる組成物（例えば、キラル制御された $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチド組成物）を提供する。一部の実施形態において、かかる提供される $\text{C}_9\text{orf}72$ オリゴヌクレオチドは全て同じタイプであり、即ち全てが同じ塩基配列、骨格結合のパターン（即ちヌクレオチド間結合タイプ、例えばリン酸、ホスホロチオエート等のパターン）、骨格キラル中心のパターン（即ち結合リン立体化学（ Rp/Sp ）のパターン）

10

20

30

40

50

及び骨格リン修飾のパターン（例えば、本明細書に開示される式 I における「 $-XLR^1$ 」基のパターン）を有する。一部の実施形態において、同じタイプのオリゴヌクレオチドは全て同一である。しかしながら、多くの実施形態において、提供される組成物は、複数のオリゴヌクレオチドタイプを、典型的には所定の相対量で含む。

【0836】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意のヌクレオチド間結合を含むことができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意のヌクレオチド間結合を、本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾、限定はされないが、塩基配列又はその一部分、糖、塩基（核酸塩基）；立体化学又はそのパターン；限定はされないが、ターゲティング部分、炭水化物部分等を含めた追加の化学的部分；限定はされないが、ターゲティング部分等を含めた追加の化学的部分；フォーマット又はその任意の構造要素を含めたもの及び／又は本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾と組み合わせて含むことができ；及び一部の実施形態において、本開示は、任意のかかるオリゴヌクレオチドのマルチマーに関する。

【0837】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される式 I の構造を独立に有する 1 つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含む C9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。

【0838】

式 I の一部の実施形態において、 T^{LD} における P は P^* である。一部の実施形態において、 P^* は不斉リン原子であり、Rp 又は Sp の何れかである。一部の実施形態において、 P^* は Rp である。他の実施形態において、 P^* は Sp である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を 1 つ以上含み、ここで、各 P^* は、独立に、Rp 又は Sp である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を 1 つ以上含み、ここで、各 P^* は、Rp である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を 1 つ以上含み、ここで、各 P^* は、Sp である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含み、ここで、 P^* は、Rp である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ及び P^* が Sp である式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含む。

【0839】

式 I の一部の実施形態において、W は O、S 又は Se である。一部の実施形態において、W は O である。一部の実施形態において、W は S である。一部の実施形態において、W は Se である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含み、ここで、W は、O である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含み、ここで、W は、S である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含み、ここで、W は、Se である。

【0840】

式 I の一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含み、ここで、W は、O である。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは式 I のヌクレオチド間結合を少なくとも 1 つ含み、ここで、W は、S である。

【0841】

一部の実施形態において、各 R は、独立に、水素であるか、又は $C_1 \sim C_6$ 脂肪族、フェニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルから選択される

任意選択で置換されている基である。

【0842】

一部の実施形態において、Rは水素である。一部の実施形態において、Rは、 $C_1 \sim C_6$ 脂肪族、フェニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基である。

【0843】

一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_6$ 脂肪族である。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている $C_1 \sim C_6$ アルキルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている直鎖又は分枝状ヘキシルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている直鎖又は分枝状ペンチルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている直鎖又は分枝状ブチルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている直鎖又は分枝状プロピルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているエチルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているメチルである。

10

【0844】

一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているフェニルである。一部の実施形態において、Rは置換フェニルである。一部の実施形態において、Rはフェニルである。

【0845】

一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているカルボシクリルである。一部の実施形態において、Rは任意選択で置換されている $C_3 \sim C_{10}$ カルボシクリルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている単環式カルボシクリルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているシクロヘプチルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているシクロヘキシルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているシクロペンチルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているシクロブチルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているシクロプロピルである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている二環式カルボシクリルである。

20

【0846】

一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているアリールである。一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されている二環式アリール環である。

30

【0847】

一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているヘテロアリールである。一部の実施形態において、Rは、窒素、硫黄及び酸素から独立に選択される1～3つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5～6員環の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3つのヘテロ原子を有する置換されている5～6員環の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、Rは、窒素、硫黄及び酸素から独立に選択される1～3つのヘテロ原子を有する非置換の5～6員環の単環式ヘテロアリール環である。

【0848】

一部の実施形態において、Rは、窒素、硫黄及び酸素から独立に選択される1～3つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5員環の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～3つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている6員環の単環式ヘテロアリール環である。

40

【0849】

一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から選択される1つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5員環の単環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、Rは、ピロリル、フラニル及びチエニルから選択される。

【0850】

一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2つのヘテ

50

ロ原子を有する任意選択で置換されている 5 員環ヘテロアリール環である。特定の実施形態において、R は、1 つの窒素原子と、硫黄及び酸素から選択される更なるヘテロ原子とを有する任意選択で置換されている 5 員環ヘテロアリール環である。例示的 R 基としては、任意選択で置換されているピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル又はイソオキサゾリルが挙げられる。

【0851】

一部の実施形態において、R は、1 ～ 3 つの窒素原子を有する 6 員環ヘテロアリール環である。他の実施形態において、R は、1 ～ 2 つの窒素原子を有する任意選択で置換されている 6 員環ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R は、2 つの窒素原子を有する任意選択で置換されている 6 員環ヘテロアリール環である。特定の実施形態において、R は、1 つの窒素を有する任意選択で置換されている 6 員環ヘテロアリール環である。例示的 R 基としては、任意選択で置換されているピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアジニル又はテトラジニルが挙げられる。

【0852】

特定の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～ 4 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 8 ～ 10 員環の二環式ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～ 4 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 5, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。他の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～ 2 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 5, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。特定の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 5, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているインドリルである。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているアザビシクロ [3. 2. 1] オクタニルである。特定の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 2 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 5, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているアザインドリルである。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているベンズイミダゾリルである。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているベンゾチアゾリルである。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているベンズオキサゾリルである。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているインダゾリルである。特定の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 3 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 5, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。

【0853】

特定の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～ 4 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 6, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～ 2 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 6, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。他の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 6, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているキノリニルである。一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているイソキノリニルである。一態様によれば、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 2 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 6, 6 - 縮合ヘテロアリール環である。一部の実施形態において、R はキナゾリン又はキノキサリンである。

【0854】

一部の実施形態において、R は、任意選択で置換されているヘテロシクリルである。一部の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～ 2 つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている 3 ～ 7 員環の飽和又は部分的に不飽和の複素環である。一部の実施形態において、R は、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される 1 ～

2つのヘテロ原子を有する置換されている3～7員環の飽和又は部分的に不飽和の複素環である。一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2つのヘテロ原子を有する非置換の3～7員環の飽和又は部分的に不飽和の複素環である。

【0855】

一部の実施形態において、Rは、任意選択で置換されているヘテロシクリルである。一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている6員環の飽和又は部分的に不飽和の複素環である。一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される2つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている6員環の部分的に不飽和の複素環である。一部の実施形態において、Rは、2つの酸素原子を有する任意選択で置換されている6員環の部分的に不飽和の複素環である。

10

【0856】

特定の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2つのヘテロ原子を有する3～7員環の飽和又は部分的に不飽和の複素環である。特定の実施形態において、Rは、オキシラニル、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、オキセパニル、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、アゼパニル、チイラニル、チエタニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロチオピラニル、チエパニル、ジオキソラニル、オキサチオラニル、オキサゾリジニル、イミダゾリジニル、チアゾリジニル、ジチオラニル、ジオキサニル、モルホリニル、オキサチアニル、ピペラジニル、チオモルホリニル、ジチアニル、ジオキセパニル、オキサゼパニル、オキサチエパニル、ジチエパニル、ジアゼパニル、ジヒドロフラノニル、テトラヒドロピラノニル、オキセパノニル、ピロリジノニル、ピペリジノニル、アゼパノニル、ジヒドロチオフェノニル、テトラヒドロチオピラノニル、チエパノニル、オキサゾリジノニル、オキサジナノニル (oxazinonyl)、オキサゼパノニル、ジオキソラノニル、ジオキサノニル、ジオキセパノニル、オキサチオリノニル (oxathiolinonyl)、オキサチアノニル (oxathianonyl)、オキサチエパノニル、チアゾリジノニル、チアジナノニル (thiazinonyl)、チアゼパノニル、イミダゾリジノニル、テトラヒドロピリミジノニル、ジアゼパノニル、イミダゾリジンジオニル、オキサゾリジンジオニル、チアゾリジンジオニル、ジオキソランジオニル、オキサチオランジオニル、ピペラジンジオニル、モルホリンジオニル、チオモルホリンジオニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペリジニル、ピペラジニル、ピロリジニル、テトラヒドロチオフェニル又はテトラヒドロチオピラニルである。一部の実施形態において、Rは、窒素、酸素及び硫黄から独立に選択される1～2つのヘテロ原子を有する任意選択で置換されている5員環の飽和又は部分的に不飽和の複素環である。

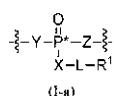
20

30

【0857】

一部の実施形態において、式Iの構造は、国際公開第2017/210647号パンフレットに記載される通りの式Iの構造である。一部の実施形態において、式Iのヌクレオチド間結合は式I-aの構造を有する：

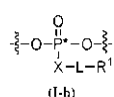
40



式中、各可変要素は、独立に、式Iにある通り本開示に記載される。

【0858】

一部の実施形態において、式Iのヌクレオチド間結合は式I-bの構造を有する：

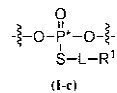


式中、各可変要素は、独立に、式Iにある通り本開示に記載される。

50

【0859】

一部の実施形態において、式 I のヌクレオチド間結合は、式 I - c の構造を有するホスホロチオエートトリエステル結合である：



式中：

P * は不斉リン原子であり、R p 又は S p の何れかであり；

L は、共有結合であるか、又は任意選択で置換されている直鎖又は分枝状 C₁ ~ C₁₀ アルキレンであり、ここで、L の 1 つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、任意選択で置換されている C₁ ~ C₆ アルキレン、C₁ ~ C₆ アルケニレン、-C≡C-、-C(R')₂-, -Cy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -N(R')C(O)O-, -OC(O)N(R')-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')S(O)₂-, -SC(O)-, -C(O)S-, -OC(O)- 又は -C(O)O- によって置き換えられ；

10

R¹ は、ハロゲン、R 又は任意選択で置換されている C₁ ~ C₅₀ 脂肪族であり、ここで、1 つ以上のメチレン単位は、任意選択で、且つ独立に、任意選択で置換されている C₁ ~ C₆ アルキレン、C₁ ~ C₆ アルケニレン、-C≡C-, -C(R')₂-, -Cy-, -O-, -S-, -S-S-, -N(R')-, -C(O)-, -C(S)-, -C(NR')-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -N(R')C(O)O-, -OC(O)N(R')-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(R')-, -N(R')S(O)₂-, -SC(O)-, -C(O)S-, -OC(O)- 又は -C(O)O- によって置き換えられ；

20

各 R' は、独立に、-R-, -C(O)R-, -CO₂R 又は -SO₂R であるか、又は：同じ窒素上の 2 つの R' が、それらの介在原子と一緒にあって、任意選択で置換されている複素環又はヘテロアリール環を形成するか、又は

同じ炭素上の 2 つの R' が、それらの介在原子と一緒にあって、任意選択で置換されているアリール環、炭素環、複素環又はヘテロアリール環を形成し；

30

-Cy- は、フェニレン、カルボシクリレン、アリーレン、ヘテロアリーレン及びヘテロシクリレンから選択される任意選択で置換されている二価の環であり；

各 R は、独立に、水素であるか、又は C₁ ~ C₆ 脂肪族、フェニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基であり；

各

は、独立に、ヌクレオシドへの連結を表し；及び

L が共有結合であるとき R¹ は -H でない。

【0860】

40

一部の実施形態において、式 I の構造を有するヌクレオチド間結合は、



又は当技術分野において、例えば国際公開第 2017/210647 号パンフレットに示される通りのヌクレオチド間結合である。

【0861】

一部の実施形態において、本開示は、1 つ以上のリン酸ジエステル結合と、I - a、I - b 又は I - c の式を有する 1 つ以上の修飾ヌクレオチド間結合とを含むキラル制御された C9orf72 オリゴヌクレオチドを提供する。

【0862】

50

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はIの構造を有する。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はI-aの構造を有する。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はI-bの構造を有する。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はI-cの構造を有する。

【0863】

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。式Iの構造を有するヌクレオチド間結合の例は、限定はされないが、米国特許出願公開第20110294124号明細書、米国特許出願公開第20120316224号明細書、米国特許出願公開第20140194610号明細書、米国特許出願公開第20150211006号明細書、米国特許出願公開第20150197540号明細書、国際公開第2015107425号パンフレット、PCT/US2016/043542号明細書及びPCT/US2016/043598号明細書（この各々が参照により本明細書に援用される）に記載されるものを含め、当技術分野において広く公知である。一部の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合はビニルホスホネートである。Whittaker et al. 2008 Tetrahedron Letters 49:6984-6987。

10

【0864】

ヌクレオチド間結合の非限定的な例としては、限定はされないが、Gryaznov, S.; Chen, J.-K. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 3143、Jones et al. J. Org. Chem. 1993, 58, 2983、Koshkin et al. 1998 Tetrahedron 54:3607-3630、Lauritsen et al. 2002 Chem. Comm. 5: 530-531、Lauritsen et al. 2003 Bioo. Med. Chem. Lett. 13:253-256、Mesmaeker et al. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1994, 33, 226、Petersen et al. 2003 TRENDS Biotech. 21:74-81、Schultz et al. 1996 Nucleic Acids Res. 24:2966、Ts'o et al. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1988, 507, 220及びVasseur et al. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 4006の何れかに記載されるものを含め、当技術分野において記載されるものも挙げられる。

20

30

【0865】

一部の実施形態において、本開示は、少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と、式I-cの構造を有する少なくとも1つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と、式I-cの構造を有する少なくとも2つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と、式I-cの構造を有する少なくとも3つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と、式I-cの構造を有する少なくとも4つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、少なくとも1つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合と、式I-cの構造を有する少なくとも5つのホスホロチオエートトリエステル結合とを含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。

40

【0866】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに

50

見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、1つ以上のUは、Tに置き換えられるか、又はその逆も同様である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、前記配列は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列と50%を超える同一性を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、前記配列は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列と60%を超える同一性を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、前記配列は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列と70%を超える同一性を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、前記配列は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列と80%を超える同一性を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、前記配列は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列と90%を超える同一性を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、前記配列は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列と95%を超える同一性を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列を有するキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される骨格結合のパターン、骨格キラル中心のパターン及び／又は骨格リン修飾のパターンを有する。

【0867】

一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部分）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも1つのヌクレオチド間結合は、キラルな結合リンを有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも1つのヌクレオチド間結合は、式Iの構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部分）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、式Iの構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部分）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも1つのヌクレオチド間結合は、式I-cの構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部分）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、式I-cの構造を有する。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部分）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも1つのヌクレオチド間結合は、

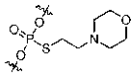


である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、

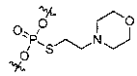


である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、少なくとも1つのヌクレオチド間結合は、

10



である。一部の実施形態において、本開示は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドに見られる配列（又はそのうちの少なくとも10隣接塩基の一部）を含むキラル制御されたC9orf72オリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各ヌクレオチド間結合は、



である。

20

【0868】

一部の実施形態において、結合リンにおける修飾は、1つ以上のエステラーゼ、ヌクレアーゼ及び／又はシトクロムP450酵素、例えば、限定はされないが、CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1（ファミリー：CYP1）；CYP2A6、CYP2A7、CYP2A13、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C18、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP2F1、CYP2J2、CYP2R1、CYP2S1、CYP2U1、CYP2W1（CYP2）；CYP3A4、CYP3A5、CYP3A7、CYP3A43（CYP3）；CYP4A11、CYP4A22、CYP4B1、CYP4F2、CYP4F3、CYP4F8、CYP4F11、CYP4F12、CYP4F22、CYP4V2、CYP4X1、CYP4Z1（CYP4）；CYP5A1（CYP5）；CYP7A1、CYP7B1（CYP7）；CYP8A1（プロスタサイクリンシンターゼ）、CYP8B1（胆汁酸生合成）（CYP8）；CYP11A1、CYP11B1、CYP11B2（CYP11）；CYP17A1（CYP17）；CYP19A1（CYP19）；CYP20A1（CYP20）；CYP21A2（CYP21）；CYP24A1（CYP24）；CYP26A1、CYP2XXX1、CYP26C1（CYP26）；CYP27A1（胆汁酸生合成）、CYP27B1（ビタミンD3 1-αヒドロキシラーゼ、ビタミンD3を活性化する）、CYP27C1（未知の機能）（CYP27）；CYP39A1（CYP39）；CYP46A1（CYP46）；又はCYP51A1（ラノステロール14-αデメチラーゼ）（CYP51）により、天然に存在するDNA及びRNAに存在するものなどのリン酸ジエステルに変換されるその能力によって特徴付けられる。

30

40

【0869】

一部の実施形態において、リンを修飾すると、プロドラッグとしての役割を果たすことを特徴とするP修飾部分が生じ、例えば、このP修飾部分は、除去に先立つ所望の場所へのC9orf72オリゴヌクレオチドの送達を促進する。例えば、一部の実施形態において、P修飾部分は、結合リンにおけるペグ化によって生じる。関連性のある技術分野の当業者は、様々なPEG鎖長が有用であり、鎖長の選択が、一部には、ペグ化によって実現させようとする結果により決まることになると理解するであろう。例えば、一部の実施形態において、ペグ化は、C9orf72オリゴヌクレオチドのRES取り込みを低減して

50

インビボ循環寿命を延ばすために達成される。

【0870】

一部の実施形態において、本開示に係る使用のためのペグ化試薬は、約300 g/mol～約100,000 g/molの分子量である。一部の実施形態において、ペグ化試薬は約300 g/mol～約10,000 g/molの分子量である。一部の実施形態において、ペグ化試薬は約300 g/mol～約5,000 g/molの分子量である。一部の実施形態において、ペグ化試薬は約500 g/molの分子量である。一部の実施形態において、分子量のペグ化試薬は約1000 g/molである。一部の実施形態において、ペグ化試薬は約3000 g/molの分子量である。一部の実施形態において、ペグ化試薬は約5000 g/molの分子量である。

10

【0871】

特定の実施形態において、ペグ化試薬はPEG500である。特定の実施形態において、ペグ化試薬はPEG1000である。特定の実施形態において、ペグ化試薬はPEG3000である。特定の実施形態において、ペグ化試薬はPEG5000である。

【0872】

一部の実施形態において、P修飾部分は、それが細胞膜破壊性脂質又はペプチドなど、細胞への侵入及び／又はエンドソームエスケープを促進する薬剤としての役割を果たすことを特徴とする。

【0873】

一部の実施形態において、P修飾部分は、それがターゲティング薬剤としての役割を果たすことを特徴とする。一部の実施形態において、P修飾部分はターゲティング薬剤であるか又はそれを含む。語句「ターゲティング薬剤」は、本明細書で使用されるとき、目的のペイロード（例えば、C9orf72オリゴヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド組成物）に会合した、またターゲティング薬剤と会合されているとき、目的のペイロードがターゲティング薬剤と会合していないときに他の点では同等の条件下で観察されるものと比べて実質的に大幅に目的のペイロードが目的の標的部位へと標的化されるように目的のC9orf72標的部位と相互作用もする実体である。ターゲティング薬剤は、例えば、小分子部分、核酸、ポリペプチド、炭水化物等を含め、種々の化学的部分の何れでもあり得るか、又はそれを含み得る。ターゲティング薬剤については、Adarsh et al., "Organelle Specific Targeted Drug Delivery-A Review," International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 2011, p. 895によって詳説されている。

20

30

【0874】

かかるターゲティング薬剤の例としては、限定はされないが、タンパク質（例えば、トランスフェリン）、C9orf72オリゴペプチド（例えば、環状及び非環状RGD含有オリゴペプチド）、抗体（モノクローナル及びポリクローナル抗体、例えばIgG、IgA、IgM、IgD、IgE抗体）、糖類／炭水化物（例えば、単糖類及び／又はオリゴ糖類（マンノース、マンノース-6-リン酸、ガラクトースなど）、ビタミン類（例えば、葉酸塩）又は他の小生体分子が挙げられる。一部の実施形態において、ターゲティング部分はステロイド分子（例えば、コル酸、デオキシコル酸、デヒドロコル酸を含む胆汁酸；コルチゾン；ジゴキシゲニン；テストステロン；コレステロール；カチオン性ステロイド類、例えばコルチゾン環の3位で二重結合を介して結合したトリメチルアミノメチルヒドラジド基を有するコルチゾンなど）である。一部の実施形態において、ターゲティング部分は、脂溶性分子（例えば、脂環式炭化水素、飽和及び不飽和脂肪酸、ワックス、テルペン類並びにアダマンタン及びバックミンスターフラーレンなどの多脂環式炭化水素）である。一部の実施形態において、脂溶性分子は、ビタミンA、レチノイン酸、レチナール又はデヒドロレチナールなどのテルペノイドである。一部の実施形態において、ターゲティング部分はペプチドである。

40

【0875】

50

一部の実施形態において、P修飾部分は式 $-X-L-R^1$ のターゲティング薬剤であり、式中、X、L及び R^1 の各々は、本明細書に開示される式Iに定義される通りである。

【0876】

一部の実施形態において、P修飾部分は、それが細胞特異的送達を促進することを特徴とする。

【0877】

一部の実施形態において、P修飾部分は、それが上述のカテゴリーの1つ以上に分類されることを特徴とする。例えば、一部の実施形態において、P修飾部分はPKエンハンサー及びターゲティングリガンドとしての役割を果たす。一部の実施形態において、P修飾部分はプロドラッグ及びエンドソームエスケープ薬剤としての役割を果たす。関連性のある技術分野の当業者であれば、他の多数のかかる組み合わせが可能であり、本開示によって企図されることを認識し得る。

【0878】

一部の実施形態において、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール若しくはヘテロシクリル基又はその二価若しくは多価の基は、 $C_3 \sim C_{30}$ カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール若しくはヘテロシクリル基又はその二価及び／又は多価の基である。

【0879】

塩基（核酸塩基）

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意の核酸塩基を含む。

【0880】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド中に存在する核酸塩基は、天然核酸塩基又は天然核酸塩基に由来する修飾核酸塩基である。例としては、限定はされないが、アシル保護基によって保護されたそのそれぞれのアミノ基を有するウラシル、チミン、アデニン、シトシン及びグアニン、2-フルオロウラシル、2-フルオロシトシン、5-ブロモウラシル、5-ヨードウラシル、2,6-ジアミノプリン、アザシトシン、プソイドイソシトシン及びプソイドウラシルなどのピリミジン類似体並びに他の修飾核酸塩基、例えば8-置換プリン、キサントシン又はヒポキサントシン（後者2つは天然分解産物である）が挙げられる。例示的修飾核酸塩基は、Chiu and Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048、Limbach et al. Nucleic Acids Research, 1994, 22, 2183-2196及びRevankar and Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry, vol. 7, 313に開示されている。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、置換ウラシル、チミン、アデニン、シトシン又はグアニンである。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、ウラシル、チミン、アデニン、シトシン又はグアニンの、例えば水素結合及び／又は塩基対合において機能の置き換えである。一部の実施形態において、核酸塩基は、任意選択で置換されているウラシル、チミン、アデニン、シトシン、5-メチルシトシン又はグアニンである。一部の実施形態において、核酸塩基は、ウラシル、チミン、アデニン、シトシン、5-メチルシトシン又はグアニンである。

【0881】

一部の実施形態において、修飾塩基は、任意選択で置換されているアデニン、シトシン、グアニン、チミン又はウラシルである。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、独立に、1つ以上の修飾によって修飾されたアデニン、シトシン、グアニン、チミン又はウラシルであり、この修飾により、

(1) 核酸塩基が、アシル、ハロゲン、アミノ、アジド、アルキル、アルケニル、アル

10

20

30

40

50

キニル、アリール、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、カルボキシル、ヒドロキシル、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、置換シリル及びこれらの組み合わせから独立に選択される1つ以上の任意選択で置換されている基によって修飾され；

(2) 核酸塩基の1つ以上の原子が独立に、炭素、窒素及び硫黄から選択される異なる原子に置き換えられ；

(3) 核酸塩基中の1つ以上の二重結合が独立に、水素化され；又は

(4) 1つ以上のアリール又はヘテロアリール環が独立に、核酸塩基に挿入される。

【0882】

一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、当技術分野において、例えば国際公開第2017/210647号パンフレットに示される通りの修飾核酸塩基である。修飾核酸塩基には、フェニル環など、1つ以上のアリール環が付加されている拡大サイズの核酸塩基も含まれる。Glen Researchカタログ(Glen Research, Sterling, Virginia); Krueger AT et al, Acc. Chem. Res., 2007, 40, 141-150; Kool, ET, Acc. Chem. Res., 2002, 35, 936-943; Benner S. A., et al., Nat. Rev. Genet., 2005, 6, 553-543; Romesberg, F. E., et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 2003, 7, 723-733; Hirao, I., Curr. Opin. Chem. Biol., 2006, 10, 622-627に記載される核酸塩基の置き換えが、本明細書に記載される核酸の合成に有用であると企図される。一部の実施形態において、拡大サイズの核酸塩基は、当技術分野において、例えば国際公開第2017/210647号パンフレットに示される通りの拡大サイズの核酸塩基である。本明細書では、修飾核酸塩基は、核酸塩基とは見なされないが、他の部分、例えば、限定はされないが、コリン誘導環又はポルフィリン誘導環である構造も包含する。ポルフィリン誘導塩基の置き換えについては、Morales-Rojas, H and Kool, ET, Org. Lett., 2002, 4, 4377-4380に記載されている。一部の実施形態において、ポルフィリン誘導環は、当技術分野において、例えば国際公開第2017/219647号パンフレットに示される通りのポルフィリン誘導環である。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、当技術分野において、例えば国際公開第2017/219647号パンフレットに示される通りの修飾核酸塩基である。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は蛍光である。かかる蛍光修飾核酸塩基の例としては、当技術分野において、例えば国際公開第2017/210647号パンフレットに示される通り、フェナントレン、ピレン、スチルベン、イソキサントニン、イソキサントプテリン、テルフェニル、テルチオフエン、ベンゾテルチオフエン、クマリン、ルマジン、繫留スチルベン、ベンゾウラシル及びナフトウラシルが挙げられる。一部の実施形態において、核酸塩基又は修飾核酸塩基は、C5-プロピンT、C5-プロピンC、C5-チアゾール、フェノキサジン、2-チオチミン、5-トリアゾリルフェニルチミン、ジアミノプリン及びN2-アミノプロピルグアニンから選択される。

【0883】

一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、5-置換ピリミジン類、6-アザピリミジン類、アルキル又はアルキニル置換ピリミジン類、アルキル置換プリン類並びにN-2、N-6及び0-6置換プリン類から選択される。特定の実施形態において、修飾核酸塩基は、2-アミノプロピルアデニン、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサントニン、ヒポキサントニン、2-アミノアデニン、6-N-メチルグアニン、6-N-メチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-プロピニル(-C≡C-CH₃)ウラシル、5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシン、6-アゾチミン、5-リボシルウラシル(プソイドウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル、8-アザ及び他の8-置換プリン類、5-ハロ、特に5-プロモ、5-トリフルオ

10

20

30

40

50

ロメチル、5-ハロウラシル及び5-ハロシトシン、7-メチルグアニン、7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノアデニン、7-デアザアデニン、7-デアザアデニン、3-デアザアデニン、3-デアザアデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、2-N-イソブチルグアニン、4-N-ベンゾイルシトシン、4-N-ベンゾイルウラシル、5-メチル4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチル4-N-ベンゾイルウラシル、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、無差別な (promiscuous) 塩基、サイズ拡大塩基及びフッ素化塩基から選択される。更なる修飾核酸塩基としては、三環式ピリミジン類、例えば1, 3-ジアザフェノキサジン-2-オン、1, 3-ジアザフェノチアジン-2-オン及び9-(2-アミノエトキシ)-1, 3-ジアザフェノキサジン-2-オン (G-クランプ) が挙げられる。修飾核酸塩基としては、プリン又はピリミジン塩基が他の複素環、例えば7-デアザアデニン、7-デアザグアノシン、2-アミノピリジン及び2-ピリドンに置き換えられたものも挙げることができる。更なる核酸塩基としては、米国特許第3, 687, 808号明細書に開示されるもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, Kroschwitz, J. I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859; Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613; Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke, S. T. and Leblu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288に開示されるもの; 及び Chapters 6 and 15, Antisense Drug Technology, Crooke S. T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166 及び 442-443 に開示されるものが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0884】

上述の修飾核酸塩基並びに他の修飾核酸塩基の特定のもの調製について教示する例示的な米国特許としては、限定なしに、米国特許出願公開第2003/0158403号明細書、米国特許第3, 687, 808号明細書; 同第4, 845, 205号明細書; 同第5, 130, 302号明細書; 同第5, 134, 066号明細書; 同第5, 175, 273号明細書; 同第5, 367, 066号明細書; 同第5, 432, 272号明細書; 同第5, 434, 257号明細書; 同第5, 457, 187号明細書; 同第5, 459, 255号明細書; 同第5, 484, 908号明細書; 同第5, 502, 177号明細書; 同第5, 525, 711号明細書; 同第5, 552, 540号明細書; 同第5, 587, 469号明細書; 同第5, 594, 121号明細書; 同第5, 596, 091号明細書; 同第5, 614, 617号明細書; 同第5, 645, 985号明細書; 同第5, 681, 941号明細書; 同第5, 750, 692号明細書; 同第5, 763, 588号明細書; 同第5, 830, 653号明細書; 及び同第6, 005, 096号明細書が挙げられる。

【0885】

一部の実施形態において、修飾核酸塩基は置換されていない。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は置換されている。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、それが、例えば、ヘテロ原子、アルキル基又は蛍光部分、ビオチン若しくはアビジン部分又は他のタンパク質若しくはペプチドに連結する結合部分を含有するように置換されている。一部の実施形態において、修飾核酸塩基は、最も古典的な意味では核酸塩基でないが、核酸塩基と同じように機能する「ユニバーサル塩基」である。かかるユニバーサル塩基の1つの代表的な例は、3-ニトロピロールである。

【0886】

一部の実施形態において、本明細書に開示される方法では他のヌクレオシドも使用することができ、修飾核酸塩基又は修飾糖に共有結合的に結合した核酸塩基を取り込むヌクレオシドが挙げられる。修飾核酸塩基を取り込むヌクレオシドの一部の例としては、4-アセチルシチジン; 5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウリジン; 2'-O-メチルシチジン; 5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン; 5-カルボキシメチル

アミノメチルウリジン；ジヒドロウリジン；2"-O-メチルプソイドウリジン； β ，D-ガラクトシルキューオシン；2"-O-メチルグアノシン；N⁶-イソペンテニルアデノシン；1-メチルアデノシン；1-メチルプソイドウリジン；1-メチルグアノシン；1-メチルイノシン；2，2-ジメチルグアノシン；2-メチルアデノシン；2-メチルグアノシン；N⁷-メチルグアノシン；3-メチルシチジン；5-メチルシチジン；5-ヒドロキシメチルシチジン；5-ホルミルシトシン；5-カルボキシルシトシン；N⁶-メチルアデノシン；7-メチルグアノシン；5-メチルアミノエチルウリジン；5-メトキシアミノメチル-2-チオウリジン； β ，D-マンノシルキューオシン；5-メトキシカルボニルメチルウリジン；5-メトキシウリジン；2-メチルチオ-N⁶-イソペンテニルアデノシン；N-（（9- β ，D-リボフラノシル-2-メチルチオプリン-6-イル）カルバモイル）スレオニン；N-（（9- β ，D-リボフラノシルプリン-6-イル）-N-メチルカルバモイル）スレオニン；ウリジン-5-オキシ酢酸メチルエステル；ウリジン-5-オキシ酢酸（v）；プソイドウリジン；キューオシン；2-チオシチジン；5-メチル-2-チオウリジン；2-チオウリジン；4-チオウリジン；5-メチルウリジン；2"-O-メチル-5-メチルウリジン；及び2"-O-メチルウリジンが挙げられる。

【0887】

一部の実施形態において、ヌクレオシドとしては、6位に（R）又は（S）の何れかのキラリティーを有する6-修飾二環式ヌクレオシドが挙げられ、且つ米国特許第7，399，845号明細書に記載される類似体が挙げられる。他の実施形態において、ヌクレオシドとしては、5位に（R）又は（S）の何れかのキラリティーを有する5"-修飾二環式ヌクレオシドが挙げられ、且つ米国特許出願公開第20070287831号明細書に記載される類似体が挙げられる。

【0888】

一部の実施形態において、核酸塩基又は修飾核酸塩基は、例えば、抗体、抗体断片、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、受容体リガンド又はキレート部分など、1つ以上の生体分子結合部分を含む。他の実施形態において、核酸塩基又は修飾核酸塩基は、5-プロモウラシル、5-ヨードウラシル又は2，6-ジアミノプリンである。一部の実施形態において、核酸塩基又は修飾核酸塩基は、蛍光又は生体分子結合部分による置換によって修飾される。一部の実施形態において、核酸塩基又は修飾核酸塩基上の置換基は蛍光部分である。一部の実施形態において、核酸塩基又は修飾核酸塩基上の置換基はビオチン又はアビジンである。

【0889】

上述の修飾核酸塩基並びに他の修飾核酸塩基の特定のものの調製について教示する代表的な米国特許としては、限定はされないが、上述の米国特許第3，687，808号明細書並びに米国特許第4，845，205号明細書；同第5，130，30号明細書；同第5，134，066号明細書；同第5，175，273号明細書；同第5，367，066号明細書；同第5，432，272号明細書；同第5，457，187号明細書；同第5，457，191号明細書；同第5，459，255号明細書；同第5，484，908号明細書；同第5，502，177号明細書；同第5，525，711号明細書；同第5，552，540号明細書；同第5，587，469号明細書；同第5，594，121号明細書、同第5，596，091号明細書；同第5，614，617号明細書；同第5，681，941号明細書；同第5，750，692号明細書；同第6，015，886号明細書；同第6，147，200号明細書；同第6，166，197号明細書；同第6，222，025号明細書；同第6，235，887号明細書；同第6，380，368号明細書；同第6，528，640号明細書；同第6，639，062号明細書；同第6，617，438号明細書；同第7，045，610号明細書；同第7，427，672号明細書；及び同第7，495，088号明細書（これらの各々の修飾核酸塩基、糖及びヌクレオチド間結合は参照によって援用される）が挙げられる。

【0890】

一部の実施形態において、塩基は、任意選択で置換されているA、T、C、G又はUであり、ここで、1つ以上の $-\text{NH}_2$ は、独立に、且つ任意選択で、 $-\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)_3$ に置き換えられ、1つ以上の $-\text{NH}-$ は、独立に、且つ任意選択で、 $-\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)_2-$ に置き換えられ、1つ以上の $=\text{N}-$ は、独立に、且つ任意選択で、 $-\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)-$ に置き換えられ、1つ以上の $=\text{CH}-$ は、独立に、且つ任意選択で、 $=\text{N}-$ に置き換えられ、及び1つ以上の $=\text{O}$ は、独立に、且つ任意選択で、 $=\text{S}$ 、 $=\text{N}(-\text{L}-\text{R}^1)$ 又は $=\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)_2$ に置き換えられ、式中、2つ以上の $-\text{L}-\text{R}^1$ は任意選択でそれらの介在原子と一緒にあって、0～10個のヘテロ原子環原子を有する3～30員環の二環式又は多環式の環を形成する。一部の実施形態において、修飾塩基は、任意選択で置換されているA、T、C、G又はUであり、ここで、1つ以上の $-\text{NH}_2$ は、独立に、且つ任意選択で、 $-\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)_3$ に置き換えられ、1つ以上の $-\text{NH}-$ は、独立に、且つ任意選択で、 $-\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)_2-$ に置き換えられ、1つ以上の $=\text{N}-$ は、独立に、且つ任意選択で、 $-\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)-$ に置き換えられ、1つ以上の $=\text{CH}-$ は、独立に、且つ任意選択で、 $=\text{N}-$ に置き換えられ、及び1つ以上の $=\text{O}$ は、独立に、且つ任意選択で、 $=\text{S}$ 、 $=\text{N}(-\text{L}-\text{R}^1)$ 又は $=\text{C}(-\text{L}-\text{R}^1)_2$ に置き換えられ、式中、2つ以上の $-\text{L}-\text{R}^1$ は任意選択でそれらの介在原子と一緒にあって、0～10個のヘテロ原子環原子を有する3～30員環の二環式又は多環式の環を形成し、ここで、修飾塩基は、天然A、T、C、G及びUと異なる。一部の実施形態において、塩基は、任意選択で置換されているA、T、C、G又はUである。一部の実施形態において、修飾塩基は、置換されているA、T、C、G又はUであり、ここで、修飾塩基は、天然A、T、C、G及びUと異なる。

10

20

【0891】

一部の実施形態において、ヌクレオシドは、Gryaznov, S; Chen, J. - K. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 3143; Hendrix et al. 1997 Chem. Eur. J. 3:110; Hyrup et al. 1996 Bioorg. Med. Chem. 4:5; Jepsen et al. 2004 Oligo. 14:130-146; Jones et al. J. Org. Chem. 1993, 58, 2983; Koizumi et al. 2003 Nuc. Acids Res. 12:3267-3273; Koshkin et al. 1998 Tetrahedron 54:3607-3630; Kumar et al. 1998 Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:2219-2222; Lauritsen et al. 2002 Chem. Comm. 5: 530-531; Lauritsen et al. 2003 Bioorg. Med. Chem. Lett. 13:253-256; Mesmaeker et al. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1994, 33, 226; Morita et al. 2001 Nucl. Acids Res. Suppl. 1:241-242; Morita et al. 2002 Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:73-76; Morita et al. 2003 Bioorg. Med. Chem. Lett. 2211-2226; Nielsen et al. 1997 Chem. Soc. Rev. 73; Nielsen et al. 1997 J. Chem. Soc. Perkins Transl. 1:3423-3433; Obika et al. 1997 Tetrahedron Lett. 38(50):8735-8; Obika et al. 1998 Tetrahedron Lett. 39:5401-5404; Pallan et al. 2012 Chem. Comm. 48:8195-8197; Petersen et al. 2003 TRENDS Biotech. 21:74-81; Rajwanshi et al. 1999 Chem. Commun. 1395-1396; Schultz et al. 1996 Nucleic Acids Res. 24: 2966; Seth et al. 2009 J. Med. Chem. 52:10-13; Seth et al. 2010 J. Med. Chem. 53:8309-8318; Seth et al. 2010 J. Org. Chem. 75:1569-1581; Seth e

30

40

50

t al. 2012 Bioo. Med. Chem. Lett. 22:296-299; Seth et al. 2012 Mol. Ther-Nuc. Acids. 1, e47; Seth, Punit P; Siwkowski, Andrew; Allerson, Charles R; Vasquez, Guillermo; Lee, Sam; Prakash, Thazha P; Kinberger, Garth; Migawa, Michael T; Gaus, Hans; Bhat, Balkrishen; et al. From Nucleic Acids Symposium Series (2008), 52(1), 553-554; Singh et al. 1998 Chem. Comm. 1247-1248; Singh et al. 1998 J. Org. Chem. 63:10035-39; Singh et al. 1998 J. Org. Chem. 63:6078-6079; Sorensen 2003 Chem. Comm. 2130-2131; Ts'o et al. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1988, 507, 220; Van Aerschot et al. 1995 Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 34:1338; Vasseur et al. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 4006; 国際公開第20070900071号パンフレット; 国際公開第20070900071号パンフレット; 又は国際公開第2016/079181号パンフレットの何れかに記載される何れかである。

10

【0892】

例示的な核酸塩基は、米国特許出願公開第20110294124号明細書、米国特許出願公開第20120316224号明細書、米国特許出願公開第20140194610号明細書、米国特許出願公開第20150211006号明細書、米国特許出願公開第20150197540号明細書、国際公開第2015107425号パンフレット、PCT/US2016/043542号明細書及びPCT/US2016/043598号明細書（この各々が参照により本明細書に援用される）にも記載されている。

20

【0893】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、Feldman et al. 2017 J. Am. Chem. Soc. 139:11427-11433、Feldman et al. 2017 Proc. Natl. Acad. Sci. US A 114:E6478-E6479、Hwang et al. 2009 Nucl. Acids Res. 37:4757-4763、Hwang et al. 2008 J. Am. Chem. Soc. 130:14872-14882、Lavergne et al. 2012 Chem. Eur. J. 18:1231-1239、Lavergne et al. 2013 J. Am. Chem. Soc. 135:5408-5419、Ledbetter et al. 2018 J. Am. Chem. Soc. 140:758-765、Malyshev et al. 2009 J. Am. Chem. Soc. 131:14620-14621、Seo et al. 2009 ChemBioChem 10:2394-2400に記載される核酸塩基、合成若しくは修飾核酸塩基、ヌクレオシド若しくはヌクレオチド又は修飾ヌクレオシド若しくは修飾ヌクレオチド、限定はされないが、d3FB、d2Py類似体、d2Py、d3MPy、d4MPy、d5MPy、d34DMPy、d35DMPy、d45DMPy、d5FM、d5PrM、d5SICS、dFEMO、dMMO2、dNaM、dNM01、dTPT3、ヌクレオチドであって、2'-アジド、2'-クロロ、2'-アミノ又はアラビノース糖を有するもの、イソカルボスチリル、ナフチル及びアザインドールヌクレオチド並びにその修飾体及び誘導体及び機能化バージョンを含めたもの、限定はされないが、糖が2'-修飾及び／又は他の修飾を含むものを含めたもの及びメター塩素、一臭素、一ヨウ素、一メチル又は一プロピニル置換基を有するdMMO2誘導体を含む。

30

40

【0894】

糖

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を

50

有する。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 標的遺伝子はリピート伸長を含む。一部の実施形態において、提供されるC 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意の糖を含む。

【0895】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 ノックダウンを導く能力を有する提供されるC 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、天然糖部分に加えて1つ以上の修飾糖部分を含む。

【0896】

最も一般的な天然に存在するヌクレオチドは、核酸塩基アデノシン（A）、シトシン（C）、グアニン（G）及びチミン（T）又はウラシル（U）につながったリボース糖を含む。また、ヌクレオチド中のリン酸基又は結合リンが糖又は修飾糖の様々な位置につながり得る修飾ヌクレオチドも企図される。非限定的な例として、リン酸基又は結合リンは、糖又は修飾糖の2"、3"、4"又は5"ヒドロキシル部分につながり得る。これに関連して、本明細書に記載される通りの修飾核酸塩基を取り込むヌクレオチドも企図される。一部の実施形態では、保護されていない-OH部分を含むヌクレオチド又は修飾ヌクレオチドが本開示の方法において使用される。

【0897】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意の塩基（核酸塩基）、修飾塩基又は塩基類似体を含むことができる。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意の塩基を、本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾、限定はされないが、塩基配列又はその一部分、糖；ヌクレオチド間結合；立体化学又はそのパターン；限定はされないが、ターゲティング部分等を含めた追加の化学的部分；糖、塩基又はヌクレオチド間結合の修飾のパターン；フォーマット又はその任意の構造要素を含めたもの及び／又は本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾と組み合わせて含むことができ；及び一部の実施形態において、本開示は、任意のかかるオリゴヌクレオチドのマルチマーに関する。

【0898】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは任意の糖を含むことができる。

【0899】

一部の実施形態において、糖は、



X=H, OH, F, OMe又はMOE

の構造を有する。

【0900】

提供されるC 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドに修飾糖を取り込むことができる。一部の実施形態において、修飾糖は、以下の1つを含め、1つ以上の置換基を2"位に含有する：-F；-CF₃、-CN、-N₃、-NO、-NO₂、-OR'、-SR'又は-N(R')₂、式中、各R'は、独立に、本開示に記載される；-O-(C₁~C₁₀アルキル)、-S-(C₁~C₁₀アルキル)、-NH-(C₁~C₁₀アルキル)又は-N(C₁~C₁₀アルキル)₂；-O-(C₂~C₁₀アルケニル)、-S-(C₂~C₁₀アルケニル)、-NH-(C₂~C₁₀アルケニル)又は-N(C₂~C₁₀アルケニル)₂；-O-(C₂~C₁₀アルキニル)、-S-(C₂~C₁₀アルキニル)、-NH-(C₂~C₁₀アルキニル)又は-N(C₂~C₁₀アルキニル)₂；又は-O-(C₁~C₁₀アルキレン)-O-(C₁~C₁₀アルキル)、-O-(C₁~C₁₀アルキレン)-NH-(C₁~C₁₀アルキル)又は-O-(C₁~C₁₀アルキレン)-NH-(C₁~C₁₀アルキル)₂、-NH-(C₁~C₁₀アルキレン)-O-(C₁~C₁₀アルキル)又は-N(C₁~C₁₀アルキル)-(C₁~C₁₀アルキレン)-

O—(C₁～C₁₀ アルキル)、式中、アルキル、アルキレン、アルケニル及びアルキニルは置換又は非置換であり得る。置換基の例としては、—O(CH₂)_nOCH₃ 及び—O(CH₂)_nNH₂ (式中、nは1～約10である)、MOE、DMAOE、DMAEOEが挙げられ、それに限定されない。本明細書では、国際公開第2001/088198号パンフレット；及びMartin et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504に記載される修飾糖も企図される。一部の実施形態において、修飾糖は、置換シリル基、RNA切断基、レポーター基、蛍光標識、インターカレーター、核酸の薬物動態特性を改善するための基、核酸の薬力学的特性を改善するための基又は同様の特性を有する他の置換基から選択される1つ以上の基を含む。一部の実施形態において、修飾は、3'-末端ヌクレオチド上の糖の3'位又は5'-末端ヌクレオチドの5'位を含め、糖又は修飾糖の2'、3'、4'、5'又は6'位の1つ以上に作られる。

10

【0901】

一部の実施形態において、2'-修飾は2'-Fである。

【0902】

一部の実施形態において、リボースの2'-OHは、以下：—H、—F；—CF₃、—CN、—N₃、—NO、—NO₂、—OR'、—SR'又は—N(R')₂ (式中、各R'は、独立に、本開示に記載される)；—O—(C₁～C₁₀ アルキル)、—S—(C₁～C₁₀ アルキル)、—NH—(C₁～C₁₀ アルキル)又は—N(C₁～C₁₀ アルキル)₂；—O—(C₂～C₁₀ アルケニル)、—S—(C₂～C₁₀ アルケニル)、—NH—(C₂～C₁₀ アルケニル)又は—N(C₂～C₁₀ アルケニル)₂；—O—(C₂～C₁₀ アルキニル)、—S—(C₂～C₁₀ アルキニル)、—NH—(C₂～C₁₀ アルキニル)又は—N(C₂～C₁₀ アルキニル)₂；又は—O—(C₁～C₁₀ アルキレン)—O—(C₁～C₁₀ アルキル)、—O—(C₁～C₁₀ アルキレン)—NH—(C₁～C₁₀ アルキル)又は—O—(C₁～C₁₀ アルキレン)—NH—(C₁～C₁₀ アルキル)₂、—NH—(C₁～C₁₀ アルキレン)—O—(C₁～C₁₀ アルキル)又は—N(C₁～C₁₀ アルキル)—(C₁～C₁₀ アルキレン)—O—(C₁～C₁₀ アルキル) (式中、アルキル、アルキレン、アルケニル及びアルキニルは置換又は非置換であり得る)の1つを含め、置換基に置き換えられる。一部の実施形態において、2'-OHは—H (デオキシリボース)に置き換えられる。一部の実施形態において、2'-OHは—Fに置き換えられる。一部の実施形態において、2'-OHは—OR'に置き換えられる。一部の実施形態において、2'-OHは—OMeに置き換えられる。一部の実施形態において、2'-OHは—OCH₂CH₂OMeに置き換えられる。

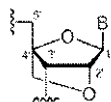
20

30

【0903】

修飾糖としては、ロックド核酸(LNA)も挙げられる。一部の実施形態において、糖炭素原子上の2つの置換基が一緒になって二価の部分形成する。一部の実施形態において、2つの置換基は2つの異なる糖炭素原子上にある。一部の実施形態において、形成される二価の部分は、本明細書に定義する通りの—L—の構造を有する。一部の実施形態において、—L—は—O—CH₂—であり、式中、—CH₂—は任意選択で置換されている。一部の実施形態において、—L—は—O—CH(Et)—である。一部の実施形態において、—L—は糖部分のC2～C4である。一部の実施形態において、ロックド核酸は、以下に示す構造を有する。以下の構造のロックド核酸が指示され、式中、Bは、本明細書に記載される通りの核酸塩基又は修飾核酸塩基を表し、及び式中、例えば、R^{2s}及びR^{4s}は、それらの介在原子と一緒に形成する環を形成するRである。一部の実施形態において、修飾ヌクレオシドは

40



の構造を有し、式中、Bは塩基である。

【0904】

50

一部の実施形態において、修飾糖は、例えば、Seth et al., J Am Chem Soc. 2010 October 27; 132(42):14942-14950に記載されるものなど、ENAである。一部の実施形態において、修飾糖は、XNA（ゼノ核酸）に見られるものの何れか、例えばアラビノース、アンヒドロヘキシトール、トレオース、2'フルオロアラビノース又はシクロヘキセンである。

【0905】

修飾糖としては、ペントフラノシル糖の代わりにシクロブチル又はシクロペンチル部分が挙げられる。かかる修飾糖構造の調製について教示する代表的な米国特許としては、限定はされないが、米国特許第4,981,957号明細書；同第5,118,800号明細書；同第5,319,080号明細書；及び同第5,359,044号明細書が挙げられる。企図される一部の修飾糖としては、リボース環内の酸素原子が窒素、硫黄、セレン又は炭素によって置き換えられる糖が挙げられる。一部の実施形態において、修飾糖は修飾リボースであり、ここで、リボース環内の酸素原子は、窒素に置き換えられ、この窒素は、任意選択でアルキル基（例えば、メチル、エチル、イソプロピル等）に置換される。

【0906】

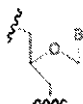
修飾糖の非限定的な例としてはグリセロールが挙げられ、これによりグリセロール核酸（GNA）が形成される。GNAの一例は以下に示され、Zhang, Ret al., J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 5846-5847; Zhang L, et al., J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 4174-4175及びTsai CH et al., PNAS, 2007, 14598-14603に記載されている。一部の実施形態において、ヌクレオシドは



の構造を有し、式中、Bは塩基である。

【0907】

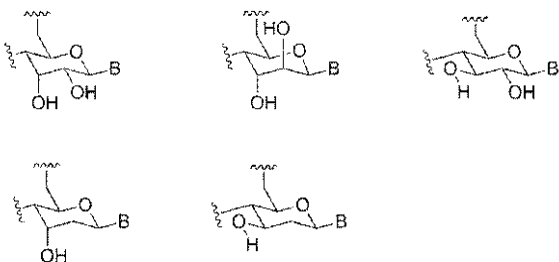
ホルミルグリセロールの混合アセタールアミナールをベースとするフレキシブル核酸（FNA）が、Joyce GF et al., PNAS, 1987, 84, 4398-4402及びHeuberger BD and Switzer C, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 412-413に記載されている。一部の実施形態において、ヌクレオシドは



の構造を有し、式中、Bは塩基である。

【0908】

修飾糖及び／又は修飾ヌクレオシド及び／又は修飾ヌクレオチドの更なる非限定的な例としては、ヘキソピラノシル（6'→4'）、ペントピラノシル（4'→2'）、ペントピラノシル（4'→3'）、5'-デオキシ-5'-C-マロニル、スクアリルジアミド及びテトロフラノシル（3'→2'）糖が挙げられる。一部の実施形態において、修飾ヌクレオシドはヘキソピラノシル（6'→4'）糖を含み、以下の式にある何れか1つの構造を有する：



10

20

30

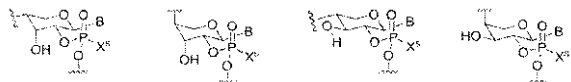
40

50

式中、 X^s は本明細書に記載される P 修飾基「 $-XLR^1$ 」に対応し、ここで、 XLR^1 は、 $X-L-R^1$ と等価であり、 X 、 L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りであり、及び B は塩基である。

【0909】

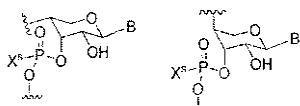
一部の実施形態において、修飾ヌクレオチドはペントピラノシル（ $4' \rightarrow 2'$ ）糖を含み、以下の式にある何れか 1 つの構造を有する：



式中、 X^s は、本明細書に記載される P 修飾基「 $-XLR^1$ 」に対応し、ここで、 XLR^1 は、 $X-L-R^1$ と等価であり、 X 、 L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りであり、及び B は塩基である。

【0910】

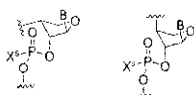
一部の実施形態において、修飾ヌクレオチドはペントピラノシル（ $4' \rightarrow 3'$ ）糖を含み、以下の式にある何れか 1 つである：



式中、 X^s は、本明細書に記載される P 修飾基「 $-XLR^1$ 」に対応し、ここで、 XLR^1 は、 $X-L-R^1$ と等価であり、 X 、 L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りであり、及び B は塩基である。

【0911】

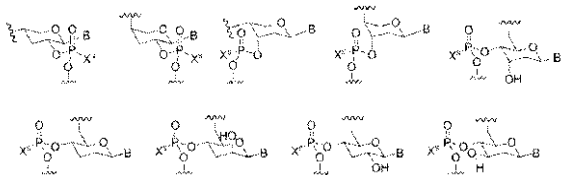
一部の実施形態において、修飾ヌクレオチドはテトロフラノシル（ $3' \rightarrow 2'$ ）糖を含み、以下の式にある何れか一方である：



式中、 X^s は、本明細書に記載される P 修飾基「 $-XLR^1$ 」に対応し、ここで、 XLR^1 は、 $X-L-R^1$ と等価であり、 X 、 L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りであり、及び B は塩基である。

【0912】

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチドは修飾糖を含み、以下の式にある何れか 1 つである：



式中、 X^s は、本明細書に記載される P 修飾基「 $-XLR^1$ 」に対応し、ここで、 XLR^1 は、 $X-L-R^1$ と等価であり、 X 、 L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りであり、及び B は塩基である。

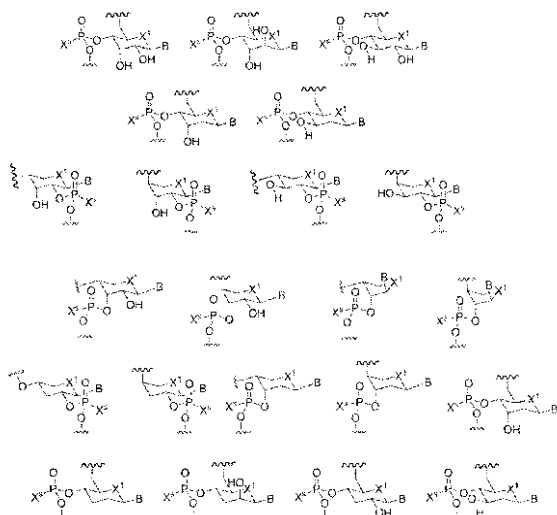
【0913】

一部の実施形態において、糖部分の 1 つ以上のヒドロキシル基は、任意選択で、且つ独立に、ハロゲン、 $R'-N(R')$ 、 $-OR'$ 又は $-SR'$ （式中、各 R' は、独立に、本開示に記載される）に置き換えられる。

【0914】

一部の実施形態において、修飾ヌクレオチドは以下に示される通りであり、式中、 X^s は、本明細書に記載される P 修飾基「 $-XLR^1$ 」に対応し、ここで、 XLR^1 は、 $X-L-R^1$ と等価であり、 X 、 L 及び R^1 は、本明細書に開示される式 I に定義される通りであり、 B は塩基であり、及び X^1 は、 $-S-$ 、 $-Se-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-NMe-$ 、 $-$

N E t - 及び - N i P r - から選択される



10

【 0 9 1 5 】

修飾糖は、限定はされないが、A. Eschenmoser, Science (1999), 284:2118; M. Bohringer et al, Helv. Chim. Acta (1992), 75:1416-1477; M. Egli et al, J. Am. Chem. Soc. (2006), 128(33):10847-56; A. Eschenmoser in Chemical Synthesis: Gnosis to Prognosis, C. Chatgililoglu and V. Sniekus, Ed., (Kluwer Academic, Netherlands, 1996), p. 293; K. -U. Schonling et al, Science (2000), 290:1347-1351; A. Eschenmoser et al, Helv. Chim. Acta (1992), 75:218; J. Hunziker et al, Helv. Chim. Acta (1993), 76:259; G. Otting et al, Helv. Chim. Acta (1993), 76:2701; K. Groebke et al, Helv. Chim. Acta (1998), 81:375; 及び A. Eschenmoser, Science (1999), 284:2118を含め、当技術分野において公知の方法により調製することができる。2'修飾の修飾については、Verma, S. et al. Annu. Rev. Biochem. 1998, 67, 99-134 及びその中の全ての参考文献を参照することができる。リボースの具体的な修飾については、以下の参考文献を参照することができる: 2'-フルオロ (Kawasaki et al., J. Med. Chem., 1993, 36, 831-841)、2'-MOE (Martin, P. Helv. Chim. Acta 1996, 79, 1930-1938)、「LNA」(Wengel, J. Acc. Chem. Res. 1999, 32, 301-310)。一部の実施形態において、修飾糖は、国際公開第2012/030683号パンフレット(参照により本明細書に援用される)に記載されるもの及び/又は本明細書に示されるものの何れかである。一部の実施形態において、修飾糖は、Gryaznov, S; Chen, J. -K. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 3143; Hendrix et al. 1997 Chem. Eur. J. 3:110; Hyrup et al. 1996 Bioorg. Med. Chem. 4:5; Jepsen et al. 2004 Oligo. 14:130-146; Jones et al. J. Org. Chem. 1993, 58, 2983; Koizumi et al. 2003 Nuc. Acids Res. 12:3267-3273; Koshkin et al. 1998 Tetrahedron 54:3607-3630; Kumar et al. 1998 Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:2219-2222; Lauritsen et al. 2002 Chem. Comm. 5: 530-531; Lauritsen et al. 2003 Bioorg. Med.

20

30

40

50

. Chem. Lett. 13:253-256; Mesmaeker et al. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1994, 33, 226; Morita et al. 2001 Nucl. Acids Res. Supp. 1:241-242; Morita et al. 2002 Bioo. Med. Chem. Lett. 12:73-76; Morita et al. 2003 Bioo. Med. Chem. Lett. 2211-2226; Nielsen et al. 1997 Chem. Soc. Rev. 73; Nielsen et al. 1997 J. Chem. Soc. Perkins Transl. 1:3423-3433; Obika et al. 1997 Tetrahedron Lett. 38(50):8735-8; Obika et al. 1998 Tetrahedron Lett. 39:5401-5404; Pallan et al. 2012 Chem. Comm. 48:8195-8197; Petersen et al. 2003 TRENDS Biotech. 21:74-81; Rajwanshi et al. 1999 Chem. Commun. 1395-1396; Schultz et al. 1996 Nucleic Acids Res. 24: 2966; Seth et al. 2009 J. Med. Chem. 52:10-13; Seth et al. 2010 J. Med. Chem. 53:8309-8318; Seth et al. 2010 J. Org. Chem. 75:1569-1581; Seth et al. 2012 Bioo. Med. Chem. Lett. 22:296-299; Seth et al. 2012 Mol. Ther-Nuc. Acids. 1, e47; Seth, Punit P; Siwkowski, Andrew; Allerson, Charles R; Vasquez, Guillermo; Lee, Sam; Prakash, Thazha P; Kinberger, Garth; Migawa, Michael T; Gaus, Hans; Bhat, Balakrishnen; et al. From Nucleic Acids Symposium Series (2008), 52(1), 553-554; Singh et al. 1998 Chem. Comm. 1247-1248; Singh et al. 1998 J. Org. Chem. 63:10035-39; Singh et al. 1998 J. Org. Chem. 63:6078-6079; Sorensen 2003 Chem. Comm. 2130-2131; Ts'o et al. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1988, 507, 220; Van Aerschot et al. 1995 Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 34:1338; Vasseur et al. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 4006; 国際公開第20070900071号パンフレット; 国際公開第20070900071号パンフレット; 又は国際公開第2016/079181号パンフレットの何れかに記載される任意の修飾糖である。

10

20

30

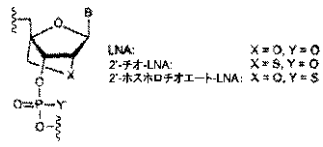
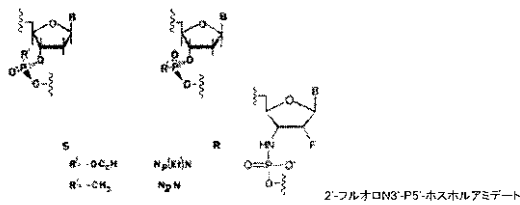
40

【0916】

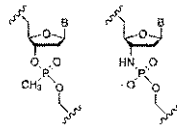
一部の実施形態において、修飾糖部分は、任意選択で置換されているペントース又はヘキソース部分である。一部の実施形態において、修飾糖部分は、任意選択で置換されているペントース部分である。一部の実施形態において、修飾糖部分は、任意選択で置換されているヘキソース部分である。一部の実施形態において、修飾糖部分は、任意選択で置換されているリボース又はヘキシトール部分である。一部の実施形態において、修飾糖部分は、任意選択で置換されているリボース部分である。一部の実施形態において、修飾糖部分は、任意選択で置換されているヘキシトール部分である。

【0917】

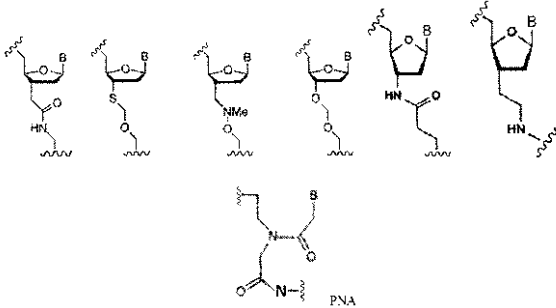
一部の実施形態において、例示的修飾ヌクレオチドは、以下から選択される：



10

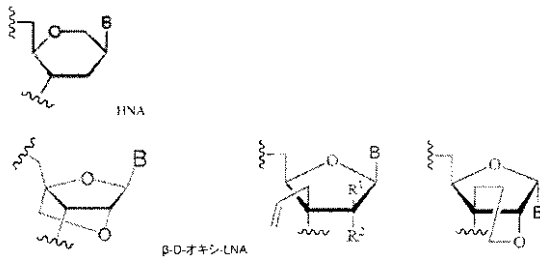


一部の実施形態において、ヌクレオチドは、以下の何れかから選択される構造を有する：



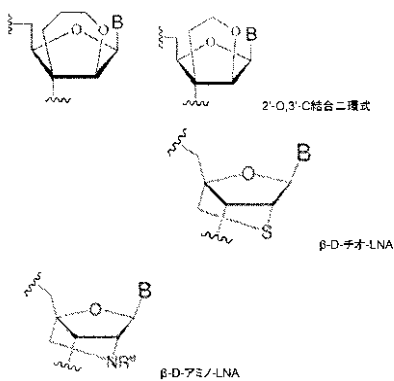
20

一部の実施形態において、修飾ヌクレオシドは、以下から選択される構造を有する：



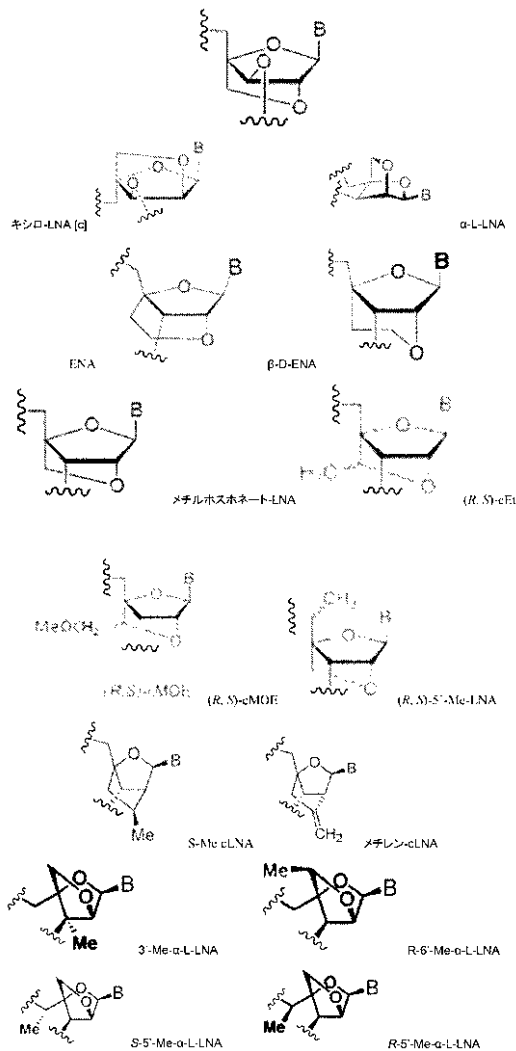
30

式中、 R^1 及び R^2 は、独立に、 $-H$ 、 $-F$ 、 $-OMe$ 、 $-MOE$ 又は置換若しくは非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキルである；



40

式中、 R^e は、置換又は非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキル又はHである



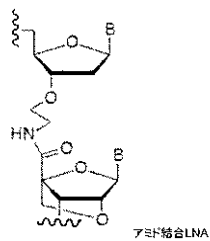
10

20

更なる化学修飾糖については、国際公開第2008/101157号パンフレット、国際公開第2007/134181号パンフレット、国際公開第2016/167780号パンフレット及び米国特許出願公開第2005-0130923号明細書に記載されている。

30

一部の実施形態において、ヌクレオチド及び隣接ヌクレオシドは、以下の構造を有する：



40

【0918】

修飾糖部分を有するヌクレオシドの例としては、限定なしに、5'-ビニル、5'-メチル基 (R又はS)、4'-S、2'-F、2'-OCH₃、2'-OCH₂CH₃、2'-OCH₂CH₂F及び2'-O(CH₂)₂OCH₃置換基を含むヌクレオシドが挙げられる。2'位の置換基は、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C₁~C₁₀アルキル、OCF₃、OCH₂F、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)、O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n)及びO-CH₂-C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n) (式中、各R₁、R_m及びR_nは、独立に、H又は置換若しくは非置換C₁~C₁₀アルキルである)から選択することもできる。

50

【0919】

一部の実施形態において、二環式ヌクレオシドには、二環式糖部分を含む任意の修飾ヌクレオシドが含まれる。二環式核酸（BNA）の例としては、限定なしに、4'及び2'リボシル環原子間に架橋を含むヌクレオシドが挙げられる。一部の実施形態において、本明細書に提供されるアンチセンス化合物は1つ以上のBNAヌクレオシドを含み、ここで、架橋は、以下の式の1つを含む：4'-(CH₂)-O-2' (LNA)；4'-(CH₂)-S-2'；4, -(CH₂)₂-O-2' (ENA)；4'-CH(CH₃)-O-2' 及び4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2'（及びその類似体；米国特許第7, 399, 845号明細書を参照されたい）；4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2'（及びその類似体；国際公開第2009/006478号パンフレットとして公開されたPCT/US2008/068922号明細書を参照されたい）；4'-CH₂-N(OCH₃)-2'（及びその類似体；国際公開第2008/150729号パンフレットとして公開されたPCT/US2008/064591号明細書を参照されたい）；4'-CH₂-O-N(CH₃)-2'（米国特許出願公開第2004-0171570号明細書を参照されたい）；4'-CH₂-N(R)-O-2'（式中、Rは、H、C₁～C₁₂アルキル又は保護基である）（米国特許第7, 427, 672号明細書を参照されたい）；4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (Chattopadhyaya et al, J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134を参照されたい)；及び4, -CH₂-C(=CH₂)-2'（及びその類似体；国際公開第2008/154401号パンフレットとして公開されたPCT/US2008/066154号明細書を参照されたい）。

10

20

【0920】

更なる二環式ヌクレオシドが文献に報告されている（例えば、Srivastava et al, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26)8362-8379；Frieden et al, Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372；Elayadi et al, Curr. Opinion Inverts. Drugs, 2001, 2, 558-561；Braasch et al, Chem. Biol, 2001, 8, 1-7；Oram et al, Curr. Opinion Mol Ther., 2001, 3, 239-243；Wahlestedt et al, Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638；Singh et al, Chem. Commun., 1998, 4, 455-456；Koshkin et al, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630；Kumar et al, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222；Singh et al, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039；米国特許第7, 399, 845号明細書；同第7, 053, 207号明細書；同第7, 034, 133号明細書；同第6, 794, 499号明細書；同第6, 770, 748号明細書；同第6, 670, 461号明細書；同第6, 525, 191号明細書；同第6, 268, 490号明細書；米国特許出願公開第2008-0039618号明細書；同第2007-0287831号明細書；同第2004-0171570号明細書；米国特許出願第12/129, 154号明細書；米国仮特許出願第61/099, 844号明細書；同第61/097, 787号明細書；同第61/086, 231号明細書；同第61/056, 564号明細書；同第61/026, 998号明細書；同第61/026, 995号明細書；同第60/989, 574号明細書；国際公開第2007/134181号パンフレット；同第2005/021570号パンフレット；同第2004/106356号パンフレット；及びPCT国際出願第PCT/US2008/068922号明細書；同第PCT/US2008/066154号明細書；及び同第PCT/US2008/064591号明細書を参照されたい）。

30

40

【0921】

一部の実施形態において、例えばα-L-リボフラノース及びβ-D-リボフラノース

50

を含め、1つ以上の立体化学的糖配置を有する二環式ヌクレオシドを調製することができる（国際公開第99/14226号パンフレットとして公開された、PCT国際出願第PCT/DK98/00393号明細書を参照されたい）。一部の実施形態において、単環式ヌクレオシドは、二環式糖部分でない修飾糖部分を含むヌクレオシドである。一部の実施形態において、ヌクレオシドの糖部分又は糖部分類似体は、任意の位置で修飾又は置換され得る。一部の実施形態において、4'-2'二環式ヌクレオシド又は4'→2'二環式ヌクレオシドは、糖環の2'位炭素原子と4'位炭素原子とを連結する、その2つの炭素原子を連結する架橋を含むフラノース環を含む二環式ヌクレオシドである。一部の実施形態において、BNAヌクレオシドの二環式糖部分としては、限定なしに、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-C(R_a)=C(R_b)-$ 、 $-C(R_a)=N-$ 、 $-C(=NR_a)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_a)_2-$ 、 $-S(=O)x-$ 及び $-N(R_a)-$ 〔式中：xは0、1又は2であり；nは1、2、3又は4であり；各 R_a 及び R_b は、独立に、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1\sim C_{12}$ アルキル、置換 $C_1\sim C_{12}$ アルキル、 $C_2\sim C_{12}$ アルケニル、置換 $C_2\sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2\sim C_{12}$ アルキニル、置換 $C_2\sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5\sim C_{20}$ アリール、置換 $C_5\sim C_{20}$ アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $C_5\sim C_7$ 脂環式ラジカル、置換 $C_5\sim C_7$ 脂環式ラジカル、ハロゲン、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、アシル($C(=O)-H$)、置換アシル、 CN 、スルホニル($S(=O)_2-J_1$)又はスルホキシル($S(=O)-J_1$)であり；及び各 J_1 及び J_2 は、独立に、H、 $C_1\sim C_{12}$ アルキル、置換 $C_1\sim C_{12}$ アルキル、 $C_2\sim C_{12}$ アルケニル、置換 $C_2\sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2\sim C_{12}$ アルキニル、置換 $C_2\sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5\sim C_{20}$ アリール、置換 $C_5\sim C_{20}$ アリール、アシル($C(=O)-H$)、置換アシル、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、 $C_1\sim C_{12}$ アミノアルキル、置換 $C_1\sim C_{12}$ アミノアルキル又は保護基である〕から独立に選択される1つ又は1～4つの連結された基を含む架橋を含め、ペントフラノシル糖部分の4'位炭素原子と2'位炭素原子との間に少なくとも1つの架橋を有する化合物が、限定はされないが、挙げられる。

【0922】

一部の実施形態において、二環式糖部分の架橋は、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$ 、 $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ 又は $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ である。一部の実施形態において、架橋は、4'- CH_2-2' 、4'- $(CH_2)_2-2'$ 、4'- $(CH_2)_3-2'$ 、4'- CH_2-O-2' 、4'- $(CH_2)_2-O-2'$ 、4'- $CH_2-O-N(R)-2'$ 及び4'- $CH_2-N(R)-O-2'$ （式中、各Rは、独立に、H、保護基又は $C_1\sim C_{12}$ アルキルである）である。

【0923】

一部の実施形態において、二環式ヌクレオシドは異性体立体配置によって更に定義付けられる。例えば、4'- $(CH_2)-O-2'$ 架橋を含むヌクレオシドは、 $\alpha-L$ 配置又は $\beta-D$ 配置であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドに $\alpha-L$ -メチレンオキシ(4'- CH_2-O-2')BNAが取り込まれており、このアンチセンスオリゴヌクレオチドはアンチセンス活性を示した(Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。

【0924】

一部の実施形態において、二環式ヌクレオシドとしては、4'→2'架橋を有するものが挙げられ、ここで、かかる架橋としては、限定なしに、 $\alpha-L-4'-(CH_2)-O-2'$ 、 $P-D-4'-CH_2-O-2'$ 、4'- $(CH_2)_2-O-2'$ 、4'- $CH_2-O-N(R)-2'$ 、4'- $CH_2-N(R)-O-2'$ 、4'- $CH(CH_3)-O-2'$ 、4'- CH_2-S-2' 、4'- $CH_2-N(R)-2'$ 、4'- $CH_2-CH(CH_3)-2'$ 及び4'- $(CH_2)_3-2'$ （式中、Rは、H、保護基又は $C_1\sim C_{12}$ アルキルである）が挙げられる。

【0925】

4'-CH₂-O-2'及び4'-CH₂-S-2'などの4'→2'架橋基を有する様々な二環式ヌクレオシドの類似体も調製されている(Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222)。核酸ポリメラーゼの基質として使用するための二環式ヌクレオシドを含むオリゴデオキシリボヌクレオチド二重鎖の調製についても記載されている(Wengel et al., 国際公開第99/14226号パンフレット)。更に、新規の立体配置的に制限された高親和性オリゴヌクレオチド類似体である2'-アミノ-BNAの合成が、当技術分野において記載されている(Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039)。加えて、2'-アミノ-及び2'-メチルアミノ-BNAが調製されており、相補的RNA及びDNA鎖とのそれらの二重鎖の熱安定性について既に報告がある。

10

【0926】

4'-(CH₂)₃-2'架橋とアルケニル類似体架橋4'-CH=CH-CH₂-2'とを有する1つの炭素環式二環式ヌクレオシドが記載されている(Frier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4429-4443及びAlbaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740)。炭素環式二環式ヌクレオシドの合成及び調製についても、そのオリゴマー形成及び生化学研究と共に記載されている(Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129(26), 8362-8379)。

20

【0927】

一部の実施形態において、二環式ヌクレオシドとしては、限定はされないが、α-L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')BNA、β-D-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH₂)₂-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH₂-O-N(R)-2')BNA、オキシアミノ(4'-CH₂-N(R)-O-2')BNA、メチル(メチレンオキシ)(4'-CH(CH₃)-O-2')BNA(拘束エチル又はcEtとも称される)、メチレン-チオ(4'-CH₂-S-2')BNA、メチレン-アミノ(4'-CH₂-N(R)-2')BNA、メチル炭素環式(4'-CH₂-CH(CH₃)-2')BNA、プロピレン炭素環式(4'-(CH₂)₃-2')BNA及びビニルBNAが挙げられる。

30

【0928】

一部の実施形態において、修飾テトラヒドロピランヌクレオシド又は修飾THPヌクレオシドは、通常のヌクレオシドにおけるペントフラノシル残基を置換する6員環テトラヒドロピラン「糖」を有するヌクレオシドであり、代用糖と称することができる。修飾THPヌクレオシドとしては、限定はされないが、当技術分野でヘキシトール核酸(HNA)、アニトール核酸(ANA)、マニトール核酸(MNA)と称されるもの(Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854を参照されたい)又は以下に示される通りのテトラヒドロピラニル環系を有するフルオロHNA(F-HNA)が挙げられる。

40

【0929】

一部の実施形態において、代用糖は、6つ以上の原子及び2つ以上のヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルホリノ糖部分を含むヌクレオシド及びオリゴマー化合物におけるその使用が報告されている(例えば、Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510;及び米国特許第5,698,685号明細書;同第5,166,315号明細書;同第5,185,444号明細書;及び同第5,034,506号明細書を参照されたい)。

【0930】

修飾の組み合わせも、限定なしに、2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド(他の開示される5', 2'-ビス置換ヌクレオシドについて国際公開第2008/101157

50

号パンフレットを参照されたい) 及びSによるリボシル環酸素原子の置き換え及び2'位における更なる置換(米国特許出願公開第2005-0130923号明細書を参照されたい)又は代わりに二環式核酸の5'-置換(国際公開第2007/134181号パンフレットを参照されたく、ここで、4'-CH₂-O-2'二環式ヌクレオシドは、5'位で5'-メチル又は5'-ビニル基に更に置換される)など、提供される。炭素環式二環式ヌクレオシドの合成及び調製についても、そのオリゴマー形成及び生化学研究と共に記載されている(例えば、Srivastava et al, J. Am. Chem. Soc. 2007, 129(26), 8362-8379を参照されたい)。

【0931】

一部の実施形態において、アンチセンス化合物は1つ以上の修飾シクロヘキセニルヌクレオシドを含み、これは、天然に存在するヌクレオシドのペントフラノシル残基の代わりに6員環シクロヘキセニルを有するヌクレオシドである。修飾シクロヘキセニルヌクレオシドとしては、限定はされないが、当技術分野において記載されるものが挙げられる(例えば、共同所有の国際公開第2010/036696号パンフレット、Robeyns et al, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130(6), 1979-1984; Horvath et al, Tetrahedron Letters, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(30), 9340-9348; Gu et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts et al, Nucleic Acids Research, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns et al., Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallography, 2005, F61(6), 585-586; Gu et al, Tetrahedron, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu et al, Oligonucleotides, 2003, 13(6), 479-489; Wang et al, J. Org. Chem., 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al, Nucleic Acids Research, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang et al, J. Org. Chem., 2001, 66, 8478-82; Wang et al, Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang et al, J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 8595-8602; 国際公開第06/047842号パンフレット; 及び国際公開第01/049687号パンフレットを参照されたい。

【0932】

他の多く単環式、二環式及び三環式環系が当技術分野において公知であり、本明細書に提供される通りのオリゴマー化合物に取り込むためのヌクレオシドの修飾に使用できる代用糖として好適である(例えば、レビュー論文: Leumann, Christian J. Bioorg. & Med. Chem., 2002, 10, 841-854を参照されたい)。かかる環系は、その活性を更に亢進させるため、様々な追加的な置換を行うことができる。一部の実施形態において、2'-修飾糖は、2'位で修飾されたフラノシル糖である。一部の実施形態において、かかる修飾は、ハロゲン化物、限定はされないが、置換及び非置換アルコキシ、置換及び非置換チオアルキル、置換及び非置換アミノアルキル、置換及び非置換アルキル、置換及び非置換アリル並びに置換及び非置換アルキニルを含めたものから選択される置換基を含む。一部の実施形態において、2'修飾は、限定はされないが、O[(CH₂)_nO]_mCH、O(CH₂)_nNH₂、O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nF、O(CH₂)_nONH₂、OCH₂C(=O)N(H)CH₃及びO(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂(式中、n及びmは1~約10である)を含めた置換基から選択される。他の2'-置換基も、C₁~C₁₂アルキル、置換アルキル、アルケニル、アルキニル、アルカリール、アラルキル、O-アルカリール又はO-ア

10

20

30

40

50

ラルキル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、F、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ON₂O、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、R^A切断基、レポーター基、インターカレーター、アンチセンス化合物の薬物動態特性を改善するための基又は薬力学的特性を改善するための基及び同様の特性を有する他の置換基から選択することができる。一部の実施形態において、修飾ヌクレオシドは2'-MOE側鎖(Baker et al, J. Biol. Chem., 1997, 272, 11944-12000)を含む。かかる2'-MOE置換は、非修飾ヌクレオシド及び他の修飾ヌクレオシド、例えば2'-O-メチル、O-プロピル及びO-アミノプロピルと比較して結合親和性が改善されていると記載されている。2'-MOE置換基を有するオリゴヌクレオチドも、インビボ使用に有望な特徴を備えた遺伝子発現のアンチセンス阻害薬であることが示されている(Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637; 及び Altmann et al., Nucleosides Nucleotides, 1997, 16, 917-926)。

【0933】

一部の実施形態において、2'修飾ヌクレオシド又は2'置換ヌクレオシドは、2'位にH又はOH以外の置換基を含む糖を含むヌクレオシドである。一部の実施形態において、2'修飾ヌクレオシドとしては、限定はされないが、糖環の2つの炭素原子を連結する架橋が糖環の2'位炭素と別の炭素とを連結する二環式ヌクレオシド；及びアリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C₁~C₁₀アルキル、-OCF₃、O-(CH₂)₂-O-CH₃、2'-O-(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)又はO-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n) (式中、各R_m及びR_nは、独立に、H又は置換若しくは非置換C₁~C₁₀アルキルである)など、非架橋2'置換基を有するヌクレオシドが挙げられる。

【0934】

修飾糖の調製方法は当業者に周知である。かかる修飾糖の調製について教示する一部の代表的な米国特許としては、限定なしに、米国特許第4,981,957号明細書；同第5,118,800号明細書；同第5,319,080号明細書；同第5,359,044号明細書；同第5,393,878号明細書；同第5,446,137号明細書；同第5,466,786号明細書；同第5,514,785号明細書；同第5,519,134号明細書；同第5,567,811号明細書；同第5,576,427号明細書；同第5,591,722号明細書；同第5,597,909号明細書；同第5,610,300号明細書；同第5,627,053号明細書；同第5,639,873号明細書；同第5,646,265号明細書；同第5,670,633号明細書；同第5,700,920号明細書；同第5,792,847号明細書及び同第6,600,032号明細書並びに国際公開第2005/121371号パンフレットとして公開された国際出願PCT/US2005/019219号明細書が挙げられる。

【0935】

一部の実施形態において、R¹は、定義及び記載される通りのRである。一部の実施形態において、R²はRである。一部の実施形態において、R^eはRである。一部の実施形態において、R^eは、H、CH₃、Bn、COCF₃、ベンゾイル、ベンジル、ピレン-1-イルカルボニル、ピレン-1-イルメチル、2-アミノエチルである。一部の実施形態において、非限定的な例示的ヌクレオチド間結合又は糖は、N-メタノカルバ、C3-アミド、ホルムアセタール、チオホルムアセタール、MMI、PMO(ホスホロジアミデート結合モルホリノ)、PNA(ペプチド核酸)、LNA、cMOE-BNA、cEt-BNA、α-L-NA又は関連する類似体、HNA、Me-ANA、MOE-ANA、Ar-FHNA、FHNA、R-6'-Me-FHNA、S-6'-Me-FHNA、ENA又はc-ANAの何れかの成分であるか又はそれを含む。一部の実施形態において、

非限定的な例示的ヌクレオチド間結合又は糖は、Allerson et al. 2005 J. Med. Chem. 48:901-4; BMCL 2011 21:1122; BMCL 2011 21:588; BMCL 2012 22:296; Chattopadhyaya et al. 2007 J. Am. Chem. Soc. 129:8362; Chem. Bio. Chem. 2013 14:58; Curr. Prot. Nucl. Acids Chem. 2011 1. 24. 1; Egli et al. 2011 J. Am. Chem. Soc. 133:16642; Hendrix et al. 1997 Chem. Eur. J. 3:110; Hyrup et al. 1996 Bioorg. Med. Chem. 4:5; Imanishi 1997 Tet. Lett. 38:8735; J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 3143; J. Med. Chem. 2009 52:10; J. Org. Chem. 2010 75:1589; Jepsen et al. 2004 Oligo. 14:130-146; Jones et al. J. Org. Chem. 1993, 58, 2983; Jung et al. 2014 ACIEE 53:9893; Kodama et al. 2014 AGDS; Koizumi 2003 BMC 11:2211; Koizumi et al. 2003 Nuc. Acids Res. 12:3267-3273; Koshkin et al. 1998 Tetrahedron 54:3607-3630; Kumar et al. 1998 Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:2219-2222; Lauritsen et al. 2002 Chem. Comm. 5: 530-531; Lauritsen et al. 2003 Bioorg. Med. Chem. Lett. 13:253-256; Lima et al. 2012 Cell 150:883-894; Mesmaeker et al. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1994, 33, 226; Migawa et al. 2013 Org. Lett. 15:4316; Mol. Ther. Nucl. Acids 2012 1:e47; Morita et al. 2001 Nucl. Acids Res. Supp. 1:241-242; Morita et al. 2002 Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:73-76; Morita et al. 2003 Bioorg. Med. Chem. Lett. 2211-2226; Murray et al. 2012 Nucl. Acids Res. 40:6135; Nielsen et al. 1997 Chem. Soc. Rev. 73; Nielsen et al. 1997 J. Chem. Soc. Perkins Transl. 1:3423-3433; Obika et al. 1997 Tetrahedron Lett. 38(50):8735-8; Obika et al. 1998 Tetrahedron Lett. 39:5401-5404; Obika et al. 2008 J. Am. Chem. Soc. 130:4886; Obika et al. 2011 Org. Lett. 13:6050; Oestergaard et al. 2014 JOC 79:8877; Pallan et al. 2012 Biochem. 51:7; Pallan et al. 2012 Chem. Comm. 48:8195-8197; Petersen et al. 2003 TRENDS Biotech. 21:74-81; Prakash et al. 2010 J. Med. Chem. 53:1636; Prakash et al. 2015 Nucl. Acids Res. 43:2993-3011; Prakash et al. 2016 Bioorg. Med. Chem. Lett. 26:2817-2820; Rajwanshi et al. 1999 Chem. Commun. 1395-1396; Schultz et al. 1996 Nucleic Acids Res. 24: 2966; Seth et al. 2008 Nucl. Acid Sym. Ser. 52:553; Seth et al. 2009 J. Med. Chem. 52:10-13; Seth et al. 2010 J. Am. Chem. Soc. 132:14942; Seth et al. 2010 J. Med. Chem. 53:8309-8318; Seth et al. 2010 J. Org. Chem. 75:1569-1581; Seth et

10

20

30

40

50

al. 2011 BMCL 21:4690; Seth et al. 2012 Bio. Med. Chem. Lett. 22:296-299; Seth et al. 2012 Mol. Ther-Nuc. Acids. 1, e47; Seth et al., Nucleic Acids Symposium Series (2008), 52 (1), 553-554; Singh et al. 1998 Chem. Comm. 1247-1248; Singh et al. 1998 J. Org. Chem. 63:10035-39; Singh et al. 1998 J. Org. Chem. 63:6078-6079; Sorensen 2003 Chem. Comm. 2130-2131; Starrup et al. 2010 Nucl. Acids Res. 38:7100; Swayze et al. 2007 Nucl. Acids Res. 35:687; Ts'o et al. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1988, 507, 220; Van Aerschot et al. 1995 Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 34:1338; Vasseur et al. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 4006; 国際公開第20070900071号パンフレット; 国際公開第2016/079181号パンフレット; 米国特許第6, 326, 199号明細書; 米国特許第6, 066, 500号明細書; 及び米国特許第6, 440, 739号明細書(これらの各々の塩基及び糖修飾は、本明細書において参照により援用される)に記載されるものの何れかの成分であるか又はそれを含む。

10

【0936】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意の糖を含むことができる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される又は当技術分野において公知の任意の糖を、本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾、限定はされないが、塩基配列又はその一部分、塩基;ヌクレオチド間結合;立体化学又はそのパターン;限定はされないが、ターゲティング部分等を含めた追加の化学的部分;糖、塩基又はヌクレオチド間結合の修飾のパターン;フォーマット又はその任意の構造要素を含めたもの及び/又は本明細書に記載される任意の他の構造要素又は修飾と組み合わせて含むことができ;及び一部の実施形態において、本開示は、任意のかかるオリゴヌクレオチドのマルチマーに関する。

20

【0937】

生物学的適用

本明細書に記載される通り、提供される組成物及び方法は、RNA転写物のノックダウンを含め、C9orf72 RNAのノックダウンを改善することができる。一部の実施形態では、提供される組成物及び方法は、組成物の非存在、参照組成物の存在及びそれらの組み合わせからなる群から選択される参照条件と比較して、C9orf72転写物(限定されないが、リピート伸長を含むものなど)のノックダウンを改善した。

30

【0938】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドは、野生型又は非リピート伸長含有C9orf72遺伝子若しくは遺伝子産物(例えば、ヘキサヌクレオチドリPEAT伸長を欠くもの)のそれと比較して、突然変異型又はリピート伸長含有C9orf72遺伝子若しくは遺伝子産物(例えば、ヘキサヌクレオチドリPEAT伸長を含むもの)の発現、レベル及び/又は活性を優先的に低減(ノックダウン)することができる。

40

【0939】

例えば、図4A及びBにおいて、リピート伸長含有C9orf72オリゴヌクレオチドの優先的ノックダウンを実証する。C9orf72オリゴヌクレオチド:WV-3688、WV-6408、WV-7658、WV-7659、WV-8011及びWV-8012は全て、リピート伸長非含有C9orf72 RNA転写物(例えば、全転写物、その大部分は、リピート伸長を含まない正常転写物である)のレベルと比較して、リピート伸長含有C9orf72 RNA転写物のレベルを優先的にノックダウンすることができた。

50

10

20

30

40

配列及び国際公開第2016168592号パンフレットの配列番号0057の相補体に相当するC9orf72オリゴヌクレオチドWV-3662及びWV-3536は、非リピート伸長含有C9orf72転写物に対してリピート伸長含有C9orf72転写物の優先的なノックダウンを媒介する能力を有しなかった(図4A及び図4B)。

【0942】

これらの実験では、スクリーニングに患者由来ALSニューロン(実施例9に詳述する)を使用した。陰性対照オリゴヌクレオチドWV-2376はC9orf72を標的としない。対照オリゴヌクレオチドWV-3542については表1Aに記載する。図4C及び図4Dでは、オリゴヌクレオチドは1及び10 μ Mで試験した。

【0943】

図5及び図6は、C9orf72オリゴヌクレオチドがインビボでそれぞれC9-BACマウス脊髄及び皮質においてリピート伸長含有C9orf72転写物の優先的なノックダウンを媒介する能力を実証する例示的データを提示する。提供されるデータは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012のものであった。図5A及び図6Aは、全転写物(リピート伸長含有及び非リピート伸長含有転写物を含む)のノックダウンを示す。図5B及び図6Bは、V3(リピート伸長含有)転写物のノックダウンを示す。図5C及び図6Cは、イントロン/AS転写物(リピート転写物伸長の3'側領域を標的とするプローブとし、検出範囲はイントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む)のノックダウンを示す。実験の更なる詳細については実施例9に提供する。リピート伸長含有C9orf72転写物の優先的なノックダウンに関する更なる情報は、本明細書に提示する。

【0944】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、全C9orf72転写物と比べて突然変異体(例えば、リピート伸長含有)V3 C9orf72転写物の発現、レベル及び/又は活性を優先的にノックダウンするか又はそれを低下させることができる。

【0945】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、リピート伸長から翻訳されるDPRタンパク質の発現、活性及び/又はレベルの低下を媒介する能力を有する。

【0946】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72遺伝子産物の発現、活性及び/又はレベルの低下を媒介する能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72遺伝子産物は、ジペプチドリピート(DPR)タンパク質など、タンパク質である。一部の実施形態において、DPRは、リピート含有C9orf72転写物の6つのリーディングフレームの何れかにおけるRAN翻訳によって産生され得る。一部の実施形態において、ジペプチドリピータンパク質は、ヘキサヌクレオチドリピート領域のセンス鎖又はアンチセンス鎖の何れかのRNA(リピート関連及び非ATG依存性翻訳)を介して産生される。DPRタンパク質については、例えば、Zu et al., 2011 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108:260-265; Zu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2013 Dec 17; 110(51):E4968-77; Lopez-Gonzalez et al., 2016, Neuron 92, 1-9; May et al. Acta Neuropathol (2014) 128:485-503; 及びFreibaum et al. 2017 Front. Mol. Neurosci. 10, Article 35; 及びWestergaard et al., 2016, Cell Reports 17, 645-652に記載されている。一部の実施形態において、C9orf72ジペプチドリピートは、ポリ(プロリン-アラニン)(ポリPA又は)又はポリ(アラニン-プロリン)又は(ポリAP); ポリ(プロリン-アルギニン)(ポリPR)又はポリ(アルギニン-プロリン)(ポリRP); 又はポリ(プロリン-グリシン)(ポリPG)

10

20

30

40

50

又はポリ（グリシンープロリン（ポリGP）の何れかであるか又はそれを含む。ポリGAは、報告によればC9orf72脳に大量に発現し、ポリGP及びポリGRが続くが、一方、アンチセンス転写物の翻訳によって生じるポリPA及びポリPRはまれである。報告によれば、ポリGA及び他のDPR種及びDPR取り込みが受け入れる細胞にどのように影響を及ぼすかは、細胞間で伝達される。Zhou et al. は全ての疎水性DPR種の細胞間伝達を検出したとともに、ポリGAがリピートRNAレベル及びDPR発現をブーストすることを示し、DPR伝達が悪循環を引き起こし得ることが示唆される；細胞を抗GA抗体で処理すると、DPRの細胞内凝集が減少した。Zhou et al. 2017. EMBO Mol. Med. 9 (5) : 687-702. Chang et al. は、グリシンーアラニンジペプチドリピータンパク質が、細胞間伝達特性を有する毒性アミロイドを形成することを報告した。Chang et al. 2016. J. Biol. Chem. 291 : 4903-4911.

10

【0947】

一部の実施形態において、DPRタンパク質はポリGPである。非限定的な例として、DPRタンパク質のアミノ酸配列は、GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAWSGRARGRARGGA AVAVPAPA-AAEAQAVASG、GPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGRGRGGPGGGPGAGLRLRLRCLRP RRRRRRRR-WRVGE又はGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGVVGAGPGAGPGRGC GC GACARGGGGAGG-GEWVSEEAASWRVAVWGSAAAGKRRG（センスフレームから）；又はPRPRPRPRPR-PRPRPRPRPLARDS、GPGPGPGPGPGPGPGPGPGPG又はPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPSARLLSS-RACYRLRLFLPSLFS SG（アンチセンスフレームから）の何れかであるか又はそれを含む。

20

【0948】

図10に示し且つ実施例13に詳述する通り、C9orf72オリゴヌクレオチドWV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012は全て、C9-BACマウスの海馬におけるポリGP（pGP、ジペプチドリピータンパク質）のレベルを低減した。加えて、C9orf72オリゴヌクレオチドWV-8549及びWV-8551もマウス海馬のポリGPレベルを低減した（データは示さず）。

【0949】

C9orf72遺伝子産物にはフォーカスも含まれ、これは、C9orf72 RNA又はその一部分（例えば、切り出されたイントロン）に複数のRNA結合タンパク質が結合した複合体を含むものである。フォーカスについては、例えば、Moriet al. 2013 Acta Neuropath. 125 : 413-423に記載される。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、フォーカスを含む細胞の数及び／又は細胞当たりのフォーカス数の低下を媒介する能力を有する。

30

【0950】

非限定的な例示的データとして、マウスにおいてC9orf72オリゴヌクレオチドWV-7658及びWV-7659を投与すると、脊髄前角（下位運動ニューロンの位置）における運動ニューロン核100個当たりのフォーカス数の51.8%及び62.2%の低下〔PBS（陰性対照）と比較して〕；及びフォーカス／細胞が5つより多い細胞の数のそれぞれ58.3%及び70.9%の低下；及び運動ニューロン100個当たりのフォーカス数のそれぞれ49.1%及び55.0%の低下を実証した。

40

【0951】

いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、V3 C9orf72転写物の有意なノックダウン及び／又はDPRタンパク質の発現、活性及び／又はレベルの低下及び／又はフォーカスを含む細胞の数及び／又は細胞当たりのフォーカスの数の低下が、細胞病理の有意な阻害につながり得るか又はそれに関連し得ることを示唆し、ここでの根底にある生物学理論上の根拠は、伸長ヘキサヌクレオチドリピートアレルがプレスプライシング後のC9orf72転写物及びスプライシング後のイント

50

ロンのより長い滞留時間につながり、それらがイントロン性ターゲティングオリゴヌクレオチドに対してより脆弱なものになるというものである。いかなる特定の理論によっても拘束されることを望むものではないが、本開示は、V3 C9orf72 転写物の約50%のノックダウンが細胞病理の約90%の阻害につながり得るか又はそれに関連し得ることを示唆する。

【0952】

C9orf72 オリゴヌクレオチドによって媒介される改善は、限定はされないが、C9orf72 関連障害又はその症状の治療及び／又は予防を含め、任意の所望の生物学的機能の改善であり得る。一部の実施形態において、C9orf72 関連障害は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、前頭側頭型認知症 (FTD)、大脳皮質基底核変性症候群 (CBD)、非定型パーキンソン症候群、オリブ橋小脳変性症 (OPCD)、原発性側索硬化症 (PLS)、進行性筋萎縮症 (PMA)、ハンチントン病 (HD) 表現型模写、アルツハイマー病 (AD)、双極性障害、統合失調症又は他の非運動障害である。一部の実施形態において、C9orf72 関連障害の症状は、激越、不安、感情鈍麻、食嗜好の変化、活力及び／又は動機づけの低下、認知症、抑鬱、呼吸困難、嚥下困難、発声困難、呼吸困難、転導性、筋線維束攣縮及び／又は筋痙攣、平衡障害、運動機能障害、不適切な社会的行動、共感欠如、記憶喪失、気分変動、筋攣縮、筋脱力、個人的不衛生、繰り返し行動又は強迫行動、息切れ、不明瞭な発語、不安定歩行、視力異常、四肢の衰弱から選択される。

10

【0953】

一部の実施形態において、C9orf72 関連障害の症状は、意味性認知症、言語理解の低下又は適切若しくは正確な言語の使用困難である。一部の実施形態において、C9orf72 関連障害又はその症状は、大脳皮質基底核変性症候群 (CBD)、震え、協調不全、筋固縮及び／又はスパズム、進行性核上性麻痺 (PSP)、歩行及び／又は平衡障害、頻繁な転倒、筋硬直、頸部及び／又は上半身の筋硬直、身体機能の喪失及び／又は異常眼球運動である。

20

【0954】

一部の実施形態において、FTDは行動障害型前頭側頭型認知症 (bvFTD) である。一部の実施形態において、報告によれば、bvFTDでは、最も顕著な初期症状は人格及び行動に関連する。一部の実施形態において、C9orf72 オリゴヌクレオチドは、当技術分野において周知の方法に従い評価したときの、人間関係及び社会生活上の自製の喪失として現れる脱抑制を対象が起こす程度又は割合を低減する能力を有する。

30

【0955】

一部の実施形態では、本開示は、共通の塩基配列を含む共通の塩基配列を有する第1の複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物を投与することにより、疾患を治療する方法を提供し、このヌクレオチド配列は、標的C9orf72 転写物中の標的配列と相補的であり、改善は、オリゴヌクレオチド組成物として、立体制御されたオリゴヌクレオチド組成物を用いることを含み、これは、それをオリゴヌクレオチド又はノックダウン系中のC9orf72 転写物と接触させると、C9orf72 転写物のRNアーゼH媒介性ノックダウンが、組成物の非存在、参照組成物の存在及びそれらの組み合わせからなる群から選択される参照条件下で観察されるものと比較して改善されることを特徴とする。

40

【0956】

C9orf72 オリゴヌクレオチドの効力の評価及び検証

限定はされないが、当技術分野で知られる多くを含め、様々な技術及びツールをC9orf72 オリゴヌクレオチドの評価及び検証に用いることができる。

【0957】

一部の実施形態では、C9orf72 オリゴヌクレオチドの効力の評価及び検証は、C9orf72 オリゴヌクレオチドの送達後に、C9orf72 標的核酸又は対応する遺伝子産物のレベル、活性、発現、対立遺伝子特異的発現及び／又は細胞内分布の変化若しくは改善を定量することにより、実施することができる。一部の実施形態では、送達は、ト

50

ランスフェクション剤を用いて又はトランスフェクション剤を用いずに行うことができる（例えば、ジムノチック）。

【0958】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの効力の評価及び検証は、C9orf72オリゴヌクレオチドの導入後に、C9orf72遺伝子産物（限定はされないが、転写物、DPR若しくはフォーカスを含む）のレベル、活性、発現及び／又は細胞内分布の変化を定量することにより、実施することができる。C9orf72遺伝子産物は、C9orf72遺伝子又は遺伝子座から産生されるRNAを含む。

【0959】

一部の実施形態では、本開示は、オリゴヌクレオチド組成物を同定及び／又は特性決定する方法を提供し、この方法は、以下：

10

第1の複数のオリゴヌクレオチドを含む少なくとも1つの組成物を用意するステップと；

送達を参照組成物と比較して評価するステップを含む。

【0960】

一部の実施形態では、本開示は、オリゴヌクレオチド組成物を同定及び／又は特性決定する方法を提供し、この方法は、以下：

第1の複数のオリゴヌクレオチドを含む少なくとも1つの組成物を用意するステップと；

20

細胞内取込みを参照組成物と比較して評価するステップを含む。

【0961】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチド組成物の特性を参照ヌクレオチド組成物と比較する。

【0962】

一部の実施形態では、参照オリゴヌクレオチド組成物は、ステレオランダムオリゴヌクレオチド組成物である。一部の実施形態では、参照オリゴヌクレオチド組成物は、全てのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエートであるオリゴヌクレオチドのステレオランダム組成物である。一部の実施形態では、参照オリゴヌクレオチド組成物は、全てリン酸結合を有するDNAオリゴヌクレオチド組成物である。

30

【0963】

一部の実施形態では、参照組成物は、同じ塩基配列と同じ化学修飾を有するオリゴヌクレオチドの組成物である。一部の実施形態では、参照組成物は、同じ塩基配列と化学修飾の同じパターンを有するオリゴヌクレオチドの組成物である。一部の実施形態では、参照組成物は、同じ塩基配列及び化学修飾を有するオリゴヌクレオチドの非キラル制御（又はステレオランダム）組成物である。

【0964】

一部の実施形態では、参照組成物は、同じ塩基配列を有するが、限定はされないが、本明細書に記載の化学修飾を含め、異なる化学修飾を有するオリゴヌクレオチドの組成物である。一部の実施形態では、参照組成物は、同じ塩基配列を有するが、ヌクレオチド間結合並びに／又はヌクレオチド間結合及び／若しくは化学修飾の立体化学の異なるパターンを有する、オリゴヌクレオチドの組成物である。

40

【0965】

C9orf72遺伝子産物、C9orf72オリゴヌクレオチドの導入若しくは投与後に変化した可能性のあるそれら遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性を検出するための様々な方法は、当技術分野で公知である。非限定的な例として、C9orf72転写物及びそれらのノックダウンは、qPCRで定量することができ、C9orf72タンパク質レベルは、ウェスタンブロットにより、RNAフォーカスは、FISH（蛍光インサイチュハイブリダイゼーション）により、DPRは、ウェスタンブロット、ELISA又は

50

質量分析法により、決定することができる。市販のC9orf72抗体として、抗C9orf72抗体GT779（1：2000；GeneTex, Irvine, California）が挙げられる。更に、電気生理学及びNMJ形成により野生型及び／又は突然変異体C9orf72を発現する運動ニューロン（MN）に対して機能アッセイを実施することもできる。

【0966】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドの有効性の判定及び試験は、インビトロで細胞において実施することができる。一部の実施形態において、細胞は、C9orf72を発現する細胞である。一部の実施形態において、細胞は、C9orf72を発現するように操作されたSH-SY5Y（ヒト神経芽細胞腫）細胞である。一部の実施形態において、細胞は、国際公開第2016/167780号パンフレットに記載される通りの、C9orf72を発現するように操作されたSH-SY5Y細胞である。一部の実施形態において、細胞は、患者由来細胞、患者由来線維芽細胞、iPSC又はiPSNである。一部の実施形態において、細胞は、iPSC由来ニューロン又は運動ニューロンである。C9orf72オリゴヌクレオチドの試験に好適な様々な細胞には、患者由来線維芽細胞、iPSC及びiPSNが含まれ、例えばDonnelly et al. 2013 Neuron 80, 415-428; Sareen et al. 2013 Sci. Trans. Med. 5:208ra149; Swartz et al. STEM CELLS TRANSLATIONAL MEDICINE 2016; 5: 1-12; 及びAlmeida et al. 2013 Acta Neuropathol. 126:385-399に記載されている。一部の実施形態において、細胞は、限定なしにマウス胚線維芽細胞又は皮質初代ニューロンを含めた、BACトランスジェニックマウス由来細胞である。一部の実施形態において、判定及び試験には細胞集団が関わる。一部の実施形態において、細胞集団は、Cellular Dynamics International、Madison、Wisconsinから市販されている、自然の電氣的及び生化学的活動を呈するiPS細胞由来のヒト大脳皮質ニューロン混合集団であるiCell Neuron（iNeuronとも称される）の集団である。更なる細胞が、脊髄運動ニューロン、中脳ドーパミン作動性ニューロン、グルタミン酸作動性ニューロン、GABA作動性ニューロン、混合皮質ニューロン、中型有棘線条体GABA作動性ニューロン、パルブアルブミン集積皮質GABA作動性ニューロン、第五層皮質グルタミン酸作動性ニューロンを含め、BrainXell、Madison、Wisconsinから市販されている。

【0967】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドの判定は、動物で実施することができる。一部の実施形態において、動物はマウスである。C9orf72マウスモデル及びそれを使用した実験手順については、Hukema et al. 2014 Acta Neuropath. Comm. 2:166; Ferguson et al. 2016 J. Anat. 226:871-891; Lagier-Tourenne et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013 Nov 19; 110(47):E4530-9; Koppers et al. Ann. Neurol. 2015; 78:426-438; Kramer et al. 2016 Science 353:708; Liu et al., 2016, Neuron 90, 521-534; Peters et al., 2015, Neuron 88, 902-909; Picher-Martel et al. Acta Neuropathologica Communications (2016) 4:70に記載されている。本明細書にはC9-BACマウスモデルが記載される（実施例9を参照されたい）。

【0968】

一部の実施形態では、標的核酸レベルは、当技術分野で公知の任意の方法により定量することができる。それらの多くは、市販されているキット及び材料を用いて達成することができる。それらは、当技術分野において公知であり、常用されている。こうした方法として

、例えばノーザンブロット分析、競合ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）又は定量的リアルタイムPCRが挙げられる。RNA分析は、全細胞RNA又はポリ（A）+mRNAに対して実施することができる。プローブ及びプライマーは、C9orf72核酸とハイブリダイズするように設計される。リアルタイムPCRプローブ及びプライマーを設計する方法は、当技術分野で公知である。

【0969】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドの効力の評価及び検証は、ルシフェラーゼアッセイを用いて実施することができる。こうしたアッセイの非限定的な例は、以下の実施例3に詳述する。一部の実施形態において、ルシフェラーゼアッセイは、nt1～374又はnt158～900（これらは両方ともヘキサヌクレオチドリピート伸長を含む）など、センスC9orf72転写物の一部分につなぎ合わせたルシフェラーゼ遺伝子（又はその効果的な一部分）を含むコンストラクトを用いる。一部の実施形態において、nt1～374は、エクソン1a及びエクソン1aと1bとの間のイントロンを含む。一部の実施形態において、ルシフェラーゼアッセイは、nt900～1（これはヘキサヌクレオチドリピート伸長を含む）など、アンチセンスC9orf72転写物の一部分につなぎ合わせたルシフェラーゼ遺伝子（又はその効果的な一部分）を含むコンストラクトを用いる。一部の実施形態において、ルシフェラーゼアッセイはトランスフェクトCOS-7細胞で実施される。

【0970】

一部の実施形態では、C9orf72タンパク質レベルは、当技術分野において公知の任意の方法で評価又は定量することができ、こうした方法として、限定はされないが、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、ウェスタンブロット分析（イムノブロットティング）、免疫細胞化学、蛍光活性化細胞選別（FACS）、免疫組織化学、免疫沈降、タンパク質活性検定（例えば、カスパーゼ活性検定）及び定量的タンパク質アッセイが挙げられる。マウス、ラット、サル及びヒトの検出に有用な抗体は、市販されており；C9orf72に対する更に別の抗体を当技術分野で公知の方法により作製することができる。

【0971】

オリゴヌクレオチド又は他の核酸のレベルを検出するためのアッセイは本明細書に記載されている（例えば、実施例14において）。このアッセイを用いて、非限定的な例として、C9orf72オリゴヌクレオチド又は目的の何れか他の核酸を検出することができ、そうしたものとして、核酸又はC9orf72及び核酸をターゲティングしない他のオリゴヌクレオチドが挙げられる。

【0972】

C9orf72オリゴヌクレオチドの有効性の判定及び試験は、インビトロ又はインビボで、C9orf72オリゴヌクレオチドを送達した後の細胞内のリピートRNAフォーカス（又はRNAフォーカス）の数の変化を決定することにより実施し得る。リピートRNAフォーカスは、ヘキサヌクレオチドリピートを含むRNAがRNA結合タンパク質を隔離すると形成される構造であり、RNA媒介毒性の尺度及び／又は原因である。一部の実施形態において、RNAフォーカスはセンス又はアンチセンスRNAフォーカスであり得る。C9orf72オリゴヌクレオチドをインビボで動物に投与したとき、動物の脳又はその一部分、限定なしに、小脳、大脳皮質、海馬、視床、髄質又は脳の任意の他の部分などにおけるRNAフォーカスの存在及び／又は数を決定するか又は調べることができる。C9orf72オリゴヌクレオチドの送達後、細胞当たりのフォーカス数（例えば、5つ以下又は5つより多い）又はその平均値及び／又はフォーカスを含む細胞の数を決定することができる。これらの数の一部又は全ての低下が、C9orf72オリゴヌクレオチドの有効性を示す。RNAフォーカスは、限定はされないがFISH（蛍光インサイチュハイブリダイゼーション）を含め、当技術分野において公知の方法により検出することができる；FISHの非限定的な例が実施例14に提示される。

【0973】

C9orf72オリゴヌクレオチドの有効性の判定及び試験は、インビトロで、C9o

10

20

30

40

50

r f 7 2 オリゴヌクレオチドを送達した後の細胞のハプロ不全の変化を決定することにより実施し得る。ハプロ不全は、例えば、ヘキサヌクレオチドリピートRNAがC 9 o r f 7 2 転写及び／又はC 9 o r f 7 2 遺伝子の発現に対する負のエフェクターとしての役割を果たし、従って全体的なC 9 o r f 7 2 転写物量又は遺伝子産物量が低下するときに起こる。ハプロ不全の低下が、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの有効性を示す。

【0974】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドがC 9 o r f 7 2 タンパク質の発現、活性及び／又はレベルを有意に低下させることはない。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、C 9 o r f 7 2 リピート伸長又はその遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させるが、C 9 o r f 7 2 タンパク質の発現、活性及び／又はレベルを有意に低下させることはない。

10

【0975】

一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、(a) C 9 o r f 7 2 リピート伸長又はその遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させるとともに、(b) 疾患状態を引き起こすのに十分なほどC 9 o r f 7 2 の発現、活性及び／又はレベルを低下させることはないものである。C 9 o r f 7 2 の産生不足に関係する様々な疾患状態としては、例えば、F a r g e t a l . 2 0 1 4 H u m a n M o l . G e n . 2 3 : 3 5 7 9 - 3 5 9 5 ; 及びA t a n a s i o e t a l . S c i R e p . 2 0 1 6 M a r 1 6 ; 6 : 2 3 2 0 4 . d o i : 1 0 . 1 0 3 8 / s r e p 2 3 2 0 4 に記載される通り、不適切なエンドソーム輸送、骨髄増殖によって特徴付けられるロバ

20

【0976】

C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの有効性の判定及び試験は、インビボで実施することができる。一部の実施形態において、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは動物で判定及び／又は試験することができる。一部の実施形態において、ヒト及び／又は他の動物でC 9 o r f 7 2 オリゴについて判定及び／又は試験することにより、レベル、活性、発現、アレル特異的発現及び／又は細胞内分布の変化又は改善を媒介し、且つ／又はC 9 o r f 7 2 関連障害又はC 9 o r f 7 2 関連障害の少なくとも1つの症状を予防するか、治療するか、改善するか、又はその進行を遅延させることができる。一部の実施形態において、かかるインビボでの判定及び／又は試験では、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの導入後の表現型の変化、例えば運動機能及び呼吸の改善を決定することができる。一部の実施形態において、運動機能は、平均台、握力、後肢足跡試験（例えば、動物において）、オープンフィールド動作性、登り棒及びロータロッドを含め、当技術分野において公知の様々な試験の何れかにおける変化の決定により測定することができる。一部の実施形態において、呼吸は、コンプライアンス測定、侵襲抵抗及び全身プレスチモグラフを含め、当技術分野において公知の様々な試験の何れかにおける変化の決定により測定することができる。

30

【0977】

一部の実施形態では、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの効力の検証は、神経疾患を有する被験者からの運動ニューロン細胞をC 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドと接触させた後、運動ニューロン細胞が分解するか否かを決定することにより達成することができる。運動ニューロン細胞が分解しなければ、C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドは、運動ニューロン分解を低減又は阻害できると考えられ得る。運動ニューロン細胞は、多能性幹細胞由来のものであり得る。多能性幹細胞は、被験者由来の細胞から再プログラムしたものであり得る。被験者由来の細胞は、例えば、体細胞であり得る。体細胞は、例えば、線維芽細胞、リンパ球又はケラチノサイトであり得る。運動ニューロン細胞が分解するか否かの評価は、対照との比較に基づいて行い得る。一部の実施形態では、対照レベルは、所定の値又は基準値であり得、これを測定結果及び／又は視覚検査結果を評価するためのベンチマークとして使用する。所定の値又は基準値は、神経疾患に罹患していない

40

50

被験者からのサンプル（例えば、運動ニューロン細胞）又は神経疾患に罹患しているが、運動ニューロン細胞をC9orf72オリゴヌクレオチドと接触させていない被験者からのサンプル中のレベルであり得る。所定の値又は基準値は、神経疾患に罹患している被験者からのサンプル中のレベルであり得る。これらのスクリーニング方法の何れかにおいて、神経疾患を有する被験者由来の細胞は、C9orf72における（GGGGCC）nヘキサヌクレオチド伸長を含み得る。

【0978】

C9orf72の効力は、非限定的な例として、Peters et al. 2015 Neuron. 88 (5) : 902-9 ; O'Rourke et al. 2015 Neuron. 88 (5) : 892-901 ; 及びLiu et al. 2016 Neuron. 90 (3) : 521-34に記載されるものなど、好適な試験動物で検証することもできる。一部の実施形態では、試験動物は、C9-BACマウスである。また、450のリピート伸長を含むC9-BACトランスジェニックマウスでもC9orf72の効力を検証することができ、これも、Jiang et al. 2016 Neuron. 90, 1-16に記載されている。

10

【0979】

一部の実施形態では、試験動物において、様々なC9orf72転写物のレベルを決定することができ、これらは、C9orf72タンパク質レベル、RNAフォーカス及びDPR（ジペプチドリピータンパク質）のレベルであり得る。試験は、C9orf72オリゴヌクレオチドに対して並びに参照オリゴヌクレオチドと比較して実施することができる。本明細書に開示されるいくつかのC9orf72オリゴヌクレオチドは、RNA iフォーカスを含む細胞のパーセンテージ及び細胞当たりのフォーカスの平均数を低減することができる（以下に示すデータ及び示されないデータ）。本明細書に開示されるいくつかのC9orf72オリゴヌクレオチドは、ポリGPなどのDPRのレベルを低減することができる。図10に示すように、C9orf72オリゴヌクレオチドWV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012は全て、C9-BACマウスの海馬中のポリGP（pGP、ジペプチドリピータンパク質）のレベルを低減した。加えて、C9orf72オリゴヌクレオチドWV-8549及びWV-8551も、マウス海馬中のポリGPレベルを低減した（データは示していない）。

20

【0980】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドは、ALS、FTD又は他のC9orf72関連障害により引き起こされる神経変性の程度又は比率を低減することができる。一部の実施形態では、挙動症状の改善又はあらゆる神経系組織の劣化の程度若しくは割合の少なくとも低減に加えて、被験者又は他の動物におけるC9orf72オリゴヌクレオチドの治療効果を、脳スキャン、例えばCATスキャン、機能性MRI若しくはPETスキャン又は当技術分野で公知の他の方法でモニターすることもできる。

30

【0981】

C9orf72オリゴヌクレオチドの分析のための各種アッセイが、本明細書において、例えば実施例9、13及び14に記載され、これらは、中でも、以下：例えば、ALSニューロンで実施されるリポータアッセイ（ルシフェラーゼアッセイ）並びに測定、例えばV3/イントロン発現、活性及び/又はレベルの分析；安定性アッセイ；TLR9アッセイ；補体アッセイ；PD（薬力学）（C9-BAC、icv若しくは脳静脈内注射）、例えばC9orf72-BAC（C9-BAC）マウスモデルで検証されるPD及び/又は効力；限定はされないが、マウスなどの試験動物の側脳室又は中枢神経系の他の領域（限定はされないが、皮質及び脊髄など）への注射をはじめとする、インビボ処置；フォーカスの数及び/又はフォーカス：ポリGPを含む細胞の数の分析（又はpGP若しくはDPRアッセイ）を含む。

40

【0982】

一部の実施形態において、様々なアッセイから得られたデータを判定し、特に望ましいC9orf72オリゴヌクレオチドを選択するため、選択基準が用いられる。一部の実施

50

形態では、少なくとも1つの選択基準が用いられる。一部の実施形態では、2つ以上の選択基準が用いられる。一部の実施形態において、ルシフェラーゼアッセイの選択基準（例えば、V3／イントロンノックダウン）は、V3イントロンの少なくとも部分的なノックダウン及び／又はイントロン転写物の少なくとも部分的なノックダウンである。一部の実施形態において、ルシフェラーゼアッセイの選択基準（例えば、V3／イントロンノックダウン）は、V3イントロンの50%のKD（ノックダウン）及びイントロン転写物の50%のKDである。一部の実施形態において、選択基準にはIC₅₀の決定が含まれる。一部の実施形態において、選択基準には、約10nM未満、約5nM未満又は約1nM未満のIC₅₀が含まれる。一部の実施形態において、安定性アッセイの選択基準は、1日目に少なくとも50%の安定性〔少なくとも50%のレベルのオリゴヌクレオチドがなおも残留しており且つ／又は検出可能である〕である。一部の実施形態において、安定性アッセイの選択基準は、2日目に少なくとも50%の安定性である。一部の実施形態において、安定性アッセイの選択基準は、3日目に少なくとも50%の安定性である。一部の実施形態において、安定性アッセイの選択基準は、4日目に少なくとも50%の安定性である。一部の実施形態において、安定性アッセイの選択基準は、5日目に少なくとも50%の安定性である。一部の実施形態において、安定性アッセイの選択基準は、5日目に80%〔少なくとも80%のオリゴヌクレオチドが残留している〕である。一部の実施形態において、選択基準は、フォーカス数及び／又はフォーカスを含む細胞の数の少なくとも部分的なノックダウンである。一部の実施形態において、選択基準は、フォーカス数及び／又はフォーカスを含む細胞の数の少なくとも50%のKD（ノックダウン）である。一部の実施形態において、選択基準としては、TLR9アッセイにおける活性化の欠如が挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、補体アッセイにおける活性化の欠如が挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、マウスなど、試験動物の側脳室又は他の中枢神経系領域（限定はされないが皮質及び脊髄を含む）におけるノックダウンが挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、マウスなど、試験動物の側脳室又は他の中枢神経系領域（限定はされないが皮質及び脊髄を含む）における少なくとも50%のノックダウンが挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、DPRタンパク質の発現、活性及び／又はレベルのノックダウンが挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、DPRタンパク質の発現、活性及び／又はレベルのノックダウンが挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、DPRタンパク質の発現、活性及び／又はレベルの少なくとも50%のノックダウンが挙げられる。一部の実施形態において、選択基準としては、DPRタンパク質ポリGPの発現、活性及び／又はレベルの少なくとも50%のノックダウンが挙げられる。

【0983】

C9orf72のノックダウンにおける有効性が判定及び試験されているオリゴヌクレオチドには、C9orf72関連障害又はその症状の治療又は予防における使用のための投与を含め、様々な用途がある。

【0984】

目的の標的核酸の検出アッセイ

一部の実施形態において、本開示は、標的核酸（例えば、標的オリゴヌクレオチド）を検出及び／又は定量化するためのハイブリダイゼーションアッセイに関し、このアッセイは、標的核酸に少なくとも部分的に相補的な捕捉プローブと、検出プローブとを利用する；ここでは、検出プローブ又は捕捉プローブと検出プローブと標的核酸とを含む複合体が、検出される能力を有する。かかるアッセイは、C9orf72オリゴヌクレオチド（例えば、組織又は体液試料中の）の検出に用いることができるか、又は任意の試料中の任意の標的核酸（任意の標的又は配列に対する）の検出に用いることができる。一部の実施形態において、捕捉プローブは第一級アミンを含み、これはアミノ反応性固体支持体と反応する能力を有し、従ってプローブを固体支持体上に固定化する。一部の実施形態において、アミノ反応性固体支持体は無水マレイン酸を含む。プローブの固定化は、プローブ及び固体支持体上のアルキン及びアジド部分を用いたクリックケミストリーで実施することが

できる。クリックケミストリーのため、アルキン又はアジドは、例えば、プローブの 5' 又は 3' 末端にあり得、任意選択でリンカーを介して取り付けられ得る。クリックケミストリーのため、固体支持体は、例えば、アルキン又はアジド部分を含む。一部の実施形態において、クリックケミストリーとしては、非限定的な例として、Kolb et al., 2011 Angew. Chem. Int. Ed. 40: 2004-2021に記載されるものが挙げられる。

【0985】

一部の実施形態において、直接又は間接的に検出される能力を有するプローブ又は複合体は、検出可能シグナルの生成に関与する。一部の実施形態において、プローブ又は複合体は、(a) 別の化学的成分が存在しない場合に検出可能シグナルを生成する能力を有する（非限定的な例として、蛍光色素又は放射標識など、検出可能シグナルを生成する能力を有する部分を有する）、又は (b) 適切な第2の部分が結合すると検出可能シグナルを生成する能力を有するリガンド、標識又は他の成分を含む。一部の実施形態において、(b) のタイプのプローブ又は複合体は、抗体などの適切な第2の化学物質が結合することのできるビオチン、ジゴキシゲニン、ハプテン、リガンド等の標識を含み、第2の化学物質は、標識に結合すると、例えば放射標識、化学発光、色素、アルカリホスファターゼシグナル、ペルオキシダーゼシグナル等によってシグナルを生成する能力を有する。

10

【0986】

一部の実施形態において、捕捉プローブは固体支持体上に固定化される。一部の実施形態では、捕捉プローブは標的核酸にハイブリダイズ、結合又はライゲートし、検出プローブも標的核酸にハイブリダイズ、結合又はライゲートし、及びこの複合体が、検出される能力を有する。ハイブリダイゼーションアッセイの多くの変形例が当技術分野において公知である。一部の実施形態では、ハイブリダイゼーションアッセイにおいて、捕捉と検出プローブとは同じプローブであり、一本鎖ヌクレアーゼを使用して、標的核酸に結合しない（又は完全には結合しない）プローブが分解される。

20

【0987】

一部の実施形態において、本開示は、標的核酸（例えば、標的オリゴヌクレオチド）を検出及び／又は定量化するためのハイブリダイゼーションアッセイに関し、ここで、プローブ（例えば、捕捉プローブ）は、標的核酸に少なくとも部分的に相補的で、第一級アミンを含み、第一級アミンはアミノ反応性固体支持体と反応する能力を有し、従ってプローブを固体支持体に固定化する。第一級アミンは、例えば、プローブの 5' 又は 3' 末端にあり得、任意選択でリンカーを介して取り付けられ得る。一部の実施形態において、アミノ反応性固体支持体は無水マレイン酸を含む。

30

【0988】

標的オリゴヌクレオチドは、例えば、Corf72オリゴヌクレオチド又は任意の目的の標的に対するオリゴヌクレオチドであり得る。

【0989】

一部の実施形態において、アッセイは、ハイブリダイゼーションアッセイ、サンドイッチハイブリダイゼーションアッセイ、競合ハイブリダイゼーションアッセイ、二重ライゲーションハイブリダイゼーションアッセイ、ヌクレアーゼハイブリダイゼーションアッセイ又は電気化学的アッセイ若しくは電気化学的ハイブリダイゼーションアッセイである。

40

【0990】

一部の実施形態において、アッセイはサンドイッチハイブリダイゼーションアッセイであり、ここでは、捕捉プローブが固体支持体に結合し、標的オリゴヌクレオチドの一部分にアニーリングする能力を有し；検出プローブは検出される能力を有し、且つ標的オリゴヌクレオチドの別の一部分にアニーリングする能力を有し；捕捉プローブ及び検出プローブの両方が標的オリゴヌクレオチドハイブリダイズすると、検出される能力を有する複合体が生じる。

【0991】

一部の実施形態において、アッセイはヌクレアーゼハイブリダイゼーションアッセイで

50

あり、捕捉プローブは、標的オリゴヌクレオチドに完全に相補的な切断プローブであり、ここでは、完全長標的オリゴヌクレオチドが結合する切断プローブが検出される能力を有し；及び遊離している（標的オリゴヌクレオチドに結合しない）か、又は標的オリゴヌクレオチドのショートマー（shortmer）、代謝物若しくは分解産物に結合する切断プローブは、S1ヌクレアーゼ処理によって分解され、従って検出可能シグナルを生成しない。

【0992】

一部の実施形態において、アッセイはハイブリダイゼーションライゲーションアッセイであり、ここでは、捕捉プローブが鋳型プローブであり、これは標的オリゴヌクレオチドに完全に相補的で、標的オリゴヌクレオチドと検出プローブとのリガーゼ媒介性ライゲーションの基質としての役割を果たすことが意図されるものである。

10

【0993】

一部の実施形態において、本開示は、例えば、試料中、例えば組織又は体液中の標的核酸（例えば、標的オリゴヌクレオチド）を検出及び／又は定量化する方法に関し、この方法は、（1）捕捉プローブを提供するステップであって、捕捉プローブは標的核酸と少なくとも部分的に相補的で、且つ第一級アミンを含み、第一級アミンはアミノ反応性固体支持体によって結合される能力を有し、従ってプローブを固体支持体に固定化するステップ；（2）捕捉プローブを固体支持体に固定化するステップ；（3）検出プローブを提供するステップであって、検出プローブは標的核酸と少なくとも部分的に相補的で（例えば、捕捉プローブが結合する領域と異なる標的核酸領域において）、且つシグナルを直接又は間接的に生成する能力を有するステップ；ここで、ステップ（2）及び（3）は、何れの順序でも実施することができる；（4）プローブを標的核酸ハイブリダイズさせるのに好適な条件下で組織又は体液を捕捉プローブ及び検出プローブに接触させるステップ；（5）標的核酸にハイブリダイズしなかった検出プローブを除去するステップ；及び（6）検出プローブによって直接又は間接的に生成されるシグナルを検出するステップを含み、ここでは、シグナルの検出が、標的核酸の検出及び／又は定量化を示す。

20

【0994】

一部の実施形態において、標的オリゴヌクレオチドはC9orf72オリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、標的オリゴヌクレオチドはC9orf72オリゴヌクレオチドでない。一部の実施形態において、標的核酸は、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA薬剤、二本鎖siRNA薬剤、一本鎖siRNA薬剤又は疾患に関連する核酸（例えば、癌細胞において存在量が増加する転写物など、疾患状態で発現する又は過剰発現する遺伝子又は遺伝子産物又はこの核酸は、疾患又は障害に関連する突然変異を含む）である。

30

【0995】

一部の実施形態において、アミノ反応性固体支持体は無水マレイン酸を含む。

【0996】

図11、図11Aは、例えば、限定はされないが動物生検を含めた組織及び体液中の、標的オリゴヌクレオチド（例えば、ASO）レベルを測定するための例示的ハイブリダイゼーションELISAアッセイを示す。図11Bは、第一級アミン標識捕捉プローブを、無水マレイン酸を含むプレートなど、アミノ反応性固体支持体に結合させるための例示的ケミストリーを示す。

40

【0997】

標的オリゴヌクレオチドが検出プローブにリアニリングされ、次に捕捉プローブと組み合わされ、捕捉プローブは第一級アミン標識を介してアミノ反応性プレートに結合している。捕捉プローブ、検出プローブ及び標的オリゴヌクレオチドの間に二重ハイブリダイゼーション（例えば、サンドイッチハイブリダイゼーション）が起こる；捕捉プローブと検出プローブとの間にはギャップ（図11Aには図示せず）が許容され、捕捉又は検出プローブに結合しない標的オリゴヌクレオチドの一本鎖部分が後に残る。固体支持体（例えば、プレート表面）は無水マレイン酸を含み（例えば、無水マレイン酸活性化プレート）

50

、これは捕捉プローブの末端にある第一級アミン標識と（例えば、pH 8～9で）自然に反応し、プローブが固体支持体に固定化される。一部の実施形態において、固体支持体は、プレート、チューブ、フィルタ、ビーズ、ポリマービーズ、金、粒子、ウェル又はマルチウェルプレートである。

【0998】

非限定的な例として、以下の条件を用いることができる：

コーティング：2.5% Na₂CO₃ pH 9.0 中 500 nM 50 u l / ウェル、37 °C、2 時間

試料／検出プローブ：希釈液としての 300 nM 検出プローブ、4 °C、一晚

ストレプトアビジン-AP：PBST 中 1：2000 50 u l / ウェル、室温、1～2 時間

基質 AttoPhos：100 u l / ウェル、室温、5 分読み取り

【0999】

例えば、標的核酸が検出プローブにプレアニーリングされ、次に捕捉プローブと組み合わせられ、捕捉プローブは、プローブ及び固体支持体上のアルキン（アジド）部分を用いたクリックケミストリーによってプレートに結合している。捕捉プローブ、検出プローブ及び標的核酸の間で二重ハイブリダイゼーション（例えば、サンドイッチハイブリダイゼーション）が起こる；捕捉プローブと検出プローブの間にはギャップが許容され、捕捉又は検出プローブに結合しない標的オリゴヌクレオチドの一本鎖部分が後に残る。固体支持体（例えば、プレート表面）はアルキン（又はアジド）部分を含み、これは捕捉プローブの末端にあるアジド（又はアルキン）部分標識とクリックケミストリーで反応し、プローブが固体支持体に固定化される。一部の実施形態において、固体支持体は、プレート、チューブ、フィルタ、ビーズ、ポリマービーズ、金、粒子、ウェル又はマルチウェルプレートである。

【1000】

アッセイの非限定的な例を以下に提供する：

動物生検を含めた組織中の標的オリゴヌクレオチドレベルを測定するハイブリダイゼーション ELISA アッセイ：

標的オリゴヌクレオチドの逆相補配列は2つのセグメントに分割することができ、各々が捕捉プローブ又は検出プローブに相当する。5'側配列（標的オリゴヌクレオチドの）は5～15 nt であり得；3'側配列は5～15 nt であり得る。しかしながら、5'側プローブ配列（標的オリゴヌクレオチドの3'側部分にハイブリダイズする）が3'側プローブ配列と重複することは、それらが両方とも標的オリゴヌクレオチドにハイブリダイズする場合にあってはならない。5'側プローブと3'側プローブの間にはギャップが許容される。各プローブは、少なくとも25 °C、好ましくは>45 °C、更により好ましくは>50 °Cの融解温度（T_m）を有しなければならない。高いT_mを実現するため、ロックド核酸（LNA）又はペプチド核酸（PNA）などの修飾ヌクレオチドを使用することができる。プローブ中の他のヌクレオチドはDNA若しくはRNAの何れのヌクレオチドであり得るか、又は2'-OMe、2'-F若しくは2'-MOE修飾を有するものなど、任意の他の形態の修飾ヌクレオチドであり得る。

【1001】

5'側プローブは、5'側位置でリンカーを伴う検出部分によって標識することもできる。このプローブが検出プローブである。

【1002】

5'側プローブ（標的オリゴヌクレオチドの3'側部分にハイブリダイズする）は、5'側位置でリンカーを伴う第一級アミンによって標識することができる。このプローブが捕捉プローブである。リンカーは、第一級アミンをプローブヌクレオチドにつなぐために使用することができる。リンカーは、C6-、C12-リンカー、PEG、TEG又はオリゴヌクレオチドに関係のない任意のヌクレオチド配列（オリゴdTなど）であり得る。リンカーを伴う5'側第一級アミンは、合成中又は合成後に付けられ得る。

【1003】

3'側プローブも、3'側位置でリンカー配列を伴う第一級アミンによって標識することができる。このプローブが捕捉プローブである。

【1004】

3'側プローブ（標的オリゴヌクレオチドの5'側部分にハイブリダイズする）は、3'側位置でリンカーを伴う検出部分によって標識することができる。このプローブが検出プローブである。検出部分は、ビオチン、ジゴキシゲニン、HaloTag（登録商標）リガンド（Promega、Madison、Wisconsin）又は任意の他のハプテンであり得る。検出部分は、Sulfo-Tag（Meso Scale Diagnostics、Rockville、Maryland）でもあり得る。リンカーは、検出部分をプローブヌクレオチドにつなぐために使用することができる。リンカーは、C6ー、C12ーリンカー、PEG、TEG又はオリゴヌクレオチドに関係のない任意のヌクレオチド配列（オリゴdTなど）であり得る。リンカーを伴う3'側検出部分は、合成中又は合成後に付けられ得る。

10

【1005】

捕捉プローブ（プローブの5'末端又は3'末端の何れかに第一級アミンを有する）は、無水マレイン酸活性化プレート（Pierce；ThermoFisher、Waltham、Massachusettsから入手可能）又はN-オキシスクシンイミド（NOS）活性化DNA-BINDプレート（Corning Life Sciences、Tewksbury、Massachusetts）など、第一級アミンと反応するように活性化される固体表面に固定化することができる。プレートは、MSDプレート（Meso Scale Diagnostics、Rockville、Maryland）など、アミンコンジュゲーション用に活性化される他の種類のプレートでもあり得る。表面は、Luminex又はビーズアレイプラットフォーム（BD（商標）Cytometric Bead Array-CBA、BD Biosciences、San Jose、California）など、フローベースのアッセイプラットフォームを用いることができるように、ビーズ、金粒子、カルボキシル化ポリスチレンマイクロパーティクル（MagPlex Microspheres、Luminex Corporation；ThermoFisher、Waltham、Massachusettsから入手可能）又はDynabeads（Thermo Fisher Scientific、Waltham、Massachusetts）などの固体支持体であり得る。

20

30

【1006】

標的オリゴヌクレオチドを含有する生体試料、例えば組織ライセート又は生体液（血漿、血液、血清、CSF、尿又は他の組織若しくは体液）などを検出プローブと適切なオリゴヌクレオチド及び検出プローブ濃度で混合し、熱変性させて、次に捕捉プローブでコーティングされた表面（プレート又はマイクロパーティクル）に置くことにより、適切なハイブリダイゼーション緩衝液中、ある時間（ハイブリダイゼーション）にわたって室温又は4℃の何れかで配列特異的ハイブリダイゼーションを促進する。表面（プレート又はビーズ）を洗浄することにより過剰な検出プローブを除去する。次に、ビオチンに対するアビジン／ストレプトアビジン、DIG又はハプテンに対する抗体又はそのリガンドに対するHaloTagなど、検出部分を認識する試薬と共に表面をインキュベートする。

40

【1007】

検出試薬は、通常、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）若しくはアルカリホスファターゼ（AP）などの酵素又はフルオロフォア又はSulfo-Tagで標識される。徹底的に洗浄した後、HRPに対するTMB又はAPに対するAttoPhosなど、それぞれの基質を加えることにより、酵素標識された検出試薬を検出し、プレートリーダーによって吸光度モード又は蛍光モード（蛍光基質）でプレートを読み取る。一部の実施形態において、標識は、フルオレセイン、B-フィコエリトリン、ローダミン、シアニン色素、アロフィコシアニン又はその変異体若しくは誘導体を含む。

【1008】

50

Luminox又はビーズアレイプラットフォームなどのフローベースの検出プラットフォームには、フルオロフォア標識された検出試薬を使用することができる。

【1009】

Sulfotag付加された検出試薬は、MSDリーダー（Mesoscale Discovery）によって直接読み取ることができる。

【1010】

オリゴヌクレオチド量は、同じアッセイで実行した被験物質の段階希釈物の検量線を用いて計算することができる。

【1011】

ハイブリダイゼーションアッセイの別の非限定的な例は、実施例14に提供される。

10

【1012】

オリゴヌクレオチド（限定はされないがC9orf72オリゴヌクレオチドを含む）の有用性に関する様々なアッセイについては、本明細書に記載され、且つ／又は当技術分野において公知である。

【1013】

提供されるオリゴヌクレオチド及びその組成物の投与

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現及び／又はレベルの低下を導く能力を有する。

【1014】

一部の実施形態において、標的遺伝子は、ヘキサヌクレオチドリピート伸長を含むC9orf72である。

20

【1015】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、非限定的な例としてC9orf72転写物を含めた標的のノックダウンの改善において同等の効果を有する他の点では同等の参照オリゴヌクレオチド組成物よりも低い用量及び／又は頻度で投与される。一部の実施形態において、立体制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、標的C9orf72転写物のノックダウンの改善において同等の効果を有する他の点では同等のステレオランダムな参照オリゴヌクレオチド組成物よりも低い用量及び／又は頻度で投与される。

【1016】

30

一部の実施形態において、本開示は、オリゴヌクレオチド及びその組成物の特性、例えば改善されたノックダウン活性等を化学修飾及び／又は立体化学によって最適化することができることと認識する。一部の実施形態において、本開示は、化学修飾及び立体化学を用いてオリゴヌクレオチド特性を最適化する方法を提供する。

【1017】

一部の実施形態において、本開示は、第1の複数のオリゴヌクレオチドを含み且つ共通のヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチド組成物を投与する方法を提供し、この改良例は、

同じ共通のヌクレオチド配列の参照オリゴヌクレオチド組成物と比べて改善された送達によって特徴付けられる第1の複数のオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを投与することを含む。

40

【1018】

一部の実施形態において、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチド、組成物及び方法は、送達の改善を提供する。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチド、組成物及び方法は、細胞質送達の改善を提供する。一部の実施形態において、送達の改善は、細胞集団に対するものである。一部の実施形態において、送達の改善は、組織に対するものである。一部の実施形態において、送達の改善は、器官に対するものである。一部の実施形態において、送達の改善は、中枢神経系又はその一部分、例えばCNSに対するものである。一部の実施形態において、送達の改善は、生物に対するものである。送

50

達の改善をもたらす例示的構造要素（例えば、化学修飾、立体化学、その組み合わせ等）、オリゴヌクレオチド、組成物及び方法については、本開示に詳細に記載される。

【1019】

提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の投与には、様々な投与レジメンを利用することができる。一部の実施形態において、複数の単位用量が時間を空けて投与される。一部の実施形態において、所与の組成物には推奨投与レジメンがあり、これは1用量以上を含み得る。一部の実施形態において、投与レジメンは複数の用量を含み、その各々は互いの間が同じ長さの時間だけ空けられている；一部の実施形態において、投与レジメンは、複数の用量と、個々の用量間に空いた少なくとも2つの異なる時間とを含む。一部の実施形態において、投与レジメン内にある全ての用量は同じ単位用量値である。一部の実施形態において、投与レジメン内の異なる用量は異なる値である。一部の実施形態において、投与レジメンは第1の用量値の第1の用量を含み、続いて第1の用量値と異なる第2の用量値の1つ以上の更なる用量を含む。一部の実施形態において、投与レジメンは第1の用量値の第1の用量を含み、続いて第1の用量値（又は別の以前の用量値）と同じ又は異なる第2の（又は後続の）用量値の1つ以上の更なる用量を含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、少なくとも1単位用量を少なくとも1日間投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、1用量より多くを少なくとも1日の期間、時に1日より長くにわたって投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、複数の用量を少なくとも1週間の期間にわたって投与することを含む。一部の実施形態において、この期間は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40週間又はそれを超える（例えば、約45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100週間又はそれを超える）。一部の実施形態において、投与レジメンは、1週間より長くにわたって1週間に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40週間又はそれを超えて（例えば、約45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100週間又はそれを超えて）1週間に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、2週間より長い期間にわたって2週間毎に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40週間又はそれを超える（例えば、約45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100週間又はそれを超える）期間にわたって2週間毎に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、1ヵ月にわたって1ヵ月に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、1ヵ月より長くにわたって1ヵ月に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12ヵ月又はそれを超えて1ヵ月に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、約10週間にわたって1週間に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、約20週間にわたって1週間に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、約30週間にわたって1週間に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、投与レジメンは、26週間にわたって1週間に1用量を投与することを含む。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、同じ配列のキラル制御されていない（例えば、ステレオランダムな）オリゴヌクレオチド組成物及び／又は同じ配列の異なるキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物に利用されるものと異なる投与レジメンに従い投与される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、それが所与の単位時間

においてより低い総曝露レベルを実現し、1つ以上のより低い単位用量が関わり、且つ／又は所与の単位時間においてより少ない数の用量を含むことにおいて、同じ配列のキラル制御されていない（例えば、ステレオランダムな）オリゴヌクレオチド組成物と比較したとき低減されている投与レジメンに従い投与される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、同じ配列のキラル制御されていない（例えば、ステレオランダムな）オリゴヌクレオチド組成物よりも長い時間にわたって持続する投与レジメンに従い投与される。理論によって制限されることは望まないが、本出願人は、一部の実施形態において、より短い投与レジメン及び／又はより長い用量間の時間が、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の安定性、バイオアベイラビリティ及び／又は有効性の改善に起因し得ることを指摘しておく。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、対応するキラル制御されていないオリゴヌクレオチド組成物と比較して長い投与レジメンを有する。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、対応するキラル制御されていないオリゴヌクレオチド組成物と比較して少なくとも2つの用量間の時間がより短い。理論によって制限されることは望まないが、本出願人は、一部の実施形態において、より長い投与レジメン及び／又はより短い用量間の時間が、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の安全性の改善に起因し得ることを指摘しておく。

10

【1020】

一部の実施形態において、送達（及び他の特性）の改善に伴い、提供される組成物は、生物学的効果、例えば臨床的有效性を実現するために、より低い投薬量及び／又はより低い頻度で投与することができる。

20

【1021】

単一用量は、様々な量のオリゴヌクレオチドを含有し得る。一部の実施形態において、単一用量は、好適に適用による必要に応じて、様々な量のあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有し得る。一部の実施形態において、単一用量は、約1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300 mg又はそれを超える（例えば、約350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000 mg又はそれを超える）あるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約1 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約5 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約10 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約15 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約20 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約50 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約100 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約150 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約200 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約250 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、単一用量は、約300 mgのあるタイプのキラル制御されたオリゴヌクレオチドを含有する。一部の実施形態において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、単一用量として及び／又は総用量として、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも低量で投与される。一部の実施形態において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、有効性の改善に起因して、単一用量として及び／又は総用量として、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも低量で投与される。一部の実施形態において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、単一用量として及び／又は総用量として、キラル制御され

30

40

50

ていないオリゴヌクレオチドよりも高量で投与される。一部の実施形態において、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、安全性の改善に起因して、単一用量として及び／又は総用量として、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも高量で投与される。

【1022】

C9orf72 関連障害又はその症状の治療

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、C9orf72 標的遺伝子又はその遺伝子産物の発現、レベル及び／又は活性の低下を導く能力を有する。一部の実施形態において、C9orf72 関連障害は、C9orf72 遺伝子又はその遺伝子産物における有害な突然変異の異常な又は過剰な活性、レベル及び／又は発現又はその異常な組織又は細胞間若しくは細胞内分布に関係する、それによって引き起こされ、且つ／又はそれに関連付けられる障害である。一部の実施形態において、C9orf72 関連障害は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、前頭側頭型認知症 (FTD)、大脳皮質基底核変性症候群 (CBD)、非定型パーキンソン症候群、オリブ橋小脳変性症 (OPCD)、原発性側索硬化症 (PLS)、進行性筋萎縮症 (PMA)、ハンチントン病 (HD) 表現型模写、アルツハイマー病 (AD)、双極性障害、統合失調症又は他の非運動障害である。C9orf72 関連障害の症状には、本明細書に記載される及び当技術分野において公知のものが含まれる。

【1023】

何れか特定の理論又は術語に束縛されることは意図しないが、本明細書は、絶えず発展するC9orf72 関連疾患の理解と共に、報告によれば、様々なC9orf72 関連疾患の正確な標識も発展していることに留意する。一部の実施形態では、C9orf72 オリゴヌクレオチドは、C9orf72 のヘキサヌクレオチドリピート伸長含有突然変異型対立遺伝子のレベル (タンパク質及び／若しくはmRNAレベルで) を低減する、且つ／又はヘキサヌクレオチドリピート伸長含有突然変異C9orf72 mRNAから産生されるジペプチドリピータンパク質のレベルを低減する上で有用であり、その際、オリゴヌクレオチドは、C9orf72 関連疾患を治療する上で有用である。

【1024】

一部の実施形態において、c9orf72 関連障害はFTDである。一部の実施形態において、FTDは、前頭側頭型認知症又は前頭側頭型変性症の略称である。一部の実施形態において、前頭側頭型変性症 (FTD) は、脳の前頭葉及び側頭葉に発症する疾患過程である。これは、行動、人格、言語及び／又は運動の変化によって特徴付けられる一群の障害を引き起こす。FTDの臨床診断には、行動障害型FTD (bvFTD)、原発性進行性失語症 (PPA) 及び運動障害の進行性核上性麻痺 (PSP) 及び大脳皮質基底核変性症 (CBD) の任意の1つ以上が含まれる。一部の実施形態において、PPA、PSP又はCBDに罹患している又はそれに罹り易い患者は、認知症を呈さないか、又はそれと同定されない。一部の実施形態において、前頭側頭型認知症はbvFTDの症状に等しいか、又はそれによって特徴付けられる。

【1025】

本開示は、本明細書に開示されるオリゴヌクレオチドを使用する方法に関し、これは、C9orf72 をターゲティングすることができ、C9orf72 関連障害の治療及び／又は治療薬の製造に有用である。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの塩基配列は、指定塩基配列からの指定最大数のミスマッチを有する塩基配列を含むか、それから構成され得る。

【1026】

一部の実施形態では、本開示は、神経変性疾患を治療するための薬剤の製造を目的とするC9orf72 オリゴヌクレオチドを含む組成物の使用に関する。

【1027】

一部の実施形態では、本開示は、患者のC9orf72 関連障害を治療又は改善する方法に関し、この方法は、C9orf72 に対する治療有効量のオリゴヌクレオチドを患者に投与するステップを含む。

【1028】

一部の実施形態では、本開示は、C9orf72オリゴヌクレオチドを含む組成物を動物に投与するステップを含む方法に関する。

【1029】

一部の実施形態では、動物は、被験者、例えばヒトである。

【1030】

一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドの投与など、C9orf72関連障害の治療に好適な対象又は患者は、医療専門家が同定又は診断することができる。C9orf72関連疾患は、幾つかの神経学的疾患の1つである。一部の実施形態において、神経学的疾患を有するとの対象の診断は、1つ以上の症状、例えば運動ニューロン変性症状の評価によって実施することができる。一部の実施形態において、神経学的疾患の診断には、身体診察に続き、徹底した神経学的診察が行われ得る。一部の実施形態において、神経学的診察では、運動及び知覚技能、神経機能、聴力及び発話、視力、協調及び平衡、精神状態及び気分又は行動の変化を評価し得る。神経学的疾患に関連する疾患の非限定的な症状は、腕、脚、足又は足首の脱力；不明瞭な発語；足の前部及び足指の背屈困難；手の脱力又は不器用さ；筋麻痺；硬直した筋肉；不随意の痙攣又はもがくような動き（舞蹈病）；不随意の持続的筋拘縮（ジストニー）；動作緩慢；自動運動の喪失；姿勢及び平衡障害；柔軟性の欠如；刺痛のある身体部位；頭部の動きに伴い起こる電気ショックを受けた感覚；腕、肩及び舌の攣縮；嚥下困難；呼吸困難；咀嚼困難；視力の部分的又は完全な喪失；複視；緩徐又は異常眼球運動；振戦；不安定歩行；疲労；記憶喪失；眩暈；思考又は集中困難；読書又は書字困難；空間的關係の誤解釈；失見当識；抑鬱；不安；意思決定及び判断困難；衝動制御の喪失；慣習的課題の計画及び実施の困難；攻撃性；被刺激性；引きこもり；気分変動；認知症；睡眠習慣の変化；徘徊；食欲の変化であり得る。

10

20

【1031】

一部の実施形態では、組成物は、C9orf72障害の少なくとも1つの症状を予防、治療、改善又はその進行を遅らせる。

【1032】

一部の実施形態では、動物又はヒトは、C9orf72関連障害の症状に罹患している。

30

【1033】

一部の実施形態において、本開示は、C9orf72遺伝子発現を低下させるオリゴヌクレオチドを細胞に導入する方法に関し、この方法は、オリゴヌクレオチド又はC9orf72オリゴヌクレオチドを細胞に接触させることを含む。

【1034】

一部の実施形態では、本開示は、それを必要とする哺乳動物のC9orf72遺伝子発現を低減する方法に関し、この方法は、C9orf72に対するオリゴヌクレオチドを含む核酸-脂質粒子を哺乳動物に投与するステップを含む。

【1035】

一部の実施形態において、本開示は、C9orf72遺伝子発現を標的とするオリゴヌクレオチドのインビボ送達方法に関し、この方法は、C9orf72に対するオリゴヌクレオチドを哺乳類に投与することを含む。

40

【1036】

一部の実施形態では、本開示は、それを必要とする哺乳動物のC9orf72関連障害に関連する1つ又は複数の症状を治療及び／又は改善する方法に関し、この方法は、C9orf72に対するオリゴヌクレオチドを含む核酸-脂質粒子を治療有効量で哺乳動物に投与するステップを含む。

【1037】

一部の実施形態では、本開示は、細胞におけるC9orf72発現を阻害する方法に関し、この方法は、以下：（a）細胞をC9orf72に対するオリゴヌクレオチドと接触

50

させるステップと；（b）ステップ（a）で生成された細胞を、C9orf72遺伝子のmRNA転写物の分解を達成するのに十分な時間維持し、それにより細胞中のC9orf72遺伝子の発現を阻害するステップを含む。

【1038】

一部の実施形態では、C9orf72発現は、少なくとも30%阻害される。

【1039】

一部の実施形態では、本開示は、C9orf72発現により媒介される障害を治療する方法に関し、そうした治療を必要とするヒトに治療有効量のC9orf72に対するオリゴヌクレオチドを投与するステップを含む。

【1040】

一部の実施形態では、投与により、リピート伸長を含むC9orf72転写物若しくはその遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低減が起こる。

【1041】

一部の実施形態において、本開示は、C9orf72関連障害の治療方法に関する。

【1042】

一部の実施形態では、本開示は、以下：同じmRNAの2つ以上の異なるスプライシング産物を含む系であって、少なくとも1つのスプライシング産物が、疾患関連であり、少なくとも1つのスプライシング産物が、非疾患関連である、スプライシング産物を含む系を用意するステップ；この系にオリゴヌクレオチドを導入するステップを含む方法に関し、ここで、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの疾患関連スプライシング産物中に存在するが、少なくとも1つの非疾患関連スプライシング産物中には存在しない配列と相補的であり、オリゴヌクレオチドは、非疾患関連スプライシング産物の発現、レベル及び／又は活性と比較して、疾患関連スプライシング産物の発現、レベル及び／又は活性を低減することができる。

【1043】

本方法の一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、疾患関連スプライシング産物中に存在するが、非疾患関連スプライシング産物中には存在しないイントロン-エクソン結合と相補的である。

【1044】

本方法の一部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つのキラル制御されたヌクレオチド間結合を含む。

【1045】

本方法の一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドはC9orf72オリゴヌクレオチドであり、系は、c9orf72関連障害に罹患している及び／又はそれに罹り易い対象である。

【1046】

一部の実施形態において、対象には第2の治療用薬剤又は方法が投与される。

【1047】

一部の実施形態において、対象にはc9orf72オリゴヌクレオチドと1つ以上の第2の治療用薬剤又は方法とが投与される。

【1048】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、神経学的疾患を予防するか、治療するか、改善するか、又はその進行を遅延させる能力を有する。

【1049】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、C9orf72関連障害を予防するか、治療するか、改善するか、又はその進行を遅延させる能力を有する。

【1050】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、エンドソーム及び／又はリソソーム輸送調節薬、グルタミン酸受容体阻害薬、PIKFYVEキナーゼ阻害薬及びカリウムチャンネル活性化薬から選択される、神経学的疾患を予防するか、治療するか、改善す

10

20

30

40

50

るか、又はその進行を遅延させる能力を有する。

【1051】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、ジペプチドリピータンパク質に対する抗体又はRNAフォカスの形成を妨害する又はその存在量若しくは数を低下させる薬剤（例えば、抗体又は小分子）を含む。

【1052】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、非限定的な例としてC9orf72の発現、活性及び／又はレベルを増加させる遺伝子又は遺伝子産物をノックダウンすることにより、C9orf72の発現、活性及び／又はレベルを間接的に低下させる。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、ヒトSPT4オルソログのSUTPT4H1をノックダウンし、このノックダウンにより、センス及びアンチセンスC9orf72 RNAフォカスの産生並びにDPRタンパク質が低下した。Kramer et al. 2016 Science 353:708。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤又は方法は、核酸、小分子、遺伝子療法又は非限定的な例としてMisset et al. Mol Neurobiol. 2017 Aug; 54(6):4466-4476を含めた、文献に記載される他の薬剤若しくは方法である。

【1053】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はC9orf72オリゴヌクレオチドに物理的にコンジュゲートされる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72の発現、活性及び／又はレベルを（直接又は間接的に）低下させる又はC9orf72関連障害の症状の治療に有用である第2のオリゴヌクレオチドに物理的にコンジュゲートされる。一部の実施形態において、第1のC9orf72オリゴヌクレオチドは、第1のC9orf72オリゴヌクレオチドと同一であっても又は同一でなくてもよい、且つ第1のC9orf72オリゴヌクレオチドと異なる又は同じである又は重複する配列を標的とすることができる第2のC9orf72オリゴヌクレオチドに物理的にコンジュゲートされる。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、SUTPT4H1をノックダウンするオリゴヌクレオチドと同じ治療レジームとなるようにコンジュゲートされるか、又は共投与されるか、又は導入される。一部の実施形態において、C9orf72オリゴヌクレオチドは、SOD1、TARDBP、FUS/TLS、MAPT、TDP-43、SUTPT4H1又はFUS/TLSなど、ALS又はFTDなどのC9orf72関連障害に関連する別の（非C9orf72）遺伝子又は遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを改善する第2の治療用薬剤と同じ治療レジームとなるようにコンジュゲートされるか、又は共投与されるか、又は導入される。

【1054】

一部の実施形態において、かかる遺伝子又は遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルの改善には、とりわけ：疾患状態で高過ぎるかかる遺伝子又は遺伝子産物の発現、活性及び／又はレベルを低下させること；疾患状態で低過ぎる発現、活性及び／若しくはレベル又はかかる遺伝子若しくは遺伝子産物を増加させること；及び／又はかかる遺伝子又は遺伝子産物の突然変異体及び／又は疾患関連変異体の発現、活性及び／又はレベルを低下させることが含まれる。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はオリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、C9orf72オリゴヌクレオチドに物理的にコンジュゲートされたオリゴヌクレオチドである。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はフマル酸モノメチル（MMF）を含み、報告によれば、これはNrf2及び／又はω-3脂肪酸を活性化させる。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はフマル酸モノメチル（MMF）及び／又はω-3脂肪酸、ドコサヘキサエン酸（DHA）を含み、報告によれば、これはNF-κBを阻害する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はフマル酸モノメチル（MMF）とω-3脂肪酸、ドコサヘキサエン酸（DHA）とのコンジュゲートを含む。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はCAT-4001（Catabasis Pharmaceuticals, Cambridge, MA, US）である。

【1055】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、国際公開第2016/210372号パンフレットに記載されるエンドソーム及び／又はリソソーム輸送調節薬、グルタミン酸受容体阻害薬、PIKFYVEキナーゼ阻害薬及びカリウムチャネル活性化薬から選択される、神経学的疾患を予防するか、治療するか、改善するか、又はその進行を遅延させる能力を有する。一部の実施形態において、カリウムチャネル活性化薬はレチガビンである。一部の実施形態において、グルタミン酸受容体は運動ニューロン(MN)又は脊髄運動ニューロン上にある。一部の実施形態において、グルタミン酸受容体はNMDA、AMPA又はカイナイトである。一部の実施形態において、グルタミン酸受容体阻害薬は、AP5((2R)-アミノ-5-ホスホノ吉草酸;(2R)-アミノ-5-ホスホノペンタン酸)、CNQX(6-シアノ-7-ニトロキノキサリン-2,3-ジオン)又はNBQX(2,3-ジヒドロキシ-6-ニトロ-7-スルファモイル-ベンゾ[f]キノキサリン-2,3-ジオン)である。

10

【1056】

一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、SOD1、TARDBP、FUS/TL S、MAPT、TDP-43、SUPT4H1又はFUS/TL Sなど、c9orf72関連障害に関連する遺伝子(又はその遺伝子産物)の発現、レベル及び／又は活性を低下させる能力を有する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、SOD1、TARDBP、FUS/TL S、MAPT、TDP-43、SUPT4H1又はFUS/TL Sなど、筋萎縮性側索硬化症(ALS)又は前頭側頭型認知症(FTD)に関連する遺伝子(又はその遺伝子産物)の発現、レベル及び／又は活性を低下させる薬剤である。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、過剰な酸化的ストレスを制御する能力を有する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はRadica(登録商標)(エダラボン)である。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はウルソデオキシコール酸(UDCA)である。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、ニューロンへのNa⁺侵入を阻止することを通じてニューロンの活動を低減し、且つ運動ニューロンの活動を引き起こす化学物質の放出を阻止することにより、ニューロンに影響を及ぼす能力を有する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はリルゾールである。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、疲労を低減し、筋痙攣を緩和し、痙攣を制御し、且つ／又は過剰な唾液及び痰を低減する能力を有する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、疼痛を低減する能力を有する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は非ステロイド薬及び／又は抗炎症薬及び／又はオピオイドである。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、抑鬱、睡眠障害、嚥下障害、痙攣、唾液嚥下困難及び／又は便秘を低減する能力を有する。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤はバクロフェン又はジアゼパムである。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、トリヘキシフェニジル、アミトリプチリン及び／又はグリコピロレートであるか又はそれを含む。一部の実施形態において、第2の治療用薬剤は、本明細書に開示される任意のオリゴヌクレオチドの配列の少なくとも15隣接ntを含む配列を有する鎖を含むdsRNA又はsiRNAである。

20

30

【1057】

医薬組成物

一部の実施形態では、本開示は、提供される化合物、例えば提供されるオリゴヌクレオチド又はその薬学的に許容される塩及び製剤用担体を含む医薬組成物を提供する。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、C9orf72オリゴヌクレオチドである。

40

【1058】

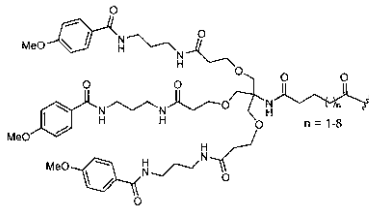
治療薬として使用されるとき、提供されるオリゴヌクレオチド又は本明細書に記載のオリゴヌクレオチド組成物は、医薬組成物として投与される。一部の実施形態では、医薬組成物は、限定はされないが、中枢神経系をはじめとする、疾患に罹患した身体の領域へのオリゴヌクレオチド組成物の投与に好適である。一部の実施形態では、医薬組成物は、治療有効量の提供されるオリゴヌクレオチド又はその薬学的に許容される塩並びに薬学的に

50

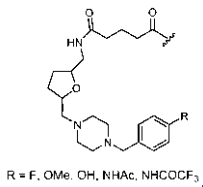
許容される希釈剤、薬学的に許容される賦形剤及び薬学的に許容される担体から選択される少なくとも1つの薬学的に許容される不活性成分を含む。

【1059】

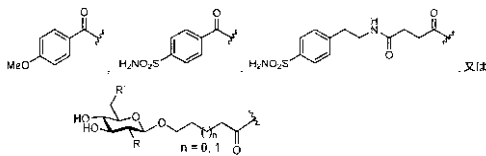
一部の実施形態では、提供されるC9orf72は、中枢神経系への送達に使用する上で好適な追加の化学部分と共役され、こうした化学部分は、グルコース、GluNAc（N-アセチルアミングルコサミン）及びアニスアミド並びに以下：



10

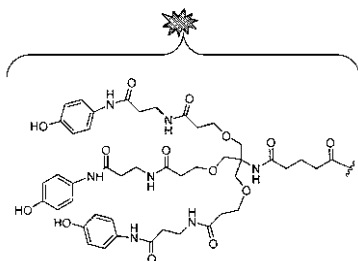


R = F, OMe, OH, NHAc, NHCOCF₃

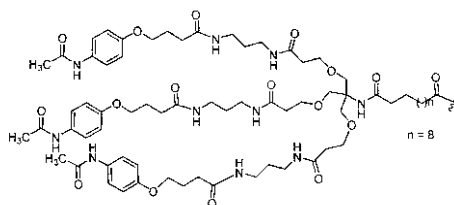
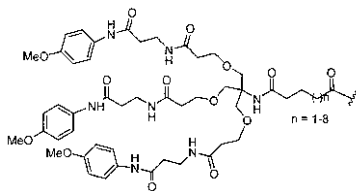


20

R = NHAc, R' = OH; R = NHCOC6H4OMe(p-アニソイル), R' = OH
R = NHAc, R' = NHCOC6H4OMe(p-アニソイル); R = OH, R' = NHCOC6H4OMe(p-アニソイル)



30



40

の構造の何れかの分子から選択され、これらについては、実施例1及び2で更に詳しく説明する。

【1060】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドと共役した追加の化学部分は、オリゴヌクレオチドを神経系中の細胞にターゲティングさせることができる。

【1061】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドと共役した追加の化学部分は、アニスアミド又はその誘導体若しくは類似体を含み、提供されるオリゴヌクレオチドを、シ

50

グマ1受容体などの特定の受容体を発現する細胞にターゲティングさせることができる。

【1062】

一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、その標的を発現する身体細胞及び／又は組織への投与のために製剤化される。

【1063】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドと共役した追加の化学部分は、C9orf72オリゴヌクレオチドを神経系中の細胞にターゲティングさせることができる。

【1064】

一部の実施形態では、C9orf72オリゴヌクレオチドと共役した追加の化学部分は、アニスアミド又はその誘導体若しくは類似体を含み、シグマ1受容体などの特定の受容体を発現する細胞にC9orf72オリゴヌクレオチドをターゲティングさせることができる。

【1065】

一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72を発現する身体細胞及び／又は組織への投与のために製剤化される。一部の実施形態では、こうした身体細胞及び／又は組織は、ニューロン又は中枢神経系の細胞及び／若しくは組織である。一部の実施形態では、中枢神経系内での本明細書に記載のオリゴヌクレオチド及び組成物の広範な分布は、実質内投与、髄腔内投与又は脳血管内投与により達成することができる。

【1066】

一部の実施形態では、医薬組成物は、静脈内注射、経口投与、口腔投与、吸入、鼻内投与、局所投与、点眼又は点耳用に製剤化する。一部の実施形態では、医薬組成物は、錠剤、丸薬、カプセル、液剤、吸入剤、鼻内噴霧溶液、座薬、懸濁液、ゲル、コロイド、分散液、懸濁液、溶液、エマルジョン、軟膏、ローション、点眼薬又は点耳薬である。

【1067】

一部の実施形態では、本開示は、薬学的に許容される賦形剤と混合して、キラル制御オリゴヌクレオチド又はその組成物を含む医薬組成物を提供する。当業者は、医薬組成物が、前述したキラル制御オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩又はその組成物を含むことを認識されよう。

【1068】

多様な超分子ナノキャリアを用いて、核酸を送達することができる。ナノキャリアの例として、限定はされないが、リポソーム、カチオン性ポリマー複合体及び各種ポリマー物質が挙げられる。様々なポリカチオンと核酸の複合体化は、細胞内送達の別のアプローチであり、これは、PEG化ポリカチオン、ポリエチレンアミン（PEI）複合体、カチオン性ブロックコポリマー及びデンドリマーの使用を含む。PEI及びポリアミドアミンデンドリマーを含むいくつかのカチオン性ナノキャリアは、エンドソームからの内容物の放出を補助する。他のアプローチとしては、ポリマーナノ粒子、ミクロスフェア、リポソーム、デンドリマー、生分解性ポリマー、コンジュゲート、プロドラッグ、硫黄若しくは鉄などの無機コロイド、抗体、インプラント、生分解性インプラント、生分解性ミクロスフェア、浸透圧調節インプラント、脂質ナノ粒子、エマルジョン、油性溶液、水溶液、生分解性ポリマー、ポリ（ラクチド-コグリコール酸）、ポリ（乳酸）、液体デポ、ポリマーミセル、量子ドット及びリポプレックスの使用が挙げられる。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドを別の分子と共役させる。

【1069】

本明細書に記載する送達戦略例の他にも、別の核酸送達戦略が知られている。

【1070】

治療及び／又は診断用途では、全身及び局所又は局在化投与をはじめとする、様々な投与方法のために、本開示の化合物を製剤化することができる。技術及び製剤化は、一般に、Remington, The Science and Practice of P

10

20

30

40

50

h a r m a c y, (2 0 t h e d. 2 0 0 0) に見出すことができる。

【1071】

提供されるオリゴヌクレオチド及びその組成物は、広範な用量範囲で有効である。例えば、成人の治療では、1日当たり約0.01～約1000mg、約0.5～約100mg、約1～約50mg及び1日当たり約5～約100mgの用量が、使用可能な用量の例である。厳密な用量は、投与経路、化合物が投与される剤形、治療対象の被験者、治療対象の被験者の体重並びに担当医の選択及び経験に応じて変動する。

【1072】

薬学的に許容される塩は、一般に、当業者には周知であり、限定されないが、例として、酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベシル酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩、重酒石酸塩、臭化物、エデト酸カルシウム、カルンシレート (c a r n s y l a t e)、炭酸塩、クエン酸塩、エデト酸塩、エジシル酸塩、エストレート、エシル酸塩、フマル酸塩、グルセプテート、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニレート (g l y c o l l y l a r s a n i l a t e)、ヘキシルリゾルシネート (h e x y l r e s o r c i n a t e)、ヒドラバミン、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトエ酸塩、ヨウ化物、イセチオン酸塩、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ムケート、ナプシレート、硝酸塩、パモ酸塩 (エンボン酸塩)、パントテン酸塩、リン酸塩／ニリン酸塩、ポリガラクトネート、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩又はテオクル酸塩が挙げられ得る。他の薬学的に許容される塩は、例えば、R e m i n g t o n, T h e S c i e n c e a n d P r a c t i c e o f P h a r m a c y (2 0 t h e d. 2 0 0 0) に見出すことができる。好ましい薬学的に許容される塩としては、例えば、酢酸塩、安息香酸塩、臭化物、炭酸塩、クエン酸塩、グルコン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、マレイン酸塩、メシル酸塩、ナプシル酸塩、パモ酸塩 (エンボン酸塩)、リン酸塩、サリチル酸塩、コハク酸塩、硫酸塩又は酒石酸塩が挙げられる。

【1073】

一部の実施形態では、提供されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、米国特許出願第61/774759号明細書；12/19/13に出願された同第61/918,175号明細書；同第61/918,927号明細書；同第61/918,182号明細書；同第61/918941号明細書；同第62/025224号明細書；同第62/046487号明細書；又は国際出願番号PCT/米国特許出願第04/042911号明細書；PCT/欧州特許第2010/070412号明細書；若しくはPCT/IB2014/059503号明細書に記載される医薬組成物に製剤化される。

【1074】

処置される具体的な状態に応じて、こうした薬剤を液体又は固体の剤形に製剤化して、全身又は局所に投与することができる。薬剤は、当業者には周知である通り、例えば時間設定又は持続的徐放形態で、送達することができる。製剤化及び投与のための技術は、R e m i n g t o n, T h e S c i e n c e a n d P r a c t i c e o f P h a r m a c y (2 0 t h e d. 2 0 0 0) に見出すことができる。適切な経路としては、以下、経口、口腔、吸入スプレーによる、舌下、直腸、経皮、腔内、経粘膜、経鼻若しくは腸内投与；筋肉内、皮下、髄内注射並びに髄腔内、直接脳室内、静脈内、関節内、胸骨内、滑膜内、肝臓内、病巣内、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内若しくは眼内注射を含む非経口送達又は他の送達様式を挙げることができる。

【1075】

注射の場合、開示の薬剤は、例えば、ハンクス溶液、リンゲル溶液又は生理食塩緩衝液などの生理学的に適合性の緩衝液中などの水溶液に配合し、希釈し得る。こうした経粘膜投与の場合、透過しようとする障壁に適した浸透剤を製剤に使用する。こうした浸透剤は、当技術分野で一般に知られている。

【1076】

本開示の実施の目的で本明細書に開示される化合物を全身投与に好適な剤形に製剤化す

るための薬学的に許容される不活性担体の使用は、本開示の範囲内に含まれる。担体の適切な選択及び好適な製造の実施により、本開示の組成物、特に、溶液として製剤化されたものを、静脈内注射などによって非経口投与することができる。

【1077】

化合物は、当技術分野において周知の薬学的に許容される担体を用いて、経口投与に適した剤形に、容易に製剤化することができる。こうした担体は、治療対象の被験者（例えば、患者）による経口摂取のために、本開示の化合物を、錠剤、丸薬、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液などとして製剤化することを可能にする。

【1078】

経鼻又は吸入送達の場合、当業者には周知の方法により本開示の薬剤を製剤化することもでき、これは、例えば、限定されないが、食塩水などの可溶化剤、希釈剤又は分散物質、ベンジルアルコールなどの防腐剤、吸収促進剤及びフルオロカーボンを含み得る。

【1079】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド及び組成物は、CNSに送達される。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド及び組成物は、脳脊髄液に送達される。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド及び組成物は、脳実質に投与される。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド及び組成物は、髄腔内投与又は脳室内投与により、動物／被験者に送達される。中枢神経系内での本明細書に記載のオリゴヌクレオチド及び組成物の広範な分布は、実質内投与、髄腔内投与又は脳血管投与で達成することができる。

【1080】

いくつかの実施形態では、非経口投与は、注射により、例えば注射器、ポンプなどによって行われる。特定の実施形態では、注射は、ボラス注射である。いくつかの実施形態では、注射は、線条体、小脳尾、皮質、海馬及び小脳などの組織に直接投与される。

【1081】

いくつかの実施形態では、ボラス注射など、医薬剤を特に局在化する方法は、20、25、30、35、40、45又は50の係数で50%効果濃度（EC50）を低減する。いくつかの実施形態では、本明細書に更に記載される通りのアンチセンス化合物中の医薬剤である。いくつかの実施形態では、標的組織は、脳組織である。いくつかの実施形態では、標的組織は、線条体組織である。いくつかの実施形態では、EC50の低減は、それを必要とする患者における薬理学的結果を達成するのに必要な用量を減じることから、望ましい。

【1082】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、毎月、2ヶ月毎、90日毎、3ヶ月毎、6ヶ月毎に1回、年2回若しくは年1回の注射又は注入により送達される。

【1083】

本開示での使用に適した医薬組成物は、活性成分がその意図される目的を達成するのに有効な量で含有される組成物を含む。有効量の決定は、特に本明細書に提供される詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。

【1084】

活性成分に加えて、これらの医薬組成物は、活性化合物の薬学的に使用可能な製剤への処理を促進する賦形剤及び助剤を含む、薬学的に許容される好適な担体を含む。経口投与のために製剤化される製剤は、錠剤、糖衣錠、カプセル又は溶液の形態であり得る。

【1085】

経口使用のための医薬製剤は、活性化合物を固体賦形剤と合わせ、得られた混合物を任意選択で粉砕し、必要に応じて適切な助剤を添加した後、顆粒の混合物を処理して、錠剤又は糖衣錠コアを取得することにより得ることができる。好適な賦形剤は、特に、ラクトース、スクロース、マンニトール又はソルビトールをはじめとする、糖などの充填剤；セ

10

20

30

40

50

ルロース製剤、例えばトウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース（CMC）及び／又はポリビニルピロリドン（PVP：ポビドン）である。所望であれば、崩壊剤、例えば架橋ポリビニルピロリドン、寒天又はアルギン酸若しくはアルギン酸ナトリウムなどのその塩を添加し得る。

【1086】

糖衣錠コアは、好適なコーティングを施して提供される。この目的のために、濃縮糖溶液を用い得、これは任意選択で、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール（PEG）及び／又は二酸化チタン、ラッカー溶液並びに適切な有機溶媒又は溶媒混合物を含有し得る。識別のため又は活性化化合物用量の様々な組み合わせを特徴付けるために、染料又は顔料を錠剤又は糖衣錠コーティングに添加し得る。

10

【1087】

経口で利用できる医薬製剤は、ゼラチン製の押し込み型（push-fit）カプセル及びゼラチン製のソフト密封カプセル並びにグリセロール又はソルビトールなどの可塑性を含む。押し込み型カプセルは、活性成分を、ラクトースなどの充填剤、デンプンなどの結合剤、及び／又はタルク若しくはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、及び任意選択で安定剤と一緒に混合した状態で含有することができる。ソフトカプセル内で、活性化化合物を例えば脂肪油、液体パラフィン又は液体ポリエチレングリコール（PEG）などの適切な液体に、溶解又は懸濁させ得る。更に、安定剤を添加し得る。

20

【1088】

活性化化合物を脂質と合わせることにより組成物を取得することができる。一部の実施形態では、脂質を活性化化合物と共役させる。一部の実施形態では、脂質を活性化化合物と共役させない。一部の実施形態では、脂質は、 $C_{10} \sim C_{40}$ 直鎖、飽和若しくは部分不飽和脂肪族鎖を含む。一部の実施形態では、脂質は、1つ又は複数の $C_{1} \sim C_{4}$ 脂肪族基により任意選択で置換された $C_{10} \sim C_{40}$ 直鎖、飽和若しくは部分不飽和脂肪族鎖を含む。一部の実施形態では、脂質は、以下：ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 α リノール酸、 γ リノール酸、ドコサヘキサエン酸（シス-DHA）、ツルビナル酸（turbinaric acid）及びジリノレイルからなる群から選択される。一部の実施形態では、活性化化合物は、本明細書に記載される任意のオリゴヌクレオチド又は他の核酸である。一部の実施形態では、活性化化合物は、表1Aに挙げる何れかの核酸の任意の配列を含むか、それから構成される配列の核酸である。一部の実施形態では、組成物は、脂質及び活性化化合物を含み、更に、別の脂質及びターゲティング化合物又は部分から選択される別の構成要素も含む。一部の実施形態では、脂質は、限定しないが、以下：アミノ脂質；両親媒性脂質；アニオン性脂質；アポリボタンパク質；カチオン性脂質；低分子量カチオン性脂質；CLiNDMA及びDLiNDMAなどのカチオン性脂質；イオン化カチオン性脂質；クローキング成分；ヘルパー脂質；リポペプチド；中性脂質；中性双性イオン脂質；疎水性小分子；疎水性ビタミン；PEG脂質；1つ又は複数の親水性ポリマーで修飾された非荷電脂質；リン脂質；1, 2-ジオレオイル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンなどのリン脂質；ステルス脂質；ステロール；コレステロール；及びターゲティング脂質；並びに本明細書に記載されるか又は当技術分野で報告されている何れか他の脂質を含む。一部の実施形態では、組成物は、脂質と、別の脂質の少なくとも1つの機能を媒介することができる別の脂質の一部分を含む。一部の実施形態では、ターゲティング化合物又は部分は、特定の細胞若しくは組織又は細胞若しくは組織のサブセットに化合物（例えば、脂質と活性化化合物を含む組成物）をターゲティングさせることができる。一部の実施形態では、ターゲティング部分は、特定の標的、受容体、タンパク質又は他の細胞分画物の細胞若しくは組織特異的発現を利用するように設計される。一部の実施形態では、ターゲティング部分は、組成物を細胞若しくは組織にターゲティングさせて、且つ／又は標的、受容体、タンパク質若しくは他の細胞分

30

40

50

画物と結合させるリガンド（例えば、小分子、抗体、ペプチド、タンパク質、炭水化物、アプタマーなど）である。

【1089】

活性化合物の送達用の組成物の調製に使用するためのいくつかの脂質の例は、活性化合物の機能を可能にする（例えば、それを阻止又は妨害しない）。脂質の非限定的な例として、以下：ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 α リノール酸、 γ リノール酸、ドコサヘキサエン酸（シス-DHA）、ツルビナル酸及びジリノレイルが挙げられる。

【1090】

本開示に記載される通り、脂肪酸との共役などの脂質共役により、オリゴヌクレオチドの1つ又は複数の特性が改善され得る。

【1091】

一部の実施形態では、活性化合物の送達用の組成物は、活性化合物を、要望される通りに、特定の細胞又は組織にターゲティングさせることができる。一部の実施形態では、活性化合物の送達用の組成物は、活性化合物を筋肉細胞又は組織にターゲティングさせることができる。一部の実施形態では、本開示は、活性化合物の送達に関連する組成物及び方法に関し、ここで、組成物は、活性化合物、脂質を含む。筋肉細胞又は組織に対する様々な実施形態では、脂質は、以下：ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 α リノール酸、 γ リノール酸、ドコサヘキサエン酸（シス-DHA）、ツルビナル酸及びジリノレイルから選択される。

【1092】

治療又は予防しようとする特定の障害に応じて、その状態を治療又は予防するために通常投与される別の治療薬を本開示のC9orf72オリゴヌクレオチドと一緒に投与し得る。

【1093】

一部の実施形態では、第1のC9orf72オリゴヌクレオチドと一緒に投与される第2の治療薬は、第2の異なるC9orf72オリゴヌクレオチドである。

【1094】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9orf72関連障害若しくはその症状の予防及び／又は治療方法或いはそうした方法に使用するための薬剤の製造に使用することができる。

【実施例】

【1095】

提供される技術（化合物（オリゴヌクレオチド、試薬等）、組成物、方法（調製、使用、評価方法等））の特定の例を以下に提供する。

【1096】

オリゴヌクレオチド及びオリゴヌクレオチド組成物（ステレオランダムなもの及びキラル制御されたものの両方）の調製については、例えば、国際公開第2010/064146号パンフレット、国際公開第2011/005761号パンフレット、国際公開第2013/012758号パンフレット、国際公開第2014/010250号パンフレット、米国特許出願公開第2013/0178612号明細書、国際公開第2014/012081号パンフレット、国際公開第2015/107425号パンフレット、国際公開第2017/015555号パンフレット及び国際公開第2017/062862号パンフレット（これらの各々の方法及び試薬は、参照により本明細書に援用される）にあるものを含め、様々な技術が公知であり、本開示において利用することができる。

【1097】

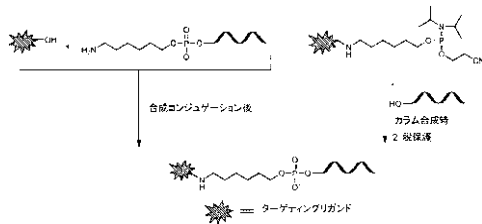
実施例1。

オリゴヌクレオチドのコンジュゲーション。

一部の実施形態において、本開示は、例えば、CNSへの送達を改良するためのオリゴヌクレオチドのコンジュゲーション方法を提供する。実施例1及び2は、CNS送達のためのオリゴヌクレオチドのコンジュゲーションを示す。

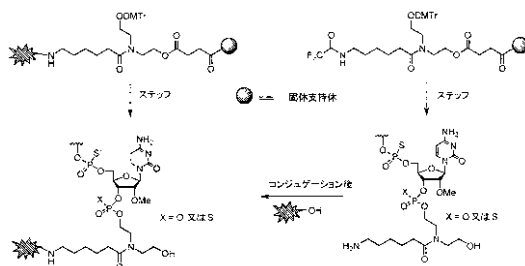
【1098】

一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、5'末端に任意選択でリンカー部分を介して連結した化学的部分を含む。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、5'末端-OHに任意選択でリンカーを介して連結した化学的部分を含む。一部の実施形態において、本開示は以下の5'コンジュゲーション戦略を提供する。



10

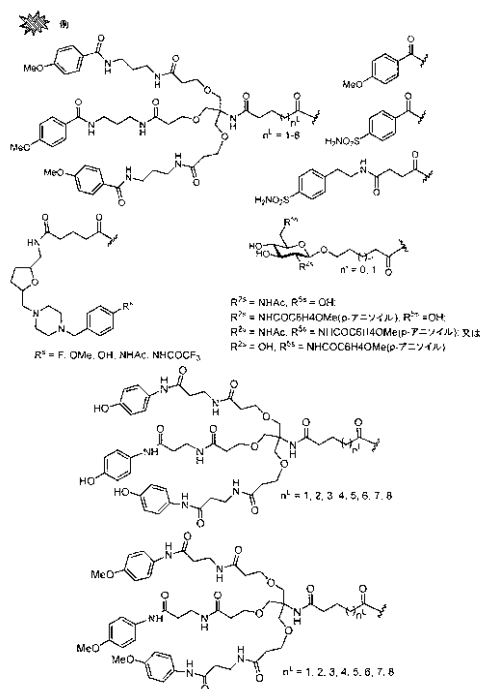
一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、5'末端に任意選択でリンカー部分を介して連結した化学的部分を含む。一部の実施形態において、本開示は、以下の3'コンジュゲーション戦略を提供する。



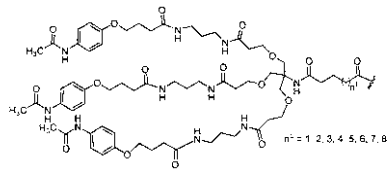
20

本開示では、様々な化学的部分、例えば細胞受容体のリガンド、例えばJuliano et al., J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 8848; Banerjee R et al., Int J Cancer. 2004, 112, 693; J. Med. Chem., 2017, 60(10), pp 4161-4172等に記載されるものを利用することができる。一部の実施形態において、化学的部分は、以下から選択される。

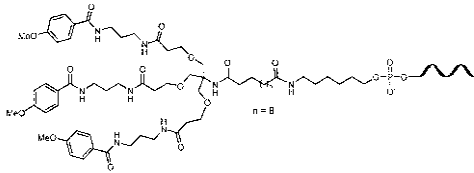
【1099】



40

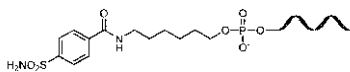


様々なオリゴヌクレオチドのコンジュゲート

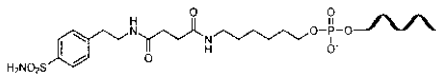


10

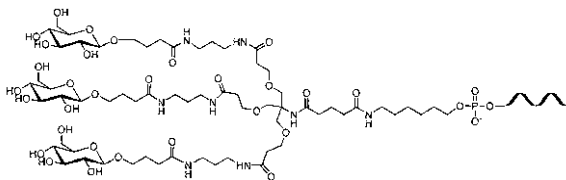
WV-9063 (C9orf72, イントロン), WV-9381 (C9orf72, イントロン), WV-7560 (Malat1), WV-8447 (エクソン1a), WV-8819 (非C9orf72標的), WV-9066 (非C9orf72標的), WV-9065 (非C9orf72標的)



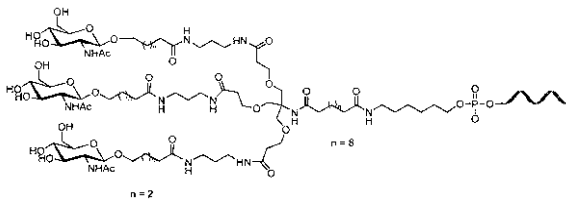
WV-7558 (Malat1)



WV-7559 (Malat1)



WV-8448 (Malat1), WV-8446 (エクソン1a)



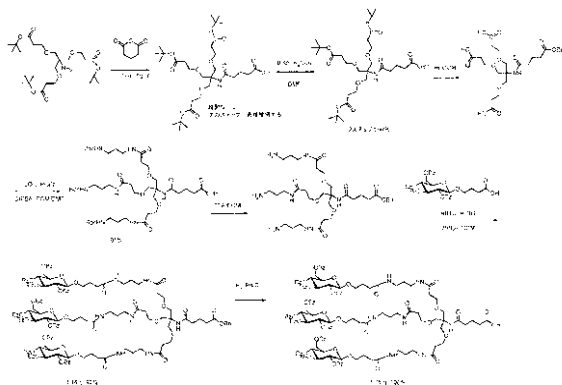
30

WV-8896 (Malat1), WV-8445 (エクソン1a)

【1100】

4, 10, 17-トリオキソ-15, 15-ビス((3-オキソ-3-((3-(4-((2R, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリス(ベンゾイルオキシ)-6-((ベンゾイルオキシ)メチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブタンアミド)プロピル)アミノ)プロポキシ)メチル)-1-((2R, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリス(ベンゾイルオキシ)-6-((ベンゾイルオキシ)メチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-13-オキサ-5, 9, 16-トリアザヘニコサン-21-オイック酸の合成

40



10

ステップ1：THF（40 mL）中のジ-tert-ブチル3,3'-（（2-アミノ-2-（（3-（tert-ブトキシ）-3-オキソプロポキシ）メチル）プロパン-1,3-ジイル）ビス（オキシ））ジプロパノエート1（4.0 g、7.91 mmol）及びジヒドロ-2H-ピラン-2,6（3H）-ジオン（0.903 g、7.91 mmol）の溶液を50℃で3時間及び室温で3時間撹拌した。LC-MSは、所望の生成物を示した。溶媒を蒸発させると酸性の2が得られ、これを精製なしに次のステップに直接使用した。

【1101】

ステップ2：DMF中の5-（（9-（（3-（tert-ブトキシ）-3-オキソプロポキシ）メチル）-2,2,16,16-テトラメチル-4,14-ジオキソ-3,7,11,15-テトラオキサヘプタデカン-9-イル）アミノ）-5-オキソペンタン酸2（4.90 g、7.91 mmol）及び（ブロモメチル）ベンゼン（1.623 g、9.49 mmol）の溶液に無水K₂CO₃（3.27 g、23.73 mmol）を加えた。この混合物を40℃で4時間及び室温で一晩撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。この反応混合物をEtOAcで希釈し、水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させて減圧下で濃縮すると残渣が得られ、これをヘキサン中10% EtOAcからヘキサン中50% EtOAcのISCO溶出によって精製すると、ジ-tert-ブチル3,3'-（（2-（5-（ベンジルオキシ）-5-オキソペンタンアミド）-2-（（3-（tert-ブトキシ）-3-オキソプロポキシ）メチル）プロパン-1,3-ジイル）ビス（オキシ））ジプロパノエート3（5.43 g、7.65 mmol、97%収率）が無色の油として得られた。¹H NMR（400 MHz, クロロホルム-d）δ 7.36-7.28（m, 5H）, 6.10（s, 1H）, 5.12（s, 2H）, 3.70（s, 6H）, 3.64（t, J=8.0 Hz, 6H）, 2.50-2.38（m, 8H）, 2.22（t, J=7.3 Hz, 2H）, 1.95（p, J=7.4 Hz, 2H）, 1.45（s, 27H）；MS, 710.5（M+H）⁺。

20

30

【1102】

ステップ3：ギ酸（50 mL）中のジ-tert-ブチル3,3'-（（2-（5-（ベンジルオキシ）-5-オキソペンタンアミド）-2-（（3-（tert-ブトキシ）-3-オキソプロポキシ）メチル）プロパン-1,3-ジイル）ビス（オキシ））ジプロパノエート3（5.43 g、7.65 mmol）の溶液を室温で48時間撹拌した。LC-MSは、反応が完了していないことを示した。溶媒を減圧下で蒸発させた。粗生成物を再びギ酸（50 mL）に溶解し、室温で6時間撹拌した。LC-MSは、反応の完了を示した。溶媒を減圧下で蒸発させ、減圧下でトルエン（3×）と共蒸発させて、真空下で乾燥させると、3,3'-（（2-（5-（ベンジルオキシ）-5-オキソペンタンアミド）-2-（（2-カルボキシエトキシ）メチル）プロパン-1,3-ジイル）ビス（オキシ））ジプロパン酸4（4.22 g、7.79 mmol、102%収率）が白色固体として得られた。¹H NMR（500 MHz, DMSO-d₆）δ 12.11（s, 3H）, 7.41-7.27（m, 5H）, 6.97（s, 1H）, 5.07（s, 2H）, 3.55（t, J=6.4 Hz, 6H）, 3.53（s, 6H）, 2.40（t, J=6.3 Hz, 6H）, 2.37-2.26（m, 2H）, 2.08（t, J=7.3 Hz,

40

50

2 H), 1.70 (p, J = 7.4 Hz, 2 H); MS, 542.3 (M+H)⁺.

【1103】

ステップ4: 0℃のDCM (60 mL) 及びDMF (15 mL) 中の3, 3'-((2-(5-(ベンジルオキシ)-5-オキソペンタンアミド)-2-((2-カルボキシエトキシ)メチル)プロパン-1, 3-ジイル)ビス(オキシ))ジプロパン酸4 (4.10 g, 7.57 mmol) 及びHOBt (4.60 g, 34.1 mmol) の溶液にtert-ブチル(3-アミノプロピル)カルバメート (5.94 g, 34.1 mmol)、EDAC HCl 塩 (6.53 g, 34.1 mmol) 及びDIPEA (10.55 mL, 60.6 mmol) を加えた。この反応混合物を0℃で15分及び室温で20時間撹拌した。LC-MSは、反応が完了していないことを示した。反応混合物にEDAC HCl 塩 (2.0 g) 及びtert-ブチル(3-アミノプロピル)カルバメート (1.0 g) を加えた。この反応混合物を室温で4時間撹拌した。溶媒を蒸発させると残渣が得られ、これをEtOAc (300 mL) に溶解し、水 (1×)、飽和重炭酸ナトリウム (2×)、10%クエン酸 (2×) 及び水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させて濃縮すると残渣が得られ、これをDCMからDCM中30% MeOHのISCO (80 g 金カートリッジ) 溶出によって精製すると、ベンジル15, 15-ビス(13, 13-ジメチル-5, 11-ジオキソ-2, 12-ジオキサ-6, 10-ジアザテトラデシル)-2, 2-ジメチル-4, 10, 17-トリオキソ-3, 13-ジオキサ-5, 9, 16-トリアザヘニコサン-21-オエート5 (6.99 g, 6.92 mmol, 91%収率) が白色固体として得られた。¹H NMR (500 MHz, クロロホルム-d) δ 7.38-7.33 (m, 5H), 6.89 (br s, 3H), 6.44 (s, 1H), 5.23 (br s, 3H), 5.12 (s, 2H), 3.71-3.62 (m, 12H), 3.29 (q, J = 6.2 Hz, 6H), 3.14 (q, J = 6.5 Hz, 6H), 2.43 (dt, J = 27.0, 6.7 Hz, 8H), 2.24 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.96 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 1.64-1.59 (m, 6H), 1.43 (d, J = 5.8 Hz, 27H); MS (ESI): 1011.5 (M+H)⁺.

10

20

【1104】

ステップ5: DCM (5 mL) 中のベンジル15, 15-ビス(13, 13-ジメチル-5, 11-ジオキソ-2, 12-ジオキサ-6, 10-ジアザテトラデシル)-2, 2-ジメチル-4, 10, 17-トリオキソ-3, 13-ジオキサ-5, 9, 16-トリアザヘニコサン-21-オエート (0.326 g, 0.46 mmol) の溶液にTFA (2 mL) を加えた。この反応混合物を室温で4時間撹拌した。LC-MSは、反応の完了を示した。溶媒を減圧下で蒸発させると、ベンジル5-((1, 19-ジアミノ-10-((3-((3-アミノプロピル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)メチル)-5, 15-ジオキソ-8, 12-ジオキサ-4, 16-ジアザノナデカン-10-イル)アミノ)-5-オキソペンタノエートが無色の油として得られた。精製なしに次のステップに直接使用する。

30

【1105】

ステップ6: DCM (6 mL) 中の5-((2R, 3R, 4R, 5R, 6R)-3-アセトアミド-4, 5-ジアセトキシ-6-(アセトキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ペンタン酸 (1.10 g, 1.61 mmol)、HBTU (0.558 g, 1.47 mmol)、HOBt (0.062 g, 0.46 mmol) 及びDIPEA (1.2 mL, 6.9 mmol)、続いてアセトニトリル (5 mL) 中のベンジル5-((1, 19-ジアミノ-10-((3-((3-アミノプロピル)アミノ)-3-オキソプロポキシ)メチル)-5, 15-ジオキソ-8, 12-ジオキサ-4, 16-ジアザノナデカン-10-イル)アミノ)-5-オキソペンタノエートの溶液に対して。この混合物を室温で3時間撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させると残渣が得られ、これをDCMからDCM中20% MeOHのISCO (40 g 金カラム) 溶出によって精製すると、4, 10, 17-トリオキソ-15, 15-ビス((3-オキソ-3-((3-((4-((2R, 3R, 4S, 5R, 6R)-3, 4, 5-トリス(ベンゾイルオキシ)

40

50

－6－（（ベンゾイルオキシ）メチル）テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）ブタンアミド）プロピル）アミノ）プロポキシ）メチル）－1－（（（2R, 3R, 4S, 5R, 6R）－3, 4, 5－トリス（ベンゾイルオキシ）－6－（（ベンゾイルオキシ）メチル）テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）－13－オキサ－5, 9, 16－トリアザヘニコサン－21－オイックベンジルエステル（1. 14 g、92%収率）が白色固体として得られた。MS（ESI）：1353. 7（M/2+H）⁺。

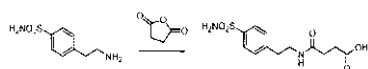
【1106】

ステップ7：EtOAc（50 mL）中の4, 10, 17－トリオキソ－15, 15－ビス（（3－オキソ－3－（（3－（4－（（（2R, 3R, 4S, 5R, 6R）－3, 4, 5－トリス（ベンゾイルオキシ）－6－（（ベンゾイルオキシ）メチル）テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）ブタンアミド）プロピル）アミノ）プロポキシ）メチル）－1－（（（2R, 3R, 4S, 5R, 6R）－3, 4, 5－トリス（ベンゾイルオキシ）－6－（（ベンゾイルオキシ）メチル）テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）－13－オキサ－5, 9, 16－トリアザヘニコサン－21－オイックベンジルエステル（1. 09 g、0. 400 mmol）の溶液に10% Pd-C（200 mg）及びメタノール（2 mL）を加えた。この反応混合物を室温で3時間攪拌した。LC-MSは、反応の完了を示し、EtOAcで希釈し、セライトでろ過し、EtOAc中20% MeOHで洗浄し、減圧下で濃縮すると、4, 10, 17－トリオキソ－15, 15－ビス（（3－オキソ－3－（（3－（4－（（（2R, 3R, 4S, 5R, 6R）－3, 4, 5－トリス（ベンゾイルオキシ）－6－（（ベンゾイルオキシ）メチル）テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）ブタンアミド）プロピル）アミノ）プロポキシ）メチル）－1－（（（2R, 3R, 4S, 5R, 6R）－3, 4, 5－トリス（ベンゾイルオキシ）－6－（（ベンゾイルオキシ）メチル）テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）－13－オキサ－5, 9, 16－トリアザヘニコサン－21－オイック酸（1. 06 g、100%）が白色固体として得られた。MS（ESI）：1308. 1（M+H）⁺。

【1107】

実施例 2

4－オキソ－4－（（4－スルファモイルフェネチル）アミノ）ブタン酸の合成

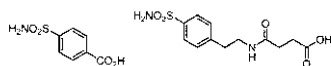


固体試薬4－（2－アミノエチル）ベンゼンスルホンアミド（2. 00 g、9. 99 mmol）及びジヒドロフラン－2, 5－ジオン（0. 999 g、9. 99 mmol）にTHF（30 mL）を加えた。この反応混合物を60℃で7時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させると、4－オキソ－4－（（4－スルファモイルフェネチル）アミノ）ブタン酸（3. 00 g、9. 99 mmol、100%収率）が白色固体として得られた。¹H NMR（400 MHz, DMSO-d₆）δ 12. 09（s, 1H）, 7. 96（t, J = 5. 6 Hz, 1H）, 7. 72（d, J = 8. 1 Hz, 2H）, 7. 38（d, J = 8. 1 Hz, 2H）, 7. 29（s, 2H）, 3. 26（q, J = 6. 8 Hz, 2H）, 2. 76（t, J = 7. 2 Hz, 2H）, 2. 40（t, J = 6. 9 Hz, 2H）, 2. 27（t, J = 6. 9 Hz, 2H）；MS（ESI）, 301. 1（M+H）⁺。

【1108】

スルホンアミドとWV－7557とのコンジュゲーション（WV－7558及び7559の合成）の一般的手順

手順：WV－7558及びWV－7559の合成は、以下の記載と同じ手順に従う。2 mL DMF中のスルホンアミド（5当量）の溶液にHATU（4. 5当量）及びDIPEA（25当量）を加えた。この混合物を2分間良く攪拌した（スキーム1及び2）。



10

20

30

40

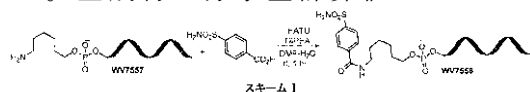
50

【1109】

この溶液に水中のWV-7557（1当量）の溶液を加え、60分間良く振盪した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物をRPカラム（C18）クロマトグラフィーによって精製すると、生成物が得られた。精製した生成物を、酢酸ナトリウム溶液を使用してC-18カートリッジで脱塩した。

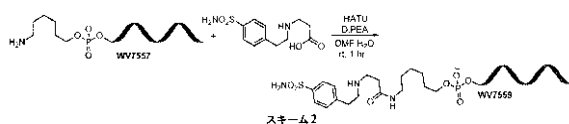
【1110】

WV-7558の合成：上記に概説した一般的手順に従い、4-スルファモイル安息香酸（11mg、54.5 μ mol）、HATU（18.6mg、49 μ mol）及びDIPEA（35mg、272 μ mol）を2ml DMF中で2分間攪拌した（スキーム1）。この活性化したHATU中間体を0.75ml水中のWV-7557（75mg、10.9 μ mol）の溶液に加えた。反応バイアルを60分間振盪した。溶媒を減圧下で除去し、上記に記載した通り精製及び脱塩を実施した。得られた生成物の量は、20mgである。生成物の分子量計算値：7063；得られたデコンボリューション質量：7065



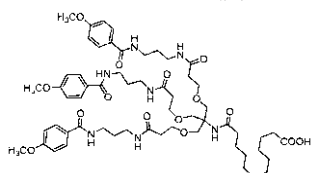
【1111】

WV-7559の合成：上記に概説した一般的手順に従い、4-スルファモイル安息香酸（16.3mg、54.5 μ mol）、HATU（18.6mg、49 μ mol）及びDIPEA（35mg、272 μ mol）を2ml DMF中で2分間攪拌した（スキーム2）。この活性化したHATU中間体を0.75ml水中のWV-7557（75mg、10.9 μ mol）の溶液に加えた。反応バイアルを60分間振盪した。溶媒を減圧下で除去し、上記に記載した通り精製及び脱塩を実施した。得られた生成物の量は、13mgである。生成物の分子量計算値：7162；得られたデコンボリューション質量：7165。



【1112】

三分岐アニスアミドとWV-7557及びWV-8444とのコンジュゲーションの一般的手順：WV-7560及びWV-8447の合成

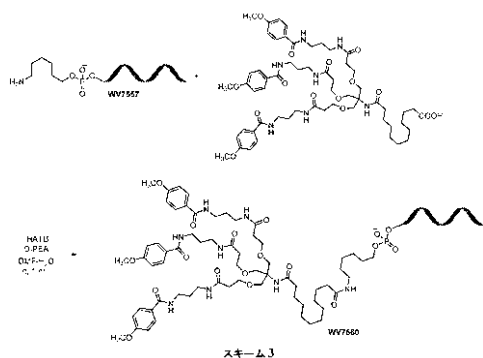


一般的手順：2ml DMF中の三分岐アニスアミド（2当量）の溶液にHATU（1.8当量）及びDIPEA（10当量）を加えた。この混合物を2分間良く攪拌した。この溶液に水中のWV-7557（1当量）の溶液を加え、60分間良く振盪した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物をRPカラム（C8）クロマトグラフィーによって精製すると、生成物が得られた。精製した生成物を、酢酸ナトリウム溶液を使用してC-18カートリッジで脱塩した。

【1113】

WV-7560の合成：2ml DMF中の三分岐アニスアミド（11mg、9.8 μ mol）の溶液にHATU（3.34mg、8.82 μ mol）及びDIPEA（6.3mg、9 μ mol、49 μ mol）を加えた。この混合物を2分間良く攪拌した（スキーム3）。この溶液に0.88ml水中のWV-7557（33.7mg、4.9 μ mol）の溶液を加え、60分間良く振盪した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物をRPカラム（C8）クロマトグラフィーによって精製すると、生成物WV-7560（25mg）が得ら

れた。精製した生成物を、酢酸ナトリウム溶液を使用してC-18カートリッジで脱塩した。生成物の分子量計算値：7982；得られたデコンボリューション質量：7987。

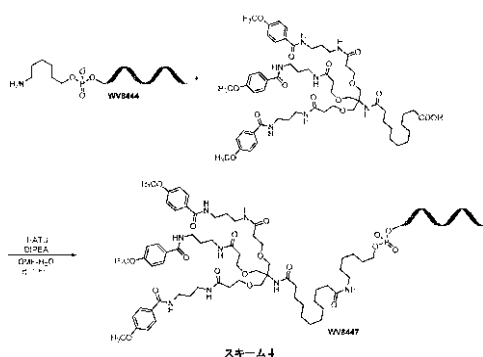


10

【1114】

WV-8447の合成：2ml DMF中の三分岐アニスアミド（13mg、11.6 μmol ）の溶液にHATU（4mg、10.4 μmol ）及びDIPEA（7.5mg、10.3 μl 、58 μmol ）を加えた。この混合物を2分間良く攪拌した（スキーム4）。この溶液に1ml水中WV-8444（40mg、5.8 μmol ）の溶液を加え、60分間良く振盪した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物をRPカラム（C8）クロマトグラフィーによって精製すると、生成物WV-8447が得られた。精製した生成物を、酢酸ナトリウム溶液を使用してC-18カートリッジで脱塩した。生成物の分子量計算値：7970；得られたデコンボリューション質量：7975。

20



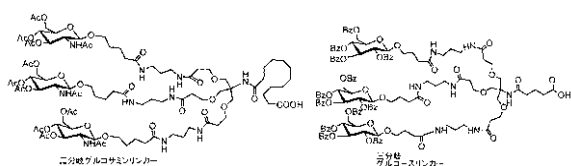
30

【1115】

三分岐グルコサミン／グルコース誘導体とWV-7557又はWV-8444とのコンジュゲーションの一般的手順

2ml DMF中の三分岐グルコサミン又はグルコース誘導体（2当量）の溶液にHATU（1.8当量）及びDIPEA（10当量）を加えた。この混合物を2分間良く攪拌した。この溶液に水中のWV-7557又はWV-8444（1当量）の溶液を加え、60分間良く振盪した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物を30% NH_4OH 溶液によって室温で24時間処理した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物をRPカラム（C8）クロマトグラフィーによって精製すると、生成物が得られた。精製した生成物を、酢酸ナトリウム溶液を使用してC-18カートリッジで脱塩した。

40

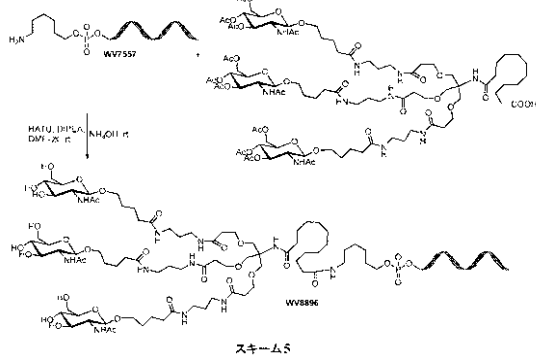


【1116】

WV-8896の合成：上記に示した一般的手順に従い、グルコサミン誘導体（23.3mg、11.6 μmol ）、HATU（4mg、10.4 μmol ）及びDIPEA（7.5mg、58 μmol ）を2ml DMF中に攪拌した（スキーム5）。この溶液

50

に1ml水中の40mg ($5.8 \mu\text{mol}$)のWV-7557を加えた。反応混合物を60分間攪拌すると、所望の生成物が得られた。この生成物を上記に記載した通り NH_4OH で処理した。得られた生成物の量は、20mgである。分子量計算値：8496；得られたデコンボリューション質量：8494

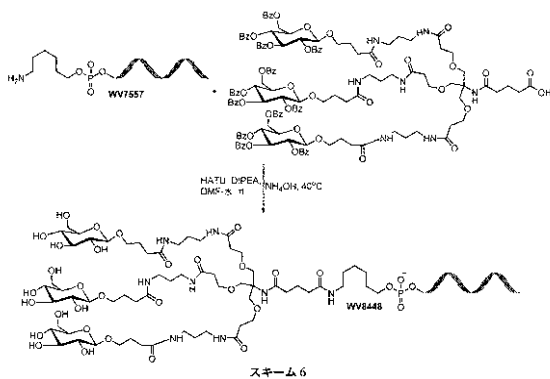


10

【1117】

WV-8448の合成：上記に示した一般的手順に従い、グルコース誘導体 (57mg、 $21.8 \mu\text{mol}$)、HATU (7.5mg、 $19.6 \mu\text{mol}$) 及びDIPEA (14.6mg、 $109 \mu\text{mol}$) を2ml DMF中に攪拌した (スキーム6)。この溶液に1ml水中の75mg ($10.9 \mu\text{mol}$) のWV-7557を加えた。反応混合物を60分間攪拌すると、所望の生成物が得られた。この生成物を上記に記載した通り NH_4OH と共に 40°C で加熱すると、生成物が得られた。分子量計算値：8227；得られたデコンボリューション質量：8233。

20

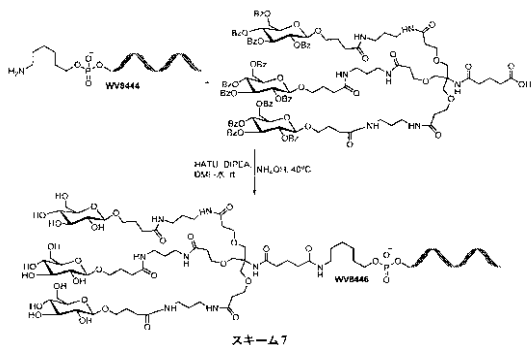


30

【1118】

WV-8446の合成：上記に示した一般的手順に従い、グルコース誘導体 (30mg、 $11.6 \mu\text{mol}$)、HATU (4mg、 $10.4 \mu\text{mol}$) 及びDIPEA (7.5mg、 $58 \mu\text{mol}$) を2ml DMF中に攪拌した (スキーム7)。この溶液に1ml水中の40mg ($5.8 \mu\text{mol}$) のWV8444を加えた。反応混合物を60分間攪拌すると、所望の生成物が得られた。この生成物を上記に記載した通り NH_4OH と共に 40°C で加熱すると、生成物が得られた。分子量計算値：8214；得られたデコンボリューション質量：8218。

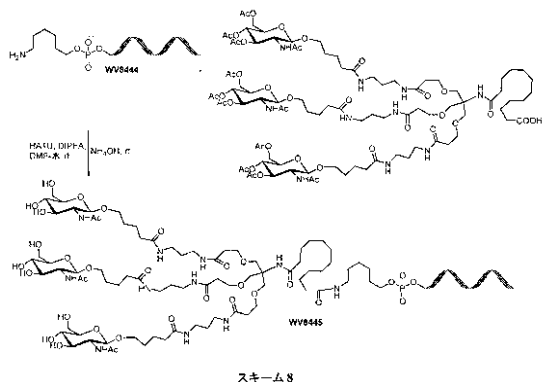
40



50

【1119】

WV-8445の合成：上記に示した一般的手順に従い、グルコサミン誘導体（24 mg、12 μmol ）、HATU（4 mg、10.4 μmol ）及びDIPEA（7.5 mg、58 μmol ）を2 ml DMF中に撹拌した（スキーム8）。この溶液に1 ml 水中の40 mg（5.8 μmol ）のWV-8444を加えた。反応混合物を60分間撹拌すると、所望の生成物が得られた。この生成物を上記に記載した通りNH₄OHと共に40℃で加熱すると、生成物が得られた。分子量計算値：8477；得られたデコンボリューション質量：8484。

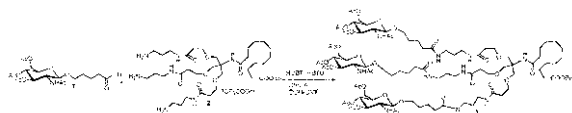


10

【1120】

GlucNAcリンカーの合成

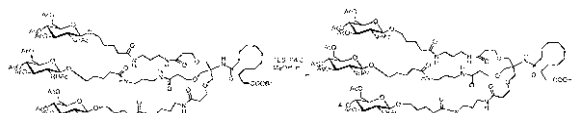
20



GlucNAc酸¹1（1.88 g、4.2 mmol）及びHOBT（0.73 g、5.4 mmol）を無水DMF-DCM混合物（11+15 ml）中に窒素下室温で10分間撹拌した。10℃でHBTU（2.05 g、5.4 mmol）、続いてDIPEA（2.17 g、16.8 mmol）を加えた。この溶液にトリアミン塩²2（1.38 g、1.2 mmol）を加え、一晩撹拌した。溶媒を真空下で除去し、残渣を酢酸エチル（200 ml）に溶解した。この溶液に飽和塩化アンモニウム、飽和塩化ナトリウム、飽和重炭酸ナトリウム及び水（1：1：1：1）の混合物100 mlを加えた。酢酸エチル層は、最初に混濁していた。十分に振盪した後、層は、分離した。水層を酢酸エチル（×2）で抽出した。合わせた有機画分をブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。減圧下での溶媒除去により、490 mgの粗生成物が得られた。この生成物をISCO機でのCCによって精製した。溶出液は、DCM-メタノール（DCM中0～20%メタノール）であった。得られた生成物の量は、1.26 g（50%）であった。LC-MS（+モード）：1768（M-1 GlucNAc）、1438（M-2 GlucNAc）、1108（M-3 GlucNAc）、1049（M/2+1）。

30

【1121】



40

手順：アルゴン雰囲気下において7 ml ドライメタノール中のベンジルエステル4（0.25 g、0.119 mmol）の溶液に1.5 ml（9.4 mmol）トリエチルシラン（TES）を滴下して加えた。激しい反応が始まり、このRM（反応混合物）を3時間撹拌した。生成物のLC-MS分析は、反応の完了を指示する。RMをセライトでろ過し、溶媒を真空下で除去した。この粗生成物をエーテル-メタノール（3：1）混合物と研和（×3）し、真空下で乾燥させた。この生成物5を更なる精製なしに次の反応に使用した。1H NMR（500 MHz，DMSO-d₆）： δ 7.90（3H，d，J=1

50

0 Hz), 7.80 (t, 3H), 7.70 (t, 3H), 5.03 (t, 3H), 4.77 (t, 3H), 4.54 (3H, d, $J=10$ Hz), 4.14 (3H, dd, $J_1=9$ Hz, $J_2=5$ Hz), 3.97–3.93 (m, 3H), 3.79–3.74 (m, 3H), 3.69–3.61 (m, 6H), 3.51–3.47 (m, 3H), 3.40–3.35 (m, 3H), 3.31 (d, 3H, $J=9$ Hz), 2.98 (m, 12H), 2.23 (t, 3H), 2.13 (t, 3H), 2.01–1.99 (m, 3H), 1.97 (s, 9H), 1.92 (s, 9H), 1.86 (s, 9H), 1.71 (s, 9H), 1.49–1.32 (m, 22H), 1.18 (br s, 12H). 参考1及び2：米国特許国際公開第2014/025805 A1号パンフレット；2014年2月13日付。

参考文献：

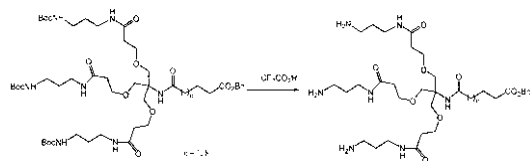
Juliano et al. J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 8848

Banerjee R et al. Int. J. Cancer. 2004, 112, 693

He et al. J. Med. Chem., 2017, 60 (10), pp 4161–4172

【1122】

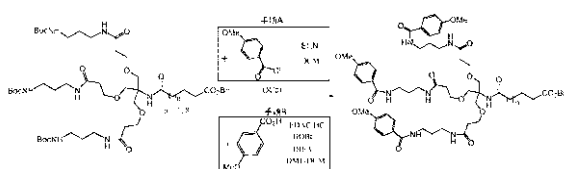
アミンの脱保護の一般的手順：



15. 2 gのNHBOcアミンを乾燥DCM (100 ml) に溶解し、次にTFA (50 ml) を室温で滴下して加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、次にトルエン (2×50 ml) と共蒸発させて、次にいかなる更なる精製もなしに次のステップに使用した。CD₃OD中でのNMRによりNHBOc脱保護が確認された。

【1123】

アニスアミド形成の一般的手順：



手順A：前のステップからの粗アミンを室温でDCM (100 ml) とEt₃N (10 当量) との混合物に溶解した。この過程中、反応混合物を水浴で冷却した。次に、4-メトキシベンゾイルクロリド (4 当量) をアルゴン雰囲気下において室温で3時間攪拌し続けながら反応混合物に滴下して加えた。反応混合物を水で希釈し、DCMで抽出した。有機層をNaHCO₃水溶液、1N HCl、ブラインで抽出し、次に硫酸マグネシウムで乾燥させて、蒸発乾固させた。粗生成物をDCM-MeOHを溶出液として使用したシリカカラムクロマトグラフィーによって精製した。

【1124】

手順B：粗アミン (0.27 当量)、酸及びHOBT (1 当量) をアルゴン下において適切なサイズのRBF内でDCMとDMFとの (2 : 1) 混合物に溶解した。EDAC・HCl (1.25 当量) を反応混合物に常に攪拌しながら少量ずつ加えた。15分後、反応混合物を約10℃に冷却し、次にDIEA (2.7 当量) を5分の時間をかけて加えた。反応混合物を周囲温度にゆっくりと温め、アルゴン下で一晩攪拌した。TLCは、反応の完了を示した。TLC条件、DCM : MeOH (9.5 : 0.5)。溶媒を減圧下で除

10

20

30

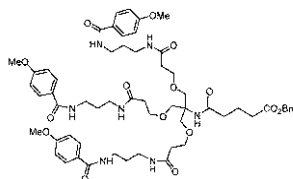
40

50

去し、次に残渣に水を加え、ゴム状の固体を取り分けた。澄明な溶液をデカントし、固体残渣をEtOAcに溶解し、水、10%クエン酸水溶液、NaHCO₃水溶液、続いて飽和ブラインで連続的に洗浄した。有機層を分離し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。溶媒を減圧下で除去し、次に粗生成物をシリカカラムで精製すると、高純度の生成物が得られた。

【1125】

アニスアミド：

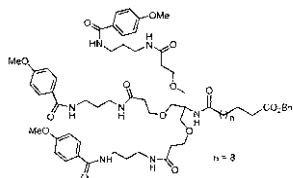


10

上記の手順Bを用いてアミンから2ステップで32%の収率でアニスアミドが得られた：¹H NMR (CDCl₃) : δ = 7.74 (d, 6H), 7.44 (t, 2H), 7.34 (t, 1H), 7.26 (m, 5H), 7.05 (m, 3H), 6.83 (d, 6H), 6.46 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 3.75 (s, 9H), 3.57 (m, 12H), 3.37 (m, 6H), 3.25 (m, 6H), 2.31 (m, 8H), 2.11 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.62 (m, 6H) ppm.

【1126】

アニスアミド：



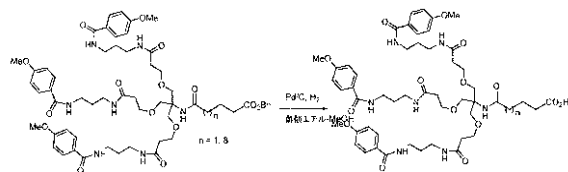
20

上記の手順Aを用いてアミンから2ステップで57%の収率でアニスアミドが得られた：¹H NMR (CDCl₃) : δ = 7.75 (m, 3H), 7.73 (d, 6H), 7.43 (t, 3H), 7.25 (m, 5H), 6.80 (d, 6H), 6.51 (br s, 1H), 5.01 (s, 2H), 3.72 (s, 9H), 3.58 (m, 6H), 3.21 (m, 12H), 2.33 (t, 3H), 2.25 (t, 2H), 2.02 (t, 2H), 1.64 (q, 6H), 1.52 (p, 2H), 1.41 (q, 2H), 1.12 (m, 12H) ppm.

30

【1127】

脱ベンジル化の一般的手順：

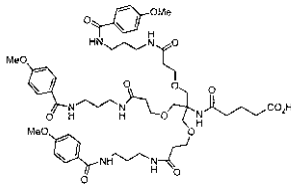


ベンジルエステル (10 g) を酢酸エチル (100 ml) とメタノール (25 ml) との混合物に溶解し、次にアルゴン雰囲気下でPd/C、1 g (10%パラジウム含量) を加え、次に反応混合物を減圧し、水素でフラッシュし、H₂雰囲気下において室温で3時間攪拌した。TLCは、反応の完了を示し、セライトパッドでろ過し、メタノールで洗浄し、蒸発乾固させると、泡沫状の白色固体が得られた。

40

【1128】

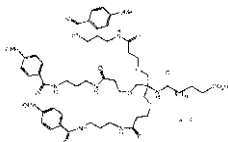
酸：



収率 98%、 ^1H NMR (CD_3OD) : $\delta = 8.35$ (t, 1H), 8.01 (t, 1H), 7.82 (d, 6H), 7.27 (d, 1H), 6.99 (d, 6H), 3.85 (s, 9H), 3.68 (m, 12H), 3.41 (m, 6H), 3.29 (m, 6H), 2.42 (m, 6H), 2.31 (q, 2H), 2.21 (td, 2H), 1.80 (m, 8H) ppm.

【1129】

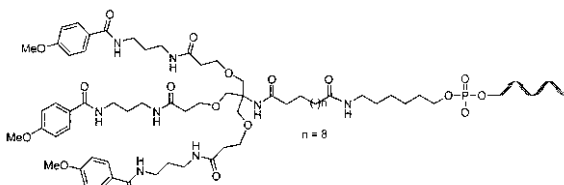
酸：



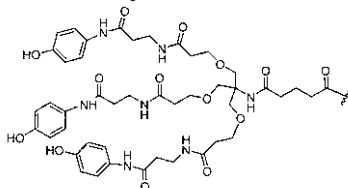
収率 94%、 ^1H NMR (CD_3OD) : $\delta = 8.36$ (t, 2H), 8.02 (t, 2H), 7.82 (d, 6H), 7.23 (d, 1H), 6.98 (d, 6H), 3.85 (s, 9H), 3.70 (s, 6H), 3.67 (t, 6H), 3.41 (q, 4H), 3.28 (m, 8H), 2.42 (t, 6H), 2.27 (t, 2H), 2.13 (t, 2H), 1.79 (p, 6H), 1.54 (dp, 4H), 1.25 (m, 12H) ppm.

【1130】

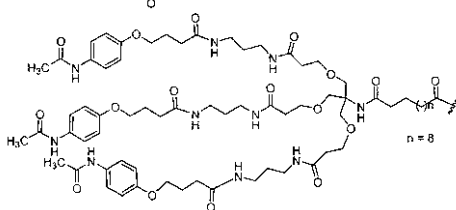
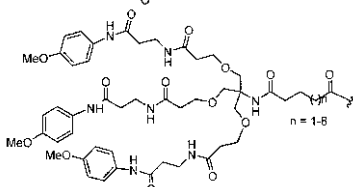
追加的な組成物を、アニスアミド類似体を含むオリゴヌクレオチドを含め、以下に提示する。



30



40



【1131】

実施例 3。

二重ルシフェラーゼレポーターアッセイにおける様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

50

【 1 1 3 2 】

【 1 1 3 3 】

10

【 1 1 3 4 】

【 1 1 3 5 】

20

[illegible][illegible]

30

40

[illegible]

10

【 1 1 3 6 】

コンストラクトの各々は、2つの発光タンパク質：h l u c 遺伝子からのホタルルシフェラーゼ及びh R l u c 遺伝子からのウミシイタケルシフェラーゼを発現する。

【 1 1 3 7 】

コンストラクト (20 ng) 及び試験オリゴヌクレオチド (種々の用量) を Lipofectamine 2000 と共に Cos-7 細胞に 48 時間コトランスフェクトし、プレートリーダーでホタル及びウミシイタケシグナルを読み取った。

【 1 1 3 8 】

挿入配列を標的とする効果的なC9orf72オリゴヌクレオチドは、ホタルシグナルに影響を及ぼすことなくウミシイタケシグナルを低下させるはずである。データ分析は、ウミシイタケをホタルシグナルで正規化して、試験オリゴヌクレオチドの有効性を対照オリゴヌクレオチドと比較する。表2A及び表2Bでは、数字は残留ウミシイタケシグナルのパーセンテージを表す。例えば、WV-3677について、30 nMでは、あるレプリケートで1.5%の残留レベルが検出され、別のレプリケートで2.4%が検出された（それぞれ98.5%及び97.6%のノックダウンに相当する）。

20

表 2A. エクソン 1a を標的とする C9orf72 オリゴヌクレオチド (C9orf72 1-374 を含むコンストラクトを使用して試験した)

オリゴヌクレオチド II	オリゴヌクレオチド I (30nM)	オリゴヌクレオチド (15nM)
WV-3677	1.5	2.4
WV-3678	8.0	11.4
WV-3679	5.3	6.8
WV-3680	26.2	24.6
WV-3681	16.2	17.0
WV-3682	26.6	31.3
WV-3683	12.0	18.5
WV-3684	30.9	45.1
WV-3685	9.4	41.5
WV-3686	19.7	22.9
WV-6928	7.1	6.1
WV-6929	13.9	19.2
WV-6930	5.5	6.6
WV-6931	4.1	6.2
WV-6932	12.1	10.4
WV-6933	6.5	8.1
WV-6934	12.6	13.8
WV-6935	7.0	11.5
WV-6936	22.3	20.7
WV-6937	6.6	8.1
WV-6938	6.6	8.5
WV-6939	10.4	14.4
WV-6940	5.7	5.1
WV-6941	9.4	14.1
WV-6942	10.1	12.6
WV-6943	20.6	25.9
WV-6944	24.2	23.2
WV-6945	24.6	26.0
WV-6946	25.4	33.9
WV-6947	20.5	24.0
WV-6948	30.7	25.7
WV-6949	18.1	21.0
WV-3677	2.8	3.4

30

40

表 2B. インترون 1 を標的とする C9orf72 オリゴヌクレオチド (C9orf72 15K-900 を含むコンストラクトを使用)

オリゴヌクレオチド ID	オリゴヌクレオチド (30nM)	オリゴヌクレオチド (15nM)
WV-3687	10.3	15.5
WV-3688	11.7	11.1
WV-3689	3.6	12.6
WV-3690	4.7	9.3
WV-3691	25.0	24.3
WV-3692	20.9	22.9
WV-3693	50.6	36.0
WV-3694	18.9	35.3
WV-3695	29.2	63.7
WV-3696	32.0	73.0
WV-3697	18.5	81.8
WV-3698	9.5	28.1
WV-3699	9.0	40.5
WV-3700	37.2	57.3
WV-3701	42.6	39.8
WV-3702	45.3	14.4
WV-3703	48.2	29.8
WV-3704	10.4	47.6
WV-3705	23.8	21.8
WV-3706	35.9	32.5
WV-3707	60.9	86.4
WV-3708	68.4	76.7
WV-3709	89.3	107.7
WV-3710	107.8	96.3
WV-6471	9.6	14.6
WV-6472	8.9	10.0
WV-6473	8.6	9.2
WV-6474	13.6	8.1
WV-6475	25.4	17.2
WV-6476	47.8	30.9
WV-6477	55.9	93.4

10

WV-6478	40.2	79.3	35.7	33.1
WV-6479	35.5	68.7	27.2	20.6
WV-6480	40.2	59.6	22.2	13.4
WV-6481	40.7	65.7	27.9	26.5
WV-6482	18.9	36.4	39.0	16.0
WV-6483	17.9	23.6	29.4	20.8
WV-6484	21.1	22.6	27.6	18.6
WV-6485	19.0	30.7	32.2	32.7
WV-6486	23.6	15.5	17.6	15.3
WV-6487	24.0	22.5	18.6	20.3
WV-6488	16.1	20.2	18.3	13.5
WV-6489	21.6	34.8	17.4	15.1
WV-3688	16.9	15.3	13.5	11.8
WV-3687	15.5	15.8	24.8	24.1
WV-3536	47.3	57.0	60.2	85.7
WV-6408	3.5	5.7	7.7	7.6
WV-6950	10.3	15.4	23.7	18.7
WV-6951	11.1	9.5	12.0	12.6
WV-6952	7.0	6.2	9.8	11.2
WV-6953	23.2	27.2	41.3	42.2
WV-6954	20.8	19.2	34.8	28.0
WV-6955	9.6	11.0	14.2	11.8
WV-6956	14.4	14.4	21.1	22.0
WV-6957	27.6	26.5	45.9	36.5
WV-6958	23.4	26.4	22.4	22.4
WV-6959	12.7	13.9	17.8	18.0
WV-6960	10.0	10.7	9.8	8.7
WV-6961	22.9	23.4	19.3	18.4
WV-6962	20.1	20.9	17.3	16.0
WV-6963	17.2	21.0	24.7	22.6
WV-6964	24.3	25.6	19.6	19.0
WV-6965	18.6	18.4	20.0	16.4
WV-6966	22.0	22.0	28.7	30.1
WV-6967	36.9	33.0	19.1	19.5
WV-6968	31.4	31.1	18.6	19.7
WV-6969	8.9	9.1	4.7	5.1
WV-6970	19.0	19.0	8.4	7.8
WV-6971	15.8	16.6	16.6	14.0
WV-6972	13.7	15.8	14.5	12.7
WV-6973	39.0	43.9	26.9	20.7
WV-6974	12.8	16.3	9.8	9.6
WV-6975	22.3	23.6	17.1	15.9

20

30

WV-6976	9.3	11.7	7.4	7.9
WV-6977	26.3	33.9	13.3	12.6
WV-6978	20.1	20.0	11.0	8.7
WV-6979	22.5	19.9	15.8	14.4
WV-6980	20.0	24.3	17.4	17.2
WV-6981	22.7	22.9	22.2	20.3
WV-6982	13.3	17.9	14.7	13.1
WV-6983	35.9	35.2	17.2	18.2
WV-6984	47.4	67.2	34.1	34.8
WV-6985	13.0	13.8	15.3	15.9
WV-6986	13.8	14.2	15.0	14.8
WV-6987	19.2	19.9	22.5	22.6
WV-6988	18.3	20.4	16.2	17.2
WV-6989	12.5	12.5	12.0	9.4
WV-6990	16.7	26.1	30.0	25.9
WV-6991	26.4	24.2	28.0	29.2
WV-6992	34.7	34.6	44.2	44.6
WV-6993	26.8	29.9	38.1	38.8
WV-6994	14.3	16.2	17.2	16.7
WV-6995	11.5	13.7	13.1	13.9
WV-6996	11.3	9.4	14.8	13.5
WV-6997	8.4	9.9	16.7	20.1
WV-6998	14.4	16.9	25.4	24.0
WV-6999	21.2	23.9	29.8	28.0
WV-7000	23.4	19.1	26.5	27.2
WV-7001	9.3	10.0	9.2	10.0
WV-7002	7.1	9.5	7.0	8.8
WV-7003	28.5	29.0	14.2	13.1
WV-7004	11.3	13.1	11.9	11.3
WV-7005	20.3	19.6	15.3	13.5
WV-7006	16.1	20.3	13.2	12.3
WV-7007	11.5	12.0	10.8	11.3
WV-7008	24.3	21.6	34.7	34.2
WV-7009	18.7	21.6	30.6	32.3
WV-7010	25.1	27.9	29.3	26.2
WV-7011	19.8	23.5	22.6	23.6
WV-7012	31.4	38.5	26.4	23.7
WV-6408	5.2	4.6	7.6	10.5

10

表 2C. アンチセンス転写物を標的とする C9orf72

オリゴヌクレオチド

(C9orf72 900-1 を含むコンストラクトを使用して試験した)

オリゴ ヌクレ オチド ID	オリゴヌクレオチド (30nM)	オリゴヌクレオチド (15nM)
WV-3719	31.1	25.4
WV-3720	41.9	46.3
WV-3721	30.2	36.3
WV-3722	20.3	26.0
WV-3723	14.1	13.7
WV-3724	31.6	33.5
WV-3725	64.1	89.0
WV-3726	206.7	49.4
WV-3727	58.2	47.2
WV-3728	39.6	33.7
WV-3729	34.1	25.6
WV-3730	14.0	20.5
WV-3731	21.5	27.8
WV-3732	13.1	16.1
WV-3733	13.7	20.0
WV-3734	9.0	14.7
WV-3735	21.2	28.5
WV-3736	10.0	17.1
WV-3737	11.9	8.4
WV-3738	42.0	36.6
WV-3739	16.6	12.5
WV-3740	43.9	40.0
WV-3741	30.6	46.4
WV-3742	38.1	38.4
WV-3743	23.4	25.2
WV-3744	42.6	44.2
WV-3745	13.4	10.8
WV-3746	183.3	142.7
WV-3747	148.5	135.5
WV-3748	88.1	78.2
WV-3749	90.8	99.5
WV-3750	102.3	105.0
WV-3751	169.9	150.3
WV-3752	115.1	80.1

20

30

【1139】

40

実施例 4。

C9orf72 オリゴヌクレオチドがインビトロで C9orf72 転写物をノックダウンする能力

様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドについて、インビトロで C9orf72 転写物をノックダウンするその能力を試験した。試験したオリゴヌクレオチドは、20 の異なる配列（配列番号 1～20）の何れかを有し、各配列を 3 つの異なるフォーマット（例えば、2'-O-メチル全 PS、2'-O-メチル PS/PO 又は MOE 全 PS）の各々で試験した。各 C9orf72 オリゴヌクレオチドの正確な配列及び修飾は、表 1A に提示する。

表 3A. この実験で試験した C9orf72 オリゴヌクレオチド

	グループ A	グループ B	グループ C
	2'-O-メチル全 PS	2'-O-メチル PS/PO	MOE 全 PS
mRNA 配列 1	WV-3561	WV-3657	WV-5905
mRNA 配列 2	WV-3562	WV-3658	WV-5906
mRNA 配列 3	WV-3563	WV-3659	WV-5907
mRNA 配列 4	WV-3564	WV-3660	WV-5908
mRNA 配列 5	WV-3565	WV-3661	WV-5909
mRNA 配列 6	WV-3566	WV-3662	WV-5910
mRNA 配列 7	WV-3567	WV-3663	WV-5911
mRNA 配列 8	WV-3568	WV-3664	WV-5912
mRNA 配列 9	WV-3569	WV-3665	WV-5913
mRNA 配列 10	WV-3570	WV-3666	WV-5914
mRNA 配列 11	WV-3571	WV-3667	WV-5915
mRNA 配列 12	WV-3572	WV-3668	WV-5916
mRNA 配列 13	WV-3573	WV-3669	WV-5917
mRNA 配列 14	WV-3574	WV-3670	WV-5918
mRNA 配列 15	WV-3575	WV-3671	WV-5919
mRNA 配列 16	WV-3576	WV-3672	WV-5920
mRNA 配列 17	WV-3577	WV-3673	WV-5921
mRNA 配列 18	WV-3578	WV-3674	WV-5922
mRNA 配列 19	WV-3579	WV-3675	WV-5923
mRNA 配列 20	WV-3580	WV-3676	WV-5924

【1140】

iCellニューロンにおいて、48時間の時点で、10 uMの濃度のC9orf72オリゴヌクレオチドを試験した。結果は以下に提示する。数字は、オリゴヌクレオチド又は対照を細胞にジミノシスにより (gymnotic) 導入した後に残るC9orf72転写物の残留量を表す (全C9orf72転写物の合計を測定した)。例えば、水について、グループAでは、0.992は99.2%のC9orf72転写物レベルが維持されていることを示し、即ち対照と比べて本質的にノックダウンがないことを示す。mRNA配列19グループBに相当するWV-3675について、0.316は31.6%の残留C9orf72転写物レベルを示し、即ち68.4%のノックダウンを示す。特に注記しない限り、残留転写物レベルを表す他のデータも、この同じ又は同様のフォーマットで提示される。

10

20

30

40

50

表 3B. この実験で試験した C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

	グループ A	グループ B	グループ C
	2'-O-メチル全 PS	2'-O-メチル PS/PO	MOE 全 PS
mRNA 配列 1	1.169	0.648	1.087
mRNA 配列 2	0.782	1.121	0.877
mRNA 配列 3	0.597	0.886	0.514
mRNA 配列 4	0.572	0.710	0.448
mRNA 配列 5	0.593	0.898	0.497
mRNA 配列 6	0.478	0.311	0.228
mRNA 配列 7	0.402	0.305	0.247
mRNA 配列 8	0.850	1.017	0.624
mRNA 配列 9	0.923	1.061	0.607
mRNA 配列 10	0.963	1.025	0.717
mRNA 配列 11	0.963	0.481	0.747
mRNA 配列 12	1.068	1.210	0.865
mRNA 配列 13	0.886	0.425	0.678
mRNA 配列 14	0.976	0.943	0.742
mRNA 配列 15	0.886	0.963	0.732
mRNA 配列 16	0.892	0.963	0.563
mRNA 配列 17	0.782	0.963	0.463
mRNA 配列 18	0.473	0.747	0.624
mRNA 配列 19	0.660	0.316	0.669
mRNA 配列 20	0.678	0.651	0.763
対照	1.032	1.017	0.774
水	0.992	0.985	1.026
WV-3537			0.624

【1141】

実施例 5。

様々なアッセイにおける様々なC9orf72オリゴヌクレオチドの活性

表4A～表4Dは、C9orf72オリゴヌクレオチドがインビトロでiPSCニューロンにおいてC9orf72転写物 (表4A、全転写物；表4B、V3転写物のみ；表4C、イントロン/A5転写物；及び表4D、エクソン1a転写物のみ) をノックダウンする活性を示す。表4Cは、イントロン/A5転写物のノックダウンを示す (リピーター転写物伸長の3'側領域を標的とするプローブを用い、検出範囲は、イントロン領域のセンス及びアンチセンスの両方の転写物を含む)。C9orf72/HPRT1の相対倍率変化を示す。様々なC9orf72オリゴヌクレオチドについての1 μM (列A) 又は10 μM (列B) の濃度での3回のレプリケート実験を示す。数字は、残留転写物レベル (全C9orf72転写物) を表す。例えば、WV-7601では、3回のレプリケートが1 μMの濃度で行われており (グループA)、82.6%、86.8%及び77.6%の残留

C9orf72転写物レベル（全C9orf72転写物）が示され、それぞれ17.4%、13.2%及び22.3%のノックダウンに対応する。WV-7601について、3回のレプリケートが10 μ Mの濃度でも行われており（グループB）、76.0%、68.5%及び75.0%の残留C9orf72転写物レベル（全C9orf72転写物）も示され、それぞれ24.0%、31.5%及び25.0%のノックダウンに対応する。オリゴヌクレオチドの送達は、ジミノシスにより、細胞は、1週間後に試験した。使用した対照には、Malat1を標的とするWV-5302及びWV-6493が含まれた。Malat1及びC9orf72オリゴヌクレオチドは、Malat1に対しても試験した；Malat1オリゴヌクレオチドは、Malat1のノックダウンにおいて効果的であったが、C9orf72オリゴヌクレオチドは、Malat1のノックダウンにおいて効果的でなかった（データは示さず）。対照には、C9orf72でない遺伝子標的を標的とするWV-2549及びWV-6028も含まれる。

表 4A. C9orf72オリゴヌクレオチドの活性（全C9orf72転写物の残留レベル）

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-7601	0.826	0.760
	0.868	0.685
	0.776	0.750
WV-7657	0.832	0.622
	0.844	0.676
	0.886	0.719
WV-7658	0.917	0.798
	0.850	0.676
	0.880	0.704
WV-7659	0.882	0.740
	0.946	0.631
	0.852	0.626
WV-8005	0.795	0.622
	0.768	0.568
	0.763	0.609
WV-8006	0.952	0.681
	0.835	0.662
	0.774	0.700
WV-8007	0.727	0.605
	0.697	0.568
	0.702	0.545
WV-8008	0.747	0.502
	0.637	0.601
	0.717	0.584
WV-8009	0.722	0.593
	0.732	0.605
	0.779	0.553
WV-8010	0.688	0.572
	0.742	0.626
	0.835	0.622
WV-8011	0.650	0.486
	0.702	0.486
	0.655	0.483
WV-8012	0.707	0.489
	0.687	0.496
	0.655	0.496
WV-2549	0.939	0.900
	0.920	0.888
	0.907	

WV-6028	0.972	1.006
	0.992	0.932
	0.972	0.985
WV-3688	0.852	0.731
	0.840	0.711
	0.876	0.806
WV-6408	0.773	0.624
	0.835	0.641
	0.945	0.558
WV-3662	0.423	0.109
	0.429	0.086
WV-7118	0.405	0.240
	0.380	0.240
	0.380	0.237
WV-6936	0.937	1.044
	0.862	0.974
	0.924	0.915
WV-7027	0.963	0.928
	0.868	0.981
	0.937	0.994
WV-5302	0.880	0.947
	0.874	1.029
	0.937	1.022
WV-6493	0.990	0.981
	0.833	1.001
	0.990	1.044
WV-2376	1.018	0.987
	0.911	0.693
	0.970	0.764
WV-3542	0.892	0.994
	0.892	0.967
	1.004	1.022

10

20

30

40

表 4B. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-7603	0.631	0.455
	0.725	0.442
	0.740	0.445
WV-7604	0.572	0.436
	0.622	0.407
	0.601	0.362
WV-7605	0.667	0.340
	0.695	0.354
	0.648	0.374
WV-7606	0.676	0.298
	0.495	0.286
	0.576	0.247
WV-7601	0.475	0.286
	0.557	0.278
	0.530	0.247
WV-7657	0.618	0.424
	0.676	0.364
	0.549	0.407
WV-7658	0.568	0.326
	0.542	0.321
	0.572	0.304
WV-7659	0.558	0.333
	0.539	0.315
	0.582	0.296

10

WV-8005	0.366	0.123
	0.327	0.124
	0.392	0.147
WV-8006	0.409	0.158
	0.438	0.171
	0.473	0.157
WV-8007	0.182	0.056
	0.196	0.056
	0.238	0.050
WV-8008	0.197	0.048
	0.183	0.045
	0.172	0.043
WV-8009	0.412	0.150
	0.379	0.129
	0.406	0.110
WV-8010	0.339	0.137
	0.344	0.138
	0.368	0.128
WV-8011	0.229	0.059
	0.244	0.067
	0.263	0.055
WV-8012	0.212	0.046
	0.244	0.050
	0.217	0.057
WV-2549	0.827	0.821
	0.936	0.905
	0.983	
WV-6028	0.943	1.018
	0.990	0.983
	0.905	1.011
WV-3688	0.735	0.502
	0.730	0.472
	0.715	0.538
WV-6408	0.505	0.341
	0.557	0.343
	0.644	0.343
WV-3662	0.357	
	0.408	0.071
		0.028

20

WV-7118	0.369	0.153
	0.404	0.159
	0.352	0.148
WV-6936	0.843	0.562
	0.792	0.649
	0.808	0.589
WV-7027	0.792	0.602
	0.819	0.731
	0.941	0.778
WV-5302	1.066	1.062
	1.059	1.055
	1.066	1.077
WV-6493	1.044	1.026
	1.030	1.085
	0.995	1.115
WV-2376	0.981	1.108
	0.968	0.887
	0.995	0.828
WV-3542	1.030	1.041
	1.009	0.991
	1.016	1.070

30

40

表 4C. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン/AS C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (L μ M)	B (10 μ M)
WV-7603	0.557	0.654
	0.767	0.705
	0.799	0.654
WV-7604	0.386	0.375
	0.538	0.329
	0.535	0.299
WV-7605	0.851	0.585
	0.845	0.561
	0.663	0.610
WV-7606	0.783	0.408
	0.178	0.623
	0.343	0.520
WV-7601	0.303	0.260
	0.260	0.271
	0.265	0.311
WV-7657	0.715	0.606
	0.756	0.513
	0.405	0.434
WV-7658	0.520	0.345
	0.502	0.277
	0.677	0.370
WV-7659	0.372	0.417
	0.458	0.397
	0.359	0.479
WV-8005	0.471	0.346
	0.613	0.425
	0.626	0.654
WV-8006	0.410	0.355
	0.474	0.663
	0.471	0.411
WV-8007	0.621	0.531
	0.512	0.475
	0.548	0.307
WV-8008	0.439	0.645
	0.311	0.485
	0.564	0.495
WV-8009	0.580	0.593
	0.685	0.479
	0.592	0.706
WV-8010	0.461	0.394
	0.252	0.431

10

20

WV-8011	0.407	0.341
	0.514	0.415
	0.594	0.774
WV-8012	0.972	0.774
	0.594	1.050
	0.650	0.633
WV-2549	0.606	0.651
	0.435	1.198
	1.282	1.174
WV-6028	1.318	
	1.715	2.001
	1.049	2.604
WV-3688	0.846	1.058
	0.795	0.703
	0.687	0.836
WV-6408	0.554	0.764
	1.071	1.029
	0.741	1.036
WV-3662	0.789	0.940
	1.273	
	1.180	0.802
WV-7118		1.376
	1.356	1.094
	0.712	1.248
WV-6936	1.156	0.876
	1.291	1.375
	1.064	1.310
WV-7027	1.443	1.944
	0.507	0.727
	0.992	1.494
WV-5302	0.768	1.777
	1.230	2.157
	0.737	0.795
WV-6493	1.101	0.840
	0.562	1.463
	0.586	0.727
WV-2376	0.536	0.784
	0.784	1.985
	1.579	0.387
WV-3542	0.594	0.426
	1.494	1.515
	1.283	1.944
	1.704	2.361

30

40

表 4D. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (エクソン 1a C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-7603	1.006	1.127
	1.042	1.051
WV-7604	0.965	0.981
	0.823	1.059
WV-7605	0.823	0.848
	0.737	0.738
WV-7606	1.282	1.059
	1.205	1.023
WV-7607	1.049	1.096
	0.907	0.995
WV-7608	0.524	1.008
	0.687	1.044
WV-7609	0.707	1.044
	0.795	0.909
WV-7610	0.726	0.848
	0.985	0.854
WV-7611	0.888	0.728
	0.551	0.753
WV-7612	0.979	1.104
	0.829	0.786
WV-7613	1.124	1.183
	1.160	1.582
WV-7614	1.090	1.119
	0.904	1.088
WV-8005	0.923	1.199
	0.996	1.119
WV-8006	0.936	1.330
	1.121	1.088
WV-8007	1.010	1.216
	0.792	0.981
WV-8008	1.168	1.582
	0.904	1.358
WV-8009	0.873	1.058
	1.090	1.755
WV-8010	0.820	1.560
	1.136	1.684
WV-8011	0.892	1.233
	0.917	1.001
WV-8012	0.843	0.884
	0.755	0.896
WV-8013	0.666	1.111

10

20

WV-8014	1.010	1.037
	1.028	1.084
WV-8015	1.049	1.153
	1.086	1.138
WV-8016	0.986	1.298
	0.933	1.138
WV-2549	0.926	1.254
	0.946	1.084
WV-6028	1.132	1.047
	1.071	1.194
WV-3688	1.197	1.334
	0.959	1.054
WV-6408	1.086	1.122
	0.852	0.977
WV-3662	0.795	0.943
	1.101	1.254
WV-7118	1.049	1.316
	1.172	1.245
WV-6936	0.939	0.886
	1.028	1.271
WV-7027	1.070	1.171
	1.026	1.020
WV-5302	1.077	1.013
	1.077	0.408
WV-4493	0.945	0.773
	1.115	0.677
WV-2376	1.123	0.978
	1.221	1.204
WV-3542	1.246	1.171
	1.281	1.524
WV-3542	1.026	1.116
	1.034	0.965
WV-3542	1.100	1.255
	0.971	1.282
WV-3542	0.912	1.238
	1.171	1.462
WV-3542	1.255	0.747
	0.951	0.817
WV-3542	1.383	1.657
	1.412	1.680
WV-3542	1.588	2.011

30

40

【1142】

実施例 6。

様々なアッセイにおける様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 5 A～表 5 D は、C9orf72 転写物のノックダウンにおける様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性を示す (表 5 A、全転写物; 表 5 B、V3 転写物のみ; 表 5 C、イントロン/AS; 及び表 5 D、エクソン 1a 転写物のみ)。C9orf72/HPRT1 の相対倍率変化を示す。様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドについての 1 μ M (列 A) 又は 10 μ M (列 B) の濃度での 3 回のレプリケート実験を示す。表 5 A～表

50

5 Dと同様に、数字は、残留転写物レベルを表す。オリゴヌクレオチドの送達は、ジムノシスにより、細胞は、1週間後に試験した。

表 5A. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-8122	1.031	0.928
	0.975	0.802
	0.942	0.718
WV-8311	1.090	0.915
	0.948	0.744
	0.962	0.819
WV-8315	0.923	0.600
	0.935	0.596
	1.097	0.471
WV-8312	1.164	1.210
	1.034	1.003
	1.006	0.969
WV-8313	1.201	1.550
	1.082	1.277
	1.024	1.268
WV-8314	1.105	1.044
	1.176	1.052
	1.351	1.044
WV-8316	0.926	0.930
	0.789	0.873
	0.846	0.898
WV-8317	1.013	0.996
	0.882	0.886
	0.876	0.861
WV-8318	1.078	1.136
	0.919	0.969
	0.972	1.010
WV-2549	0.885	0.903
	0.897	0.915
	0.989	0.922
WV-6028	0.840	0.855
	0.876	0.879
	1.006	0.976
WV-6936	0.958	0.949
	0.999	0.892
	1.140	1.046
WV-7027	0.752	0.873

10

20

表 5B. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-8114	0.880	0.372
	0.904	0.608
	0.826	0.704
WV-8122	0.936	0.708
	1.003	0.689
	0.936	0.596
WV-8311	0.917	0.377
	0.898	0.364
	0.930	0.377
WV-8315	1.018	0.552
	1.039	0.508
	0.997	0.313
WV-8312	0.803	0.655
	0.803	0.683
	0.855	0.651
WV-8313	0.793	0.501
	0.862	0.544
	0.832	0.511
WV-8314	0.593	0.335
	0.564	0.364
	0.576	0.313
WV-8316	0.891	0.801
	0.843	0.707
	0.787	0.818
WV-8317	0.648	0.497
	0.671	0.467
	0.699	0.518
WV-8318	0.360	0.235
	0.372	0.283
	0.388	0.276
WV-2549	1.076	1.052
	1.076	1.002
	1.053	1.044
WV-6028	0.955	1.065
	0.975	1.133
	0.996	1.133
WV-6936	0.891	0.722
	0.873	0.665
	0.982	0.717
WV-7027	0.680	0.655
	0.719	0.624
	0.676	0.587

30

40

表 5C. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン/AS C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-8114	1.960 1.906 1.742	0.449 1.090 1.399
WV-8122	1.284 1.517 1.008	0.734 0.416 0.317
WV-8311	1.987 1.485 1.766	1.193 1.306 1.500
WV-8315	1.396 0.934 1.126	0.370 0.298 0.294
WV-8312	2.898 3.305 1.965	2.346 1.602 0.940
WV-8313	2.072 1.302 1.506	5.115 3.282 3.305
WV-8314	2.464 2.696 2.380	1.664 1.585 1.333
WV-8316	1.965 1.630 1.279	2.028 0.835 1.879
WV-8317	1.687 2.337 1.872	1.028 1.117
WV-8318	2.354 1.898 1.500	1.569 2.000
WV-2549	1.718 1.455 1.581	1.185 1.046 1.244
WV-6028	2.063 1.821 2.437	1.214 1.248 2.099
WV-6936	2.593 2.471 3.398	1.454 1.050 2.144
WV-7027	1.270 1.075 1.024	1.705 0.742 0.521

10

20

表 5D. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (エクソン 1a C9orf72 転写物の残留レベル)

	A (1 μ M)	B (10 μ M)
WV-8114	1.422 1.462 1.402	0.339 0.713 0.974
WV-8122	1.212 1.163 1.063	0.665 0.480 0.401
WV-8311	1.392 1.123 1.229	0.222 0.194 0.157
WV-8315	1.070 0.919 0.365	0.377 0.347 0.119
WV-8312	1.407 1.304 1.030	1.605 1.081 0.713
WV-8313	1.667 1.255 1.308	1.103 0.819 0.796
WV-8314	1.373 1.392 1.611	1.043 0.980 0.994
WV-8316	0.948 0.797 0.797	1.200 0.744 1.096
WV-8317	0.941 0.941 0.808	0.837 0.872
WV-8318	0.903 0.866 0.825	0.948 1.002
WV-2549	1.255 0.971 1.432	0.954 0.859 0.974
WV-6028	0.872 0.819 0.941	0.961 0.954 1.388
WV-6936	1.059 1.216 1.216	0.749 0.878 0.890
WV-7027	0.713 0.770 0.791	1.089 0.770 0.872

30

40

【1143】

実施例 7。

様々なアッセイにおける様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 6 A 及び表 6 B は、C9orf72 転写物のノックダウンにおける様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性を示す (表 6 A、全転写物; 及び表 6 B、V3 転写物のみ)。C9orf72/HPRT1 の相対倍率変化を示す。様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドについての 10 μ M の濃度での 3 回のレプリケート実験を示す。表 3 A ~ 表 3 D と同様に、数字は HPRT1 と比べた残留転写物レベルを表す。オリゴヌクレオチドの

50

送達は、ジムノシスにより、細胞は、1週間後に試験した。対照としてC9orf72オリゴヌクレオチドを試験し、Malat1のノックダウンに効果がないことが分かった（データは示さず）。C9orf72オリゴヌクレオチドは、別の標的、PFN1に対しても効果がないことが分かった（データは示さず）。

表 6A. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 C9orf72 転写物の残留レベル)

レプリケート実験 (10 μ M)			
WV-8008	0.592	0.564	0.608
WV-8548	0.625	0.634	0.630
WV-8010	0.639	0.497	0.579
WV-8549	0.680	0.643	0.621
WV-8012	0.579	0.445	0.617
WV-8550	0.634	0.580	0.608
WV-8454	0.527	0.405	0.489
WV-8455	0.440	0.381	0.437
WV-8551	0.640	0.649	0.691
WV-6408	0.687	0.687	0.762
WV-3662	0.148	0.153	0.157
WV-6936	0.951	0.875	1.255
WV-5302	0.979	0.945	
WV-2376	0.926	0.972	
水 (陰性対照)	1.013	0.932	1.056

10

表 6B. C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

レプリケート実験 (10 μ M)			
WV-8008	0.104	0.100	0.121
WV-8548	0.313	0.318	0.294
WV-8010	0.222	0.229	0.229
WV-8549	0.347	0.367	0.280
WV-8012	0.135	0.107	0.117
WV-8550	0.313	0.302	0.290
WV-8454	0.161	0.131	0.137
WV-8455	0.087	0.082	0.109
WV-8551	0.316	0.308	0.293
WV-6408	0.546	0.499	0.562
WV-3662	0.121	0.121	0.132
WV-6936	0.845	0.554	
WV-5302	0.926	0.907	
WV-2376	0.876	0.907	
水 (陰性対照)	1.055	0.945	

20

【1144】

以下の表 6C は、ジムノシスにより送達し、1週間後に評価した、ALS MN（運動ニューロン）における全用量反応アッセイで試験した様々なC9orf72オリゴヌクレオチドのIC50を示す。10、2.5、0.625、0.16、0.04及び0.001 μ M濃度を試験した。

表 6C. 一部のC9orf72オリゴヌクレオチドのIC50

	IC50 (μ M)
WV-8011	0.9119
WV-8012	0.5319
WV-8454	0.5982
WV-8455	0.5803
WV-8551	1.47
WV-8550	0.7681

30

【1145】

実施例 8。

インビトロスクリーニングプロトコル

本例では、C9orf72オリゴヌクレオチドについてのインビトロスクリーニングプロトコルを記載する。オリゴヌクレオチドは、24ウェルプレート内で48時間にわたりジムノシスによりALSニューロンに送達した。

【1146】

RNA抽出

RNeasy Plus 96キット（Qiagen、Waltham、Mass.）によるプロトコル：細胞からの減圧／スピン技術を用いた全RNAの精製（gDNA除去が決定的に重要である）に従うRNA抽出

各ウェルについて60 μ lのRNアーゼフリー水中で全RNAを溶出させた。

【1147】

逆転写

High-Capacity RNA-to-cDNA（商標）キット（Applied Biosystems；ThermoFisher、Waltham、Mass. から入手可能）による逆転写

2×RT緩衝液混合物 9 μ l

50

RNA 試料 13.5 u l

72℃で5分間の熱変性、プレートを上で少なくとも2分間冷却する。

熱変性したRNAの各ウェルに以下を加える：

2×RT緩衝液混合物 6

20×RT酵素混合物 1.5 u l

cDNAの最終容積は、30 u lである。

【1148】

リアルタイムPCR

Taqmanプローブ：

C9orf72全変異体：Hs00376619__m1 (FAM)、カタログ番号4351368 (ThermoFisher、Waltham、Mass.) 10

C9orf72 V3：Hs00948764__m1 (FAM)、カタログ番号4351368 (ThermoFisher、Waltham、Mass.)

C9orf72エクソン1a：

フォワードプライマー AGATGACGCTTG GTGTGTCTC

リバープライマー TAAACCCACACCTGCTCTCTTG

プローブ CTGCTGCCCCGGTTGCTTCTCTCTTT

C9orf72アンチセンスRNA／イントロン：

フォワードプライマー GGTCAGAGAAATGAGAGGGAAAG

リバープライマー CGAGTGGGTGAGTGAGGA 20

プローブ AAATGCGTCGAGCTCTGAGGAGAG

内部対照：ヒトHPRT1 (VIC)

Hs02800695__m1、カタログ番号4448486 (ThermoFisher、Waltham、Mass.)

【1149】

PCR反応：

Lightcycler 480マスターミックス 10 u l

C9プローブ (FAM) 0.5 u l

HPRT 1 (VIC) 0.5 u l

cDNA * 最大で9 u lまで 30

ヌクレアーゼフリーH₂O 20 u lになるまで

*全変異体プローブについて2 u lのcDNA。他のC9プローブについて9 u lのcDNA。

Bio-rad CFX96 Touchを使用したリアルタイムPCR

ラン情報：

1 95.0℃で3:00

2 95.0℃で0:10

3 60.0℃で0:30

+プレート読み取り

4 2に進む、更に39回繰り返す 40

終了

【1150】

実施例9。

様々なアッセイにおける様々なC9orf72オリゴヌクレオチドの活性

以下の表7A～表7Cは、様々なアッセイで試験した様々なC9orf72オリゴヌクレオチドの活性を提示する。

【1151】

実施した様々なアッセイの簡単な説明：

レポーター：

ルシフェラーゼアッセイ、本明細書に記載される通り。一部のオリゴヌクレオチドにつ 50

いて2つの数字が提供される（例えば、WV-6408について1.32/2.63）；これは、レプリケート実験を示す。

【1152】

ALSニューロン：

iPSCの神経細胞分化：C9orf72関連ALS患者（女性、64歳）からの線維芽細胞に由来するiPSCをRUCDR Infinite Biologicalsから入手した。iPSCは、mTeSR1培地（STEMCELL Technologies、Vancouver、BC）中のCorning Matrigelマトリックス（Sigma-Aldrich、St. Louis、MO）にコロニーとして維持した。STEMdiff Neural System（STEMCELL Technologies、Vancouver、BC）を使用して神経前駆細胞を作製した。iPSCをAggreWell 1800プレートに懸濁し、STEMdiff神経誘導培地において胚様体として5日間、毎日75%の培地を交換しながら成長させた。胚様体を37μmセルストレーナーで回収し、MatrigelをコートしたプレートのSTEMdiff神経誘導培地にプレーティングした。培地は、7日間にわたって毎日交換し、プレーティング後2日で85～95%の胚様体が神経ロゼットを呈した。ロゼットを手作業で取り、STEMdiff神経誘導培地（STEMCELL Technologies、Vancouver、BC）中ポリ-L-オルニチン及びラミニンをコートしたプレートに移した。培地は、細胞が90%コンフルエンスに達し、且つ神経前駆細胞（NPC）と見なされるまで7日間にわたって毎日交換した。NPCをTrypLE（Gibco、ThermoFisher、Waltham、Massachusettsから入手可能）で解離し、ポリ-L-オルニチン／ラミニンプレートにおいて成長因子（20ng/ml FGF2、20ng/ml EGF、5μg/ml ヘパリン）を補足した神経維持培地（NMM、70%DMEM、30%Ham F12、1×B27添加物）中において1：2又は1：3の比で継代した。ニューロンに成熟させるため、NPCを維持し、5継代未満にわたって拡大し、>90%コンフルエンスになったとき、ポリ-L-オルニチン／ラミニンをコートしたプレートにおいて成長因子を補足したNMM中において1：4継代した。翌日、分化0日目、培地を新鮮な成長因子不含NMMに交換した。分化ニューロンをNMMに、50%の培地を週2回交換しながら4週間以上維持した。必要に応じて細胞を125,000細胞/cm²の密度でTrypLEと共にリプレーティングした。

【1153】

V3／イントロン：ALSニューロンにおいてV3 RNA転写物及びイントロンRNA転写物のノックダウン（KD）を測定した。ノックダウンされたV3転写物は、野生型及びリピート含有（図1に「健常アレル」V3及び「病的アレル」V3として示される）の両方である。しかしながら、本開示はいかなる特定の理論にも拘束されないが、リピート含有転写物は核内滞留時間がより長いものであり得るため、従って優先的にノックダウンされ得ることに留意されたい。図1においてイントロン転写物は逆向きのAS矢印で示される。2つの数字はV3及びイントロンノックダウンを示す；例えば、WV-6408について、V3は59%ノックダウンされ、イントロンは65%ノックダウンされた。

【1154】

安定性：

マウス（Ms）脳ホモジネートを使用して安定性をインビトロでアッセイした。

【1155】

TLR9：

TLR9レポーターアッセイプロトコル：ヒトTLR9又はマウスTLR9レポーターアッセイ（HEK-Blue（商標）TLR9細胞、InvivoGen、San Diego、California）を使用してNF-κBの誘導（NF-κB誘導性SEAP）活性を分析した。50μMの濃度（330μg/mL）及び2倍段階希釈のオリゴヌクレオチドを96ウェルプレートに水中20μLの最終容積でプレーティングした。各ウェルに180μLの容積のHEK-Blue（商標）検出培地中7.2×10⁴細胞の

密度でHEK-B l u e（商標）TLR9細胞を加えた。ウェル内のオリゴヌクレオチドの最終的なワーキング濃度は、5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156、0.078及び0.0375 μ Mであった。HEK-B l u e（商標）TLR9細胞をオリゴヌクレオチドと37℃及び5%CO₂で16時間インキュベートした。インキュベーションの終了時、S p e c t r a m a xにより655nmの吸光度を測定した。水が陰性対照であった。陽性対照は、WV-2021及びCpGオリゴヌクレオチドであるODN 2359であった。結果は、媒体対照で処理した細胞に対するNF- κ B活性化の倍率変化として表す。参照：ヒトTLR9アゴニストキット（I n v i v o G e n、S a n D i e g o、C a l i f o r n i a）。このアッセイでは、オリゴヌクレオチドは、活性が検出されなかったか又は本質的に検出されなかった場合に「クリーン」と見なされる。一部の実験では、WV-8005、WV-8006、WV-8007、WV-8008、WV-8009、WV-8010、WV-8011、WV-8012及びWV-8321は、認め得るほどのhTLR9活性を示さなかったが、一部は、mTLR9で僅かな活性を示した。

10

【1156】

補体

一部の実施形態において、カニクイザル血清補体活性化エキソビボアッセイで補体を評価する。オリゴヌクレオチドが補体活性化に及ぼす効果をカニクイザル血清においてエキソビボで測定した。3個体の雄カニクイザルから血清試料をプールし、このプールを試験に使用した。

20

【1157】

330 μ g/mLの最終濃度のオリゴヌクレオチド又は水対照を新鮮に解凍したカニクイザル血清中（1：30比、v/v）において37℃でインキュベートすることにより、C3a産生の経時的变化を測定した。具体的には、媒体中9.24 μ Lの10mg/mLストックのオリゴヌクレオチド又は媒体単独を270.76 μ Lのプール血清に加え、得られた混合物を37℃でインキュベートした。0、5、10及び30分で20 μ Lアリコートを集し、2.2 μ Lの18mg/mL EDTAを加えることにより反応を直ちに終了させた。

【1158】

1：3000希釈でM i c r o V u e C 3 a P l u s 酵素イムノアッセイを用いてC3a濃度を測定した。結果は、プール血清をオリゴヌクレオチドで処理したときの、媒体対照による処理と比較した補体分解産物濃度の増加として提示した。

30

【1159】

PD（薬力学）（C9-BAC、i c v又は脳室内注射）：

C9orf72-BAC（C9-BAC）マウスモデルにおいてPD及び有効性を試験した：インビボ薬理学試験に使用されるトランスジェニックマウスについては、O' R o u r k e e t a l. 2015 N e u r o n. 88（5）：892-901に記載されている。簡潔に言えば、選択的スプライシングを受けた非コード第1エクソン1a及び1b間のイントロンにヘキサヌクレオチドリピート伸長（GGGGCC）を有するヒト9番染色体オープンリーディングフレーム72遺伝子（C9orf72）（変異体3）を保因する、筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者の線維芽細胞に由来する細菌人工染色体（BAC）クローンを使用して、トランスジェニックコンストラクトを設計した。BACは、約166kbp配列（約110kbpの上流配列及び約20kbpの下流配列を伴う約36kbpのヒトC9orf72ゲノム配列）を単離した。種々のBACサブクロンの増幅時、収縮が100～1000個のGGGGCCリピートに限られた1つのサブクローンを使用した。Tg（C9orf72__3）系112マウス（JAXストック番号023099、J a c k s o n L a b o r a t o r i e s、B a r H a r b o r、M a i n e）は、C9orf72__3トランス遺伝子の数個のタンデムコピーを有し、各コピーは、100～1000個のリピートを有する（[GGGGCC] 100-1000）。しかしながら、本明細書で使用するインビボ試験には、500個以上のリピートを発現するマウ

40

50

スのみを選択した。

【1160】

インビボ手順：

オリゴヌクレオチドを側脳室に注射するため、マウスを麻酔し、げっ歯類定位固定装置に置いた；次に、マウスのその側脳室の1つにステンレス鋼製ガイドカニューレを植え込み（座標：ブレグマから -0.3 mm 後方、 $+1.0\text{ mm}$ 側方及び垂直に -2.2 mm ）、それを、歯科用セメントを使用してその場に固定した。化合物の注射前にマウスに1週間の回復期間を与えた。典型的な薬理学試験には、1日目の $2.5\text{ }\mu\text{l}$ 容積での最大 $50\text{ }\mu\text{g}$ オリゴヌクレオチドの注射と、それに続く8日目の同じ量及び容積のもう1回の注射とが関わった。15日目に安楽死を実施した；マウスにアベルチンで深麻酔をかけ、生理食塩水で経心臓的に灌流した。脳を頭蓋から迅速に取り出し、一方の脳半球は、組織学的分析のために処理し、他方の脳半球は、生化学分析のために解剖してドライアイスで凍結した。同様に、脊髄を解剖してドライアイスで凍結する（腰髄）か、又は組織学的分析のために処理した（頸髄／胸髄）。

【1161】

有効性（C9-BAC）：フォーカス：

組織調製及び組織学的分析

脳半球及び脊髄を4%パラホルムアルデヒドで24時間滴下固定し、次に30%スクロースに24～48時間移し、液体窒素に凍結した。クライオスタットにおいて -18°C で矢状断の $20\text{ }\mu\text{m}$ 厚連続切片を切り出し、Superfrostスライドに置いた。

【1162】

有効性（C9-BAC）：ポリGP（DPRアッセイ）：

タンパク質及びポリGP定量化のための組織調製：

二段階抽出手順を用いて脳及び脊髄試料を処理した；各段階後、 $10,000\text{ rpm}$ 、 4°C で10分間の遠心を行った。第1段階は、RIPA（ 50 mM トリス、 150 mM NaCl、 0.5% DOC、 1% NP40、 0.1% SDS及びComplete（商標）、 $\text{pH}8.0$ ）中で試料をホモジナイズすることからなった。第2段階は、 5 M グアニジン-HCl中へのペレットの再懸濁からなった。

【1163】

Mesoscaleベースのアッセイを用いて各プール中のポリGPを定量化した。簡潔に言えば、ポリクローナル抗体AB1358（Millipore、Millipore Sigma、Billerica、Ma. から入手可能）を捕捉抗体及び検出抗体の両方として使用した。MULTI-ARRAY 96 Spot Plate Pack、SECTORプレートをPBS中 $1\text{ }\mu\text{l}$ の $10\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ 精製抗ポリGP抗体（Millipore、AB1358、Millipore Sigma、Billerica、Ma. から入手可能）によって小スポット上に直接、 4°C で一晩コーティングした。PBST（PBS中 0.05% Tween-20）で3回洗浄した後、プレートをMSD Blocker Aキット（R93AA-2）又は 10% FBS/PBSによって室温で1時間ブロックした。HEK-293細胞から精製したポリGP（プラスミドトランスフェクション後の抗FLAGアフィニティー精製による、Genescriptカスタム製）を 10% FBS/PBSで段階希釈し、標準として使用した。 $25\text{ }\mu\text{l}$ の標準ポリGP及び試料（希釈又は非希釈）を各ウェルに加え、室温で1～2時間インキュベートした。PBSTで3回洗浄した後、各ウェル $25\text{ }\mu\text{l}$ のスルホタグ付加抗GP（AB1358）を加え、室温で更に1時間インキュベートした。次に、プレートを3回洗浄し、 $150\text{ }\mu\text{l}$ ／ウェルのMSD読み取り緩衝液T（ $1\times$ ）（R92TC-2、MSD）を各ウェルに加え、製造者の初期設定に従ってMSD（MESO QUICKPLEX SQ 120）によって読み取った。

【1164】

C9orf72タンパク質の発現をウエスタンブロッティングにより決定した。簡潔に言えば、RIPA抽出物からのタンパク質を4～12%SDS-PAGE（Criterion

ionゲル、Bio-Rad)によってサイズ分画し、PVDF膜に転写した。C9orf72を検出するため、マウスモノクローナル抗C9orf72抗体GT779(1:2000; GeneTex、Irvine、California)、続いて二次DyLightコンジュゲート抗体を使用して膜を免疫プロットした。Odyssey/Li-Corイメージングシステムを使用して視覚化を行った。

一部の追加的な略称:

- Cx: 皮質
- HP: 海馬
- KD: ノックダウン
- SC: 脊髄
- Str: 線条体

10

20

30

表 7A.1. 様々な(%)wt72 オリゴヌクレオチドの活性.

アッセイ	エンドポイント	濃度範囲	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT
			6408	3688	7121	7122	7123	7124	7125	WT-7126
レポート	IC ₅₀ (nM)	< 5 nM	1.32 / 2.63	5.56 / 8.65	3.11	2.08	3.16	6.95	4.39	3.481
ALS	V3: イントロン	50% KD	66 / 0	50 / 23	38% / 44%	63% / 88%	47% / 42%	55% / 75%	31% / 60%	35% / 64% (フォーカス KD)
安定性	M6 膜	5 pHに 89%	100	63.2	1.81	0.95	2.23	2.63	90.3	92.5
TR9	ヒト	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	1.3 倍
種別	バネル	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン	クローン
PD (C9-BAC, iv)	V3: イントロン	阻害作用のある 脳組織で 50% KD	HP, Str 及び SC に KD	HP, Str, 及び SC に阻害	N/A	N/A	N/A	SCに KD. 皮質では なし	N/A	N/A

表 7A.2. 様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性.

アッセイ	エンド ポイント	選択 基準	WV- 6408	WV- 3688	WV- 7127	WV- 7128	WV- 7129	WV- 7130	WV- 7131	WV- 7132
レポーター	K ₅₀ (nM)	< 5 nM	1.32 / 2.63	5.56 / 8.65	2.45	2.71	2.27	2.8	2.04	1.91
ALS ニューロン	V3/ イントロン	50% KD	50% / 65%	55% / 79%	10% / 22%	13% / 45%	28% / 66%	11% / 55%	0% / 24%	30% / 70%
安定性	Ms 断片	SH11 に 80%	100	63.2	100	100	100	90.7	100	100
TLR9	ヒト 細胞	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン
PD (C9- BAC, rev)	V3/ イントロン	免疫性 のある 細胞で 50% KD	HP Str 及び SC に KD	HP Str 及び SC に KD	N/A	N/A	N/A	SC に KD, 皮膚では なし	N/A	N/A
有害性 (C9-BAC) ・ 細胞死	・ フォーガス ・ 細胞死	50% KD 50% KD	40	40						

表 7B. 様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性.

アッセイ	エンド ポイント	WV- 7603	WV- 7604	WV- 7605	WV- 7606	WV- 7607	WV- 7608	WV- 7609	WV- 7610	WV- 7611	WV- 7612
レポーター	K ₅₀ (nM)	1.8	1.6	1.3	1.2	2.4	0.28	0.20	1.1	1.6	
ALS ニューロン	V3/ イントロン	55 / 33	60 / 67	64 / 41	72 / 48	73 / 72	60 / 48	69 / 57			
安定性	Ms 断片	100	100	100	100	88	72	82	100	100	100
TLR9	ヒト 細胞	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン	クローニン
PD (C9- BAC, rev)	V3/ イントロン	N/A	N/A	N/A	N/A	CX に KD 細胞に KD	CX に KD 細胞に KD	CX に KD 細胞に KD	CX に KD 細胞に KD	CX に KD 細胞に KD	CX に KD 細胞に KD

10

20

30

40

表 7C. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性。

アッセイ	エンド ポイント	WV-6408 IC ₅₀ (nM)	WV-3688 IC ₅₀ (nM)	WV-8005 IC ₅₀ (nM)	WV-8006 IC ₅₀ (nM)	WV-8007 IC ₅₀ (nM)	WV-8008 IC ₅₀ (nM)	WV-8009 IC ₅₀ (nM)	WV-8010 IC ₅₀ (nM)	WV-8011 IC ₅₀ (nM)	WV-8012 IC ₅₀ (nM)
レポーター	IC ₅₀ (nM)	1.32 / 2.63	5.56 / 8.65	0.5	0.5	0.4	0.3	0.5	0.4	0.4	0.2
ALS	V3/ イントロン	66 / 0	50 / 23	87 / 53	84 / 52	94 / 52	95 / 46	87 / 41	87 / 61	94 / 35	95 / 22
安定性	MN 値	100	63.2	72	88	77	77	93	92	22?	77
TLR9	ヒト	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン	クリーン
PD (C9L BAC, Rev)	V3/ イントロン	20 / 30	HP, Src 及び Src に 相同	HP, Src 及び Src に 相同				38, 39	28 / 43	61 / 77	59 / 73
有鎖性 (C9L BAC)	フォーカス DPR	TRD 25 %						TRD 37 %	TRD 11 %	TRD 56 %	TRD 69 %

表 7D. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性。

アッセイ	エンド ポイント	WV-6408 IC ₅₀ (nM)	WV-3688 IC ₅₀ (nM)	WV-8321 IC ₅₀ (nM)	WV-8322 IC ₅₀ (nM)	WV-8454 IC ₅₀ (nM)	WV-8455 IC ₅₀ (nM)
レポーター	IC ₅₀ (nM)	1.32 / 2.63	5.56 / 8.65				
ALS	V3/ イントロン	66 / 0	50 / 23				
安定性	MN 値	100	63.2	100	100		
TLR9	ヒト	クリーン	クリーン				
PD (C9L BAC, Rev)	V3/ イントロン	HP, Src 及び Src に KD	HP, Src 及び Src に 相同				

THD, 未決定。

10

20

30

40

50

【1165】

表 8. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 8 A ~ 表 8 X では、ALS 運動ニューロン (MN) において様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドを 10 μ M で試験した。オリゴヌクレオチドは、とりわけ、塩基配列、化学パターン (例えば、2' 糖修飾のパターン)、骨格ヌクレオチド間結合のパターン及び/又は立体化学のパターンにおいて異なる。表 8 A ~ 表 8 X には、c9orf72 オリ

ゴヌクレオチドによる処理後の、H P R T 1 と比べた様々な c 9 o r f 7 2 転写物（例えば、全転写物又は V 3、V 1、イントロン 1 のみ等）の残留レベルが示され、ここで、1 . 0 0 0 であれば 1 0 0 % の相対転写物レベル（ノックダウンなし）に相当し、0 . 0 0 0 であれば 0 % の相対転写物レベル（例えば、1 0 0 % のノックダウン）に相当する。表 8 A ~ 表 8 X には、レプリケート実験の結果を示す。

表 8A. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.619	0.817	0.806
WV-7124	0.800	0.641	0.711
WV-6408	0.646	0.574	0.582
WV-7130	0.344	0.321	1.070
WV-8550	0.310	0.253	0.316
WV-8011	0.113	0.144	0.111
WV-8012	0.157	0.185	0.153
WV-2376	1.188	1.108	1.180
WV-9491	1.034	1.027	1.108
WV-5302	1.140	1.101	1.078
WV-6493	1.056	1.049	1.063
WV-8552	1.300	1.140	0.932
水	0.834	1.041	0.985

10

表 8B. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.845	0.881	0.862
WV-7124	0.799	0.845	0.893
WV-6408	0.810	0.751	0.767
WV-7130	0.788	0.542	
WV-8550	0.686	0.538	0.667
WV-8011	0.440	0.446	0.495
WV-8012	0.597	0.509	0.565
WV-2376	1.092	1.012	0.944
WV-9491	1.245	1.146	1.069
WV-5302	1.170	0.839	1.077
WV-6493	1.115	0.868	0.991
WV-8552	1.092	0.875	1.122
水	1.122	0.950	1.122

20

表 8C. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.901	0.829	0.655
WV-7124	0.594	0.829	0.702
WV-6408	0.784	0.732	0.888
WV-7130	0.476	0.539	0.972
WV-8550	0.379	0.341	0.466
WV-8011	0.207	0.279	0.216
WV-8012	0.250	0.241	0.291
WV-2376	0.993	0.864	0.920
WV-9491	1.156	0.946	1.049
WV-5302	0.920	1.101	0.933
WV-6493	1.056	0.858	1.071
WV-8552	0.901	1.148	1.140
水	1.197	0.846	0.999

30

表 8D. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン 1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688		0.538	0.685
WV-7124		0.681	0.538
WV-6408	0.516	0.408	0.509
WV-7130	0.399	0.533	
WV-8550	0.443	0.350	0.298
WV-8011	0.336	0.378	0.434
WV-8012	0.446	0.446	0.475
WV-2376	0.685	0.681	0.714
WV-9491	0.880	0.923	1.261
WV-5302	0.745	1.510	1.091
WV-6493	0.826	0.997	1.017
WV-8552	1.210	0.963	1.010
水	1.315	1.193	0.990

40

表 8E. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.619	0.817	0.806
WV-6408	0.646	0.574	0.582
WV-8550	0.310	0.253	0.316
WV-3662	0.105	0.121	0.119
WV-7188	0.065	0.074	0.062
WV-9494	0.009	0.006	0.009
WV-6936	0.795	0.972	0.800
WV-7027	0.741	0.882	0.900
WV-8595	0.926	0.741	0.919
WV-2376	1.188	1.108	1.180
WV-9491	1.034	1.027	1.108
WV-5302	1.140	1.101	1.078
水	0.834	1.041	0.985

表 8F. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.845	0.881	0.862
WV-6408	0.810	0.751	0.767
WV-8550	0.686	0.538	0.667
WV-3662	0.160	0.155	0.145
WV-7188	0.116	0.116	0.108
WV-9494	0.013	0.010	0.012
WV-6936	1.099	1.084	0.957
WV-7027	1.040	0.991	0.931
WV-8595	1.280	1.005	1.186
WV-2376	1.092	1.012	0.944
WV-9491	1.245	1.146	1.069
WV-5302	1.170	0.839	1.077
水	1.122	0.950	1.122

表 8G. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.901	0.829	0.655
WV-6408	0.784	0.732	0.888
WV-8550	0.379	0.341	0.466
WV-3662	0.185	0.099	0.182
WV-7188	0.114	0.128	0.106
WV-9494	0.023	0.018	0.026
WV-6936	0.913	0.939	0.907
WV-7027	0.702	0.757	0.926
WV-8595	0.952	0.959	0.959
WV-2376	0.993	0.864	0.920
WV-9491	1.156	0.946	1.049
WV-5302	0.920	1.101	0.933
水	1.197	0.846	0.999

表 8H. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン I C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688		0.538	0.685
WV-6408	0.516	0.408	0.509
WV-8550	0.443	0.250	0.298
WV-3662		0.700	0.576
WV-7188	0.787	0.455	0.527
WV-9494	0.534	0.302	0.512
WV-6936	0.676	0.815	0.930
WV-7027	1.500	0.936	0.976
WV-8595	0.983	1.361	0.930
WV-2376	0.685	0.681	0.714
WV-9491	0.880	0.923	1.261
WV-5302	0.745	1.510	1.091
水	1.315	1.193	0.990

表 8I. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.310	0.253	0.316
WV-8011	0.113	0.144	0.111
WV-8012	0.157	0.185	0.153
WV-9493	1.013	0.978	1.034
WV-9492	0.784	0.811	0.741
WV-3536	0.789	0.510	0.678
WV-2376	1.188	1.108	1.180
水	0.834	1.041	0.985

表 8J. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.686	0.538	0.667
WV-8011	0.440	0.446	0.495
WV-8012	0.597	0.509	0.565
WV-9493	1.122	1.084	1.069
WV-9492	1.107	0.816	0.924
WV-3536	0.991	0.783	0.977
WV-2376	1.092	1.012	0.944
水	1.122	0.950	1.122

表 8K. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.379	0.341	0.466
WV-8011	0.207	0.279	0.216
WV-8012	0.250	0.241	0.291
WV-9493	0.933	0.979	0.952
WV-9492	0.712	0.737	0.858
WV-3536	0.687	0.493	0.598
WV-2376	0.993	0.864	0.920
水	1.197	0.846	0.999

10

20

30

40

表 8L. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン 1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.443	0.350	0.298
WV-8011	0.336	0.378	0.434
WV-8012	0.446	0.446	0.475
WV-9493	0.917	0.838	0.917
WV-9492	1.075	0.714	
WV-3536	0.710	0.969	1.061
WV-2376	0.685	0.681	0.714
水	1.315	1.193	0.990

表 8M. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.751	0.677	0.573
WV-7124	0.546	0.482	0.799
WV-6408	0.649	0.593	0.573
WV-7130	0.365	0.343	0.389
WV-8550	0.297	0.286	0.260
WV-8011	0.135	0.123	0.097
WV-8012	0.111	0.162	0.106
WV-2376	0.833	1.033	1.092
WV-3542	0.977	1.069	0.970
WV-9491	1.047	0.899	1.011
WV-5302	1.011	0.944	1.162
WV-6493	0.984	1.099	1.502
WV-8552	1.146	1.077	0.991
水	0.899	1.122	1.122

表 8N. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.940	0.847	0.813
WV-7124	0.737	0.764	1.022
WV-6408	0.774	0.717	0.646
WV-7130	0.591	0.559	0.525
WV-8550	0.567	0.536	0.555
WV-8011	0.451	0.421	0.421
WV-8012	0.451	0.429	0.470
WV-2376	1.182	1.029	1.058
WV-3542	0.966	0.902	0.871
WV-9491	1.087	0.973	0.933
WV-5302	0.902	0.966	0.980
WV-6493	1.043	0.966	0.947
WV-8552	1.149	1.087	0.947
水	0.895	1.029	0.987

表 8O. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.846	0.920	0.858
WV-7124	0.829	0.779	1.064
WV-6408	0.946	0.801	0.790
WV-7130	0.758	0.664	0.582
WV-8550	0.562	0.426	0.384
WV-8011	0.213	0.235	0.272
WV-8012	0.368	0.283	0.351
WV-2376	1.086	0.835	0.858
WV-3542	0.846	1.101	0.972
WV-9491	0.939	1.140	0.779
WV-5302	0.979	1.035	1.274
WV-6493	1.181	1.035	0.993
WV-8552	1.214	0.966	0.926
水	1.079	0.870	0.889

表 8P. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン 1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.324	0.481	0.626
WV-7124	0.734	0.354	0.181
WV-6408	0.261	0.340	0.548
WV-7130	0.452	0.288	0.449
WV-8550	0.484	0.382	0.424
WV-8011	0.391	0.296	
WV-8012	0.461	0.508	0.375
WV-2376		1.038	1.269
WV-3542	1.184	0.879	0.600
WV-9491	1.060	1.023	1.674
WV-5302	1.217	1.295	1.097
WV-6493	1.136	1.418	
WV-8552	1.128	1.332	0.776
水	0.968	0.903	0.685

10

20

30

40

表 8Q. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.751	0.677	0.573
WV-6408	0.649	0.593	0.573
WV-8550	0.297	0.286	0.260
WV-3662	0.267	0.216	0.248
WV-7118	0.311	0.219	0.249
WV-9494	0.031	0.043	0.042
WV-6936	0.827	0.874	0.667
WV-7027	0.868	0.788	0.874
WV-8595	0.725	0.681	0.822
WV-2376	0.833	1.033	1.092
WV-3542	0.977	1.069	0.970
WV-9491	1.047	0.899	1.011
水	0.899	1.122	1.122

表 8R. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.940	0.847	0.813
WV-6408	0.774	0.717	0.646
WV-8550	0.567	0.536	0.555
WV-3662	0.261	0.235	0.238
WV-7118	0.276	0.263	0.291
WV-9494	0.046	0.043	0.047
WV-6936	1.014	1.007	1.007
WV-7027	1.065	0.966	0.947
WV-8595	0.994	0.818	0.830
WV-2376	1.182	1.029	1.058
WV-3542	0.966	0.902	0.871
WV-9491	1.087	0.973	0.933
水	0.895	1.029	0.987

表 8S. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (Vf C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.846	0.920	0.858
WV-6408	0.946	0.801	0.790
WV-8550	0.562	0.426	0.384
WV-3662	0.299	0.272	0.381
WV-7118	0.387	0.358	0.325
WV-9494	0.065	0.050	0.063
WV-6936	0.712	0.966	1.035
WV-7027	0.959	0.952	1.049
WV-8595	0.742	0.790	0.841
WV-2376	1.086	0.835	0.858
WV-3542	0.846	1.101	0.972
WV-9491	0.939	1.140	0.779
水	1.079	0.870	0.889

表 8T. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン 1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-3688	0.324	0.481	0.626
WV-6408	0.261	0.340	0.548
WV-8550	0.484	0.382	0.424
WV-3662	0.995	0.831	0.891
WV-7118	0.596	0.724	0.584
WV-9494	0.699	0.455	0.556
WV-6936		1.144	0.948
WV-7027	0.729	1.176	1.260
WV-8595	1.045	0.837	1.209
WV-2376		1.038	1.269
WV-3542	1.184	0.879	0.600
WV-9491	1.060	1.023	
水	0.968	0.903	0.685

表 8U. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.297	0.286	0.260
WV-8011	0.135	0.123	0.097
WV-8012	0.111	0.162	0.106
WV-9493	0.761	0.705	0.649
WV-9492	0.506	0.520	0.478
WV-3536	0.663	0.606	0.805
WV-2376	0.833	1.033	1.092
水	0.899	1.122	1.122

表 8V. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.567	0.536	0.555
WV-8011	0.451	0.421	0.421
WV-8012	0.451	0.429	0.470
WV-9493	1.014	0.824	0.807
WV-9492	0.859	0.818	0.801
WV-3536	0.830	0.790	1.126
WV-2376	1.182	1.029	1.058
水	0.895	1.029	0.987

10

20

30

40

表 8W. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.562	0.426	0.384
WV-8011	0.213	0.235	0.272
WV-8012	0.368	0.283	0.351
WV-9493	1.049	0.870	0.586
WV-9492	0.993	0.795	0.758
WV-3536	0.683	0.697	1.021
WV-2376	1.086	0.835	0.858
水	1.079	0.870	0.889

表 8X. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン 1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.484	0.382	0.424
WV-8011	0.391	0.296	0.781
WV-8012	0.461	0.508	0.375
WV-9493	0.391	0.942	0.724
WV-9492	0.481	0.989	0.942
WV-3536	0.729	0.948	0.580
WV-2376	1.038	1.269	
水	0.968	0.903	0.685

10

【1166】

表 9. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 9A～表 9Dでは、ALS運動ニューロン(MN)において様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドを 1 μM で試験した。オリゴヌクレオチドは、とりわけ、塩基配列、化学パターン(例えば、2' 糖修飾のパターン)、骨格ヌクレオチド間結合のパターン及び/又は立体化学のパターンにおいて異なる。表 9A～表 9Dには、c9orf72 オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1 と比べた様々な c9orf72 転写物(例えば、全転写物又は V3、V1、イントロン 1 のみ等)の残留レベルが示され、ここで、1.000 であれば 100% の相対転写物レベル(ノックダウンなし)に相当し、0.000 であれば 0% の相対転写物レベル(例えば、100% のノックダウン)に相当する。表 9A～表 9Dには、レプリケート実験の結果を示す。

20

表 9A. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.557	0.672
WV-8011	0.389	0.417
WV-9505	0.370	0.378
WV-9506	0.465	0.446
WV-9507	0.799	0.822
WV-9508	0.502	0.478
WV-9509	0.428	0.397
WV-9510	0.589	0.478
WV-2376	1.047	1.018
水	0.899	1.122

30

表 9B. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.683	0.790
WV-8011	0.571	0.567
WV-9505	0.651	0.651
WV-9506	0.824	0.743
WV-9507	0.835	0.847
WV-9508	0.717	0.679
WV-9509	0.703	0.688
WV-9510	0.801	0.830
WV-2376	1.198	1.149
水	0.895	1.029

表 9C. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V1 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-8550	0.758	0.979
WV-8011	1.000	0.818
WV-9505	0.702	0.603
WV-9506	0.476	0.972
WV-9507	0.993	1.265
WV-9508	0.870	0.926
WV-9509	0.907	0.806
WV-9510	1.109	1.049
WV-2376	1.301	1.310
水	1.079	0.870

40

表9D. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン1 C9orf72転写物の残留レベル)

WV-8550	0.781	0.533
WV-8011	1.002	0.600
WV-9505	1.009	0.916
WV-9506	0.910	0.765
WV-9507	0.634	0.843
WV-9508	0.724	0.657
WV-9509	0.512	0.873
WV-9510	0.245	1.045
WV-2376	1.128	1.226
水	0.968	0.903

【1167】

表10. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性

表10A～表10Bでは、ALS運動ニューロン(MN)において様々なc9orf72オリゴヌクレオチドを0.01～10μMの様々な濃度で試験した。オリゴヌクレオチドは、とりわけ、骨格ヌクレオチド間結合のパターン及び／又は立体化学のパターンにおいて異なる。DNAコアにおいて、様々なオリゴヌクレオチドは1つ又は2つのSSO[5'-Sp配置のPS(ホスホロチオエート)、Sp配置のPS、PO(ホスホジエステル)-3']又は1つ又は2つのSSR[5'-Sp配置のPS(ホスホロチオエート)、Sp配置のPS、Rp配置のPS-3']を含む。表10A～表10Bには、c9orf72オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1と比べた様々なc9orf72転写物(例えば、全転写物又はV3のみ)の残留レベルが示され、ここで、1.000であれば100%の相対転写物レベル(ノックダウンなし)に相当し、0.000であれば0%の相対転写物レベル(例えば、100%のノックダウン)に相当する。表10A～表10Bには、レプリケート実験の結果を示す。

表10A. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (全V C9orf72転写物の残留レベル)

	WV-8011	WV-9394	WV-8012	WV-9395
10μM	0.617	0.621	0.639	0.680
	0.613	0.643	0.617	0.760
	0.724	0.724	0.739	0.754
2.5μM	0.699	0.704	0.680	0.849
	0.843	0.855	0.814	0.897
0.625μM	0.792	0.855	0.831	0.897
	0.891	0.897	0.849	0.948
0.16μM	0.982	0.968	0.922	0.879
	1.038	1.097	1.009	0.962
0.04μM	1.082	0.975	0.942	1.082
	1.002	1.024	1.009	1.002
0.01μM	0.935	0.948	0.922	0.955

表10B. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72転写物の残留レベル)

	WV-8011	WV-9394	WV-8012	WV-9395
	0.023	0.042	0.026	0.026
10μM	0.033	0.032	0.023	0.025
	0.061	0.072	0.049	0.061
2.5μM	0.050	0.055	0.060	
	0.125	0.147	0.133	0.130
0.625μM	0.152	0.146	0.139	0.169
	0.266	0.318	0.227	0.291
0.16μM	0.236	0.310	0.277	0.332
	0.726	0.668	0.578	0.687
0.04μM	0.711	0.628	0.444	0.906
	0.992	0.932	0.817	0.992
0.01μM	0.888	0.978	0.932	0.900

【1168】

表11. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性

表11A及び表11Bでは、ALS運動ニューロン(MN)において様々なc9orf72オリゴヌクレオチドを10μMで試験した。オリゴヌクレオチドは、とりわけ、塩基配列、ヌクレオチド間結合のパターン及び化学のパターン(例えば、2'-糖修飾のパターン)において異なり、ここで、一部のオリゴヌクレオチドは、対称フォーマットを有し(例えば、表11B)、一部は非対称フォーマットを有する(例えば、表11A)。表11A及び表11Bには、c9orf72オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1と比べたV3 c9orf72転写物の残留レベルが示され、ここで、1.000であれば100%の相対転写物レベル(ノックダウンなし)に相当し、0.000であれば0%の相対転写物レベル(例えば、100%のノックダウン)に相当する。表11A及び表11Bには、レプリケート実験の結果を示す。本表及び他の表において、必ずしも様々な実

験で実施した全ての陽性及び陰性対照が示されるとは限らない。

表 11A. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-10406	0.250	0.267	0.264
WV-10407	0.301	0.314	0.297
WV-10408	0.201	0.211	0.228
WV-10409	0.301	0.314	0.279
WV-10410	0.301	0.363	0.287
WV-10411	0.381	0.332	0.325
WV-10412	0.368	0.414	0.400
WV-10413	0.492	0.428	0.459
WV-10414	0.341	0.358	0.437
WV-10415	0.160	0.239	0.231
WV-10416	0.239	0.239	0.214
WV-8550	0.173	0.184	0.200
WV-10417	0.309	0.479	0.411
WV-10418	0.198	0.279	0.244
WV-10419	0.314	0.420	0.332
WV-10420	0.453	0.517	0.546
WV-10421	0.447	0.658	0.539
WV-10422	0.485	0.444	0.577
WV-10423	0.573	0.602	0.479
WV-10424	0.711	0.741	0.811
WV-10425	0.558	0.341	0.403
WV-9491	0.984	1.107	1.317
WV-3662	0.047	0.051	0.058
WV-10426	0.531		1.005

10

表 11B. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-6936	0.517	0.420	0.502
WV-6989	0.746	0.828	0.767
WV-7002	0.691	0.726	0.598
WV-6474	0.649	0.778	0.716
WV-3688	0.581	0.606	0.593
WV-6969		0.677	0.558
WV-6951	0.672	0.636	0.731
WV-3690	0.767	0.736	0.677
WV-6952	0.857	0.799	0.731
WV-6976	0.658	0.558	0.645
WV-6981	0.686	0.731	0.663
WV-6982	0.863	0.751	0.658
WV-9694	0.610	0.663	0.645
WV-9695	0.663	0.636	0.585
WV-3662	0.043	0.038	0.029
WV-2376	0.899	1.040	0.822

20

【1169】

表 12. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 12 A 及び表 12 B では、ALS 運動ニューロン (MN) において様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドを 2.5 又は 10 μ M で試験した。オリゴヌクレオチドは、とりわけ、塩基配列、ヌクレオチド間結合のパターン及び化学のパターン (例えば、2'-糖修飾のパターン) において異なり、ここで、一部のオリゴヌクレオチドは、対称フォーマットを有し、一部は非対称フォーマットを有する。表 12 A 及び表 12 B には、c9orf72 オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1 と比べた V3 又は全 V c9orf72 転写物の残留レベルが示され、ここで、1.000 であれば 100% の相対転写物レベル (ノックダウンなし) に相当し、0.000 であれば 0% の相対転写物レベル (例えば、100% のノックダウン) に相当する。表 12 A 及び表 12 B には、レプリケート実験の結果を示す。本表及び他の表において、必ずしも様々な実験で実施した全ての陽性及び陰性対照が示されるとは限らない。

30

表 12A. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-6408 (10uM)	0.564	0.740	0.714
WV-6408 (2.5uM)	0.700	0.745	0.657
WV-12480 (10uM)	0.936	1.024	0.880
WV-12480 (2.5uM)	0.956	0.873	0.798
WV-12481 (10uM)	0.541	0.667	0.657
WV-12481 (2.5uM)	0.676	0.626	0.676
WV-12482 (10uM)	0.378	0.407	0.357
WV-12482 (2.5uM)	0.431	0.462	0.475
WV-12483 (10uM)	0.446	0.458	0.458
WV-12483 (2.5uM)	0.530	0.478	0.505
WV-12484 (10uM)	0.580	0.667	0.705
WV-12484 (2.5uM)	0.530	0.662	0.714
WV-12486 (10uM)	0.527	0.597	0.657
WV-12486 (2.5uM)	0.538	0.719	0.667
WV-8548 (10uM)	0.372	0.383	0.367
WV-8548 (2.5uM)	0.523	0.509	0.516
WV-12439 (10uM)	0.419	0.549	0.446
WV-12439 (2.5uM)	0.755	0.609	0.478
WV-12440 (10uM)	0.352	0.485	0.462
WV-12440 (2.5uM)	0.635	0.485	0.588
WV-12441 (10uM)		0.246	0.261
WV-12441 (2.5uM)	0.434	0.360	0.357
WV-12442 (10uM)	0.861		0.505
WV-12442 (2.5uM)	0.671	0.553	

10

WV-12443 (10uM)			
WV-12443 (2.5uM)	0.481	0.613	0.315
WV-12444 (10uM)	0.251	0.391	0.367
WV-12444 (2.5uM)		0.471	0.561
WV-12446 (10uM)	0.481	0.495	0.564
WV-12446 (2.5uM)		0.644	0.850
WV-12445 (10uM)	0.657	0.605	0.588
WV-12445 (2.5uM)		0.662	0.880
WV-12447 (10uM)	0.286	0.491	0.329
WV-12447 (2.5uM)		0.618	0.564
WV-12448 (10uM)	0.191	0.320	0.214
WV-12448 (2.5uM)		0.468	0.440
WV-12449 (10uM)	0.505	0.465	
WV-12449 (2.5uM)		0.597	0.478
WV-12450 (10uM)			
WV-12450 (2.5uM)	0.491	0.534	0.553
WV-12451 (10uM)	0.443	0.458	0.462
WV-12451 (2.5uM)	0.545	0.452	0.502
WV-8550 (10uM)	0.273	0.298	0.278
WV-8550 (2.5uM)	0.478	0.488	0.440
WV-9491 (10uM)	0.635	1.053	1.010
WV-9491 (2.5uM)	1.106	0.815	0.850
WV-3542 (10uM)	0.962	1.053	1.061
WV-3542 (2.5uM)	1.113	0.983	1.039

20

表 12B. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

WV-6408 (10uM)	0.861	0.843	0.861
WV-6408 (2.5uM)	0.861	0.949	0.861
WV-12480 (10uM)	0.982	0.982	0.969
WV-12480 (2.5uM)	0.923	0.910	0.956
WV-12481 (10uM)	0.838	0.832	0.809
WV-12481 (2.5uM)	0.838	0.820	0.867
WV-12482 (10uM)	0.714	0.714	0.653
WV-12482 (2.5uM)	0.699	0.744	0.734
WV-12483 (10uM)	0.976	0.936	0.936
WV-12483 (2.5uM)	0.820	0.861	0.917
WV-12484 (10uM)	0.996	0.969	0.976
WV-12484 (2.5uM)	0.929	0.923	0.982
WV-12486 (10uM)	0.760	0.820	0.724

30

WV-12486 (2.5uM)	0.782	0.843	0.832
WV-8548 (10uM)	0.729	0.760	0.771
WV-8548 (2.5uM)	0.771	0.826	0.798
WV-12439 (10uM)	0.898	0.873	0.855
WV-12439 (2.5uM)	0.949	0.873	0.820
WV-12440 (10uM)	0.803	0.809	0.771
WV-12440 (2.5uM)	0.849	0.792	0.771
WV-12441 (10uM)	0.431	0.657	0.685
WV-12441 (2.5uM)	0.657	0.719	0.695
WV-12442 (10uM)	0.976	0.861	0.996
WV-12442 (2.5uM)	0.929	0.461	0.495
WV-12443 (10uM)	0.923	0.798	0.996
WV-12443 (2.5uM)	0.484	0.879	0.601
WV-12444 (10uM)	0.653	0.680	0.666
WV-12444 (2.5uM)		0.734	0.792
WV-12446 (10uM)	0.820	0.849	0.849
WV-12446 (2.5uM)		0.838	0.898
WV-12445 (10uM)	0.861	0.849	0.855
WV-12445 (2.5uM)		0.898	0.898
WV-12447 (10uM)	0.744	0.755	0.739
WV-12447 (2.5uM)		0.782	0.798
WV-12448 (10uM)	0.704	0.699	0.662
WV-12448 (2.5uM)		0.792	0.776
WV-12449 (10uM)	1.098	0.676	0.443
WV-12449 (2.5uM)		0.873	0.861
WV-12450 (10uM)	0.580	0.695	0.704
WV-12450 (2.5uM)	0.917	0.923	0.996
WV-12451 (10uM)	0.832	0.885	0.820
WV-12451 (2.5uM)	0.861	0.792	0.867
WV-8550 (10uM)	0.724	0.739	0.771
WV-8550 (2.5uM)	0.803	0.815	0.873
WV-9491 (10uM)	0.982	0.969	1.060
WV-9491 (2.5uM)	0.962	0.996	1.053
WV-3542 (10uM)	1.017	1.038	1.024
WV-3542 (2.5uM)	1.031	0.879	0.949

10

20

30

40

【1170】

表13. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性

表13A～表13Fでは、c9 BACマウスにおいて様々なc9orf72オリゴヌクレオチドを試験した；マウスに各50μgの2用量のc9orf72オリゴヌクレオチドを1週間空けてICV投与し、2回目の用量の1週間後に組織を採取した。オリゴヌクレオチドは、とりわけ、塩基配列、ヌクレオチド間結合のパターン及び化学のパターン（例えば、2'-糖修飾のパターン）において異なり、ここで、一部のオリゴヌクレオチドは、対称フォーマットを有し、一部は非対称フォーマットを有する。表13A～表13Fには、c9orf72オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1と比べたc9orf72転写〔例えば、全転写物（全V）又はV3のみ〕の残留レベルが示され、ここで、1.000であれば100%の相対転写物レベル（ノックダウンなし）に相当し、0.000であれば0%の相対転写物レベル（例えば、100%のノックダウン）に相当する。レプリケート実験の結果を示す。評価した組織：SC、脊髄；及びCX、大脳皮質。

表13A. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (CXにおける全V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-8548	WV-12482	WV-12483	WV-12444	WV-12448
1.011	0.798	0.676	0.735	0.705	0.523
0.862	1.011	0.553	0.787	0.963	0.530
1.032	0.969	0.745	0.725	0.950	0.549
1.091	0.976	0.720	0.777	0.997	0.827
1.039	0.950	0.750	0.844	0.844	0.715
0.997	0.838	0.868	0.740	0.917	0.976
0.856	0.771	0.333	0.761	0.844	0.662
1.114	0.850	0.750	0.671	0.705	0.690

表13B. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (CXにおけるV3 C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-8548	WV-12482	WV-12483	WV-12444	WV-12448
0.935	0.754	0.708	0.684	0.739	0.439
0.897	1.089	0.537	0.643	0.968	0.556
1.002	0.891	0.666	0.670	1.059	0.413
1.009	0.928	0.704	0.781	1.009	0.775
0.968	0.981	0.792	0.497	0.837	0.643
1.167	0.749	0.928	0.568	0.848	1.030
0.872	0.533	0.229	0.814	0.803	0.759
1.151	0.968	0.968	0.694	0.575	0.808

表 13C. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX におけるイントロン 1/AS C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-8548	WV-12482	WV-12483	WV-12444	WV-12448
0.426	1.124	1.248	0.619	2.712	1.256
0.441	0.840	1.944	2.113	2.344	2.280
0.852	0.846		3.072	0.993	2.377
1.213	0.646		3.137	0.888	
1.433	0.325		3.704	1.109	2.693
1.230		1.453	3.247		1.568
	1.180	0.673			1.740
1.404	1.827	0.301	1.931	2.218	0.864

表 13D. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-8548	WV-12482	WV-12483	WV-12444	WV-12448
1.635	0.747	0.692	0.603	0.528	0.747
0.999	1.042	0.747	1.504	0.673	0.507
1.525	0.768	0.692	0.536	0.779	0.659
0.742	0.835	0.721	0.598	0.806	0.727
0.779	0.717	0.603	0.632	0.551	0.712
0.678	1.172	0.615	1.515	0.574	0.517
0.697	0.727	0.795	0.558	0.574	0.586
0.945	0.939	0.578	0.582	0.795	0.558

表 13E. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-8548	WV-12482	WV-12483	WV-12444	WV-12448
1.325	0.681	0.686	0.465	0.513	0.805
1.122	1.307	0.735	0.816	0.746	0.355
1.382	0.725	0.827	0.408	0.905	0.725
0.788	0.772	0.799	0.389	0.856	0.475
0.874	0.499	0.672	0.416	0.557	0.833
0.761	0.887	0.527	0.931	0.550	0.309
0.777	0.715	1.069	0.443	0.557	0.301
0.970	0.950	0.431	0.482	0.816	0.499

表 13F. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC におけるイントロン 1/AS C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-8548	WV-12482	WV-12483	WV-12444	WV-12448
1.812	0.054	1.070	0.065	0.070	0.869
1.942	1.545	0.998		0.241	0.074
	0.055	1.163	0.258	0.131	0.438
0.528	0.075	1.503	0.281	0.072	0.721
0.789	0.149	0.124	0.381	0.099	0.091
0.701	2.293	0.015		0.057	0.058
0.757	0.450	0.206	0.129	0.358	0.016
0.472		0.027	0.287		0.021

【1171】

表 14. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 14A～表 14Bでは、オリゴヌクレオチドを 0.003～10 μM の濃度（濃度は exp10 として提供される）でジムノシスにより (gymnotically) 送達して、運動ニューロンにおいて様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドを試験した。試験した c9orf72 オリゴヌクレオチド WV-11532 は 3 つの中性ヌクレオチド間結合を含む。表 14A 及び表 14B には、c9orf72 オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1 と比した c9orf72 転写 [例えば、全転写物（全 V）又は V3 のみ] の残留レベルが示され、ここで、1.000 であれば 100% の相対転写物レベル（ノックダウンなし）に相当し、0.000 であれば 0% の相対転写物レベル（例えば、100% のノックダウン）に相当する。レプリケート実験の結果を示す。

表 14A. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

濃度	WV-8008			WV-11532		
-2.495	0.999	0.958	0.913	1.006	0.894	0.900
-1.796	0.965	0.864	0.882	0.972	0.829	0.858
-1.097	1.006	0.900	0.932	0.907	0.888	0.858
-0.398	0.800	0.742	0.806	0.795	0.747	0.742
0.301	0.624	0.611	0.687	0.562	0.554	0.554
1	0.524	0.500	0.521	0.409	0.411	0.387

表 14B. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

濃度	WV-8008			WV-11532		
-2.495	0.947	0.871	1.014	0.927	0.853	0.908
-1.796	0.877	0.841	0.908	0.836	0.769	0.841
-1.097	0.665	0.743	0.871	0.620	0.633	0.717
-0.398	0.555	0.427	0.707	0.421	0.415	0.427
0.301	0.210	0.178	0.304	0.096	0.105	0.094
1	0.056	0.071	0.083	0.012	0.015	0.015

【1172】

表15. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性

表15A～表15Hでは、c9 BACマウスにおいてAS（アンチセンス鎖）を標的とする様々なc9orf72オリゴヌクレオチドを試験した；マウスに各50μgの2用量のc9orf72オリゴヌクレオチドを1週間空けてICV投与し、2回目の用量の1週間後に組織を採取した。表15A～表15Hには、c9orf72オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1と比べたAS（アンチセンス鎖）c9orf72転写物の残留レベルが示され、ここで、1.000であれば100%の相対転写物レベル（ノックダウンなし）に相当し、0.000であれば0%の相対転写物レベル（例えば、100%のノックダウン）に相当する。レプリケート実験の結果を示す。評価した組織：SC、脊髄；及びCX、大脳皮質。

表15A. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (CXにおけるAS C9orf72転写物の残留レベル)

PBS	1.385	0.973	0.642		
WV-3542	0.727	0.901	0.927	1.065	1.729
WV-7117	0.637	0.895	1.000	0.559	0.953
WV-5969	1.973	1.102	1.141	1.506	0.895
WV-5979	1.214	1.094	1.079	1.249	1.506
WV-5980	0.669	1.591	1.206	0.993	1.636
WV-5981	1.320	0.859	0.454	0.769	1.157
WV-5982	1.157	1.189	0.540	0.940	1.206
WV-5985	0.927	1.275	1.537	1.223	0.933
WV-5987	0.616	1.311	1.249	1.117	0.591

表15B. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (SCにおけるAS C9orf72転写物の残留レベル)

PBS	0.932	1.048	1.020		
WV-3542	1.238	1.131	0.965	1.155	0.882
WV-7117	0.645	0.472	0.687	0.389	0.363
WV-5969	1.108	0.971	1.213	1.247	1.213
WV-5979	1.264	0.965	1.085	0.846	0.913
WV-5980	0.397	1.070	1.027	0.823	1.355
WV-5981	0.876	0.992	1.085	0.823	1.155
WV-5982	1.238	1.171	0.806	0.811	0.664
WV-5985	0.741	0.817	0.925	0.773	0.789
WV-5987	0.659	0.517	0.602	0.757	0.566

表15C. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (CXにおけるAS C9orf72転写物の残留レベル)

PBS	0.928	0.596	1.388		1.089
WV-3542	0.455	0.744	0.872	1.251	0.537
WV-7117	0.744	0.436	0.814	0.544	1.052
WV-5967	0.604	0.526	0.915	1.175	0.749
WV-5970	0.723	0.961	1.467	1.200	1.104
WV-5971	0.592	1.167	1.167	1.074	1.183
WV-5972	1.331	0.974	1.009	0.890	1.436
WV-5973	0.744	0.638	1.359	0.708	1.009
WV-5974	1.104	0.837	0.802	0.837	1.127
WV-5978	0.703	0.703	0.842	0.575	1.066

表15D. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (SCにおけるAS C9orf72転写物の残留レベル)

PBS	0.843	0.860	1.037		1.260
WV-3542	1.313	1.217	1.304	1.260	1.037
WV-7117	0.781	0.362	0.357	0.458	1.151
WV-5967	1.437	1.097	0.909	1.151	1.175
WV-5970	1.313	1.030	0.808	1.175	1.097
WV-5971	1.628	3.102	1.313	1.417	1.794
WV-5972	1.572	2.757	1.819	1.794	2.060
WV-5973	1.143	0.922	1.192	1.313	1.304
WV-5974	1.467	1.674	1.175	1.037	1.407
WV-5978	0.975	1.104	1.081	0.848	1.030

表15E. 様々なc9orf72オリゴヌクレオチドの活性 (CXにおける全V C9orf72転写物の残留レベル)

PBS	1.061	0.943	0.997		
WV-3542	1.068	1.025	1.061	1.137	1.235
WV-7117	0.443	0.388	0.787	0.509	0.561
WV-5969	1.270	1.083	1.137	1.113	1.046
WV-5979	1.161	1.083	1.010	1.137	1.010
WV-5980	1.046	1.253	1.129	1.053	1.297
WV-5981	0.917	0.983	0.815	0.892	1.053
WV-5982	1.017	1.039	0.886	1.068	1.075
WV-5985	1.075	1.169	1.177	1.161	0.868
WV-5987	0.990	1.032	1.153	1.010	0.868

10

20

30

40

表 15F. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	0.960	0.953	1.087		
WV-3542	1.029	1.087	0.933	0.953	0.973
WV-7117	0.268	0.203	0.722	0.190	0.196
WV-5969	0.987	0.921	0.960	1.014	1.014
WV-5979	0.933	0.980	0.987	0.980	0.973
WV-5980	0.774	0.987	0.940	0.980	1.095
WV-5981	0.921	0.940	0.994	0.933	1.036
WV-5982	1.072	1.014	0.927	0.940	0.871
WV-5985	1.036	1.000	0.960	0.927	0.927
WV-5987	0.946	0.824	0.883	0.841	0.883

表 15G. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX における全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	1.073	0.859	1.095	0.818	0.973
WV-3542	0.813	0.824	0.947	1.149	0.830
WV-7117	0.470	0.274	0.703	0.563	1.001
WV-5967	0.404	0.818	0.973	1.065	0.896
WV-5970	0.987	1.095	0.960	0.973	1.118
WV-5971	0.830	0.953	1.087	0.947	1.134
WV-5972	1.182	0.960	0.987	1.065	1.103
WV-5973	0.973	0.896	0.987	0.902	1.103
WV-5974	1.142	1.058	0.967	0.967	1.043
WV-5978	0.980	0.836	1.001	0.953	0.973

表 15H. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	1.062	0.950	0.912	1.018	1.077
WV-3542	0.997	0.924	0.918	0.937	0.887
WV-7117	0.700	0.207	0.256	0.241	0.761
WV-5967	1.099	1.004	1.077	0.977	0.977
WV-5970	1.026	0.931	0.899	0.970	1.004
WV-5971	1.004	1.162	0.931	0.997	1.146
WV-5972	0.977	1.114	0.977	1.033	1.178
WV-5973	0.931	0.964	0.997	1.018	1.033
WV-5974	1.062	1.077	0.905	0.912	0.997
WV-5978	0.991	0.997	1.054	0.984	0.964

【1173】

表 15 I. 1～表 15 I. 6 及び表 15 J. 1～表 15 J. 6 では、C9 BACマウスにおいて様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドを試験した。試験した c9orf72 オリゴヌクレオチドは、種々の塩基配列並びに様々な数及び位置の非負電荷ヌクレオチド間結合を有する。c9orf72 オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1 と比べた c9orf72 転写 [例えば、全転写物 (全V) 又は V3 のみ] の残留レベルを示し、ここで、1.000 であれば 100% の相対転写物レベル (ノックダウンなし) に相当し、0.000 であれば 0% の相対転写物レベル (例えば、100% のノックダウン) に相当する。

表 15 I. 1～15 M. 3 及び本明細書の様々な他の表では、HPRT1 と比べた C9orf72 転写物レベルを示し、且つレプリケートからのデータを示す。

表 15I.1. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX における全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12441	WV-13803	WV-13804	WV-13805
0.94	0.89	0.70	0.91	0.90
1.02	0.71	0.76	0.71	0.77
0.94	0.77	0.54	0.70	0.72
0.98	0.81	0.60	0.66	0.75
1.09	0.62	0.76	0.66	0.73
1.08	0.75	0.63	0.78	0.68
0.94	0.73	0.39	0.81	0.81
	0.58	0.63	0.57	0.80

表 15I.2. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX における V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12441	WV-13803	WV-13804	WV-13805
1.12	0.75	0.71	1.11	0.86
1.09	0.66	0.78	0.76	0.76
0.99	0.89	0.48	0.85	0.58
0.94	0.77	0.63	0.65	0.76
0.97	0.61	0.77	0.70	0.78
0.94	0.93	0.75	0.89	0.76
0.95	0.83	0.24	0.91	0.87
	0.57	0.56	0.56	0.81

10

20

30

40

表 15I.3. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX におけるイントロン 1 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12441	WV-13803	WV-13804	WV-13805
0.45	0.62	0.86	0.29	0.87
1.54	0.61	0.99	0.40	0.84
0.83	0.35	0.31	0.54	0.70
0.90	0.44	0.55	0.68	0.55
0.82	0.18	0.86	0.73	0.31
1.76	0.64	0.67	0.70	0.75
0.70	0.60	0.32		1.15
	0.55	0.47	0.36	1.20

表 15I.4. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における全 V (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12441	WV-13803	WV-13804	WV-13805
	0.67	0.49	0.63	0.71
0.88	0.99	0.44	0.62	0.60
0.94	0.52	0.53	0.51	0.78
1.03	0.91	0.47	0.85	0.64
1.16	0.78	0.59	0.43	0.99
1.03	0.59	0.47	0.74	0.63
0.96	0.72	0.50	0.79	0.64
	0.43	0.49	0.51	0.82

表 15I.5. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における V3 (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12441	WV-13803	WV-13804	WV-13805
	0.46	0.19	0.40	0.54
0.91	0.58	0.16	0.41	0.45
1.03	0.26	0.18	0.25	0.76
0.96	0.73	0.16	0.24	0.58
1.19	0.54	0.31	0.16	1.21
1.02	0.39	0.21	0.55	0.54
0.89	0.62	0.23	0.39	0.41
	0.19	0.17	0.22	0.61

表 15I.6. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC におけるイントロン 1 (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12441	WV-13803	WV-13804	WV-13805
	0.16	0.11	0.13	0.20
0.67	1.40	0.07	0.22	0.16
1.72	0.22	0.04	0.09	0.64
1.10	0.99	0.06	0.22	0.11
1.58	0.09	0.25	0.17	1.33
0.45	0.27	0.08	0.44	0.15
0.48	0.52	0.12	0.60	0.19
	0.12	0.25	0.12	0.41

表 15J.1. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX における全 V (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12483	WV-13806	WV-13807	WV-13808
0.86	0.84	0.80	0.76	0.90
1.03	0.91	0.92	0.60	0.89
0.93	0.79	0.83	0.77	0.98
1.00	0.74	0.96	0.83	0.76
1.05	0.73	0.68	0.71	0.85
1.15	0.76	0.90	0.85	0.78
	0.75	0.96	0.98	0.82
	0.79	0.79	0.86	0.81

表 15J.2. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX における V3 (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12483	WV-13806	WV-13807	WV-13808
0.98	0.71	0.79	0.88	0.94
1.18	0.95	1.08	0.58	0.77
0.91	0.83	0.78	0.92	0.94
1.03	0.82	1.08	0.82	0.73
1.03	0.80	0.64	0.61	1.08
0.87	1.06	1.08	0.74	1.00
	0.83	1.19	0.94	1.11
	0.89	0.94	0.72	0.78

表 15J.3. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX におけるイントロン 1 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12483	WV-13806	WV-13807	WV-13808
0.46	0.67	1.31	1.04	1.45
1.50	2.15	1.39	0.42	1.40
0.95	1.13	0.75	0.63	1.98
1.24	1.66	1.51	1.33	1.29
0.78	0.88	0.87	0.89	1.58
1.08	0.45	1.16	0.88	0.96
	0.80	0.83	1.56	1.54
	1.37	1.37	0.53	1.49

10

20

30

40

表 15J.4. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC' における全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12483	WV-13806	WV-13807	WV-13808
0.90	1.00	0.83	0.87	0.79
0.99	0.64	0.71	0.70	0.74
1.08	0.68	0.80	0.77	0.73
0.98	0.64	1.13	0.75	0.77
0.99	0.70	0.68	0.67	0.79
1.05	0.72	0.67	0.95	0.68
	0.75	0.68	0.87	0.85
	0.76	0.76	0.79	0.77

表 15J.6. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC' における V3 C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12483	WV-13806	WV-13807	WV-13808
0.95	0.77	0.47	0.87	0.51
1.06	0.49	0.49	0.60	0.54
1.10	0.42	0.51	0.75	0.48
0.91	0.37	0.95	0.80	0.54
0.95	0.48	0.40	0.48	0.76
1.04	0.54	0.40	0.54	0.79
	0.49	0.52	0.53	1.02
	0.56	0.49	0.37	0.79

表 15J.6. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC' におけるイントロン 1 C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-12483	WV-13806	WV-13807	WV-13808
0.97	0.42	0.67	0.50	0.75
1.81	0.32	0.60	0.15	0.75
1.10	0.35	0.74	0.24	0.59
0.94	0.60	1.10	1.14	0.76
0.77	0.57	0.56	0.68	0.59
0.41	0.12	0.72	0.58	0.39
	0.27	0.45	0.58	0.14
	2.11	0.37	0.69	0.67

【 1 1 7 4 】

表 15K. 1 ~ 15 L. 2 は、インビトロでの A L S 運動ニューロンにおける様々な C 9 o r f 7 2 オリゴヌクレオチドの活性を示す。

表 15K.1. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物/H1PRT1 の残留レベル)

WV-13312 (1uM)	0.61	0.69	0.66
WV-13312 (0.2uM)	0.90	0.97	0.92
WV-8007 (1uM)	0.69	0.80	0.71
WV-8007 (0.2uM)	1.05	0.83	0.92
WV-13313 (1uM)	0.68	0.67	0.64
WV-13313 (0.2uM)	0.93	0.89	0.90
WV-8008 (1uM)	0.63	0.76	0.66
WV-8008 (0.2uM)	0.90	0.99	0.98
WV-13305 (1uM)	0.63	0.68	0.71
WV-13305 (0.2uM)	0.72	0.96	0.88
WV-13308 (1uM)	0.60	0.75	0.62
WV-13308 (0.2uM)	0.77	0.79	0.90
WV-13309 (1uM)	0.67	0.63	0.66
WV-13309 (0.2uM)	0.84	0.77	0.79
WV-14552 (1uM)	0.70	0.71	0.65
WV-14552 (0.2uM)	0.79	0.73	0.81
WV-14553 (1uM)	0.79	0.58	0.62
WV-14553 (0.2uM)	0.81	0.83	0.75
WV-14554 (1uM)	0.63	0.64	0.69
WV-14554 (0.2uM)	0.81	0.64	0.63
WV-14555 (1uM)	0.70	0.66	0.62
WV-14555 (0.2uM)	0.65	0.78	0.88
WV-8550 (1uM)	0.81	0.67	0.76
WV-8550 (0.2uM)	0.86	0.75	0.80
水	1.17	1.13	1.02

10

20

30

表 15K.2. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物/HPRT1 の残留レベル)

WV-13312 (1uM)	0.17	0.20	0.21
WV-13312 (0.2uM)	0.56	0.63	0.59
WV-8007 (1uM)	0.42	0.42	0.39
WV-8007 (0.2uM)	0.79	0.76	0.76
WV-13313 (1uM)	0.24	0.25	0.22
WV-13313 (0.2uM)	0.67	0.60	0.64
WV-8008 (1uM)	0.29	0.34	0.30
WV-8008 (0.2uM)	0.64	0.83	0.68
WV-13305 (1uM)	0.23	0.22	0.21
WV-13305 (0.2uM)	0.48	0.65	0.60
WV-13308 (1uM)	0.27	0.31	0.27
WV-13308 (0.2uM)	0.51	0.63	0.68
WV-13309 (1uM)	0.17	0.15	0.12
WV-13309 (0.2uM)	0.52	0.60	0.55
WV-14552 (1uM)	0.28	0.29	0.24
WV-14552 (0.2uM)	0.77	0.73	0.79
WV-14553 (1uM)	0.27	0.20	0.21
WV-14553 (0.2uM)	0.75	0.74	0.58
WV-14554 (1uM)	0.24	0.24	0.31
WV-14554 (0.2uM)	0.64	0.53	0.55
WV-14555 (1uM)	0.19	0.25	0.20
WV-14555 (0.2uM)	0.55	0.55	0.65
WV-8550 (1uM)	0.42	0.38	0.38
WV-8550 (0.2uM)	0.87	0.73	0.76
水	1.19	1.21	1.09

10

【1175】

表 15 L. 1 ~ 15 M. 3 は、様々な C9orf72 オリゴヌクレオチドの活性を示す。c9orf72 オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1 と比べた c9orf72 転写 [例えば、全転写物 (全 V) 又は V3 のみ] の残留レベルを示し、ここで、1.000 であれば 100% の相対転写物レベル (ノックダウンなし) に相当し、0.000 であれば 0% の相対転写物レベル (例えば、100% のノックダウン) に相当する。本表及び他の表において、全ての対照が示されるとは限らない。本表及び様々な他の表において、試験した C9orf72 オリゴヌクレオチドは、塩基配列、フォーマット (例えば、一部が非対称フォーマットを有する)、ヌクレオチド間結合のパターン及び／又はヌクレオチド間結合の立体化学のパターンにおいて違いがある。

20

表 15I.1. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物/HPRT1 の残留レベル)

WV-12441 (10uM)	WV-13803 (10uM)	WV-12483 (10uM)	WV-13806 (10uM)	水
0.47	0.16	0.68	0.79	1.17
0.48	0.14	0.89	0.68	1.13

表 15I.2. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物/HPRT1 の残留レベル)

WV-12441 (10uM)	WV-13803 (10uM)	WV-12483 (10uM)	WV-13806 (10uM)	水
0.14	0.02	0.17	0.11	1.19
0.13	0.02	0.18	0.07	1.21

30

表 15M.1. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (全 V C9orf72 転写物/HPRT1 の残留レベル)

WV-10406	0.25	0.27	0.26
WV-10407	0.30	0.31	0.30
WV-10408	0.20	0.21	0.23
WV-10409	0.30	0.31	0.28
WV-10410	0.30	0.36	0.29
WV-10411	0.38	0.33	0.32
WV-10412	0.37	0.41	0.40
WV-10413	0.49	0.43	0.46
WV-10414	0.34	0.36	0.44
WV-10415	0.16	0.24	0.23
WV-10416	0.24	0.24	0.21
WV-8550	0.17	0.18	0.20
WV-10417	0.31	0.48	0.41
WV-10418	0.20	0.28	0.24
WV-10419	0.31	0.42	0.33
WV-10420	0.45	0.52	0.55
WV-10421	0.45	0.66	0.54
WV-10422	0.49	0.44	0.58
WV-10423	0.57	0.60	0.48
WV-10424	0.71	0.74	0.81
WV-10425	0.56	0.34	0.40
WV-9491	0.98	1.11	1.32
WV-5662	0.05	0.05	0.06
WV-10426	0.53		1.00

40

表 15M.2. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (V3 C9orf72 転写物/HPRT1 の残留レベル)

WV-10406	0.62	0.60	0.62
WV-10407	0.60	0.60	0.67
WV-10408	0.57	0.54	0.60
WV-10409	0.57	0.63	0.52
WV-10410	0.59	0.58	0.52
WV-10411	0.68	0.58	0.56
WV-10412	0.67	0.75	0.67
WV-10413	0.73	0.68	0.67
WV-10414	0.68	0.60	0.66
WV-10415	0.57	0.56	0.58
WV-10416	0.64	0.67	0.61
WV-8550	0.56	0.60	0.62
WV-10417	0.62	0.62	0.60
WV-10418	0.49	0.54	0.58
WV-10419	0.48	0.47	0.44
WV-10420	0.56	0.50	0.53
WV-10421	0.57	0.56	0.60
WV-10422	0.56	0.61	0.59
WV-10423	0.63	0.58	0.59
WV-10424	0.81	0.79	0.76
WV-10425	0.77	0.73	0.76
WV-9491	1.04	1.08	1.05
WV-3662	0.08	0.07	0.08
WV-10426	0.87	0.72	0.97

10

表 15M.3. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (イントロン/AS C9orf72 転写物/HPRT1 の残留レベル)

WV-10406	0.39	0.56	0.67
WV-10407	0.57	0.54	0.66
WV-10408	0.65	0.57	0.74
WV-10409	0.39	0.77	0.72
WV-10410	0.55	0.64	0.63
WV-10411	0.77	0.74	0.66
WV-10412	0.50	0.71	0.64
WV-10413	0.71	0.64	0.74
WV-10414	0.72	0.75	0.73
WV-10415	0.40	0.49	0.66
WV-10416	0.60	0.54	0.53
WV-8550	0.45	0.44	0.49
WV-10417	0.26	0.62	0.67
WV-10418	0.44	0.63	0.59
WV-10419	0.59	0.65	0.60
WV-10420	0.65	0.66	0.73
WV-10421	0.48	0.59	0.62
WV-10422	0.52	0.22	0.74
WV-10423	0.73	0.50	0.52
WV-10424	0.40	0.47	0.65
WV-10425	0.52	0.28	0.40
WV-9491	0.64	0.81	1.03
WV-3662	0.53	0.48	0.73
WV-10426	1.85		1.47

20

【1176】

30

表 16. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性

表 16A~表 16Hでは、c9 BACマウスにおいて様々なS及びAS（センス及びアンチセンス）c9orf72オリゴヌクレオチドの組み合わせを試験した；マウスに2用量のc9orf72オリゴヌクレオチドを1週間空けてICV投与し、2回目の用量の1週間後に組織を採取した。WV-7117は各50μgの2用量を投与した；WV-5987は各50μgの2用量を投与した；WV-5987は各100μgの2用量を投与した；及びWV-7117（50μg）とWV-5987（50μg）との組み合わせは2用量を投与した。表 16A~表 16Hには、c9orf72オリゴヌクレオチドによる処理後の、HPRT1と比べたc9orf72転写物の残留レベルが示され、ここで、1.000であれば100%の相対転写物レベル（ノックダウンなし）に相当し、0.000であれば0%の相対転写物レベル（例えば、100%のノックダウン）に相当する。レプリケート実験の結果を示す。評価した組織：SC、脊髄；及びCX、大脳皮質。

40

表 16A. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CXにおける全 V C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-7117(50ug)	WV-5987(50ug)	WV-5987(100ug)	WV-7117-WV-5987(50ug)
1.111	0.490	1.233	1.001	0.433
1.134	0.451	1.058	1.358	0.608
1.158	0.642	1.312	1.921	0.427
1.103	0.548		2.716	0.439
1.001	0.395	1.073	1.466	0.769
0.836	0.326	1.036	1.436	0.689
0.866	0.290	1.377	1.103	0.390
0.791	0.497	1.780		0.445

50

表 16B. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX における V3 (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-7117(50ug)	WV-5987(50ug)	WV-5987(100ug)	WV-7117+WV-5987(50ug)
1.155	0.510	0.978	0.971	0.546
1.131	0.417	1.055	1.027	0.650
0.999	0.711	1.070	1.308	0.450
1.147	0.450		1.600	0.506
0.881	0.363	0.840	0.985	0.636
1.027	0.327	0.800	1.108	0.985
0.888	0.318	1.273	1.131	0.339
0.773	0.489	1.318		0.506

表 16C. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (CX におけるイントロン/AS (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-7117(50ug)	WV-5987(50ug)	WV-5987(100ug)	WV-7117+WV-5987(50ug)
0.178	0.799	1.203	2.080	0.649
1.019	0.307	1.849	3.964	0.828
0.696	0.350	1.523	5.303	0.203
0.517	0.042		4.104	0.550
2.214	0.189	1.667	3.242	1.019
0.887	0.108	1.092	3.829	0.408
1.471	0.293	0.428	1.811	2.184
1.019	0.706	1.115		1.187

10

表 16D. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における全 V (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-7117(50ug)	WV-5987(50ug)	WV-5987(100ug)	WV-7117+WV-5987(50ug)
0.955	0.256	0.916	1.082	0.324
1.017	0.226	0.989	0.929	0.251
1.128	0.201	0.989	1.144	0.244
0.962	0.340		0.942	0.260
1.038	0.370	0.929	1.168	0.355
0.975	0.234	0.982	1.168	0.237
0.982	0.214	0.955	1.053	0.237
0.942	0.221	0.975		0.236

20

表 16E. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における V3 (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-7117(50ug)	WV-5987(50ug)	WV-5987(100ug)	WV-7117+WV-5987(50ug)
0.924	0.213	1.047	0.998	0.262
1.040	0.155	1.069	0.950	0.248
0.984	0.121	1.004	1.335	0.196
0.905	0.234		0.931	0.175
1.033	0.244	0.924	1.325	0.248
1.069	0.136	0.931	1.211	0.180
1.047	0.154	0.937	1.092	0.146
0.998	0.130	1.047		0.163

表 16F. 様々な c9orf72 オリゴヌクレオチドの活性 (SC における AS (C9orf72 転写物の残留レベル)

PBS	WV-7117(50ug)	WV-5987(50ug)	WV-5987(100ug)	WV-7117+WV-5987(50ug)
0.484	0.209	1.023	1.159	0.286
0.604	0.223	0.968	0.878	0.168
1.059	0.125	0.734	0.981	0.399
0.734	0.078		1.104	0.209
1.662	0.229	0.728	0.935	0.078
1.192	0.254	0.885	1.508	0.106
1.242	0.377	0.854	1.870	0.232
1.023	0.224	0.670		0.315

30

【1177】

実施例 10。

様々なオリゴヌクレオチドの活性

異なる遺伝子標的、Mallat1を標的とするオリゴヌクレオチドにおいて、C9orf72オリゴヌクレオチドの構築に使用することのできる様々な追加の化学的部分の有効性を試験した。データは図7A～図7Dに提供し、且つ本明細書に記載する。

40

【1178】

一本鎖Mallat1オリゴヌクレオチドWV-3174を様々なコンジュゲート (Mod027、Mod028又はMod007) の何れかとコンジュゲートして、以下の表17に詳説し且つ実施例1に図表を掲載するWV-7558、WV-7559及びWV-7560を作製した。WV-3174は、その塩基配列が、ヒト、イヌ (Canis lupus familiaris) (mm10)、マウス (Mus musculus) (mm10)、ラット (Rattus norvegicus) (m6) 及びサル (Macaca mulatta) (rheMac8) 及びマカカ・ファシク

50

ラリス (Macaca fascicularis) (macFas5) における対応する配列とミスマッチを有しないため、異種間オリゴヌクレオチドである。

【1179】

以下の表17は、一部のMalat1オリゴヌクレオチドに関する情報を提供する。表17にはWV-8448が含まれ、これについては本明細書の他の部分に記載される。

名称	塩基配列	塩基配列	立体化学
WV-3174	5'-TGAATGAGGCTGGTTATGACG-3'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
WV-7558	5'-TGAATGAGGCTGGTTATGACG-3'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
WV-7559	5'-TGAATGAGGCTGGTTATGACG-3'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
WV-7560	5'-TGAATGAGGCTGGTTATGACG-3'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
WV-8448	5'-TGAATGAGGCTGGTTATGACG-3'	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	

表17. Malat1オリゴヌクレオチド

10

20

【1180】

これらの実験は、スルホンアミド又はアニスアミドをコンジュゲートしたWV-3174によるより大きい体内分布及びより大きいノックダウンを実証する。試験した動物：雄C57BL/6マウス、10～12週齢、5群、50匹のマウス。ICVカニューレ留置を実施した。フェーズ1：N=10；PBS、50、100、150又は250mg ICVのICV注射（2匹のマウス／群）、2日間臨床観察。フェーズ2：N=40；覚醒動物において1日目にPBS又はオリゴヌクレオチドのICV注射。注射7日後に剖検。剖検：PBSで全身灌流。手順：腰髄（PD）を解剖し、胸髄／頸髄をホルマリン中に置く（組織学）；一方の脳半球（皮質、海馬、線条体、小脳）を解剖し、急速凍結する（曝露／転写物）。第2の脳半球はホルマリンに後固定し、凍結保護処理し、急速凍結する（Malat1 KD／オリゴヌクレオチド視覚化）。

【1181】

フェーズ2のパラメータは以下の通りであった：

表18. フェーズ2 Malat1 動物試験のパラメータ

群	被験物質	用量	投与レジメン	投与容積	マウスの数
1	PBS	NA	ICV	2.5 ml	8
2	WV-3174	50 mg	ICV	2.5 ml	8
3	WV-7558	50 mg	ICV	2.5 ml	8
4	WV-7559	50 mg	ICV	2.5 ml	8
5	WV-7560	50 mg	ICV	ml	8

40

【1182】

図7B～図7Dは、脊髄におけるMALAT1ノックダウンを示す。三分岐アニスアミドをコンジュゲートしたMalat1オリゴヌクレオチド（WV-3174）は、Malat1の有意なノックダウンを示す（約70%）。三分岐アニスアミドをコンジュゲート

50

したMalat1オリゴヌクレオチド(WV-3174)は、脊髄における有意な蓄積も示す。

【1183】

図7E、図7F及び図7Gは、皮質におけるMALAT1ノックダウンを示す。三分岐アニスアミドをコンジュゲートしたMalat1オリゴヌクレオチド(WV-3174)は、Malat1のノックダウンを示す(約34%)。三分岐アニスアミドをコンジュゲートしたMalat1オリゴヌクレオチド(WV-3174)は、皮質におけるより高い蓄積も示す。

【1184】

実施例11。

C9orf72オリゴヌクレオチドがC9-BACマウスにおいてインビボでC9orf72転写物に及ぼす効果

薬力学試験を実施して、C9orf72オリゴヌクレオチドがC9-BACマウスにおいてC9orf72転写物のノックダウンに及ぼす効果を比較した。

【1185】

試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照はPBS(リン酸緩衝生理食塩水)及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。

【1186】

使用した動物：雄及び雌C9-BACマウス、12週齢、7群、50匹のマウス。

【1187】

ICVカニューレ留置を実施した。覚醒動物において1日目にPBS又は50µgのオリゴヌクレオチドのICV注射。8日目にPBS又は50µgのオリゴヌクレオチドの2回目の投与。投与容積、2.5µl。1回目の注射の2週間後に剖検。

【1188】

剖検：PBSで全身灌流。腰髄(PD)を解剖し、胸髄/頸髄をホルマリン中に置く(組織学)；一方の脳半球(皮質、海馬、線条体、小脳)を解剖し、急速凍結する(曝露/転写物)。第2の脳半球はホルマリンに後固定し、凍結保護処理し、急速凍結する(RNAフォーカス/オリゴヌクレオチドの視覚化)。

【1189】

結果は図8A～図8Hに示す。

【1190】

転写物は大脳皮質(図8A～図8D)及び脊髄(図8E～図8H)から分析した。分析した転写物は、全転写物(図8A及び図8E)；V3(図8B及び図8F)；V3(エクソン1a)(図8C及び図8G)；及びイントロン1/AS(図8D及び図8H)であった。

【1191】

幾つかのC9orf72オリゴヌクレオチドは、C9-BACマウスの皮質及び脊髄におけるV3を含めたC9orf72転写物をノックダウンする能力を有することが示された。

【1192】

実施例12。

C9-BACマウスの脊髄及び大脳皮質におけるインビボでのC9orf72オリゴヌクレオチドの分布

薬物動態試験を実施して、C9-BACマウスの脊髄及び大脳皮質におけるインビボでのC9orf72オリゴヌクレオチドの分布を調べた。

【1193】

試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照はPBS(リン酸緩衝生理食塩水)及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。

10

20

30

40

50

【1194】

結果は図9A（脊髄）及び図9B（大脳皮質）に示す。赤色は検量線範囲外の点を示す。

【1195】

幾つかのC9orf72オリゴヌクレオチドは、脊髄及び皮質に有意な蓄積を示した。

【1196】

実施例13。

C9orf72オリゴヌクレオチドがC9-BACマウスの海馬においてインビボでポリGPレベルに及ぼす効果

C9orf72オリゴヌクレオチドがC9-BACマウスの海馬においてインビボでポリGP（ジペプチドリピータンパク質）レベルに及ぼす効果を判定する試験を実施した。

【1197】

試験したC9orf72オリゴヌクレオチドは、WV-6408、WV-8009、WV-8010、WV-8011及びWV-8012であった。陰性対照はPBS（リン酸緩衝生理食塩水）及びC9orf72を標的としないWV-2376であった。WTは対照である。

【1198】

方法：

組織をRIPA緩衝液中でホモジナイズし、遠心によって清澄化した。Pierceタンパク質660nmアッセイ（ThermoFisher、Waltham、Ma. からカタログ番号22660として入手可能な試薬）によってライセート濃度を決定し、RIPA溶解及び抽出緩衝液（ThermoFisher、Waltham、Ma. からカタログ番号89900として入手可能な試薬）で正規化した。MSD 96ウェルSmall Spot 標準プレートに抗ポリGP（Millipore ABN1358、Millipore Sigma、Billerica、Ma. から入手可能）を4℃で一晩コーティングし、PBSTで洗浄し、10%ウシ胎仔血清を含有するPBSでブロックした。ライセート試料をPBS/10%FBSで1:4希釈し、75ug/ウェルでロードし、室温でインキュベートした。検量線は、野生型マウス脳RIPAライセート中に希釈したアフィニティー精製Flag-ポリGP（GenScript、Piscataway、New Jersey）で構成された。検出は、Sulfo-tagをコンジュゲートした抗ポリGPで実施し、MSD QuickPlex SQ 120（Meso Scale Diagnostics、Rockville、Maryland）機器において界面活性剤を含むMSD読み取り緩衝液Tで読み取った。

【1199】

図10に示すデータは、野生型マウス脳ライセートで希釈したGenScript Flag-ポリGPの検量線から定量化した。

【1200】

データは、C9orf72オリゴヌクレオチドがC9-BACマウスの海馬におけるポリGP（ジペプチドリピータンパク質）のレベルを低下させる能力を有したことを示している。

【1201】

実施例14。

更なるプロトコル

更なる実験プロトコルを以下に提示する。標的核酸を検出するためのハイブリダイゼーションアッセイの非限定的な例が本明細書に記載される。かかるアッセイは、C9orf72オリゴヌクレオチド又はC9orf72でない標的を含め、任意の標的に対する任意の他の核酸又はオリゴヌクレオチドの検出及び/又は定量化に用いることができる。

【1202】

薬物動態試験：

10

20

30

40

50

オリゴヌクレオチド定量化及び転写物定量化のための組織調製：

組織を解剖し、予め秤量したエッペンドルフ試験管に新鮮凍結した。試験管を再秤量することにより組織重量を計算した。4容量のTrizol又は溶解緩衝液（4Mグアニジン；0.33%N-ラウリルサルコシン；25mMクエン酸ナトリウム；10mM DTT）を1単位重量に加えた（組織1mgにつき4μlの緩衝液）。Precellys Evolution組織ホモジナイザー（Bertin Technologies、Montigny-le-Bretonneux、France）により、全ての組織片が溶解するまで4℃で組織溶解を行った。30～50μlの組織ライセートをPK測定のために96ウェルプレートに取っておき、残りのライセートを-80℃で保存するか（それが溶解緩衝液中にある場合）又はRNA抽出を続けた（それがTrizol緩衝液中にある場合）。

転写物定量化：

ハイブリダイゼーションプローブ（IDT-DNA）

捕捉プローブ：「C9-イントロン-Cap」/5AmMC12/TGGCGAGTGG

検出プローブ：「C9-イントロン-Det」：GTGAGTGAAG/3BioTEG

5AmC12は、C₁₂リンカー付きの5'-アミンである。

3BioTEGは、ビオチン化プローブである。

【1203】

無水マレイン酸活性化96ウェルプレート（Pierce 15110）に2.5%NaHCO₃（Gibco、25080-094）中500nMの捕捉プローブ50μlを37℃で2時間コーティングした。次に、プレートをPBST（PBS+0.1%Tween-20）で3回洗浄し、5%無脂肪乳-PBSTによって37℃で1時間ブロックした。ペイロードオリゴヌクレオチドをマトリックスに段階希釈した。この標準を元の試料と共に、全ての試料中のオリゴヌクレオチド量が50ng/ml未満になるように溶解緩衝液（4Mグアニジン；0.33%N-ラウリルサルコシン；25mMクエン酸ナトリウム；10mM DTT）で希釈した。20μlの希釈試料と、PBSTで希釈した180μlの333nM検出プローブとを混合し、次にPCR機で変性させた（65℃、10分、95℃、15分、4℃∞）。ブロックしたELISAプレートに50μlの変性試料をトリプリケートで分配し、4℃で一晩インキュベートした。3回のPBST洗浄後、PBST中の1:2000ストレプトアビジン-AP（SouthernBiotech、7100-04）、50μl/ウェルを加え、室温で1時間インキュベートした。大量のPBSTで洗浄した後、100μlのAttoPhos（Promega S1000）を加え、暗所下室温で10分間インキュベートし、プレートリーダー（Molecular Device、M5）蛍光チャンネル：Ex435nm、Em555nmで読み取った。検量線に従って4パラメータ回帰によって試料中のオリゴヌクレオチドを計算した。

【1204】

GGGGCC及びGGCCCC RNAフォーカスのFISHプロトコル

固定：

スライドを室温で30分間乾燥させ、次に4%PFAで20分間固定した。固定後、スライドをPBSで3回洗浄し、次に予め冷却した70%エタノールに4℃で少なくとも30分間保存した。

【1205】

プレハイブリダイゼーション：

スライドをFISH洗浄緩衝液（40%ホルムアミド、DEPC水中2×SSC）で10分間再水和した。スライドにハイブリダイゼーション緩衝液（40%ホルムアミド、2×SSC、0.1mg/ml BSA、0.1g/ml 硫酸デキストラン、1%硫酸バナジル錯体、DEPC水中0.25mg/ml tRNA）を加え、55℃で30分間インキュベートした。

【1206】

10

20

30

40

50

プローブの調製：

Cy3-(GGCCCC)3(センスリピート伸長を検出する)及びCy3-(GGGGCC)3(アンチセンスリピート伸長を検出する)プローブを95℃で10分間変性させた。氷上で冷却した後、プローブを冷ハイブリダイゼーション緩衝液で200ng/mlに希釈した。

【1207】

ハイブリダイゼーション：

スライドをFISH洗浄緩衝液で軽く洗浄し、希釈したプローブをスライドに加えた。スライドをハイブリダイゼーションオープンにおいて55℃で3時間インキュベートした。ハイブリダイゼーション後、スライドをFISH洗浄緩衝液によって55℃で3回、10

【1208】

神経核免疫蛍光染色：

スライドをブロッキング溶液(PBS中2%正常ヤギ血清)で1時間ブロックした。抗NeuN抗体(MAB377、Millipore)をブロッキング溶液に1:500希釈し、スライドに4℃で一晩適用した。次に、スライドをPBSで3回洗浄し、Alexa Fluor 488(Life technology)を含む1:500希釈ヤギ抗マウス二次抗体と共に室温で1時間インキュベートした。次に、スライドをPBSで3回洗浄した。最後に、イメージングのためサイドをDAPIでマウントした。

【1209】

イメージング及びフォーカス定量化：

RPI回転ディスク共焦点顕微鏡(Zeiss)によって40倍の倍率で画像を撮った。488、CY3及びDAPIチャンネルを収集した。ImageJソフトウェア(NIH)でRNAフォーカスを定量化した。

【1210】

本明細書には様々な実施形態が記載及び例示されているが、当業者は、本開示に記載される機能を果たし、且つ／又は結果及び／若しくは利点の1つ以上を達成するための種々の他の手段及び／又は構造を容易に想定することができ、かかる変形形態及び／又は改良形態の各々は、包含されると見なされる。より一般的には、当業者は、本明細書に記載される全てのパラメータ、寸法、材料及び構成が例示であると意図され、且つ実際のパラメータ、寸法、材料及び／又は構成は、本開示の教示が用いられる具体的な1つ又は複数の適用に依存し得ることを容易に理解するであろう。当業者は、本開示に記載される本開示の具体的な実施形態の均等物を多く認識するか、又はルーチンに過ぎない実験を用いて確認することが可能であろう。従って、前述の実施形態は、単に例として提示されており、添付の特許請求の範囲及びその均等物の範囲内において、特許請求される技術は、具体的に記載され且つ特許請求されているものと別様に実施され得ることが理解されなければならない。加えて、2つ以上の特徴、システム、論文、材料、キット及び／又は方法の任意の組み合わせは、かかる特徴、システム、論文、材料、キット及び／又は方法が互いに矛盾しない場合、本開示の範囲内に包含される。

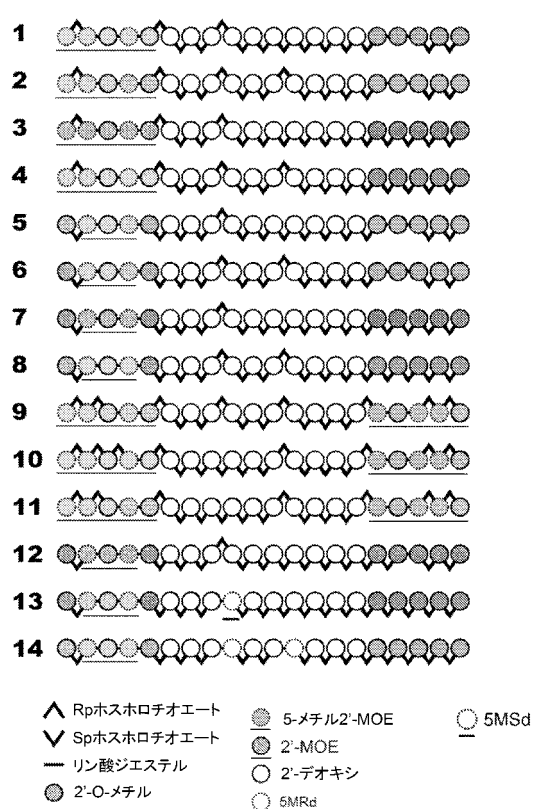
10

20

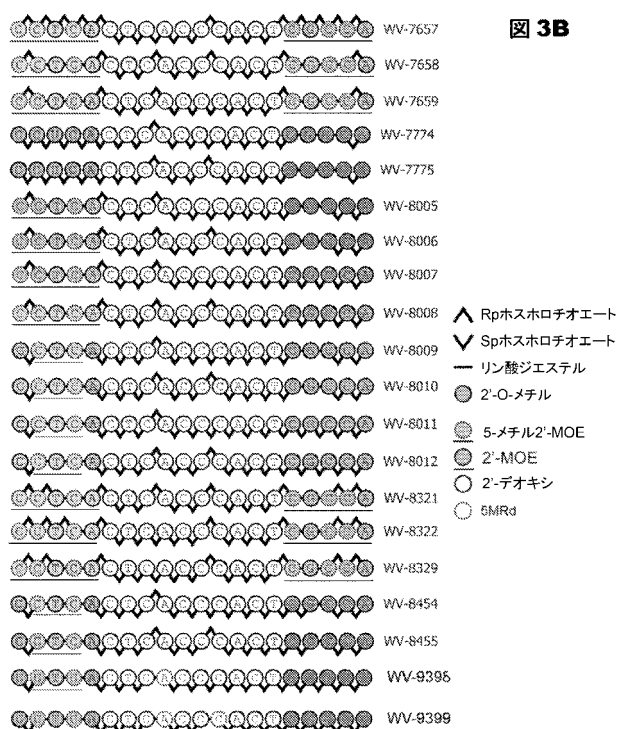
30

40

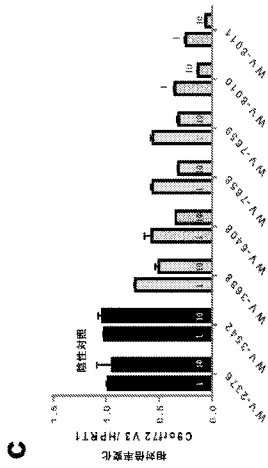
【图 2】



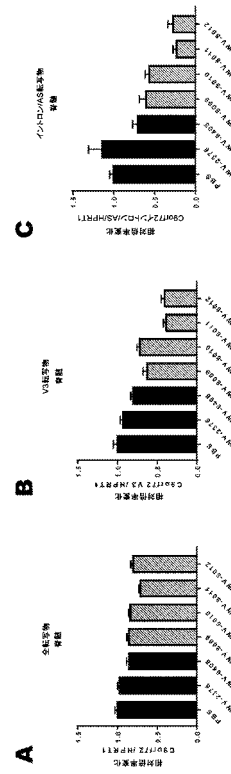
【図 3 B】



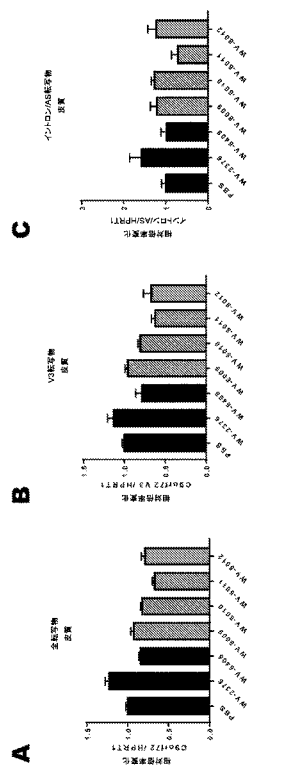
【図 4】



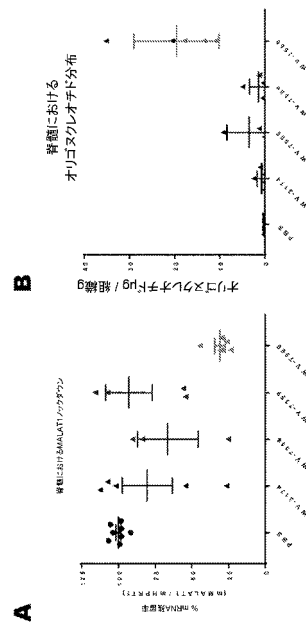
【 図 5 】



【 図 6 】

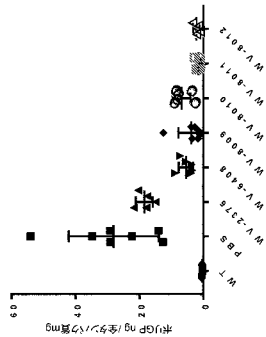


【図 7 - 1】



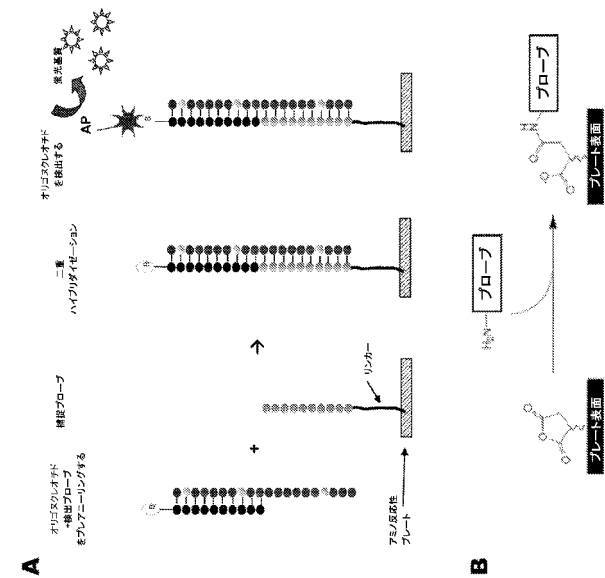
【図 1 0】

図 10



【図 1 1】

図 11



【配列表】

2020534253000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US18/45653

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - A61K 31/7115, 31/712, 31/7125, 48/00; C07H 21/02, 21/04; C12N 15/11, 15/113 (2018.01) CPC - A61K 31/7115, 31/712, 31/7125, 48/005; C07H 21/02, 21/04; C12N 15/11, 15/113		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2017/079291 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS, INC., et al.) 11 May 2017; page 2, lines 32-38; page 3, lines 1-8, lines 34-36; page 8, lines 12-13; page 9, lines 20-21; page 14, lines 1-8; page 16, lines 16-31; page 17, lines 5-11; page 50, lines 33-34; Figure 1A; page 2, lines 35-38; page 17, lines 4-7	1-2, 4-5 3, 6/1-5, 12-14, 15/13-14, 16/13-14, 19/13-14
Y	(DEJESUS-HERNANDES, M et al.) Expanded GGGGCC Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of C9ORF72 Causes Chromosome 9p-Linked FTD and ALS. Neuron, 20 October 2011, Epub 21 September 2011, Vol. 72, No. 2; pages 245-256; abstract; page 247, 1st column, 1st paragraph; DOI: 10.1016/j.neuron.2011.09.011	3, 6/3
Y	WO 2017/062862 A2 (WAVE LIFE SCIENCES LTD.) 13 April 2017; abstract; paragraphs [0003], [0009], [0014], [0030], [0047], [0048], [0054], [0064], [0067], [00308], [00313], [00315], [00490], [00563], [00572], [00626]	6/1-5, 12-14, 15/13-14, 16/13-14, 19/13-14
A	US 2015/0267197 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC., et al.) 24 September 2015; paragraph [0320]	42
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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 31 October 2018 (31.10.2018)		Date of mailing of the international search report 17 DEC 2018
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US18/45653

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 17, 20-41, 43, 44, 48-61
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-Please See Supplemental Page-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1-16, 18, 19, 42, 45-47; WV-8009 (oligonucleotide)

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/US18/45653

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

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

Groups I+, Claims 1-16, 18, 19, 42, 45-47, and WV-8009 (oligonucleotide) are directed toward compositions comprising an oligonucleotide.

The compositions will be searched to the extent they encompass WV-8009 (first exemplary oligonucleotide). Applicant is invited to elect additional oligonucleotide(s), with specified ID for each, to be searched. Additional oligonucleotide ID(s), will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-4, 5 (in-part), 6 (in-part), 12-16, 19, and 42 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass WV-8009 (oligonucleotide). Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected oligonucleotide ID(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be WV-8010 (oligonucleotide).

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

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: a composition comprising oligonucleotides of a particular oligonucleotide type characterized by: a) a common base sequence; b) a common pattern of backbone linkages; c) a common pattern of backbone chiral centers; which composition is chirally controlled in that it is enriched, relative to a substantially racemic preparation of oligonucleotides having the same common base sequence, for oligonucleotides of the particular oligonucleotide type; and wherein the oligonucleotide targets C9orf72; and an oligonucleotide comprising a wing-core-wing structure, or a wing-core structure, or a core-wing structure, wherein the core comprises a pattern of backbone chiral centers (linkage phosphorus) of: (Np)l((Op/Rp)n(Sp)m)y; wherein: l is 1-50; n is 1-10; m is 1-50; y is 1-10; Np is either Rp or Sp; Sp indicates the S configuration of a chiral linkage phosphorus of a chiral modified internucleotide linkage; Op indicates an achiral linkage phosphorus of a natural phosphate linkage; and Rp indicates the S configuration of a chiral linkage phosphorus of a chiral modified internucleotide linkage; y is 1-10; each wing independently comprises one or more nucleobases; and wherein the base sequence of the oligonucleotide comprises at least 15-25 contiguous bases of a base sequence that is identical with or complementary to a base sequence of a C9orf72 gene or a transcript thereof; these shared technical features are previously disclosed by WO 2017/062862 A2 to Wave Life Sciences Ltd. (hereinafter "Wave") in view of WO 2017/079291 A1 to Ionis Pharmaceuticals, Inc. et al. (hereinafter "Ionis").

Wave discloses a composition comprising oligonucleotides (a composition comprising oligonucleotides; paragraphs [0009], [0048]) of a particular oligonucleotide type (of a particular oligonucleotide type; paragraph [0048]) characterized by: a) a common base sequence (characterized by a common base sequence; paragraphs [0009], [0048]); b) a common pattern of backbone linkages (a common pattern of backbone linkages; paragraph [0048]); c) a common pattern of backbone chiral centers (common stereochemistry (a common pattern of backbone chiral centers); paragraphs [0009], [0048]); which composition is chirally controlled in that it is enriched, relative to a substantially racemic preparation of oligonucleotides having the same common base sequence (which composition is chirally controlled in that it is enriched, relative to a substantially racemic preparation of oligonucleotides having the same common base sequence; paragraph [0048]), for oligonucleotides of the particular oligonucleotide type (for oligonucleotides of the particular oligonucleotide type; paragraph [0048]); and wherein the oligonucleotide targets C9orf72 (wherein the oligonucleotide targets, among a list of targets, C9orf72; paragraph [00308]); and an oligonucleotide comprising a wing-core-wing structure (an oligonucleotide comprising a wing-core-wing structure; paragraphs [0009], [0037]), wherein the core comprises a pattern of backbone chiral centers (linkage phosphorus) of: (Np)l((Op/Rp)n(Sp)m)y (wherein the core comprises a pattern of backbone chiral centers (linkage phosphorus) of: (Np)l((Op/Rp)n(Sp)m)y); paragraphs [0026], [0067]) wherein: l is 1-50 (wherein l is 1-50; paragraphs [00315], [00562]); n is 1-10 (n is 1-10; paragraphs [00315], [00561]); m is 1-50 (m is 1-50; paragraph [00315]); Np is either Rp or Sp (Np is either Rp or Sp; paragraph [00563]); Sp indicates the S configuration of a chiral linkage phosphorus of a chiral modified internucleotide linkage (Sp indicates the S configuration of a chiral linkage phosphorus of a chiral modified internucleotide linkage; paragraph [00626]); and Rp indicates the R configuration of a chiral linkage phosphorus of a chiral modified internucleotide linkage (Rp indicates the R configuration of a chiral linkage phosphorus of a chiral modified internucleotide linkage; paragraph [00626]); each wing independently comprises one or more nucleobases (each wing independently comprises one or more nucleobases; paragraphs [0009], [0038]); and wherein the base sequence of the oligonucleotide comprises at least 15-25 contiguous bases of a base sequence that is identical with or complementary to a base sequence of a C9orf72 gene or a transcript thereof (including, amongst other targets, a C9orf72 gene or a transcript thereof; paragraph [00308]).

Wave does not disclose wherein y is 1-10; and a specific embodiment targeting a C9orf72 gene or a transcript thereof.

Ionis discloses compounds comprising modified oligonucleotides complementary to a C9orf72 transcript (compounds comprising modified oligonucleotides complementary to a C9orf72 transcript; page 1, lines 32-33), for treatment of a neurodegenerative disease (for treatment of a neurodegenerative disease; page 14, lines 4-5).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time of the invention was made to have modified the disclosure of Wave to have determined an appropriate value for the number of repeats, y, given the length of the repeats, the length of the wings disclosed by Wave, and the overall length of the oligonucleotide, as disclosed by Wave. It further would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time of the invention was made to have modified the disclosure of Wave to have provided modified oligonucleotides complementary to a C9orf72 transcript, as disclosed by Ionis, with controlled and enriched chirality, as disclosed by Wave, in order to provide more effective treatment for a neurodegenerative disease, as disclosed by Ionis.

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Wave and Ionis references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 31/712 (2006.01)	A 6 1 K 31/712	
A 6 1 K 31/7125 (2006.01)	A 6 1 K 31/7125	
A 6 1 K 31/7115 (2006.01)	A 6 1 K 31/7115	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

- (72)発明者 リュウ, ユアンジン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 バーギーズ, チャンドラ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 チョン, チョン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 イワモト, ナオキ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 チャン, ジェイソン ジンシン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 カンダサミ, パチャムトゥ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 ディバカラメノン, セートゥマドハヴァン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 ルー, ゲンリャン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド
- (72)発明者 マラッパン, スブラマニアン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコードアヴェニュー 7
3 3, シー/オー ウェーブ ライフ サイエンシズ リミテッド

Fターム(参考) 4C057 AA18 BB05 CC01 DD03 MM04

4C084 AA13 NA14 ZA021 ZA022 ZA151 ZA152 ZA161 ZA162 ZA941 ZA942

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94