(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6453212号
(P6453212)
(45)発行日　平成31年1月16日(2019.1.16)　(24)登録日　平成30年12月21日(2018.12.21)

(51)Int.Cl.		F I		
C07H 21/00	(2006.01)	C07H	21/00	CSP
C07H 1/00	(2006.01)	C07H	21/00	ZNA
A61K 48/00	(2006.01)	C07H	1/00	
C12N 15/00	(2006.01)	A61K	48/00	
A61K 31/7088	(2006.01)	C12N	15/00	

請求項の数 19　(全 608 頁)　最終頁に続く

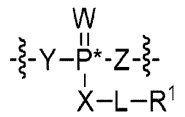
(21)出願番号　特願2015-521874 (P2015-521874)
(86)(22)出願日　平成25年7月12日 (2013.7.12)
(65)公表番号　特表2015-528002 (P2015-528002A)
(43)公表日　平成27年9月24日 (2015.9.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2013/050407
(87)国際公開番号　WO2014/012081
(87)国際公開日　平成26年1月16日 (2014.1.16)
審査請求日　平成28年7月7日 (2016.7.7)
(31)優先権主張番号　61/671,655
(32)優先日　平成24年7月13日 (2012.7.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/671,656
(32)優先日　平成24年7月13日 (2012.7.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(73)特許権者　516212924
ウェイブ　ライフ　サイエンシズ　リミテッド
WAVE　LIFE　SCIENCES　LTD.
シンガポール　０１８９３６　シンガポール，＃１２－００　マリナ　ワン　イースト　タワー，７　ストライツ　ビュー
(74)代理人　100116850
弁理士　廣瀬　隆行
(74)代理人　100165847
弁理士　関　大祐

最終頁に続く

(54)【発明の名称】キラル制御

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
独立して、式Ｉ：
【化１】



(I)

（Ｉ）
の構造を有する少なくとも５つの連続した修飾ヌクレオチド間結合を含み、前記連続した修飾ヌクレオチド間結合の少なくとも１つがホスホロチオエートジエステル結合でない、キラル制御されたオリゴヌクレオチドであって、
式中：
Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐであり；
Ｗは、Ｏ、ＳまたはＳｅであり；
Ｘ、ＹおよびＺの各々は、独立して、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（－Ｌ－Ｒ１）－、またはＬであり；
Ｌは、共有結合または置換されていてもよい直鎖もしくは分岐鎖Ｃ１～Ｃ５０アルキレンであり、Ｌの１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいＣ

$_1$～C$_6$アルキレン、C$_1$～C$_6$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）$_2$N（R’）－、－N（R’）S（O）$_2$－、－SC（O）－、－C（O）S－、－OC（O）－、または－C（O）O－により置換されており；

R^{1}は、ハロゲン、R、または置換されていてもよいC$_1$～C$_{10}$脂肪族であって、１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいC$_1$～C$_6$アルキレン、C$_1$～C$_6$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）$_2$N（R’）－、－N（R’）S（O）$_2$－、－SC（O）－、－C（O）S－、－OC（O）－、または－C（O）O－により置換されており；

各R’は、独立して、－R、－C（O）R、－CO$_2$R、もしくは－SO$_2$Rであるか、または：

同じ窒素上の２つのR’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよい複素環もしくはヘテロアリール環を形成するか、または

同じ炭素上の２つのR’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環、複素環、もしく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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい二価環であり；

各Rは、独立して、水素、またはC$_1$～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、もしくはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および

各

【化２】

は、独立して、ヌクレオシドへの結合を表し、

前記オリゴヌクレオチドが、１つ以上のリン酸ジエステル結合をさらに含む、

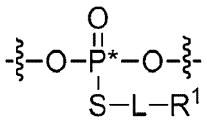
オリゴヌクレオチド。

【請求項２】

請求項１に記載のキラル制御されたオリゴヌクレオチドであって、

独立して、式Ｉ－ｃ：

【化３】



(I-c)

（Ｉｃ）

の構造を有する少なくとも５つの連続した修飾ヌクレオチド間結合を含む、キラル制御されたオリゴヌクレオチドであって、

式中：

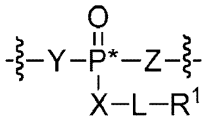
Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐであり；

Ｌは、共有結合または置換されていてもよい直鎖もしくは分岐鎖C$_1$～C$_{10}$アルキレンであり、Ｌの１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいC$_1$～C$_6$アルキレン、C$_1$～C$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により置換されており；
Ｒ^{1}は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_{50}$脂肪族であって、１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により置換されており；
各Ｒ’は、独立して、－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、もしくは－ＳＯ$_2$Ｒであるか、または：
同じ窒素上の２つのＲ’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよい複素環もしくはヘテロアリール環を形成するか、または
同じ炭素上の２つのＲ’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環、複素環、もしく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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい二価環であり；
各Ｒは、独立して、水素、またはＣ$_1$～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、もしくはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および
各
【化４】

は、独立して、ヌクレオシドへの結合を表し、
Ｌが共有結合のときは、Ｒ^{1}が－Ｈではない、オリゴヌクレオチド。
【請求項３】
請求項１又は２に記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも１５ヌクレオチド長である、
オリゴヌクレオチド。
【請求項４】
請求項１～３のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記リボースの２’－ＯＨ基は、－ＯＭｅ基により置換されたものである、
オリゴヌクレオチド。
【請求項５】
請求項１～３のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記リボースの２’－ＯＨ基は、－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＭｅ基により置換されたものである、
オリゴヌクレオチド。
【請求項６】
請求項１～５のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記オリゴヌクレオチドは、ロックド核酸糖を有する、
オリゴヌクレオチド。
【請求項７】
請求項１～６のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記オリゴヌクレオチドが、５０％超の純度を有する、
オリゴヌクレオチド。

【請求項８】
請求項１～６のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記オリゴヌクレオチドが、８０％超の純度を有する、
オリゴヌクレオチド。
【請求項９】
請求項１～６のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記オリゴヌクレオチドが、９０％超の純度を有する、
オリゴヌクレオチド。
【請求項１０】
請求項１～９のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドであって、
前記オリゴヌクレオチドが、固形担体に結合していない、
オリゴヌクレオチド。
【請求項１１】
請求項１～１０のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドを含む、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物。
【請求項１２】
キラル制御されたオリゴヌクレオチドを製造する方法であって、
（１）カップリング；
（２）キャッピング；
（３）修飾；
（４）脱ブロック化；および
（５）所望の長さを達成するまでステップ（１）～（４）を繰り返す、
ステップを含み、
前記方法は、キラル結合リンに関して単一のジアステレオ異性体で存在するオリゴヌクレオチドであるキラル制御されたオリゴヌクレオチドを製造する方法であり、
（１）～（４）のサイクルの少なくとも一つにおいて、硫化を含む修飾ステップを含み、式Ｉ－ａの構造を有するヌクレオチド間結合を生成する方法。
【化５】

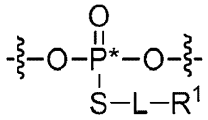


(I-a)

式中：
Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐであり；
Ｘ、ＹおよびＺの各々は、独立して、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（－Ｌ－Ｒ^{1}）－、またはＬであり；
Ｌは、共有結合または置換されていてもよい直鎖もしくは分岐鎖Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{50}$アルキレンであり、Ｌの１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$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）$_{2}$Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により置換されており；
Ｒ^{1}は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族であって、１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$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）$_2$Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により置換されており；
各Ｒ’は、独立して、－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、もしくは－ＳＯ$_2$Ｒであるか、または：
同じ窒素上の２つのＲ’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよい複素環もしくはヘテロアリール環を形成するか、または
同じ炭素上の２つのＲ’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環、複素環、もしく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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい二価環であり；
各Ｒは、独立して、水素、またはＣ$_1$～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、もしくはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および
各
【化６】

は、独立して、ヌクレオシドへの結合を表す。
【請求項１３】
請求項１２に記載の方法であって、
（１）～（４）のサイクルの少なくとも一つにおいて、ホスホロチオエートジエステル結合を形成する、方法。
【請求項１４】
請求項１２に記載の方法であって、
（１）～（４）のサイクルの少なくとも一つにおいて、式Ｉ－ｃの構造を有するヌクレオチド間結合を生成する方法。
【化７】

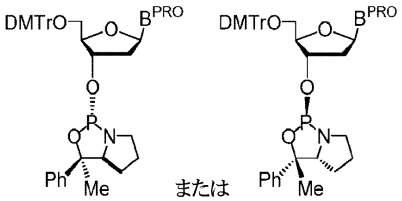


(I-c)

式中：
Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐであり；
Ｌは、共有結合または置換されていてもよい直鎖もしくは分岐鎖Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレンであり、Ｌの１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により置換されており；
Ｒ^{1}は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_{50}$脂肪族であって、１つ以上のメチレン単位は、任意および独立して、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ’）－、－Ｎ（Ｒ’）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）

Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により置換されており；
各Ｒ’は、独立して、－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－CO_2Ｒ、もしくは－SO_2Ｒであるか、または：
同じ窒素上の２つのＲ’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよい複素環もしくはヘテロアリール環を形成するか、または
同じ炭素上の２つのＲ’は、それらの介在する原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環、複素環、もしく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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい二価環であり；
各Ｒは、独立して、水素、またはC_1～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、もしくはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および
各
【化９】

は、独立して、ヌクレオシドへの結合を表し、
Ｌが共有結合のときは、R^1が－Ｈではない。
【請求項１５】
請求項１３又は請求項１４に記載の方法であって、
前記カップリングステップが、Ｎ－シアノメチルピロリジニウムトリフレートおよび、
【化１０】



（式中、B^{PRO}は、保護された核酸塩基である）
の使用を含む方法。
【請求項１６】
請求項１２～請求項１４のいずれかに記載の方法であって、
前記キャッピングステップが、キラル補充剤中のアミノ基のキャッピングステップおよび未反応５’ＯＨのキャッピングステップを含む、方法。
【請求項１７】
請求項１２～請求項１６のいずれかに記載の方法であって、
少なくとも１つの修飾ステップが、酸化ステップにより置き換えられる方法。
【請求項１８】
請求項１２～請求項１４のいずれかに記載の方法であって、
前記所望の長さより短い１つのヌクレオチドである全オリゴヌクレオチドが、合わせたとき、前記粗生成物の１０％未満である、方法。
【請求項１９】
請求項１２～請求項１４のいずれかに記載の方法であって、
前記キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも１５ヌクレオチド長である、
方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１２年７月１３日に出願された米国特許仮出願第６１／６７１，６５５

号、２０１２年７月１３日に出願された同第６１／６７１，６５６号、２０１２年７月１４日に出願された同第６１／６７１，７２２号、および２０１２年７月１４日に出願された同第６１／６７１，７２４号の優先権を主張し、各出願の全文は、参照により本明細書に組み入れられるものとする。

【０００２】

技術分野

オリゴヌクレオチドは、治療、診断、研究およびナノ材料の応用に有用である。

背景技術

天然核酸（例えば、無修飾ＤＮＡまたはＲＮＡ）の治療用途での使用は、例えば、細胞外および細胞内ヌクレアーゼおよび／またはそれらの低い細胞透過性および低い細胞分布のために、制限され得る。加えて、生体外研究により、結合親和性、相補ＲＮＡへの特異的結合配列（Cosstick and Eckstein, 1985; LaPlanche et al., 1986；Latimer et al., 1989；Hacia et al., 1994; Mesmaeker et al., 1995）、およびヌクレアーゼ安定性などのアンチセンスオリゴヌクレオチドの特性が、リン原子の絶対立体化学的配置により影響され得ることが分かった（Cookら、米国特許公開第００５５９９７９７号）。従って、新規な改良されたオリゴヌクレオチド組成物が必要とされている。

【発明の概要】

【０００３】

本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物およびその新規合成方法の必要性があるという認識を包含する。本発明は、全キラル制御された組成物、特に、複数のオリゴヌクレオチド型を含む組成物の合成を妨げる問題を含む、キラルオリゴヌクレオチド合成の従来手法における、ある特定の問題の原因を特定すること包含する。

【０００４】

いくつかの実施形態では、本発明は、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。

【０００５】

いくつかの実施形態では、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の製造方法を提供する。

【０００６】

いくつかの実施形態では、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の使用方法を提供する。

【０００７】

本出願で引用した全ての刊行物および特許は、その全文を参照することにより、本明細書に組み入れられるものとする。

【０００８】

定義

脂肪族：本明細書中で使用されるとき、「脂肪族」または「脂肪族基」という語は、他の分子へのひとつの結合点を有する、完全に飽和もしくは１つ以上の不飽和単位を含有する直鎖（すなわち、分岐でない）もしくは分岐鎖、置換もしくは非置換炭化水素鎖、または完全に飽和もしくは１つ以上の不飽和単位を含有するが、芳香族でない単環式炭化水素もしくは多環式炭化水素（本明細書で、「炭素環」、「脂環式」または「シクロアルキル」とも呼ぶ）を意味する。いくつかの実施形態では、脂肪族基は、１～５０個の脂肪族炭素原子を含む。特に指定しない限り、脂肪族基は、１～１０個の脂肪族炭素原子を含む。いくつかの実施形態では、脂肪族基は、１～６個の脂肪族炭素原子を含む。いくつかの実施形態では、脂肪族基は、１～５個の脂肪族炭素原子を含む。他の実施形態では、脂肪族基は、１～４個の脂肪族炭素原子を含む。更に他の実施形態では、脂肪族基は、１～３個の脂肪族炭素原子を含み、更に他の実施形態では、脂肪族基は、１～２個の脂肪族炭素原子を含む。いくつかの実施形態では、「脂環式」（または「炭素環」または「シクロアルキル」）は、他の分子へのひとつの結合点を有する、完全に飽和もしくは１つ以上の不飽和単位を含有するが、芳香族でない単環式もしくは二環式C_3～C_{10}炭化水素を表す。

いくつかの実施形態では、「脂環式」（または「炭素環」または「シクロアルキル」）は、他の分子へのひとつの結合点を有する、完全に飽和もしくは１つ以上の不飽和単位を含有するが、芳香族でない単環式C_3～C_6炭化水素を表す。適切な脂肪族基としては、直鎖または分岐鎖、置換または非置換アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、および（シクロアルキル）アルキル、（シクロアルケニル）アルキルまたは（シクロアルキル）アルケニルなどのそれらの複合体が挙げられるが、これに限定されない。

【０００９】

アルキレン：「アルキレン」という語は、二価アルキル基を表す。「アルキレン鎖」は、ポリメチレン基、すなわち、－（CH_2）$_n$－であり、式中、ｎは正整数、好ましくは、１～６、１～４、１～３、１～２、または２～３である。置換アルキレン鎖は、１つ以上のメチレン水素原子が、置換基で置換されたポリメチレン基である。適切な置換基としては、置換脂肪族基について下に記載のものが挙げられる。

【００１０】

アルケニレン：「アルケニレン」という語は、二価アルケニル基を表す。置換アルケニレン基は、１つ以上の水素原子が、置換基で置換された、少なくとも１つの二重結合を含有するポリメチレン基である。適切な置換基としては、置換脂肪族基について下に記載のものが挙げられる。

【００１１】

動物：本明細書中で使用されるとき、「動物」という語は、動物界の任意の成員を表す。いくつかの実施形態では、「動物」は、発育の任意の段階における、ヒトを表す。いくつかの実施形態では、「動物」は、発育の任意の段階における、非ヒト動物を表す。特定の実施形態では、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、および／またはブタ）である。いくつかの実施形態では、動物としては、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類、および／または蠕虫類を挙げられるが、これに限定されない。いくつかの実施形態では、動物は、トランスジェニック動物、遺伝子組み換え動物、および／またはクローンであり得る。

【００１２】

およそ：本明細書中で使用されるとき、数を表すときの「およそ」または「約」という語は、一般に、特に明記もしくは特に文脈から明白でない限り（かかる数が、０％より小さいまたは１００％超の可能な値である場合を除き）、該数のどちらの方向でも（より大きいまたはより小さい）、５％、１０％、１５％、または２０％の範囲内に含まれる数を含むと考える。いくつかの実施形態では、投与量を表すときの「約」という語の使用は、±５ｍｇ／ｋｇ／日を意味する。

【００１３】

アリール：単独でまたは「アラルキル」、「アラルコシ」、または「アリールオキシアルキル」として大きな部分の一部として使用される「アリール」という語は、構造の少なくとも１つの環が芳香族であり、構造の各環が３～７環員を含む、全５～１４環員を有する単環式および二環式環構造を表す。「アリール」という語は、「アリール環」という語と、互換的に使用され得る。本発明の特定の実施形態では、「アリール」は、限定されないが、１つ以上の置換基を有してもよい、フェニル、ビフェニル、ナフチル、アントラシル（anthracyl）などを含む芳香族環構造を表す。インダニル、フタルイミジル、ナフトイミジル（naphthimidyl）、フェナントリジニル、またはテトラヒドロナフチルなどの、芳香族環が１つ以上の非芳香族環と縮合している基も、本明細書で、「アリール」という語の範囲に含まれる。

【００１４】

特徴的部分：本明細書中で使用されるとき、タンパク質またはポリペプチドの「特徴的部分」という言い回しは、全体で、タンパク質またはポリペプチドの特徴である一続きのアミノ酸、または一続きのアミノ酸の集合を含むものである。かかる各連続鎖は、一般に、少なくとも２つのアミノ酸を含むだろう。さらに、当業者は、通常、少なくとも、５、１０、１５、２０またはそれ以上のアミノ酸が、タンパク質の特徴であるために必要であ

ることを認識するだろう。一般に、特徴的部分は、上記特定の配列相同性に加えて、少なくとも１つの機能的特徴を、関連性ある無傷タンパク質と共有する。

【００１５】

特徴的配列：「特徴的配列」は、ポリペプチドまたは核酸のファミリーの全成員中で見られる配列であり、従って、該ファミリーの成員を定義するために、当業者により使用され得る。

【００１６】

特徴的構造要素：「特徴的構造要素」という語は、ポリペプチド、小分子、または核酸のファミリーの全成員中で見られる、はっきりと区別できる構造要素（例えば、骨格構造、懸垂部分の集合、配列要素、他）を表し、従って、該ファミリーの成員を定義するために、当業者により使用され得る。

【００１７】

同等：「同等」という語は、得られた結果または観察された現象の比較を可能となるように、互いに十分似ている状態または環境の２つ（またはそれ以上）のセットを言い表すために、本明細書で使用される。いくつかの実施形態では、状態または環境の同等なセットは、複数の実質的に同じ特徴および１つまたは少数の変更された特徴により特徴付けられる。当業者は、実質的に同じ特徴の十分な数と型により特徴付けられ、異なるセットの状態または環境下で得られる結果または観察される現象における違いが、状態のセットが、変更されるそれらの特徴中の差異を原因とするまたは示すという合理的結論を正当化できるとき、互いに同等であることを認識するだろう。

【００１８】

投与計画：本明細書中で使用されるとき、「投与計画」または「治療レジメン」は、通常、ある期間により分けられて、対象に個別に投与される１組の単位用量（通常、１つ以上）を表す。いくつかの実施形態では、所与の治療薬は、１つ以上の用量を含み得る所要投与計画を有する。いくつかの実施形態では、投与計画は、その各々が、同じ長さの期間により互いに分離した複数の用量を含み；いくつかの実施形態では、投与計画は、複数の用量および別々の用量を分ける少なくとも２つの異なる期間を含む。いくつかの実施形態では、投与計画内の全用量は、同じ単位投与量である。いくつかの実施形態では、投与計画内の異なる用量は、異なる量である。いくつかの実施形態では、投与計画は、１番目の投与量で１番目の用量、次いで、１番目の投与量と異なる２番目の用量で１つ以上の追加の用量を含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、１番目の投与量で１番目の用量、次いで、１番目の投与量と同じ２番目の用量で１つ以上の追加の用量を含む。

【００１９】

同等の薬剤：本開示を読んで、当業者は、本発明の文脈中の有用な薬剤の範囲が、本明細書で具体的に言及または例示したものに限定されないことを認識するだろう。具体的には、当業者は、活性剤が、通常、骨格および結合した懸垂部分から成る構造を有することを認識しており、従ってかかる骨格および／または懸垂部分の簡単な変更が、薬剤の活性を有意に変化させないことを理解するだろう。例えば、いくつかの実施形態では、同等の３次元構造および／または化学反応特性の基を有する１つ以上の懸垂部分の置換は、親の基準化合物または部分と同等の置換された化合物または部分を生成し得る。いくつかの実施形態では、１つ以上の懸垂部分の付加または分離は、親の基準化合物と同等な置換された化合物を生成し得る。いく　つかの実施形態では、例えば、少数の結合（通常、５、４、３、２以下、または１つの結合、およびしばしば一重結合のみ）の付加または分離による骨格構造の変更は、親の基準化合物と同等置換された化合物を生成し得る。多くの実施形態では、同等の化合物は、例えば、容易に入手可能な物質、試薬および従来または提供される合成手順を用いて、下記一般的反応スキームで示された方法、またはその変法により、合成され得る。これらの反応で、それ自体では既知であるが、ここで言及されない変更も利用可能である。

【００２０】

同等の投与量：「同等の投与量」という語は、同じ生物学的結果をもたらす異なる薬剤

的に活性な薬剤の投与量を比較するために、本明細書で使用される。２つの異なる薬剤の投与量は、もし、それらが、同等のレベルまたは程度の生物学的結果を達成するならば、本発明に従って、互いに「同等」であると見なされる。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される異なる医薬の同等の投与量は、本明細書で記載の生体外および／または生体内アッセイを用いて決定される。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される１つ以上のリソソーム活性剤は、基準リソソーム活性剤の用量と同等の用量で利用され；いくつかの実施形態では、かかる目的の基準リソソーム活性剤は、小分子アロステリック活性化剤（例えば、ピラゾロピリミジン類（pyrazolpyrimidines））、イミノ糖類（imminosugars）（例えば、イソファゴミン）、酸化防止剤（例えば、ｎ－アセチルシステイン）、および細胞輸送の制御因子（例えば、Ｒａｂ１ａポリペプチド）から成る群から選択される。

【００２１】

ヘテロ脂肪族：「ヘテロ脂肪族」という語は、Ｃ、ＣＨ、CH_2、またはCH_3から選択される１つ以上の単位が、独立して、ヘテロ原子により置換された脂肪族基を表す。いくつかの実施形態では、ヘテロ脂肪族基は、ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、ヘテロ脂肪族基は、ヘテロアルケニルである。

【００２２】

ヘテロアリール：単独でまたは大きな部分、例えば、「ヘテロアラルキル」、または「ヘテロアラルコシ」の一部として使用される「ヘテロアリール」および「ヘテロアル－」という語は、５～１０個の環原子、好ましくは、５個、６個、または９個の環原子を有し；環状配列中で共有される６個、１０個、または１４個のπ電子を有し；および炭素原子に加えて、１～５個のヘテロ原子を有する基を表す。「ヘテロ原子」という語は、窒素、酸素、または硫黄を表し、窒素もしくは硫黄のいずれの酸化形態も、およびいずれの塩基性窒素の四級化形態も含む。ヘテロアリール基としては、チエニル、フラニル、ピロリル、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、イソオキサゾリル、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、およびプテリジニルが挙げられるが、これに限定されない。本明細書で、「ヘテロアリール」および「ヘテロアル－」という語は、ヘテロ芳香族環が、ラジカルまたは結合点が芳香族環上にある１つ以上のアリール、脂環式、またはヘテロシクリル環に縮合している基も含む。制限されない例としては、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、ベンゾイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、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、およびピリド［２，３－ｂ］－１，４－オキサジン－３（４Ｈ）－オンが挙げられる。ヘテロアリール基は、単環式または二環式であり得る。「ヘテロアリール」という語は、「ヘテロアリール環」、「ヘテロアリール基」、または「芳香族複素環」という語と互換的に使用され得、その語のいずれも、置換されていてもよい環を含む。「ヘテロアラルキル」という語は、ヘテロアリールにより置換されたアルキル基を表し、該アルキルおよびヘテロアリール部分は、独立して、置換されていてもよい。

【００２３】

ヘテロ原子：「ヘテロ原子」という語は、１つ以上の酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素（窒素、硫黄、リン、もしくはケイ素のいずれもの酸化形態；いずれもの塩基性窒素の四級化形態または；複素環、例えば、Ｎ（３，４－ジヒドロ－２Ｈ－ピロリル中の）、ＮＨ（ピロリジニル中の）もしくはNR^+（Ｎ－置換ピロリジニル中の）の置換可能な窒素を含む）を意味する。

【００２４】

複素環：本明細書中で使用されるとき、「複素環（heterocycle）」、「ヘテロシクリル」、「複素環式ラジカル」、および「複素環（heterocyclic ring）」という語は、互

換的に使用され、飽和あるいは部分的に不飽和であり、炭素原子に加えて、１つ以上の、好ましくは、１～４個の上記のヘテロ原子を有する安定な３～７員単環式または７～１０員二環式複素環式部分を表す。複素環の環原子を表すのに使用されるとき、「窒素」という語は、置換された窒素を含む。例えば、酸素、硫黄または窒素から選択される０～３個のヘテロ原子を有する飽和または部分的に不飽和な環で、該窒素は、Ｎ（３，４－ジヒドロ－２Ｈ－ピロリル中のような）、ＮＨ（ピロリジニル中のような）または$^{+}$ＮＲ（Ｎ－置換ピロリジニル中のような）であり得る。

【００２５】

複素環は、安定構造をもたらすいずれのヘテロ原子または炭素原子にあるその側基に結合され得、いずれの環原子も置換されていてもよい。かかる飽和または部分的に不飽和な複素環式ラジカルの例としては、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフェニル、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、およびキヌクリジニルが挙げられるが、これに限定されない。「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」、および「複素環式ラジカル」という用語は、本明細書で、互換的に使用され、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、またはテトラヒドロキノリニルなどの、ヘテロシクリル環が１つ以上のアリール基、ヘテロアリール基、または脂肪族環に縮合する基を含み、該ラジカルまたは結合点は、ヘテロシクリル環上にある。ヘテロシクリル環は、単環式または二環式であり得る。「ヘテロシクリルアルキル」という語は、ヘテロシクリルにより置換されたアルキル基を表し、該アルキルおよびヘテロシクリル部は、独立して、置換されていてもよい。

【００２６】

腹腔内：本明細書中で使用されるとき、「腹腔内投与」および「腹腔内に投与された」という言い回しは、対象の腹膜中への化合物または組成物の投与を表すその技術分野で理解される意味を有する。

【００２７】

生体外：本明細書中で使用されるとき、「生体外」という語は、生物（例えば、動物、植物、および／または微生物）内でなく、人工的環境、例えば、試験管または反応器中、細胞培養液中、その他で起こる事象を表す。

【００２８】

生体内：本明細書で、「生体内」という語は、生物（例えば、動物、植物、および／または微生物）内で起こる事象を表す。

【００２９】

低級アルキル：「低級アルキル」という語は、$C_{1\sim4}$直鎖または分岐鎖アルキル基を表す。実例として低級アルキル基は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、およびｔｅｒｔ－ブチルである。

【００３０】

低級ハロアルキル：「低級ハロアルキル」という語は、１つ以上のハロゲン原子で置換された$C_{1\sim4}$直鎖または分岐鎖アルキル基を表す。

【００３１】

置換されていてもよい：本明細書に記載されるとき、本発明の化合物は、「置換されていてもよい」部分を含み得る。一般に、「置換された」という語は、「してもよい」という語があるかないかに係わらず、該指定部分の１つ以上の水素が適切な置換基で置換されることを意味する。特に指示されない限り、「置換されていてもよい」基は、いずれかの所与の構造中の１つ以上の位置が、位置毎に同じあるいは異なり得るとき、該基の各置換可能な位置で適切な置換基を有し得る。本発明により考えられる置換基の組み合わせは、好ましくは、安定または化学的に有り得る化合物の生成をもたらすものである。本明細書中で使用されるとき、「安定」という語は、それらの製造、検出、および、特定の実施形

態では、本明細書で開示の１つ以上の目的のそれらの回収、精製および使用を可能にする状態にあるとき、実質的に変化しない化合物を表す。

【００３２】

「置換されていてもよい」基の置換可能な炭素原子上の適切な一価置換基は、独立して、ハロゲン；－（CH_2）$_{0\sim4}R^{○}$；－（CH_2）$_{0\sim4}OR^{○}$；－O（CH_2）$_{0\sim4}R^{○}$、－O－（CH_2）$_{0\sim4}C$（O）$OR^{○}$；－（CH_2）$_{0\sim4}CH(OR^{○})_2$；－（CH_2）$_{0\sim4}SR^{○}$；$R^{○}$で置換されていてもよい（CH_2）$_{0\sim4}$Ｐｈ；$R^{○}$で置換されていてもよい（CH_2）$_{0\sim4}O(CH_2)_{0\sim1}$Ｐｈ；$R^{○}$で置換されていてもよいＣＨ＝ＣＨＰｈ；$R^{○}$で置換されていてもよい（$CH_2$）$_{0\sim4}O(CH_2)_{0\sim1}$－ピリジル；－$NO_2$；－ＣＮ；－$N_3$；（$CH_2$）$_{0\sim4}N(R^{○})_2$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}N(R^{○})C(O)R^{○}$；－$N(R^{○})C(S)R^{○}$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}N(R^{○})C(O)NR^{○}{}_2$；$N(R^{○})C(S)NR^{○}{}_2$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}N(R^{○})C(O)OR^{○}$；－$N(R^{○})N(R^{○})C(O)R^{○}$；$N(R^{○})N(R^{○})C(O)NR^{○}{}_2$；$N(R^{○})N(R^{○})C(O)OR^{○}$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}C(O)R^{○}$；－Ｃ（Ｓ）$R^{○}$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}C(O)OR^{○}$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}C(O)SR^{○}$；（$CH_2$）$_{0\sim4}C(O)OSiR^{○}{}_3$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}OC(O)R^{○}$；－OＣ（O）（$CH_2$）$_{0\sim4}$ＳＲ－、ＳＣ（Ｓ）$SR^{○}$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}SC(O)R^{○}$；－（$CH_2$）$_{0\sim4}C(O)NR^{○}{}_2$；－Ｃ（Ｓ）$NR^{○}{}_2$；－Ｃ（Ｓ）$SR^{○}$；－ＳＣ（Ｓ）$SR^{○}$、（$CH_2$）$_{0\sim4}OC(O)NR^{○}{}_2$；Ｃ（O）Ｎ（$OR^{○}$）$R^{○}$；－Ｃ（O）Ｃ（O）Ｒ○；－Ｃ（O）ＣＨ２Ｃ（O）Ｒ○；－Ｃ（ＮＯＲ○）$R^{○}$；（CH_2）$_{0\sim4}SSR^{○}$；－（CH_2）$_{0\sim4}S(O)_2R^{○}$；－（CH_2）$_{0\sim4}S(O)_2OR^{○}$；－（CH_2）$_{0\sim4}OS(O)_2R^{○}$；－$S(O)_2NR^{○}{}_2$；（CH_2）$_{0\sim4}S(O)R^{○}$；$N(R^{○})S(O)_2NR^{○}{}_2$；－$N(R^{○})S(O)_2R^{○}$；－Ｎ（$OR^{○}$）$R^{○}$；－Ｃ（ＮＨ）$NR^{○}{}_2$；－Ｐ（O）$_2R^{○}$；Ｐ（O）$R^{○}{}_2$；ＯＰ（O）$R^{○}{}_2$；－ＯＰ（O）（$OR^{○}$）$_2$；－ＳｉＲ○$_3$；－（$C_{1\sim4}$直鎖または分岐鎖アルキレン）Ｏ－Ｎ（$R^{○}$）$_2$；または－（$C_{1\sim4}$直鎖または分岐鎖アルキレン）Ｃ（O）Ｏ－Ｎ（$R^{○}$）$_2$（式中、各$R^{○}$は、下記のように置換されてもよく、独立して、水素、$C_{1\sim6}$脂肪族、－CH_2Ｐｈ、－$O(CH_2)_{0\sim1}$Ｐｈ、－CH_2－（５～６員ヘテロアリール環）または５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環、または、上記定義にもかかわらず、独立して出現する２つの$R^{○}$が、それらの介在する原子と一緒になって、下記のように置換されてもよく、独立して、窒素、酸素、もしくは硫黄から選択される０～４個のヘテロ原子を有する３～１２員飽和、部分的に不飽和、もしくはアリール単環式もしくは二環式環を形成する）である。

【００３３】

$R^{○}$上の適切な一価置換基（または独立して出現する２つの$R^{○}$が、それらの介在する原子と一緒になって形成する環）は、独立して、ハロゲン、－（CH_2）$_{0\sim2}R^{●}$、－（ハロ$R^{●}$）、－（CH_2）$_{0\sim2}$ＯＨ、－（CH_2）$_{0\sim2}OR^{●}$、－（CH_2）$_{0\sim2}CH(OR^{●})_2$；Ｏ（ハロ$R^{●}$）、－ＣＮ、－N_3、－（CH_2）$_{0\sim2}C(O)R^{●}$、－（CH_2）$_{0\sim2}$Ｃ（O）ＯＨ、－（CH_2）$_{0\sim2}C(O)OR^{●}$、－（CH_2）$_{0\sim2}SR^{●}$、－（CH_2）$_{0\sim2}$ＳＨ、－（CH_2）$_{0\sim2}NH_2$、－（CH_2）$_{0\sim2}NHR^{●}$、－（CH_2）$_{0\sim2}NR^{●}{}_2$、－NO_2、－$SiR^{●}{}_3$、－$OSiR^{●}{}_3$、Ｃ（O）$SR^{●}$、－（$C_{1\sim4}$直鎖または分岐鎖 アルキレン）Ｃ（O）$OR^{●}$、または－ＳＳＲ●（式中、各$R^{●}$は非置換または、「ハロ」が前に付く場合、１つ以上のハロゲンでのみ置換され、および、独立して、$C_{1\sim4}$脂肪族、－CH_2Ｐｈ、－$O(CH_2)_{0\sim1}$Ｐｈ、または５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環から選択される）である。$R^{○}$の飽和炭素原子上の適切な二価置換基としては、＝Ｏおよび＝Ｓが挙げられる。

【００３４】

「置換されていてもよい」基の飽和炭素原子上の適切な二価置換基としては、次のもの

：＝Ｏ、＝Ｓ、＝ＮＮＲ＊$_2$、＝ＮＮＨＣ（Ｏ）Ｒ＊、＝ＮＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ＊、＝ＮＮＨＳ（Ｏ）$_2$Ｒ＊、＝ＮＲ＊、＝ＮＯＲ＊、－Ｏ（Ｃ（Ｒ＊$_2$））$_{2\sim3}$Ｏ－、または－Ｓ（Ｃ（Ｒ＊$_2$））$_{2\sim3}$Ｓ－（式中、独立して出現する各Ｒ＊は、水素、下記の置換され得るＣ$_{1\sim6}$脂肪族、または非置換５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環から選択される）が挙げられる。「置換されていてもよい」基の隣接する置換可能な炭素に結合した適切な二価置換基として：－Ｏ（ＣＲ＊$_2$）$_{2\sim3}$Ｏ－（式中、独立して出現する各Ｒ＊は、水素、下記の置換され得るＣ$_{1\sim6}$脂肪族、または非置換５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環から選択される）が挙げられる。

【００３５】

Ｒ＊の脂肪族基上の適切な置換基としては、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●$_2$、または－ＮＯ$_2$（式中、各Ｒ●は、非置換または、「ハロ」が前に付く場合、１つ以上のハロゲンにのみ置換され、および、独立して、Ｃ$_{1\sim4}$脂肪族、－ＣＨ$_2$Ｐｈ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_{0\sim1}$Ｐｈ、または５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環である）が挙げられる。

【００３６】

「置換されていてもよい」基の置換可能な窒素上の適切な置換基としては、－Ｒ†、－ＮＲ†$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｒ†、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ†、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）Ｒ†、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）Ｒ†、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ†、Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ†$_2$、－Ｃ（Ｓ）ＮＲ†$_2$、－Ｃ（ＮＨ）ＮＲ†$_2$、または－Ｎ（Ｒ†）Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ†；（式中、各Ｒ†は、独立して、ハロゲン、下記の置換され得るＣ$_{1\sim6}$脂肪族、非置換－ＯＰｈ、または非置換５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環、または、上記定義にもかかわらず、独立して出現する２つのＲ†が、それらの介在する原子と一緒になって、独立して、窒素、酸素、もしくは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３～１２員飽和、部分的に不飽和、もしくはアリール単環式もしくは二環式環を形成する）が挙げられる。

【００３７】

Ｒ†の脂肪族基上の適切な置換基は、独立して、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●$_2$、または－ＮＯ$_2$（式中、各Ｒ●は、非置換または、「ハロ」が前に付く場合、１つ以上のハロゲンにのみ置換され、および、独立して、Ｃ$_{1\sim4}$脂肪族、－ＣＨ$_2$Ｐｈ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_{0\sim1}$Ｐｈ、または５～６員飽和、部分的に不飽和、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有するアリール環である）である。

【００３８】

経口：本明細書中で使用されるとき、「経口投与」および「経口的に投与した」という言い回しは、化合物または組成物の、口による投与を表し、その技術分野で理解される意味を有する。

【００３９】

非経口：本明細書中で使用されるとき、「非経口投与」および「非経口的に投与した」という言い回しは、通常注射による、腸内および局所的投与でない投与方法を表す、その技術分野で理解される意味を有し、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管内、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、および胸骨内注射および注入が挙げられるが、これに限定されない。

【００４０】

部分的に不飽和：本明細書中で使用されるとき、「部分的に不飽和」という語は、少なくとも１つの二重結合または三重結合を含む環部分を表す。「部分的に不飽和」という語

は、不飽和の複数部を有する環を包含することを意図するが、本明細書で定義したアリールまたはヘテロアリール部分を含むことを意図しない。

【００４１】

中で使用されるときで、「医薬組成物」という語は、１つ以上の薬剤的に許容可能な担体と一緒に処方した活性剤を表す。いくつかの実施形態では、活性剤は、適切な集団に投与した時に、所定の治療効果を達成する統計的有意な確率を示す治療レジメンでの投与に適切な単位投与量中に存在する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、固体または液体の形態で投与するために特に処方され得、次の用途のもの：経口投与、例えば、水薬（水性もしくは非水性溶液または懸濁液）、錠剤、例えば、口腔、舌下、および全身吸収用途のもの、巨丸剤、散剤、顆粒剤、舌に適用するペースト剤；例えば、滅菌溶液もしくは懸濁液、または徐放処方物として、例えば、皮下、筋肉内、静脈内または硬膜外注射による非経口投与；例えば、皮膚、肺、もしくは口腔に適用するクリーム剤、軟膏剤、または徐放性パッチ剤もしくはスプレー剤として局所投与；例えば、ペッサリー、クリーム剤、もしくは泡末剤として膣腔内または直腸内に；舌下に；眼に；経皮的に；または経鼻的に、肺、および他の粘膜面が挙げられる。

【００４２】

薬剤的に許容可能：本明細書中で使用されるとき、「薬剤的に許容可能」という言い回しは、健全な医学的判断内で、合理的な利益／リスク比に見合っており、過剰な有害性、刺激、アレルギー応答、または他の問題もしくは合併症なしで、ヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに適切な、化合物、物質、組成物、および／または剤形を表す。

【００４３】

薬剤的に許容可能な担体：本明細書中で使用されるとき、「薬剤的に許容可能な担体」という語は、１つの器官、または身体の部分から、別の器官、または身体の部分に運搬または輸送にかかわる液体もしくは固体充填剤、希釈剤、賦形剤、または溶媒封入材料などの薬剤的に許容可能な材料、組成物または媒体を意味する。各担体は、処方物の他成分と適合性があり、患者に有害でないという意味で、「許容可能」でなければならない。薬剤的に許容可能な担体として役立ち得る材料のいくつかの例としては：ラクトース、グルコースおよびショ糖などの糖類；コーンスターチおよびジャガイモデンプンなどのデンプン類；カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロースなどのセルロースおよびその誘導体；トラガント；麦芽；ゼラチン；タルク；カカオ脂および坐薬蝋などの賦形剤；ピーナッツ油、綿実油、紅花油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油およびダイズ油などの油類；プロピレングリコールなどのグルコール類；グリセリンなどのポリオール類、ソルビトール、マニトールおよびポリエチレングリコール；オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなどのエステル類；寒天；水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；アルギン酸；発熱物質フリー水；等張食塩水；リンゲル液；エチルアルコール；ｐＨ緩衝溶液；ポリエステル類、ポリカーボネート類および／またはポリ酸無水物；および製剤処方物で使用される他の無害性適合物質が挙げられる。

【００４４】

薬剤的に許容可能な塩：本明細書中で使用されるとき、「薬剤的に許容可能な塩」という語は、薬剤的文脈中での使用に適切なかかる化合物の塩、すなわち、健全な医学的判断内で、合理的な利益／リスク比に見合っており、過度の有害性、刺激、アレルギー応答などがなく、ヒトおよび下等動物の組織と接触して使用するのに適切な塩を表す。薬剤的に許容可能な塩は、当技術分野で周知である。例えば、S. M. Bergeらは、J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977)で、詳細に、薬剤的に許容可能な塩を記載している。いくつかの実施形態では、薬剤的に許容可能な塩としては、アジピン酸塩、アルギン酸塩、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（camphorate）、樟脳スルホン酸塩、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、エタンスルホン酸塩、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、ヘキサン酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリル酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸、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、パルミチン酸塩、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、吉草酸塩などが挙げられるが、これに限定されない。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩類は、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどを含む。いくつかの実施形態では、薬剤的に許容可能な塩としては、適切な場合、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およびアリールスルホン酸塩などの対イオンを用いて生成した無害性のアンモニウム、第四級アンモニウム、およびアミンカチオンが挙げられる。

【００４５】

プロドラッグ：一般的、「プロドラッグ」は、本明細書で使用される語として、当技術分野で理解されるように、生物に投与した時、身体中で代謝されて、興味ある活性（例えば、治療または診断）剤を送達する実体である。典型的に、かかる代謝は、活性剤が生成されるように、少なくとも１つの「プロドラッグ部分」の除去を引き起こす。「プロドラッグ」の様々な形態が、当技術分野で周知である。かかるプロドラッグ部分の例としては：

ａ）Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) and Methods in Enzymology, 42:309-396, edited by K. Widder, et al. (Academic Press, 1985)；

ｂ）Prodrugs and Targeted Delivery, edited by by J. Rautio (Wiley, 2011)；

ｃ）Prodrugs and Targeted Delivery, edited by by J. Rautio (Wiley, 2011)；

ｄ）A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krogsgaard-Larsen；

ｅ）Bundgaard, Chapter 5 “Design and Application of Prodrugs”, by H. Bundgaard, p. 113-191 (1991)；

ｆ）Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8:1-38 (1992)；

ｇ）Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77:285 (1988)；および

ｈ）Kakeya, et al., Chem. Pharm. Bull., 32:692 (1984)

参照。

【００４６】

本明細書に記載の他の化合物のように、プロドラッグは、様々な形態、例えば、結晶形、塩形態、他などのいずれでも、提供され得る。いくつかの実施形態では、プロドラッグは、その薬剤的に許容可能な塩として提供される。

【００４７】

保護基：本明細書中で使用されるとき、「保護基」という語は、当技術分野で周知であり、Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999（この全文をおは、参照することにより、本明細書中に組み入れられたものとする）中、詳細に記載されたものを含む。Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, edited by Serge L. Beaucage et al. 06/2012（第２章の全文は、参照することにより、本明細書中に組み入れられたものとする）中に記載のヌクレオチドおよびヌクレオチド化学に特に適応される保護基も含まれる。適切なアミノ保護基としては、メチルカルバメート、エチルカルバメート、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－ジブロモ）フルオレニルメチルカルバメート、２，７－ジ－ｔ－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－メトキシフェナンシルカルバメート（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－ジブロモエチルカルバメート（ＤＢ－ｔ－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－ビフェニリル）エチルカルバメート（Ｂｐｏｃ）、１－（３，５－ジ－ｔ－ブチルフェニル）－１－メチルエチルカルバメート（ｔ－Ｂｕｍｅｏｃ）、２－（２’－および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、ｔ－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－ホスホニオ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－アクリロ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－ベンズイソオ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－トルエンス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－デシルオ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－ジメチルカルボキサミド）ベンジルカルバメート、１，１－ジメチル－３－（Ｎ，Ｎ－ジメチルカルボキサミド）プロピルカルバメート、１，１－ジメチル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、イソニコチニルカルバメート、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－１－シクロプロピルメチルカルバメート、１－メチル－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－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－１－フェニルエチルカルバメート、１－メチル－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－２－（ｏ－ニトロフェノキシ）プロパンアミド、２－メチル－２－（ｏ－フェニルアゾフェノキシ）プロパンアミド、４－クロロブタンアミド、３－メチル－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－ジチアコハク酸イミド（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－１，３，５－トリアザシクロヘキサン－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ン－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－ピロオリン－３－イル）アミン、第四級アンモニウム塩類、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’－イソプロピリデンアミン、Ｎ－ｐ－ニトロベンジリデンアミン、Ｎ－サリシリデンアミン、Ｎ－５－クロロサリシリデンアミン、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－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ム－またはタングステン）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（Ｍｐｔ）、ジフェニルチオホスフィンアミド（Ｐｐｔ）、ジアルキルホスホロアミダート類、ジベンジルホスホロアミダート、ジフェニルホスホロアミダート、ベンゼンスルフェナミド、ｏ－ニトロベンゼンスルフェナミド（Ｎｐｓ）、２，４－ジニトロベンゼンスルフェナミド、ペンタクロロベンゼンスルフェナミド、２－ニトロ－４－メトキシベンゼンスルフェナミド、トリフェニルメチルスルフェナミド、３－ニトロピリジンスルフェナミド（Ｎｐｙｓ）、ｐ－トルエンスルホンアミド（Ｔｓ）、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（Ｍｔｒ）、２，４，６－トリメトキシベンゼンスルホンアミド（Ｍｔｂ）、２，６－ジメチル－４－メトキシベンゼンスルホンアミド（Ｐｍｅ）、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（Ｍｔｅ）、４－メトキシベンゼンスルホンアミド（Ｍｂｓ）、２，４，６－トリメチルベンゼンスルホンアミド（Ｍｔｓ）、２，６－ジメトキシ－４－メチルベンゼンスルホンアミド（ｉＭｄｓ）、２，２，５，７，８－ペンタメチルクロマン－６－スルホンアミド（Ｐｍｃ）、メタンスルホンアミド（Ｍｓ）、β－トリメチルシリルエタンスルホンアミド（ＳＥＳ）、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（ＤＮＭＢＳ）、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、およびフェナシルスルホンアミドが挙げられる。

【００４８】

適切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－、およびアリールアルキル－保護カルボン酸が挙げられるが、これに限定されない。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。適

切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。適切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、置換されていてもよいフェニル、ビフェニル、またはナフチルが挙げられる。適切なアリールアルキル基の例としては、置換されていてもよいベンジル（例えば、ｐ－メトキシベンジル（ＭＰＭ）、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）、および２－および ４－ピコリルが挙げられる。

【００４９】

適切なヒドロキシル保護基としては、メチル、メトキシメチル（ＭＯＭ）、メチルチオメチル（ＭＴＭ）、ｔ－ブチルチオメチル、（フェニルジメチシリル）メトキシメチル（ＳＭＯＭ）、ベンジルオキシメチル（ＢＯＭ）、ｐ－メトキシベンジルオキシメチル（ＰＭＢＭ）、（４－メトキシフェノキシ）メチル（ｐ－ＡＯＭ）、グアヤコールメチル（ＧＵＭ）、ｔ－ブトキシメチル、４－ペンテニルオキシメチル（ＰＯＭ）、シロキシメチル、２－メトキシエトキシメチル（ＭＥＭ）、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（ＳＥＭＯＲ）、テトラヒドロピラニル（ＴＨＰ）、３－ブ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（ＭＴＨＰ）、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－メトキシピペラジン－４－イル（ＣＴＭＰ）、１，４－ジオキサン－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－（フェニルセレニル）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、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’－ジニトロベンズヒドリル、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’－ブロモ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（レブ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）キサンテニル、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、ベンズイソチアゾリル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－キシリルシリル、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）、ギ酸エステル、ベンゾイルギ酸エステル、酢酸エステル、クロロ酢酸エステル、ジクロロ酢酸エステル、トリクロロ酢酸エステル、トリフルオロ酢酸エステル、メトキシ酢酸エステル、トリフェニルメトキシ酢酸エステル、フェノキシ酢酸エステル、ｐ－クロロフェノキシ酢酸エステル、３－フェニルプロピオン酸エステル、４－オキソペンタン酸エステル（レブリン酸

エステル）、４，４－（エチレンジチオ）ペンタン酸エステル（レブリノイルジチオアセタール）、ピバル酸エステル、アダマンテート、クロトン酸エステル、４－メトキシクロトン酸エステル、安息香酸エステル、ｐ－フェニル安息香酸エステル、２，４，６－トリメチル安息香酸エステル（メシトエート（mesitoate））、炭酸アルキルメチル、炭酸９－フルオレニルメチル（Ｆｍｏｃ）、炭酸アルキルエチル、炭酸アルキル２，２，２－トリクロロエチル（Ｔｒｏｃ）、炭酸２－（トリメチルシリル）エチル（ＴＭＳＥＣ）、炭酸２－（フェニルスルホニル）エチル（Ｐｓｅｃ）、炭酸２－（トリフェニルホスホニオ）エチル（Ｐｅｏｃ）、炭酸アルキルイソブチル、炭酸アルキルビニル、炭酸アルキルアリル、炭酸アルキルｐ－ニトロフェニル、炭酸アルキルベンジル、炭酸アルキルｐ－メトキシベンジル、炭酸アルキル３，４－ジメトキシベンジル、炭酸アルキルｏ－ニトロベンジル、炭酸アルキルｐ－ニトロベンジル、チオ炭酸アルキルＳ－ベンジル、炭酸４－エトキシ－１－ナフチル、ジチオ炭酸メチル、２－ヨード安息香酸エステル、４－アジド酪酸エステル、４－ニトロ－４－メチルペンタン酸エステル、ｏ－（ジブロモメチル）安息香酸エステル、２－ホルミルベンゼンスルホン酸エステル、２－（メチルチオメトキシ）エチル、４－（メチルチオメトキシ）酪酸エステル、２－（メチルチオメトキシメチル）安息香酸エステル、２，６－ジクロロ－４－メチルフェノキシ酢酸エステル、２，６－ジクロロ－４－（１，１，３，３－テトラメチルブチル）フェノキシ酢酸エステル、２，４－ビス（１，１－ジメチルプロピル）フェノキシ酢酸エステル、クロロジフェニル酢酸エステル、イソ酪酸エステル、モノコハク酸エステル、（Ｅ）－２－メチル－２－ブテン酸エステル、ｏ－（メトキシカルボニル）安息香酸エステル、α－ナフトエ酸、硝酸エステル、アルキルＮ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルホスホロジアミダート、アルキルＮ－フェニルカルバメート、ホウ酸エステル、ジメチルホスフィノチオニル、アルキル２，４－ジニトロフェニルスルフェネート、硫酸エステル、メタンスルホン酸エステル（メシル酸エステル）、ベンジルスルホン酸エステル、およびトシレート（Ｔｓ）が挙げられる。１，２－または１，３－ジオール類を保護するためには、該保護基としては、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、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）、環状炭酸エステル類、環状ボロン酸エステル類、ボロン酸エチル、およびボロン酸フェニルが挙げられる。

【００５０】

いくつかの実施形態では、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、ベンゾイルギ酸エステル、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、炭酸９－フルオレニルメチル、メシレート、トシレート、トリフレート

、トリチル、モノメトキシトリチル（ＭＭＴｒ）、４，４’－ジメトキシトリチル、（ＤＭＴｒ）および４，４’，４’’－トリメトキシトリチル（ＴＭＴｒ）、２－シアノエチル（ＣＥまたは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－（ジブロモメチル）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（ｐｉｘｙｌ）または９－（ｐ－メトキシフェニル）キサンチン－９－イル（ＭＯＸ）である。いくつかの実施形態では、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および４，４’－ジメトキシトリチルから選択される。いくつかの実施形態では、ヒドロキシル保護基は、トリチル、モノメトキシトリチルおよび４，４’－ジメトキシトリチル基から成る群から選択される。

【００５１】

いくつかの実施形態では、亜リン酸保護基は、オリゴヌクレオチド合成の至る所でのヌクレオチド間亜リン酸結合に結合した基である。いくつかの実施形態では、該亜リン酸保護基は、ヌクレオチド間ホスホロチオエート結合の硫黄原子に結合する。いくつかの実施形態では、該亜リン酸保護基は、ヌクレオチド間ホスホロチオエート結合の酸素原子に結合する。いくつかの実施形態では、該亜リン酸保護基は、ヌクレオチド間リン酸結合の酸素原子に結合する。いくつかの実施形態では、該亜リン酸保護基は、２－シアノエチル（ＣＥまたは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またはＮｐｅ）、２－フェニルエチル、３－（Ｎ－ｔｅｒｔ－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－ｌ－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、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。

【００５２】

タンパク質：本明細書中で使用されるとき、「タンパク質」という語は、ポリペプチド（すなわち、ペプチド結合によりもう１つと結合した少なくとも２つのアミノ酸の鎖）を表す。いくつかの実施形態では、タンパク質は、天然に存在するアミノ酸のみを含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は、１つ以上の天然に存在しないアミノ酸（例えば、隣接アミノ酸と１つ以上のペプチド結合を形成する部分）を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質鎖の１つ以上の残基は、非アミノ酸部分（例えば、グリカン、他）を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は、例えば、１つ以上のジスルフィド結合により結合または他手段により会合した１つより多いポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施形態では、タンパク質は、Ｌ－アミノ酸、Ｄ－アミノ酸、または両方を含む；いくつかの実施形態では、タンパク質は、当技術分野で周知の１つ以上のアミノ酸修飾物または類似体を含む。有用な修飾としては、例えば、末端アセチル化、アミド化、メチル化、他が挙げられる。「ペプチド」という語は、一般に、約１００個未満のアミノ酸、約５０個未満のアミノ酸、約２０個未満のアミノ酸、または約１０個未満のアミノ酸の長さを有するポリペプチドを表すために使用される。いくつかの実施形態では、タンパク質は抗体、抗体フラグメント、その生物学的活性部分、および／またはその特徴的部分である。

【００５３】

試料：本明細書中で使用されるとき、「試料」という語は、本明細書に記載の、対象となる源から得られたまたは由来の生物試料を表す。いくつかの実施形態では、対象となる源は、動物またはヒトなどの生物を含む。いくつかの実施形態では、生物試料は、生物組

織または生体液を含む。いくつかの実施形態では、生物試料は、骨髄；血液；血液細胞；腹水；組織または細針生検試料；細胞含有体液；浮遊核酸；痰；唾液：尿；脳脊髄液、腹水；胸水；糞便：リンパ液；婦人科液；皮膚スワブ；膣スワブ；口腔スワブ；鼻スワブ；導管洗浄液または気管支肺胞洗浄液などの洗液または洗浄液；吸引液；擦過；骨髄検体；組織生検検体；外科検体；糞便、他の体液、分泌液、および／またはそれからの細胞、他であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、生物試料は、個体から得られる細胞であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態では、試料は、いずれかの適切な手段により、対象となる源から直接得られる「一次試料」である。例えば、いくつかの実施形態では、一次生物試料は、生検（例えば、細針吸引または組織生検）、手術、体液（例えば、血液、リンパ液、糞便、他）の収集、他から成る群から選択される方法により得られる。いくつかの実施形態では、文脈から明白になるように、「試料」という語は、一次試料を処理により（例えば、その１つ以上の成分の除去および／またはそれに１つ以上の薬剤の添加により）得られる調製物を表す。例えば、半透膜を用いた濾過。かかる「処理試料」は、例えば、試料から抽出または一次試料を、ｍＲＮＡの増幅もしくは逆転写、単離および／または特定成分の精製、他などの技術による処理により得られる核酸またはタンパク質を含み得る。

【００５４】

立体化学異性体：本明細書中で使用されるとき、「立体化学異性体」という言い回しは、同じ一連の結合により結合された同じ原子で組み立てられているが、互換性でない異なる三次元構造を有する異なる化合物を表す。本発明のいくつかの実施形態では、提供される化学組成物は、化合物の個々の立体化学異性体の純粋な合成物であり得、またはそれを含み得る；いくつかの実施形態では、提供される化学組成物は、該化合物の２つ以上の立体化学異性体の混合物であり得、またはそれを含み得る。特定の実施形態では、かかる混合物は、同量の異なる立体化学異性体を含む；特定の実施形態では、かかる混合物は、異なる量の少なくとも２つの異なる立体化学異性体を含む。いくつかの実施形態では、化学組成物は、該化合物の全ジアステレオマーおよび／または鏡像異性体を含み得る。いくつかの実施形態では、化学組成物は、化合物の全部より少ないジアステレオマーおよび／または鏡像異性体を含み得る。いくつかの実施形態では、もし、本発明の化合物の特定の鏡像異性体が所望されるならば、例えば、不斉合成、またはキラル補助基を用いた誘導により合成され得、得られたジアステレオマー混合物は分離し、補助基を開裂して、純粋な所望の鏡像異性体を得る。あるいは、分子がアミノなどの塩基性官能基を含む場合、ジアステレオマー塩を、適切な光学活性酸を用いて生成し、例えば、分別再結晶により分割する。

【００５５】

対象：本明細書中で使用されるとき、「対象」または「被験者」という語は、提供される化合物または組成物が、例えば、実験、診断、予防、および／または治療目的用途で、本発明に従って投与されるいずれもの生物を表す。典型的な対象としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、およびヒト；昆虫；蠕虫；他などの哺乳類）および植物が挙げられる。いくつかの実施形態では、対象は、疾病、障害、および／または症状を患っている、および／またはこれらにかかり易い。

【００５６】

実質的：本明細書中で使用されるとき、「実質的」という語は、対象としている特徴または特性の全部またはほとんど全部の範囲もしくは程度を示す定性的状態を表す。生物学技術分野の当業者は、生物学的および化学的現象が、めったに、完結および／または完了もしくは達成もしくは絶対的結果を回避しないことを理解するだろう。従って、「実質的」という語は、多くの生物学的および／または化学的現象に本来備わる完全性の潜在的欠如を取り込むために、本明細書で使用される。

【００５７】

患っている：疾病、障害、および／または症状を「患っている」個体は、疾病、障害、および／または症状の１つ以上の症候を診断された、および／または示している。

【００５８】
（病気に）かかり易い：疾病、障害、および／または症状「にかかり易い」個体は、一般社会の成員よりも、該疾病、障害、および／または症状を発病するリスクが高いものである。いくつかの実施形態では、疾病、障害、および／または症状にかかり易い個体は、該疾病、障害、および／または症状と診断されない可能性がある。いくつかの実施形態では、疾病、障害、および／または症状にかかり易い個体は、該疾病、障害、および／または症状の症候を示し得る。いくつかの実施形態では、疾病、障害、および／または症状にかかり易い個体は、該疾病、障害、および／または症状の症候を示さない可能性がある。いくつかの実施形態では、疾病、障害、および／または症状にかかり易い個体は、該疾病、障害、および／または症状を発病するだろう。いくつかの実施形態では、疾病、障害、および／または症状にかかり易い個体は、該疾病、障害、および／または症状を発病しないだろう。
【００５９】
全身的：本明細書中で使用されるとき、「全身的投与」、「全身的に投与された」、「末梢投与」、および「末梢的に投与された」という言い回しは、それが、レシピエントの全身に入るように化合物または組成物を投与することを表す、その技術分野で理解される意味を有する。
【００６０】
互変異性体：本明細書中で使用されるとき、「互変異性体」という言い回しは、容易に転換可能な異なる異性体の有機化合物を言い表すために使用される。互変異性体は、一重結合および隣接する二重結合の転換と同時に起こる、水素原子またはプロトンのホルマール移動により特徴付けられ得る。いくつかの実施形態では、互変異性体は、プロトン互変異性（すなわち、プロトンの再配置）からもたらされ得る。いくつかの実施形態では、互変異性体は、原子価互変異性（すなわち、結合電子の急速な再配置）からもたらされ得る。かかる全互変異性体は、本発明の範囲内に含まれるものとする。いくつかの実施形態では、化合物の互変異性体は、別々の物質を合成する試みが、結果的に、混合物を生成するように、互いに可動な平衡中に存在する。いくつかの実施形態では、化合物の互変異性体は、分離可能および単離可能な化合物である。本発明のいくつかの実施形態では、化学組成物は、化合物の単一の互変異性体の純粋な合成物である、またはそれを含みものを提供され得る。本発明のいくつかの実施形態では、化学組成物は、化合物の２つ以上の互変異性体の混合物として提供され得る。特定の実施形態では、かかる混合物は、同量の異なる互変異性体を含む；特定の実施形態では、かかる混合物は、化合物の、異なる量の少なくとも２つの互変異性体を含む。本発明のいくつかの実施形態では、化学組成物は、化合物の全互変異性体を含み得る。本発明のいくつかの実施形態では、化学組成物は、化合物の全部より少ない互変異性体を含み得る。本発明のいくつかの実施形態では、化学組成物は、相互転換の結果として時間とともに変化する量で、化合物の１つ以上の互変異性体を含み得る。本発明のいくつかの実施形態では、該互変異性は、ケトエノール互変異性である。化学技術分野の当業者は、ケトエノール互変異性を、化学技術分野で周知のいずれかの適切な試薬を用いて、「捕捉」（すなわち、「エノール」体を保持するように化学的に修飾）し得、当技術分野で周知の１つ以上の適切な技術を用いて、引き続いて単離され得るエノール誘導体を得られる。特に指示がない限り、本発明は、純粋な形態または互いの混合物であろうとなかろうと、関連する化合物の全互変異性体を包含する。
【００６１】
治療薬：本明細書中で使用されるとき、「治療薬」という語は、対象に投与されたとき、治療効果および／または所望の生物学的および／または薬理学的効果を誘発するいずれもの薬剤を表す。いくつかの実施形態では、治療薬は、疾病、障害、および／または症状の１つ以上の症候もしくは特徴を、軽減、寛解、解放、抑制、予防、発病遅延、重篤度軽減、および／または発生率低下させるために使用され得るいずれもの物質である。
【００６２】
治療有効量：本明細書中で使用されるとき、「治療有効量」という語は、治療レジメン

の一部として投与されるとき、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、および／または処方物）の量を意味する。いくつかの実施形態では、物質の治療有効量は、疾病、障害、および／または症状を患っている、またはかかり易い対象に投与するとき、該疾病、障害、および／または症状を治療、診断、予防、および／または発病遅延するために十分な量である。当業者により認識されるように、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、標的の細胞または組織、他などの要因に依存して変化し得る。例えば、疾病、障害、および／または症状を治療するための処方物中の化合物の有効量は、該疾病、障害、および／または症状の１つ以上の症候もしくは特徴を、軽減、寛解、解放、抑制、予防、発病遅延、重篤度軽減、および／または発生率低下させる量である。いくつかの実施形態では、治療有効量は、単一の用量で投与される；いくつかの実施形態では、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。

【００６３】

治療：本明細書中で使用されるとき、「治療する」、「治療」または「治療すること」という語は、疾病、障害、および／または症状の１つ以上の症候もしくは特徴を、部分的にもしくは完全に、軽減、寛解、解放、抑制、予防、発病遅延、重篤度軽減、および／または発生率低下させるために使用されるいずれもの方法表す。治療は、疾病、障害、および／または症状の徴候を示さない対象に投与され得る。いくつかの実施形態では、例えば、疾病、障害、および／または症状に関連する病理を発病するリスクを低下させる目的で、治療は、該疾病、障害、および／または症状の初期徴候のみ示す対象に投与され得る。

【００６４】

不飽和：本明細書中で使用されるとき、「不飽和」という語は、部分が、１つ以上の不飽和単位を有することを意味する。

【００６５】

単位用量：本明細書中で使用されるとき、「単位用量」という表現は、医薬組成物の単一用量として、および／または物理的に別々単位で投与される量を表す。多くの実施形態では、単位用量は、所定量の活性薬を含む。いくつかの実施形態では、単位用量は、全単一用量の該薬剤を含む。いくつかの実施形態では、１つ以上の単位用量は、全単一用量を達成するために投与される。いくつかの実施形態では、複数の単位用量の投与は、意図された効果を達成するために、必要または必要であると期待される。単位用量は、例えば、所定量の１つ以上の治療薬、所定量の固体形態、徐放性処方物または所定量の１つ以上の治療薬を含む薬剤送達装置、他を含むある体積の液体（例えば、許容可能な担体）であり得る。単位用量は、治療薬に加えて、いずれかの様々な成分を含む処方物中に存在し得ることは、認識されるだろう。例えば、許容可能な担体（例えば、薬剤的に許容可能な担体）、希釈剤、安定剤、緩衝剤、保存剤、他が、下記のように、含まれ得る。多くの実施形態では、特定治療薬の１日の適切な全投与量が、一部分、または複数の単位用量を含み得、例えば、健全な医学的判断の範囲内で主治医により決定され得ることは、当業者により理解されるだろう。いくつかの実施形態では、いずれかの特定対象もしくは生物のための具体的有効用量レベルは、治療される障害および該障害の重篤度；使用される具体的活性化合物の活性度；使用される具体的組成物；対象の年齢、体重、健康状態、性別および食事；投与回数、および使用される具体的化合物の排出率；治療持続期間；使用される具体的化合物と併用または同時使用される薬剤および／または追加療法、および医学分野で周知の同様な要因を含む様々な要因に依存し得る。

【００６６】

野生型：本明細書中で使用されるとき、「野生型」という語は、「正常な」（突然変異の、病気の、変更された、他とは対照的に）状態または文脈中に、実際に見られる構造および／または活性を有する実体を表す、その技術分野で理解される意味を有する。当業者は、野生型遺伝子およびポリペプチドが、しばしば、複数の異なる形態（例えば、アレル）で存在することを認識するだろう。

【００６７】

核酸：「核酸」という語は、いずれものヌクレオチド、その類似体、およびその重合体

を含む。本明細書中で使用されるとき、「ポリヌクレオチド」という語は、いずれもの長さのヌクレオチド類の重合形態、リボヌクレオチド（ＲＮＡ）あるいはデオキシリボヌクレオチド（ＤＮＡ）を表す。これらの語は、該分子の一次構造を表し、従って、二本鎖および一本鎖ＤＮＡ、および二本鎖および一本鎖ＲＮＡを含む。これらの語は、同等物として、限定されないが、メチル化、保護化および／またはキャップされたヌクレオチドまたはポリヌクレオチドなどのヌクレオチド類似体および修飾ポリヌクレオチドから合成されたＲＮＡあるいはＤＮＡいずれかの類似体を含む。該語は、ポリまたはオリゴリボヌクレオチド（ＲＮＡ）およびポリまたはオリゴデオキシリボヌクレオチド（ＤＮＡ）；核酸塩基および／または修飾核酸塩基のＮ－グリコシド類またはＣ－グリコシド類由来のＲＮＡまたはＤＮＡ；糖類および／または修飾糖類由来の核酸類；およびリン酸架橋および／または修飾リン原子架橋（本明細書中、「ヌクレオチド間結合」とも呼ぶ）由来の核酸類を包含する。該語は、核酸塩基、修飾核酸塩基、糖類、修飾糖類、リン酸架橋または修飾リン原子架橋のいずれかの組み合わせを含む核酸を包含する。例としては、限定されないが、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。接頭語ポリは、２～約１０，０００ヌクレオチドモノマー単位を含む核酸を表し、接頭語オリゴは、２～約２００ヌクレオチドモノマー単位を表す。

【００６８】

ヌクレオチド：本明細書中で使用されるとき、「ヌクレオチド」という語は、複素環式塩基、糖、および１つ以上のリン酸基またはリン含有ヌクレオチド間結合から成るポリヌクレオチドのモノマー単位を表す。天然塩基（グアニン（Ｇ）、アデニン（Ａ）、シトシン（Ｃ）、チミン（Ｔ）、およびウラシル（Ｕ））は、プリンまたはピリミジン誘導体であるが、天然および非天然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）デオキシリボース（ＤＮＡを形成する）またはリボース（ＲＮＡを形成する）であるが、天然および非天然塩基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結合して、核酸、またはポリヌクレオチドを生成する。多くのヌクレオチド間結合は、当技術分野で周知である（限定されないが、リン酸、ホスホロチオエート、ボラノリン酸など）。人工核酸としては、ＰＮＡ類（ペプチド核酸）、ホスホトリエステル類、ホスホロチオナート類、Ｈ－ホスホン酸エステル、アミド亜リン酸エステル類、ボラノリン酸エステル類、メチルホンスホン酸エステル類、ホスホノ酢酸エステル類、チオホスホノ酢酸エステル類および本明細書に記載したものなど天然核酸のリン酸骨格の他の変異体が挙げられる。

【００６９】

ヌクレオシド：「ヌクレオシド」という語は、核酸塩基または修飾核酸塩基が、糖または修飾糖に共有結合で結合している部分を表す。

【００７０】

糖：「糖」という語は、閉形態および／または開形態の単糖を表す。糖類としては、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、およびヘキソピラノース部分を挙げられるが、これに限定されない。本明細書で、該語は、その重合体が核酸類似体、グリコール核酸（「ＧＮＡ」）の骨格を形成するグリコールなどの通常の糖分子の代わりに使用される構造的類似体も包含する。

【００７１】

修飾糖：「修飾糖」という語は、糖を置き換え得る部分を表す。該修飾糖は、空間配置、電子状態、または糖のいくつかの他物理化学的特性を模倣する。

【００７２】

核酸塩基：「核酸塩基」という語は、配列特異的方法で、１つの核酸鎖をもう１つの相補鎖と結合させる水素結合に関連する核酸部分を表す。ほとんどの天然核酸塩基は、アデニン（Ａ）、グアニン（Ｇ）、ウラシル（Ｕ）、シトシン（Ｃ）、およびチミン（Ｔ）である。いくつかの実施形態では、該天然核酸塩基は、修飾されたアデニン、グアニン、ウラシル、シトシン、またはチミンである。いくつかの実施形態では、該天然核酸塩基は、

メチル化されたアデニン、グアニン、ウラシル、シトシン、またはチミンである。いくつかの実施形態では、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）、およびチミン（Ｔ）以外の核酸塩基である。いくつかの実施形態では、該修飾核酸塩基は、メチル化されたアデニン、グアニン、ウラシル、シトシン、またはチミンである。いくつかの実施形態では、該修飾核酸塩基は、空間配置、電子状態、または核酸塩基のいくつかの他物理化学的特性を模倣し、配列特異的方法で、１つの核酸鎖をもう１つの相補鎖と結合させる水素結合の特性を保持する。いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、融解挙動、細胞間酵素による認識またはオリゴヌクレオチド二本鎖の活性に実質的に影響なしで、該５つの全天然塩基（ウラシル、チミン、アデニン、シトシン、またはグアニン）と対合し得る。

【００７３】

キラルリガンド：「キラルリガンド」または「キラル助剤」という語は、キラルであり、反応が特定の立体選択性を有して実行され得るように、反応物中に取り入れ得る部分を表す。

【００７４】

縮合試薬：縮合反応で、「縮合試薬」という語は、反応性の低い部位を活性化し、別試薬との作用感受性をより高くする試薬を表す。いくつかの実施形態では、かかる別試薬は、求核剤である。

【００７５】

ブロック基：「ブロック基」という語は、官能基の反応性を遮蔽する基を表す。該官能基は、続いて、該ブロック基の除去により遮蔽を取り除き得る。いくつかの実施形態では、ブロック基は、保護基である。

【００７６】

部分：「部分」という語は、分子の特異的セグメントまたは官能基を表す。化学的部分は、分子中に組み込まれた、または追加された化学的実体と、しばしば認識される。

【００７７】

固形担体：「固形担体」という語は、核酸の合成を可能にするいずれもの担体を表す。いくつかの実施形態では、該語は、核酸合成を実行し、反応性基を導入するために誘導化する反応ステップで使用される媒体中に不溶なガラスまたは重合体を表す。いくつかの実施形態では、該固形担体は、高度架橋ポリスチレン（ＨＣＰ）またはコントロールドポアガラス（ＣＰＧ）である。いくつかの実施形態では、該固形担体は、コントロールドポアガラス（ＣＰＧ）である。いくつかの実施形態では、該固形担体は、コントロールドポアガラス（ＣＰＧ）および高度架橋ポリスチレン（ＨＣＰ）の複合担体である。

【００７８】

結合部分：「結合部分」という語は、末端ヌクレオチドと該固形担体間または末端ヌクレオシドと別のヌクレオシド、ヌクレオチドまたは核酸間に位置してもよいいずれもの部分を表す。

【００７９】

ＤＮＡ分子：「ＤＮＡ分子」という語は、その一本鎖形態または二重らせんデオキシリボヌクレオチド（アデニン、グアニン、チミン、またはシトシン）の重合形態を表す。本用語は、該分子の一次および二次構造のみを表し、いずれの特定の三次形態にも限定しない。従って、本用語は、とりわけ、直鎖ＤＮＡ分子（例えば、制限酵素フラグメント）、ウィルス、プラスミド、および染色体中に見られる二本鎖ＤＮＡを含む。特定二本鎖ＤＮＡ分子構造を論じる中で、配列は、非転写鎖のＤＮＡ（すなわち、ｍＲＮＡと相同配列を有する鎖）に沿って５’から３’の方向の配列のみを与える通例に従って、本明細書中で記載され得る。

【００８０】

コード配列：ＤＮＡ「コード配列」または「コード領域」は、適切な発現制御配列の制御下に置かれたとき、生体内ポリペプチドに転写および翻訳される二本鎖ＤＮＡである。コード配列の境界（「オープンリーディングフレーム」または「ＯＲＦ」）は、５’（ア

ミノ）末端での開始コドンおよび３’（カルボン酸）末端での翻訳終止コドンにより決定される。コード配列としては、限定されないが、原核生物配列、原核生物のｍＲＮＡからのｃＤＮＡ、原核生物（例えば、哺乳類）のＤＮＡからのゲノムＤＮＡ配列、および合成ＤＮＡ配列が挙げられる。ポリアデニル化シグナルおよび転写終止配列は、通常、該コード配列の３’側に位置する、「非コード配列」または「非コード領域」という語は、アミノ酸に翻訳されないポリヌクレオチド配列の領域（例えば、５’および３’非翻訳領域）を表す。

【００８１】

リーディングフレーム：「リーディングフレーム」という語は、二本鎖ＤＮＡ分子の各方向に３つの計６つの可能なリーディングフレームの内の１つを表す。使用される該リーディングフレームは、ＤＮＡ分子のコード配列内のアミノ酸をコードするために、どのコドンを使用するかを決定する。

【００８２】

アンチセンス：本明細書中で使用されるとき、「アンチセンス」核酸分子は、例えば、二本鎖ｃＤＮＡ分子のコード鎖に相補の、ｍＲＮＡ配列に相補の、または遺伝子コード鎖に相補の「センス」核酸コードタンパク質に相補の核酸配列を含む。従って、アンチセンス核酸分子は、センス核酸分子と水素結合を介して会合し得る。

【００８３】

ゆらぎ位置：本明細書中で使用されるとき、「ゆらぎ位置」は、コドンの３番目の位置を表す。いくつかの実施形態では、コドンのゆらぎ位置内のＤＮＡ分子中の突然変異は、アミノ酸レベルでサイレント変異または保存的変異をもたらす。例えば、グリシンをコードする４つのコドン、すなわち、ＧＧＵ、ＧＧＣ、ＧＧＡおよびＧＧＧがあり、従って、いずれものゆらぎ位置のヌクレオチドの、Ａ、Ｕ、ＣおよびＧから選択される他のヌクレオチドへの変異は、コードされるタンパク質のアミノ酸レベルでの変化をもたらさず、従って、サイレント置換である。

【００８４】

サイレント置換：「サイレント置換」または「サイレント変異」は、コドン内のヌクレオチドが変更されるが、該コドンによりコードされるアミノ酸残基の変化がもたらされないものである。例としては、ＡＧＧに変異したときでもまだ、Ａｒｇをコードするコドン「ＣＧＧ」などの特定のコドンの１番目の位置だけでなく、コドンの３番目の位置の突然変異が挙げられる。

【００８５】

遺伝子：本明細書中で使用されるとき、「遺伝子」、「組み換え遺伝子」および「遺伝子構築物」という語は、タンパク質またはその部分をコードするＤＮＡ分子、またはＤＮＡ分子部分を表す。該ＤＮＡ分子は、該タンパク質（エキソン配列として）をコードするオープンリーディングフレームを含み得、イントロン配列をさらに含み得る。本明細書で、「イントロン」という語は、タンパク質に翻訳されない所与の遺伝子中に存在、および全ての場合ではないが、いくつかの場合に、エキソン間で見られるＤＮＡ配列を表す。当技術分野で周知であるように、遺伝子が、１つ以上のプロモーター、エンハンサー、リプレッサーおよび／または該遺伝子の活性または発現を調節する他の制御配列と作動可能に結合する（または含み得る）ことは望まれ得る。

【００８６】

相補ＤＮＡ：本明細書中で使用されるとき、「相補ＤＮＡ」または「ｃＤＮＡ」は、ｍＲＮＡの逆転写により合成された組み換えポリヌクレオチドを含み、それから、介在配列（イントロン）が除去される。

【００８７】

相同性：「相同性」または「同一性」または「類似性」は、２つの核酸分子間の配列類似性を表す。相同性および同一性は各々、比較目的で配置し得る各配列の位置の比較により決定され得る。該比較される配列の同位置が、同じ塩基により占有されるとき、その時、該分子は、その位置で同一である；同部位が、同じまたは類似の核酸残基（例えば、立

体的および／または電子状態で類似）により占有されるとき、その時、該分子は、その位置で相同（類似）であると呼ばれ得る。相同性／類似性または同一性の百分率での表現は、比較される配列により共有される位置で、同一または類似の核酸の数の関数を表す。「無関係」または「非相同」な配列は、本明細書に記載の配列と、４０％未満の同一性、３５％未満の同一性、３０％未満の同一性、または２５％未満の同一性を共有する。２つの配列を比較するとき、残基（アミノ酸または核酸）の欠如または余分な残基の存在も、該同一性および相同性／類似性を低下させる。

【００８８】

いくつかの実施形態では、「相同性」という語は、類似の機能またはモチーフと同一の遺伝子に使用される配列類似性の数学的に基づいた比較を記述する。本明細書に記載の核酸配列は、例えば、他のファミリー成員、関連する配列または相同体を特定するために、公開データベースに対して検索実行するための「問い合わせ配列」として使用され得る。いくつかの実施形態では、かかる検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10のＮＢＬＡＳＴおよびＸＢＬＡＳＴプログラム（バージョン２．０）を用いて実行され得る。いくつかの実施形態では、ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索は、本発明の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得るために、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝１００、ワード長＝１２で実行され得る。いくつかの実施形態では、比較目的でギャップアライメントを得るため、ギャップＢＬＡＳＴを、Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402中に記載のように利用され得る。ＢＬＡＳＴおよびギャップＢＬＡＳＴプログラムを利用するとき、それぞれのプログラム（例えば、ＸＢＬＡＳＴおよびＢＬＡＳＴ）のデフォルトパラメータを使用され得る（www.ncbi.nlm.nih.gov参照）。

【００８９】

同一性：本明細書中で使用されるとき、「同一性」は、配列を、配列マッチングが最大限になるように、すなわち、ギャップおよび挿入を考慮して、アライメントするとき、２つ以上の配列中の対応する位置における同一のヌクレオチド残基の百分率を意味する。同一性は、既知の方法により、容易に算出され得、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; and Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; and Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988)に記載のものが挙げられるが、これに限定されない。同一性を決定する方法は、被検配列間で最大に一致するように設計されている。さらに、同一性を決定する方法は、公的に入手可能なコンピュータープログラムでコードされている。２つの配列間の同一性を決定するコンピュータープログラム方法としては、ＧＣＧプログラムパッケージ（Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, and FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol. 215: 403-410 (1990) and Altschul et al. Nuc. Acids Res. 25: 3389-3402 (1997))が挙げられるが、これに限定されない。ＢＬＡＳＴ　Ｘプログラムは、ＮＣＢＩおよび他出所から公的に入手可能である（BLAST Manual, Altschul, S., et al., NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S., et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990)）。周知のスミスウォーターマンアルゴリズムも、同一性決定に使用できる。

【００９０】

非相同的：ＤＮＡ配列の「非相同」領域は、より大きな配列に関連して全く発見されないより大きなＤＮＡ配列内のＤＮＡの同定可能なセグメントである。従って、非相同領域が哺乳類遺伝子をコードするとき、該遺伝子は、通常、源生物ゲノム中の哺乳類ゲノムＤＮＡに隣接しないＤＮＡ側にあり得る。非相同性コード配列の別例は、該コード配列自体が、全く発見されない配列（例えば、ゲノムコード配列が無修飾遺伝子と異なるコドンまたはモチーフを有するイントロンまたは合成配列を含むｃＤＮＡ）である。アレル変異ま

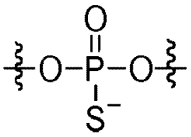
たは天然突然変異イベントは、本明細書に定義のＤＮＡの非相同領域を生じさせない。
【００９１】
塩基転位型突然変異：「塩基転位型突然変異」という語は、ピリミジン（シチジン（Ｃ）またはチミジン（Ｔ））が、別のピリミジンにより置換される、またはプリン（アデノシン（Ａ）またはグアノシン（Ｇ））が、別のプリンにより置換される、ＤＮＡ配列中の塩基の変化を表す。
【００９２】
塩基転換型突然変異：「塩基転換型突然変異」という語は、ピリミジン（シチジン（Ｃ）またはチミジン（Ｔ））が、プリンにより置換される、またはプリン（アデノシン（Ａ）またはグアノシン（Ｇ））が、ピリミジンにより置換される、ＤＮＡ配列中の塩基の変化を表す。
【００９３】
オリゴヌクレオチド：「オリゴヌクレオチド」という語は、核酸塩基、修飾核酸塩基、糖、修飾糖、リン酸架橋、または修飾リン原子架橋（本明細書中、本明細書にさらに定義の「ヌクレオチド間結合」とも呼ぶ）のいずれもの組み合わせを含むヌクレオチドモノマーの重合体またはオリゴマーを表す。
【００９４】
オリゴヌクレオチドは、一本鎖または二本鎖であり得る。本明細書で、「オリゴヌクレオチド鎖」という語は、一本鎖オリゴヌクレオチドを包含する。一本鎖オリゴヌクレオチドは、二本鎖領域を有し得、二本鎖オリゴヌクレオチドは、一本鎖領域を有し得る。実例となるオリゴヌクレオチドとしては、構造遺伝子、制御領域および終端領域を含む遺伝子、ウィルスまたはプラスミドＤＮＡ、一本鎖および二本鎖ｓｉＲＮＡおよび他のＲＮＡ干渉剤（ＲＮＡｉ剤またはｉＲＮＡ剤）などの自己複製系、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擬態、スーパーｍｉｒ（supermir）、アプタマー、抗ｍｉｒ（antimir）、アンタゴｍｉｒ（antagomir）、Ｕｌアダプター、三重鎖形成性オリゴヌクレオチド、グアニン四重鎖オリゴヌクレオチド、ＲＮＡアクチベーター、免疫賦活性オリゴヌクレオチド、およびデコイオリゴヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。
【００９５】
ＲＮＡ干渉の誘導に有効である二本鎖および一本鎖オリゴヌクレオチドは、本明細書中、ｓｉＲＮＡ、ＲＮＡｉ剤、またはｉＲＮＡ剤とも呼ぶ。いくつかの実施形態では、これらのＲＮＡ干渉誘導オリゴヌクレオチドは、ＲＮＡｉ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）として知られる細胞質多タンパク質複合体と関連する。多くの実施形態では、一本鎖および二本鎖ＲＮＡｉ剤は、それらが、ＲＩＳＣ機構に入り、標的配列、例えば、標的ｍＲＮＡのＲＩＳＣ介在の切断に関与し得るより小さいオリゴヌクレオチドを産生するために、内因性分子、例えば、ダイサーにより切断され得るほど十分に長い。
【００９６】
本発明のオリゴヌクレオチドは、様々な長さであり得る。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、約２～約２００ヌクレオチド長さの範囲であり得る。様々な関係する実施形態では、一本鎖、二本鎖、および三本鎖のオリゴヌクレオチドは、約４～約１０ヌクレオチド、約１０～約５０ヌクレオチド、約２０～約５０ヌクレオチド、約１５～約３０ヌクレオチド、約２０～約３０ヌクレオチドの長さの範囲であり得る。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、約９～約３９ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも４ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも５ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも６ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも７ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも８ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも９ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも１０ヌクレ

オチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも１１ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも１２ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも１５ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも２０ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも２５ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも３０ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも１８ヌクレオチド長さの二本鎖の相補鎖である。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも２１ヌクレオチド長さの二本鎖の相補鎖である。

【００９７】

ヌクレオチド間結合：本明細書中で使用されるとき、「ヌクレオチド間結合」という言い回しは、一般に、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド単位間のリン含有結合を表し、上記および本明細書中で、「糖間結合」および「リン原子架橋」と同義である。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド間結合は、天然ＤＮＡおよびＲＮＡ分子中に見られるホスホジエステル結合である。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド間結合は、該ホスホジエステル結合の各酸素原子が任意におよび独立して、有機部分または無機部分により置換される「修飾ヌクレオチド間結合」である。いくつかの実施形態では、かかる有機部分または無機部分は、＝Ｓ、＝Ｓｅ、＝ＮＲ’、－ＳＲ’、－ＳｅＲ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、Ｂ（Ｒ’）$_3$、－Ｓ－、－Ｓｅ－、および－Ｎ（Ｒ’）－（式中、各Ｒ’は、独立して、下記定義および記載の通りである）から選択されるが、これに限定されない。いくつかの実施形態では、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

【化１】



または修飾ホスホロチオエートトリエステル結合である。該ヌクレオチド間結合が、該結合の酸または塩基部分の存在により、所与のｐＨにおいて、アニオンまたはカチオンとして存在し得ることを、当業者は理解している。

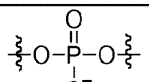
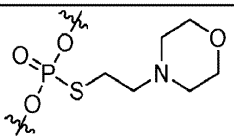
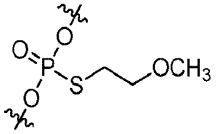
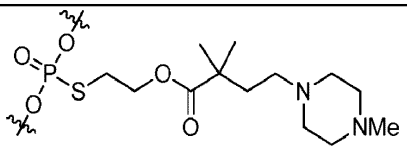
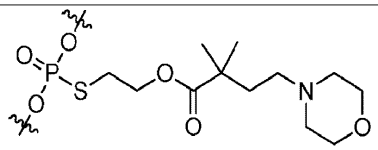
【００９８】

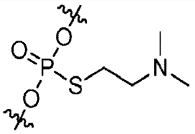
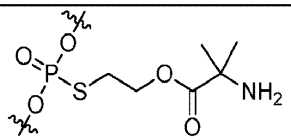
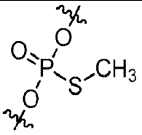
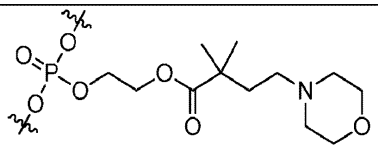
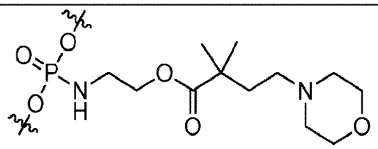
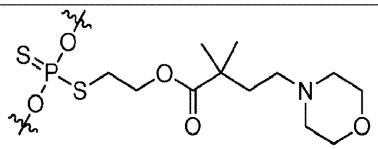
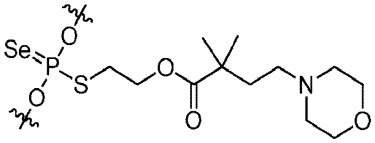
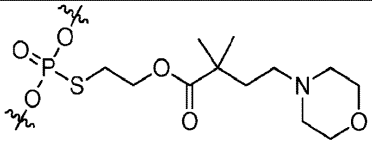
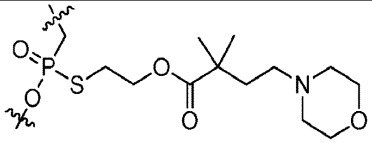
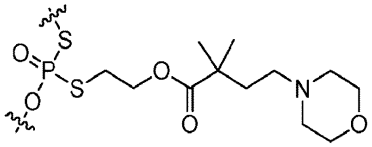
特に指定しない限り、オリゴヌクレオチド配列を用いて使用されるとき、各ｓ、ｓ１、ｓ２、ｓ３、ｓ４、ｓ５、ｓ６およびｓ７は、独立して、下記表１に示される次の修飾ヌクレオチド間結合を表す。

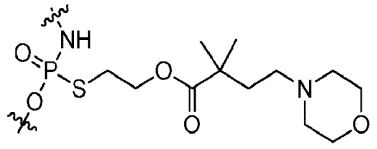
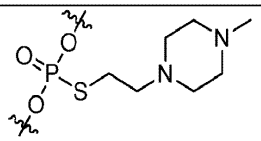
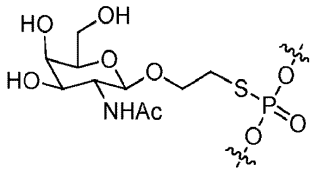
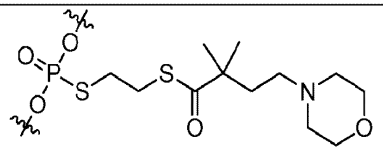
【００９９】

表１．実例となる修飾ヌクレオチド間結合

【表１】

記号	置換ヌクレオチド間結合
s	 ホスホロチオエート（　　）
s1	
s2	
s3	
s4	

s5	
s6	
s7	
s8	
s9	
s10	
s11	
s12	
s13	
s14	

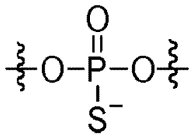
s15	
s16	
s17	
s18	

【０１００】

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

（

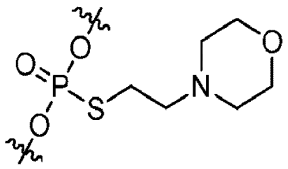
【化２】



）

；および２）ＣとＧ間の

【化３】



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。特に指定しない限り、オリゴヌクレオチド配列に先行するＲｐ／Ｓｐの表記は、該オリゴヌクレオチド配列の順次５’から３’の該ヌクレオチド間結合のキラル結合リン原子の立体配置を言い表す。例えば、（Ｒｐ，Ｓｐ）－ＡＴｓＣｓ１ＧＡでは、ＴとＣ間の「ｓ」結合のリンは、Ｒｐ立体配置を有し、ＣとＧ間の「ｓ１」結合のリンは、Ｓｐ立体配置を有する。いくつかの実施形態では、「全（Ｒｐ）」または「全（Ｓｐ）」は、オリゴヌクレオチドの全キラル結合リン原子が、それぞれ、同じＲｐまたはＳｐ立体配置を有することを示すために使用される。例えば、全（Ｒｐ）－ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣは、該オリゴヌクレオチドの全ての該キラル結合リン原子が、Ｒｐ立体配置を有することを示す；全（Ｓｐ）－ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣは、該オリゴヌクレオチドの全ての該キラル結合リン原子が、Ｓｐ立体配置を有することを示す。

【０１０１】

オリゴヌクレオチド型：本明細書中で使用されるとき、「オリゴヌクレオチド型」という言い回しは、特定の塩基配列、骨格結合パターン（すなわち、ヌクレオチド間結合型パターン、例えば、リン酸、ホスホロチオエート、他）、骨格キラル中心パターン（すなわち、結合リン立体化学パターン（Ｒｐ／Ｓｐ））、および骨格リン修飾パターン（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。共通に表記された「型」のオリゴヌクレオチドは、互いに、構造的に同一である。

【０１０２】

当業者は、オリゴヌクレオチド鎖の各ヌクレオチド単位が、該結合リンにおける特定の立体化学および／または該結合リンにおける特定の修飾および／または特定の塩基および／または特定の糖を有するように、設計されおよび／または前以て選択され得るように、本発明の合成方法が、オリゴヌクレオチド鎖の合成中にある程度の制御を提供することを認識するだろう。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖は、該結合リンにおける特定の組み合わせの修飾を有するように、設計されおよび／または決定される。いくつかの実施形態では、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ため、設計されおよび／または選択される。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド鎖は、特定の組み合わせの１つ以上の上記構造的特徴を有するように、設計されおよび／または選択される。本発明は、複数のオリゴヌクレオチド分子を含むまたはから成る組成物（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。いくつかの実施形態では、かかる全分子は、同じ型である（すなわち、互いに構造的に同一である）。しかしながら、多くの実施形態では、提供される組成物は、通常、所定の相対量で、異なる型の複数のオリゴヌクレオチドを含む。

【０１０３】

キラル制御：本明細書中で使用されるとき、「キラル制御」は、オリゴヌクレオチド鎖内のキラル結合リン毎の立体化学表記を制御する能力を表す。「キラル制御されたオリゴヌクレオチド」という言い回しは、該キラル結合リンに関して単一のジアステレオ異性体で存在するオリゴヌクレオチドを表す。

【０１０４】

キラル制御オリゴヌクレオチド組成物：本明細書中で使用されるとき、「キラル制御オリゴヌクレオチド組成物」という言い回しは、所定のレベルの個々のオリゴヌクレオチド型を含むオリゴヌクレオチド組成物を表す。例えば、いくつかの実施形態では、キラル制御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型を含む。いくつかの実施形態では、キラル制御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型の混合物を含む。実例となるキラル制御オリゴヌクレオチド組成物が、本明細書中にさらに記載される。

【０１０５】

キラル純粋：本明細書で、「キラル純粋」という言い回しは、全オリゴヌクレオチドが、該結合リンに関して単一のジアステレオ異性体で存在するキラル制御オリゴヌクレオチド組成物を言い表すために使用される。

【０１０６】

キラル均一：本明細書中で使用されるとき、「キラル均一」という言い回しは、全ヌクレオチド単位が、該結合リンにおいて、同じ立体化学を有するオリゴヌクレオチド分子または型を言い表すために使用される。例えば、そのヌクレオチド単位が、全て、結合リンにおいて、Ｒｐ立体化学を有するオリゴヌクレオチドは、キラル均一である。同様に、そのヌクレオチド単位が、全て、結合リンにおいて、Ｓｐ立体化学を有するオリゴヌクレオチドは、キラル均一である。

【０１０７】

所定の：所定は、例えば、無作為に起こるまたは達成の反対語として、計画的に選択されることを意味する。当業者は、本明細書を読み、本発明が、提供される組成物の調剤および／または封入のための特定のオリゴヌクレオチド型の選択を可能にし、提供される組

成物が調剤されるように、任意に、選択された特定の相対量で、正確に、選択された特定の型の制御された調剤をさらに可能にする新規および驚くべき技術を提供することを理解するであろう。かかる提供される組成物は、本明細書に記載の「所定の」ものである。それらが、偶然、特定のオリゴヌクレオチド型の意図的な作成を制御できないプロセスを通して作成されたので、特定の個々のオリゴヌクレオチド型を含み得る組成物は、「所定の」組成物ではない。いくつかの実施形態では、所定の組成物は、（例えば、制御されたプロセスの反復を通して）意図的に複製され得るものである。

【０１０８】

結合リン：本明細書中で定義されるとき、「結合リン」という言い回しは、表される特定のリン原子が、ヌクレオチド間結合中に存在し、該リン原子が、天然ＤＮＡおよびＲＮＡ中に起こるヌクレオチド間結合のホスホジエステルのリン原子に対応することを示すために使用される。いくつかの実施形態では、結合リン原子は、修飾ヌクレオチド間結合中にあり、ホスホジエステル結合の各酸素原子が、有機または無機部分により、任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態では、結合リン原子は、式ＩのＰ＊である。いくつかの実施形態では、結合リン原子は、キラルである。いくつかの実施形態では、キラル結合リン原子は、式ＩのＰ＊である。

【０１０９】

Ｐ修飾：本明細書中で使用されるとき、「Ｐ修飾」という語は、立体化学的修飾以外の結合リンにおけるいずれもの修飾を表す。いくつかの実施形態では、Ｐ修飾は、結合リンに共有結合した懸垂部分の付加、置換、または除去を含む。いくつかの実施形態では、該「Ｐ修飾」は、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}（式中、Ｘ、ＬおよびＲ^{1}は、独立して、本明細書および下記に定義および記載の通りである）である。

【０１１０】

ブロックマー：本明細書中で使用されるとき、「ブロックマー」という語は、その各個別のヌクレオチド単位を特徴付ける構造的特徴のパターンが、該ヌクレオチド間リン結合において共通の構造的特徴を共有する少なくとも２つの連続したヌクレオチド単位の存在により特徴付けられるオリゴヌクレオチド鎖を表す。共通の構造的特徴は、該結合リンにおける共通立体化学または該結合リンにおける共通修飾を意味する。いくつかの実施形態では、該ヌクレオチド間リン結合における共通構造的特徴を共有する該少なくとも２つの連続ヌクレオチド単位は、「ブロック」と呼ばれる。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、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つの連続ヌクレオチド単位は、該結合リンにおいて、同じ立体化学を有する。かかる少なくとも２つの連続ヌクレオチド単位は、「ステレオブロックマー」を形成する。例えば、少なくとも２つの連続ヌクレオチド単位、ＴｓおよびＣｓ１が、結合リン（両方のＳｐ）において、同じ立体化学を有するので、（Ｒｐ，Ｓｐ）－ＡＴｓＣｓ１ＧＡは、ステレオブロックマーである。同じオリゴヌクレオチドでは、（Ｒｐ，Ｓｐ）－ＡＴｓＣｓ１は、ブロックを形成し、それは、立体ブロックである。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、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つの連続ヌクレオチド単位は、該結合リンにおいて、同じ修飾を有する。かかる少なくとも２つの連続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）－ＡＴｓＣｓＧＡは、少なくとも２つの連続ヌクレオチド単位、ＴｓおよびＣｓが、同じＰ修飾（すなわち、両方がホスホロチオエートジエステルである）を有するので、Ｐ修飾ブロックマーである。（Ｒｐ，Ｓｐ）－ＡＴｓＣｓＧＡの同じオリゴヌクレオチドでは、ＴｓＣｓは、ブロックを形成し、それは、Ｐ修飾ブロックである。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、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つの連続ヌクレオチド単位は、該結合リンにおいて、同じ立体化学および同じ修飾を有する。少なくとも２つの連続ヌクレオチド単位は、「結合ブロック」を形成する。

例えば、少なくとも２つの連続ヌクレオチド単位、ＴｓおよびＣｓが、同じ立体化学（両方のＲｐ）およびＰ修飾（両方のホスホロチオエート）を有するので、（Ｒｐ，Ｒｐ）－ＡＴｓＣｓＧＡは、結合ブロックマーである。（Ｒｐ，Ｒｐ）－ＡＴｓＣｓＧＡの同じオリゴヌクレオチドでは、ＴｓＣｓは、ブロックを形成し、結合ブロックである。

【０１１４】

いくつかの実施形態では、ブロックマーは、独立して、立体ブロック、Ｐ修飾ブロックおよび結合ブロックから選択される１つ以上のブロックを含む。いくつかの実施形態では、ブロックマーは、１つのブロックに対するステレオブロックマー、および／または別のブロックに対するＰ修飾ブロックマー、および／またはさらに別のブロックに対する結合ブロックマーである。例えば、（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ）－ＡＡｓＴｓＣｓＧｓＡｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１ＡＴＣＧは、立体ブロックＡｓＴｓＣｓＧｓＡｓ１（結合リンにおける全Ｒｐ）もしくはＴｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１（結合リンにおける全Ｓｐ）に関してステレオブロックマーであり、Ｐ修飾ブロックＡｓＴｓＣｓＧｓ（全ｓ結合）もしくはＡｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１（全ｓ１結合）に関してＰ修飾ブロックマーであり、または結合ブロックＡｓＴｓＣｓＧｓ（結合リンにおける全ＲｐおよびＳｓ結合）もしくはＴｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１（結合リンにおける全ＳｐおよびＳｓ１結合）に関して結合ブロックマーである。

【０１１５】

アルトマー（altmer）：本明細書中で使用されるとき、「アルトマー」という語は、各個別のヌクレオチド単位を特徴付けるその構造的特徴パターンが、該ヌクレオチド間リン結合における特定の構造的特徴を共有する、オリゴヌクレオチド鎖中に連続する２つのヌクレオチド単位がないことで特徴付けられるオリゴヌクレオチド鎖を表す。いくつかの実施形態では、アルトマーは、それが、繰り返しパターンを含むように設計される。いくつかの実施形態では、アルトマーは、それが、繰り返しパターンを含まないように設計される。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、アルトマーは、「ステレオアルトマー」であり、例えば、該結合リンにおいて同じ立体化学を有する連続する２つのヌクレオチド単位はない。例えば、（Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ）－ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、アルトマーは、「Ｐ修飾アルトマー」であり、例えば、該結合リンにおいて同じ修飾を有する連続する２つの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、全（Ｓｐ）ＣＡｓ１ＧｓＴ。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、アルトマーは、「結合アルトマー」であり、例えば、該結合リンにおいて同一の立体化学または同一の修飾を有する連続する２つのヌクレオチド単位はない。例えば、（Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ）－ＧｓＣｓ１ＣｓＴｓ１ＣｓＡｓ１ＧｓＴｓ１ＣｓＴｓ１ＧｓＣｓ１ＴｓＴｓ２ＣｓＧｓ３ＣｓＡｓ４ＣｓＣ。

【０１１９】

ユニマー：本明細書中で使用されるとき、「ユニマー」という語は、各個別のヌクレオチド単位を特徴付けるその構造的特徴パターンは、鎖内の全ヌクレオチド単位が、該ヌクレオチド間リン結合における少なくとも１つの共通構造的特徴を共有するものであるオリゴヌクレオチド鎖を表す。共通構造的特徴は、該結合リンにおける共通立体化学または該結合リンにおける共通修飾を意味する。

【０１２０】

いくつかの実施形態では、ユニマーは、「ステレオユニマー」であり、例えば、全ヌクレオチド単位は、該結合リンにおいて同じ立体化学を有する。例えば、該結合全てがＳｐ

リンを有する、全（Ｓｐ）－ＣｓＡｓ１ＧｓＴ。
【０１２１】
いくつかの実施形態では、ユニマーは、「Ｐ修飾ユニマー」であり、例えば、全ヌクレオチド単位は、該結合リンにおいて同じ修飾を有する。例えば、該ヌクレオチド間結合全てがホスホロチオエートジエステルである、（Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ）－ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ。
【０１２２】
いくつかの実施形態では、ユニマーは、「結合ユニマー」であり、例えば、全ヌクレオチド単位は、該結合リンにおいて同じ立体化学および同じ修飾を有する。例えば、該ヌクレオチド間結合全てが、Ｓｐ結合リンを有するホスホロチオエートジエステルである、全（Ｓｐ）－ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ。
【０１２３】
ギャップマー：本明細書中で使用されるとき、「ギャップマー」という語は、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リン酸ジエステル結合、例えば、天然ＤＮＡまたはＲＮＡ中に見られるものなどであることで特徴付けられるオリゴヌクレオチド鎖を表す。いくつかの実施形態では、該オリゴヌクレオチド鎖の１つ以上のヌクレオチド間リン結合は、天然ＤＮＡまたはＲＮＡ中に見られるものなどのリン酸ジエステル結合である。例えば、ＣとＡ間の該ヌクレオチド間結合がリン酸ジエステル結合である、全（Ｓｐ）－ＣＡｓ１ＧｓＴ。
【０１２４】
スキップマー：本明細書中で使用されるとき、「スキップマー」という語は、該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ＤＮＡまたはＲＮＡ中に見られるものなどであり、該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、修飾されたヌクレオチド間結合である、ギャップマーの型を表す。例えば、全（Ｓｐ）－ＡｓＴＣｓ１ＧＡｓ２ＴＣｓ３Ｇである。
【０１２５】
本発明の目的のため、化学元素は、ＣＡＳ編集、化学と物理のハンドブック、６７版、１９８６－８７年、内表紙の元素周期表に従って特定される。
【０１２６】
本発明の化合物および組成物に関する本明細書に記載の方法および構造は、薬剤的に許容可能な酸または塩基付加酸ならびにこれらの化合物および組成物の全立体異性体にも適用する。
【図面の簡単な説明】
【０１２７】
【図１】キラル制御オリゴヌクレオチドは、ステレオランダム（stereorandom）オリゴヌクレオチドと比較して、ＨＰＬＣで有意に異なる保持時間を有する。Ａ：粗キラル制御オリゴヌクレオチド（オリゴヌクレオチド１０１）；Ｃ：対応するステレオランダムオリゴヌクレオチド（オリゴヌクレオチド１１８）。
【０１２８】
【図２】キラル制御オリゴヌクレオチドおよびステレオランダムオリゴヌクレオチドのＨＰＬＣ。Ａ：オリゴヌクレオチド１０１（全Ｒｐ）；Ｂ：オリゴヌクレオチド１０２（全Ｓｐ）；およびＣ：オリゴヌクレオチド１１８（ステレオランダム）。
【０１２９】
【図３】キラル制御オリゴヌクレオチドおよびステレオランダムオリゴヌクレオチドのＴｍ。
【０１３０】
【図４】代表的データ：標的および内在性コントロールペア産出単一単位複製配列の融解曲線分析。

【０１３１】
【図５】化合物の代表的データおよびＩＣ$_{50}$。
【０１３２】
【図６】粗（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（（ＲＲＳ）$_6$－Ｒ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１３３】
【図７】精製（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（（ＲＲＳ）$_6$－Ｒ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１３４】
【図８】（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（（ＲＲＳ）$_6$－Ｒ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＬＣＭＳ。
【０１３５】
【図９】粗（Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（Ｓ－（ＲＲＳ）$_6$、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１３６】
【図１０】精製（Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（Ｓ－（ＲＲＳ）$_6$、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１３７】
【図１１】（Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（Ｓ－（ＲＲＳ）$_6$、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＬＣＭＳ。
【０１３８】
【図１２】粗（Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（ＲＳ－（ＲＲＳ）$_5$－ＲＲ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１３９】
【図１３】精製（Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（ＲＳ－（ＲＲＳ）$_5$－ＲＲ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１４０】
【図１４】（Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（ＲＳ－（ＲＲＳ）$_5$－ＲＲ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓユニマー））のＬＣＭＳ。
【０１４１】
【図１５】粗（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５

ｍＣｓ１Ｇ］（３Ｒ－５Ｓ－３Ｒ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓ１ユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１４２】
【図１６】精製（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（３Ｒ－５Ｓ－３Ｒ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓ１ユニマー））のＨＰＬＣ。
【０１４３】
【図１７】（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（３Ｒ－５Ｓ－３Ｒ、ステレオブロックマーおよびＰ修飾ユニマー（ｓ１ユニマー））のＬＣＭＳ。
【０１４４】
【図１８】粗全（Ｒｐ）－ｄ［Ｃｓ３Ａｓ３Ｇｓ３Ｔ］（Ｐ修飾ユニマー（ｓ３ユニマー）、ステレオユニマーおよび結合ユニマー）のＨＰＬＣ。
【０１４５】
【図１９】全（Ｒｐ）－ｄ［Ｃｓ３Ａｓ３Ｇｓ３Ｔ］（Ｐ修飾ユニマー（ｓ３ユニマー）、ステレオユニマーおよび結合ユニマー）のＬＣＭＳ。
【０１４６】
【図２０】粗全（Ｒｐ）－ｄ［Ｃｓ２Ａｓ２Ｇｓ２Ｔ］（Ｐ修飾ユニマー（ｓ２ユニマー）、ステレオユニマーおよび結合ユニマー）のＨＰＬＣ。
【０１４７】
【図２１】全（Ｒｐ）－ｄ［Ｃｓ２Ａｓ２Ｇｓ２Ｔ］（Ｐ修飾ユニマー（ｓ２ユニマー）、ステレオユニマーおよび結合ユニマー）のＬＣＭＳ。
【０１４８】
【図２２】粗全（Ｓｐ）－ｄ［Ｃｓ１ＡＧｓ１Ｔ］（ギャップマー、ステレオアルトマー、Ｐ修飾アルトマーおよび結合アルトマー）のＨＰＬＣ。
【０１４９】
【図２３】全（Ｓｐ）－ｄ［Ｃｓ１ＡＧｓ１Ｔ］（ギャップマー、ステレオアルトマー、Ｐ修飾アルトマーおよび結合アルトマー）のＬＣＭＳ。
【０１５０】
【図２４】粗全（Ｒｐ）－ｄ［ＴｓＣｓ１ＡｓＴ］（ステレオユニマー、Ｐ修飾アルトマーおよび結合アルトマー）。
【０１５１】
【図２５】全（Ｒｐ）－ｄ［ＴｓＣｓ１ＡｓＴ］（ステレオユニマー、Ｐ修飾アルトマーおよび結合アルトマー）のＬＣＭＳ。
【０１５２】
【図２６】ＷＯ２０１２／０３０６８３に記載および本発明の方法を用いた合成で企図される、実例となるオリゴヌクレオチド。
【０１５３】
【図２７】ＷＯ２０１２／０３０６８３に記載および本発明の方法を用いた合成で企図される、実例となるオリゴヌクレオチド。
【０１５４】
【図２８】ＷＯ２０１２／０３０６８３に記載および本発明の方法を用いた合成で企図される、実例となるオリゴヌクレオチド。
【０１５５】
【図２９】ＷＯ２０１２／０３０６８３に記載および本発明の方法を用いた合成で企図される、実例となるオリゴヌクレオチド。
【０１５６】
【図３０】ＷＯ２０１２／０３０６８３に記載および本発明の方法を用いた合成で企図さ

れる、実例となるオリゴヌクレオチド。
【０１５７】
【図３１】本発明の方法で使用するためのＷＯ２０１２／０３０６８３に記載の実例となるリンカー。
【０１５８】
【図３２】本発明の方法で使用するためのＷＯ２０１２／０３０６８３に記載の実例となるリンカー。
【０１５９】
【図３３】本発明の方法で使用するためのＷＯ２０１２／０３０６８３に記載の実例となるリンカー。
【０１６０】
【図３４】本発明の方法で使用するためのＷＯ２０１２／０３０６８３に記載の実例となるリンカー。
【０１６１】
【図３５】粗ＤＭＴ処理オリゴヌクレオチド：ＯＮＴ－７５（パネルＡ）；ＯＮＴ－８０（パネルＢ）；ＯＮＴ－７７（パネルＣ）；ＯＮＴ－８１（パネルＤ）；ＯＮＴ－８７（パネルＥ）；ＯＮＴ－８８（パネルＦ）；ＯＮＴ－８９（パネルＧ）；ＯＮＴ－８２（パネルＨ）；ＯＮＴ－８４（パネルＩ）；ＯＮＴ－８５（パネルＪ）；ＯＮＴ－８６（パネルＫ）の逆相ＨＰＬＣ。
【０１６２】
【図３６】精製ＤＭＴ処理なしオリゴヌクレオチド：ＯＮＴ－７５（パネルＡ）；ＯＮＴ－８０（パネルＢ）；ＯＮＴ－７７（パネルＣ）；ＯＮＴ－８１（パネルＤ）；ＯＮＴ－８７（パネルＥ）；ＯＮＴ－８８（パネルＦ）；ＯＮＴ－８９（パネルＧ）；ＯＮＴ－８２（パネルＨ）；ＯＮＴ－８４（パネルＩ）；ＯＮＴ－８５（パネルＪ）；ＯＮＴ－８６（パネルＫ）の逆相ＨＰＬＣ。
【０１６３】
【図３７】精製ＤＭＴ処理なしオリゴヌクレオチド：ＯＮＴ－７５、ＯＮＴ－７７、ＯＮＴ－８０、ＯＮＴ－８１、ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８、ＯＮＴ－８９、ａｎｄＯＮＴ－４１（パネルＡ）のオーバーレイ；ＯＮＴ－７５、ＯＮＴ－７７、ＯＮＴ－８０、ＯＮＴ－８１、ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８、ＯＮＴ－８９、およびＯＮＴ－４１（パネルＢ）の逆相ＨＰＬＣトレースのオーバーレイ。
【０１６４】
【図３８】精製ＤＭＴ処理なしオリゴヌクレオチド：ＯＮＴ－８２、ＯＮＴ－８４、ＯＮＴ－８５、ＯＮＴ－８６、およびＯＮＴ－８３（パネルＡ）の逆相ＨＰＬＣトレースのオーバーレイ；ＯＮＴ－８２、ＯＮＴ－８４、ＯＮＴ－８５、ＯＮＴ－８６、およびＯＮＴ－８３（パネルＢ）の逆相ＨＰＬＣトレースのオーバーレイ。
【０１６５】
【図３９】キラル制御オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８１、ＯＮＴ－４１、ＯＮＴ－７５、ＯＮＴ－７７、およびＯＮＴ－８０のＴｍオーバーレイ。
【０１６６】
【図４０】ＯＮＴ－４１、ＯＮＴ－７５、ＯＮＴ－８０、ＯＮＴ－７７、およびＯＮＴ－８１に対する、５ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。
【０１６７】
【図４１】ミポメルセン、「全Ｒ」ミポメルセン、「全Ｓ」ミポメルセン、「ＲＳＲ」ミポメルセン、および「ＳＲＳ」ミポメルセンに対する、５ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。
【０１６８】

【図４２】ミポメルセン、「全Ｒ」ミポメルセン、「全Ｓ」ミポメルセン、「ＲＳＲ」ミポメルセン、および「ＳＲＳ」ミポメルセンに対する、１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。

【０１６９】

【図４３】ミポメルセン、ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８、およびＯＮＴ－８９に対する、５ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。

【０１７０】

【図４４】ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８、およびＯＮＴ－８９に対する、１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。

【０１７１】

【図４５】ｓｉＲＮＡ二本鎖を用いたＨｅｐ３Ｂ処置後の残留ＰＣＳＫ－９ｍＲＮＡ％の図示。

【０１７２】

【図４６】ｓｉＲＮＡ二本鎖カーブフィッティングを用いたＨｅｐ３Ｂ処置後の残留ＰＣＳＫ－９ｍＲＮＡ％の図示。

【０１７３】

.

【０１７４】

【図４７】ｓｉＲＮＡ二本鎖を用いたＨｅＬａ処置後の残留ＰＣＳＫ－９ｍＲＮＡ％の図示。

【０１７５】

【図４８】ｓｉＲＮＡ二本鎖カーブフィッティングを用いたＨｅＬａ処置後の残留ＰＣＳＫ－９ｍＲＮＡ％の図示。

【０１７６】

【図４９】３ホスホロチオエート立体中心を含むｓｉＲＮＡ二本鎖を用いたＨｅＬａ処置後の残留ＰＣＳＫ－９ｍＲＮＡ％の図示。

【０１７７】

【図５０】３ホスホロチオエート立体中心カーブフィッティングを含むｓｉＲＮＡ二本鎖を用いたＨｅＬａ処置後の残留ＰＣＳＫ－９ｍＲＮＡ％の図示。

【０１７８】

【図５１】精製ＤＭＴ処理なしオリゴヌクレオチド：ＯＮＴ－１０８、ＯＮＴ－１０９、およびＯＮＴ－１１４の逆相ＨＰＬＣトレースのオーバーレイ。

【０１７９】

【図５２】精製ＤＭＴ処理なしオリゴヌクレオチド：ＯＮＴ－１０６、ＯＮＴ－１０７、およびＯＮＴ－１１４の逆相ＨＰＬＣトレースのオーバーレイ。

【０１８０】

【図５３】１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。

【０１８１】

【図５４】５ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに複数回腹腔内投与（ｎ＝３～４）後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベルの時間経過の図示。下矢印は投薬日を示す。

【０１８２】

【図５５】１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８またはＯＮＴ－８

９）またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、１７日目のＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベル。

【０１８３】

【図５６】１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８またはＯＮＴ－８９）またはミポメルセンをｈｕＡｐｏＢマウスに腹腔内投与後の、２４日目のＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベル。

【０１８４】

【図５７】１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ－４１、ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８またはＯＮＴ－８９）をｈｕＡｐｏＢマウスに投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベル。

【０１８５】

【図５８】１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８またはＯＮＴ－８９）をｈｕＡｐｏＢマウスに投与後の、ＰＢＳと比較した血清ヒトアポリポタンパク質Ｂタンパク質レベル。

【０１８６】

【図５９】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－７５、ＯＮＴ－７７、ＯＮＴ－８０、ＯＮＴ－８１、ＯＮＴ－８７、ＯＮＴ－８８、ＯＮＴ－８９およびＯＮＴ－４１に対するｓｖＰＤＥ消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ定量分析のプロット。

【０１８７】

【図６０】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－７５（全（Ｒｐ））－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣに対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。

【０１８８】

【図６１】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－７７（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ（５Ｒ－１０Ｓ－４Ｒ）に対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。

【０１８９】

【図６２】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８０（全（Ｓｐ））－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣに対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。

【０１９０】

【図６３】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８１（Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ）－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ（５Ｓ－１０Ｒ－４Ｓ）に対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。

【０１９１】

【図６４】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８７（Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ（５Ｒ－（ＳＳＲ）$_3$－５Ｒ）に対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。

【０１９２】

【図６５】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８８（Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ）－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ（５Ｓ－（ＲＲＳ）$_3$－５Ｓ）に対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。

【０１９３】
【図６６】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８９（Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｓｐ）－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ（（ＳＲ）$_9$Ｓ）に対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。
【０１９４】
【図６７】オリゴヌクレオチドＯＮＴ－４１（ジアステレオ混合物）－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣに対する、ｎＰ１を用いた酵素消化研究のイオン交換ＨＰＬＣ。
【０１９５】
【図６８】キラル純粋オリゴヌクレオチドＯＮＴ－７５およびＯＮＴ－７７の、プレインキュベートしたラット全肝臓ホモジネートのステレオランダム「親」オリゴヌクレオチドＯＮＴ－４１（ミポメルセン）との安定性比較。
【０１９６】
【図６９】１３ｂモノマーを用いたオリゴヌクレオチド誘導体製造のＵＰＬＣプロファイル。
【０１９７】
【図７０】２７モノマーを用いたオリゴヌクレオチド誘導体製造のＵＰＬＣプロファイル。
【０１９８】
【図７１】立体異性体（ＯＮＴ－８２、ＯＮＴ－８３、ＯＮＴ－８４、ＯＮＴ－８５またはＯＮＴ－８６）での初代培養マウス肝細胞のトランスフェクション後の模擬および未処理対照と比較したマウスアポリポタンパク質Ｂ／ＧＡＰＤＨｍＲＮＡレベル。
【０１９９】
【図７２】立体異性体（ＯＮＴ－８３、ＯＮＴ－８４、ＯＮＴ－８５またはＯＮＴ－８６）での初代培養マウス肝細胞のトランスフェクション後の模擬および未処理対照と比較したマウスアポリポタンパク質Ｂ／ＧＡＰＤＨｍＲＮＡレベル。
【発明を実施するための形態】
【０２００】
合成オリゴヌクレオチドは、幅広い種類の応用へ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は、治療、診断、研究および新規ナノマテリアル用途において有用である。天然の核酸の使用は（例えば、非修飾ＤＮＡまたはＲＮＡ）、例えば、エンドおよびエキソヌクレアーゼに対するそれらの感受性により制限される。よって、これらの短所を回避するために、さまざまな合成同等物が開発されている。合成同等物にはそれらの分子を分解されにくくする骨格修飾を含む合成オリゴヌクレオチドが含まれる。構造的な観点から見ると、そのようなインターヌクレオチドのリン酸結合に対する修飾は、キラリティーを導入する。オリゴヌクレオチドのある特性は、オリゴヌクレオチドの骨格を形成するリン原子の配置により影響を受ける可能性があることが明らかになっている。例えば、インビトロの研究では、結合親和性、相補ＲＮＡと特に結合する配列、ヌクレアーゼに対する安定性といったアンチセンスヌクレオチドの特性は、特に、骨格のキラリティーによって影響を受けることを示している（例えば、リン原子の配置）。よって、本発明は、リン原子修飾核酸並びにその関連組成物および方法を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドの必要性があるという認識を包含する。いくつかの実施形態において、本発明は、構造的に最適化され、例えば、インビトロおよび／またはインビボでの応用における安定性の向上および有効性の増加など、特定の望ましい特性を示すキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。
【０２０１】
インターヌクレオチドのリン酸の２個の非架橋酸素原子のうち、１または２個が、異なる種類の原子または置換基で置き換えられたオリゴヌクレオチドは、治療薬として有用で

あることが知られており、酵素反応の仕組みを明らかにする調査が行われている。しかしながら、そのようなオリゴヌクレオチドは、多くの用途においてその使用をできなくする望ましくない特性を示すことがある（例えば、ヌクレアーゼによる分解に対する感受性、不十分な細胞膜透過性）。よって、さまざまな種類の化学修飾が、特性を改善するおよび／または新しい機能を与えるために開発された。

【０２０２】

修飾オリゴヌクレオチド構造

上述の通り、さまざまな用途および症状におけるオリゴヌクレオチド組成物の有用性を考慮して、当業者は、天然のオリゴヌクレオチド分子と比較し、例えば、特定の用途および症状に利用される、好ましいまたは望ましい特性や性質を有し得るオリゴヌクレオチド構造の修飾の開発の努力を行ってきた。そのような例示的な修飾が、以下に記載される。

【０２０３】

国際公開第２０１０／１４１４７１号（以下「Ｔｒａｖｅｒｓａ　Ｉ」）は、還元された正味ポリアニオン電荷を有するように修飾された異なる種類の核酸構成の修飾を教示している。国際公開第２０１０／０３９５４３号（以下「Ｔｒａｖｅｒａ　ＩＩ」）は、還元ポリアニオン電荷を用いた中性ポリヌクレオチド（ＮＮ）の組成物および作製方法を教示している。国際公開第２００８／００８４７６号（ここでは、「Ｔｒａｖｅｒｓａ　ＩＩＩ」）は、ＳＡＴＥ（Ｉｍｂａｃｈ－タイプ）リン酸プロドラッグの合成について記載している。Ｔｒａｖｅｒｓａ　Ｉ、ＩＩおよびＩＩＩは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２０４】

国際公開第２０１０／０７２８３１号（以下「Ｇｉｒｉｎｄｕｓら」）もまた、オリゴヌクレオチドの修飾を教示している。特に、Ｇｉｒｉｎｄｕｓらは、プロドラッグとしてのホスホロチオエートトリエステルを生成する硫化剤の使用を開示している。Ｇｉｒｉｎｄｕｓらは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２０５】

同様に、国際公開第２００４／０８５４５４号（以下「Ａｖｅｃｉａ　Ｉ」）は、例えば、ポリ－Ｈ－ホスホネートジエステルの一時的なシリル化を通じたホスホロチオエートオリゴヌクレオチドの調製について教示している。国際公開第２００１／０２７１２６号（以下「Ａｖｅｃｉａ　ＩＩ」）は、Ｈ－ホスホネートモノマーを固体支持された５’－ヒドロキシルオリゴヌクレオチドにカップリングし、さらに、得られたＨ－ホスホネートジエステルをホスホロチオエートトリエステルに硫化するホスホトリエステルオリゴヌクレオチドの固相合成のプロセスを教示している。国際公開第２００１／０６４７０２号（以下「Ａｖｅｃｉａ　ＩＩＩ」）の開示は、Ａｖｅｃｉａ　ＩＩに類似しており、さらに異なる固体支持体に関する固相合成を記載している。Ａｖｅｃｉａ　Ｉ、ＩＩ、およびＩＩＩは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２０６】

国際公開第１９９７／００６１８３号（以下「Ｃｈｉｒｏｎ」）は、カチオンインターヌクレオチド結合を有し、立体的に純粋なアミド化物などの非対称のリンを含むオリゴヌクレオチドを教示している。Ｃｈｉｒｏｎは、ジアステレオマーの混合物または例えば、カラムクロマトグラフィーなどの解決手段を用いて結晶化させて得られた立体的に純粋なオリゴヌクレオチドを教示している。Ｃｈｉｒｏｎは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を教示していない。

【０２０７】

国際公開第２００９／１４６１２３号（以下「Ｓｐｒｉｎｇ　Ｂａｎｋ　Ｉ」）は、置換されたリン酸オリゴヌクレオチドおよびホスホロチオエートトリエステルを用いた、ウイルス感染を治療する組成物および方法を開示している。国際公開第２００７／０７０５

９８号（以下「Ｓｐｒｉｎｇ　Ｂａｎｋ　ＩＩ」）は、抗ウイルス核酸としてのホスホトリエステルプロドラッグおよびホスホロチオエートプロドラッグの合成について教示している。Ｓｐｒｉｎｇ　Ｂａｎｋ　ＩおよびＩＩは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２０８】

欧州特許第０７７９８９３号（以下「Ｈｙｂｒｉｄｏｎ」）は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの多くの細胞を取り込む脂溶性プロドラッグを教示しており、ＲｐおよびＳｐホスホロチオエートおよびホスホロチオエートトリエステルダイマーは、異なる酵素安定性を有することを確認した。Ｈｙｂｒｉｄｏｎは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２０９】

国際公開第１９９７／０４７６３７号（以下「Ｉｍｂａｃｈ　Ｉ」）は、一般的にＩｍｂａｃｈ「ＳＡＴＥ」（Ｓ－アシルチオエチル）プロドラッグオリゴヌクレオチド組成物および方法を教示している。Ｉｍｂａｃｈ　Ｉは、例えば、生物可逆性ホスホトリエステルプロドラッグ、および合成後のアルキル化またはプロドラッグ基を含むホスホラミダイトを用いたあるプロドラッグオリゴヌクレオチドの調製を記載している。米国特許第６，１２４，４４５号（以下「Ｉｍｂａｃｈ　ＩＩ」）は、修飾アンチセンスおよびキメラプロドラッグオリゴヌクレオチドを教示している。Ｉｍｂａｃｈ　ＩおよびＩＩは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２１０】

国際公開第２００６／０６５７５１号（以下「Ｂｅａｕｃａｇｅ」）は、熱的に不安定な置換基（ホスホラミダイトモノマーを通じて導入される置換基）を含むＣｐＧオリゴヌクレオチドホスホロチオエートプロドラッグおよびその用途について教示している。Ｂｅａｕｃａｇｅは、本発明に記載されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、その組成物、およびそれを用いた作成方法を開示していない。

【０２１１】

Ｔａｋｅｓｈｉ　Ｗａｄａらは、アミダイトキラル補助剤を用いたＰ－キラル核酸の立体制御された合成の新規方法を開発した（日本特許第４３４８０７７号、国際公開第２００５／０１４６０９号、国際公開第２００５／９２９０９号、および国際公開第２０１０／０６４１４６号、ここで「Ｗａｄａ　Ｉ」と順に呼ぶ）。特に、国際公開第２０１０／０６４１４６号（ここで「Ｗａｄａ　ＩＩ」と呼ぶ）は、リンにおける立体化学的な配置が制御された、リン酸原子修飾核酸の合成方法を開示している。しかしながら、Ｗａｄａ　ＩＩの方法は、各キラル結合したリン酸の個々のＰ－修飾を制御および設計された方法で提供していないという点において限定される。つまり、Ｗａｄａ　ＩＩのＰ－修飾の結合方法は、一度、所望の長さに作られると、結合したリン酸で質量変更され、例えば、所望のホスホロチオエートジエステル、ホスホロアミド酸またはボラノリン酸または別のそのようなリン原子修飾核酸を提供する、縮合中間体ポリＨ－ホスホネートオリゴヌクレオチド鎖の生成を提供する（文献中、ルートＢと呼ぶ、スキーム６、３６頁）。さらに、Ｗａｄａ　ＩＩのＨ－ホスホネートオリゴヌクレオチド鎖は、より短い長さである（例えば、ダイマー、トリマー、またはテトラマー）。キャッピングステップ、経路Ｂにおいてキャッピングステップが含まれておらず、それは「ｎ－１」型副生成物の蓄積の結果として、一般的に低い純度を示す事実と組み合わせると、Ｗａｄａ　ＩＩ経路には、より長いオリゴヌクレオチドの合成に関して限定が含まれる。Ｗａｄａ　ＩＩは、特定のオリゴヌクレオチドが、結合した各リン酸での異なる修飾を含みうることが予想されると一般的に企図するが、Ｗａｄａ　ＩＩでは、そのような制御された修飾を繰り返し組み込む、本明細書に記載する方法を記載または示唆していない。Ｗａｄａ　ＩＩは、結合したリン酸での修飾より前にＨ－ホスホネート中間体オリゴヌクレオチドが完全に組み込まれることを必要としない合成サイクルを記載している限りにおいて（文献中では、ルートＡ、３５頁、スキーム５、「ルートＡを通じた式１のキラルＸ－ホスホネート部分を含む核酸の合成」

と呼ぶ）、この一般的な開示は、本発明によって提供される、あるＰ－修飾を組み込むために必要とされる重要なステップを教示しておらず、このサイクルがキラル制御されたＰ－修飾のオリゴヌクレオチドの合成、特により長いオリゴヌクレオチドの合成において、有用となり得るほどの効率性や多様性を有しているわけでもない。

【０２１２】

Ｗａｄａ　ＩＩにおける少なくともそのような１つの非効率性は、Ｗａｄａ　ｅｔ　ａｌの国際公開第２０１２／０３９４４８号（以下「Ｗａｄａ　ＩＩＩ」）によって記載されている。Ｗａｄａ　ＩＩＩは、新規キラル補助剤をＷａｄａ　ＩＩの方法に使用して、一度構築したＨ－ホスホネートオリゴヌクレオチドを生成し、連続的に修飾して、とりわけ、ホスホロチオエートなどを得ることを開示している。Ｗａｄａらは、Ｗａｄａ　ＩＩで開示されている４つの種類のキラル補助剤は、結合したリン酸において、リンとの強い結合を形成するため、効率的に除去できないことをＷａｄａ　ＩＩＩの中で確認した。Ｗａｄａ　ＩＩＩは、Ｗａｄａ　ＩＩのキラル補助剤を除去するためには、オリゴヌクレオチド生成物の統合性を損なう傾向がある厳しい条件が必要とされる、と記載している。Ｗａｄａ　ＩＩＩは、長鎖オリゴヌクレオチドを合成する場合、この点が特に問題であることを確認した。その理由としては、少なくとも分解反応が進むにつれ、さらにオリゴヌクレオチド生成物と反応し、オリゴヌクレオチド生成物を分解する更なる副生成物が生成されるためである。したがって、Ｗａｄａ　ＩＩＩは、S_N1の仕組みを用いて、弱酸性の状態下でＨ－ホスホネートインターヌクレオチド結合を開放し（ルートＢ）、または、比較的弱塩基性条件下のβ－除去経路を通じてオリゴヌクレオチドから効率よく切断できるキラル補助剤を提供している。

【０２１３】

化学および合成の技術分野の当業者は、例えば、本発明により提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドの生成に関連する複雑さを容易に理解できるであろう。例えば、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを合成および単離するために、モノマー１回ごとの添加の条件は、以下のとおりになるように設計されなければならない。（１）化学作用は、増加するオリゴヌクレオチドの各部分と適合する；（２）各モノマーを添加する間に生成される副生成物は、増加するオリゴヌクレオチドの構成的および立体化学的な統合性を損なわない；および（３）最終粗生成物の組成は、所望のキラル制御されたオリゴヌクレオチド生成物を単離させる組成である。

【０２１４】

オリゴヌクレオチドホスホロチオエートは、治療の潜在的な可能性を示した（Ｓｔｅｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｓｃｉｅｎｃｅ　（１９９３），　２６１：１００４－１２；　Ａｇｒａｗａｌ　ｅｔ　ａｌ．，　Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ　Ｒｅｓ．　ａｎｄ　Ｄｅｖ．　（１９９２），　２：２６１－６６；　Ｂａｙｅｖｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，　Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ　Ｒｅｓ．　ａｎｄ　Ｄｅｖ．　（１９９３），　３：３８３－３９０）。ホスホロチオエートの立体化学と関連せずに調製されたオリゴヌクレオチドホスホロチオエートは、2^nジアステレオマーの混合物として存在し、ここでｎは、インターヌクレオチドホスホロチオエート結合の数である。これらのジアステレオマーホスホロチオエートの化学的および生物学的な特性は、他のものとは明確に異なり得る。例えば、Ｗａｄａら（Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ　Ｓｅｒｉｅｓ　Ｎｏ．　５１　ｐ．　１１９－１２０；　ｄｏｉ：１０．１０９３／ｎａｓｓ／ｎｒｍ０６０）は、立体的に定義された－（Ｒｐ）－（Ｕｐｓ）９Ｕ／（Ａｐ）９Ａ二本鎖は、通常の－（Ｕｐ）９Ｕ／（Ａｐ）９Ａおよび立体的に定義され二本鎖を形成しなかった－（Ｓｐ）－（Ｕｐｓ）９Ｕよりも、より高いＴｍ値を示すことを発見した。別の例において、Ｔａｎｇらによる研究は、（Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ　Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ　（１９９５），　１４：９８５－９９０）立体的に純粋なＲｐオリゴデオキシリボヌクレオシドホスホロチオエートは、定義されていないリンキラリティを有する親オリゴデオキシリボヌクレオシドホスホロチオエートよりも、ヒト血清に内在するヌクレアーゼに対して低い安定性を有することが発見された。

【０２１５】
キラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物
本発明は、粗高純度および高ジアステレオマー純度のキラル制御されたオリゴヌクレオチド、および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。いくつかの実施形態において、本発明は、粗純度が高いキラル制御されたオリゴヌクレオチド、および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。いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチド、およびキラル制御されたジアステレオマーの純度が高いオリゴヌクレオチド組成物を提供する。
【０２１６】
いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも１つの種類の複数のオリゴヌクレオチドを含み、各種類は、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；および４）骨格Ｐ－修飾のパターン、により定義されるキラル制御された組成物を提供する。
【０２１７】
いくつかの実施形態において、本発明は、同一の種類の複数のオリゴヌクレオチドを含み、各種類は、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；および４）骨格Ｐ－修飾のパターン、により定義されるキラル制御された組成物を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、２以上の種類の複数のオリゴヌクレオチドを含み、各種類は、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；および４）骨格Ｐ－修飾のパターン、により定義されるキラル制御された組成物を提供する。
【０２１８】
いくつかの実施形態において、本発明は、キラル結合したリン酸に関してジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を１以上含むオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、式Ｉの構造を有するジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を１以上含むオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、キラル結合したリン酸に関してジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を１以上、およびリン酸ジエステル結合を１以上含むオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、ジアステレオマー的に純粋な式Ｉの構造を有するインターヌクレオチド結合を１以上、およびリン酸ジエステル結合を１以上含むオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、ジアステレオマー的に純粋な式Ｉ－ｃの構造を有するインターヌクレオチド結合を１以上、およびリン酸ジエステル結合を１以上含むオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、本出願に記載されるとおり、立体選択的オリゴヌクレオチド合成を使用して調製され、キラル結合したリン酸に関して予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を形成する。例えば、（Ｒｐ／Ｓｐ，Ｒｐ／Ｓｐ，Ｒｐ／Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，ＳｐＳｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｓｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ，Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓ１Ｃｓ１Ａｓ１ＣｓＣ］で示される１つの例示的なオリゴヌクレオチドにおいて、始めの３つのインターヌクレオチド結合は、従来のオリゴヌクレオチド合成方法を用いて作製され、ジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合は、本出願に記載されるとおり、立体化学的な制御により作製される。例示的なインターヌクレオチド結合には、式Ｉの構造を有する結合も含まれるが、さらに以下に記載される。いくつかの実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、さらに本出願に記載される配列を含み、表２ならびに４、および付属書類Ａ、ＢならびにＣに記載されるものを含むが、限定されるものではない。
【０２１９】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、結合したリン酸でのキラリティーに関して、立体的に純粋なかつ立体的にランダムなインターヌクレオチド結合の組み合わせを含む。例えば、いくつかの実施形態において、結合したリン酸でのキラ

リティーに関して、それ以外では立体的にランダムであるオリゴヌクレオチド内に、１以上の立体的に定義されたインターヌクレオチド結合のブロックを有することが望ましい。いくつかの実施形態において、結合したリン酸でのキラリティーに関して、それ以外では立体的に定義されている、オリゴヌクレオチド内に立体的にランダムな１以上のインターヌクレオチド結合のブロックを有することが望ましい。

【０２２０】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの少なくとも１個のヌクレオチド単位が、本出願に記載される、立体選択的オリゴヌクレオチド合成を用いて組み込まれ、キラル結合したリン酸に関して予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を形成する。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの少なくとも２個のヌクレオチド単位は、本出願に記載される、立体選択的オリゴヌクレオチド合成を用いて組み込まれ、キラル結合したリン酸に関して予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を少なくとも２個形成する。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの少なくとも３個のヌクレオチド単位は、本出願に記載される、立体選択的オリゴヌクレオチド合成を用いて組み込まれ、キラル結合したリン酸に関して予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を少なくとも３個形成する。いくつかの実施形態において、少なくとも１、２、または３個の予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合は、互いに隣接する。いくつかの実施形態において、少なくとも１、２、または３個の予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合は、互いに隣接していない。

【０２２１】

いくつか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単位の少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、または５０％は、本出願に記載される立体選択的オリゴヌクレオチド合成を用いて組み込まれ、キラル結合したリン酸に関して予め設計されたジアステレオマー的に純粋なインターヌクレオチド結合を形成する。ここに記載される通り、いくつかの実施形態において、少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、または５０％のヌクレオチド単位が、１以上のブロック内に発生し、ブロックマーを提供する。いくつかの実施形態において、少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、または５０％のヌクレオチド単位が、交互パターンに発生し、アルトマーを提供する。関連技術の当業者は、望ましいパターンは、いずれもここで検討された本発明の方法を用いて実現可能であることを理解するであろう。

【０２２２】

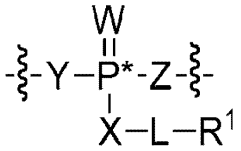
いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、互いに異なる立体化学および／または異なるＰ－修飾を有する。ある特定の実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の少なくとも２個の個々のインターヌクレオチド結合は、互いに異なるＰ－修飾を有する。ある特定の実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、異なるＰ－修飾を互いに有し、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合を含む。ある特定の実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、異なるＰ－修飾を互いに有し、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも１個のホスホロチオエートジエステルインターヌクレオチド結合を含む。ある特定の実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、異なるＰ－修飾を互いに有し、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも１個のホス

ホロチオエートトリエステルインターヌクレオチド結合を含む。ある特定の実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、異なるＰ－修飾を互いに有し、キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも１個のホスホロチオエートトリエステルインターヌクレオチド結合を含む。

【０２２３】

ある特定の実施形態において、本発明は、独立して式Ｉ：

【化４】



(I)

の構造を有する１以上の修飾インターヌクレオチド結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、各変数は、下記のとおり定義され、記載するとおりである。いくつかの実施形態において、本発明は、式Ｉの１個以上の修飾されたインターヌクレオチド結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の式Ｉの個々のインターヌクレオチド結合が互いに異なるＰ－修飾を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、式Ｉの１個以上の修飾されたインターヌクレオチド結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の式Ｉの個々のインターヌクレオチド結合は、互いに異なる－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、式Ｉの１個以上の修飾されたインターヌクレオチド結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の式Ｉの個々のインターヌクレオチド結合は、互いに異なるＸを有する。いくつかの実施形態において、本発明は、式Ｉの１個以上の修飾されたインターヌクレオチド結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の式Ｉの個々のインターヌクレオチド結合は、互いに異なる－Ｌ－Ｒ^{1}を有する。

【０２２４】

いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、互いに異なる立体化学および／または異なるＰ－修飾を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、互いに異なる立体化学を有し、少なくともキラル制御されたオリゴヌクレオチドの構造の一部分は、交互の立体化学の繰り返しパターンを特徴とする。

【０２２５】

いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、－ＸＬＲ^{1}部分で異なるＸ原子を有する、および／または－ＸＬＲ^{1}部分で異なるＬ基を有する、および／または－ＸＬＲ^{1}部分で異なるＲ^{1}原子を有するという意味で、異なるＰ－修飾を互いに有する。

【０２２６】

いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチド内の個々のインターヌクレオチド結合の少なくとも２個は、互いに異なる立体化学および／または異なるＰ－修飾を有し、オリゴヌクレオチドは、下記の式：

［Ｓ^{Ｂ}ｎ１Ｒ^{Ｂ}ｎ２Ｓ^{Ｂ}ｎ３Ｒ^{Ｂ}ｎ４．．．Ｓ^{Ｂ}ｎｘＲ^{Ｂ}ｎｙ］

によって表される構造を有し、
ここで、各R^Bは、独立して、結合したリン酸において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、独立して、結合したリン酸において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のそれぞれは、少なくとも１つの奇数ｎおよび少なくとも１つの偶数ｎは、ゼロ以外の数であるという要件のもとに、ゼロまたは整数であることにより、オリゴヌクレオチドは、互いに異なる立体化学の少なくとも２個の個々のインターヌクレオチド結合を含み；および
ここで、ｎ１～ｎｙの合計は、２～２００であり、およびいくつかの実施形態においては、下限は、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５以上から成るグループから選択され、上限は、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、および２００以上から成るグループから選択され、上限は、下限より大きい。

【０２２７】

そのようないくつかの実施形態において、各ｎは、同じ値である；いくつかの実施形態において、各偶数ｎは、互いに偶数ｎと同じ値である；いくつかの実施形態において、各奇数ｎは、互いに奇数ｎと同じ値である；いくつかの実施形態において、少なくとも２個の偶数ｎは、互いに異なる値である；いくつかの実施形態において、少なくとも２個の奇数ｎは、互いに異なる値である。

【０２２８】

いくつかの実施形態において、少なくとも２個の隣接するｎは、互いに等しく、提供されるオリゴヌクレオチドは、等しい長さのＳ立体化学結合およびＲ立体化学結合の隣接するブロックを含む。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、等しい長さのＳおよびＲ立体化学結合の繰り返しブロックを含む。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ＳおよびＲ立体化学結合の繰り返しブロックを含み、少なくとも２個のそのようなブロックは、互いに異なる長さである；いくつかのそのような実施形態において、各Ｓ立体化学ブロックは、同じ長さで、各Ｒ立体化学の長さとは異なっており、各Ｒ立体化学の長さは、互いに任意に同じ長さであっても良い。

【０２２９】

いくつかの実施形態において、ｎ以外をスキップして隣接する少なくとも２つのｎは、互いに等しく、提供されるオリゴヌクレオチドは、互いに長さが等しい第１立体化学の結合を少なくとも２ブロックを含み、別の立体化学の結合のブロックごとに分割され、分割されたブロックは、第１立体化学のブロックと同じ長さまたは異なる長さであって良い。

【０２３０】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの末端で結合ブロックに関連するｎは、は、同じ長さである。いくつかの実施形態において、提供される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。そのようないくつかの実施形態において、末端ブロックは、別の結合立体化学の中間ブロックにより、互いに分離される。

【０２３１】

いくつかの実施形態において、式［S^Bｎ１R^Bｎ２S^Bｎ３R^Bｎ４．．．S^BｎｘR^Bｎｙ］で示され、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。いくつかの実施形態において、式［S^Bｎ１R^Bｎ２S^Bｎ３R^Bｎ４．．．S^BｎｘR^Bｎｙ］で示され、提供されるオリゴヌクレオチドは、ステレオスキップマーである。いくつかの実施形態において、式［S^Bｎ１R^Bｎ２S^Bｎ３R^Bｎ４．．．S^BｎｘR^Bｎｙ］で示され、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。いくつかの実施形態において、式［S^Bｎ１R^Bｎ２S^Bｎ３R^Bｎ４．．．S^BｎｘR^Bｎｙ

］で示され、提供されるオリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。

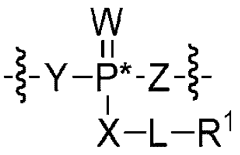
【０２３２】

いくつかの実施形態において、式［$S^Bn1R^Bn2S^Bn3R^Bn4...S^BnxR^Bny$］で示され、提供されるオリゴヌクレオチドは、上記に記載したいずれのパターンであってもよく、さらにＰ－修飾のパターンを含む。例えば、いくつかの実施形態において、式［$S^Bn1R^Bn2S^Bn3R^Bn4...S^BnxR^Bny$］で示され、提供されるオリゴヌクレオチドは、ステレオスキップマーであり、Ｐ－修飾スキップマーである。いくつかの実施形態において、式［$S^Bn1R^Bn2S^Bn3R^Bn4...S^BnxR^Bny$］で示され、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り、Ｐ－修飾アルトマーである。いくつかの実施形態において、式［$S^Bn1R^Bn2S^Bn3R^Bn4...S^BnxR^Bny$］で示され、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り、およびＰ－修飾ブロックマーである。

【０２３３】

いくつかの実施形態において、式［$S^Bn1R^Bn2S^Bn3R^Bn4...S^BnxR^Bny$］で示される、提供されるオリゴヌクレオチドは、独立して式Ｉ：

【化５】



(I)

の構造を有する１以上の修飾されたインターヌクレオチドの結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドであり、

ここで、Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐのいずれかであり；

Ｗは、Ｏ、ＳまたはＳｅであり；

Ｘ、ＹおよびＺのそれぞれは、独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（－Ｌ－R^1）－、またはＬであり；

Ｌは、共有結合または置換されていてもよい、直鎖または分岐のC_1～C_{10}アルキレンであり、ここでＬの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_1～C_6アルキレン、C_1～C_6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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され；

R^1は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいC_1～C_{50}脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_1～C_6アルキレン、C_1～C_6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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され；

各Ｒ′は、独立して－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－CO_2Ｒ、もしくは－SO_2Ｒであるか、または：

同じ窒素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって置換されていてもよいヘテロ環式、もしくはヘテロアリール環を形成するか、または

同じ炭素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって、置換されていてもよいア

リール、炭素環式、ヘテロ環式、また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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい２価の環であり；
各Ｒは、独立して水素である、または、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$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、またはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および各

は、独立してヌクレオシドとの結合を表す。

【０２３４】

いくつか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、１以上の修飾されたインターヌクレオチドのリン酸結合を含む。いくつか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、例えば、ホスホロチオエートまたはホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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、ホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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２個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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３個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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４個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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５個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。そのような例示的な修飾インターヌクレオチドのリン酸結合は、さらにここに記載される。

【０２３５】

いくつか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、異なるインターヌクレオチドのリン酸結合を含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも１個の修飾インターヌクレオチド結合を含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも１個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも２個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも３個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも４個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも５個のホスホロチオエートトリエステル結合を含む。そのような例示的な修飾されたインターヌクレオチドのリン酸結合については、さらにここに記載される。

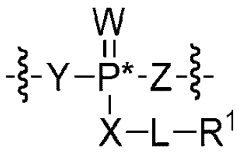
【０２３６】

いくつか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、例えば、反応の立体選択性を制御するために用いられるキラル補助剤を含む。くつか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、キラル補助剤を含まない。いくつか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、対象に対して投与を行うまで、および／または投与の間中、意図的に持続される。

【０２３７】

いくつか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、固体支持体に結合されている。いくつか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、固体支持体から切断される。

【０２３８】
いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および連続して修飾されたインターヌクレオチド結合を少なくとも２個含む。いくつか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個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合および少なくとも２個の連続するホスホロチオエートトリエステルインターヌクレオチド結合を含む。
【０２３９】
いくつか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、ブロックマーである。いくつか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、ステレオブロックマーである。いくつか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、Ｐ－修飾ブロックマーである。いくつか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、結合ブロックマーである。
【０２４０】
いくつか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、アルトマーである。いくつか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、ステレオアルトマーである。いくつか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、Ｐ－修飾アルトマーである。いくつか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、結合アルトマーである。
【０２４１】
いくつか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、ユニマーである。いくつか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、ステレオユニマーである。いくつか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、Ｐ－修飾ユニマーである。いくつか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、結合ユニマーである。
【０２４２】
いくつか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、ギャップマーである。
【０２４３】
いくつか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、スキップマーである。
【０２４４】
いくつかの実施形態において、本発明は、式Ｉ：
【化６】



(I)

の構造を独立して有する１以上の修飾されたインターヌクレオチドの結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、
ここで、Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐのいずれかであり；
Ｗは、Ｏ、ＳまたはＳｅであり；
Ｘ、ＹおよびＺのそれぞれは、独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（－Ｌ－Ｒ^{1}）－、またはＬであり；
Ｌは、共有結合または置換されていてもよい、直鎖または分岐のＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレンであり、ここでＬの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$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）$_2$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され；
R^1は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_{50}$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され；
各Ｒ´は、独立して－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、もしくは－ＳＯ$_2$Ｒであるか、または：
同じ窒素上の２つのＲ´は、それらの介在原子と一緒になって置換されていてもよいヘテロ環式、もしくはヘテロアリール環を形成するか、または
同じ炭素上の２つのＲ´は、それらの介在原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環式、ヘテロ環式、また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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい２価の環であり；
各Ｒは、独立して水素である、または、Ｃ$_1$～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、またはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および各

は、独立してヌクレオシドとの結合を表す。

【０２４５】

一般的に上記およびここに記載される通り、Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐのいずれかである。いくつかの実施形態において、Ｐ＊は、Ｒｐである。別の実施形態において、Ｐ＊は、Ｓｐである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、各Ｐ＊は、独立してＲｐまたはＳｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を１以上含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、各Ｐ＊は、Ｒｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を１以上含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、各Ｐ＊は、Ｓｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を１以上含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、Ｐ＊は、Ｒｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、の、Ｐ＊は、Ｓｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、Ｐ＊は、Ｒｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含み、Ｐ＊は、Ｓｐである式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含む。

【０２４６】

一般的に上記およびここに記載される通り、Ｗは、Ｏ、Ｓ、またはＳｅである。いくつかの実施形態において、Ｗは、Ｏである。いくつかの実施形態において、Ｗは、Ｓである。いくつかの実施形態において、Ｗは、Ｓｅである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含み、Ｗは、Ｏである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含み、Ｗは、Ｓである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、Ｗは、Ｓｅである式Ｉのインターヌクレオチド結合を少なくとも１個含む。

【０２４７】
一般的に上記およびここに記載される通り、各Ｒは、独立して水素、または、Ｃ$_{1}$～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、またはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基である。
【０２４８】
いくつかの実施形態において、Ｒは、水素である。いくつかの実施形態において、Ｒは、Ｃ$_{1}$～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、またはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基である。
【０２４９】
いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$脂肪族である。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい、直鎖または分岐のヘキシルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい、直鎖または分岐のペンチルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい、直鎖または分岐のブチルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい、直鎖または分岐のプロピルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいエチルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいメチルである。
【０２５０】
いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいフェニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されたフェニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、フェニルである。
【０２５１】
いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいカルボシクリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいＣ$_{3}$～Ｃ$_{10}$カルボシクリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい単環式カルボシクリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいシクロヘプチルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいシクロヘキシルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいシクロペンチルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいシクロブチルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいシクロプロピルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい２環式カルボシクリルである。
【０２５２】
いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいアリールである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい２環式アリール環である。
【０２５３】
いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいヘテロアリールである。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、硫黄、または酸素から選択される１～３個のヘテロ原子を有する、置換されていてもよい５～６員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～３個のヘテロ原子を有する、置換された５～６員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、硫黄、または酸素から選択される１～３個のヘテロ原子を有する、非置換の５～６員単環式ヘテロアリール環である。
【０２５４】
いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素または硫黄から選択される１～３個のヘテロ原子を有する、置換されていてもよい５員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～３個のヘテロ原子を有する、置換されていてもよい６員単環式ヘテロアリール環である。
【０２５５】

いくつかの実施形態において、Ｒは、窒素、酸素または硫黄から選択される１個のヘテロ原子を有する、置換されていてもよい５員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、ピロリル、フラニル、またはチエニルから選択される。

【０２５６】

いくつかの実施形態において、Ｒは、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員ヘテロアリール環である。ある特定の実施形態において、Ｒは、１個の窒素原子を有する置換されていてもよい５員ヘテロアリール環であり、さらなるヘテロ原子は、硫黄または酸素から選択される。例示的なＲ基は、置換されていてもよいピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリルまたはイソオキサゾリルを含む。

【０２５７】

いくつかの実施形態において、Ｒは、１～３個の窒素原子を有する６員ヘテロアリール環である。別の実施形態において、Ｒは、１～２個の窒素原子を有する置換されていてもよい６員ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、２個の窒素原子を有する置換されていてもよい６員ヘテロアリール環である。ある特定の実施形態において、Ｒは、１個の窒素を有する置換されていてもよい６員ヘテロアリール環である。例示的なＲ基は、置換されていてもよいピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、またはテトラジニルである。

【０２５８】

ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい８～１０員２環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。別の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいインドリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいアザビシクロ［３．２．１］オクタニルである。ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいアザインドリル（azaindolyl）である。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいベンズイミダゾリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいベンゾチアゾリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいベンゾオキサゾリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいインダゾリルである。ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される３個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。

【０２５９】

ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。別の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいキノリニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいイソキノリニルである。ある観点によれば、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において

、Ｒは、キナゾリンまたはキノキサリンである。

【０２６０】

いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいヘテロシクリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換された３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する非置換の３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。

【０２６１】

いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいヘテロシクリルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい部分的に不飽和の６員ヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、２個の酸素原子を有する置換されていてもよい部分的に不飽和の６員ヘテロ環式環である。

【０２６２】

ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。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、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、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、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、またはテトラヒドロチオピラニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。

【０２６３】

ある特定の実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５～６員部分的に不飽和の単環式環である。ある特定の実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい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、またはオキサゾリニル基である。

【０２６４】

いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい８～１０員２環式飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていても

よいインドリニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよいイソインドリニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい１、２、３、４－テトラヒドロキノリンである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい１、２、３、４－テトラヒドロイソキノリンである。

【０２６５】

一般的に上記およびここに記載される通り、各Ｒ′は、独立して－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、もしくは－ＳＯ$_2$Ｒであるか、または：
同じ窒素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって置換されていてもよいヘテロ環式、もしくはヘテロアリール環を形成するか、または
同じ炭素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環式、ヘテロ環式、またはヘテロアリール環を形成する；

【０２６６】

いくつかの実施形態において、Ｒ’は、－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、または－ＳＯ$_2$Ｒであり、Ｒは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０２６７】

いくつかの実施形態において、Ｒ’は、－Ｒであり、Ｒは、上記およびここに定義し記載したとおりである。である。いくつかの実施形態において、Ｒ’は、水素である。

【０２６８】

いくつかの実施形態において、Ｒ’は、－Ｃ（Ｏ）Ｒであり、Ｒは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｒ’は、－ＣＯ$_2$Ｒであり、Ｒは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｒ’は、－ＳＯ$_2$Ｒであり、Ｒは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０２６９】

いくつかの実施形態において、同じ窒素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって置換されていてもよいヘテロ環式、もしくはヘテロアリール環を形成する。いくつかの実施形態において、同じ炭素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環式、ヘテロ環式、またはヘテロアリール環を形成する。

【０２７０】

一般的に上記およびここに記載される通り、－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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい２価の環である。

【０２７１】

いくつかの実施形態において、－Ｃｙ－は、置換されていてもよいフェニレンである。いくつかの実施形態において、－Ｃｙ－は、置換されていてもよいカルボシクリレンである。いくつかの実施形態において、－Ｃｙ－は、置換されていてもよいアリーレンである。いくつかの実施形態において、－Ｃｙ－は、置換されていてもよいヘテロアリーレンである。いくつかの実施形態において、－Ｃｙ－は、置換されていてもよいヘテロシクリレンである。

【０２７２】

一般的に上記およびここに記載される通り、Ｘ、ＹおよびＺのそれぞれは、独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（－Ｌ－Ｒ^1）－、またはＬであり、ＬおよびＲ^{1}のそれぞれは、独立して上記のとおり定義し、下記に記載されるとおりである。

【０２７３】

いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｏ－である。いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｏ－または－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１個の、式Ｉのインターヌクレオチドの結合を含み、Ｘは、－Ｏ－である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１個の、式Ｉのインターヌクレオチドの結合を含み、Ｘは、

－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１個の、式Ｉのインターヌクレオチド結合を含み、Ｘは、－Ｏ－であり、少なくとも１個の、式Ｉのインターヌクレオチド結合を含み、Ｘは、－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１個の、式Ｉのインターヌクレオチド結合を含み、Ｘは、－Ｏ－であり、少なくとも１個の、式Ｉインターヌクレオチド結合を含み、Ｘは、－Ｓ－であり、少なくとも１個の、式Ｉのインターヌクレオチド結合を含み、Ｌは、置換されていてもよい、直鎖または分岐の$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{10}$アルキレンであり、Ｌの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよい$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$アルキレン、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$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）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換される。

【０２７４】

いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｎ（－Ｌ－$Ｒ^{1}$）－である。いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｎ（$Ｒ^{1}$）－である。いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｎ（Ｒ’）－である。いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｎ（Ｒ）－である。いくつかの実施形態において、Ｘは、－ＮＨ－である。

【０２７５】

いくつかの実施形態において、Ｘは、Ｌである。いくつかの実施形態において、Ｘは、共有結合である。いくつかの実施形態において、Ｘは、置換されていてもよい、直鎖または分岐の$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{10}$アルキレンであり、Ｌの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよい$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$アルキレン、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$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）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意および独立して置換される。いくつかの実施形態において、Ｘは、置換されていてもよい$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{10}$アルキレンまたは$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{10}$アルケニレンである。いくつかの実施形態において、Ｘは、メチレンである。

【０２７６】

いくつかの実施形態において、Ｙは、－Ｏ－である。くつかの実施形態において、Ｙは、－Ｓ－である。

【０２７７】

いくつかの実施形態において、Ｙは、－Ｎ（－Ｌ－$Ｒ^{1}$）－である。いくつかの実施形態において、Ｙは、－Ｎ（$Ｒ^{1}$）－である。いくつかの実施形態において、Ｙは、－Ｎ（Ｒ’）－である。いくつかの実施形態において、Ｙは、－Ｎ（Ｒ）－である。いくつかの実施形態において、Ｙは、－ＮＨ－である。

【０２７８】

いくつかの実施形態において、Ｙは、Ｌである。いくつかの実施形態において、Ｙは、共有結合である。いくつかの実施形態において、Ｙは、置換されていてもよいか、直鎖または分岐の$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{10}$アルキレンであり、Ｌの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよい$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$アルキレン、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$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）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意に

および独立して置換される。いくつかの実施形態において、Ｙは、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレンまたはＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルケニレンである。いくつかの実施形態において、Ｙは、メチレンである。

【０２７９】

いくつかの実施形態において、Ｚは、－Ｏ－である。いくつかの実施形態において、Ｚは、－Ｓ－である。

【０２８０】

いくつかの実施形態において、Ｚは、－Ｎ（－Ｌ－Ｒ^{1}）－である。いくつかの実施形態において、Ｚは、－Ｎ（Ｒ^{1}）－である。いくつかの実施形態において、Ｚは、－Ｎ（Ｒ’）－である。いくつかの実施形態において、Ｚは、－Ｎ（Ｒ）－である。いくつかの実施形態において、Ｚは、－ＮＨ－である。

【０２８１】

いくつかの実施形態において、Ｚは、Ｌである。いくつかの実施形態において、Ｚは、共有結合である。いくつかの実施形態において、Ｚは、または置換されていてもよい、直鎖または分岐のＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレンであり、Ｌの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$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）$_{2}$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、Ｚは、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレンまたはＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルケニレンである。いくつかの実施形態において、Ｚは、メチレンである。

【０２８２】

一般的に上記およびここに記載される通り、Ｌは、共有結合または任意に置換され、直鎖または分岐のＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレンであり、Ｌの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$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）$_{2}$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換される。

【０２８３】

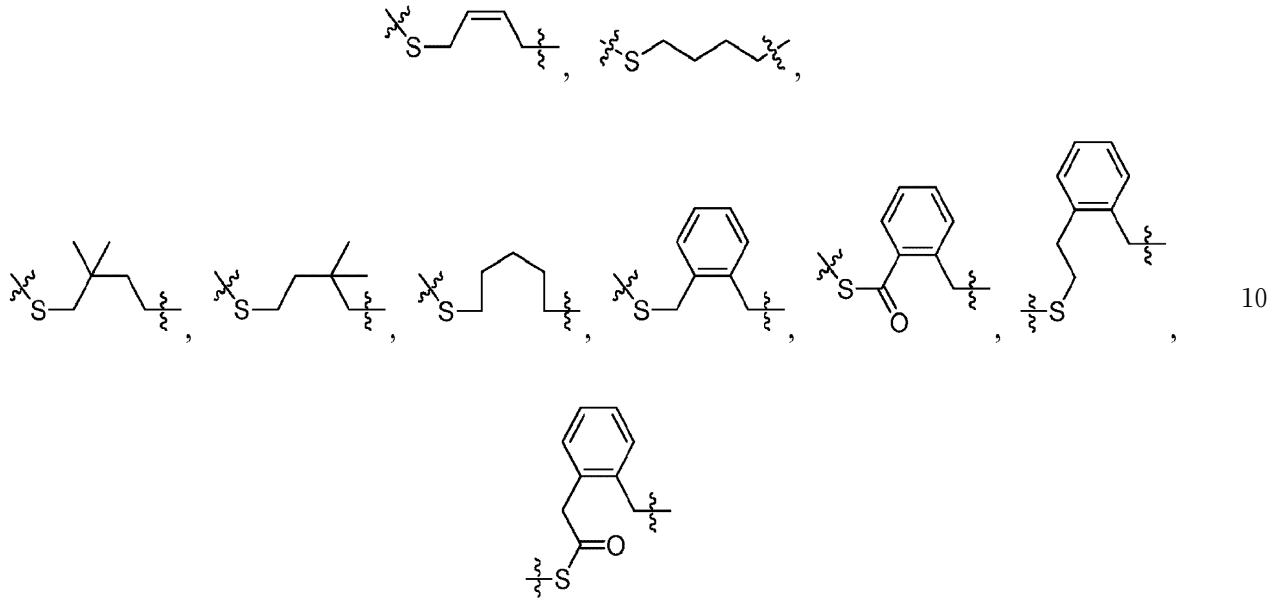
いくつかの実施形態において、Ｌは、共有結合である。いくつかの実施形態において、Ｌは、任意に置換され、直鎖または分岐のＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレンであり、Ｌの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルケニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ´）$_{2}$－、－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ´）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ´）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換される。

【０２８４】

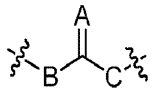
いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{1}－Ｖ－の構造を有し、ここで

Ｌ^{1}は、置換されていてもよい基：

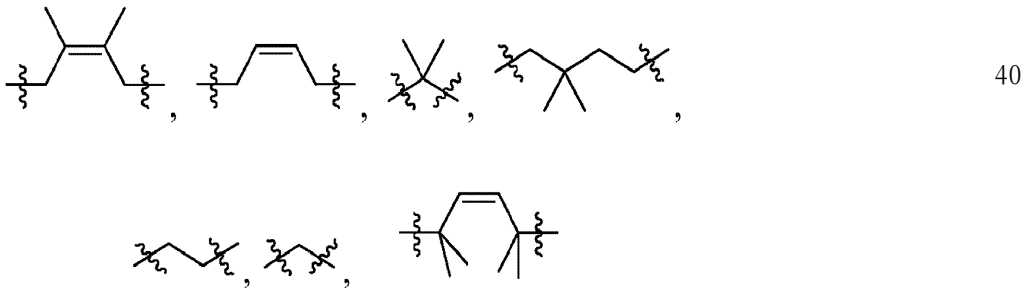
【化７】



C_1～C_6アルキレン、C_1～C_6アルケニレン、カルボシクリレン、アリーレン、C_1～C_6ヘテロアルキレン、ヘテロシクリレン、およびヘテロアリーレンから選択され；
Ｖは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－、Ｃ（Ｒ’）$_2$、－Ｓ－Ｓ－、－Ｂ－Ｓ－Ｓ－Ｃ－、
【化８】

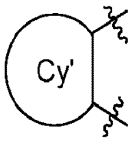


、または、C_1～C_6アルキレン、アリーレン、C_1～C_6ヘテロアルキレン、ヘテロシクリレン、およびヘテロアリーレンから選択される置換されていてもよい基から選択され；
Ａは、＝Ｏ、＝Ｓ、＝ＮＲ’、または＝Ｃ（Ｒ’）$_2$であり；
ＢおよびＣのそれぞれは、独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－、－Ｃ（Ｒ’）$_2$－、または、C_1～C_6アルキレン、カルボシクリレン、アリーレン、ヘテロシクリレン、またはヘテロアリーレンから選択される置換されていてもよい基であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２８５】
いくつかの実施形態において、L^1は、
【化９】



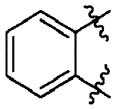
である。
【０２８６】
いくつかの実施形態において、L^1は、

【化１０】



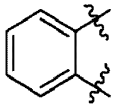
であり、
ここで環Ｃｙ’は、置換されていてもよいアリーレン、カルボシクリレン、ヘテロアリーレン、またはヘテロシクリレンである。いくつかの実施形態において、Ｌ^{1}は、置換されていてもよい

【化１１】



である。いくつかの実施形態において、Ｌ^{1}は、

【化１２】

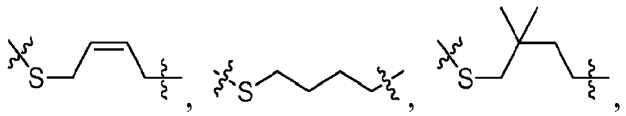


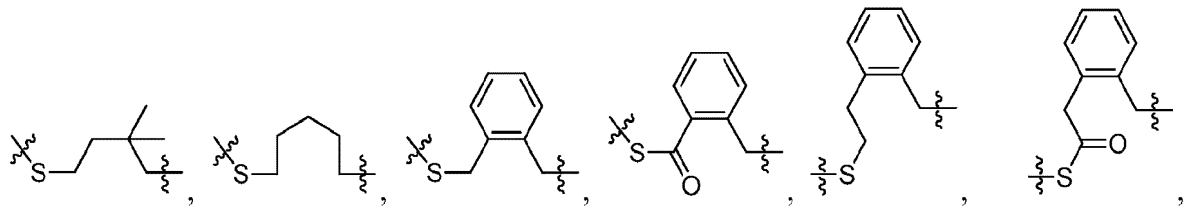
である。

【０２８７】

いくつかの実施形態において、Ｌ^{1}は、Ｘと結合している。である。いくつかの実施形態において、Ｌ^{1}は、置換されていてもよい基

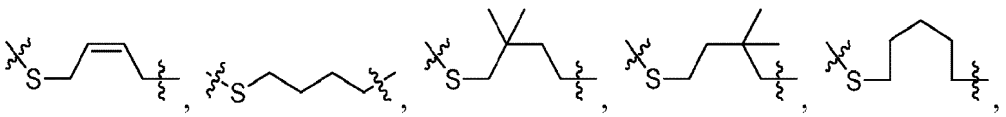
【化１３】

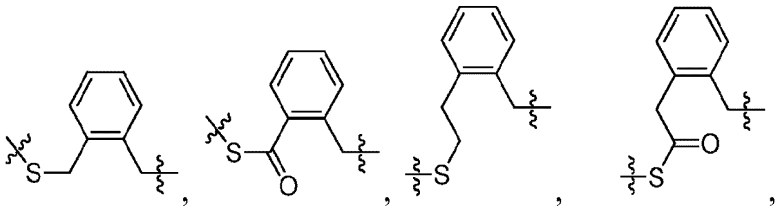




から選択され、硫黄原子はＶに結合されている。いくつかの実施形態において、Ｌ^{1}は、置換されていてもよい基

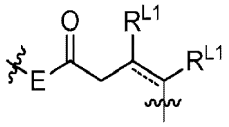
【化１４】



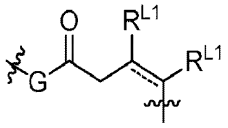


から選択され、炭素原子はＸに結合されている。

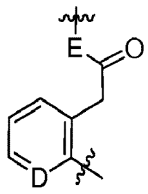
【０２８８】
いくつかの実施形態では、Ｌは、
【化１５】



の構造を有し、
ここで、
Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
- - -は単結合又は二重結合であり；
２つのＲ^{Ｌ１}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環式、ヘテロアリール又はヘテロ環式環を形成し；各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２８９】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化１６】

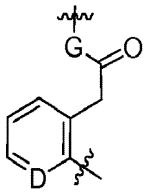


の構造を有し、
ここで、
Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
- - -は単結合又は二重結合であり；および
２つのＲ^{Ｌ１}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$炭素環式、ヘテロアリール又はヘテロ環式環を形成し。
【０２９０】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化１７】



の構造を有し、
ここでＥは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（ＮＯ$_2$）－、＝Ｃ（ＣＯ$_2$－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$脂肪族））－、または＝Ｃ（ＣＦ$_3$）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２９１】
いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化１８】

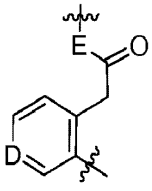


の構造を有し、
ここで、
Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（NO_2）－、＝Ｃ（CO_2－（C_1～C_6脂肪族））－、または＝Ｃ（CF_3）－である。

【０２９２】

いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化１９】

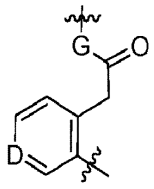


の構造を有し、
ここで、
Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（NO_2）－、＝Ｃ（CO_2－（C_1～C_6脂肪族））－、または＝Ｃ（CF_3）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０２９３】

いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化２０】

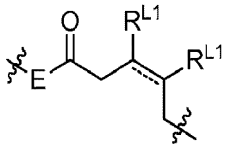


の構造を有し、
ここで、
Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（NO_2）－、＝Ｃ（CO_2－（C_1～C_6脂肪族））－、または＝Ｃ（CF_3）－である。

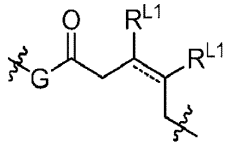
【０２９４】

いくつかの実施形態において、Ｌは、

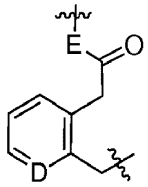
【化２１】



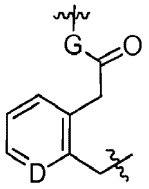
の構造を有し、
ここでＥは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
---は単結合又は二重結合であり；
２つのＲ^{Ｌ１}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$炭素環式、ヘテロアリール又はヘテロ環式環を形成し；
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２９５】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２２】



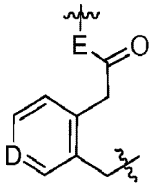
の構造を有し、
ここでＧは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
---は単結合又は二重結合であり；
２つのＲ^{Ｌ１}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されても良いアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$炭素環式、ヘテロアリールまたはヘテロ環式環を形成し；
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２９６】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２３】



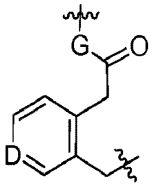
の構造を有し、
ここで、
Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（ＮＯ$_2$）－、＝Ｃ（ＣＯ$_2$－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$脂肪族））－、または＝Ｃ（ＣＦ$_3$）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２９７】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２４】



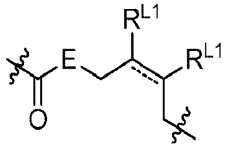
の構造を有し、
ここでＧは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（NO_2）－、＝Ｃ（CO_2－（C_1～C_6脂肪族））－、または＝Ｃ（CF_3）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２９８】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２５】



の構造を有し、
ここでＥは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（NO_2）－、＝Ｃ（CO_2－（C_1～C_6脂肪族））－、または＝Ｃ（CF_3）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０２９９】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２６】

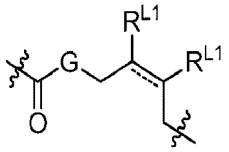


の構造を有し、
ここでＧは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（NO_2）－、＝Ｃ（CO_2－（C_1～C_6脂肪族））－、または＝Ｃ（CF_3）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３００】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２７】

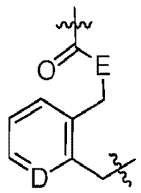


の構造を有し、
ここでＥは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
- - -は単結合又は二重結合であり；
２つのR^{L1}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されても良いアリール、C_3～C_{10}炭素環式、ヘテロアリールまたはヘテロ環式環を形成し；
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

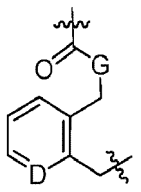
【０３０１】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２８】



の構造を有し、
ここでＧは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
- - -は単結合又は二重結合であり；
２つのＲ^{Ｌ１}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されても良いアリール、Ｃ$_{３}$～Ｃ$_{１０}$炭素環式、ヘテロアリールまたはヘテロ環式環を形成し；
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３０２】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化２９】

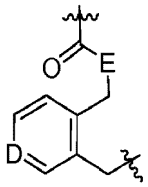


の構造を有し、
ここでＥは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_{2}$－であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（ＮＯ$_{2}$）－、＝Ｃ（ＣＯ$_{2}$－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$脂肪族））－、または＝Ｃ（ＣＦ$_{3}$）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３０３】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化３０】

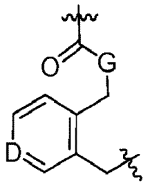


の構造を有し、
ここで、
Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（ＮＯ$_{2}$）－、＝Ｃ（ＣＯ$_{2}$－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$脂肪族））－、または＝Ｃ（ＣＦ$_{3}$）－であり；および
Ｒ’は、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３０４】
いくつかの実施形態において、Ｌは、

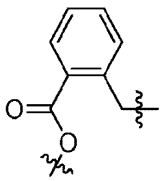
【化３１】



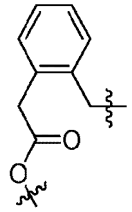
の構造を有し、
ここで、
Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－又は－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（ＮＯ$_2$）－、＝Ｃ（ＣＯ$_2$－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$脂肪族））－、または＝Ｃ（ＣＦ$_3$）－であり；および
各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３０５】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化３２】



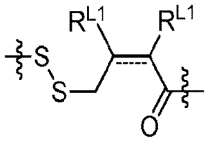
の構造を有し、
ここで、
Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
Ｄは、＝Ｎ－、＝Ｃ（Ｆ）－、＝Ｃ（Ｃｌ）－、＝Ｃ（Ｂｒ）－、＝Ｃ（Ｉ）－、＝Ｃ（ＣＮ）－、＝Ｃ（ＮＯ$_2$）－、＝Ｃ（ＣＯ$_2$－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$脂肪族））－、または＝Ｃ（ＣＦ$_3$）－であり；および
Ｒ’は、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３０６】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化３３】



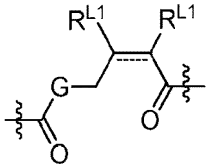
の構造を有し、
ここで、フェニル環は、置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、フェニル環は、置換されない。いくつかの実施形態において、フェニル環は、置換される。
【０３０７】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化３４】



の構造を有し、
ここで、フェニル環は、置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、フェニル環は、置換されない。いくつかの実施形態において、フェニル環は、置換される。
【０３０８】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化３５】

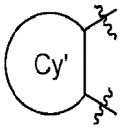


の構造を有し、
ここで---は単結合又は二重結合であり；および
２つのR^{L1}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、C_3～C_{10}炭素環式、ヘテロアリール又はヘテロ環式環を形成する。
【０３０９】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化３６】



の構造を有し、
ここで、
Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり；
---は単結合又は二重結合であり；および
２つのR^{L1}は、これらが結合している２個の炭素原子と一緒になって、置換されても良いアリール、C_3～C_{10}炭素環式、ヘテロアリールまたはヘテロ環式環を形成する。
【０３１０】
一般的に上記およびここに記載される通り、Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＲ’－または－Ｃ（Ｒ’）$_2$－であり、各Ｒ’は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’－である。いくつかの実施形態において、Ｅは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＨ－である。いくつかの実施形態において、Ｅは、－Ｏ－である。いくつかの実施形態において、Ｅは、－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、Ｅは、－ＮＨ－である。
【０３１１】
一般的に上記およびここに記載される通り、Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＲ’であり、各Ｒ’は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｇは、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＨ－である。いくつかの実施形態において、Ｇは、－Ｏ－である。いくつかの実施形態において、Ｇは、－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、Ｇは、－ＮＨ－である。
【０３１２】
いくつかの実施形態において、Ｌは、－L^3－Ｇ－であり、ここでL^3は、置換されていてもよいC_1～C_5アルキレンまたはアルケニレンであり、１以上のメチレン単位は、任意におよび独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ’）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ’）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、または

【化３７】



により置換され、
ＧおよびＲ’のそれぞれおよび環Ｃｙ’は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

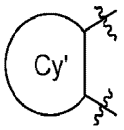
【０３１３】

いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{3}－Ｓ－であり、Ｌ^{3}は、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{3}－Ｏ－であり、Ｌ^{3}は、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{3}－Ｎ（Ｒ’）－であり、ここでＬ^{3}およびＲ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{3}－ＮＨ－であり、Ｌ^{3}およびＲ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３１４】

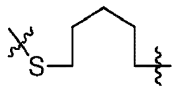
いくつかの実施形態において、Ｌ^{3}は、置換されていてもよいＣ$_{5}$アルキレンまたはアルケニレンであり、１以上のメチレン単位は、任意におよび独立して－Ｏ－，－Ｓ－，－Ｎ（Ｒ´）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ´）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、または

【化３８】



により置換され、Ｒ’および環Ｃｙ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌ^{3}は、置換されていてもよいＣ$_{5}$アルキレンである。いくつかの実施形態において、－Ｌ^{3}－Ｇ－は、

【化３９】

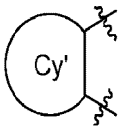


である。

【０３１５】

いくつかの実施形態において、Ｌ^{3}は、置換されていてもよいＣ$_{4}$アルキレンまたはアルケニレンであり、１以上のメチレン単位は、任意におよび独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ´）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ´）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、または

【化４０】

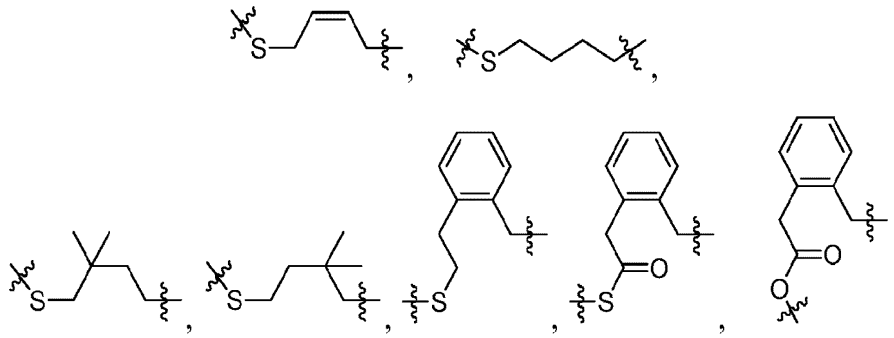


により置換され、Ｒ’およびＣｙ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３１６】

いくつかの実施形態において、－Ｌ^{3}－Ｇ－は、

【化４１】

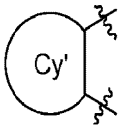


である。

【０３１７】

いくつかの実施形態において、Ｌ^{3}は、置換されていてもよいＣ$_{3}$アルキレンまたはアルケニレンであり、１以上のメチレン単位は、任意におよび独立して－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ′）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ′）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、または

【化４２】

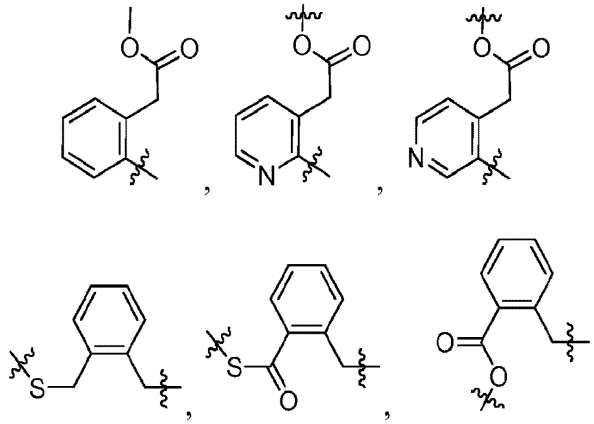


により置換され、Ｒ’およびＣｙ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３１８】

いくつかの実施形態において、－Ｌ^{3}－Ｇ－は、

【化４３】

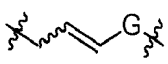


である。

【０３１９】

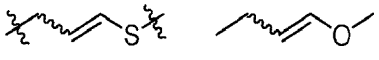
いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化４４】



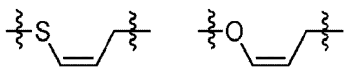
である。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化４５】



である。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化４６】

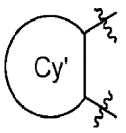


である。

【０３２０】

いくつかの実施形態において、Ｌ^{3}は、置換されていてもよいＣ$_{2}$は、アルキレンまたはアルケニレンであり、１以上のメチレン単位は、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ′）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ′）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、または

【化４７】

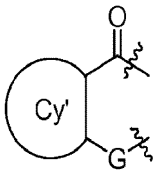


により任意におよび独立して置換され、Ｒ’およびＣｙ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３２１】

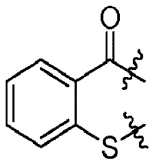
いくつかの実施形態において、－Ｌ^{3}－Ｇ－は、

【化４８】



であり、ＧおよびＣｙ’のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化４９】



である。

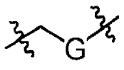
【０３２２】

いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{4}－Ｇ－であり、Ｌ^{4}は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{2}$アルキレンである；およびＧは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{4}－Ｇ－であり、Ｌ^{4}は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{2}$アルキレンである；Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；Ｇは、Ｒ^{1}に結合されている。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{4}－Ｇ－であり、Ｌ^{4}は、置換されていてもよいメチレンである；Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；およびＧは、Ｒ^{1}と結合している。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{4}－Ｇ－であり、Ｌ^{4}は、メチレンである；Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；およびＧは、Ｒ^{1}と結合している。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{4}－Ｇ－であり、Ｌ^{4}は、置換されていてもよい－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－である；Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；およびＧは、Ｒ^{1}と結合している。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｌ^{4}－Ｇ－であり、Ｌ^{4}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－である；Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；およびＧは、Ｒ^{1}と結合している。

【０３２３】

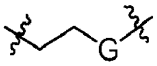
いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５０】



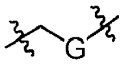
または

【化５１】



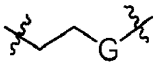
であり、ここで、Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりであり、Ｇは、Ｒ^{1}に結合されている。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５２】



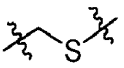
であり、Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりであり、Ｇは、Ｒ^{1}に結合されている。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５３】



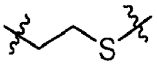
であり、Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりであり、Ｇは、Ｒ^{1}に結合されている。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５４】



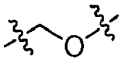
または

【化５５】

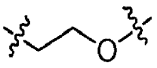


であり、ここで硫黄原子は、Ｒ^{1}に結合されている。いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５６】



または

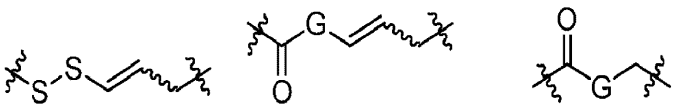


であり、ここで酸素原子は、Ｒ^{1}に結合されている。

【０３２４】

いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５７】



であり、Ｇは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３２５】

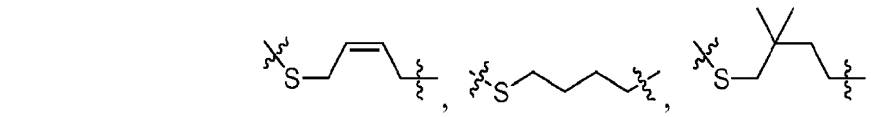
いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｓ－Ｒ^{Ｌ３}－または－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ３}－であり、Ｒ^{Ｌ３}は、任意に置換され、直鎖または分岐のＣ$_{1}$～Ｃ$_{9}$アルキレンであり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルケ

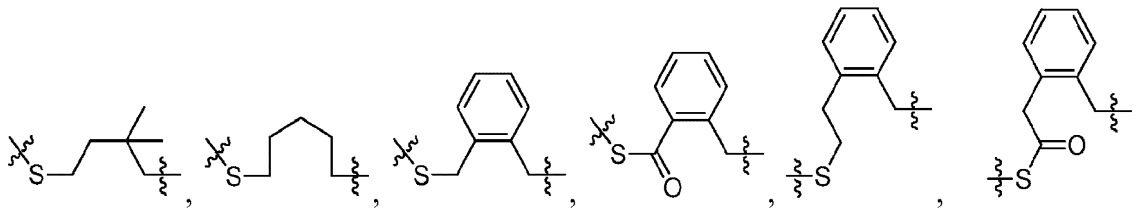
ニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ´）$_2$－、－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ´）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ´）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、ここで、Ｒ’および－Ｃｙ－のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｓ－Ｒ^{Ｌ３}－または－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ３}－であり、Ｒ^{Ｌ３}は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレンである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｓ－Ｒ^{Ｌ３}－または－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ３}－であり、Ｒ^{Ｌ３}は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルケニレンである。いくつかの実施形態において、Ｌは、－Ｓ－Ｒ^{Ｌ３}－または－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ３}－であり、Ｒ^{Ｌ３}は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレンであり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルケニレン、アリーレン、またはヘテロアリーレンにより任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、いくつかの実施形態において、Ｒ^{Ｌ３}は、置換されていてもよい－Ｓ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニレン）－、－Ｓ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－、－Ｓ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－アリーレン－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－、－Ｓ－ＣＯ－アリーレン－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－、または－Ｓ－ＣＯ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－アリーレン－（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン）－である。

【０３２６】

いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５８】





である。

【０３２７】

いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化５９】

である。

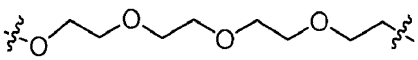
いくつかの実施形態において、Ｌは、

【化６０】

である。

いくつかの実施形態において、

【化６１】



である。

【０３２８】

いくつかの実施形態において、上記およびここに記載する実施形態におけるＬの硫黄原子は、Ｘと結合している。いくつかの実施形態において、上記およびここに記載する実施形態におけるＬの硫黄原子は、R^1に結合されている。

【０３２９】

一般的に上記およびここに記載される通り、R^1は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいC_1～C_{50}脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_1～C_6アルキレン、C_1～C_6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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、R^1は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいC_1～C_{10}脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_1～C_6アルキレン、C_1～C_6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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３３０】

いくつかの実施形態において、R^1は、水素である。いくつかの実施形態において、R^1は、ハロゲンである。いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｆである。いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｃｌである。いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｂｒである。いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｉである。

【０３３１】

いくつかの実施形態において、R^1は、Ｒであり、Ｒは、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３３２】

いくつかの実施形態において、R^1は、水素である。いくつかの実施形態において、R^1は、C_1～C_{50}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、またはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基である。

【０３３３】

いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_1～C_{50}脂肪族である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_1～C_{10}脂肪族である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_1～C_6脂肪族である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_1～C_6アルキルである。いくつかの実施形態において、R^1は、任意に置換され、直鎖または分岐のヘキシルである。いくつかの実施形態において、R^1は、任意に置換され、直鎖または分岐のペンチルである。いくつかの実施形態において、R^1は、任意に置換され、直鎖または分岐のブチルである。いくつかの実施形態において、R^1は、任意に置換され、直鎖または分岐のプロピルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいエチルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいメチルである。

【０３３４】

いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいフェニルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されたフェニルである。いくつかの実施形態におい

て、R^1は、フェニルである。

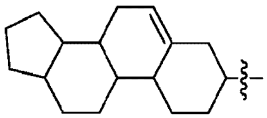
【０３３５】

いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいカルボシクリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_{3}～C_{10}カルボシクリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよい単環式カルボシクリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいシクロヘプチルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいシクロヘキシルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいシクロペンチルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいシクロブチルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいシクロプロピルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよい２環式カルボシクリルである。

【０３３６】

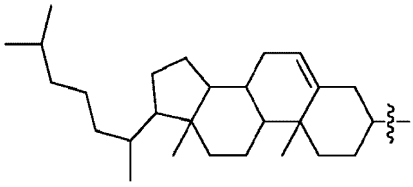
いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_{1}～C_{50}多環式炭化水素である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいC_{1}～C_{50}多環式炭化水素であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_{1}～C_{6}アルキレン、C_{1}～C_{6}アルケニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ′）$_{2}$－、－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ′）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ′）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよい

【化６２】



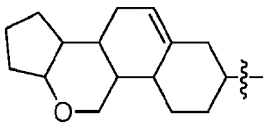
である。いくつかの実施形態において、R^1は、

【化６３】



である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよい

【化６４】



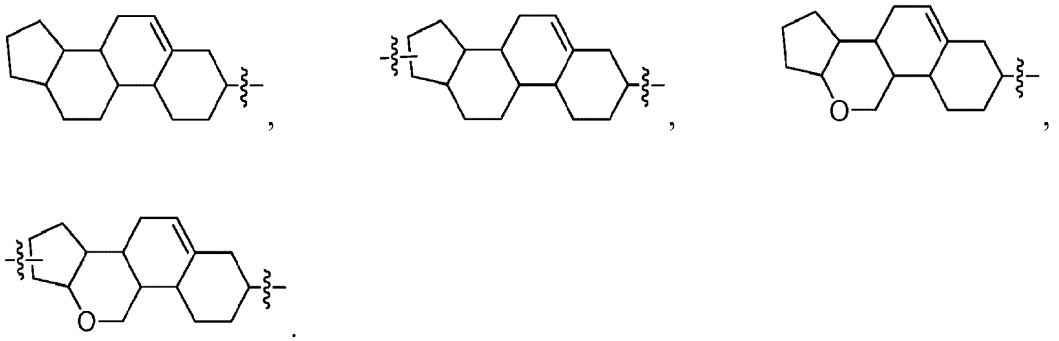
である。

【０３３７】

いくつかの実施形態において、R^1は、１以上の、置換されていてもよい多環式炭化水素部分を含む置換されていてもよいC_{1}～C_{50}脂肪族である。いくつかの実施形態において、R^1は、１以上の、置換されていてもよい多環式炭化水素部分を含む置換されていてもよいC_{1}～C_{50}脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_{1}～C_{6}アルキレン、C_{1}～C_{6}アルケニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ′）$_{2}$－、－Ｃｙ

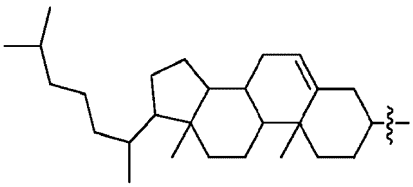
－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ´）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ´）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ´）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｒ´）－、－Ｎ（Ｒ´）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、１以上の、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_{50}$脂肪族

【化６５】



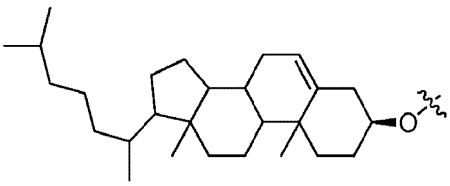
を含む。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化６６】



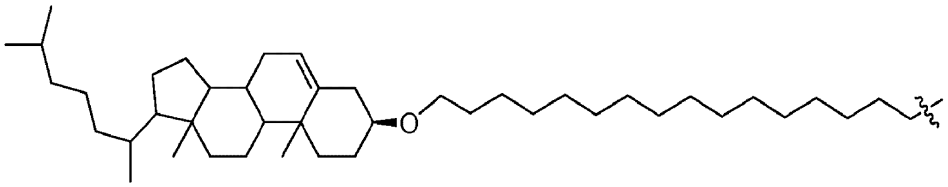
である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化６７】



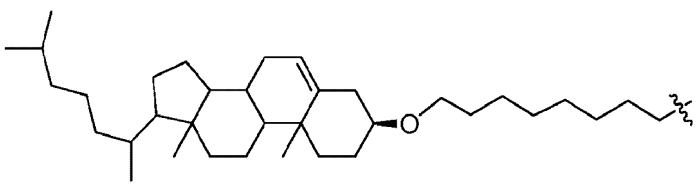
である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化６８】



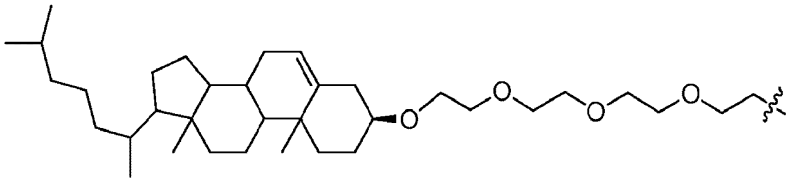
である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化６９】



である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化７０】



である。

【０３３８】

いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、置換されていてもよいアリールである。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、置換されていてもよい２環式アリール環である。

【０３３９】

いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、置換されていてもよいヘテロアリールである。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、硫黄、または酸素から選択される１～３個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５～６員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～３個のヘテロ原子を有する置換された５～６員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、硫黄、または酸素から選択される１～３個のヘテロ原子を有する非置換の５～６員単環式ヘテロアリール環である。

【０３４０】

いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、酸素または硫黄から選択される１～３個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～３個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６員単環式ヘテロアリール環である。

【０３４１】

いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、窒素、酸素または硫黄から選択される１個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員単環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、ピロリル、フラニル、またはチエニルから選択される。

【０３４２】

いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員ヘテロアリール環である。ある特定の実施形態において、Ｒ[1]は、１個の窒素原子を有する置換されていてもよい５員ヘテロアリール環であり、さらなるヘテロ原子は、硫黄または酸素から選択される。例示的なＲ[1]基は、置換されていてもよいピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリルまたはイソオキサゾリルを含む。

【０３４３】

いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、１～３個の窒素原子を有する６員ヘテロアリール環である。別の実施形態において、Ｒ[1]は、１～２個の窒素原子を有する置換されていてもよい６員ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、２個の窒素原子を有する置換されていてもよい６員ヘテロアリール環である。ある特定の実施形態において、Ｒ[1]は、１個の窒素を有する置換されていてもよい６員ヘテロアリール環である。例示的なＲ基は、置換されていてもよいピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、またはテトラジニルである。

【０３４４】

ある特定の実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい８～１０員２環式ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。別の実施形態において、Ｒ[1]は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリー

ル環である。ある特定の実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいインドリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいアザビシクロ［３．２．１］オクタニルである。ある特定の実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいアザインドリル（azaindolyl）である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいベンズイミダゾリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいベンゾチアゾリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいベンゾオキサゾリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいインダゾリルである。ある特定の実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される３個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５，６－縮合ヘテロアリール環である。

【０３４５】

ある特定の実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。別の実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいキノリニルである。いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいイソキノリニルである。ある態様によれば、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６，６－縮合ヘテロアリール環である。いくつかの実施形態において、R^1は、キナゾリンまたはキノキサリンである。

【０３４６】

いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいヘテロシクリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換された３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する非置換の３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。

【０３４７】

いくつかの実施形態において、R^1は、置換されていてもよいヘテロシクリルである。いくつかの実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい６員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい部分的に不飽和の６員ヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、R^1は、２個の酸素原子を有する置換されていてもよい部分的に不飽和の６員ヘテロ環式環である。

【０３４８】

ある特定の実施形態において、R^1は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する３～７員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。ある特定の実施形態において、R^1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、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、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、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、またはテトラヒドロチオピラニルである。いくつかの実施形態において、Ｒは、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５員飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。

【０３４９】

ある特定の実施形態において、Ｒ^{1}は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい５－６員部分的に不飽和の単環式環である。ある特定の実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよい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、またはオキサゾリニル基である。

【０３５０】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、独立して窒素、酸素、または硫黄から選択される１～４個のヘテロ原子を有する置換されていてもよい８～１０員２環式飽和または部分的に不飽和のヘテロ環式環である。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよいインドリニルである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよいイソインドリニルである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよい１、２、３、４－テトラヒドロキノリンである。いくつかの実施形態において、Ｒは、置換されていてもよい１、２、３、４－テトラヒドロイソキノリンである。

【０３５１】

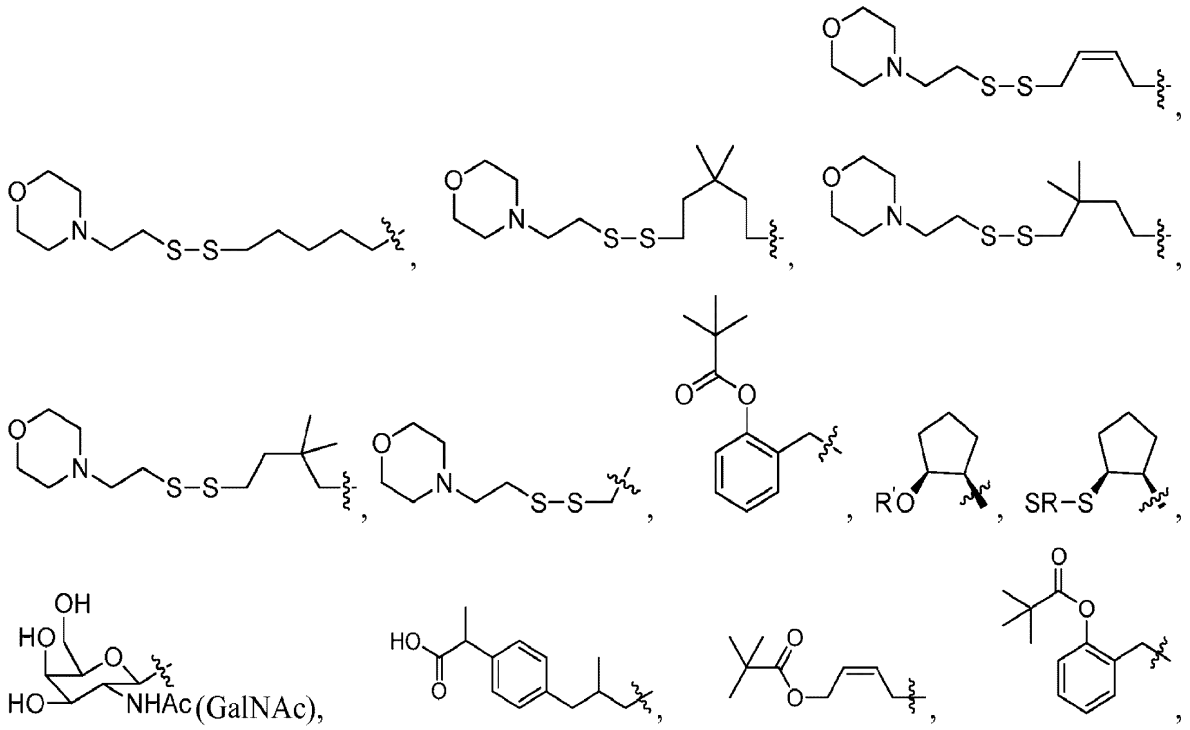
いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルケニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ′）$_{2}$－、－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ′）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ′）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよい－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）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族であり

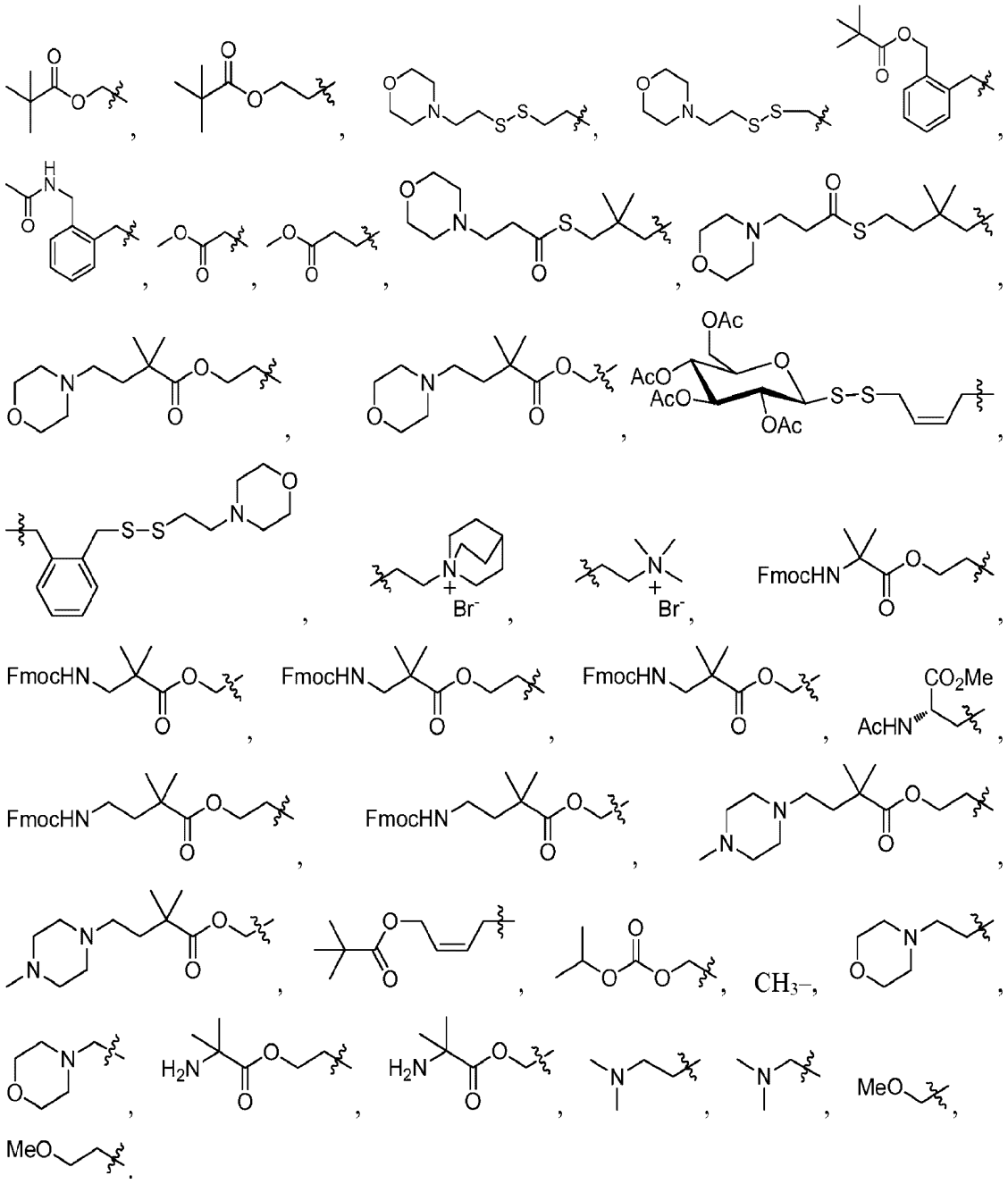
、１以上のメチレン単位は、任意の－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ´）－、－Ｃ（Ｏ）－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により、任意におよび独立して置換され、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３５２】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化７１】



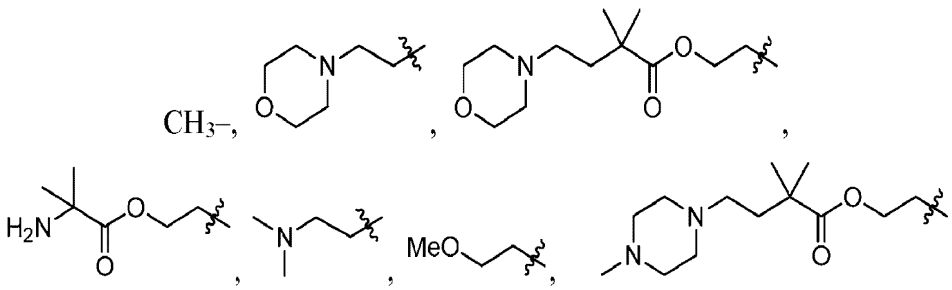


である。

【０３５３】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化７２】



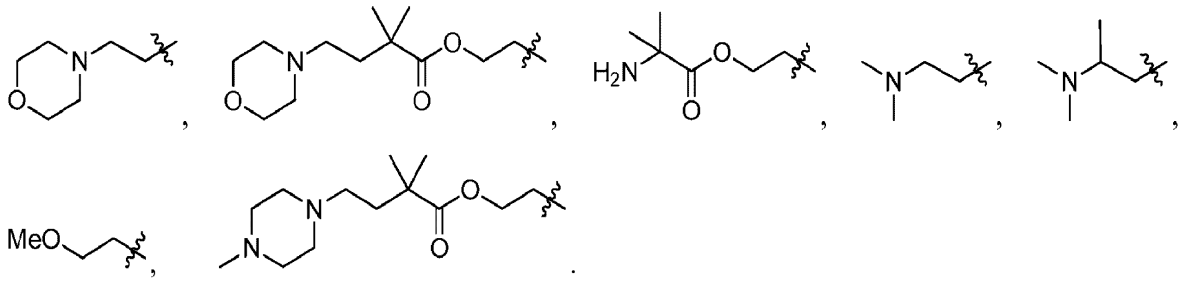
である。

【０３５４】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、Ｌに結合された置換されていてもよい－（ＣＨ

$_2$）$_2$－部分を有する末端を含む。そのような例示的なＲ^{1}基は、下記の通りである：

【化７３】

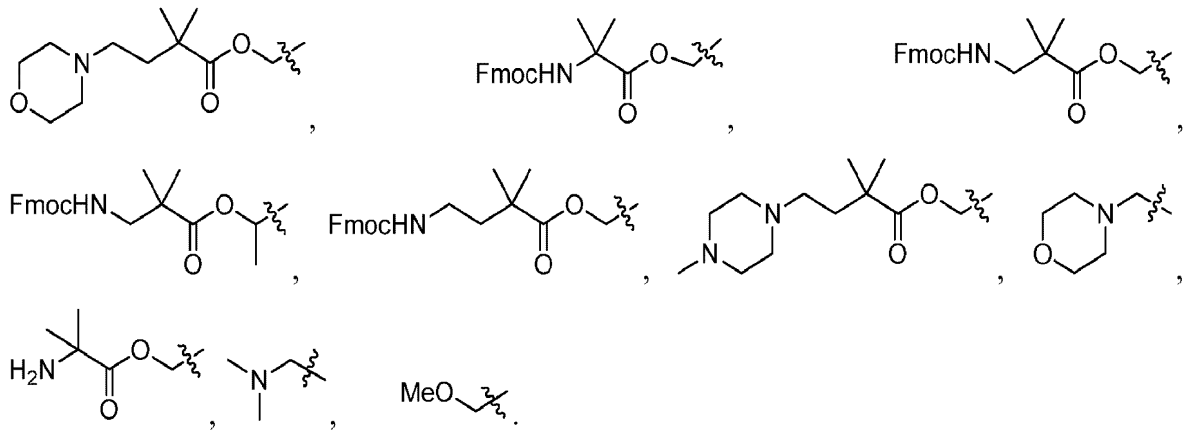


。

【０３５５】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、Ｌに結合され、置換されていてもよい置換されていてもよい－（ＣＨ$_2$）－部分を含む。そのような例示的なＲ^{1}基は、下記の通りである：

【化７４】



。

【０３５６】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、－Ｓ－Ｒ^{Ｌ２}であり、Ｒ^{Ｌ２}は、であり、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_9$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、Ｒ’および－Ｃｙ－のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、－Ｓ－Ｒ^{Ｌ２}であり、硫黄原子は、Ｌ基の硫黄原子と結合される。

【０３５７】

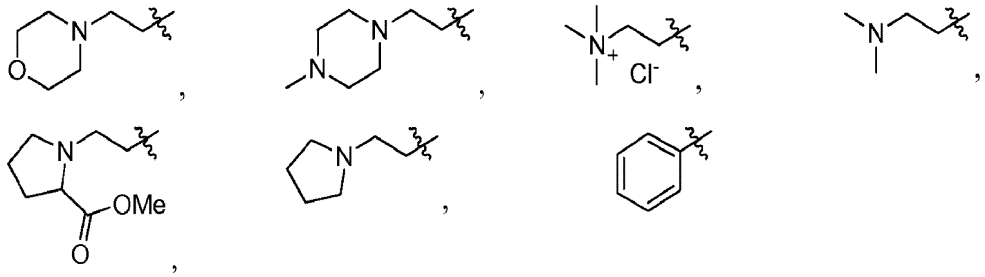
いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ２}であり、Ｒ^{Ｌ２}は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_9$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ′）$_2$－、－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ′）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ′）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび

独立して置換され、Ｒ’および－Ｃｙ－のそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｃ（Ｏ）－R^{L2}であり、カルボニル基は、Ｌ基のＧと結合される。いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｃ（Ｏ）－R^{L2}であり、カルボニル基は、Ｌ基の硫黄原子と結合される。

【０３５８】

いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族である。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9アルキルである。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9アルケニルである。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9アルキニルである。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、任意におよび独立して－Ｃｙ－または－Ｃ（Ｏ）－により置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、－Ｃｙ－により任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいヘテロシシレンにより任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいアリーレンにより任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、以上のメチレン単位は、置換されていてもよいヘテロアリーレンにより任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいC_3～C_{10}カルボシクリレンにより任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、２つのメチレン単位は、－Ｃｙ－または－Ｃ（Ｏ）－により任意におよび独立して置換される。いくつかの実施形態において、R^{L2}は、置換されていてもよいC_1～C_9脂肪族であり、２つのメチレン単位は、－Ｃｙ－または－Ｃ（Ｏ）－により任意におよび独立して置換される。例示的なR^{L2}基は、下記の通りである：

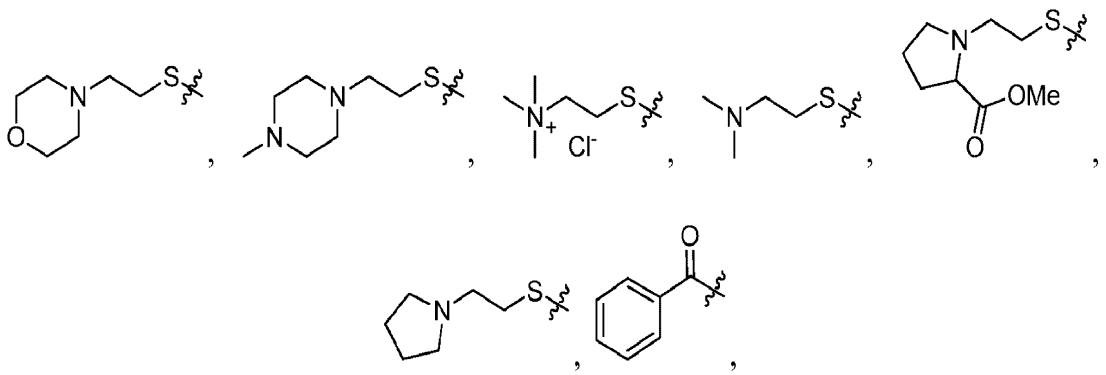
【化７５】



【０３５９】

いくつかの実施形態において、R^1は、水素であり、または、置換されていてもよい基

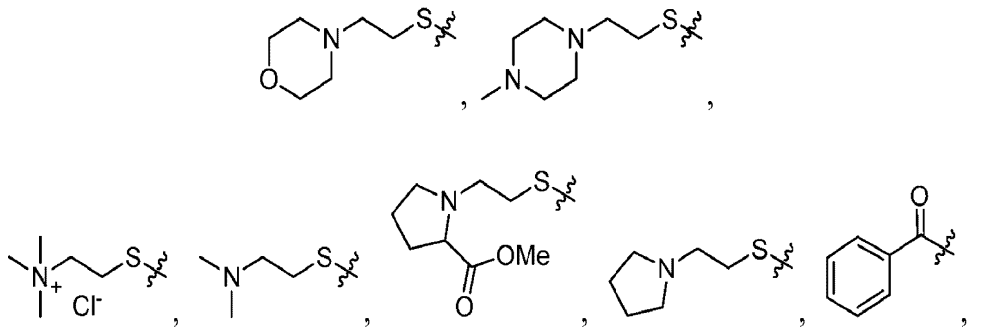
【化７６】



－Ｓ－（C_1～C_{10}脂肪族）、C_1～C_{10}脂肪族、アリール、C_1～C_6ヘテロアル

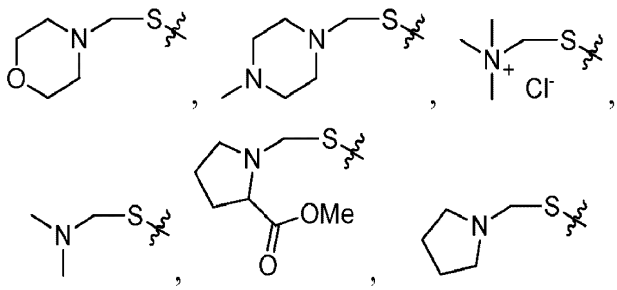
キル、ヘテロアリールおよびヘテロシクリルから選択される。いくつかの実施形態において、R^1は、

【化７７】



または－Ｓ－（C_1～C_{10}脂肪族）である。いくつかの実施形態において、R^1は、

【化７８】



である。

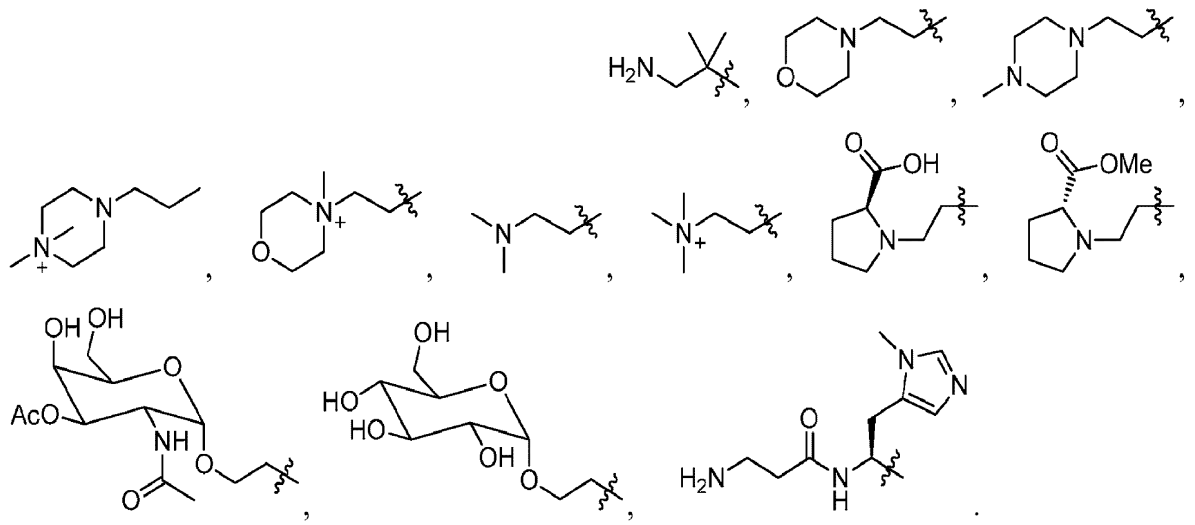
【０３６０】

いくつかの実施形態において、R^1は、－Ｓ－（C_1～C_6脂肪族）、C_1～C_{10}脂肪族、C_1～C_6ヘテロ脂肪族、アリール、ヘテロシクリルおよびヘテロアリールから選択される置換されていてもよい基である。

【０３６１】

いくつかの実施形態において、R^1は、

【化７９】

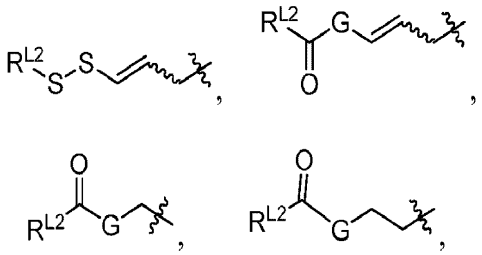


である。

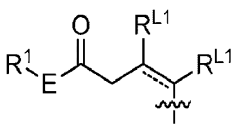
【０３６２】

いくつかの実施形態において、上記およびここに記載したR^1の実施形態の硫黄原子は、上記およびここに記載したＬの実施形態の硫黄原子、Ｇ、Ｅ、または－Ｃ（Ｏ）－部分に結合されている。いくつかの実施形態において、上記およびここに記載したR^1の実施形態の－Ｃ（Ｏ）－部分は、上記およびここに記載したＬの実施形態の硫黄原子、Ｇ、Ｅ

、または－Ｃ（Ｏ）－部分と結合されている。
【０３６３】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、上記およびここに記載したＬの実施形態およびＲ^{1}の実施形態組み合わせのいずれかである。
【０３６４】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｌ^{3}－Ｇ－Ｒ^{1}であり、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３６５】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｌ^{4}－Ｇ－Ｒ^{1}であり、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３６６】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｌ^{3}－Ｇ－Ｓ－Ｒ^{Ｌ２}であり、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３６７】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｌ^{3}－Ｇ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ２}であり、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３６８】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８０】

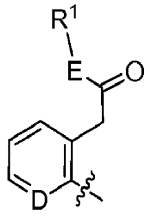


であり、ここでＲ^{Ｌ２}は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{9}$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキレン、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルケニレン、－Ｃ≡Ｃ－、－Ｃ（Ｒ′）$_{2}$－、－Ｃｙ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ－Ｓ－、－Ｎ（Ｒ′）－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｓ）－、－Ｃ（ＮＲ′）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ′）－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され、各Ｇは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３６９】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｒ^{Ｌ３}－Ｓ－Ｓ－Ｒ^{Ｌ２}であり、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｒ^{Ｌ３}－Ｃ（Ｏ）－Ｓ－Ｓ－Ｒ^{Ｌ２}であり、ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７０】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８１】

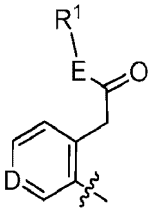


の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７１】

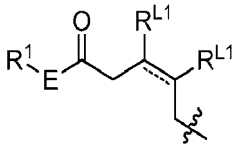
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８２】



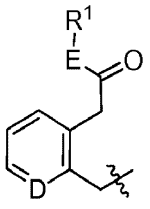
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７２】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８３】



の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７３】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８４】

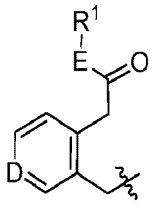


の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７４】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８５】

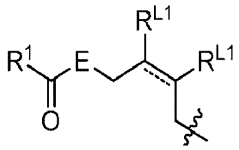


の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７５】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

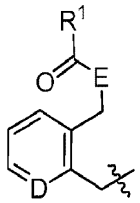
【化８６】



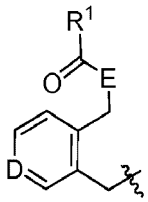
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７６】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８７】



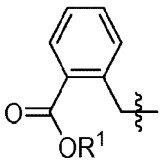
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７７】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８８】



の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７８】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化８９】



の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３７９】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化９０】



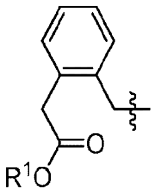
の構造を有し、

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３８０】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化９１】



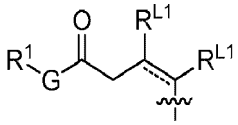
の構造を有し、

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３８１】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化９２】



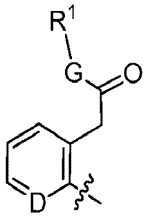
の構造を有し、

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３８２】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化９３】



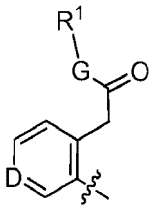
の構造を有し、

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３８３】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化９４】



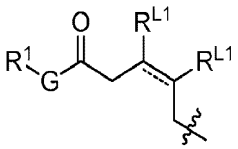
の構造を有し、

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０３８４】

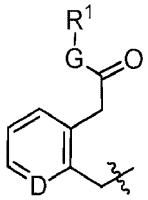
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化９５】

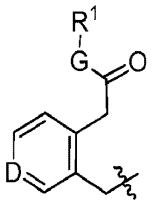


の構造を有し、

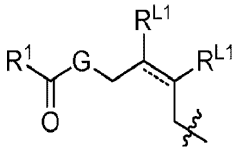
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３８５】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化９６】



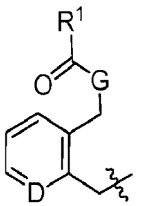
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３８６】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化９７】



の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３８７】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化９８】

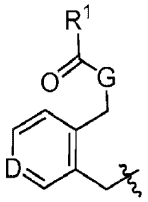


の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３８８】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化９９】

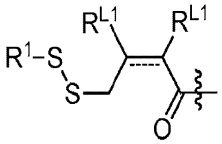


の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３８９】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

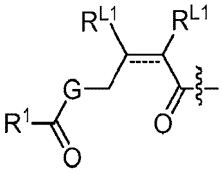
【化１００】



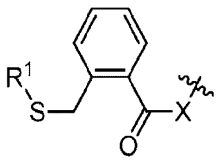
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３９０】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化１０１】



の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３９１】
いくつかの実施形態において、Ｌは、
【化１０２】

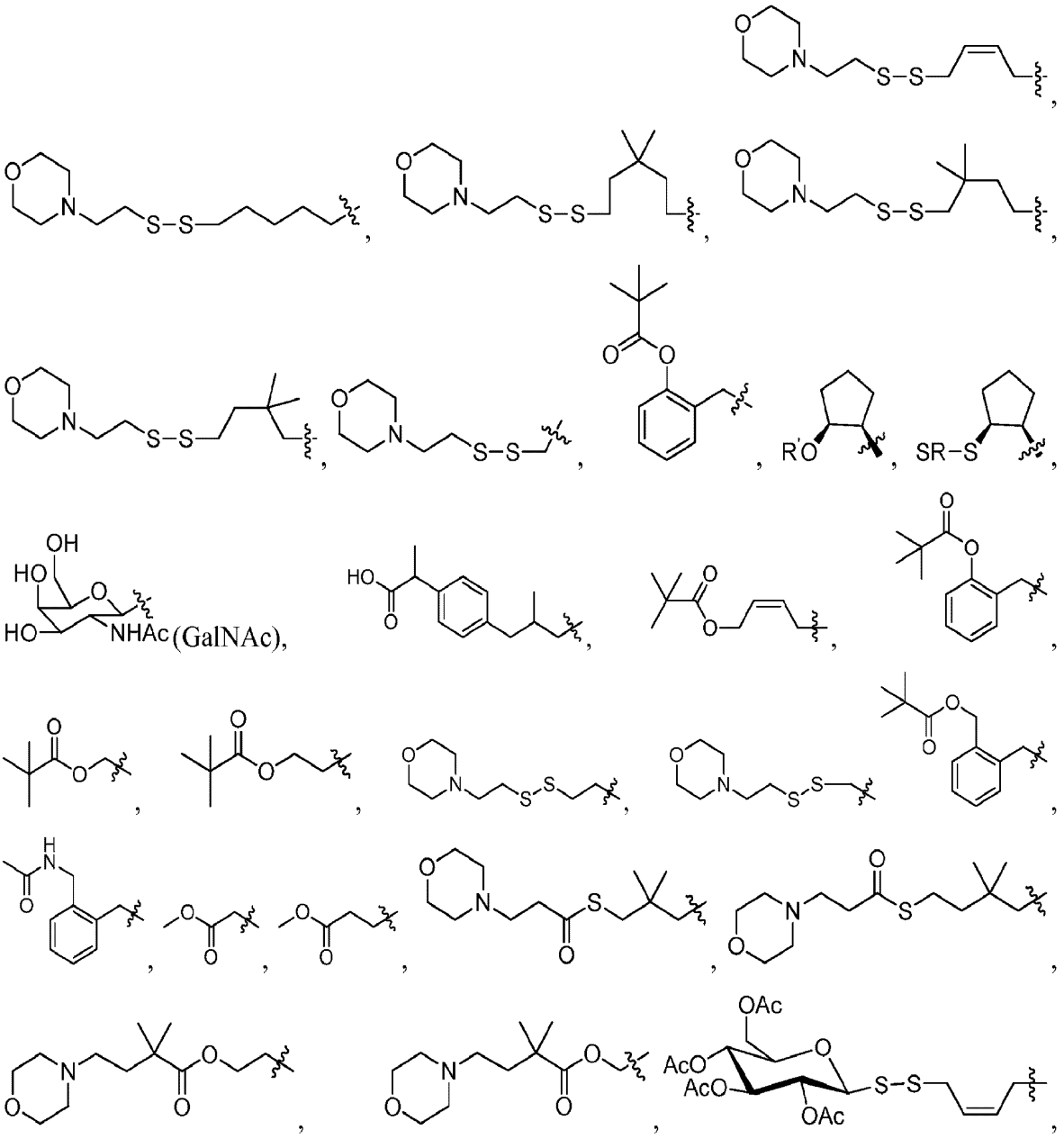


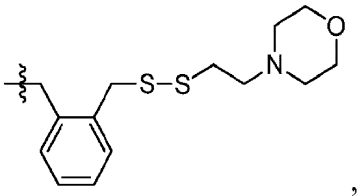
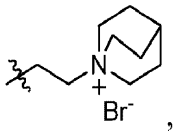
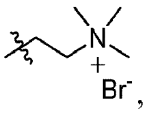
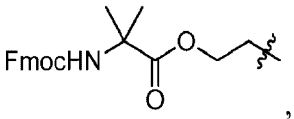
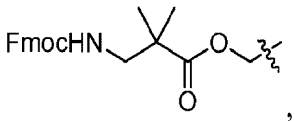
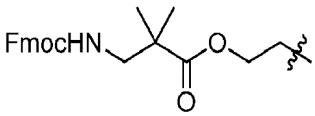
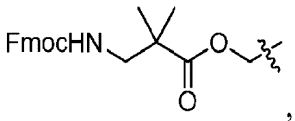
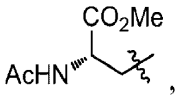
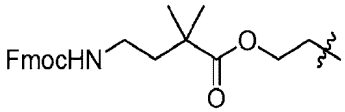
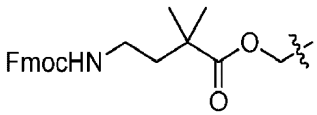
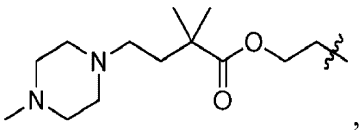
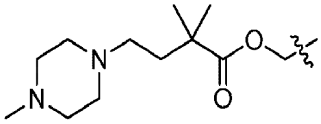
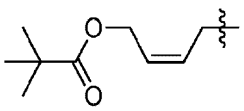
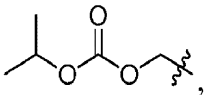
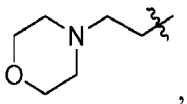
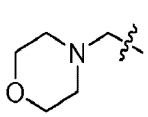
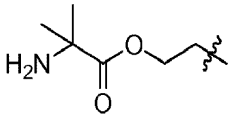
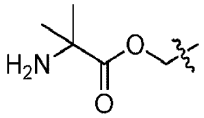
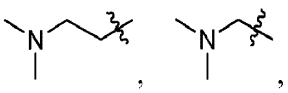
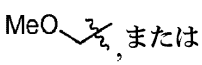
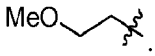
の構造を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３９２】
いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、
【化１０３】



の構造を有し、
ここでフェニル環は、置換されていてもよく、および
Ｒ^{1}およびＸのそれぞれは、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０３９３】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１０４】



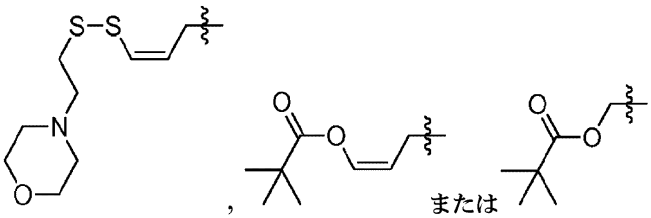






















である。

【０３９４】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１０５】

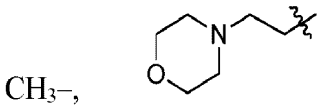
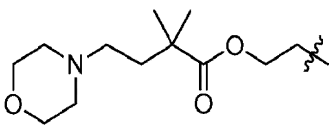
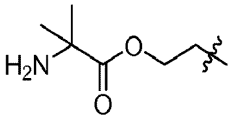
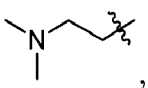
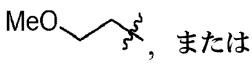
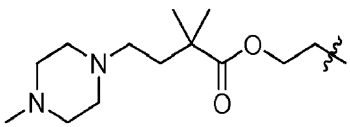


である。

【０３９５】

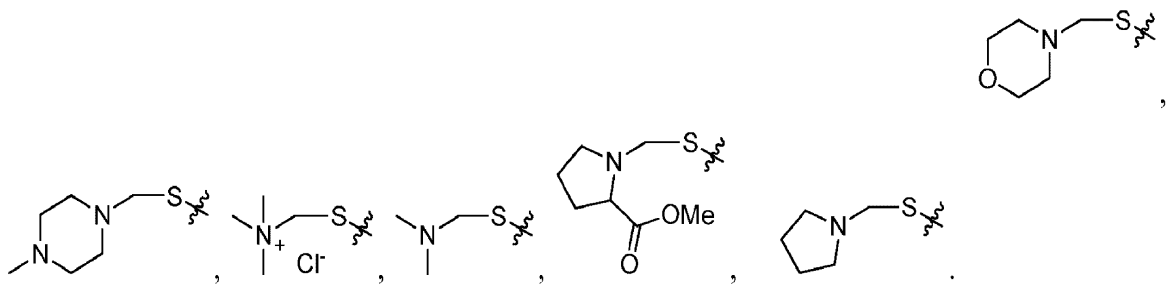
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１０６】

である。いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１０７】

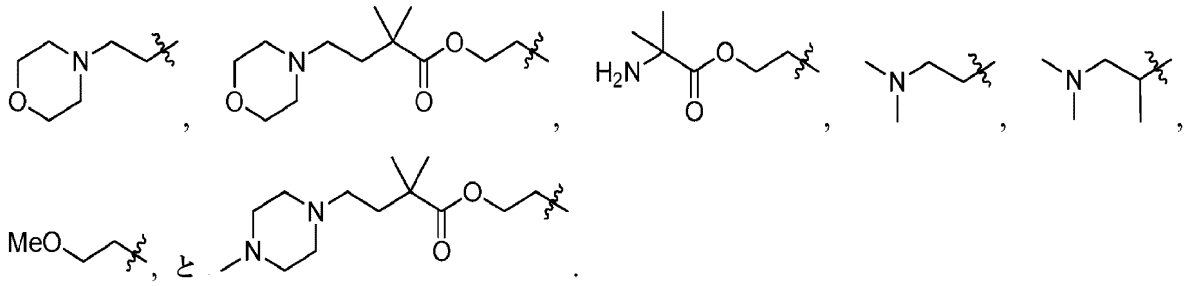


である。

【０３９６】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｘに結合された置換されていてもよい－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－部分の末端を含む。いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｘに結合された－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－部分の末端を含む。そのような例示的な－Ｌ－Ｒ^{1}部分は、下記の通りである：

【化１０８】

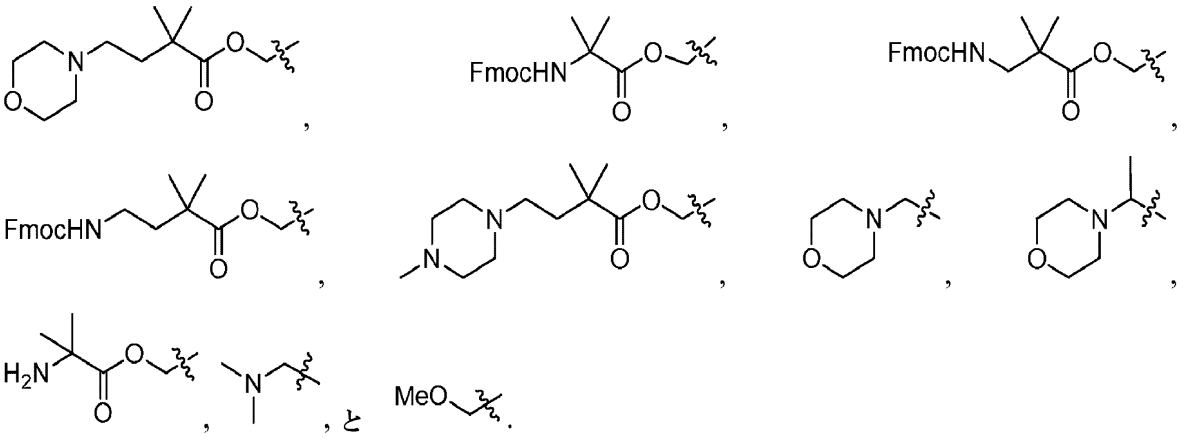


。

【０３９７】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｘに結合された置換されていてもよい－（ＣＨ$_{2}$）－部分の末端を含む。いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｘに結合された－（ＣＨ$_{2}$）－部分の末端を含む。そのような例示的な－Ｌ－Ｒ^{1}部分は、下記の通りである：

【化１０９】

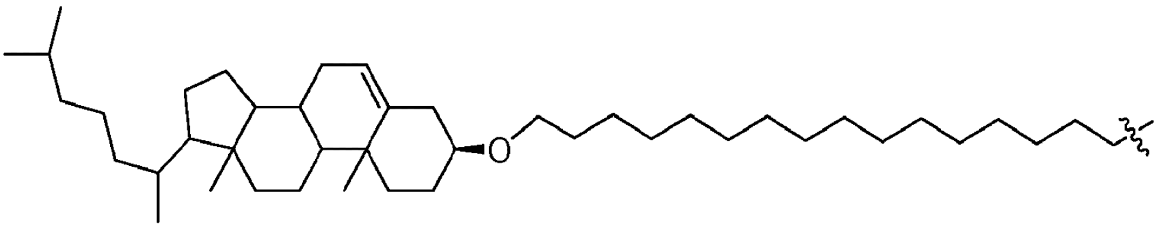


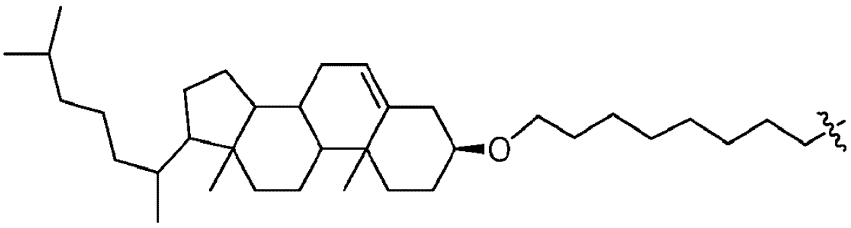
。

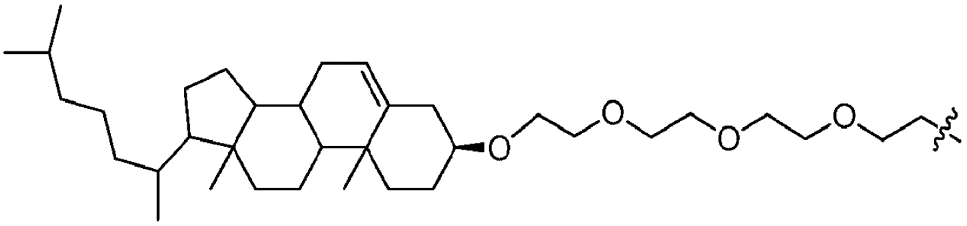
【０３９８】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１１０】


,


，または

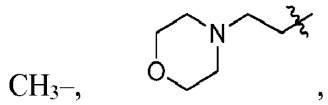

.

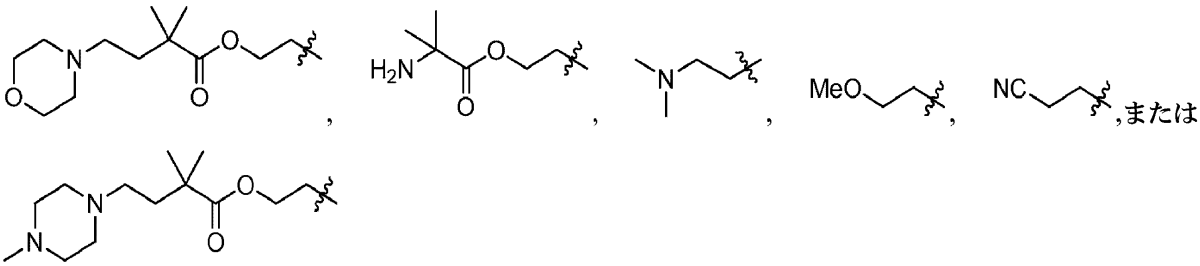
である。

【０３９９】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１１１】


,

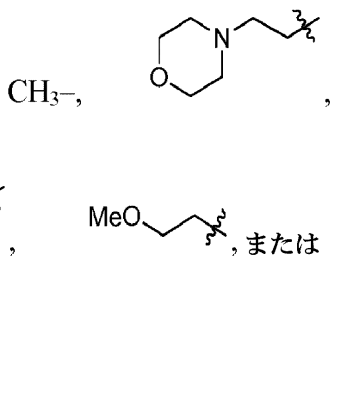


であり；およびＸは、－Ｓ－である。

【０４００】

いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１１２】

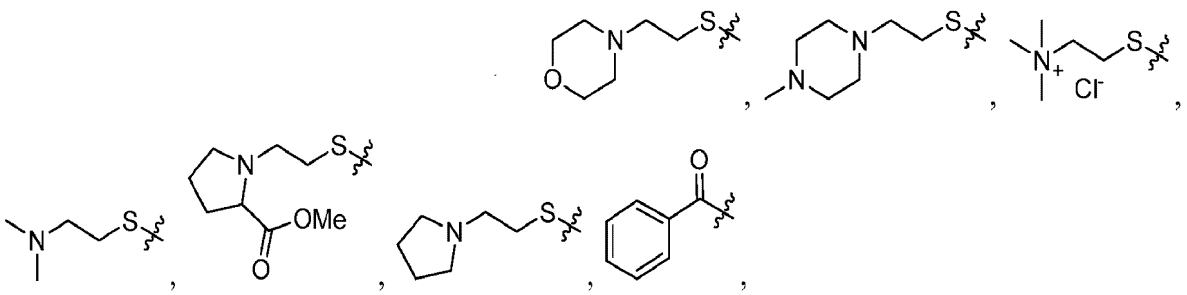


であり、Ｘは、－Ｓ－、Ｗは、Ｏ、Ｙは、－Ｏ－、およびＺは、－Ｏ－である。

【０４０１】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化１１３】

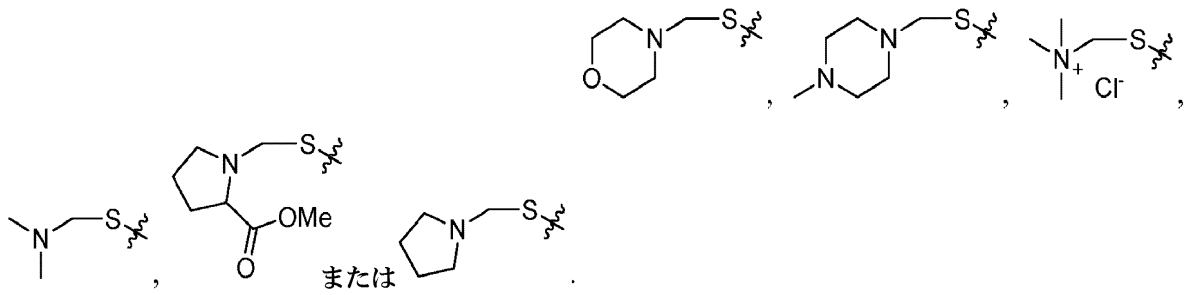


または－Ｓ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族）である。

【０４０２】

いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}は、

【化１１４】

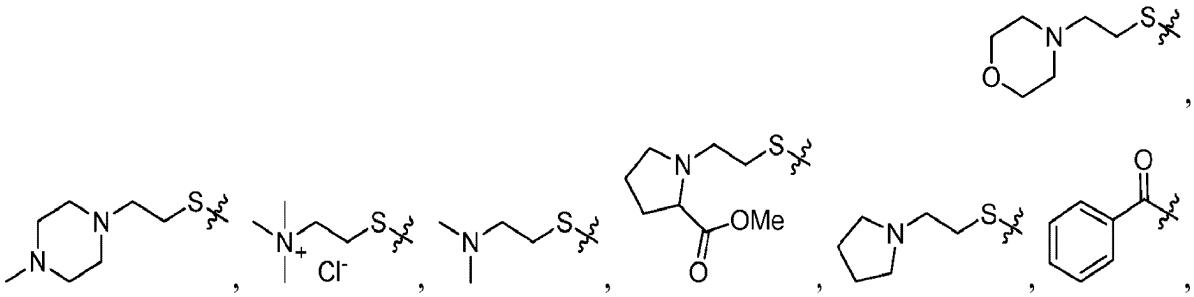


である。

【０４０３】

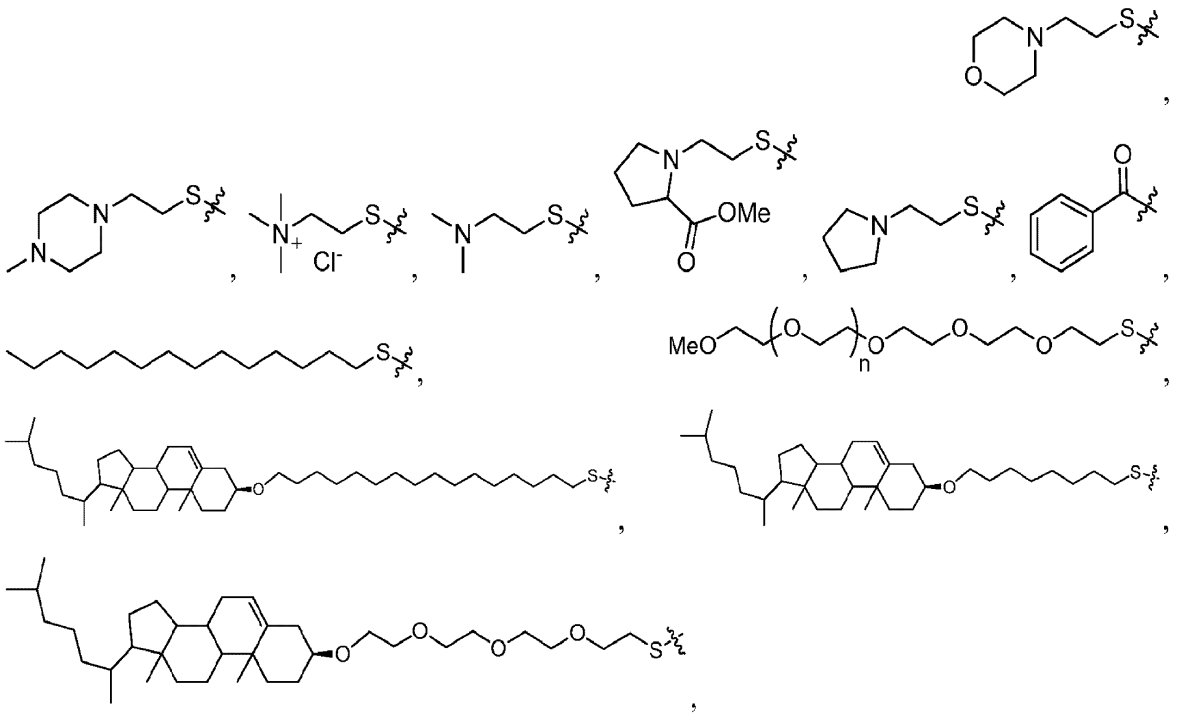
いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｏ－または－Ｓ－であり、およびＲ^{1}は、

【化１１５】

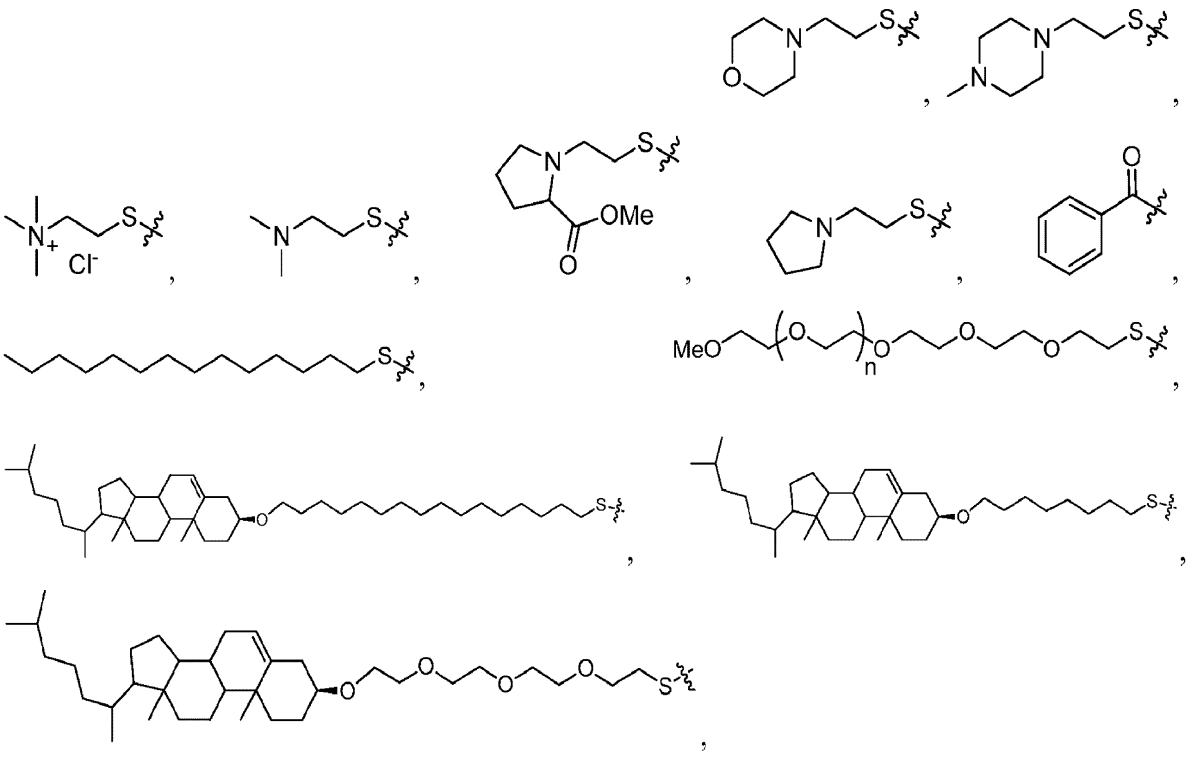


または－Ｓ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族）である。

【０４０４】
いくつかの実施形態において、Ｘは、－Ｏ－または－Ｓ－であり、およびＲ^{1}は、
【化１１６】



－Ｓ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族）または－Ｓ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{50}$脂肪族）である。
【０４０５】
いくつかの実施形態において、Ｌは、共有結合であり、－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｒ^{1}である。
【０４０６】
いくつかの実施形態において、－Ｌ－Ｒ^{1}は、水素以外である。
【０４０７】
いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｒ^{1}は、
【化１１７】

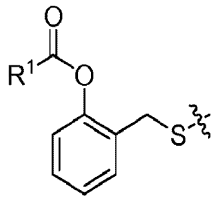


、－Ｓ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$脂肪族）または－Ｓ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{50}$脂肪族）である。

【０４０８】

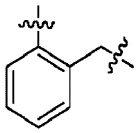
いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１１８】



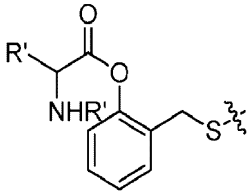
の構造を有し、部分

【化１１９】



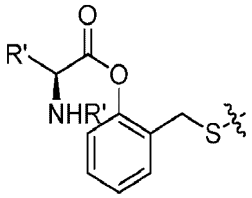
は、置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１２０】



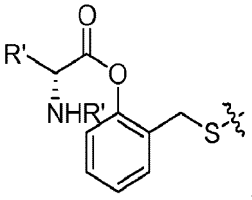
である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１２１】



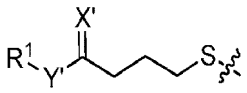
である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１２２】



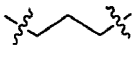
である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１２３】



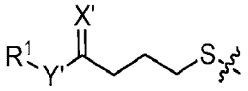
の構造を有し、Ｘ’は、ＯまたはＳであり、Ｙ’は、－Ｏ－であり、－Ｓ－または－ＮＲ’－であり、部分

【化１２４】



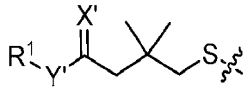
は、置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、Ｙ’は、－Ｏ－であり、－Ｓ－または－ＮＨ－である。いくつかの実施形態において、

【化１２５】



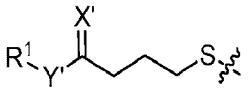
は、

【化１２６】



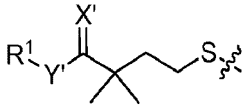
である。いくつかの実施形態において、

【化１２７】



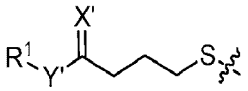
は、

【化１２８】



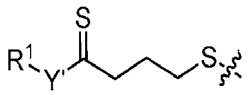
である。いくつかの実施形態において、

【化１２９】



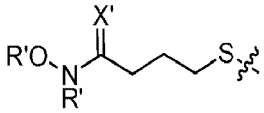
は、

【化１３０】



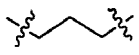
である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１３１】



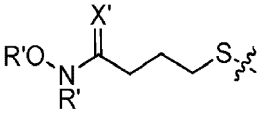
の構造を有し、Ｘ’は、ＯまたはＳであり、部分

【化１３２】



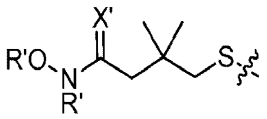
は、置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、

【化１３３】



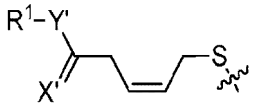
は、

【化１３４】



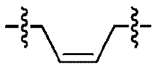
である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１３５】



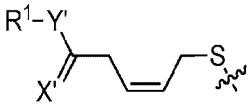
であり、

【化１３６】



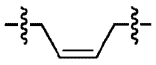
は、置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１３７】



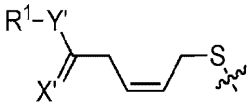
であり、

【化１３８】



は、置換される。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１３９】



であり、

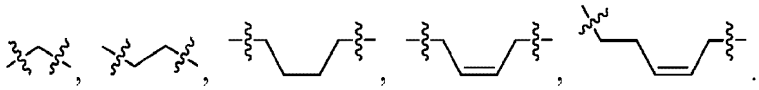
【化１４０】

は、非置換である。

【０４０９】

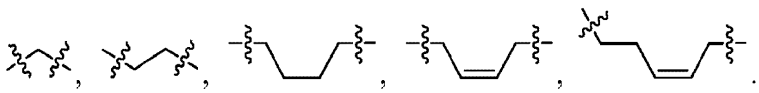
いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｒ^{1}－Ｃ（Ｏ）－Ｓ－Ｌ^{x}－Ｓ－であり、Ｌ^{x}は、置換されていてもよい基

【化１４１】



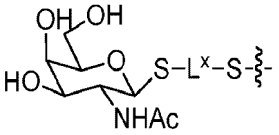
から選択される。いくつかの実施形態において、Ｌ^{x}は、

【化１４２】



である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、（ＣＨ$_{3}$）$_{3}$Ｃ－Ｓ－Ｓ－Ｌ^{x}－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｒ^{1}－Ｃ（＝Ｘ’）－Ｙ’－Ｃ（Ｒ）$_{2}$－Ｓ－Ｌ^{x}－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、Ｒ－Ｃ（＝Ｘ’）－Ｙ’－ＣＨ$_{2}$－Ｓ－Ｌ^{x}－Ｓ－である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、

【化１４３】



である。

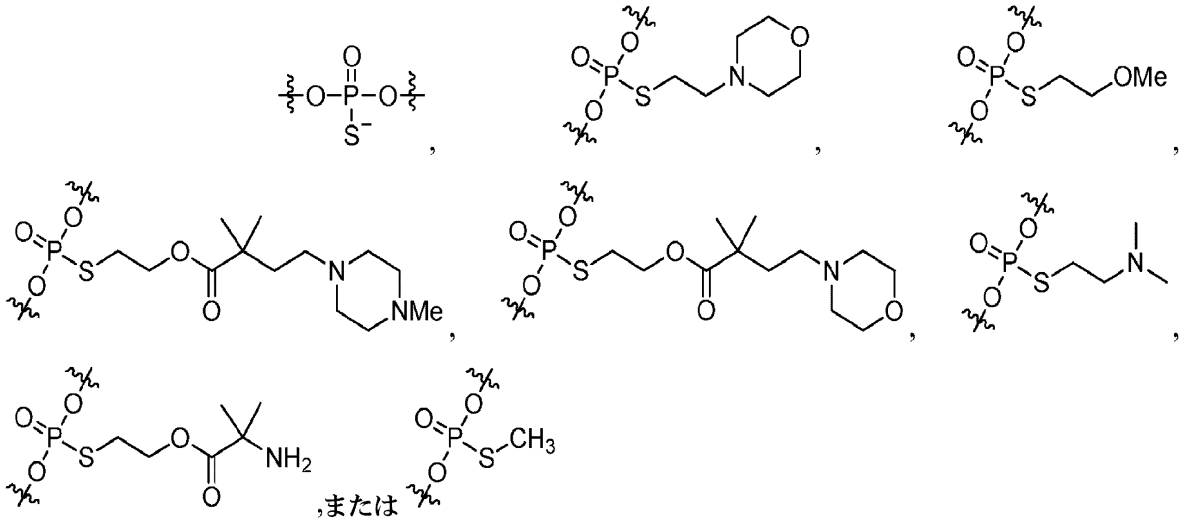
【０４１０】

技術分野の当業者によって理解されるように、ここに記載した－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}基の多くは、切断可能で、対象に対して投与を行った後に、－Ｘ$^{-}$へ変換可能である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、切断可能である。いくつかの実施形態において、－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}は、－Ｓ－Ｌ－Ｒ^{1}であり、対象に対して投与を行った後に－Ｓ$^{-}$へ変換される。いくつかの実施形態において、対象の酵素により変換が促される。技術分野の当業者によって理解されるように、－Ｓ－Ｌ－Ｒ^{1}基は、投与後に－Ｓ$^{-}$に変換されることは、技術分野において公知であり、薬物代謝や薬物動態の研究に用いられるものを含め、実践されている。

【０４１１】

いくつかの実施形態において、式Ｉの構造を有するインターヌクレオチド結合は、

【化１４４】

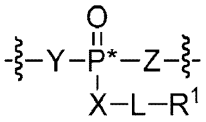


である。

【０４１２】

いくつかの実施形態において、式Ｉのインターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ａの構造：

【化１４５】



(I-a)

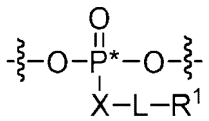
を有する。

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０４１３】

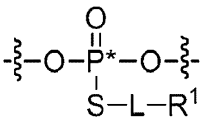
いくつかの実施形態において、式Ｉのインターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｂの構造：

【化１４６】



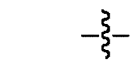
(I-b)

を有し、
ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。
【０４１４】
いくつかの実施形態において、式Ｉのインターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃ：
【化１４７】



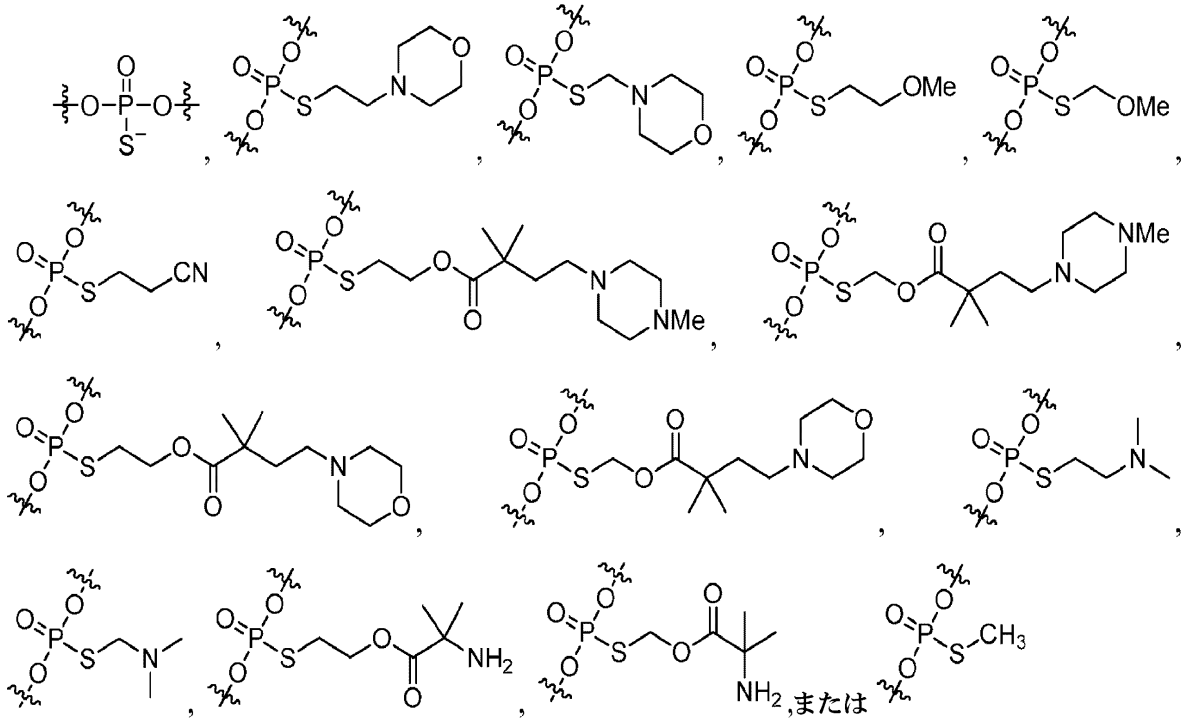
(I-c)

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り、
ここで、Ｐ＊は、不斉リン原子であり、ＲｐまたはＳｐのいずれかであり；
Ｌは、共有結合または任意に置換され、直鎖または分岐のＣ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレンであり、ここでＬの１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され；
Ｒ^{1}は、ハロゲン、Ｒ、または置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_{50}$脂肪族であり、１以上のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキレン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$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）$_2$Ｎ（Ｒ′）－、－Ｎ（Ｒ′）Ｓ（Ｏ）$_2$－、－ＳＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｓ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－Ｃ（Ｏ）Ｏ－により任意におよび独立して置換され；
各Ｒ′は、独立して－Ｒ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ、－ＣＯ$_2$Ｒ、もしくは－ＳＯ$_2$Ｒであるか、または：
同じ窒素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって置換されていてもよいヘテロ環式、もしくはヘテロアリール環を形成するか、または
同じ炭素上の２つのＲ′は、それらの介在原子と一緒になって、置換されていてもよいアリール、炭素環式、ヘテロ環式、また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、またはヘテロシクリレンから選択される置換されていてもよい２価の環であり；
各Ｒは、独立して水素であるか、または、Ｃ$_1$～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、またはヘテロシクリルから選択される置換されていてもよい基であり；および
各

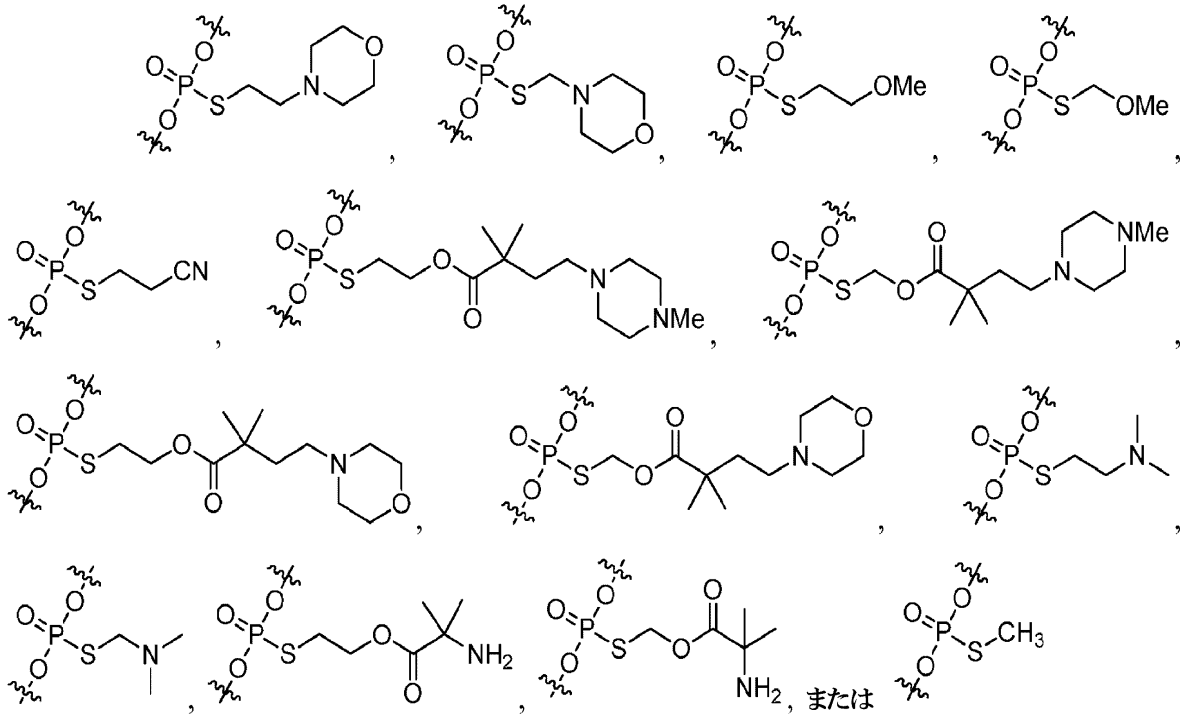


は、独立してヌクレオシドとの結合を表し；
Ｒ^{1}は、Ｌが共有結合のとき、－Ｈ以外である。

【０４１５】
いくつかの実施形態において、式Ｉの構造を有するインターヌクレオチド結合は、
【化１４８】



である。
【０４１６】
いくつかの実施形態において、式Ｉ－ｃの構造を有するインターヌクレオチド結合は、
【化１４９】



である。
【０４１７】
いくつかの実施形態において、本発明は、１以上のリン酸ジエステル結合、および式Ｉ－ａ、Ｉ－ｂ、またはＩ－ｃを有する１以上の修飾されたインターヌクレオチド結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。

【０４１８】
いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合、および式Ｉ－ｃの構造を有する少なくとも１個のホスホロチオエートトリエステル結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合、および式Ｉ－ｃの構造を有する少なくとも２個のホスホロチオエートトリエステル結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合、および式Ｉ－ｃの構造を有する少なくとも３個のホスホロチオエートトリエステル結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合、および式Ｉ－ｃの構造を有する少なくとも４個のホスホロチオエートトリエステル結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、少なくとも１個のリン酸ジエステルインターヌクレオチド結合、および式Ｉ－ｃの構造を有する少なくとも５個のホスホロチオエートトリエステル結合を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。

【０４１９】
いくつかの実施形態において、本発明は、本出願の付属書類のいずれかに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、付属書類Ａに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、付属書類Ｂに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、付属書類Ｃに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、本出願の付属書類のいずれかに示される配列を有するキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、付属書類Ａに示される配列を有するキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、付属書類Ｂに示される配列を有するキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、付属書類Ｃに示される配列を有するキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。

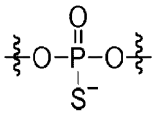
【０４２０】
いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、前記配列は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣと５０％以上の同一性を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、前記配列は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣと６０％以上の同一性を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、前記配列は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣと７０％以上の同一性を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、前記配列は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣと８０％以上の同一性を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、前記配列は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣと９０％以上の同一性を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、前記配列は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣと９５％以上の同一性を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリ

ゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を有するキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。

【０４２１】

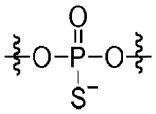
いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、キラル結合したリン酸を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、式Ｉの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、式Ｉの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、

【化１５０】



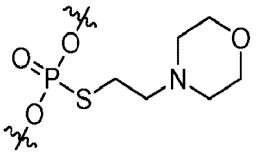
である。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、
各インターヌクレオチド結合は、

【化１５１】



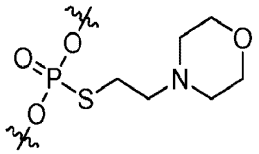
である。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、

【化１５２】



である。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣに示される配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、

【化１５３】

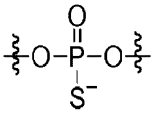


である。

【０４２２】

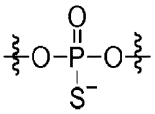
いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、キラル結合したリン酸を有する。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、式Ｉの構造を有する。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、各インターヌクレオチド結合は、式Ｉの構造を有する。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃの構造を有する。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、各インターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃの構造を有する。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、

【化１５４】



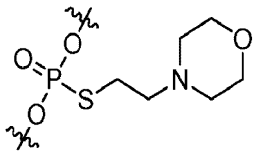
である。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、各インターヌクレオチド結合は、

【化１５５】



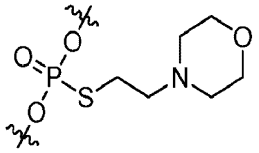
である。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、

【化１５６】



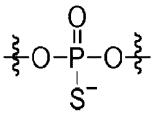
である。本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むを」キラル制御されたオリゴヌクレオチド提供し、各インターヌクレオチド結合は、

【化１５７】

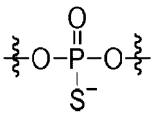


である。

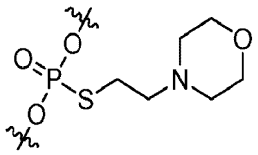
【０４２３】
いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、キラル結合したリン酸を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、式Ｉの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、式Ｉの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、式Ｉ－ｃの構造を有する。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、
【化１５８】



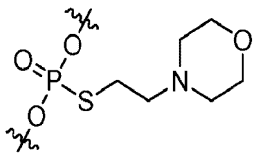
である。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、
【化１５９】



である。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１個のインターヌクレオチド結合は、
【化１６０】



である。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各インターヌクレオチド結合は、
【化１６１】



である。
【０４２４】
いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣ

の配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの結合したリン酸は、Ｒｐである。ある特定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、ＲＮＡ配列を含み、各Ｔは、独立してかつ任意にＵと置換されることは、技術分野の当業者により理解される。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、結合したリン酸のそれぞれは、Ｒｐである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの結合したリン酸は、Ｓｐである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、結合したリン酸のそれぞれは、Ｓｐである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、ブロックマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、ステレオブロックマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、Ｐ－修飾ブロックマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、結合ブロックマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、アルトマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、ステレオアルトマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、Ｐ－修飾アルトマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、結合アルトマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、ユニマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、ステレオユニマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、Ｐ－修飾ユニマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、結合ユニマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは、スキップマーである。

【０４２５】

いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各シトシンは、任意におよび独立して５－メチルシトシンに置換される。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つのシトシンは、任意におよび独立して５－メチルシトシンに置換される。いくつかの実施形態において、本発明は、ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供し、各シトシン

は、任意におよび独立して５－メチルシトシンに置換される。ＧＣＣＴＣＡＧＴＣＴＧＣＴＴＣＧＣＡＣＣの配列を含む例示的なキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、下記の表２に示される。

【０４２６】

例示的なキラル制御されたオリゴヌクレオチド

【表２】

オリゴ	立体化学／配列	摘要
101	All-(*R*p)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	All-R
102	All-(*S*p)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	All-S

103	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	5R-9S-5R
104	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	5S-9R-5S
105	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	1S-17R-1S
106	(*Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	1R-17S-1R
107	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(R/S)_9R$
108	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(S/R)_9S$
109	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	3S-13R-3S
110	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	3R-13S-3R
111	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{19}$
112	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{9}$
113	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{2}$
114	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(RRS)_6$-R
115	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	S-$(RRS)_6$
116	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	RS-$(RRS)_5$-RR
122	All-(*Rp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1Cs1As1Cs1C]	All-R
123	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1Cs1As1Cs1C]	1S-17R-1S
124	All-(*Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1Cs1As1Cs1C]	All-S
125	All-(*Rp*)-d[5mCs1As1Ts1G]	All-R
126	All-(*Rp*)-d[Cs2As2Gs2T]	All-R
127	All-(*Rp*)-d[Cs3As3Gs3T]	All-R
128	All-(*Sp*)-d[Cs4As4Gs4T]	All-S
129	All-(*Sp*)-d[Cs5As5Gs5T]	All-S
130	All-(*Sp*)-d[Cs6As6Gs6T]	All-S
131	All-(*Rp*)-d[Gs7Cs7Cs7Ts7Cs7As7Gs7Ts7Cs7Ts7Gs7Cs7Ts7Ts7Cs7Gs7Cs7As7Cs7C]	All-R
132	All-(*Sp*)-d[Gs7Cs7Cs7Ts7Cs7As7Gs7Ts7Cs7Ts7Gs7Cs7Ts7Ts7Cs7Gs7Cs7As7Cs7C]	All-S

133	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1 Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1Gs15mCs1As15mCs15mC]	5R-9S-5R
134	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1 Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1Gs15mCs1As15mCs15mC]	5S-9R-5S
135	All-(*Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	All-R
136	All-(*Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	All-S
137	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	1S-9R-1S
138	(*Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	2S-7R-2S
139	(*Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	1R-9S-1R
140	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	2R-7S-2R
141	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	3S-5R-3S
142	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	3R-5S-3R
143	(*Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	$(SSR)_3$-SS
144	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	$(RRS)_3$-RR
145	All-(*Rp*)-d[5mCs1Ts15mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1 Ts15mCs1Gs15mC]	All-R
146	All-(*Rp*)-d[Gs15mCs1Ts1G]	All-R
147	All-(*Rp*)-d[5mCs1As1Gs1T]	All-R
148	All-(*Rp*)-d[5mCs2As2Gs2Ts25mCs2Ts2Gs25mCs2Ts2Ts25mCs2G]	All-R
149	All-(*Rp*)-d[5mCs4As4Gs4Ts45mCs4Ts4Gs45mCs4Ts4Ts45mCs4G]	All-R
150	All-(*Rp*)-d[TsCs1AsT]	All-R
151	All-(*Sp*)-d[Cs1AsGs1T]	All-S
152	All-(*Sp*)-d[Cs1AGs1T]	All-S
153	All-(*Sp*)-d[CAs1GsT]	All-S
154	All-(*Rp*)-d[Ts1Cs1As1T]	All-R
155	All-(*Rp*)-d[Ts2Gs2As2C]	All-R
156	All-(*Sp*)-d[Gs15mCs1Ts1G]	All-S
157	All-(*Sp*)-d[5mCs1As1Gs1T]	All-S
158	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCs1GsCsACsC]	5S-9R-4S
159	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1CsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCs1GsCs2As2Cs2C]	5S-9R-5S
160	All-(*Rp*)-$(Gs5mCs5mCsTs5mCs)_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs] $(Gs5mCsAs5mCs5mC)_{MOE}$	All-R

161	All-(*Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	All-S
162	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	5R-9S-5R
163	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	5S-9R-5S
164	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	1S-17R-1S
165	(*Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	1R-17S-1R
166	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	(R/S)$_9$R
167	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	(S/R)$_9$S
168	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	3S-13R-3S
169	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	3R-13S-3R
170	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	18S/R^{19}
171	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	18S/R^{9}
172	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	18S/R^{2}
173	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	(RRS)$_6$-R
174	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	S-(RRS)$_6$
175	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	RS-(RRS)$_5$-RR

176	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)(Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1)$_{MOE}$d[As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1] (Gs15mCs1As15mCs15mC)$_{MOE}$	RS-(RRS)$_5$-RR
177	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)(Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1)$_{MOE}$d[AGT5mCTG5mCTT5mC] (Gs25mCs2As25mCs25mC)$_{MOE}$	RS-(RRS)$_5$-RR
178	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs] (Gs5mCsAs5mCs5mC)$_F$ (F: 2-fluorodeoxyribose)	S-(RRS)$_6$
179	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs8Cs8Cs8Ts8Cs8As8Gs8Ts8Cs8Ts8Gs8Cs8Ts8Ts8Cs8Gs8Cs8As8Cs8C]	RS-(RRS)$_5$-RR
180	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs9Cs9Cs9Ts9Cs9As9Gs9Ts9Cs9Ts9Gs9Cs9Ts9Ts9Cs9Gs9Cs9As9Cs9C]	RS-(RRS)$_5$-RR
181	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs10Cs10Cs10Ts10Cs10As10Gs10Ts10Cs10Ts10Gs10Cs10Ts10Ts10Cs10Gs10Cs10As10Cs10C]	RS-(RRS)$_5$-RR
182	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs11Cs11Cs11Ts11Cs11As11Gs11Ts11Cs11Ts11Gs11Cs11Ts11Ts11Cs11Gs11Cs11As11Cs11C]	RS-(RRS)$_5$-RR
183	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs12Cs12Cs12Ts12Cs12As12Gs12Ts12Cs12Ts12Gs12Cs12Ts12Ts12Cs12Gs12Cs12As12Cs12C]	RS-(RRS)$_5$-RR
184	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs13Cs13Cs13Ts13Cs13As13Gs13Ts13Cs13Ts13Gs13Cs13Ts13Ts13Cs13Gs13Cs13As13Cs13C]	RS-(RRS)$_5$-RR
185	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs14Cs14Cs14Ts14Cs14As14Gs14Ts14Cs14Ts14Gs14Cs14Ts14Ts14Cs14Gs14Cs14As14Cs14C]	RS-(RRS)$_5$-RR
186	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs15Cs15Cs15Ts15Cs15As15Gs15Ts15Cs15Ts15Gs15Cs15Ts15Ts15Cs15Gs15Cs15As15Cs15C]	RS-(RRS)$_5$-RR
187	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[GsCsCs1TsCsAs]GsUs2CsUsGsd[CsTs3TsCsGs]CsAs4CsC	RS-(RRS)$_5$-RR
188	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsACsC]	5S-9R-4S
189	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1CsACs1C]	5S-9R-4S
190	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs8Cs8Cs8Ts8Cs8As8Gs8Ts8Cs8Ts8Gs8Cs8Ts8Ts8Cs8Gs8Cs1ACs8C]	5S-9R-4S
191	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs9Cs9Cs9Ts9Cs9As9Gs9Ts9Cs9Ts9Gs9Cs9Ts9Ts9Cs9Gs9Cs1ACs9C]	5S-9R-4S

192	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs10Cs10Cs10Ts10Cs10As10Gs10Ts10Cs10Ts10Gs10Cs10Ts10Ts10Cs10Gs10Cs1ACs10C]	5S-9R-4S
193	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs11Cs11Cs11Ts11Cs11As11Gs11Ts11Cs11Ts11Gs11Cs11Ts11Ts11Cs11Gs11Cs1ACs11C]	5S-9R-4S
194	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs12Cs12Cs12Ts12Cs12As12Gs12Ts12Cs12Ts12Gs12Cs12Ts12Ts12Cs12Gs12Cs1ACs12C]	5S-9R-4S
195	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs13Cs13Cs13Ts13Cs13As13Gs13Ts13Cs13Ts13Gs13Cs13Ts13Ts13Cs13Gs13Cs1ACs13C]	5S-9R-4S
196	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs14Cs14Cs14Ts14Cs14As14Gs14Ts14Cs14Ts14Gs14Cs14Ts14Ts14Cs14Gs14Cs1ACs14C]	5S-9R-4S
197	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs15Cs15Cs15Ts15Cs15As15Gs15Ts15Cs15Ts15Gs15Cs15Ts15Ts15Cs15Gs15Cs1ACs15C]	5S-9R-4S
198	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-GsCsCsUsCsAsGsUsCsUsGsCsUsUsCsGsCsACsC	5S-9R-4S
199	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs1Cs1Cs1Us1Cs1As1Gs1Us1Cs1Us1Gs1Cs1Us1Us1Cs1Gs1CsACs1C	5S-9R-4S
200	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs8Cs8Cs8Us8Cs8As8Gs8Us8Cs8Us8Gs8Cs8Us8Us8Cs8Gs8Cs1ACs8C	5S-9R-4S
201	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs9Cs9Cs9Us9Cs9As9Gs9Us9Cs9Us9Gs9Cs9Us9Us9Cs9Gs9Cs1ACs9C	5S-9R-4S
202	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs10Cs10Cs10Us10Cs10As10Gs10Us10Cs10Us10Gs10Cs10Us10Us10Cs10Gs10Cs1ACs10C	5S-9R-4S
203	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs11Cs11Cs11Us11Cs11As11Gs11Us11Cs11Us11Gs11Cs11Us11Us11Cs11Gs11Cs1ACs11C	5S-9R-4S
204	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs12Cs12Cs12Us12Cs12As12Gs12Us12Cs12Us12Gs12Cs12Us12Us12Cs12Gs12Cs1ACs12C	5S-9R-4S
205	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs13Cs13Cs13Us13Cs13As13Gs13Us13Cs13Us13Gs13Cs13Us13Us13Cs13Gs13Cs1ACs13C	5S-9R-4S
206	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs14Cs14Cs14Us14Cs14As14Gs14Us14Cs14Us14Gs14Cs14Us14Us14Cs14Gs14Cs1ACs14C	5S-9R-4S
207	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs15Cs15Cs15Us15Cs15As15Gs15Us15Cs15Us15Gs15Cs15Us15Us15Cs15Gs15Cs1ACs15C	5S-9R-4S

【０４２７】

いくつか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、１以上のヌクレオチドが、ある特定状況下においてオートリリースしやすいリン酸修飾を含むように設計されている。つまり、ある条件下において、特定のリン修飾が、オリゴヌクレオチドか

ら自力で切断し、天然のＤＮＡおよびＲＮＡ内に見られる、例えば、リン酸ジエステルを得るように設計される。いくつかの実施形態において、そのようなリン酸修飾は、－Ｏ－Ｌ－Ｒ^{1}の構造を有し、ＬおよびＲ^{1}のそれぞれは、は、独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつかの実施形態において、オートリリース基は、モルホリノ基を含む。いくつかの実施形態において、オートリリース基は、インターヌクレオチドのリン酸リンカーに薬剤を送達する能力を特徴としており、薬剤は、例えば、脱硫などで、リン原子の修飾を促進する。いくつかの実施形態において、薬剤はは、水であり、加水分解により更に修飾され、天然のＤＮＡおよびＲＮＡに見られるリン酸ジエステルを形成する。

【０４２８】

いくつか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、得られる薬剤の性質がリン酸での１以上の特定の修飾を通じて改善されるように設計されている。あるオリゴヌクレオチドがヌクレアーゼにより急速に分解され、細胞膜を通じた細胞の取り込みが低下することは、当該技術分野において、多くの文書に記載されている（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ら（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ（１９９９），２７（２０）：４０７１－７６）は、親オリゴヌクレオチドと比較すると、ｔｅｒｔ－ブチルＳＡＴＥプロ－オリゴヌクレオチドの細胞透過性が著しく上昇することを示したことを発見した。。

【０４２９】

いくつかの実施形態において、結合したリン酸おける修飾は、天然のＤＮＡおよびＲＮＡに存在するようなリン酸ジエステルへ変換される能力を特徴としており、１以上のエステラーゼ、ヌクレアーゼ、および／またはシトクロムＰ４５０酵素、下記の表３に列挙するものにより変換されるが、これらに限定されるものではない。

例示的な酵素

【表３】

ファミリー	遺伝子

CYP1	CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1
CYP2	CYP2A6, CYP2A7, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1
CYP3	CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43
CYP4	CYP4A11, CYP4A22, CYP4B1, CYP4F2, CYP4F3, CYP4F8, CYP4F11, CYP4F12, CYP4F22, CYP4V2, CYP4X1, CYP4Z1
CYP5	CYP5A1
CYP7	CYP7A1, CYP7B1
CYP8	CYP8A1 (prostacyclin synthase), CYP8B1 (bile acid biosynthesis)
CYP11	CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2
CYP17	CYP17A1
CYP19	CYP19A1
CYP20	CYP20A1
CYP21	CYP21A2
CYP24	CYP24A1
CYP26	CYP26A1, CYP26B1, CYP26C1
CYP27	CYP27A1 (bile acid biosynthesis), CYP27B1 (vitamin D3 1-alpha hydroxylase, activates vitamin D3), CYP27C1 (unknown function)

CYP39	CYP39A1
CYP46	CYP46A1
CYP51	CYP51A1 (lanosterol 14-alpha demethylase)

【０４３０】
いくつかの実施形態において、リン酸における修飾が、プロドラッグとして機能することを特徴とするＰ－修飾部分になり、例えば、Ｐ－修飾部分は、オリゴヌクレオチドを除去する前に所望の位置へ送達しやすくする。例えば、いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、結合したリン酸でのペグ化によるものである。関連技術の当業者は、さまざまなＰＥＧ鎖の長さが有用であり、鎖の長さの選択は、一部は、ペグ化により実現しようとする結果によって決定されることを理解するであろう。例えば、いくつかの実施形態において、ペグ化は、ＲＥＳ取り込みを少なくし、オリゴヌクレオチドのインビボでの循環寿命を延ばす効果がある。
【０４３１】
いくつかの実施形態において、本発明によるペグ化に用いる試薬は、分子量が約３００ｇ／ｍｏｌ～約１００，０００ｇ／ｍｏｌである。いくつかの実施形態において、ペグ化に用いる試薬の分子量は、約３００ｇ／ｍｏｌ～約１０，０００ｇ／ｍｏｌである。いくつかの実施形態において、ペグ化に用いる試薬の分子量は、約３００ｇ／ｍｏｌ～約５，０００ｇ／ｍｏｌである。いくつかの実施形態において、ペグ化に用いる試薬の分子量は、約５００ｇ／ｍｏｌである。いくつかの実施形態において、ペグ化に用いる試薬の分子量は、約１０００ｇ／ｍｏｌである。いくつかの実施形態において、ペグ化に用いる試薬の分子量は、約３０００ｇ／ｍｏｌである。いくつかの実施形態において、ペグ化に用いる試薬の分子量は、約５０００ｇ／ｍｏｌである。
【０４３２】
ある特定の実施形態において、ペグ化に用いる試薬は、ＰＥＧ５００である。ある特定の実施形態において、ペグ化に用いる試薬は、ＰＥＧ１０００である。ある特定の実施形態において、ペグ化に用いる試薬は、ＰＥＧ３０００である。ある特定の実施形態において、ペグ化に用いる試薬は、ＰＥＧ５０００である。
【０４３３】
いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、例えば、脂質、ＰＥＧ化脂質などのＰＫエンハンサーとして機能することを特徴とする。
【０４３４】
いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、膜破壊脂質またはペプチドなどの細胞への侵入および／またはエンドソームの回避を促進する薬剤として機能することを特徴とする。
【０４３５】
いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、標的薬剤として機能することを特徴とする。いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、標的薬剤である、または標的薬剤を含む。ここでの「標的薬剤」という用語は、対象のペイロードと関連するものであり（例えば、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド組成物と関連）、また対象の標的部位と相互に作用する。そのため、確認されるより、または対象のペイロードが標的薬剤と関連していない場合の同等の状況下よりも、実質的により多くの標的薬剤と関連するとき、対象のペイロードが対象の標的部位を標的にする。標的薬剤は、例えば、小分子部分、核酸、ポリペプチド、炭水化物など種々の化学的部分のいずれかであってもよい、またはこれらを含む。標的薬剤は、さらにＡｄａｒｓｈ ｅｔ ａｌ．，“Ｏｒｇａｎｅｌｌｅ Ｓｐｅｃｉｆｉｃ Ｔａｒｇｅｔｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ － Ａ Ｒｅｖｉｅｗ，” Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ ａｎｄ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，２０１１，ｐ．８９５に記載される。
【０４３６】
例示的なそのような標的薬剤には、限定するものではないが、タンパク質（例えば、トランスフェリン）、オリゴペプチド（例えば、環式および非環式のＲＧＤ含有オリゴペプチド）、抗体（単クローン抗体および多クローン性抗体、例えば、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ抗体）、糖／炭水化物（例えば、単糖および／またはオリゴ糖（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（例えば、葉酸）、または別の小生体分子が含まれる。いくつかの実施形態において、標的部分は、ステロイド分子である（例えば、コール酸、デオキシコール酸、デヒドロコール酸を含む胆汁酸；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；コルチゾン環の３位での二重結合を通じて結合する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のカチオン性ステロイドなど）。いくつかの実施形態において、標的部分は、脂溶性分子（例えば、脂環式炭化水素、飽和および不飽和脂肪酸、ワックス、テルペン、およびエナメル質およ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。いくつか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、またはデヒドロレチナールなどのテルペノイドである。いくつかの実施形態において、標的部分は、ペプチドである。

【０４３７】

いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、式－－Ｘ－Ｌ－Ｒ^{1}で示される標的薬剤であり、Ｘ、Ｌ、およびＲ^{1}のそれぞれは、上記の式Ｉに定義のとおりである。

【０４３８】

いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、細胞の特異的送達を容易にすることを特徴とする。

【０４３９】

いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、上記記載の１以上のカテゴリーに含まれることを特徴とする。例えば、いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、ＰＫエンハンサーおよび標的リガンドとして機能する。いくつかの実施形態において、Ｐ－修飾部分は、プロドラッグおよびエンドソーム回避剤として機能する。関連技術の当業者であれば、本発明により、そのような組み合わせが他にも数多く可能であり、企図されることを理解するであろう。

【０４４０】

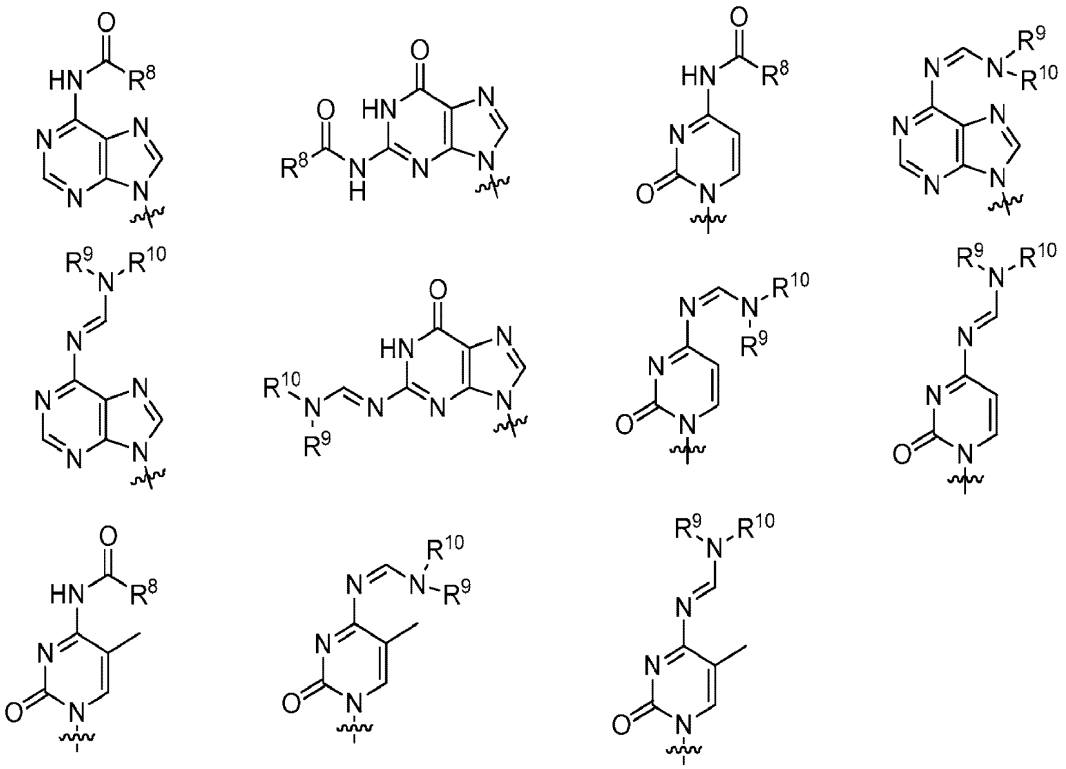
核酸塩基

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドに存在する核酸塩基は、自然の核酸塩基である、または自然の核酸塩基に由来する修飾された核酸塩基である。例としては、限定するものではないが、それぞれのアミノ基がアシル保護基により保護されているウラシル、チミン、アデニン、シトシン、およびグアニン、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、疑似イソシトシンや疑似ウラシルなどのピリミジン類似体、および８－置換プリン、キサンチン、またはヒポキサンチンなどの別の修飾された核酸塩基が挙げられる（最後の２つは、自然分解生成物）。例示的な修飾された核酸塩基は、Chiu and Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048, Limbach et al. Nucleic Acids Research, 1994, 22, 2183-2196 and Revankar and Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry, vol. 7, 313に開示される。

【０４４１】

以下の一般式で表される化合物もまた、修飾された核酸塩基として企図される：

【化１６２】

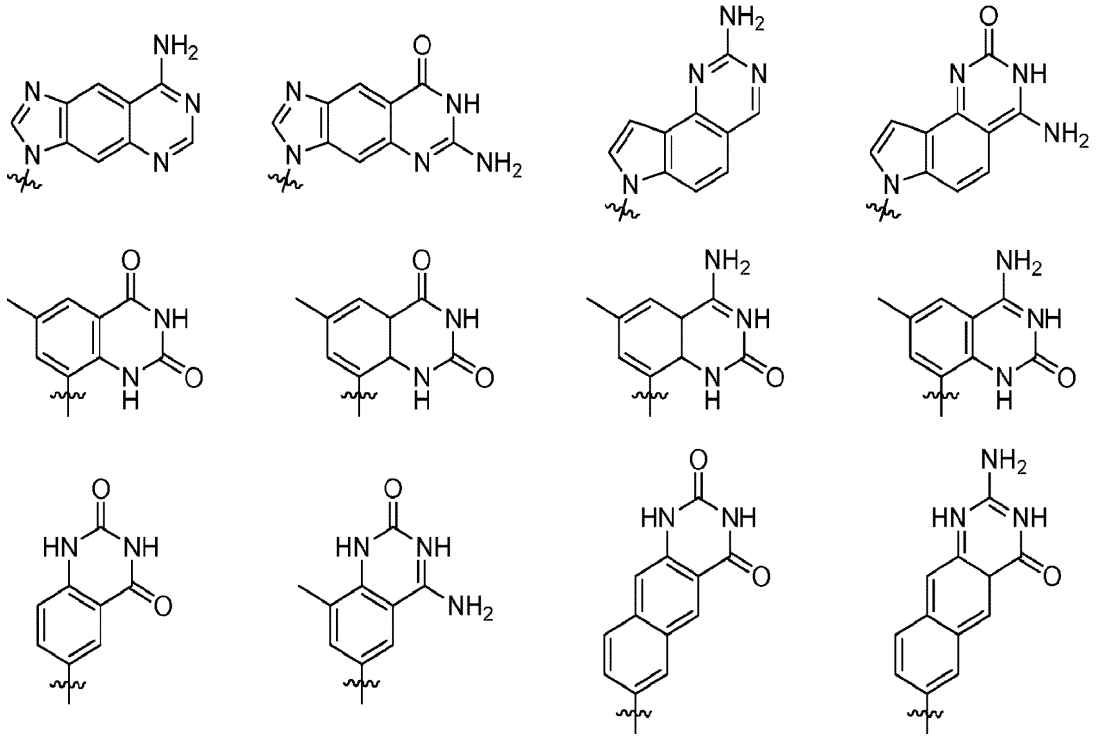


ここで、Ｒ^{8}は、置換されていてもよい、脂肪族、アリール、アラルキル、アリールオキシルアルキル、カルボシクリル、１～１５個の炭素原子を有するヘテロシクリルまたはヘテロアリール基から選択される直鎖または分岐の基であり、例にすぎないが、メチル、イソプロピル、フェニル、ベンジル、またはフェノキシメチル基が含まれ；およびＲ^{9}ならびにＲ^{10}のそれぞれは、独立して直鎖または分岐の脂肪族、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリルおよびヘテロアリールから選択される置換されていてもよい基である。

【０４４２】

修飾された核酸塩基には、例えばフェニル環などの１以上のアリール環が加えられた、拡大された大きさの核酸塩基も含まれる。核塩基の置換は、the Glen Research catalog (www.glenresearch.com); 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、本明細書中に記載される核酸の合成に有用であると考えられる。拡大された大きさの核酸塩基のいくつかの例は、下記の通りである。

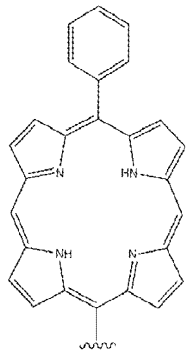
【化１６３】



【０４４３】

ここで、修飾された核酸塩基は、核酸塩基とは見做されない構造も含有されるが、例えば、限定するものではないが、コリンまたはポルフィリン誘導環のような別の部分である。ポルフィリン誘導塩基置換は、Morales-Rojas, H and Kool, ET, Org. Lett., 2002, 4, 4377-4380に記載されている。塩基置換として使用されるポルフィリン誘導環の一例を以下に示す：

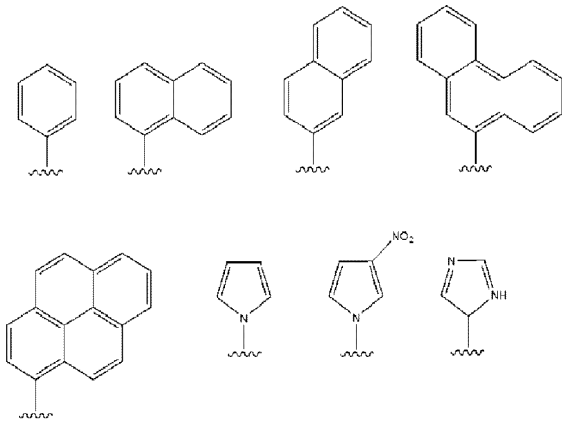
【化１６４】



【０４４４】

いくつかの実施形態において、修飾された核酸塩基は、以下の構造のいずれかであり、置換されていてもよい：

【化１６５】

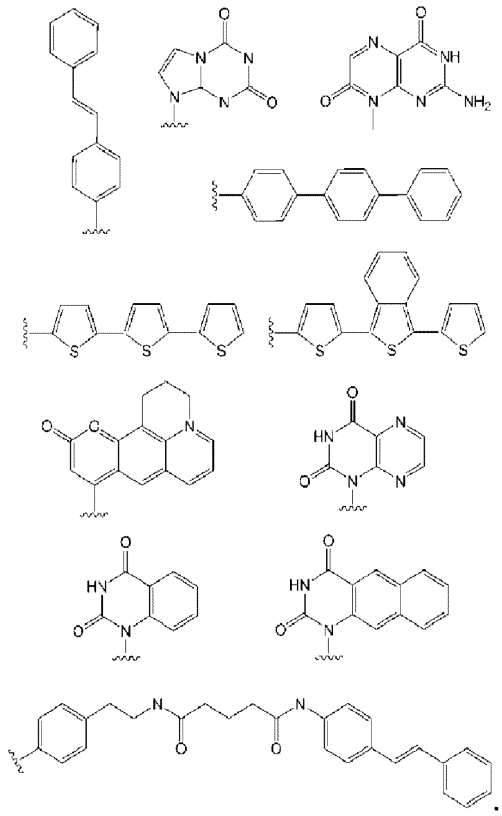


。

【０４４５】

いくつかの実施形態において、修飾された核酸塩基は、蛍光性である。そのような蛍光性の例示的な修飾された核酸塩基には、以下に示すフェナントレン、ピレン、スチルベン、イソキサンチン、イソザントプテリン（isozanthopterin）、テルフェニル、テルチオフェン、ベンゾテルチオフェン、クマリン、ルマジン、テザースチルベン、ベンゾ－ウラシル、およびナフト－ウラシルが含まれる：

【化１６６】



。

【０４４６】

いくつかの実施形態において、修飾された核酸塩基は、非置換である。いくつかの実施形態において、修飾された核酸塩基は、置換される。いくつかの実施形態において、修飾された核酸塩基は、例えば、ヘテロ原子、アルキル基、または蛍光部分に結合された結合部分、ビオチンもしくはアビジン部分、または別のタンパク質もしくはペプチドを含むように置換される。いくつかの実施形態において、修飾された核酸塩基は、最も古典的な意

味では核酸塩基ではないが、核酸塩基と同様に機能する「ユニバーサル塩基」である。そのようなユニバーサル塩基の代表的な一例は、３－ニトロピロールである。

【０４４７】

いくつかの実施形態において、別のヌクレオシドもまた本明細書中に開示されるプロセスにおいて使用することができ、修飾された核酸塩基、または修飾された糖と共有結合する核酸塩基を組み込んだヌクレオシドを含む。修飾された核酸塩基を組み込むヌクレオシドのいくつかの例には、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；ベータＤ－ガラクトシルキューオシン（beta,D-galactosylqueosine)；２′－Ｏ－メチルグアノシン；N^6－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；N^7－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；N^6－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；ベータＤ－マンノシルキューオシン（beta,D-mannosylqueosine）；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－N^6－イソペンテニルアデノシン；Ｎ－（（９－ベータ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）トレオニン；Ｎ－（（９－ベータＤリボフラノシルプリン－６－イル）－Ｎ－メチルカルバモイル）トレオニン；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（queosine）；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；および２′－Ｏ－メチルウリジンである。

【０４４８】

いくつかの実施形態において、ヌクレオシドは、６′位に（Ｒ）または（Ｓ）のいずれかのキラリティーを有する６′－修飾２環式ヌクレオシド類似体を含み、米国特許第７，３９９，８４５号に記載される類似体を含む。別の実施形態において、ヌクレオシドは、５′位に（Ｒ）または（Ｓ）のいずれかのキラリティーを有する５′－修飾２環式ヌクレオシド類似体を含み、米国特許出願公開第２００７０２８７８３１号に記載される類似体を含む。

【０４４９】

いくつかの実施形態において、核酸塩基または修飾された核酸塩基は、例えば、抗体、抗体フラグメント、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、受容体リガンド、またはキレート部分などの１以上の生体分子結合部分を含む。別の実施形態において、核酸塩基または修飾された核酸塩基は、５－ブロモウラシル、５－ヨードウラシル、または２，６－ジアミノプリンである。いくつかの実施形態において、核酸塩基または修飾された核酸塩基は、蛍光または生体分子結合部分の置換により修飾される。いくつかの実施形態において、核酸塩基または修飾された核酸塩基上の置換基は、蛍光部分である。いくつかの実施形態において、核酸塩基上の置換基または修飾された核酸塩基は、ビオチンまたはアビジンである。

【０４５０】

上記の修飾された核酸塩基および別の修飾された核酸塩基のうちのある特定のものの作製について教示する代表的な米国特許は、限定するものではないが、上述の米国特許第３，６８７，８０８号、および米国特許第４，８４５，２０５号；第５，１３０，３０号；第５，１３４，０６６号；第５，１７５，２７３号；第５，３６７，０６６号；第５，４３２，２７２号；第５，４５７，１８７号；第５，４５７，１９１号；第５，４５９，２５５号；第５，４８４，９０８号；第５，５０２，１７７号；第５，５２５，７１１号；第５，５５２，５４０号；第５，５８７，４６９号；５，５９４，１２１，第５，５９６，０９１号；第５，６１４，６１７

号；第５,６８１,９４１号；第５,７５０,６９２号；第６,０１５,８８６号；第６,１４７,２００号；第６,１６６,１９７号；第６,２２２,０２５号；第６,２３５,８８７号；第６,３８０,３６８号；第６,５２８,６４０号；第６,６３９,０６２号；第６,６１７,４３８号；第７,０４５,６１０号；第７,４２７,６７２号；および第７,４９５,０８８号、が挙げられ、これらは、そのまま本明細書に組み込まれるものとする。

【０４５１】

糖

最も一般的な天然のヌクレオチドは、核酸塩基、アデノシン（Ａ）、シトシン（Ｃ）、グアニン（Ｇ）、およびチミン（Ｔ）またはウラシル（Ｕ）に結合したリボース糖から成る。また、ヌクレオチド内のリン酸基または結合したリン酸が、糖または修飾された糖のさまざまな位置に結合可能である修飾されたヌクレオチドが企図される。非制限的な例としては、リン酸基または結合したリン酸は、糖または修飾された糖の２′、３′、４′または５′ヒドロキシル部分に結合可能である。本明細書中で記載される修飾された核酸塩基を組み込むヌクレオチドもまたこの文脈で企図される。いくつかの実施形態において、保護されていない－ＯＨ部分を含むヌクレオチドまたは修飾されたヌクレオチドが、本発明の方法により使用される。

【０４５２】

別の修飾された糖もまた提供されるオリゴヌクレオチド内に組み込まれる。いくつかの実施形態において、修飾された糖は、以下のうちの１つ：－Ｆ；－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－Ｎ$_3$、－ＮＯ、－ＮＯ$_2$、－ＯＲ’、－ＳＲ’、または－Ｎ（Ｒ’）$_2$を２位に含む１以上の置換基を含み、ここで、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、－Ｓ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、－ＮＨ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、または－Ｎ（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）$_2$；－Ｏ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルケニル）、－Ｓ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルケニル）、－ＮＨ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルケニル）、または－Ｎ（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルケニル）$_2$；－Ｏ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルキニル）、－Ｓ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルキニル）、－ＮＨ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルキニル）、または－Ｎ（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルキニル）$_2$；または－Ｏ－－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－Ｏ－－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－ＮＨ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）もしくは－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－ＮＨ（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）$_2$、－ＮＨ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、または－Ｎ（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、ここで、アルキル、アルキレン、アルケニルおよびアルキニルは、置換若しくは非置換であってよい。置換基の例としては、限定するものではないが、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$ＯＣＨ$_3$および－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_n$ＮＨ$_2$が挙げられ、ここで、ｎは、１から約１０であり、ＭＯＥ、ＤＭＡＯＥ、ＤＭＡＥＯＥが挙げられる。また、ここで企図されるものは、国際公開第２００１／０８８１９８号；およびMartin et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504に記載される修飾された糖である。いくつかの実施形態において、修飾された糖は、置換されたシリル基、ＲＮＡ切断基、レポーター基、蛍光標識、インターカレーター、核酸の薬物動態性を向上させる基、核酸の薬力学的性質を向上させる基、または同様の性質を持つ別の置換基から選択される１以上の基を含む。いくつかの実施形態において、３′－末端ヌクレオチドの糖の３′位または５′－末端ヌクレオチドの５′位を含む、糖または修飾された糖の２′、３′、４′、５′、または６′位の１以上で修飾が行われる。

【０４５３】

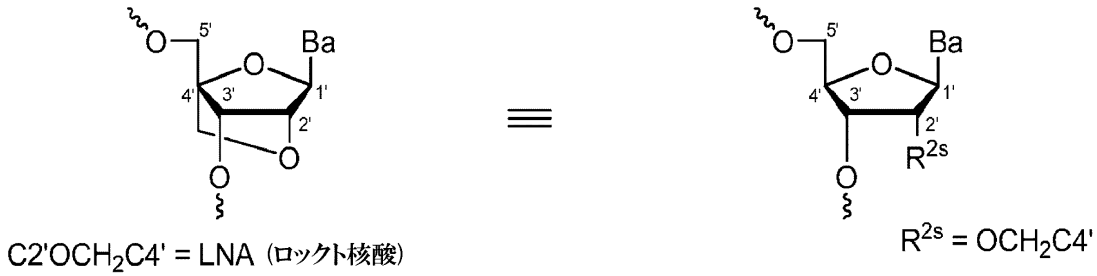
いくつかの実施形態において、リボースの２’－ＯＨは、
以下：－Ｈ、－Ｆ；－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－Ｎ$_3$、－ＮＯ、－ＮＯ$_2$、－ＯＲ’、－ＳＲ’、または－Ｎ（Ｒ’）$_2$の１つを含む置換基と置換され、ここで、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである；－Ｏ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、－Ｓ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、－ＮＨ－（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）、または－Ｎ（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル）$_2$；－Ｏ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アルケニル）、－Ｓ－（Ｃ$_2$－Ｃ$_{10}$アル

ケニル）、－ＮＨ－（Ｃ$_{2}$－Ｃ$_{10}$アルケニル）、または－Ｎ（Ｃ$_{2}$－Ｃ$_{10}$アルケニル）$_{2}$；－Ｏ－（Ｃ$_{2}$－Ｃ$_{10}$アルキニル）、－Ｓ－（Ｃ$_{2}$－Ｃ$_{10}$アルキニル）、－ＮＨ－（Ｃ$_{2}$－Ｃ$_{10}$アルキニル）、または－Ｎ（Ｃ$_{2}$－Ｃ$_{10}$アルキニル）$_{2}$；または－Ｏ－－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－Ｏ－－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル）、－Ｏ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－ＮＨ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル）もしくは－Ｏ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－ＮＨ（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル）$_{2}$、－ＮＨ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－Ｏ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル）、または－Ｎ（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル）－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキレン）－Ｏ－（Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル）、ここで、アルキル、アルキレン、アルケニルおよびアルキニルは、置換若しくは非置換であってよい。いくつかの実施形態において、２’－ＯＨは、－Ｈ（デオキシリボース)により置換される。いくつかの実施形態において、２’－ＯＨは、－Ｆにより置換される。いくつかの実施形態において、２’－ＯＨは、－ＯＲ’により置換される。いくつかの実施形態において、２’－ＯＨは、－ＯＭｅにより置換される。いくつかの実施形態において、２’－ＯＨは、－ＯＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$ＯＭｅにより置換される。

【０４５４】

修飾された糖はまたロックド核酸（ＬＮＡ）を含む。いくつか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において、Ｂａは、本明細書中に記載される通り、核酸塩基または修飾された核酸塩基を示し、Ｒ^{2s}は、－ＯＣＨ$_{2}$Ｃ４’－である。

【化１６７】



【０４５５】

いくつかの実施形態において、修飾された糖は、例えば、Sethet al.,Jam Chem Soc.2010 October 27;132(42): 14942－14950に記載されるようなＥＮＡである。いくつかの実施形態において、修飾された糖は、ＸＮＡ（ゼノ核酸）に見られるものであり、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、またはシクロヘキセンである。

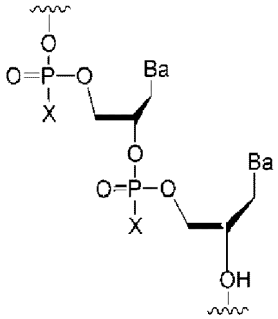
【０４５６】

修飾された糖は、ペントフラノシル糖の代わりにシクロブチルまたはシクロペンチル部分のような糖の模倣物を含む。そのような修飾された糖の構造の調製を教示する代表的な米国特許は、限定するものではないが、米国特許第４，９８１，９５７号；５，１１８，８００号；５，３１９，０８０号；および５，３５９，０４４号が挙げられる。企図されるいくつかの修飾された糖には、リボース環の酸素原子が、窒素、硫黄、セレン、または炭素で置換される糖が含まれる。いくつかの実施形態において、修飾された糖は、修飾されたリボースであり、リボース環内の酸素原子は、窒素と置換され、窒素は、アルキル基（例えば、メチル、エチル、イソプロピルなど）と置換されていてもよい。

【０４５７】

修飾された糖の非限定的な例としては、グリセロール核酸（ＧＮＡ）類似体を形成するグリセロールを含む。ＧＮＡ類似体の一例は、以下に示され、Zhang, R et al., J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 5846-5847; Zhang L, et al., J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 4174-4175 and Tsai CH et al., PNAS, 2007, 14598-14603 (X = O^{-})に記載される：

【化１６８】

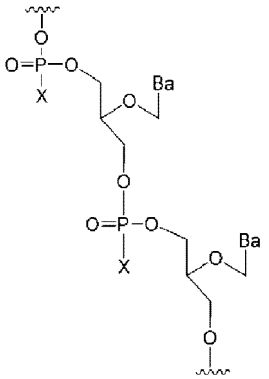


。

【０４５８】

ＧＮＡ誘導類似体の別の例である、ホルミルグリセロールの混合アセタールアミナールに基づく柔軟性核酸（ＦＮＡ）は、Joyce GF et al., PNAS, 1987, 84, 4398-4402およびHeuberger BD and Switzer C, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 412-413に記載され、以下の通りである：

【化１６９】

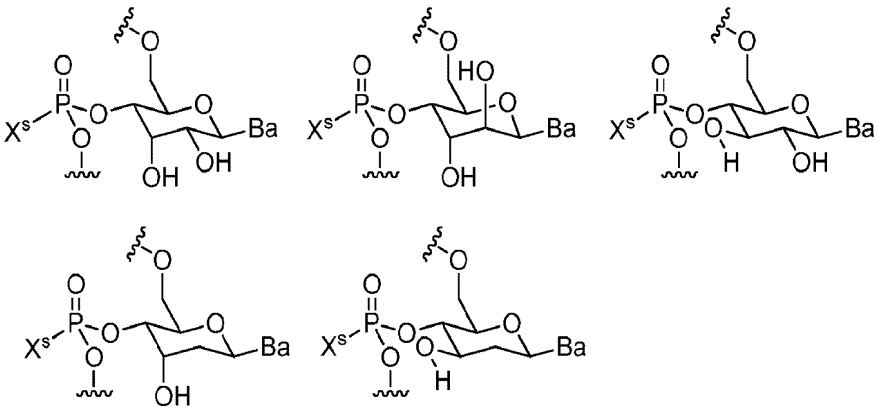


。

【０４５９】

修飾された糖のさらなる非限定的な例は、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’）、またはテトロフラノシル（３’～２’）糖が挙げられる。いくつかの実施形態において、ヘキソピラノシル（６’～４’）糖は、次式：

【化１７０】



,

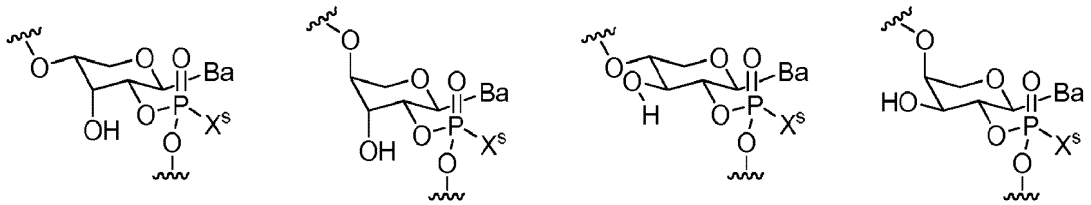
のいずれか１つであり、

ここで、Ｘ^{s}は、本明細書中に記載されるＰ－修飾基「－ＸＬＲ^{1}」に対応し、Ｂａは、ここに定義するとおりである。

【０４６０】

いくつかの実施形態において、ペントピラノシル（４’～２’）糖は、次式：

【化１７１】



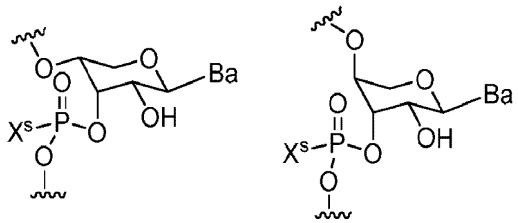
のいずれか１つであり、

ここで、Ｘ^{s}は、本明細書中に記載されるＰ－修飾基「－ＸＬＲ^{1}」に対応し、Ｂａは、ここに定義するとおりである。

【０４６１】

いくつかの実施形態において、ペントピラノシル（４’～３’）糖は、次式：

【化１７２】



,

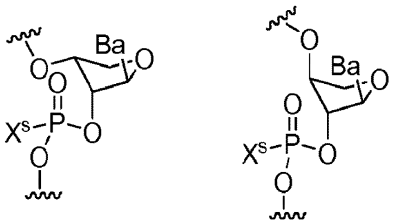
のいずれか１つであり、

ここで、Ｘ^{s}は、本明細書中に記載されるＰ－修飾基「－ＸＬＲ^{1}」に対応し、Ｂａは、ここに定義するとおりである。

【０４６２】

いくつかの実施形態において、テトロフラノシル（３’～２’）糖は、次式：

【化１７３】



,

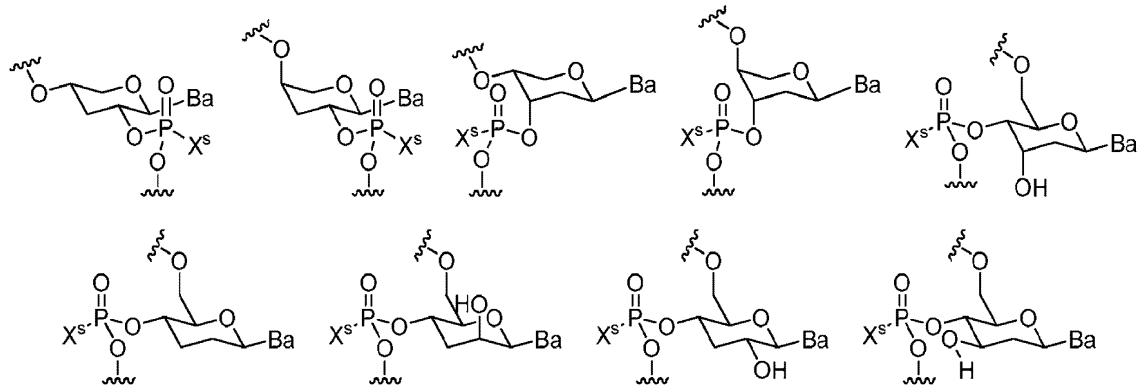
のいずれかであり、

ここで、Ｘ^{s}は、本明細書中に記載されるＰ－修飾基「－ＸＬＲ^{1}」に対応し、Ｂａは、ここに定義するとおりである。

【０４６３】

いくつかの実施形態において、修飾された糖は、次式：

【化１７４】



のいずれか１つであり、
ここで、Ｘ^{s}は、本明細書中に記載されるＰ－修飾基「－ＸＬＲ^{1}」に対応し、Ｂａは、ここに定義するとおりである。

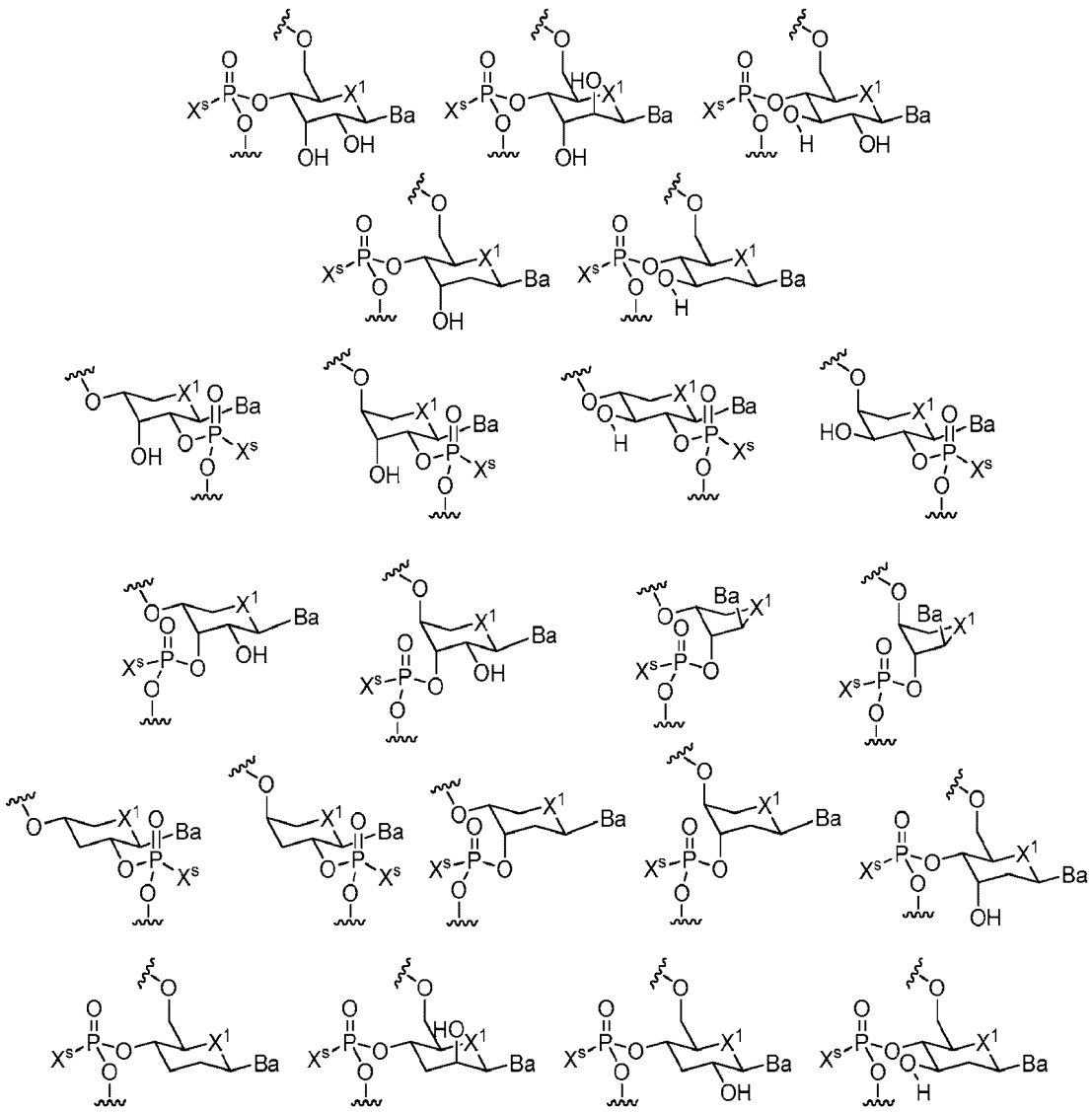
【０４６４】

いくつかの実施形態において、糖部分の１以上のヒドロキシル基は、独立してハロゲン、Ｒ’－Ｎ（Ｒ’）$_{2}$、－ＯＲ’、または－ＳＲ’で置換されていてもよく、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。

【０４６５】

いくつかの実施形態において、糖の模倣物は、以下に示されるとおりであり、Ｘ^{s}は、本明細書中に記載されるＰ－修飾基「－ＸＬＲ^{1}」に対応し、Ｂａは、ここに定義するとおりであり、Ｘ^{1}は、－Ｓ－、－Ｓｅ－、－ＣＨ$_{2}$－、－ＮＭｅ－、－ＮＥｔ－または－ＮｉＰｒ－から選択される。

【化１７５】



【０４６６】

いくつかの実施形態において、少なくとも１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２１％、２２％、２３％、２４％、２５％、２６％、２７％、２８％、２９％、３０％、３１％、３２％、３３％、３４％、３５％、３６％、３７％、３８％、３９％、４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、またはそれ以上（例えば、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、またはそれ以上）（それらを含む）キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の糖が、修飾される。いくつかの実施形態において、プリン残留物のみが修飾される（例えば、約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２１％、２２％,２３％、２４％、２５％、２６％、２７％、２８％、２９％、３０％、３１％、３２％、３３％、３４％、３５％、３６％、３７％、３８％、３９％、４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、またはそれ以上［例えば、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または以上］のプリン残留物が修飾される）。いくつかの実施形態において、ピリミジン残留物のみが修飾される（例えば、約１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２１％、２２％、２３％、２４

％、２５％、２６％、２７％、２８％、２９％、３０％、３１％、３２％、３３％、３４％、３５％、３６％、３７％、３８％、３９％、４０％、４１％、４２％、４３％、４４％、４５％、４６％、４７％、４８％、４９％、５０％、またはそれ以上［例えば、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、またはそれ以上］のピリジミン（pyridimine）残留物が修飾される）。いくつかの実施形態において、プリンおよびピリミジン残留物の両方が修飾される。

【０４６７】

修飾された糖および糖の模倣物は、公知の方法により調製可能であり、限定されるものではないが、A.Eschenmoser,Science(1999),284:2118;M.Bohringeretal,Helv.Chim.Acta(1992),75:1416-1477;M.Eglietal,J.Am.Chem.Soc.(2006),128(33):10847-56;A.Eschenmoserin Chemical Synthesis:GnosistoPrognosis,C.ChatgilialogluandV.Sniekus,Ed.,(KluwerAcademic,Netherlands,1996),p.293;K.-U.Schoningetal,Science(2000),290:1347-1351;A.Eschenmoseretal,Helv.Chim.Acta(1992),75:218;J.Hunzikeretal,Helv.Chim.Acta(1993),76:259;G.Ottingetal,Helv.Chim.Acta(1993),76:2701;K.Groebkeetal,Helv.Chim.Acta(1998),81:375;andA.Eschenmoser,Science(1999),284:2118が含まれる。２’修飾に対する修飾は、Verma,S.etal.Annu.Rev.Biochem.1998,67,99-134およびそれに記載されるすべての文献に記載される。リボースに対する具体的な修飾は、以下の文献に記載される：2’-fluoro(Kawasakiet.al.,J.Med.Chem.,1993,36,831-841),2’-MOE(Martin,P.Helv.Chim.Acta1996,79,1930-1938),"LNA"(Wengel,J.Acc.Chem.Res.1999,32,301-310)。いくつかの実施形態において、修飾された糖は、ＰＣＴ公開、国際公開第２０１２／０３０６８３号に記載されるいずれかであり、公報は、参照により、本明細書に組み込まれものとし、本出願の図２６～３０に記載される。

【０４６８】

オリゴヌクレオチド

いくつかの実施形態において、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド組成物を提供する。例えば、いくつかの実施形態において、提供される組成物は、１以上の個々のオリゴヌクレオチドタイプの所定のレベルを含み、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；および４）骨格Ｐ－修飾のパターンにより定義される。

【０４６９】

いくつか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。いくつか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。いくつか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。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、Ｒｐ配置のステレオユニマーである。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、Ｓｐ配置のステレオユニマーである。

【０４７０】

いくつか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。いくつか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－修飾アルトマーである。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ステレオアルトマーである。

【０４７１】

いくつか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。いくつか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－修飾ブロックマーである。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ステレオブロックマーである。

【０４７２】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。

【０４７３】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、スキップマーである。

【０４７４】

いくつか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、およびスキップマーのうちの１以上の組み合わせである。例えば、いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、アルトマーおよびギャップマーの両方である。いくつかの実施形態において、提供されるヌクレオチドは、ギャップマーおよびスキップマーの両方である。数多くの別のパターンの組み合わせが可能であり、それらは、本発明による方法に基づき提供されるオリゴヌクレオチドを合成するために必要である成分が市販され入手可能であるか、および／または合成の利用可能性によってのみ限定されることが、化学および合成分野の当業者により認識されるであろう。

【０４７５】

いくつか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以上の任意に置換されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、１以上の修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、１以上の任意に置換されたヌクレオシドを含む。いくつか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以上の修飾されたヌクレオシドを含む。いくつか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以上の任意に置換されたＬＮＡを含む。

【０４７６】

いくつか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以上の任意に置換された核酸塩基を含む。いくつか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以上の任意に置換された天然核酸塩基を含む。いくつか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以上の任意に置換された修飾された核酸塩基を含む。いくつか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以上の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、または５－カルボキシルシトシンを含む。いくつか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以上の５－メチルシチジンを含む。

【０４７７】

いくつか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以上の任意に置換された糖を含む。いくつか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以上の任意に置換された、天然のＤＮＡおよびＲＮＡに見出される糖を含む。いくつか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以上の任意に置換されたリボースまたはデオキシリボースを含む。いくつか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以上の任意に置換されたリボースまたはデオキシリボースを含み、リボースまたはデオキシリボース部分の１以上のヒドロキシル基は、独立してハロゲン、Ｒ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＯＲ’または－ＳＲ’により置換されていてもよく、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立してハロゲン、Ｒ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＯＲ’、または－ＳＲ’により置換されていてもよく、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりである。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立してハロゲンにより置換されていてもよい。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立して１以上の－Ｆ．ハロゲンにより置換されていてもよい。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立して－ＯＲ’により置換されていてもよく、各Ｒ’は独立して、上記のとおり定義し、ここに記載したとおりであ

る。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立して－ＯＲ’により置換されていてもよく、各Ｒ’は、独立して置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$脂肪族である。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立して－ＯＲ’により置換されていてもよく、各Ｒ’は、独立して置換されていてもよいＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルである。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立して－ＯＭｅにより置換されていてもよい。いくつか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以上の任意に置換されたデオキシリボースを含み、デオキシリボースの２’位は、独立して－Ｏ－メトキシエチルにより置換されていてもよい。

【０４７８】

いくつかの実施形態において、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。

【０４７９】

いくつかの実施形態において、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。ある実施形態において、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。ある実施形態において、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。ある実施形態において、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。ある実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、三重鎖オリゴヌクレオチド（例えば、三重鎖）である。

【０４８０】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、キメラ性である。例えば、いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ＤＮＡ－ＲＮＡキメラ、ＤＮＡ－ＬＮＡキメラなどである。

【０４８１】

いくつかの実施形態において、国際公開第２０１２／０３０６８３号に記載されるオリゴヌクレオチドを含む構造のいずれか１つは、本発明の方法に基づき修飾され、キラル制御されたその変異体を提供する。例えば、いくつかの実施形態において、キラル制御された変異体は、１以上の結合したリン酸のいずれかに立体化学的な修飾を含む、および／または１以上の結合したリン酸のいずれかにＰ－修飾を含む。例えば、いくつかの実施形態において、国際公開第２０１２／０３０６８３号のオリゴヌクレオチドの特定のヌクレオチド単位は、予め選択され、そのヌクレオチド単位の結合したリン酸で立体化学的に修飾される、および／またはそのヌクレオチド単位の結合したリン酸で、Ｐ－修飾されるようにする。いくつか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、図２６～３０に示されるいずれか１つの構造である。いくつか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、図２６～３０に示されるいずれか１つの構造の変異体（例えば、修飾されたバージョン）である。国際公開第２０１２／０３０６８３号の開示内容は、参照により全体を本明細書に組み込まれるものとする。

【０４８２】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、治療の薬剤である。

【０４８３】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【０４８４】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、アンチジーンオリゴヌクレオチドである。

【０４８５】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、デコイオリゴヌクレ

オチドである。
【０４８６】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ＤＮＡワクチンの一部である。
【０４８７】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、免疫調節オリゴヌクレオチド、例えば、免疫刺激性オリゴヌクレオチドおよび免疫抑制オリゴヌクレオチドである。
【０４８８】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、アジュバントである。
【０４８９】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、アプタマーである。
【０４９０】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、リボザイムである。
【０４９１】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、デオキシリボザイム（ＤＮＡザイムまたはＤＮＡ酵素）である。
【０４９２】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、低分子干渉ＲＮＡである。
【０４９３】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ミクロＲＮＡ（ｍｉｃｒｏＲＮＡ）、またはミクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）である。
【０４９４】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ｎｃＲＮＡ（非コードＲＮＡ）であり、長鎖非コードＲＮＡ（ｌｎｃＲＮＡ）およびＰｉｗｉ結合ＲＮＡ（ｐｉＲＮＡ）などの小分子非コードＲＮＡが含まれる。
【０４９５】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、構造的ＲＮＡ、例えば、ｔＲＮＡに対して相補的である。
【０４９６】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、核酸類似体であり、例えば、ＧＮＡ、ＬＮＡ、ＰＮＡ、ＴＮＡおよびモルホリノである。
【０４９７】
いくつか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－修飾のプロドラッグである。
【０４９８】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、プライマーである。いくつかの実施形態において、プライマーは、ポリメラーゼ連鎖反応（polymerase-based chain reactions）（すなわちＰＣＲ）に用いるものを使い、核酸を増幅させる。いくつかの実施形態において、プライマーは、逆転写ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）およびリアルタイムＰＣＲのような、公知のＰＣＲの変形のいずれかに用いるものである。
【０４９９】
いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ＲＮＡ分解酵素Ｈ活性化を調節する能力を有することを特徴とする。例えば、いくつかの実施形態において、ＲＮＡ分解酵素Ｈ活性化は、立体制御されたホスホロチオエート核酸類似体の存在により調節され、天然のＤＮＡ／ＲＮＡは、Ｒｐ立体異性体と比べて同等またはより高い感受性があり、Ｒｐ立体異性体は、対応するＳｐ立体異性体よりもより高い感受性がある。
【０５００】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、タンパク質の活性を間接的もしくは直接的に増加もしくは減少させる、または、タンパク質の発現を抑制もしくは促進する能力を有することを特徴とする。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、細胞の増殖、ウイルス複製、および／または別の細胞シグナル伝達過程の制御において有用であることを特徴とする。

【０５０１】

いくつか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２～約２００ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約１８０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約１６０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約１４０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約１２０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約１００ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約９０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約８０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約７０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約６０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約５０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約４０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約３０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２９ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２８ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２７ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２６ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２５ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２４ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２３ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２２ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２１ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２～約２０ヌクレオチド単位の長さである。

【０５０２】

いくつか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４～約２００ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約１８０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約１６０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約１４０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約１２０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約１００ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約９０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約８０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約７０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約６０ヌクレオチド単位の長さである。いくつ

か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４～約５０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約４０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約３０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２９ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２８ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２７ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２６ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２５ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２４ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２３ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２２ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２１ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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４～約２０ヌクレオチド単位の長さである。

【０５０３】

いくつか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～約１０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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３０ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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２５ヌクレオチド単位の長さである。いくつか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、または２５ヌクレオチド単位の長さである。

【０５０４】

いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも２のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも３のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも４のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも５のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも６のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも７のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも８のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも９のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１０のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１１のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１２のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１５のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも２０のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも２５のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも３０のヌクレオチド単位の長さである。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１８ヌクレオチド単位の長さの相補鎖の二本鎖である。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも２１ヌクレオチド単位の長さの相補鎖の二本鎖である。

【０５０５】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの５’末端および／または３’末端は、修飾される。いくつかの実施形態において提供されるオリゴヌクレオチド

の５’末端および／または３’末端は、末端キャップ部分で修飾される。末端キャップ部分を含むそのような例示的な修飾は、本明細書中や技術分野で詳しく記載され、例えば、限定されるものではないが、米国特許出願公開第２００９／００２３６７５Ａ１に記載される。

【０５０６】

オリゴヌクレオチドの種

ある実施形態において、式Ｉのオリゴヌクレオチドは、上記の表２に示すまたは実施例に記載される構造のいずれか１つである。

【０５０７】

いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、ミポメルセンの配列を、またはミポメルセンの配列の一部を含む。ミポメルセンは、以下の塩基配列ＧＣＣＴ／ＵＣＡＧＴ／ＵＣＴ／ＵＧＣＴ／ＵＴ／ＵＣＧＣＡＣＣに基づく。いくつかの実施形態において、１以上のヌクレオチドまたは結合のいずれかは、本発明に基づき、修飾されてもよい。いくつかの実施形態において、本発明は、３’→５’のホスホロチオエート結合で以下の配列：Ｇ＊－Ｃ＊－Ｃ＊－Ｕ＊－Ｃ＊－ｄＡ－ｄＧ－ｄＴ－ｄＣ－ｄＴ－ｄＧ－ｄｍＣ－ｄＴ－ｄＴ－ｄｍＣ－Ｇ＊－Ｃ＊－Ａ＊－Ｃ＊－Ｃ＊［ｄ＝２’－デオキシ、＊＝２’－Ｏ－（２－メトキシエチル）］を有するキラル制御されたオリゴヌクレオチドを提供する。例示的な修飾されたミポメルセン配列は、本出願を通じて記載され、限定するものではないが、表４に記載されるものが含まれる。

【０５０８】

ある実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ミポメルセンユニマーである。ある実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、Ｒｐ配置のミポメルセンユニマーである。ある実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、Ｓｐ配置のミポメルセンユニマーである。

【０５０９】

ミポメルセンの配列、またはミポメルセンの配列の一部を含む例示的なキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、以下の表４に記載される。

【０５１０】

例示的なミポメルセンに関連する配列

【表４】

オリゴ	立体化学／配列	摘要
101	All-(*Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	All-R
102	All-(*Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	All-S
103	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	5R-9S-5R
104	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	5S-9R-5S
105	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	1S-17R-1S
106	(*Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	1R-17S-1R
107	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(R/S)_9R$
108	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(S/R)_9S$
109	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	3S-13R-3S
110	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	3R-13S-3R
111	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{19}$
112	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{9}$
113	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{2}$
114	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(RRS)_6$-R
115	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	S-$(RRS)_6$
116	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Rp*)d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	RS-$(RRS)_5$-RR
122	All-(*Rp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1Cs1As1Cs1C]	All-R
123	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1Cs1As1Cs1C]	1S-17R-1S
124	All-(*Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1Cs1As1Cs1C]	All-S
126	All-(*Rp*)-d[Cs2As2Gs2T]	All-R
127	All-(*Rp*)-d[Cs3As3Gs3T]	All-R

128	All-(*Sp*)-d[Cs4As4Gs4T]	All-S
129	All-(*Sp*)-d[Cs5As5Gs5T]	All-S
130	All-(*Sp*)-d[Cs6As6Gs6T]	All-S
131	All-(*Rp*)-d[Gs7Cs7Cs7Ts7Cs7As7Gs7Ts7Cs7Ts7Gs7 Cs7Ts7Ts7Cs7Gs7Cs7As7Cs7C]	All-R
132	All-(*Sp*)-d[Gs7Cs7Cs7Ts7Cs7As7Gs7Ts7Cs7Ts7Gs7 Cs7Ts7Ts7Cs7Gs7Cs7As7Cs7C]	All-S
133	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1 Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1Gs15mCs1As15mCs15mC]	5R-9S-5R
134	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1 Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1Gs15mCs1As15mCs15mC]	5S-9R-5S
135	All-(*Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	All-R
136	All-(*Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	All-S
137	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	1S-9R-1S
138	(*Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	2S-7R-2S
139	(*Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	1R-9S-1R
140	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	2R-7S-2R
141	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	3S-5R-3S
142	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	3R-5S-3R
143	(*Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	$(SSR)_3$-SS
144	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*)-d[5mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1G]	$(RRS)_3$-RR
145	All-(*Rp*)-d[5mCs1Ts15mCs1As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1 Gs15mC]	All-R
146	All-(*Rp*)-d[Gs15mCs1Ts1G]	All-R
147	All-(*Rp*)-d[5mCs1As1Gs1T]	All-R
148	All-(*Rp*)-d[5mCs2As2Gs2Ts25mCs2Ts2Gs25mCs2Ts2Ts25mCs2G]	All-R
149	All-(*Rp*)-d[5mCs4As4Gs4Ts45mCs4Ts4Gs45mCs4Ts4Ts45mCs4G]	All-R
151	All-(*Sp*)-d[Cs1AsGs1T]	All-S
152	All-(*Sp*)-d[Cs1AGs1T]	All-S
153	All-(*Sp*)-d[CAs1GsT]	All-S
157	All-(*Sp*)-d[5mCs1As1Gs1T]	All-S
158	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCs1GsCsACsC]	5S-9R-4S
159	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*,	5S-9R-5S

	Sp)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1CsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCs1GsCs2As2Cs2C]	
160	All-(*Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	All-R
161	All-(*Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	All-S
162	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	5R-9S-5R
163	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	5S-9R-5S
164	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	1S-17R-1S
165	(*Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	1R-17S-1R
166	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	(R/S)$_9$R
167	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	(S/R)$_9$S
168	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp* *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	3S-13R-3S
169	(*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	3R-13S-3R
170	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	18S/R^{19}
171	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	18S/R^{9}
172	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp* *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	18S/R^{2}
173	(*Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs5mCs5mC)$_{MOE}$	(RRS)$_6$-R
174	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp* *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs]	S-(RRS)$_6$

	$(Gs5mCsAs5mCs5mC)_{MOE}$	
175	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)$(Gs5mCs5mCsTs5mCs)_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs] $(Gs5mCsAs5mCs5mC)_{MOE}$	RS-$(RRS)_5$-RR
176	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)$(Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1)_{MOE}$d[As1Gs1Ts15mCs1Ts1Gs15mCs1Ts1Ts15mCs1] $(Gs15mCs1As15mCs15mC)_{MOE}$	RS-$(RRS)_5$-RR
177	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)$(Gs15mCs15mCs1Ts15mCs1)_{MOE}$d[AGT5mCTG5mCTT5mC] $(Gs25mCs2As25mCs25mC)_{MOE}$	RS-$(RRS)_5$-RR
178	(*Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*)-$(Gs5mCs5mCsTs5mCs)_{MOE}$d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs] $(Gs5mCsAs5mCs5mC)_F$ (F: 2-fluorodeoxyribose)	S-$(RRS)_6$
179	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs8Cs8Cs8Ts8Cs8As8Gs8Ts8Cs8Ts8Gs8Cs8Ts8Ts8Cs8Gs8Cs8As8Cs8C]	RS-$(RRS)_5$-RR
180	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs9Cs9Cs9Ts9Cs9As9Gs9Ts9Cs9Ts9Gs9Cs9Ts9Ts9Cs9Gs9Cs9As9Cs9C]	RS-$(RRS)_5$-RR
181	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs10Cs10Cs10Ts10Cs10As10Gs10Ts10Cs10Ts10Gs10Cs10Ts10Ts10Cs10Gs10Cs10As10Cs10C]	RS-$(RRS)_5$-RR
182	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs11Cs11Cs11Ts11Cs11As11Gs11Ts11Cs11Ts11Gs11Cs11Ts11Ts11Cs11Gs11Cs11As11Cs11C]	RS-$(RRS)_5$-RR
183	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs12Cs12Cs12Ts12Cs12As12Gs12Ts12Cs12Ts12Gs12Cs12Ts12Ts12Cs12Gs12Cs12As12Cs12C]	RS-$(RRS)_5$-RR
184	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs13Cs13Cs13Ts13Cs13As13Gs13Ts13Cs13Ts13Gs13Cs13Ts13Ts13Cs13Gs13Cs13As13Cs13C]	RS-$(RRS)_5$-RR
185	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs14Cs14Cs14Ts14Cs14As14Gs14Ts14Cs14Ts14Gs14Cs14Ts14Ts14Cs14Gs14Cs14As14Cs14C]	RS-$(RRS)_5$-RR
186	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[Gs15Cs15Cs15Ts15Cs15As15Gs15Ts15Cs15Ts15Gs15Cs15Ts15Ts15Cs15Gs15Cs15As15Cs15C]	RS-$(RRS)_5$-RR
187	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp Rp*)d[GsCsCs1TsCsAs]GsUs2CsUsGsd[CsTs3TsCsGs]CsAs4CsC	RS-$(RRS)_5$-RR
188	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsACsC]	5S-9R-4S
189	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs1Cs1Cs1Ts1Cs1As1Gs1Ts1Cs1Ts1Gs1Cs1Ts1Ts1Cs1Gs1CsACs1C]	5S-9R-4S
190	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs8Cs8Cs8Ts8Cs8As8Gs8Ts8Cs8Ts8Gs8Cs8Ts8Ts8Cs8Gs8Cs1A	5S-9R-4S

	Cs8C]	
191	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs9Cs9Cs9Ts9Cs9As9Gs9Ts9Cs9Ts9Gs9Cs9Ts9Ts9Cs9Gs9Cs1ACs9C]	5S-9R-4S
192	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs10Cs10Cs10Ts10Cs10As10Gs10Ts10Cs10Ts10Gs10Cs10Ts10Ts10Cs10Gs10Cs1ACs10C]	5S-9R-4S
193	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs11Cs11Cs11Ts11Cs11As11Gs11Ts11Cs11Ts11Gs11Cs11Ts11Ts11Cs11Gs11Cs1ACs11C]	5S-9R-4S
194	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs12Cs12Cs12Ts12Cs12As12Gs12Ts12Cs12Ts12Gs12Cs12Ts12Ts12Cs12Gs12Cs1ACs12C]	5S-9R-4S
195	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs13Cs13Cs13Ts13Cs13As13Gs13Ts13Cs13Ts13Gs13Cs13Ts13Ts13Cs13Gs13Cs1ACs13C]	5S-9R-4S
196	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs14Cs14Cs14Ts14Cs14As14Gs14Ts14Cs14Ts14Gs14Cs14Ts14Ts14Cs14Gs14Cs1ACs14C]	5S-9R-4S
197	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-d[Gs15Cs15Cs15Ts15Cs15As15Gs15Ts15Cs15Ts15Gs15Cs15Ts15Ts15Cs15Gs15Cs1ACs15C]	5S-9R-4S
198	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-GsCsCsUsCsAsGsUsCsUsGsCsUsUsCsGsCsACsC	5S-9R-4S
199	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs1Cs1Cs1Us1Cs1As1Gs1Us1Cs1Us1Gs1Cs1Us1Us1Cs1Gs1CsACs1C	5S-9R-4S
200	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs8Cs8Cs8Us8Cs8As8Gs8Us8Cs8Us8Gs8Cs8Us8Us8Cs8Gs8Cs1ACs8C	5S-9R-4S
201	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs9Cs9Cs9Us9Cs9As9Gs9Us9Cs9Us9Gs9Cs9Us9Us9Cs9Gs9Cs1ACs9C	5S-9R-4S
202	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs10Cs10Cs10Us10Cs10As10Gs10Us10Cs10Us10Gs10Cs10Us10Us10Cs10Gs10Cs1ACs10C	5S-9R-4S
203	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs11Cs11Cs11Us11Cs11As11Gs11Us11Cs11Us11Gs11Cs11Us11Us11Cs11Gs11Cs1ACs11C	5S-9R-4S
204	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs12Cs12Cs12Us12Cs12As12Gs12Us12Cs12Us12Gs12Cs12Us12Us12Cs12Gs12Cs1ACs12C	5S-9R-4S
205	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs13Cs13Cs13Us13Cs13As13Gs13Us13Cs13Us13Gs13Cs13Us13Us13Cs13Gs13Cs1ACs13C	5S-9R-4S
206	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-	5S-9R-4S

	Gs14Cs14Cs14Us14Cs14As14Gs14Us14Cs14Us14Gs14Cs14Us14Us14Cs14Gs14Cs1ACs14C	
207	(*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs15Cs15Cs15Us15Cs15As15Gs15Us15Cs15Us15Gs15Cs15Us15Us15Cs15Gs15Cs1ACs15C	5S-9R-4S

【０５１１】
オリゴヌクレオチド組成物
本発明は、複数の提供されるオリゴヌクレオチドを含む組成物、または、複数の提供されるオリゴヌクレオチドから成る組成物を提供する（例えば、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物）。いくつかの実施形態において、そのような提供されるオリゴヌクレオチドは、全て同じタイプであり、つまり、全て同じ塩基配列、骨格結合のパターン（つまり、インターヌクレオチド結合タイプのパターン、例えば、リン酸塩、ホスホロチオエートなど）、骨格キラル中心のパターン（つまり、結合したリン酸の立体化学（Ｒｐ／Ｓｐ）のパターン)、およびリン酸骨格修飾のパターン（例えば、式Ｉのパターンの「－ＸＬＲ^{1}」基）を有する。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、一般的には、予め決められた相対量の複数のオリゴヌクレオチドタイプを含む。
【０５１２】
いくつかの実施形態において、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は、キラル的に純粋なミポメルセン組成物である。すなわち、いくつかの実施形態において、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は、結合したリン酸の配置に関して、１つのジアステレオマーとしてミポメルセンを提供する。
【０５１３】
いくつかの実施形態において、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は、キラル的に均一なミポメルセン組成物である。つまり、いくつかの実施形態において、ミポメルセンのそれぞれ全ての結合したリン酸は、Ｒｐ配置で存在するか、またはミポメルセンのそれぞれ全ての結合したリン酸は、Ｓｐ配置で存在する。
【０５１４】
いくつかの実施形態において、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は、１以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせを含む。提供される組成物における、提供されるオリゴヌクレオチドの１以上の各タイプの選択および量は、組成物の使用目的によって決まることは、化学および医薬分野の当業者により、認識されるであろう。つまり、関連技術分野の当業者は、提供されるオリゴヌクレオチドに含まれる量およびタイプが、組成物全体としてある望ましい特性（例えば、生物学的に好ましい特性、治療上好ましい特性、等）を有するように、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を設計するであろう。
【０５１５】
いくつかの実施形態において、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は、２以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、３以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、４以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、５以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、６以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、７以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、８以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、９以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、１０以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。いくつかの実施形態において、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は、１５以上の提供されるオリゴヌクレオチドタイプの組み合わせである。

【０５１６】
いくつかの実施形態において、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は、Ｒｐ配置のキラル的に均一なミポメルセンの一定量およびＳｐ配置のキラル的に均一なミポメルセンの一定量の組み合わせである。
【０５１７】
いくつかの実施形態において、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は、Ｒｐ配置のキラル的に均一なミポメルセンの一定量、Ｓｐ配置のキラル的に均一なミポメルセンの一定量および、所望のジアステレオマー形態の１以上のキラル的に純粋なミポメルセンの一定量の組み合わせである。
【０５１８】
キラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびその組成物の作製方法
本発明は、１以上の特異なヌクレオチドタイプを含むキラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびキラル制御された組成物の作製方法を提供する。上記の通り、ここでの「オリゴヌクレオチドタイプ」という用語は、特定の塩基配列、骨格結合のパターン、骨格キラル中心のパターン、およびリン酸骨格修飾のパターン（例えば、「－ＸＬＲ^{1}」基）を有するオリゴヌクレオチドを定義する。一般的に指定される「タイプ」のオリゴヌクレオチドは、塩基配列、骨格結合のパターン、骨格キラル中心のパターン、およびリン酸骨格修飾のパターンに関して互いに構造的に同一である。
【０５１９】
いくつかの実施形態において、本発明で提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、立体的にランダムなオリゴヌクレオチド混合物に対応するものとは異なる性質を有する。いくつか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、立体的にランダムなオリゴヌクレオチド混合物のものとは異なる脂溶性を有する。いくつか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、ＨＰＬＣにおいて異なる保持時間を有する。いくつか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、立体的にランダムなオリゴヌクレオチド混合物に対応するものとは、大きく異なるピーク保持時間であってよい。一般的に技術分野で行われるように、ＨＰＬＣを用いたオリゴヌクレオチド精製の間、ある特定のキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、完全にではないにせよ、大部分が失われる。一般的に技術分野で行われるように、ＨＰＬＣを用いたオリゴヌクレオチド精製の間ある特定のキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、完全にではないにせよ、大部分が失われる。１つの結果は、立体的にランダムなオリゴヌクレオチド混合物の、ある特定のジアステレオマー（あるキラル制御されたオリゴヌクレオチド）は、アッセイで試験されない。別の結果は、バッチごとに、不可避な機器的および人為的エラーにより、「純粋」であると推定される立体的にランダムなオリゴヌクレオチドは、組成物中のジアステレオマーおよびそれらの相対量ならびに絶対量がバッチごとでで異なるという点において矛盾した組成物を含むであろう。キラル制御されたオリゴヌクレオチドは、１つのジアステレオマーとして、キラル制御された方法で合成され、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、所定のレベルの１以上の個々のオリゴヌクレオチドタイプを含むため、本発明で提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドおよびキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、そのような問題点を克服する。
【０５２０】
化学および合成分野の当業者は、本発明の合成方法が、提供されるオリゴヌクレオチドの合成の各ステップの間、ある程度の制御を提供し、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオチド単位が予め、結合したリン酸で特定の立体化学、および／または、結合したリン酸で特定の修飾、および／または、特定の塩基、および／または、特定の糖を有するように設計可能および／または選択可能であることを認識するであろう。いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、インターヌクレオチド結合の結合したリン酸で立体中心の特定の組み合わせを有するように予め設計および／または選択される。
【０５２１】
いくつかの実施形態において、本発明の方法を用いて作られ、提供されるオリゴヌクレ

オチドは、結合したリン酸修飾の特定の組み合わせを有するように設計および／または決定される。いくつかの実施形態において、本発明の方法を用いて作られ、提供されるオリゴヌクレオチドは、塩基の特定の組み合わせを有するように設計および／または決定される。いくつかの実施形態において、本発明の方法を用いて作られ、提供されるオリゴヌクレオチドは、糖の特定の組み合わせを有するように設計および／または決定される。いくつかの実施形態において、本発明の方法を用いて作られ、提供されるオリゴヌクレオチドは、１以上の上記の構造的特性の特定の組み合わせを有するように設計および／または決定される。

【０５２２】

本発明の方法は、高度なキラル制御を示す。例えば、本発明の方法は、提供されるオリゴヌクレオチド内で各１個の結合したリン酸の立体化学的な配置の制御を容易にする。いくつかの実施形態において、本発明の方法は、独立して式Ｉの構造を有する、１以上の修飾されたインターヌクレオチド結合を含むオリゴヌクレオチドを提供する。

【０５２３】

いくつかの実施形態において、本発明の方法は、ミポメルセンユニマーであるオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明の方法は、Ｒｐ配置のミポメルセンユニマーであるオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明の方法は、Ｓｐ配置のミポメルセンユニマーであるオリゴヌクレオチドを提供する。

【０５２４】

いくつかの実施形態において、本発明の方法は、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物、つまり、所定のレベルの個々のオリゴヌクレオチドタイプを含むオリゴヌクレオチド組成物を提供する。いくつか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組成物は、１つのオリゴヌクレオチドタイプを含む。いくつか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組成物は、１より多いオリゴヌクレオチドタイプを含む。いくつか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組成物は、複数のオリゴヌクレオチドタイプを含む。本発明により作製される例示的なキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物は、本明細書中に記載されるとおりである。

【０５２５】

いくつかの実施形態において、本発明の方法は、結合したリン酸の配置に関してキラル的に純粋なミポメルセン組成物を提供する。つまり、いくつかの実施形態において、本発明の方法は、結合したリン酸の配置に関してミポメルセンが単一のジアステレオマーの形態で組成物に存在するミポメルセンの組成物を提供する。

【０５２６】

いくつかの実施形態において、本発明の方法は、結合したリン酸の配置に関して、キラル的に均一なミポメルセン組成物を提供する。つまり、いくつかの実施形態において、本発明の方法は、全てのヌクレオチド単位が結合したリン酸の配置に関して、同じ立体化学を有するミポメルセンの組成物を提供し、例えば、全てのヌクレオチド単位が、結合したリン酸において、Ｒｐ配置である、または全てのヌクレオチド単位が、結合したリン酸において、Ｓｐ配置である組成物である。

【０５２７】

いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、５０％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約５５％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約６０％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約６５％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約７０％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約７５％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約８０％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供さ

れるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約８５％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９０％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９１％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９２％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９３％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９４％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９５％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９６％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９７％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９８％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９９％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９９．５％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９９．６％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９９．７％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９９．８％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、約９９．９％超純粋である。いくつかの実施形態において、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも約９９％純粋である。

【０５２８】

いくつか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組成物は、１個のオリゴヌクレオチドタイプを含むように設計された組成物である。ある特定の実施形態において、そのような組成物は、約５０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約５０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約５０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約５５％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約６０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約６５％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約７０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約７５％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約８０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約８５％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９０％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９１％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９２％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９３％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９４％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９５％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９６％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９７％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９８％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９９％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９９．５％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９９．６％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９９．７％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９９．８％ジア

ステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、約９９．９％ジアステレオマー的に純粋である。いくつかの実施形態において、そのような組成物は、少なくとも約９９％ジアステレオマー的に純粋である。

【０５２９】

いくつか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組成物は、複数のオリゴヌクレオチドタイプを含むように設計された組成物である。いくつかの実施形態において、本発明の方法は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドのライブラリの生成を可能にし、任意の１以上のキラル制御されたオリゴヌクレオチドタイプの予め選択された量を任意の１以上の別のキラル制御されたオリゴヌクレオチドタイプと混合させ、キラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物を作るようにできる。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドタイプの予め選択された量は、上記記載のジアステレオマー純度のいずれか１つを有する組成物である。

【０５３０】

いくつかの実施形態において、本発明は、以下のステップ：

（１）カップリング；

（２）キャッピング；

（３）修飾；

（４）脱ブロッキング；および

（５）所望の長さが実現されるまで、（１）～（４）の繰り返しステップを行う

を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド作製方法を提供する。

【０５３１】

提供される方法を記載する場合、「サイクル」という用語は、当業者に理解される通常の意味を有する。いくつかの実施形態において、（１）～（４）のステップの一巡をサイクルと呼ぶ。

【０５３２】

いくつかの実施形態において、本発明は、以下のステップ：

（ａ）第１のキラル制御されたオリゴヌクレオチドの一定量を提供する；および

（ｂ）任意で１以上のさらなるキラル制御されたオリゴヌクレオチドの一定量を提供すること

を含むキラル制御されたオリゴヌクレオチド組成物の作製方法を提供する。

【０５３３】

いくつかの実施形態において、第１のキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、本明細書中に記載されるオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態において、１以上のさらなるキラル制御されたオリゴヌクレオチドは、本明細書中に記載される１以上のオリゴヌクレオチドタイプである。

【０５３４】

関連する化学および合成分野の当業者は、本発明の方法を用いて合成する場合、提供されるオリゴヌクレオチドは、一定の多用途性を有し、構造的変形ならびに立体化学的な配置に対して制御が可能であることを理解するであろう。例えば、第１のサイクル完了後、次に続くサイクルに対して個々に選択されたヌクレオチド単位を使用して次に続くサイクルを行うことが可能であり、いくつかの実施形態においては、第１サイクルの核酸塩基および／または糖とは異なる核酸塩基および／または糖が含まれる。同様に、次に続くサイクルのカップリングステップで用いられるキラル補助剤は、第１サイクルで用いられるキラル補助剤とは、異なっていてもよく、第２サイクルでは、異なった立体化学的な配置のリン酸結合を生成する。いくつかの実施形態において、新たに形成されたインターヌクレオチド結合で結合したリン酸の立体化学は、立体化学的に純粋なホスホラミダイトを使用して制御される。さらに、次に続くサイクルの修飾ステップで使用される修飾剤は、第１または前のサイクルで使用された修飾剤とは異なっていてもよい。この反復的な構築アプローチの累積的な効果は、提供されるオリゴヌクレオチドの各成分が、構造的および配置的に、高度に目的に合わせることができる。本アプローチのさらなる利点は、「ｎ－１」

不純物の形成を最小限にするキャッピングステップである。キャッピングステップがない場合、提供されるオリゴヌクレオチドの単離は、特に長いオリゴヌクレオチドに関して、非常に難しくなるであろう。

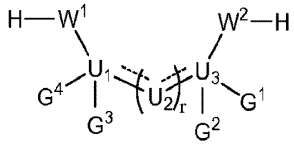
【０５３５】

いくつか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を作る方法の例示的なサイクルが、スキームＩに記載される。スキームＩでは、

【化１７６】

は、固体支持体を示し、固体支持体と結合した成長するキラル制御されたオリゴヌクレオチドの一部分であっても良い。例示的なキラル補助剤は、式３－Ｉ：

【化１７７】



式3－I

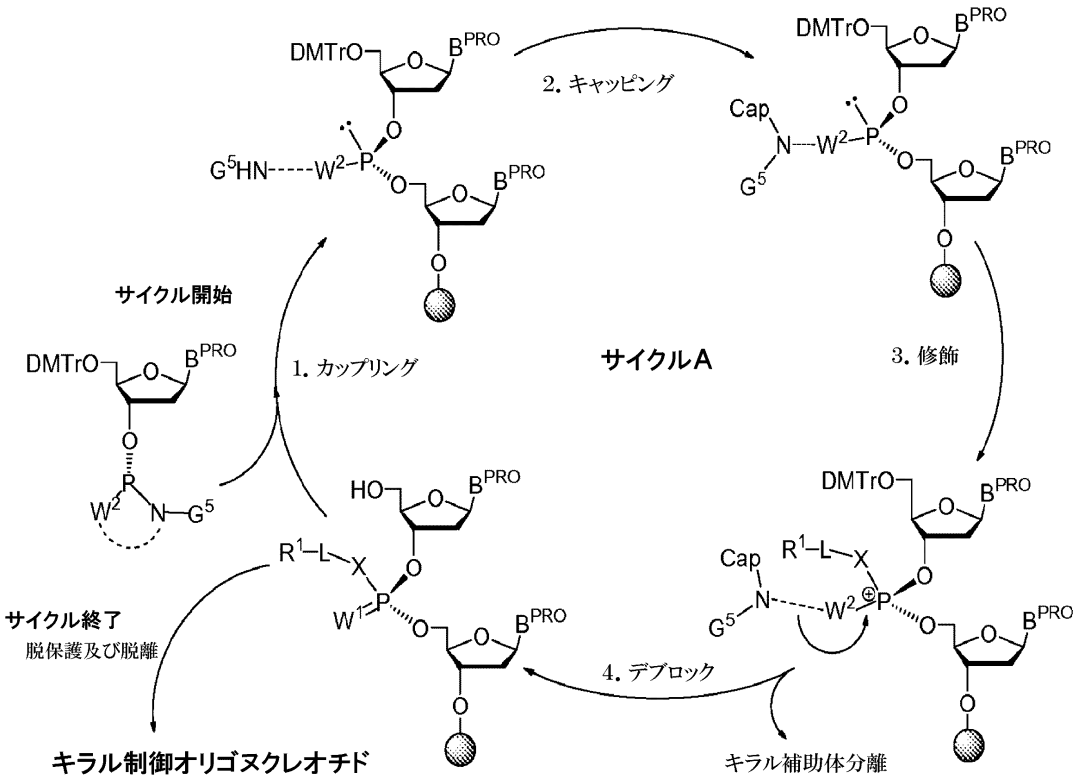
の構造を有し、

さらなる詳細は以下に記載される。「キャップ」は、キャッピングステップで窒素原子に導入される化学部分であり、いくつかの実施形態において、アミノ保護基である。第１サイクルでは、開始時に固体支持体に結合したヌクレオシドは、１つのみである可能性があるが、脱ブロッキングの前にサイクルの終了を行ってもよいことを、当業者は理解する。当業者により理解される通り、B^{PRO}は、オリゴヌクレオチド合成で使用される保護基である。スキームIの上記のサイクルの各ステップは、さらに以下に記載される。

【０５３６】

スキームＩ．キラル制御されたオリゴヌクレオチドの合成

【化１７８】



【０５３７】

固体支持体上の合成

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドの合成は、固相上で行われる。いくつかの実施形態において、固体支持体に存在する反応基は、保護される。いくつかの実施形態において、固体支持体に存在する反応基は、保護されていない。オリゴヌクレオチド合成の最中、固体支持体は、数回の合成サイクルにおいて、さまざまな試薬で処理され、個々のヌクレオチド単位で成長するオリゴヌクレオチド鎖の段階的伸長を実現する。固体支持体に直接結合し、鎖の末端のヌクレオシド単位を、ここでは「第１ヌクレオシド」と呼ぶ。第１のヌクレオシドは、リンカー部分、つまりジラジカルを通じて、ＣＰＧ、ポリマーまたは別の固体支持体のいずれかとヌクレオシドの間の共有結合により固体支持体に結合される。リンカーは、オリゴヌクレオチド鎖を構築する合成サイクルの間、無傷のままであり、鎖構築後に切り離され、支持体からオリゴヌクレオチドを遊離させる。

【０５３８】

固相核酸合成の固体支持体には、例えば、米国特許第４，６５９，７７４号、第５，１４１，８１３号、第４，４５８，０６６号；Caruthersの米国特許第４，４１５，７３２号、第４，４５８，０６６号、第４，５００，７０７号、第４，６６８，７７７号、第４，９７３，６７９号、および第５，１３２，４１８号；Andrusらの米国特許第５，０４７，５２４号、第５，２６２，５３０号；およびKosterの米国特許第４，７２５，６７７号（Ｒｅ３４，０６９として再発行）に記載される支持体が含まれる。いくつかの実施形態において、固相は、有機ポリマー支持体である。いくつかの実施形態において、固相は、無機ポリマー支持体である。いくつかの実施形態において、有機ポリマー支持体は、ポリスチレンであり、アミノメチルポリスチレン、ポリエチレングリコール－ポリスチレングラフト共重合体、ポリアクリルアミド、ポリメタクリレート、ポリビニルアルコール、高度に架橋したポリマー（ＨＣＰ）、または別の合成ポリマー、セルロースおよびデンプンまたは別の高分子炭水化物のような炭水化物、または別の有機ポリマーおよび共重合体、上記の無機または有機材料の複合材料または組み合わせが含まれる。いくつかの実施形態において、無機ポリマー支持体は、シリカ、アルミナ、シリカゲル支持体、またはアミノプロピルＣＰＧなどの制御ポリグラス（ＣＰＧ）である。別の有用な固体支持体には、フルオラス固体支持体（例えば、ＷＯ／２００５／０７０８５９参照）、長鎖アルキルアミン（ＬＣＡＡ）制御多孔性ガラス（ＣＰＧ）固体支持体（例えば、S. P. Adams, K. S. Kavka, E. J. Wykes, S. B. Holder and G. R. Galluppi, J. Am. Chem. Soc., 1983, 105, 661-663; G. R. Gough, M. J. Bruden and P. T. Gilham, Tetrahedron Lett., 1981, 22, 4177-4180参照）が挙げられる。膜支持体およびポリマー膜（例えば、Innovation and Perspectives in Solid Phase Synthesis, Peptides, Proteins and Nucleic Acids, ch 21 pp 157-162, 1994, Ed. Roger Eptonおよび米国特許第４，９２３，９０１号参照）もまた核酸の合成に有用である。いったん形成されると、膜は、核酸合成において使用するために、化学的に官能化させることができる。膜への官能基の結合に加えて、膜に結合されたリンカーまたはスペーサ基の使用が、膜と合成鎖との間の立体障害を最小に抑えるために、用いられる。

【０５３９】

別の好ましい固体支持体には、技術分野で一般的に知られ、固相方法で用いられる好ましいものが含まれ、例えば、ＰｒｉｍｅｒＴＭ２００サポートとして販売されるガラス、制御多孔性ガラス（ＣＰＧ）、オキサリル－制御多孔性ガラス（例えば、Alul, et al., Nucleic Acids Research, 1991, 19, 1527を参照）、ＴｅｎｔａＧｅｌサポート－アミノポリエチレングリコール誘導支持体（例えば、Wright, et al., Tetrahedron Lett., 1993, 34, 3373を参照)およびＰｏｒｏｓ－ポリスチレン／ジビニルベンゼンの共重合体が挙げられる。

【０５４０】

表面活性されたポリマーは、いくつかの固体支持体媒体上で天然および修飾された核酸やタンパク質の合成に利用されている。固体支持体の材料は、どのようなポリマーであっ

てもよく、多孔度が均一で、十分なアミン含有量、および十分な柔軟性を有して、統合性を失うことなく、付随するどのような操作にも耐えうるものが好ましい。選択される材料の例としては、好ましくは、ナイロン、ポリプロピレン、ポリエステル、ポリテトラフルオロエチレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、およびニトロセルロースである。別の材料が、研究者の設計に依存して、固体支持体として機能し得る。いくつかの設計を考慮すると、例えば、特に金または白金をコーティングした金属が選択され得る（例えば、米国公開公報第２００１００５５７６１参照）。オリゴヌクレオチド合成の一実施形態において、例えば、ヌクレオシドは、ヒドロキシルまたはアミノ残基を用いて官能化された固体支持体に固定される。また、固体支持体は、誘導体化され、トリメトキシトリチル基（ＴＭＴ）のような、酸に不安定なトリアルコキシトリチル基を提供する。理論に縛られることなく、トリアルコキシトリチル保護基の存在は、ＤＮＡ合成装置で一般的に使用される条件下で、初期の脱トリチル化を可能にすることが予想される。アンモニア水溶液中のオリゴヌクレオチド材料をより早く切り離すためには、ジグリコートリンカー（diglycoate linker）を支持体上に導入してもよい。

【０５４１】

いくつかの実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、代替として、５’－３’方向で合成される。いくつかの実施形態において、核酸は、成長する核酸の５′末端を通じて固体支持体に結合され、それにより３′基を反応のために提示する。すなわち５′－ヌクレオシドホスホラミダイトを用いて、または酵素反応中にで反応が起こる(例えば、ヌクレオシド５′－三リン酸を用いたライゲーションおよび重合）。５’－３’合成を考慮する場合、本発明の反復ステップは、変化しない（つまり、キラルリン酸のキャッピングおよび修飾）。

【０５４２】

結合部分

固体支持体を、自由求核部分を含む化合物に結合させるために結合部分またはリンカーを用いても良い。好適なリンカー、例えば、固相合成技術において固体支持体を初期ヌクレオシド分子の官能基（例えば、ヒドロキシル基）に結合させるように機能する短分子が知られている。いくつかの実施形態において、結合部分は、スクシンアミド酸リンカー、またはコハク酸リンカー（－ＣＯ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＯ－）、またはオキサリルリンカー（－ＣＯ－ＣＯ－）である。いくつかの実施形態において、結合部分およびヌクレオシドはエステル結合を介して一緒に結合される。いくつかの実施形態において、結合部分およびヌクレオシドはアミド結合を介して一緒に結合する。いくつかの実施形態において、結合部分はヌクレオシドを別のヌクレオチドまたは核酸に結合させる。開示される好ましいリンカーは、例えば、Oligonucleotides And Analogues A Practical Approach, Ekstein, F. Ed., IRL Press, N.Y., 1991, Chapter 1 およびSolid-Phase Supports for Oligonucleotide Synthesis, Pon, R. T., Curr. Prot. Nucleic Acid Chem., 2000, 3.1.1-3.1.28に記載される。

【０５４３】

リンカー部分は、自由求核部分を含む化合物を別のヌクレオシド、ヌクレオチド、または核酸に結合させるために使用される。いくつかの実施形態において、結合部分は、ホスホジエステル結合である。いくつかの実施形態において、結合部分は、Ｈ－ホスホネート部分である。いくつかの実施形態において、結合部分は、本明細書中に記載される修飾されたリン酸結合である。いくつかの実施形態において、ユニバーサルリンカー（ユニリンカー（UnyLinker））が、固体支持体にオリゴヌクレオチドを結合させるために使用される（Ravikumar et al., Org. Process Res. Dev., 2008, 12 (3), 399－410）。いくつかの実施形態において、別のユニバーサルリンカーが使用される（Pon, R. T., Curr. Prot. Nucleic Acid Chem., 2000, 3.1.1-3.1.28）。いくつかの実施形態において、さまざまな直交するリンカー（例えば、ジスルフィドリンカー）が使用される（Pon, R. T., Curr. Prot. Nucleic Acid Chem., 2000, 3.1.1-3.1.28）。

【０５４４】

一般的な条件－合成に用いる溶媒

提供されるオリゴヌクレオチドの合成は、一般的に非プロトン性有機溶媒中で行われる。いくつかの実施形態において、溶媒は、例えば、アセトニトリルのようなニトリル溶媒中で行われる。いくつかの実施形態において、溶媒は、例えば、ピリジンのような塩基性アミン溶媒である。いくつかの実施形態において、溶媒は、例えば、テトラヒドロフランのようなエーテル溶媒である。いくつかの実施形態において、溶媒は、例えば、ジクロロメタンのようなハロゲン化炭化水素である。いくつかの実施形態において、溶媒の混合物を使用する。ある実施形態において、溶媒は、上記記載の分類の１以上の溶媒の混合物である。

【０５４５】

いくつかの実施形態において、非プロトン性有機溶媒が塩基性ではない場合、塩基が、反応ステップに存在する。いくつかの実施形態において、塩基が存在する場合、塩基は、例えば、ピリジン、キノリン、またはＮ，Ｎ－ジメチルアニリンのように、アミン塩基である。例示的な別のアミン塩基には、ピロリジン、ピペリジン、Ｎ－メチルピロリジン、ピリジン、キノリン、Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）、またはＮ，Ｎ－ジメチルアニリンが挙げられる。

【０５４６】

いくつかの実施形態において、塩基は、アミン塩基以外である。

【０５４７】

いくつかの実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、無水である。いくつかの実施形態において、無水非プロトン性有機溶媒は、新たに蒸留される。いくつかの実施形態において、新たに蒸留される無水非プロトン性有機溶媒は、例えば、ピリジンのような塩基性アミン溶媒である。いくつかの実施形態において、新たに蒸留される無水非プロトン性有機溶媒は、例えば、テトラヒドロフランなどのエーテル溶媒である。いくつかの実施形態において、新たに蒸留される無水非プロトン性有機溶媒は、例えば、アセトニトリルのようなニトリル溶媒である。

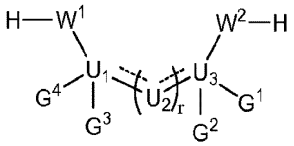
【０５４８】

キラル試薬

提供される方法において、キラル試薬が、キラル制御されたオリゴヌクレオチドの生産において立体選択性を与えるために使用される。キラル補助剤として、当業者により、本明細書中に引用される多くの異なるキラル試薬を、本発明の方法の方法により使用しても良い。そのような例示的なキラル試薬は、本明細書中や上記の文献、Wada Ｉ，IIおよびIIIに記載されるとおりである。ある実施形態において、キラル試薬は、Wada Ｉに記載されるとおりであり。いくつかの実施形態において、本発明の方法により使用されるキラル試薬は、以下の式３－Ｉ：

【０５４９】

【化１７９】



式3－I

であり、

ここでＷ^{1}およびＷ^{2}は、－Ｏ－、－Ｓ－、または－ＮＧ^{5}－のいずれかであり、Ｕ$_{1}$およびＵ$_{3}$は、単結合、二重結合または三重結合を通じて、Ｕ$_{2}$が存在する場合、Ｕ$_{2}$と結合する炭素原子、またはｒが、０の場合、互いに結合する炭素原子である。Ｕ$_{2}$は、－Ｃ－、－ＣＧ^{8}－、－ＣＧ^{8}Ｇ^{8}－、－ＮＧ^{8}－、－Ｎ－、－Ｏ－、または－Ｓ－であり、ｒは、０～５の整数であり、２個を超えるヘテロ原子が隣接することはない。Ｕ$_{2}$のいずれか１つがＣである場合、三重結合が、Ｃである第２の事例のＵ$_{2}$の間に形成されなけれ

ばならない、またはU_1もしくはU_3のいずれか１つに形成されなければならない。同様に、U_2のいずれか１つがCG^8である場合、二重結合が、－CG^8－もしくは－Ｎ－である第２の事例のU_2の間に形成される、または、U_1もしくはU_3のいずれか１つに形成される。

【０５５０】

いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－CG^3G^4－CG^1G^2－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－CG^3＝CG^1－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－Ｃ≡Ｃ－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－CG^3＝CG^8－CG^1G^2－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－CG^3G^4－Ｏ－CG^1G^2－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－ｉｓ－CG^3G^4－NG^8－CG^1G^2－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－CG^3G^4－Ｎ－CG^2－である。いくつかの実施形態において、－U_1－（U_2）$_r$－U_3－は、－CG^3G^4－Ｎ＝CG^8－CG^1G^2－である。

【０５５１】

ここに定義される、G^1、G^2、G^3、G^4、G^5、およびG^8は、独立して水素、または、アルキル、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、およびアリールから選択される任意に置換されている基である；または２個のG^1、G^2、G^3、G^4、およびG^5ならびにG^6は、一緒になって置換されていてもよい、飽和、部分的に不飽和もしくは不飽和の炭素環式、または単環式もしくは多環式の最大約２０の環原子のヘテロ原子を含有する環を形成し、これは、縮合環または非縮合環である。いくつかの実施形態において、そのように形成された環は、オキソ、チオキソ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアリール、またはアリール部分により置換される。いくつかの実施形態において、２個のG^6が一緒になって形成された環が置換される場合、それは、反応最中に、立体選択性を与えるのに十分なかさをもつ部分により置換される。

【０５５２】

いくつかの実施形態において、２個のG^6が一緒になって形成された環は、置換されていてもよいシクロペンチル、ピロリル、シクロプロピル、シクロヘキセニル、シクロペンテニル、テトラヒドロピラニル、またはピペラジニルである。いくつかの実施形態において、２個のG^6が一緒になって形成された環は、置換されていてもよいシクロペンチル、ピロリル、シクロプロピル、シクロヘキセニル、シクロペンテニル、テトラヒドロピラニル、ピロリジニル、またはピペラジニルである。

【０５５３】

いくつかの実施形態において、G^1は、置換されていてもよいフェニルである。いくつかの実施形態において、G^1は、フェニルである。いくつかの実施形態において、G^2は、メチルまたは水素である。いくつかの実施形態において、G^1は、置換されていてもよいフェニルであり、G^2は、メチルである。いくつかの実施形態において、G^1は、フェニルであり、G^2は、メチルである。

【０５５４】

いくつかの実施形態において、ｒは、０である。

【０５５５】

いくつかの実施形態において、W^1は、－NG^5－である。いくつかの実施形態において、G^3およびG^4のいずれか１つは、G^5と一緒になって置換されていてもよいピロリジニル環を形成する。いくつかの実施形態において、G^3およびG^4のいずれか１つは、G^5と一緒になってピロリジニル環を形成する。

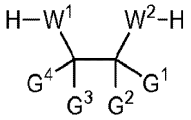
【０５５６】

いくつかの実施形態において、W^2は、－Ｏ－である。

【０５５７】

いくつかの実施形態において、キラル試薬は、式３－ＡＡの化合物である：

【化１８０】



式３－ＡＡ

ここで、各変数は、独立して、上記のとおり定義され、ここに記載したとおりである。

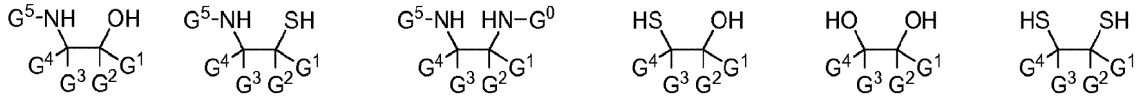
【０５５８】

式３ＡＡのいくつかの実施形態において、W^1およびW^2は、独立して－NG^5－、－Ｏ－、または－Ｓ－；G^1、G^2、G^3、G^4、およびG^5は、独立して水素、または、アルキル、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、およびアリールから選択される置換されていてもよい基である；または２個のG^1、G^2、G^3、G^4、およびG^5ならびにG^6は、一緒になって置換されていてもよい、飽和、部分的に不飽和もしくは不飽和の炭素環式、または単環式もしくは多環式の最大約２０の環原子のヘテロ原子を含有する環を形成し、これは、縮合環または非縮合環であり、G^1、G^2、G^3、G^4、およびG^5ならびにG^6は、４を超えることがない。式３－Ｉと同様に、G^1、G^2、G^3、G^4、またはG^5のいずれかは、オキソ、チオキソ、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアリール、またはアリール部分により置換されていてもよい。いくつかの実施形態において、そのような置換は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドの生産において立体選択性を生じさせる。

【０５５９】

いくつかの実施形態において、キラル試薬は、次式：

【化１８１】



式３－ＡＢ　３－ＢＢ　３－ＣＣ　３－ＤＤ　３－ＥＥ　３－ＦＦ

のいずれか１つである。

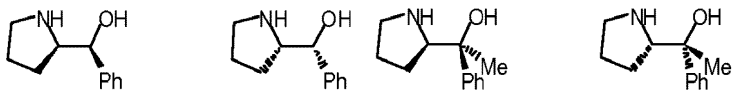
【０５６０】

いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミノアルコールである。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミノチオールである。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミノフェノールである。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、（Ｓ）－および（Ｒ）－２－メチルアミノ－１－フェニルエタノール、（１Ｒ，２Ｓ）－エフェドリン、または（１Ｒ，２Ｓ）－２－メチルアミノ－１，２－ジフェニルエタノールである。

【０５６１】

本発明のいくつかの実施形態において、キラル試薬は、次式：

【化１８２】



式Ｏ　式Ｐ　式Ｑ　式Ｒ

いずれか１つの化合物である。

【０５６２】

キラル試薬の選択、例えば、式Ｑにより表される異性体、または、式Ｒにより表されるその立体異性体は、結合したリン酸で、キラリティーの特異な制御を可能にする。よって、ＲｐまたはＳｐ配置のいずれかが、各合成サイクルにおいて選択可能であり、キラル制御されたオリゴヌクレオチドの３次元構造全体に対して制御が可能になる。いくつかの実

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、全部がＲｐ立体中心を有する。本発明のいくつか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、全部がＳｐ立体中心を有する。本発明のいくつか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の各結合したリン酸は、独立してＲｐまたはＳｐである。本発明のいくつか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の各結合したリン酸は、独立してＲｐまたはＳｐ、および少なくとも１つはＲｐ、および少なくとも１つはＳｐである。いくつかの実施形態において、ＲｐおよびＳｐの中心の選択は、キラル制御されたオリゴヌクレオチドに対して特定の３次元超構造を与えるように行われる。そのような例示的な選択は、さらに詳細に本明細書中に記載される。

【０５６３】

いくつかの実施形態において、本発明により使用されるキラル試薬は、上記のサイクル中にあるステップで除去される能力によって選択される。例えば、いくつかの実施形態において、結合したリン酸の修飾ステップの最中に、キラル試薬を取り除くことが望ましい。いくつかの実施形態において、結合したリン酸の修飾ステップの前に、キラル試薬を取り除くことが望ましい。いくつかの実施形態において、結合したリン酸の修飾ステップの後に、キラル試薬を取り除くことが望ましい。いくつかの実施形態において、第２のカップリングの最中に、キラル試薬が、成長するオリゴヌクレオチド上に存在しないように、第１のカップリングステップを行った後、かつ、第２カップリングステップを行う前にキラル試薬を取り除くことが望ましい（およびさらにそれに続くカップリングステップも同様である）。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、結合したリン酸の修飾後であるが、次に続くサイクルが始まる前に行う「脱ブロッキング」反応の最中に除去される。除去のための例示的な方法および試薬は、本明細書中に記載される。

【０５６４】

いくつかの実施形態において、スキームＩに記載される修飾および／または脱ブロッキングステップを行う場合に、キラル補助剤の除去が実現される。修飾および脱ブロッキングのような別の変換と一緒にキラル補助剤の除去を組み合わせることが有益である。ステップ／変換を省略することにより、例えば、特により長いオリゴヌクレオチドの収率および生成物の純度に関して、合成の全体的な効率を高め得ることができることを当業者は理解するであろう。修飾および／または脱ブロッキングの最中にキラル補助剤が除去される一例は、スキームＩに記載される。

【０５６５】

いくつかの実施形態において、本発明の方法により用いられるキラル試薬は、ある条件下で除去可能であることを特徴とする。例えば、いくつかの実施形態において、キラル試薬は、酸性条件下で、除去される能力により選択される。ある実施形態において、キラル試薬は、弱酸性条件下で、除去される能力により選択される。ある実施形態において、キラル試薬は、Ｅ１除去反応の方法で、除去される能力により選択される(例えば、酸性条件下で、キラル試薬上にカチオン中間体が形成して除去を行い、キラル試薬をオリゴヌクレオチドから切り離す）。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、Ｅ１除去反応に適応またはそれを促進することが可能であると認識される構造を有することを特徴とする。どの構造がそのような除去反応に耐える傾向があるか予見しうることを関連技術分野の当業者は、理解するであろう。

【０５６６】

いくつかの実施形態において、キラル試薬は、求核試薬を用いて除去される能力により選択される。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミン求核試薬を用いて除去される能力により選択される。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミン以外の求核試薬を用いて除去される能力により選択される。

【０５６７】

いくつかの実施形態において、キラル試薬は、塩基を用いて除去される能力により選択される。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミンを用いて除去される能力により選択される。いくつかの実施形態において、キラル試薬は、アミン以外の塩基を用い

て除去される能力により選択される。

【０５６８】

キラル試薬のさらなる実施形態

いくつかの実施形態では、本発明は、キラル制御オリゴヌクレオチドを合成するのに使用されるキラル試薬に関する。

【０５６９】

いくつかの実施形態では、本発明は、上及び本明細書に記載されるカップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、上及び本明細書に記載される修飾及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、上及び本明細書に記載される硫化及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、上及び本明細書に記載される酸化のステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、かかるキラル試薬は式Ｚ－Ｉの構造を有する。

【０５７０】

いくつかの実施形態では、本発明は、塩基及び／又は求核試薬による処理によって除去されるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、塩基及び／又は求核試薬による処理によって除去され、上及び本明細書に記載されるカップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、アミンを含む処理によって除去されるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、アミンを含む処理によって除去され、上及び本明細書に記載されるカップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、本願に記載される脱保護／切断条件によって除去され、上及び本明細書に記載されるカップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を提供する。いくつかの実施形態では、かかるキラル試薬は式Ｚ－Ｉの構造を有する。

【０５７１】

いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を用いて、上及び本明細書に記載されるキラル制御オリゴヌクレオチドを合成する。いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を用いて、上及び本明細書に記載されるキラル制御オリゴヌクレオチドを合成し、キラル制御ヌクレオチドは１つ又は複数のリン酸ジエステル結合又はホスホロチオエートジエステル結合を含む。いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を用いて、１つ又は複数のリン酸ジエステル結合又はホスホロチオエートジエステル結合を含むキラル制御オリゴヌクレオチドを合成し、試薬は、オリゴヌクレオチドが所望の長さに達するまで除去しない。いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を用いて、１つ又は複数のリン酸ジエステル結合又はホスホロチオエートジエステル結合を含むキラル制御オリゴヌクレオチドを合成し、試薬は、サイクル終了後まで除去しない。いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を用いて、１つ又は複数のリン酸ジエステル結合又はホスホロチオエートジエステル結合を含むキラル制御オリゴヌクレオチドを合成し、試薬は、固体支持体からの切断まで除去しない。いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬を用いて、１つ又は複数のリン酸ジエステル結合又はホスホロチオエートジエステル結合を含むキラル制御オリゴヌクレオチドを合成し、試薬は、固体支持体からの切断まで除去せず、除去を固体支持体からの切断と同じステップで実施する。いくつかの実施形態では、かかるキラル試薬は式Ｚ－Ｉの構造を有する

。

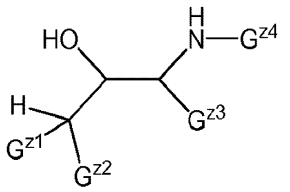
【０５７２】

いくつかの実施形態では、カップリング、キャッピング、修飾、及び脱ブロッキングの各ステップに対して安定性のあるキラル試薬をオリゴヌクレオチド合成において用いる場合、カップリングできる状態にある５’－ＯＨをもったオリゴヌクレオチドは、スキームＩ、Ｉ－ｂ、Ｉ－ｃ、Ｉ－ｄ、Ｚ－１及びＺ－２に記載されるものも含めて、いずれの合成サイクルからのものでもよい。いくつかの実施形態では、カップリングできる状態にある５’－ＯＨをもったオリゴヌクレオチドは、上及び本明細書に記載される種々のタイプのヌクレオチド間結合を含む。カップリングの後、本願に記載される修飾ステップは、結合リンに所望の修飾を導入する。生成物は、５’－ＯＨの脱ブロッキングの前後にサイクル終了へ行くか、５’－ＯＨを脱ブロッキングした後に次のサイクルへ入るか、いずれでもよい。次のサイクルとは、スキームＩ、Ｉ－ｂ、Ｉ－ｃ、Ｉ－ｄ、Ｚ－１及びＺ－２に記載されるものを含むが、それらに限定されず、本願に記載される合成サイクルのいずれでもよい、ということが当業者に理解される。

【０５７３】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するキラル試薬又はその塩は、化学式（Ｚ－Ｉ）のものである。

【化１８３】



(Z-I)

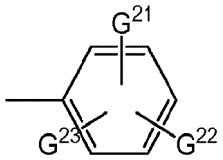
【０５７４】

式（Ｚ－Ｉ）において、G^{z1}及びG^{z2}は互いに独立して水素原子、ニトロ基（－NO_2）、ハロゲン原子、シアノ基（－ＣＮ）、式（Ｚ－ＩＩ）若しくは（Ｚ－ＩＩＩ）の基、又は、G^1及びG^2の両方が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成したもの、である。

【０５７５】

いくつかの実施形態では、式（Ｚ－ＩＩ）の基は下に示される通りであり：

【化１８４】



(Z-II)

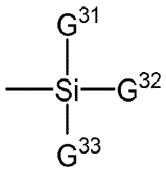
、

式中、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基又は$C_{1～3}$アルキル基である。

【０５７６】

いくつかの実施形態では、式（Ｚ－ＩＩＩ）の基は下に示される通りであり：

【化１８５】



(Z-III)

、

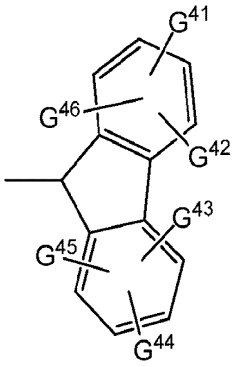
式中、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1～4}$アルキル基、$C_{6～14}$アリール$C_{1～}$

$_4$アルコキシ基、C$_{7\sim14}$アラルキル基、C$_{1\sim4}$アルキルC$_{6\sim14}$アリール基、C$_{1\sim4}$アルコキシC$_{6\sim14}$アリール基、又はC$_{6\sim14}$アリールC$_{1\sim4}$アルキル基である。

【０５７７】

いくつかの実施形態では、式（Ｚ－ＩＶ）の基は下に示される通りであり：

【化１８６】



(Z-IV)

、

式中、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基又はC$_{1\sim3}$アルキル基である。

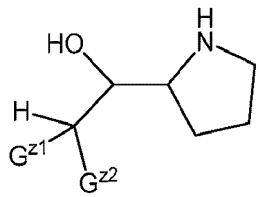
【０５７８】

G^{z3}及びG^{z4}は互いに独立して水素原子、C$_{1\sim3}$アルキル基、C$_{6\sim14}$アリール基、又は、G^{z3}及びG^{z4}の両方が一緒になって３～１６の炭素原子を有するヘテロ原子含有環を式（Ｚ－Ｉ）中ＮＨ成分とともに形成したもの、である。

【０５７９】

いくつかの実施形態では、キラル試薬は次の化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し：

【化１８７】



(Z-I')

、式中、G^{z1}及びG^{z2}は上に同じである。即ち、G^{z1}及びG^{z2}は、互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、式（Ｚ－ＩＩ）若しくは（Ｚ－ＩＩＩ）の基、又は、G^{z1}及びG^{z2}の両方が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成したもの、である。

【０５８０】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}のそれぞれは式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、式中、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又はC$_{1\sim3}$アルキル基である。

【０５８１】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}のそれぞれは式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}～G^{23}のそれぞれは水素原子である。

【０５８２】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基又はC$_{1\sim3}$アルキル基である。

【０５８３】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}及びG^{22}のそれぞれは水素原子で

あり、G^{23}はニトロ基である。

【０５８４】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基、$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{7\sim14}$アラルキル基、$C_{1\sim4}$アルキル$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{1\sim4}$アルコキシ$C_{6\sim14}$アリール基、又は$C_{6\sim14}$アリール$C_{1\sim4}$アルキル基である。

【０５８５】

いくつかの実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｉ’）を有し、G^{1}は水素原子であり、G^{2}は式（ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基、C_{6}アリール基、$C_{7\sim10}$アラルキル基、$C_{1\sim4}$アルキルC_{6}アリール基、$C_{1\sim4}$アルコキシC_{6}アリール基、又はC_{6}アリール$C_{1\sim4}$アルキル基である。

【０５８６】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基又はC_{6}アリール基である。$C_{1\sim4}$アルキル基の例としては、メチル基、エチル基、ｎ－プロピル基、イソ－プロピル基、ｎ－ブチル基、及びｔｅｒｔ－ブチル基がある。

【０５８７】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基である。

【０５８８】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}及びG^{33}はC_{6}アリール基であり、G^{32}は$C_{1\sim4}$アルキル基である。

【０５８９】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}は一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成し、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim4}$アルキル基である。

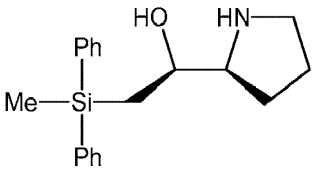
【０５９０】

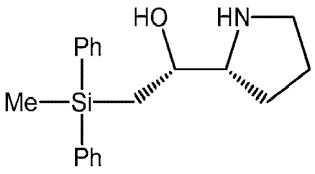
ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}は一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）（式中、G^{41}～G^{46}のそれぞれは水素原子である）の基を形成する。

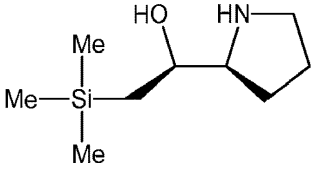
【０５９１】

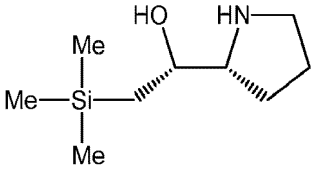
ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式３ａ、３ｂ、５ａ、Ｚ－５ｂ、７ａ、７ｂ、９ａ、９ｂ、１１ａ、及び１１ｂ：

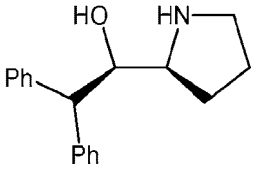
【化１８８】

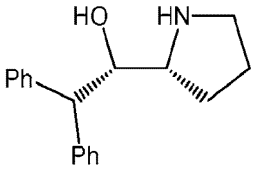

(3a)

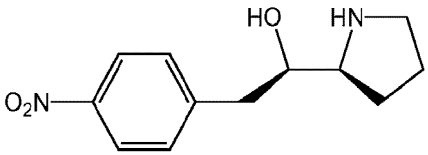

(3b)

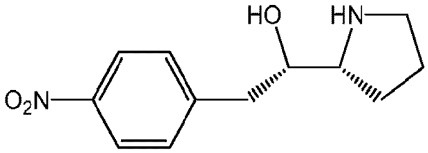

(5a)

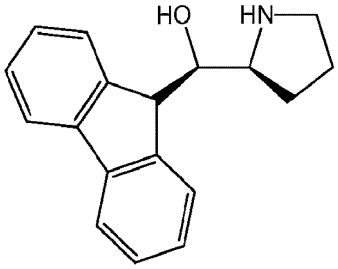

(Z-5b)

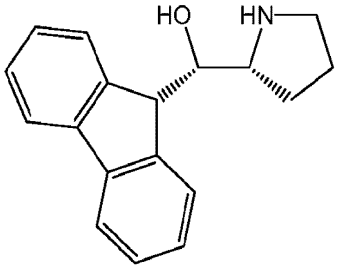

(7a)


(7b)


(9a)


(9b)


(11a)

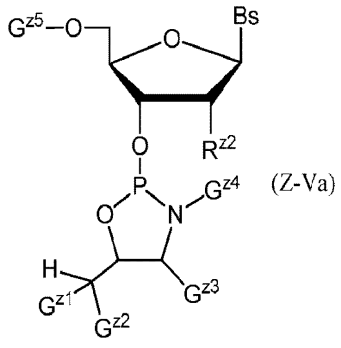

(11b)

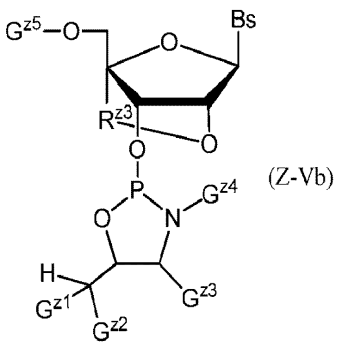
の１つより選択される。

【０５９２】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用するヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）によって表され：

【化１８９】

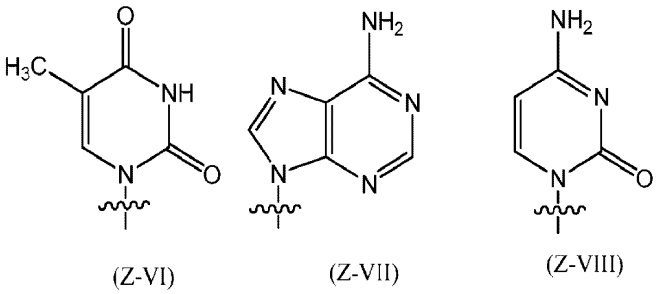

(Z-Va)


(Z-Vb)

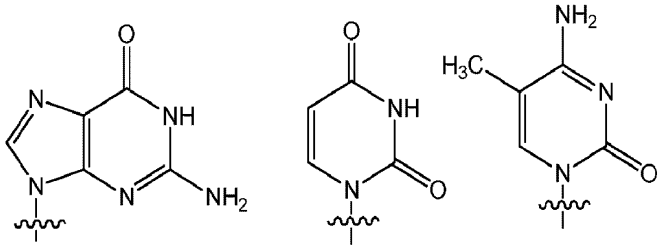
、

式中、G^{z1}～G^{z4}は上に同じであり、G^{z5}はヒドロキシル基の保護基であり、Ｂｓは、次の式（Ｚ－ＶＩ）～（Ｚ－ＸＩ）によって表される基より選択される基又はその誘導体である。

【化１９０】



(Z-VI)　(Z-VII)　(Z-VIII)



(Z-IX)　(Z-X)　(Z-XI)

Ｂｓの例としては、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラシル、５－メチルシトシン、又はその誘導体があり；

Ｒ^{z2}は互いに独立して水素、－ＯＨ、－ＳＨ、－ＮＲ^{d}Ｒ^{d}、－Ｎ$_{3}$、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルキル－Ｙ^{1}－、アルケニル－Ｙ^{1}－、アルキニル－Ｙ^{1}－、アリール－Ｙ^{1}－、ヘテロアリール－Ｙ^{1}－、－ＯＲ^{b}、又は－ＳＲ^{b}であり、式中、Ｒ^{b}はブロッキング成分である；

Ｙ^{1}はＯ、ＮＲ^{d}、Ｓ、又はＳｅであり；

Ｒ^{d}は互いに独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アシル、置換シリル、カルバメート、－Ｐ（Ｏ）（Ｒ^{e}）２、又は－ＨＰ（Ｏ）（Ｒ^{e}）であり；

Ｒ^{e}は互いに独立して水素、アルキル、アリール、アルケニル、アルキニル、アルキル－Ｙ^{2}－、アルケニル－Ｙ^{2}－、アルキニル－Ｙ^{2}－、アリール－Ｙ^{2}－、又はヘテロアリール－Ｙ^{2}－、又は、Ｎａ$^{+}$、Ｌｉ$^{+}$、若しくはＫ$^{+}$である陽イオン、又は－Ｏ$^{-}$であり；

Ｙ^{2}はＯ、ＮＲ^{d}、又はＳであり；

Ｒ^{z3}は、－ＣＨ$_{2}$－、－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－、－ＣＨ$_{2}$ＮＨ－、又は－ＣＨ$_{2}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）－で表される基である。

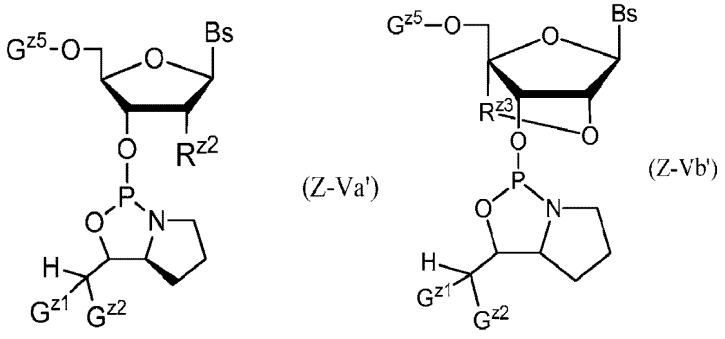
【０５９３】

Ｇ５の例としては、トリチル、４－モノメトキシトリチル、４，４’－ジメトキシトリチル、４，４’，４’’－トリメトキシトリチル、９－フェニルキサンチン－９－イル（ピキシル）及び９－（ｐ－メトキシフェニル）キサンチン－９－イル（ＭＯＸ）がある。

【０５９４】

いくつかの実施形態では、ヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は式（Ｚ－Ｖａ’）又は（Ｚ－Ｖｂ’）で表され：

【化１９１】



(Z-Va')　(Z-Vb')

式中、G^{z1}、G^{z2}、G^{z5}、Ｂｓ、R^{z2}、及びR^{z3}のそれぞれは互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りである。

【０５９５】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの合成方法に関する。

【０５９６】

いくつかの実施形態では、提供される方法は、アキラルなＨ－ホスホネート成分を含む分子と、第１の活性化試薬と、キラル試薬又はその塩とを反応させてモノマーを形成する第１ステップを含む。いくつかの実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ）を有し、モノマーは式（Ｚ－Ｖａ）、（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’）で表すことができる。モノマーは第２の活性化試薬及びヌクレオシドと反応して縮合中間体を形成する。いくつかの実施形態では、続くステップは縮合中間体をキラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換することを含む。

【０５９７】

いくつかの実施形態では、本発明の方法は、安定な市販材料を出発材料として提供する。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、アキラルな出発材料を用いた立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチドを提供する。

【０５９８】

実施例に示す通り、いくつかの実施形態では、本発明の方法は、脱保護ステップの間分解を起こさない。さらに本方法では特別なキャッピング剤を必要とすることなくリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体を産生する。

【０５９９】

いくつかの実施形態では、本発明は、アキラルなモノマーを用いた、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供する。いくつかの実施形態では、第１のステップでは、式（Ｚ－Ｖａ）、（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を第２の活性化試薬及びヌクレオシドと反応させて縮合中間体を形成する。第２のステップでは縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換する。

【０６００】

本明細書に開示される全ての文献及び特許出願はその全体が、各個別の文献又は特許出願が参照により援用されることが具体的個別的に示された場合と同じ程度に、参照により本明細書に援用される。

【０６０１】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「活性化試薬」という用語は、縮合反応において、反応性のより低い部位を活性化させてそれが求核試薬による攻撃を受けやすくなるようにする試薬を指す。

【０６０２】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキル」基は、脂肪族炭化水素基を指す。アルキル成分は飽和アルキル基であってもよく（不飽和の単位、例えば炭素－炭素二重結合又は炭素－炭素三重結合を含まないということを意味する）、あるいはアルキル成分は不飽和アルキル基であってもよい（不飽和の単位を少なくとも１つ含むということを意味する）。アルキル成分は、飽和か不飽和かにかかわらず、分岐鎖、直鎖であってもよく、あるいは環式部分を含んでいてもよい。アルキルの結合点は、環の部分でない炭素原子にある。「アルキル」成分は１～１０の炭素原子を有していてもよい（本明細書に見られる場合、「１～１０」等の数字範囲は所与の範囲における各整数を指し、例えば「１～１０の炭素原子」は、アルキル基が１つの炭素原子、２つの炭素原子、３つの炭素原子等、１０までかつ１０を含む数の炭素原子からなっていてもよいということを意味し、但し、本定義はまた、数字範囲が指定されない「アルキル」という用語の現れることをも包含する）。アルキルは分岐及び直鎖アルキル基の両方を含む。本明細書に記載される化合物のアルキル基は「C_1～C_6アルキル」と表記するか又は同様の表記と

している場合がある。ほんの一例として、「C_1～C_6アルキル」は、アルキル鎖中に１、２、３、４、５、又は６の炭素原子がある、即ち、アルキル鎖は例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、及びｔｅｒｔ－ブチルより選択される、ということを示す。典型的なアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、三級ブチル、ペンチル、ヘキシル、アリル、シクロプロピルメチル、シクロブチルメチル、シクロペンチルメチル、シクロヘキシルメチル等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。一態様では、アルキルはC_1～C_6アルキルである。$C_{1\sim3}$アルキル基は、１～３の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。$C_{1\sim3}$アルキル基の例としては、メチル、エチル、プロピル及びイソプロピルがある。$C_{1\sim4}$アルキル基は、１～４の炭素原子を有する直鎖又は分岐アルキル基を意味する。$C_{1\sim4}$アルキル基の例としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、及びｔｅｒｔ－ブチルがある。

【０６０３】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アリール」という用語は、環を形成する原子のそれぞれが炭素原子である芳香環を指す。アリール環は、５、６、７、８、９、又は９を超える数の炭素原子で形成される。アリール基は置換又は非置換のものである。一態様では、アリールはフェニル又はナフタレニルである。構造により、アリール基は、モノラジカル又はジラジカル（即ちアリーレン基）であってもよい。一態様では、アリールはC_6～C_{10}アリールである。$C_{6\sim14}$アリール基は、６～１４の炭素原子を有するアリール基を意味する。$C_{6\sim14}$アリール基の例としては、フェニル、ビフェニル、ナフチル、アントラシル（ａｎｔｈｒａｃｙｌ）、インダニル、フタルイミジル、ナフチミジル（ｎａｐｈｔｈｉｍｉｄｙｌ）、フェナントリジニル、及びテトラヒドロナフチルがある。

【０６０４】

「アラルキル」という用語は、アリール基で置換されるアルキル基を指す。適切なアラルキル基としては、ベンジル、ピコリル等が挙げられ、全てそれは置換されていてもよい。

【０６０５】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アシル成分」は、アルキル（Ｃ＝Ｏ）基、アリール（Ｃ＝Ｏ）基、又はアラルキル（Ｃ＝Ｏ）基を指す。アシル成分は、カルボニル基及び炭化水素基の間に、オキシ、アミノ、チオ、又はセレノである介在成分（Ｙ）を有していてもよい。例えば、アシル基としては、アルキル－Ｙ－（Ｃ＝Ｏ）、アリール－Ｙ－（Ｃ＝Ｏ）又はアラルキル－Ｙ－（Ｃ＝Ｏ）がある。

【０６０６】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルケニル」基は少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含有する直鎖、分岐鎖、及び環式炭化水素基である。アルケニル基は置換されていてもよい。

【０６０７】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキニル」基は少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含有する直鎖、分岐鎖、及び環式炭化水素基である。アルキニル基は置換されていてもよい。

【０６０８】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルコキシ」基は、酸素に結合するアルキル基、即ち（アルキル）－Ｏ－基を指し、アルキルは本明細書に定義される通りである。例としては、メトキシ（－ＯＣＨ$_3$）又はエトキシ（－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）基が挙げられる。

【０６０９】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルケニルオキシ」基は、酸素に結合するアルケニル基、即ち（アルケニル）－Ｏ－基を指し、アルケニルは本明細書に定義される通りである。

【０６１０】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキニルオキシ」基は、酸素に結合するアルキニル基、即ち（アルキニル）－Ｏ－基を指し、アルキニルは本明細書に定義される通りである。
【０６１１】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アリールオキシ」基は、酸素に結合するアリール基、即ち（アリール）－Ｏ－基を指し、アリールは本明細書に定義される通りである。例としては、フェノキシ（－ＯＣ$_6$Ｈ$_5$）基がある。
【０６１２】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキルセレノ」という用語は、アルキル基に置換セレノ基が結合したもの、即ち（アルキル）－Ｓｅ－基を指し、アルキルは本明細書に定義される。
【０６１３】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルケニルセレノ」という用語は、アルケニル基に置換セレノ基が結合したもの、即ち（アルケニル）－Ｓｅ－基を指し、アルケニルは本明細書に定義される。
【０６１４】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキニルセレノ」という用語は、アルキニル基に置換セレノ基が結合したもの、即ち（アルキニル）－Ｓｅ－基を指し、アルケニルは本明細書に定義される。
【０６１５】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキルチオ」という用語は、架橋イオウ原子に結合したアルキル基、即ち（アルキル）－Ｓ－基を指し、アルキルは本明細書に定義される。例えば、アルキルチオはメチルチオ等である。
【０６１６】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルケニルチオ」という用語は、架橋イオウ原子に結合したアルケニル基、即ち（アルケニル）－Ｓ－基を指し、アルケニルは本明細書に定義される。
【０６１７】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキニルチオ」という用語は、架橋イオウ原子に結合したアルキニル基、即ち（アルキニル）－Ｓ－基を指し、アルケニルは本明細書に定義される。
【０６１８】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキルアミノ」という用語は、少なくとも１つのアルキル基で置換されるアミノ基、即ち、－ＮＨ（アルキル）又は－Ｎ（アルキル）２を指し、アルキルは本明細書に定義される。
【０６１９】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルケニルアミノ」という用語は、少なくとも１つのアルケニル基で置換されるアミノ基、即ち、－ＮＨ（アルケニル）又は－Ｎ（アルケニル）２を指し、アルケニルは本明細書に定義される。
【０６２０】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキニルアミノ」という用語は、少なくとも１つのアルキニル基で置換されるアミノ基、即ち、－ＮＨ（アルキニル）又は－Ｎ（アルキニル）$_2$を指し、アルキニルは本明細書に定義される。
【０６２１】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「ハロゲン」という用語は、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素を含むことを意図する。
【０６２２】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「蛍光基」は、選択波長を有する光で励起させると異なる波長の光を発光する分子を指す。蛍光基としては、イン

ドール基、フルオレセイン、テトラメチルローダミン、テキサスレッド、ボディパイ、５－［（２－アミノエチル）アミノ］ナフタレン－１－スルホン酸（ＥＤＡＮＳ）、クマリン及びルシファーイエローが挙げられるが、これらに限定されない。

【０６２３】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アンモニウムイオン」は、化学式NH_4^+の正電荷多原子陽イオンである。

【０６２４】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アルキルアンモニウムイオン」は、水素原子の少なくとも１つがアルキル基で置換されるアンモニウムイオンを指し、アルキルは本明細書に定義される。例としては、トリエチルアンモニウムイオン、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアンモニウムイオンが挙げられる。

【０６２５】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「イミニウムイオン」は、一般構造$(R^x)_2C=N(R^x)_2^+$を有する。R^x基は、本明細書に記載されるアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基を指す。「複素環式芳香族イミニウムイオン」は、窒素及びその結合R^x基が芳香族複素環を形成するイミニウムイオンを指す。「複素環式イミニウムイオン（ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ　ｉｍｉｎｉｕｍ　ｉｏｎ）」は、窒素及びその結合R^x基が複素環を形成するイミニウムイオンを指す。

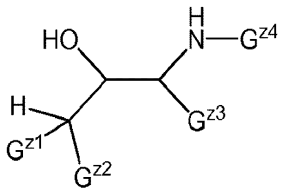
【０６２６】

本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、「アミノ」又は「アミン」という用語は、$-N(R^h)_2$ラジカル基を指し、各R^hは、本明細書に他に具体的に記載がなければ、互いに独立して水素、アルキル、フルオロアルキル、カルボシクリル（ｃａｒｂｏｃｙｃｌｙｌ）、カルボシクリルアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクリル（ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｙｌ）、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール又はヘテロアリールアルキルである。$-N(R^h)_2$基が水素以外に２つのR^hを有する場合、それらは窒素原子と化合して４、５、６、又は７員環を形成することができる。例えば、$-N(R^h)_2$は１－ピロリジニル及び４－モルホリニルを含むことが意図されるが、これらに限定されない。水素、アルキル、フルオロアルキル、カルボシクリル、カルボシクリルアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、又はヘテロアリールアルキルのいずれか１つ又は複数は、互いに独立してアルキル、ヘテロアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヒドロキシ、ハロ、シアノ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ニトロ、トリメチルシリル、$-OR^i$、$-SR^i$、$-OC(O)R^i$、$-N(R^i)_2$、$-C(O)R^i$、$-C(O)OR^i$、$-OC(O)N(R^i)_2$、$-C(O)N(R^i)_2$、$-N(R^i)C(O)OR$、$-N(R^i)C(O)R^i$、$-N(R^i)C(O)N(R^i)_2$、$N(R^i)C(NR^i)N(R^i)_2$、$-N(R^i)S(O)_tR^i$（式中、ｔは１又は２）、$-S(O)$、又は$-S(O)_tN(R^i)_2$（式中、ｔは１又は２）である１つ又は複数の置換基で置換されていてもよく、各R^iは互いに独立して水素、アルキル、フルオロアルキル、カルボシクリル、カルボシクリルアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、又はヘテロアリールアルキルである。

【０６２７】

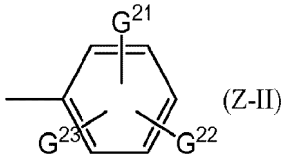
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、本明細書で使用される「カルバメート」は、式$-C(O)OR$を有する、アミノ基に結合する成分を指し、Ｒはアルキル、フルオロアルキル、カルボシクリル、カルボシクリルアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール又はヘテロアリールアルキルである。例としては、Ｂｏｃ（ｔｅｒｔ－ブチル－ＯＣ（Ｏ）－）、ＣＢｚ（ベンジル－ＯＣ（Ｏ）－）、Ｔｅｏｃ（$Me_3SiCH_2CH_2OC(O)-$）、ａｌｌｏｃ（アリル－ＯＣ（Ｏ）－）、又はＦｍｏｃ（９－フルオレニルメチル－ＯＣ（Ｏ）－）基が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６２８】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、本明細書で使用される「置換シリル」は、式$R^x{}_3Si-$を有する成分を指す。例としては、ＴＢＤＭＳ（ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル）、ＴＢＤＰＳ（ｔｅｒｔ－ブチルジフェニルシリル）又はＴＭＳ（トリメチルシリル）が挙げられるが、これらに限定されない。
【０６２９】
本「キラル試薬のさらなる実施形態」の項で使用される場合、本明細書で使用される「チオール」という用語は－ＳＨ基を指し、置換チオール基、即ち、－ＳＲＪ基を含み、ＲＪはそれぞれ互いに独立して置換又は非置換のアルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアラルキル、ヘテロシクリル又はヘテロシクリルアルキル基であり、これらは本明細書に定義される通りである。
【０６３０】
いくつかの実施形態では、本発明はキラル試薬又はその塩を提供する。いくつかの実施形態では、キラル試薬は次の化学式（Ｚ－Ｉ）のものであり：
【化１９２】



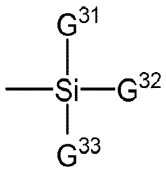
(Z-I)

、
式中、G^{z1}及びG^{z2}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基（－ＣＮ）、式（Ｚ－ＩＩ）若しくは（Ｚ－ＩＩＩ）の基、又は、G^{z1}及びG^{z2}の両方が一緒になって（Ｚ－ＩＶ）の基を形成したもの、である。いくつかの実施形態では、「キラル試薬」という用語は、立体制御されたリン原子修飾ヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド誘導体を産生するように使用される化学組成物である。キラル試薬はヌクレオシドと反応してキラル中間体を形成する。
【０６３１】
いくつかの実施形態では、式（Ｚ－ＩＩ）の基は次の式のものであり：
【化１９３】



(Z-II)

、
式中、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、Ｇ２１～Ｇ２３の例としては水素原子が挙げられる。
【０６３２】
いくつかの実施形態では、式（Ｚ－ＩＩＩ）の基は次の式のものであり：
【化１９４】



(Z-III)

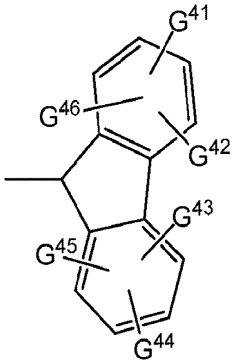
、
式中、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基、$C_{6\sim14}$アリール基、Ｃ

$_{1\sim4}$アルコキシ基、$C_{7\sim14}$アラルキル基、$C_{1\sim4}$アルキル$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{1\sim4}$アルコキシ$C_{6\sim14}$アリール基、又は$C_{6\sim14}$アリール$C_{1\sim4}$アルキル基である。$C_{1\sim4}$アルキル$C_{6\sim14}$アリール基の例としては、メチルフェニル基、及びエチルフェニル基が挙げられる。$C_{1\sim4}$アルコキシ$C_{6\sim14}$アリール基の例としては、メトキシフェニル基及びエトキシフェニル基が挙げられる。$C_{6\sim14}$アリール$C_{1\sim4}$アルキル基の例としては、ベンジル基及びフェニルエチル基が挙げられる。いくつかの実施形態では、G^{31}～G^{33}の例としては、互いに独立してメチル基及びフェニル基であるものが挙げられる。

【０６３３】

いくつかの実施形態では、式（Ｚ－ＩＶ）の基は次の式のものであり：

【化１９５】



(Z-IV)

、

式中、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、Ｇ４１～Ｇ４６の例としては水素原子が挙げられる。

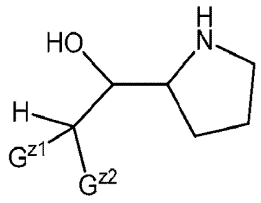
【０６３４】

G^{z3}及びG^{z4}は互いに独立して水素原子、$C_{1\sim3}$アルキル基、$C_{6\sim14}$アリール基、又は、G^{z3}及びG^{z4}の両方が一緒になって３～１６の炭素原子を有するヘテロ原子含有環を形成したもの、である。いくつかの実施形態では、G^{3}及びG^{4}の例としては、それらが一緒になって式（Ｉ）中ＮＨ成分とともに３～１６の炭素原子を有するヘテロ原子含有環を形成したものが挙げられる。

【０６３５】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は次の化学式（Ｚ－Ｉ’）を有する。

【化１９６】



(Z-I')

【０６３６】

式（Ｚ－Ｉ’）において、G^{z1}及びG^{z2}は上に同じであり、G^{z1}及びG^{z2}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、式（Ｚ－ＩＩ）又は（Ｚ－ＩＩＩ）の基、又は、G^{z1}及びG^{z2}の両方が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成したもの、である。

【０６３７】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}のそれぞれは式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、式中、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。

【０６３８】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}のそれぞれは式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}～G^{23}のそれぞれは水素原子である。

【０６３９】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩ）の基、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。

【０６４０】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}及びG^{22}のそれぞれは水素原子であり、G^{23}はニトロ基（－NO_2）である。

【０６４１】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基、$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{7\sim14}$アラルキル基、$C_{1\sim4}$アルキル$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{1\sim4}$アルコキシ$C_{6\sim14}$アリール基、又は$C_{6\sim14}$アリール$C_{1\sim4}$アルキル基である。

【０６４２】

いくつかの実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基又はC_6アリール基（フェニル基）である。$C_{1\sim4}$アルキル基の例としては、メチル基、エチル基、ｎ－プロピル基、イソプロピル基、ｎ－ブチル基、及びｔｅｒｔ－ブチル基が挙げられる。

【０６４３】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim2}$アルキル基（メチル基又はエチル基）又はC_6アリール基（フェニル基）である。

【０６４４】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基である。

【０６４５】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}及びG^{33}はC_6アリール基（フェニル基）であり、G^{32}は$C_{1\sim2}$アルキル基である。

【０６４６】

ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}は一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成し、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。

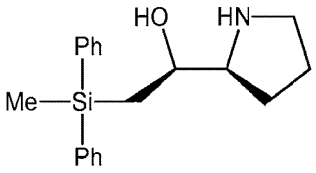
【０６４７】

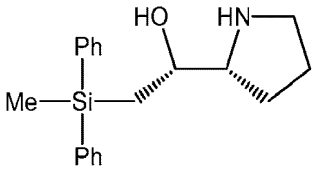
ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ’）を有し、G^{z1}及びG^{z2}は一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成し、式中、G^{41}～G^{46}のそれぞれは水素原子である。

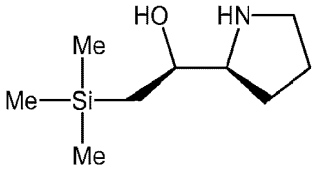
【０６４８】

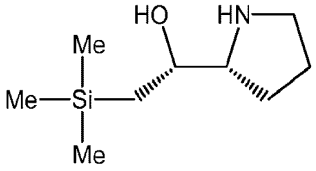
ある特定の実施形態では、キラル試薬は化学式３ａ、３ｂ、５ａ、Ｚ－５ｂ、７ａ、７ｂ、９ａ、９ｂ、１１ａ、及び１１ｂの１つより選択される：

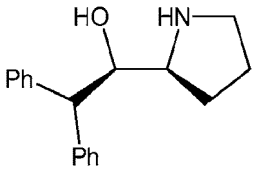
【化１９７】

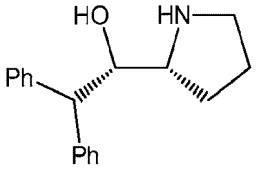

(3a)

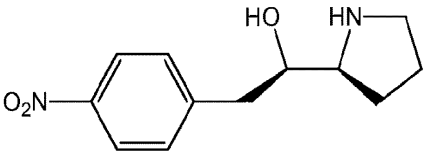

(3b)

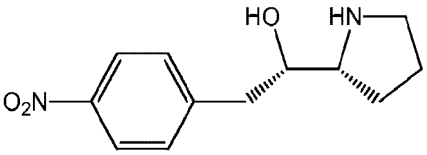

(5a)

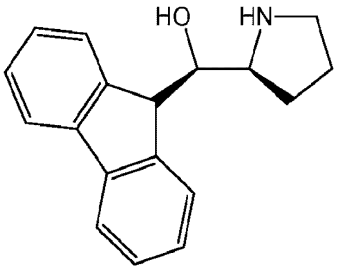

(Z-5b)

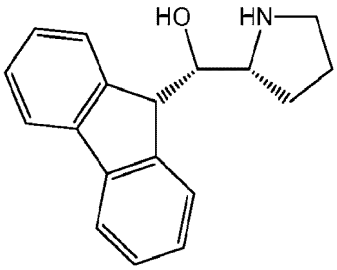

(7a)


(7b)


(9a)


(9b)


(11a)


(11b)

.

即ち、いくつかの実施形態では、キラル試薬は：
（Ｓ）－２－（メチルジフェニルシリル）－１－（（Ｓ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（３ａ）、
（Ｒ）－２－（メチルジフェニルシリル）－１－（（Ｒ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（３ｂ）、
（Ｓ）－２－（トリメチルシリル）－１－（（Ｓ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（５ａ）、
（Ｒ）－２－（トリメチルシリル）－１－（（Ｒ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（Ｚ－５ｂ）、
（Ｒ）－２，２－ジフェニル－１－（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（７ａ）、
（Ｓ）－２，２－ジフェニル－１－（（Ｒ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（７ｂ）、
（Ｒ）－２－（４－ニトロフェニル）－１－（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（９ａ）、
（Ｓ）－２－（４－ニトロフェニル）－１－（（Ｒ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（９ｂ）、
（Ｒ）－（９Ｈ－フルオロレン（Ｆｌｕｏｒｅｎ）－９－イル）（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）メタノール（１１ａ）、又は
（Ｓ）－（９Ｈ－フルオロレン－９－イル）（（Ｒ）－ピロリジン－２－イル）メタノール（１１ｂ）

より選択される。

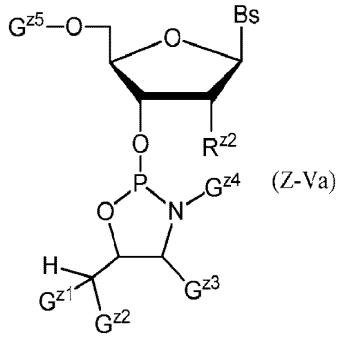
【０６４９】

キラル試薬は、核酸又は修飾核酸と反応して非対称性補助基となる。ヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体を作る中間体であり、キラル試薬が核酸又は修飾核酸と反応することによって得られる。

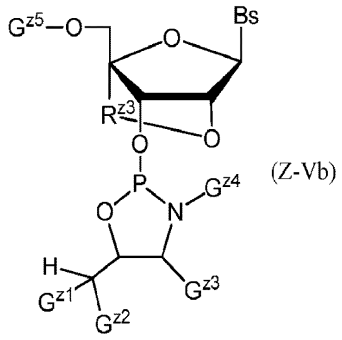
【０６５０】

いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を提供する。式（Ｚ－Ｖａ）及び（Ｚ－Ｖｂ）の化合物は、オリゴヌクレオチド誘導体の合成で用いられるモノマーとして知られる。これらの化合物はまたオキサザホスホリジンモノマーとも言われる。式（Ｚ－Ｖｂ）で表される化合物の糖成分はＢＮＡ及びＬＮＡとして知られる（R^{z3}がメチレン基の場合）。

【化１９８】



(Z-Va)

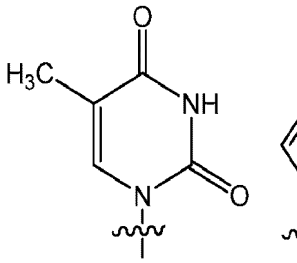


(Z-Vb)

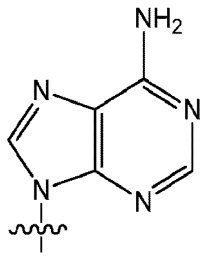
【０６５１】

式（Ｚ－Ｖａ）及び（Ｚ－Ｖａ）において、G^{z1}～G^{z4}は上に同じであり、G^{z5}はヒドロキシル基の保護基であり、Ｂｓは式（Ｚ－ＶＩ）～（Ｚ－ＸＩ）で表される基より選択される基又はその誘導体である。

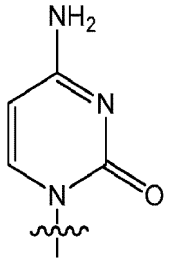
【化１９９】



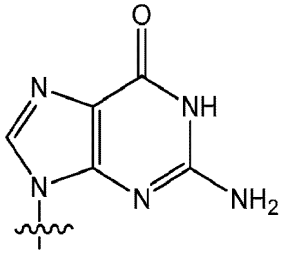
(Z-VI)



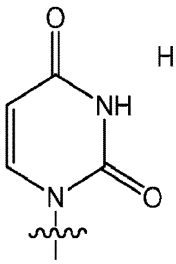
(Z-VII)



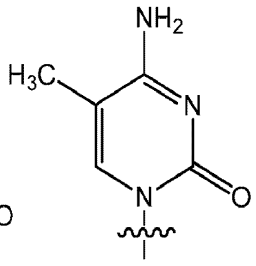
(Z-VIII)



(Z-IX)



(Z-X)



(Z-XI)

Ｂｓの例は、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラシル、５－メチルシトシン、又はその誘導体であり；

R^{z2}は互いに独立して水素、－ＯＨ、－ＳＨ、－NR^dR^d、－N_3、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルキル－Y^1－、アルケニル－Y^1－、アルキニル－Y^1－、アリール－Y^1－、ヘテロアリール－Y^1－、－OR^b、又は－SR^bであり、

式中、R^bはブロッキング成分であり；
Y^1はO、NR^d、S、又はSeであり；
R^dは互いに独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アシル、置換シリル、カルバメート、－P（O）（R^e）$_2$、又は－HP（O）（R^e）であり；
R^eは互いに独立して水素、アルキル、アリール、アルケニル、アルキニル、アルキル－Y^2－、アルケニル－Y^2－、アルキニル－Y^2－、アリール－Y^2－、若しくはヘテロアリール－Y^2－、又は、陽イオンであるNa^+、Li^+、若しくはK^+、又は－O^-であり；
Y^2はO、NR^d、又はSであり；
R^{z3}は－CH_2－、－（CH_2）$_2$－、－CH_2NH－、又は－$CH_2N(CH_3)$－で表される基である。

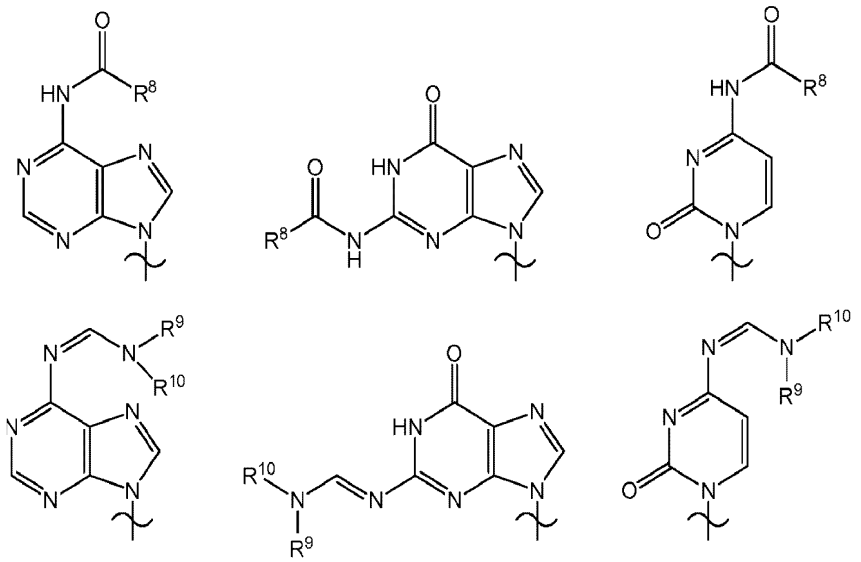
【０６５２】

G^{z5}の例としては、トリチル、４－モノメトキシトリチル、４，４’－ジメトキシトリチル、４，４’，４’’－トリメトキシトリチル、９－フェニルキサンチン－９－イル（ピキシル）及び９－（ｐ－メトキシフェニル）キサンチン－９－イル（ＭＯＸ）がある。

【０６５３】

いくつかの実施形態では、Ｂｓはアデニン、チミン、シトシン、グアニン、又はその誘導体である。いくつかの実施形態では、Ｂｓは核酸塩基又は修飾核酸塩基である。例示的な誘導体としては、例えば、ＪＰ２００５－８９４４１Aに開示されるものがあり、次の通り表され：

【化２００】



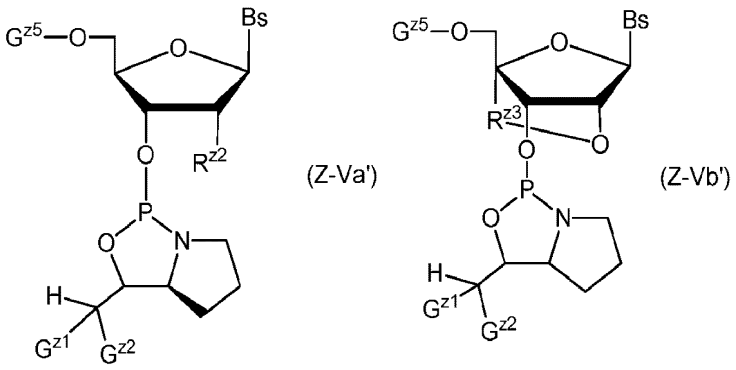
、

上記式中、R^8～R^{10}のそれぞれは互いに独立して$C_{1～10}$アルキル、C_6～C_{10}アリール、C_6～C_{10}アラルキル、又はC_6～C_{10}アリールオキシアルキルである。いくつかの実施形態では、R^8はメチル、イソプロピル、フェニル、ベンジル、及びフェノキシメチルである。いくつかの実施形態では、R^9及びR^{10}は$C_{1～4}$アルキル基である。

【０６５４】

いくつかの実施形態では、ヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は式（Ｚ－Ｖａ’）又は（Ｚ－Ｖｂ’）で表され：

【化２０１】

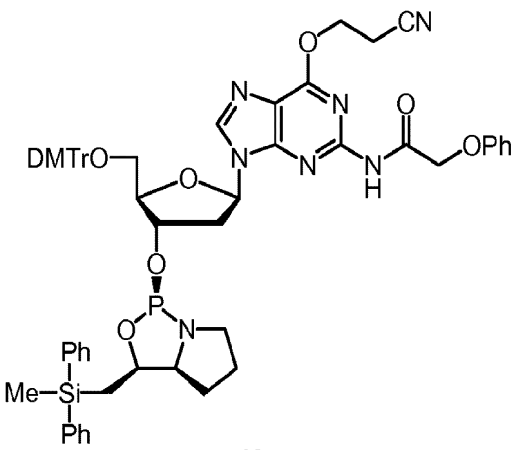


、

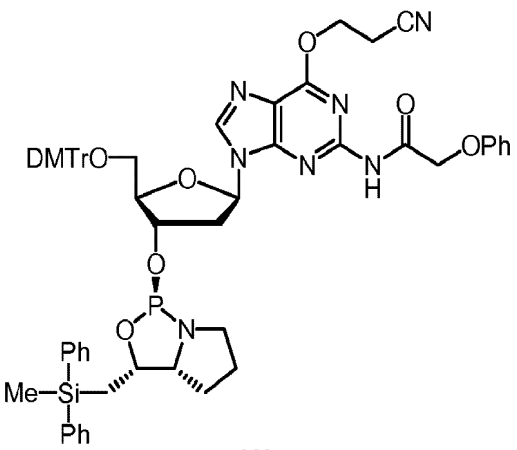
式（Ｚ－Ｖａ’）及び（Ｚ－Ｖｂ’）中、Ｇｚ１、Ｇｚ２、Ｇｚ５、Ｂｓ、Ｒｚ２及びＲｚ３のそれぞれは上に同じである）。ある特定の実施形態では、ヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は、立体制御されたリン原子修飾ヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドを産生するように用いられるキラルモノマーである。ヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体の例は、次の式で表される：

１２ａ、１２ｂ、１３ａ、１３ｂ、１４ａ、１４ｂ、１５ａ、１５ｂ、１６ａ、１６ｂ、１７ａ、１７ｂ、１８ａ、１８ｂ、１９ａ、１９ｂ、２０ａ、２０ｂ、２１ａ、２１ｂ、２２ａ、２２ｂ、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂ、２５ａ、２５ｂ、２６ａ、２６ｂ、２７ａ、２７ｂ、２８ａ、２８ｂ、２９ａ、２９ｂ、３０ａ、３０ｂ、３１ａ、３１ｂ、３２ａ、３２ｂ、３３ａ、３３ｂ、３４ａ、３４ｂ、及び３５ａ。

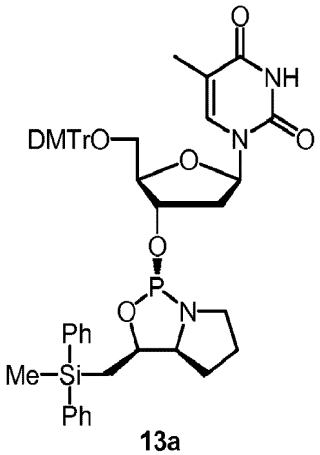
【化２０２】



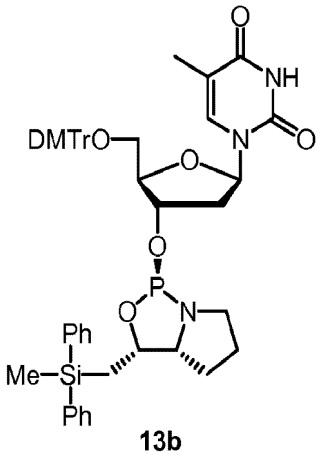
12a



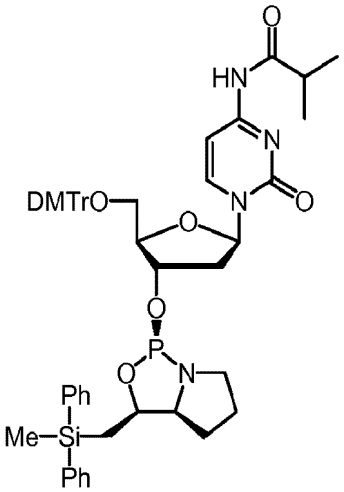
12b



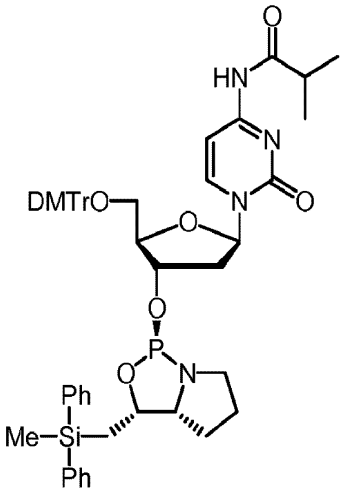
13a



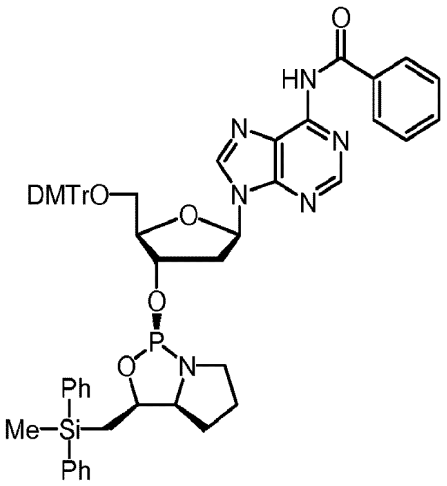
13b



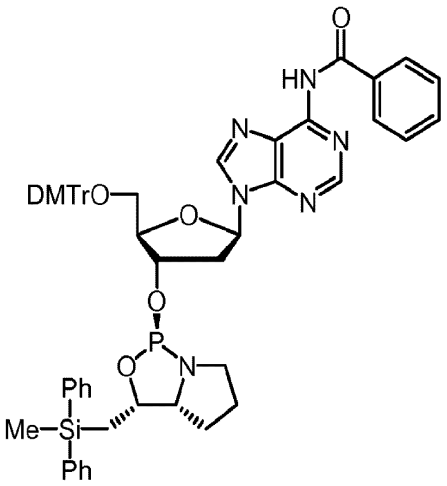
14a



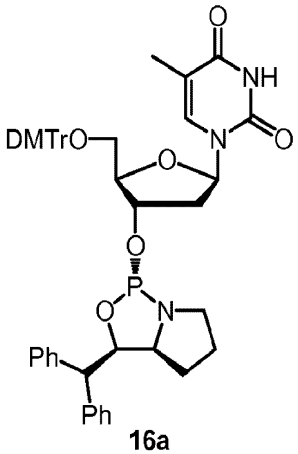
14b



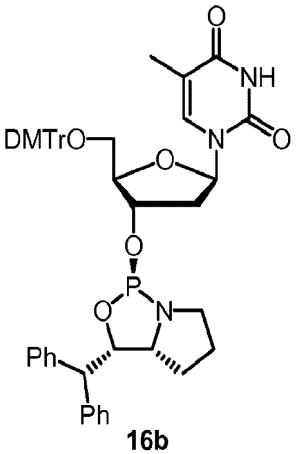
15a



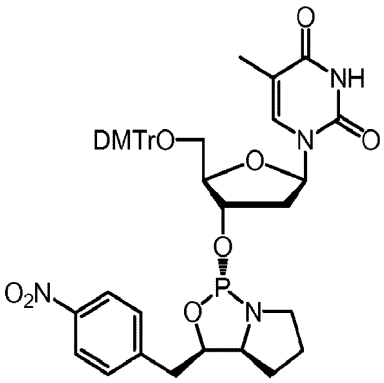
15b



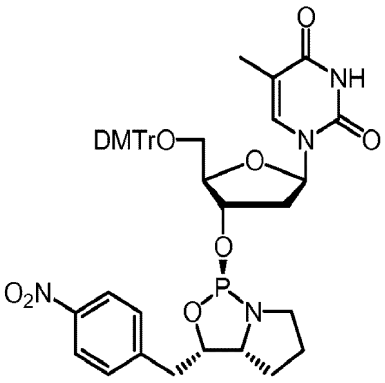
16a



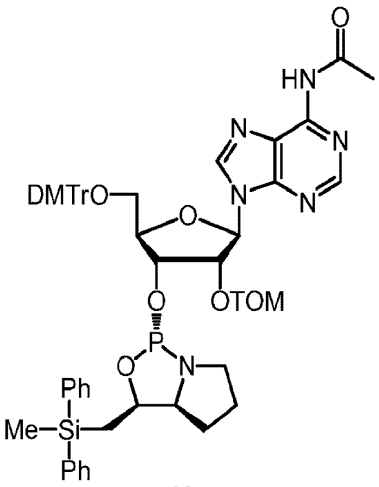
16b



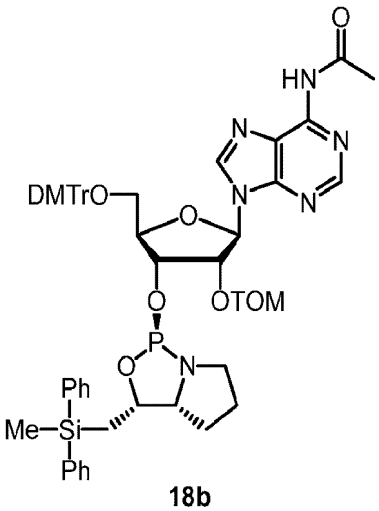
17a



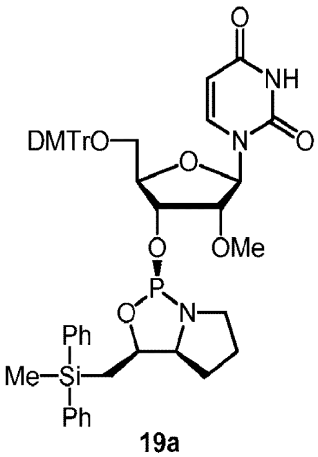
17b



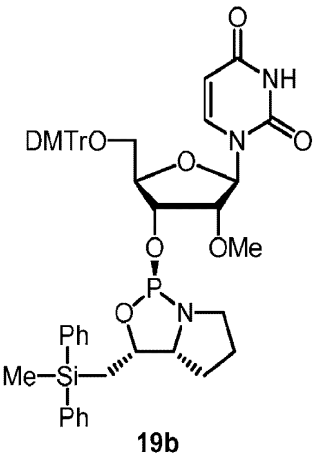
18a



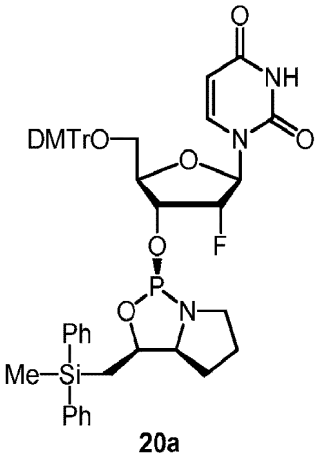
18b



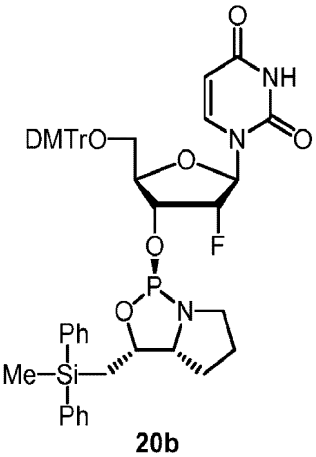
19a



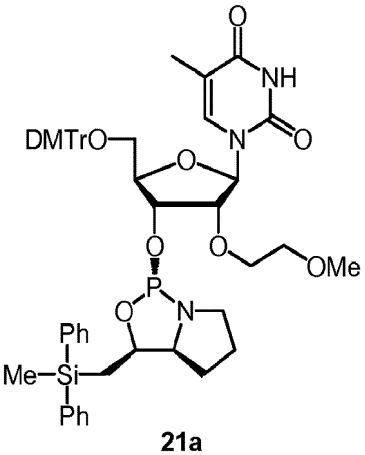
19b



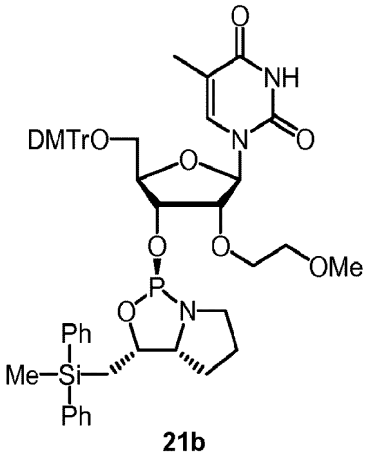
20a



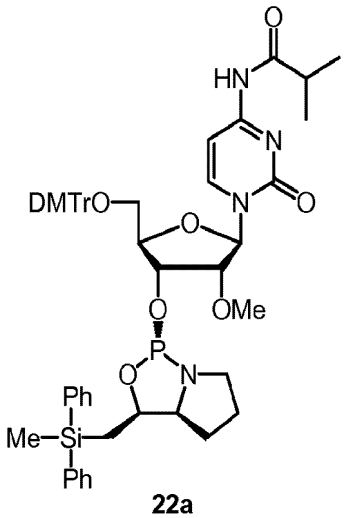
20b



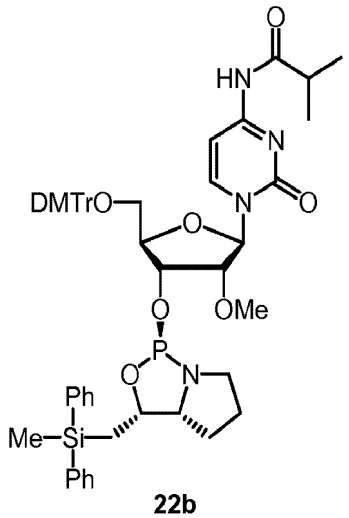
21a



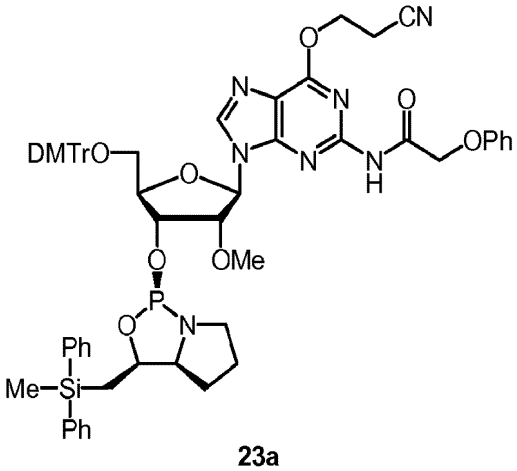
21b



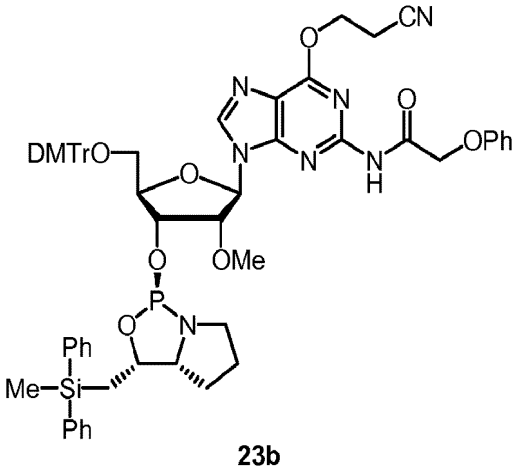
22a



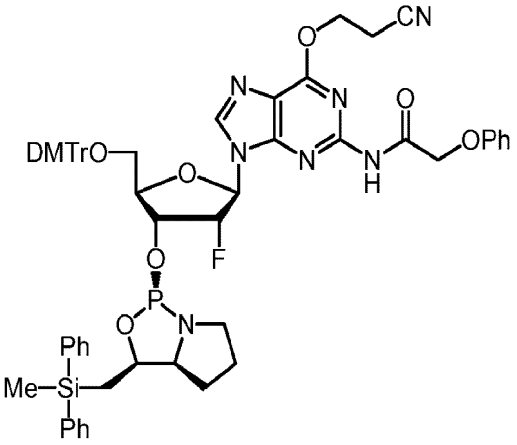
22b



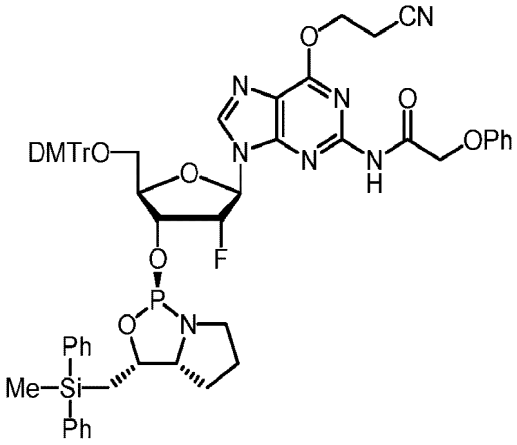
23a



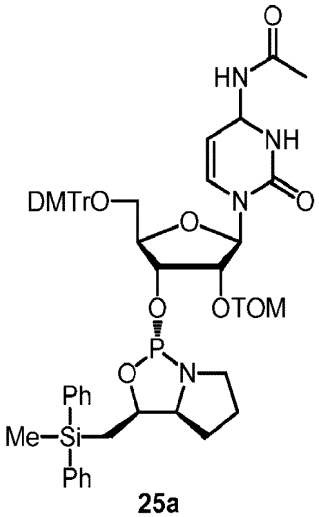
23b



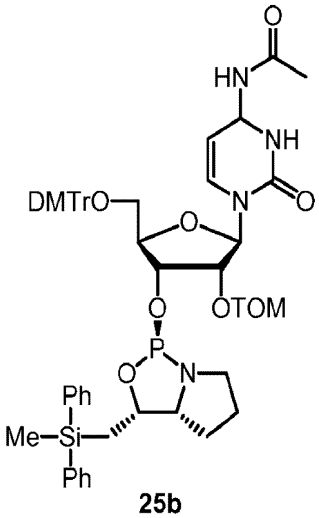
24a



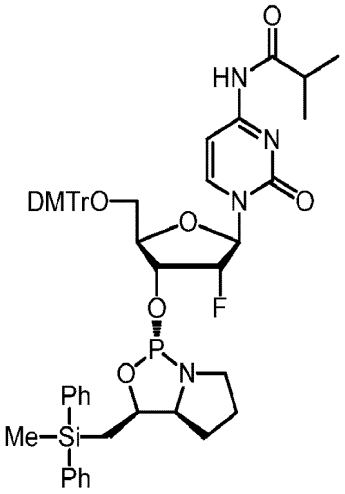
24b



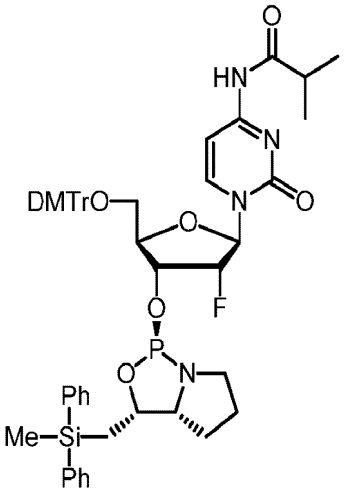
25a



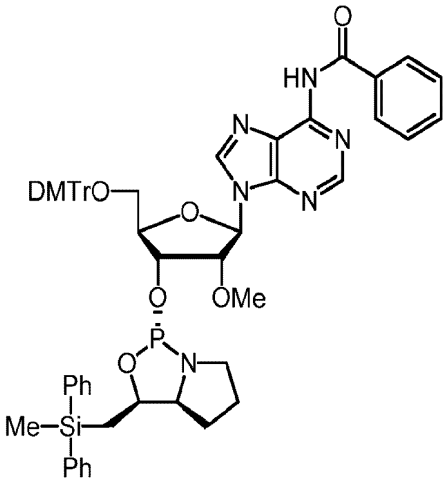
25b



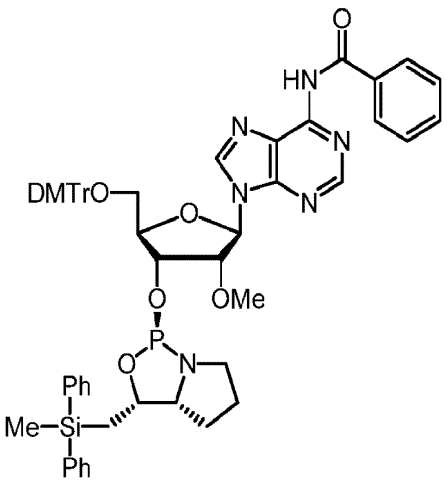
26a



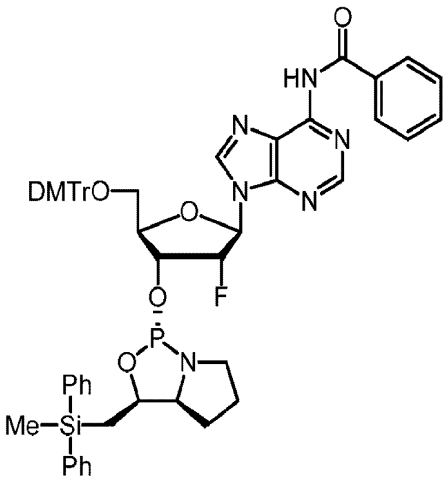
26b



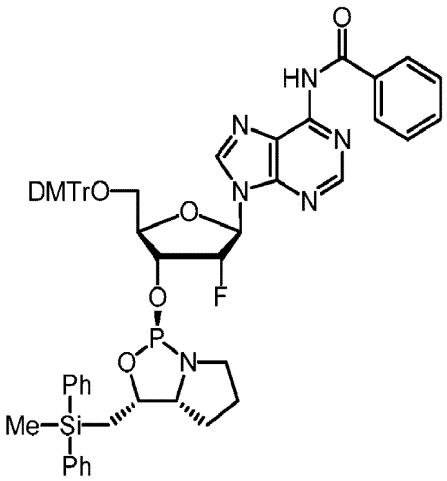
27a



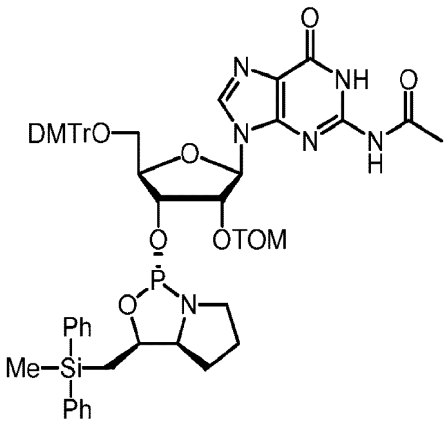
27b



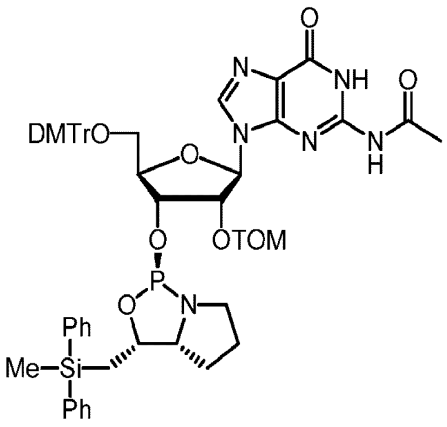
28a



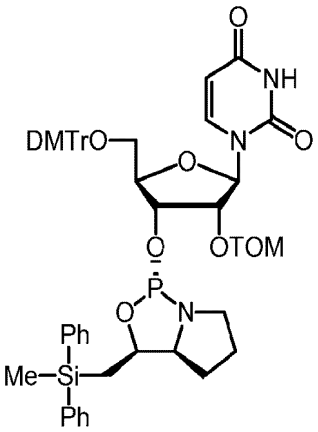
28b



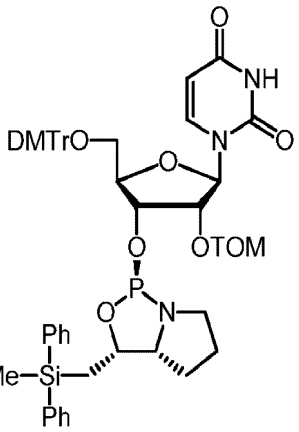
29a



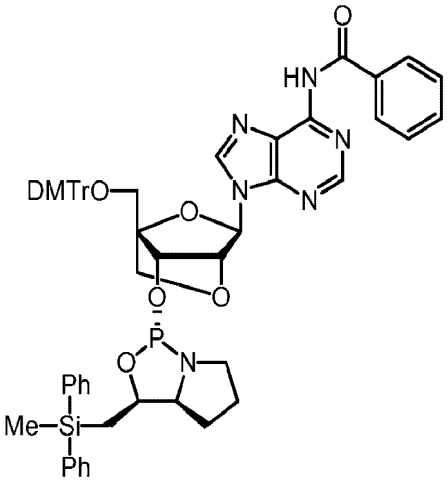
29b



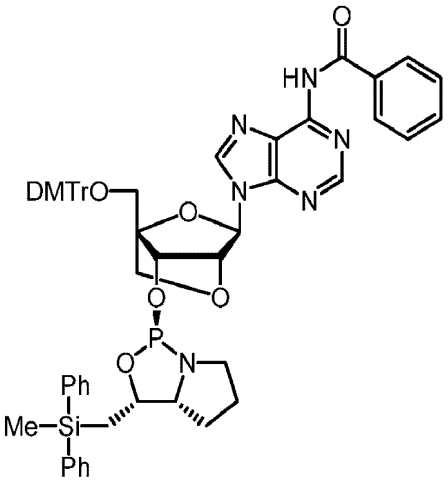
30a



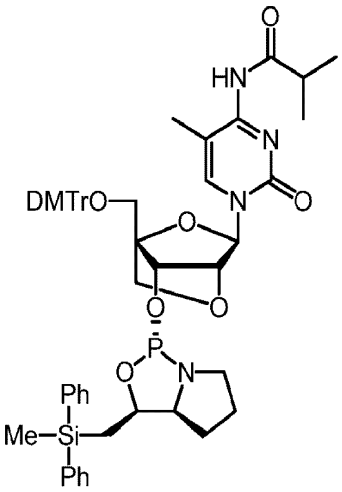
30b



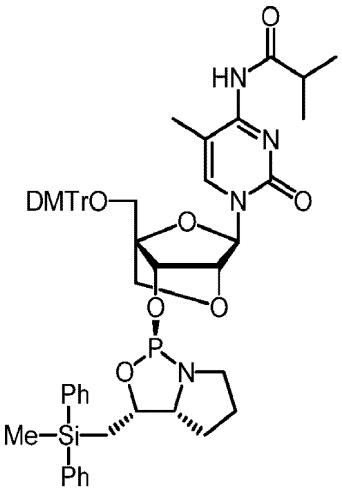
31a



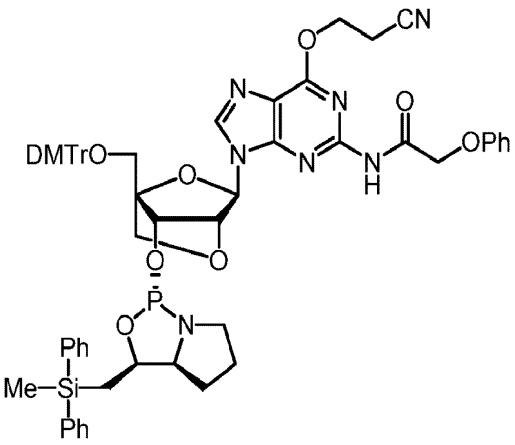
31b



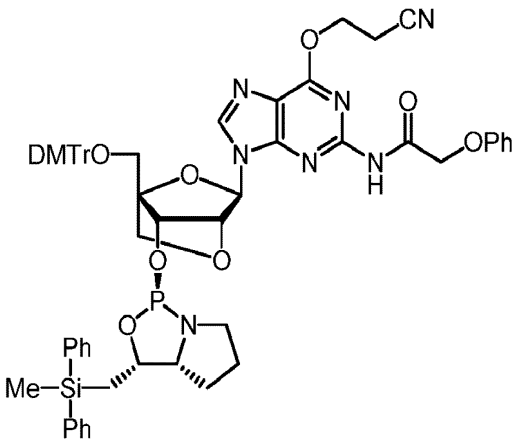
32a



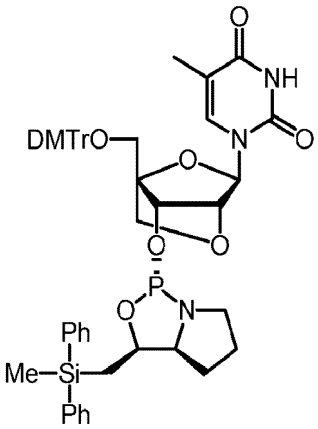
32b



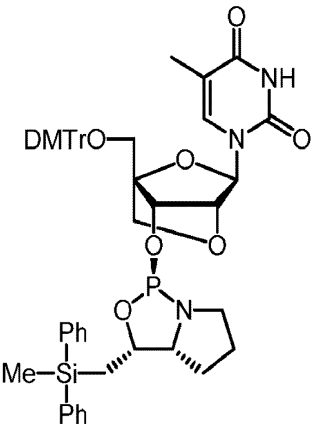
33a



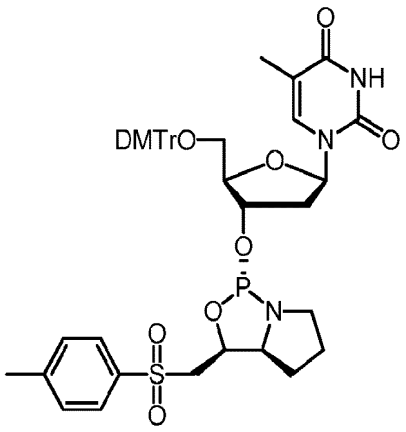
33b



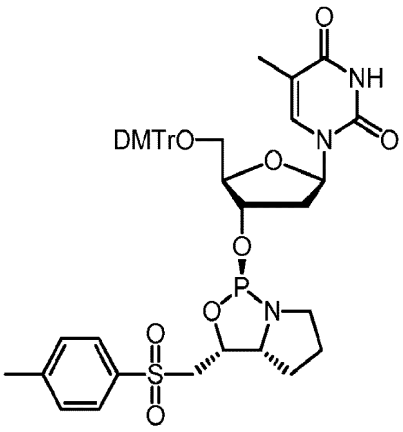
34a



34b



35a



35a

ＤＭＴｒは、４，４’－ジメトキシトリチル基を表し、ＴＯＭはトリイソプロピルシロキシメチル基を表す。

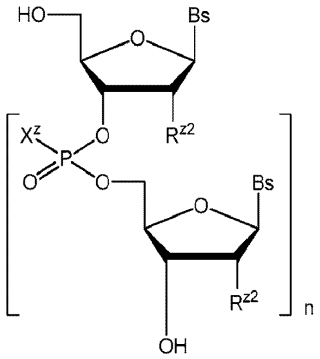
【０６５５】

ヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を用いた例が、例えばＪＰ２００５－８９４４１Aに開示される。縮合及び脱保護のステップを繰り返すことにより、本発明の方法は、本明細書に記載される通り、オリゴヌクレオチドの鎖の延長を促進する。

【０６５６】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは式（Ｚ－Ｘ）に示す通りであり：

【化２０３】



(Z-X)

式（Ｚ－Ｘ）中、Ｘ^{z}はスルフィド（＝Ｓ）、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルコキシ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルチオ、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{10}$アラルキル、又はＣ$_{6}$～Ｃ$_{10}$アリールオキシアルキル（ａｒｙｌｏｘｉａｌｋｙｌ）を表す。いくつかの実施形態では、Ｘ^{z}はスルフィド（＝Ｓ）を表す。ｎ^{z}は、１～１５０、１～１００、１～５０、又は１～３０を表す整数である。いくつかの実施形態では、ｎ^{z}は、好ましくは２～１００、好ましくは１０～１００、好ましくは１０～５０、及びより好ましくは１５～３０である。

【０６５７】

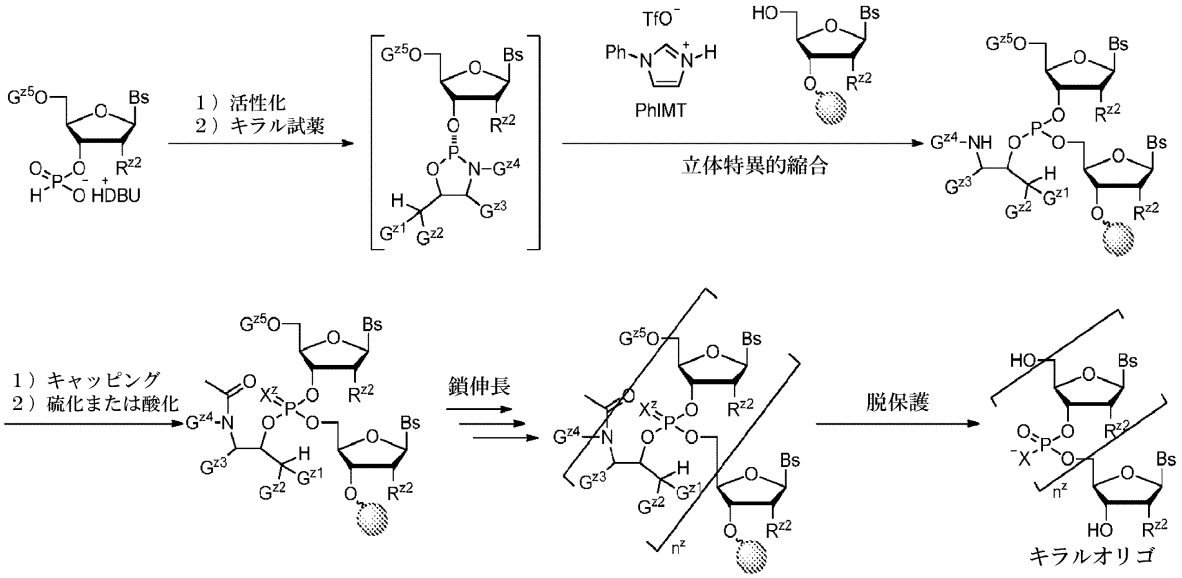
いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供する。いくつかの実施形態では、第１のステップは、アキラルなＨ－ホスホネート成分を含む分子と、第１の活性化試薬と、キラル試薬又はその塩とを反応させてモノマーを形成するステップである。いくつかの実施形態では、キラル試薬は化学式（Ｚ－Ｉ）又は（Ｚ－Ｉ’）を有し、モノマーは式（Ｚ－Ｖａ）、（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’）で表されるものであってもよい。モノマーは、第２の活性化試薬及びヌクレオシドと反応して縮合中間体を形成する。次のステップは、縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップである。いくつかの実施形態では、本方法はＷＯ２０１０／０６４１４６に記載される通りである。いくつかの実施形態では、ステップはＷＯ２０１０／０６４１４６の経路Ａ及び経路Ｂに記載される通りである。

【０６５８】

いくつかの実施形態では、本発明は、下のスキームＺ－１に例示されるキラル制御オリゴヌクレオチドを合成する方法を提供する。

スキームＺ－１

【化２０４】



【０６５９】

活性化

アキラルなＨ－ホスホネート成分を第１の活性化試薬で処理して第１の中間体を形成する。一実施形態では、第１の活性化試薬を縮合ステップの間に反応混合物に加える。第１の活性化試薬の使用は、反応に用いる溶媒等、反応条件による。第１の活性化試薬の例としては、ホスゲン、クロロギ酸トリクロロメチル、ビス（トリクロロメチル）カーボネート（ＢＴＣ）、塩化オキサリル、Ph_3PCl_2、$(PhO)_3PCl_2$、Ｎ，Ｎ’－ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）ホスフィン酸クロリド（ＢｏｐＣｌ）、１，３－ジメチル－２－（３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）－２－ピロリジン－１－イル－１，３，２－ジアザホスホリジニウムヘキサフルオロホスフェート（ＭＮＴＰ）、又は３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール－１－イル－トリス（ピロリジン－１－イル）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＮＴＰ）がある。

【０６６０】

アキラルなＨ－ホスホネート成分の例としては、上記スキームに示す化合物がある。ＤＢＵは、１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エンを表す。H^+ＤＢＵは、例えば、それぞれが第１級、第２級、第３級若しくは第４級のアンモニウムイオン、アルキルアンモニウムイオン、複素環式芳香族イミニウムイオン、又は複素環式イミニウムイオンであってもよく、一価金属イオンであってもよい。

【０６６１】

キラル試薬との反応

第１の活性化ステップの後、活性化したアキラルなＨ－ホスホネート成分は、式（Ｚ－Ｉ）又は（Ｚ－Ｉ’）で表されるキラル試薬と反応して、式（Ｚ－Ｖａ）、（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’）のキラル中間体を形成する。

【０６６２】

立体特異的縮合ステップ

式Ｚ－Ｖａ（（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’））のキラル中間体を第２の活性化試薬及びヌクレオシドで処理して縮合中間体を形成する。ヌクレオシドは固体支持体上にあってもよい。第２の活性化試薬の例としては、４，５－ジシアノイミダゾール（ＤＣＩ）、４，５－ジクロロイミダゾール、１－フェニルイミダゾリウムトリフレート（ＰｈＩＭＴ）、ベンジミダゾリウムトリフレート（ＢＩＴ）、ベンゾトリアゾール（ｂｅｎｚｔｒｉａｚｏｌｅ）、３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール（ＮＴ）、テトラゾール、５－エチルチオテトラゾール（ＥＴＴ）、５－ベンジルチオテトラゾール（ＢＴＴ）、５－（４－ニトロフェニル）テトラゾール、Ｎ－シアノメチルピロリジニウムト

リフレート（ＣＭＰＴ）、Ｎ－シアノメチルピペリジニウムトリフレート、Ｎ－シアノメチルジメチルアンモニウムトリフレートが挙げられる。式Ｚ－Ｖａ（（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’））のキラル中間体はモノマーとして単離してもよい。通常、Ｚ－Ｖａ（（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’））のキラル中間体は単離せず、同じ容器の中でヌクレオシド又は修飾ヌクレオシドと反応を起こさせ、キラル亜リン酸化合物、即ち縮合中間体を得る。他の実施形態では、本方法を固相合成によって実施する場合、化合物を含む固体支持体からろ過によって副産物、不純物、及び／又は試薬を取り除く。

【０６６３】

キャッピング・ステップ

最終的な核酸がダイマーより大きい場合、未反応の－ＯＨ成分をブロック基でキャッピングし、化合物中のキラル補助基もまたブロック基でキャッピングして、キャッピングされた縮合中間体を形成してもよい。最終的な核酸がダイマーである場合、キャッピング・ステップは必要ない。

【０６６４】

修飾ステップ

化合物は、求電子試薬との反応によって修飾する。キャッピングされた縮合中間体に修飾ステップを行ってもよい。いくつかの実施形態では、修飾ステップをイオウ求電子試薬、セレニウム求電子試薬、又はホウ素化剤を用いて実施する。修飾ステップの例としては、酸化及び硫化のステップがある。

【０６６５】

本方法のいくつかの実施形態では、イオウ求電子試薬は、次の式の１つを有する化合物であり：

S_8（式Ｚ－Ｂ）、$Z^{z1}-S-S-Z^{z2}$、又は$Z^{z1}-S-V^{z}-Z^{z2}$、

式中、Z^{z1}及びZ^{z2}は互いに独立してアルキル、アミノアルキル、シクロアルキル、複素環式、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシル、アミド、イミド、又はチオカルボニル、又は、Z^{z1}及びZ^{z2}が一緒になって３～８員環の脂環式環又は複素環を形成したものであり、これらは置換されていても置換されていなくてもよく；

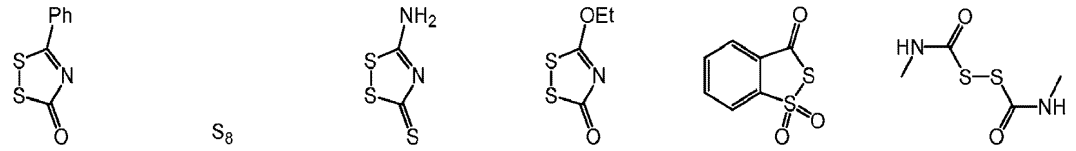
V^{z}はSO_2、Ｏ、又はNR^{f}であり；

R^{f}は水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、又はアリールである。

【０６６６】

本方法のいくつかの実施形態では、イオウ求電子試薬は次の式Ｚ－Ａ、Ｚ－Ｂ、Ｚ－Ｃ、Ｚ－Ｄ、Ｚ－Ｅ、又はＺ－Ｆの化合物である：

【化２０５】



式Ｚ－Ａ　式Ｚ－Ｂ　式Ｚ－Ｃ　式Ｚ－Ｄ　式Ｚ－Ｅ　式Ｚ－Ｆ

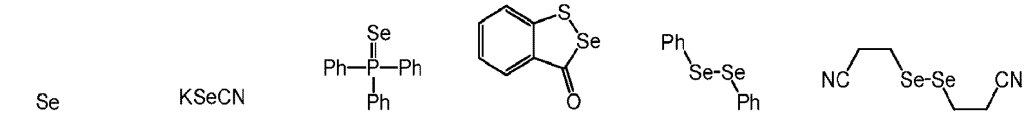
【０６６７】

いくつかの実施形態では、セレニウム求電子試薬は、次の式の１つを有する化合物であり：

Ｓｅ（式Ｚ－Ｇ）、$Z^{z3}-Se-Se-Z^{z4}$、又は$Z^{z3}-Se-V^{z}-Z^{z4}$、

式中、Z^{z3}及びZ^{z4}は互いに独立してアルキル、アミノアルキル、シクロアルキル、複素環式、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシル、アミド、イミド、又はチオカルボニル、又は、Z^{z3}及びZ^{z4}は一緒になって３～８員環の脂環式環又は複素環を形成したものであり、これらは置換されていても置換されていなくてもよく；

V^zはSO_2、S、O、又はNR^fであり；
R^fは水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、又はアリールである。
【０６６８】
いくつかの実施形態では、セレニウム求電子試薬は式Ｚ－Ｇ、Ｚ－Ｈ、Ｚ－Ｉ、Ｚ－Ｊ、Ｚ－Ｋ、又はＺ－Ｌの化合物である。
【化２０６】



式Ｚ－Ｇ　式Ｚ－Ｈ　式Ｚ－Ｉ　式Ｚ－Ｊ　式Ｚ－Ｋ　式Ｚ－Ｌ

【０６６９】
いくつかの実施形態では、ホウ素化剤は、ボラン－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（BH_3 ＤＩＰＥＡ）、ボラン－ピリジン（BH_3 Ｐｙ）、ボラン－２－クロロピリジン（BH_3 ＣＰｙ）、ボラン－アニリン（BH_3 Ａｎ）、ボラン－テトラヒドロフィイラン（ｔｅｔｒａｈｙｄｒｏｆｉｉｒａｎｅ）（BH_3 ＴＨＦ）、又はボラン－ジメチルスルフィド（BH_3 Me_2S）である。
【０６７０】
本方法のいくつかの実施形態では、修飾ステップは酸化ステップである。本方法のいくつかの実施形態では、修飾ステップは、本願において上に記載する同様の条件を用いた酸化ステップである。いくつかの実施形態では、酸化ステップは、例えばＪＰ２０１０－２６５３０４A及びＷＯ２０１０／０６４１４６に開示される通りである。
【０６７１】
鎖伸長サイクル及び脱保護ステップ
キャッピングされた縮合中間体は、脱ブロッキングして、増殖している核酸鎖の５’－末端でブロック基を除去して、化合物を提供する。化合物は、鎖伸長サイクルに再度入って、縮合中間体、キャッピングされた縮合中間体、修飾されキャッピングされた縮合中間体、及び５’－脱保護され修飾されキャッピングされた中間体を形成してもよい。鎖伸長サイクルを少なくとも１周した後、５’－脱保護され修飾されキャッピングされた中間体は、キラル補助基リガンド及び他の保護基、例えば核酸塩基、修飾核酸塩基、糖及び修飾糖保護基の除去によってさらに脱ブロッキングし、核酸を提供する。他の実施形態では、５’－ＯＨ成分を含むヌクレオシドは、本明細書に記載される前出の鎖伸長サイクルからの中間体である。なおも別の実施形態では、５’－ＯＨ成分を含むヌクレオシドは、他の既知の核酸合成方法から得られる中間体である。固体支持体を用いる実施形態では、次いで、リン原子修飾核酸を固体支持体から切断する。ある特定の実施形態では、核酸は、精製を目的として固体支持体上に付けたままとし、次いで、精製後に固体支持体から切断する。
【０６７２】
なおも別の実施形態では、５’－ＯＨ成分を含むヌクレオシドは、他の既知の核酸合成方法から得られる中間体である。なおも別の実施形態では、５’－ＯＨ成分を含むヌクレオシドは、本願に記載される他の既知の核酸合成方法から得られる中間体である。なおも別の実施形態では、５’－ＯＨ成分を含むヌクレオシドは、スキームＩに示す１つ又は複数のサイクルを含む他の既知の核酸合成方法から得られる中間体である。なおも別の実施形態では、５’－ＯＨ成分を含むヌクレオシドは、スキームＩ－ｂ、Ｉ－ｃ、又はＩ－ｄに例示する１つ又は複数のサイクルを含む他の既知の核酸合成方法から得られる中間体である。
【０６７３】
いくつかの実施形態では、本発明は、出発材料として安定な市販される材料を用いるオリゴヌクレオチド合成方法を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、アキラルな出発材料を用いた立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体を産生するよう

にオリゴヌクレオチド合成方法を提供する。

【０６７４】

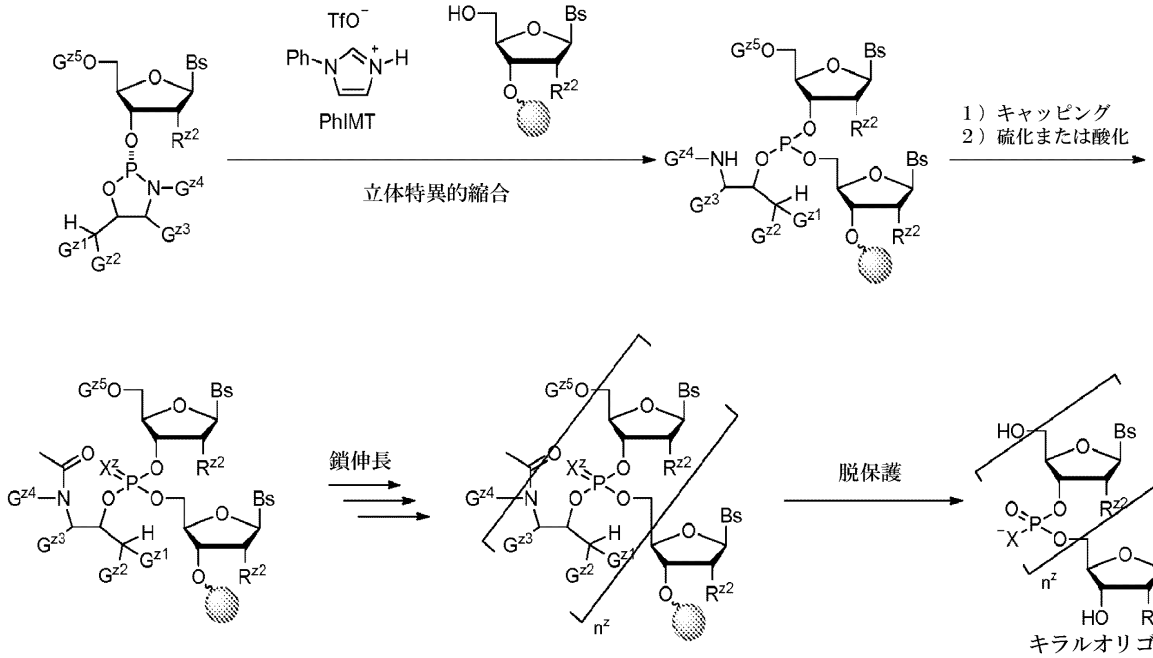
いくつかの実施形態では、本方法は脱保護ステップの下で分解を起こさない。さらに本方法では特別なキャッピング剤を必要とすることなくリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体を産生する。

【０６７５】

いくつかの実施形態では、本発明は、アキラルなモノマーを用いた、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供する。いくつかの実施形態では、第１のステップで、式（Ｚ－Ｖａ）、（Ｚ－Ｖｂ）、（Ｚ－Ｖａ’）、又は（Ｚ－Ｖｂ’）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を第２の活性化試薬及びヌクレオシドと反応させて縮合中間体を形成する。第２のステップでは縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換する。例示的な方法を下のスキームＺ－２に例示する。

スキームＺ－２

【化２０７】



【０６７６】

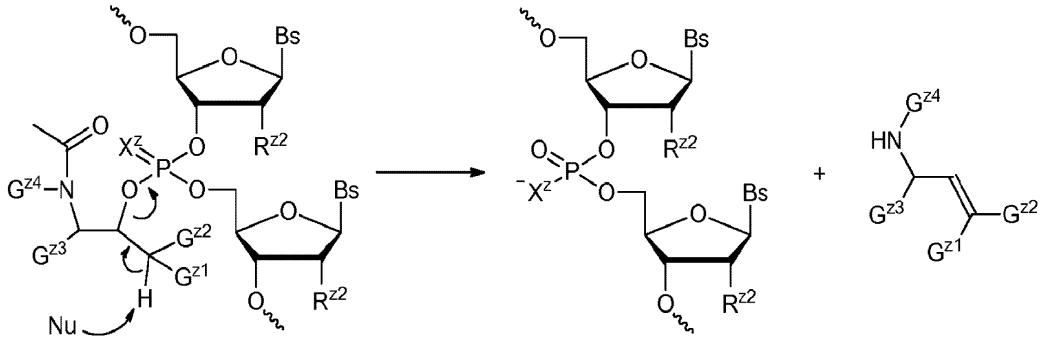
スキームＺ－２の詳細な条件はスキームＺ－１のそれと同様である。式Ｚ－Ｖａ（Ｚ－Ｖｂ）の出発材料、特に式Ｚ－Ｖａ’（又はＺ－Ｖｂ’）の出発材料は化学的に安定である。実施例に示す通り、本方法は、脱保護ステップの下で分解を起こさない。さらに本方法では特別なキャッピング剤を必要とすることなくリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体を産生する。

【０６７７】

いくつかの実施形態では、補助基の除去のメカニズムは、下のスキームＺ－３に例示する通りである。

スキームＺ－３

【化２０８】

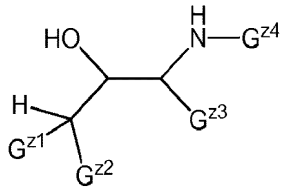


スキームＺ－３において、Ｎｕは求核試薬を表す。いくつかの実施形態では、スキームＺ－３におけるメカニズムは、前出の補助基除去メカニズムとは異なると考えられる。

【０６７８】

いくつかの実施形態では、本発明は次の化学式（Ｚ－Ｉ）を有するキラル試薬又はその塩を提供し：

【化２０９】

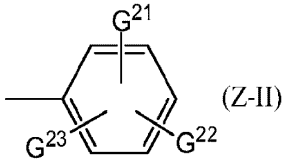


(Z-I)

、

式中、G^{z1}及びG^{z2}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、式（Ｚ－ＩＩ）若しくは（Ｚ－ＩＩＩ）の基、又は、G^{z1}及びG^{z2}の両方が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成したものであり、

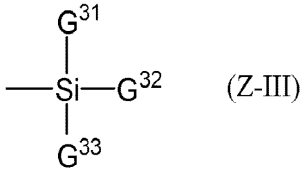
【化２１０】



(Z-II)

式中、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基、

【化２１１】

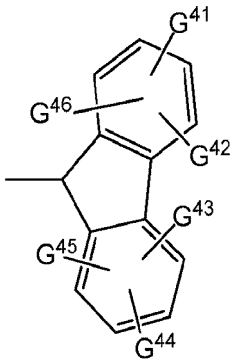


(Z-III)

であり、

式中、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基、$C_{1\sim4}$アルコキシ基、$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{7\sim14}$アラルキル基、$C_{1\sim4}$アルキル$C_{6\sim14}$アリール基、$C_{1\sim4}$アルコキシ$C_{6\sim14}$アリール基、又は$C_{6\sim14}$アリール$C_{1\sim4}$アルキル基、

【化２１２】



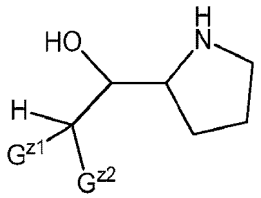
(Z-IV)

であり、
式中、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1～3}$アルキル基であり、G^{z3}及びG^{z4}は互いに独立して水素原子、$C_{1～3}$アルキル基、$C_{6～14}$アリール基、又は、G^{z3}及びG^{z4}の両方が一緒になって３～１６の炭素原子を有するヘテロ原子含有環を形成したもの、である。

【０６７９】

いくつかの実施形態では、本発明は、次の化学式（Ｚ－Ｉ’）を有する式Ｚ－１のキラル試薬又はその塩を提供し：

【化２１３】



(Z-I')

式中、各変数は互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りである。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}及びG^{z2}のそれぞれは式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1～3}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}及びG^{z2}のそれぞれは式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}～G^{23}のそれぞれは水素原子である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1～3}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩ）の基であり、G^{21}及びG^{22}のそれぞれは水素原子であり、G^{23}はニトロ基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1～4}$アルキル基、$C_{6～14}$アリール基、$C_{7～14}$アラルキル基、$C_{1～4}$アルキル$C_{6～14}$アリール基、$C_{1～4}$アルコキシ$C_{6～14}$アリール基、又は$C_{6～14}$アリール$C_{1～4}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1～4}$アルキル基、C_{6}アリール基、$C_{7～10}$アラルキル基、$C_{1～4}$アルキルC_{6}アリール基、$C_{1～4}$アルコキシC_{6}アリール基、又はC_{6}アリール$C_{1～4}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1～4}$アルキル基、又はC_{6}アリール基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩

を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}及びG^{33}はC_6アリール基であり、G^{32}は$C_{1\sim2}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1\sim4}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＩＩ）の基であり、G^{31}及びG^{33}はC_6アリール基であり、G^{32}は$C_{1\sim4}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}は水素原子であり、G^{z2}は式（Ｚ－ＩＶ）の基であり、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}及びG^{z2}が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成し、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、本発明は、式（Ｚ－１’）のキラル試薬又はその塩を提供し、G^{z1}及びG^{z2}が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成し、G^{41}～G^{46}のそれぞれは水素原子である。

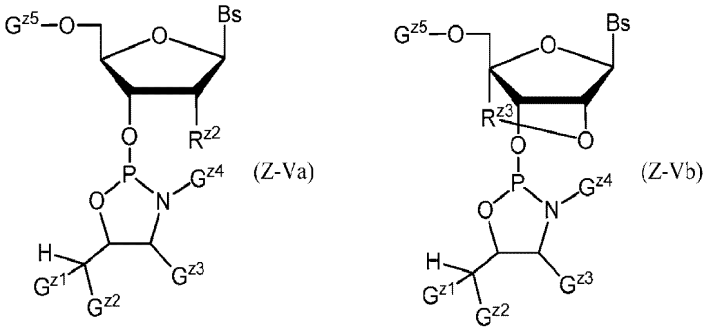
【０６８０】

いくつかの実施形態では、キラル試薬又はその塩は、式３ａ、３ｂ、５ａ、Ｚ－５ｂ、７ａ、７ｂ、９ａ、９ｂ、１１ａ、及び１１ｂより選択される。

【０６８１】

いくつかの実施形態では、本発明は、式Ｚ－Ｖａ又はＺ－Ｖｂで表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を提供し：

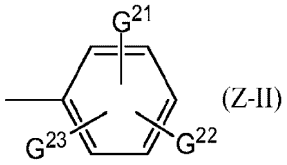
【化２１４】



、

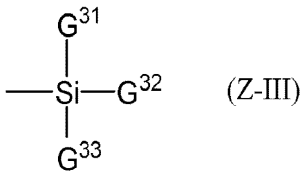
式中、G^{z1}及びG^{z2}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、式（Ｚ－ＩＩ）若しくは（Ｚ－ＩＩＩ）の基、又は、G^{z1}及びG^{z2}の両方が一緒になって式（Ｚ－ＩＶ）の基を形成したもの、であり、

【化２１６】

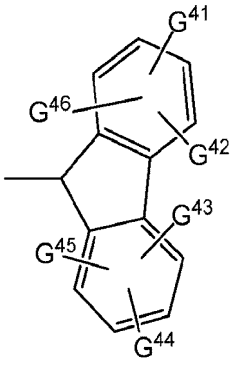


式中、G^{21}～G^{23}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1\sim3}$アルキル基、

【化２１７】



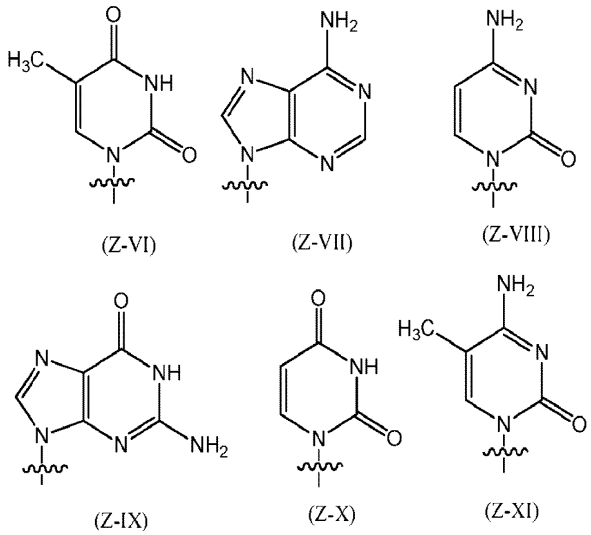
であり、
式中、G^{31}～G^{33}は互いに独立して$C_{1～4}$アルキル基、$C_{1～4}$アルコキシ基、$C_{6～14}$アリール基、$C_{7～14}$アラルキル基、$C_{1～4}$アルキル$C_{6～14}$アリール基、$C_{1～4}$アルコキシ$C_{6～14}$アリール基、又は$C_{6～14}$アリール$C_{1～4}$アルキル基、
【化２１８】



(Z-IV)

であり、
式中、G^{41}～G^{46}は互いに独立して水素原子、ニトロ基、ハロゲン原子、シアノ基、又は$C_{1～3}$アルキル基であり；
G^{z3}及びG^{z4}は互いに独立して水素原子、$C_{1～3}$アルキル基、$C_{6～14}$アリール基、又は、G^{z3}及びG^{z4}の両方が一緒になって３～１６の炭素原子を有するヘテロ原子含有環を形成したもの、であり、
G^{z5}はヒドロキシル基の保護基であり；
R^{z2}は互いに独立して水素、－ＯＨ、－ＳＨ、－ＮＲ^{d}Ｒ^{d}、－N_3、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルキル－Y^1－、アルケニル－Y^1－、アルキニル－Y^1－、アリール－Y^1－、ヘテロアリール－Y^1－、－ＯＲ^{b}、又は－ＳＲ^{b}であり、
R^{b}はブロッキング成分であり；
Y^1はＯ、ＮＲ^{d}、Ｓ、又はＳｅであり；
R^{d}は互いに独立して水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アシル、置換シリル、カルバメート、－Ｐ（Ｏ）（Ｒ^{e}）$_2$、又は－ＨＰ（Ｏ）（Ｒ^{e}）であり；
R^{e}は互いに独立して水素、アルキル、アリール、アルケニル、アルキニル、アルキル－Y^2－、アルケニル－Y^2－、アルキニル－Y^2－、アリール－Y^2－、若しくはヘテロアリール－Y^2－、又は、Na^+、Li^+、若しくはK^+である陽イオン、又は－O^-であり；
Y^2はＯ、ＮＲ^{d}、又はＳであり；
R^{z3}は－CH_2－、－（CH_2）$_2$－、－CH_2NH－、又は－$CH_2N(CH_3)$－で表される基であり；
Ｂｓは次の式（Ｚ－ＶＩ）～（Ｚ－ＸＩ）で表される基より選択される基又はその誘導体である。

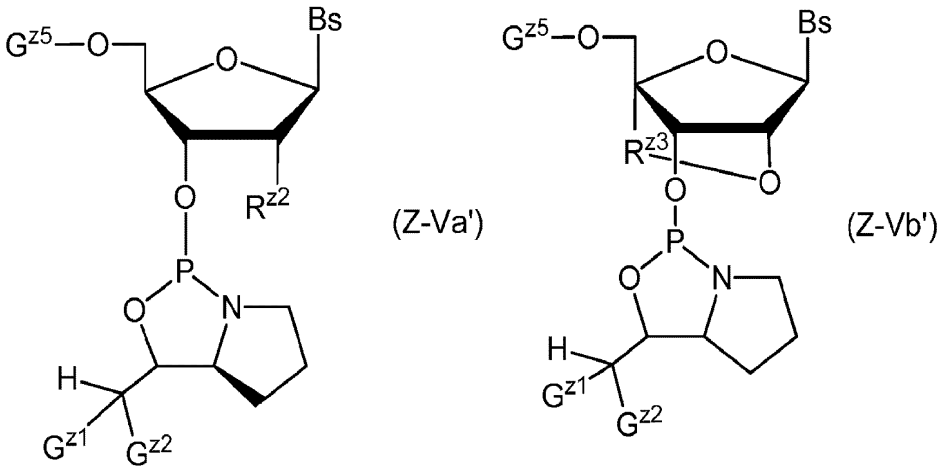
【化２１９】



【０６８２】

いくつかの実施形態では、本発明は、（Ｚ－Ｖａ’）又は（Ｚ－Ｖｂ’）の構造を有する式Ｚ－Ｖａ又はＺ－Ｖｂのヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を提供し：

【化２２０】



、

式中、各変数は互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りである。

【０６８３】

いくつかの実施形態では、本発明は、式１２ａ、１２ｂ、１３ａ、１３ｂ、１４ａ、１４ｂ、１５ａ、１５ｂ、１６ａ、１６ｂ、１７ａ、１７ｂ、１８ａ、１８ｂ、１９ａ、１９ｂ、２０ａ、２０ｂ、２１ａ、２１ｂ、２２ａ、２２ｂ、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂ、２５ａ、２５ｂ、２６ａ、２６ｂ、２７ａ、２７ｂ、２８ａ、２８ｂ、２９ａ、２９ｂ、３０ａ、３０ｂ、３１ａ、３１ｂ、３２ａ、３２ｂ、３３ａ、３３ｂ、３４ａ、３４ｂ、及び３５ａより選択されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、式１２ａ、１２ｂ、１３ａ、１３ｂ、１４ａ、１４ｂ、１５ａ、１５ｂ、１６ａ、１６ｂ、１７ａ、１７ｂ、１８ａ、１８ｂ、１９ａ、１９ｂ、２０ａ、２０ｂ、２１ａ、２１ｂ、２２ａ、２２ｂ、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂ、２５ａ、２５ｂ、２６ａ、又は２６ｂより選択されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を提供する。

【０６８４】

いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供し、本方法は、

アキラルなＨ－ホスホネート成分を含む分子、キラル試薬又はその塩を反応させてヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体のモノマーを形成するステップと；
モノマー及びヌクレオシドを反応させて縮合中間体を形成するステップと；
縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップと、を含み、
キラル試薬は次の化学式（Ｚ－Ｉ）を有する。

【０６８５】

いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供し、本方法は、
アキラルなＨ－ホスホネート成分を含む分子、キラル試薬又はその塩を反応させてヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体のモノマーを形成するステップと；
モノマー及びヌクレオシドを反応させて縮合中間体を形成するステップと；
縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップと、を含み、
キラル試薬は次の化学式（Ｚ－Ｉ’）を有する。

【０６８６】

いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供し、本方法は、
アキラルなＨ－ホスホネート成分を含む分子、キラル試薬又はその塩を反応させてヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体のモノマーを形成するステップと；
モノマー及びヌクレオシドを反応させて縮合中間体を形成するステップと；
縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップと、を含み、
キラル試薬は式３ａ、３ｂ、５ａ、Ｚ－５ｂ、７ａ、７ｂ、９ａ、９ｂ、１１ａ及び１１ｂより選択される。

【０６８７】

いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供し、本方法は、
式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を、活性化試薬及びヌクレオシドと反応させて縮合中間体を形成するステップと；
縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップと、
を含む。

【０６８８】

いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供し、本方法は、
式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を、活性化試薬及びヌクレオシドと反応させて縮合中間体を形成するステップと；
縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップと、を含み；
式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は、式１２ａ、１２ｂ、１３ａ、１３ｂ、１４ａ、１４ｂ、１５ａ、１５ｂ、１６ａ、１６ｂ、１７ａ、１７ｂ、１８ａ、１８ｂ、１９ａ、１９ｂ、２０ａ、２０ｂ、２１ａ、２１ｂ、２２ａ、２２ｂ、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂ、２５ａ、２５ｂ、２６ａ、２６ｂ、２７ａ、２７ｂ、２８ａ、２８ｂ、２９ａ、２９ｂ、３０ａ、３０ｂ、３１ａ、３１ｂ、３２ａ、３２ｂ、３３ａ、３３ｂ、３４ａ、３４ｂ、及び３５ａより選択される。

いくつかの実施形態では、本発明は、立体制御されたリン原子修飾オリゴヌクレオチド誘導体の合成方法を提供し、本方法は、
式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体を、活性化試薬及びヌクレオシドと反応させて縮合中間体を形成するステップと；
縮合中間体を、キラルなＸ－ホスホネート成分を含む核酸に変換するステップと、を含

み；
式（Ｚ－Ｖａ）又は（Ｚ－Ｖｂ）で表されるヌクレオシド３’－ホスホラミダイト誘導体は、式１２ａ、１２ｂ、１３ａ、１３ｂ、１４ａ、１４ｂ、１５ａ、１５ｂ、１６ａ、１６ｂ、１７ａ、１７ｂ、１８ａ、１８ｂ、１９ａ、１９ｂ、２０ａ、２０ｂ、２１ａ、２１ｂ、２２ａ、２２ｂ、２３ａ、２３ｂ、２４ａ、２４ｂ、２５ａ、２５ｂ、２６ａ、及び２６ｂより選択される。

式Ｚ－Ｉの所定のキラル補助基の調製及び使用
略語
ａｃ：アセチル
ｂｚ：ベンゾイル
ＣＳＯ：（１Ｓ）－（＋）－（１０－カンファースルフォニル（ｃａｍｐｈｏｒｓｕｌｆｏｎｙｌ））オキサジリジン
ＤＢＵ：１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン
ＤＣＡ：ジクロロ酢酸
ＤＣＭ：ジクロロメタン、CH_2Cl_2
Ｔｒ：トリチル、トリフェニルメチル
ＭｅＩｍ：Ｎ－メチルイミダゾール
ＮＩＳ：Ｎ－ヨードスクシンイミド
ｐａｃ：フェノキシアセチル
Ｐｈ：フェニル
ＰｈＩＭＴ：Ｎ－フェニルイミダゾリウムトリフレート
ＰＯＳ：３－フェニル－１，２，４－ジチアゾリン（ｄｉｔｈｉａｚｏｌｉｎｅ）－５－オン
ＴＢＳ：ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル
ＴＢＤＰＳ：ｔｅｒｔ－ブチルジフェニルシリル
ＴＯＭ：トリイソプロピルシロキシメチル
ＴＦＡ：トリフルオロ酢酸
【０６８９】
キラル制御オリゴヌクレオチドの合成の一般的手順－１
キラル制御オリゴヌクレオチドの自動化された固相合成を表Ｚ－１に示すサイクルに従って実施した。

表Ｚ－１　合成手順
【表５】

ステップ	操作	試薬及び溶媒	体積	待ち時間
1	脱トリチル化	3% DCA/DCM	1.6 mL	20秒
2	カップリング	0.1M モノマー/MeCN + 1M PhIMT	0.5 mL	5分
3	キャッピング	Ac_2O/THF-ピリジン + 16% MeIm/THF	0.5 mL	30秒
4	酸化/硫化	0.5M CSO/MeCN または 0.1M POS/MeCN	0.5 mL	90秒

【０６９０】
キラル制御オリゴヌクレオチドの合成の一般的手順－２
キラル制御オリゴヌクレオチドの自動化された固相合成を表Ｚ－２に示すサイクルに従って実施した。

表Ｚ－２

【表６】

ステップ	操作	試薬及び溶媒	体積	待ち時間
1	脱トリチル化	3% DCA/DCM	1.6 mL	20秒
2	カップリング	予備活性化モノマー*/MeCN + 1M PhIMT	0.5 mL	5分
3	キャッピング	Ac_2O/THF-ピリジン + 16% MeIm/THF	0.5 mL	30秒
4	酸化/硫化	0.5M CSO/MeCN または 0.1M POS/MeCN	0.5 mL	90秒

【０６９１】

＊表Ｚ－２のステップ２における予備活性化モノマーの調製

脱水トルエンで共沸を繰り返し行うことによってヌクレオシド－３’－Ｈ－ホスホネートモノエステルを脱水し、次いで、脱水ＭｅＣＮ中に溶解させる。Ph_3PCl_2を溶液に加え、混合物を５分間撹拌する。脱水トルエンで共沸を繰り返し行い脱水ＭｅＣＮ中に溶解させたキラル試薬の溶液を混合物にシリンジで滴下して加え、混合物をアルゴン下で５分間撹拌する。

【０６９２】

合成の後、樹脂を２５％NH_3水溶液（１ｍＬ）にて、５５℃で１２時間処理した。混合物を室温に冷却し、樹脂を膜ろ過によって除去した。ろ液を真空下で濃縮乾固した。残渣をH_2O（３ｍＬ）に溶解させ、ＲＰ－ＵＰＬＣ－ＭＳにより、０．１Ｍ酢酸トリエチルアンモニウム・バッファー（ｐＨ７．０）中アセトニトリルの直線勾配（０～５０％／３０分）で、５０℃下、０．３ｍＬ／分の速度にて分析した。

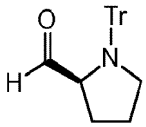
【０６９３】

実施例Ｚ－１

【０６９４】

（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－カルバルデヒド（１ａ）

【化２２１】



1a

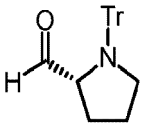
【０６９５】

化合物１ａを、文献（Ｇｕｇａ，Ｐ．Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００７，７，６９５－７１３．）に記載される手順に従ってＬ－プロリンから合成した。

【０６９６】

（Ｒ）－１－トリチルピロリジン－２－カルバルデヒド（１ｂ）

【化２２２】



1b

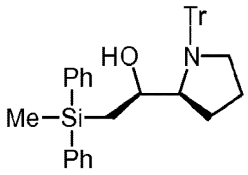
【０６９７】

化合物１ｂを、化合物１ａと同様にしてＤ－プロリンから合成した。

【０６９８】

（Ｓ）－２－（メチルジフェニルシリル）－１－（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（２ａ）

【化２２３】



2a

【０６９９】

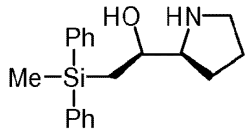
ＴＨＦ（１４ｍＬ）中クロロメチルジフェニルメチルシラン（４．０２ｇ、１６．３ｍｍｏｌ）及びマグネシウム（４０２ｍｇ、１６．３ｍｍｏｌ）から調製したＴＨＦ中メチルジフェニルシリルメチル塩化マグネシウムの溶液に、氷冷下、ＴＨＦ（３０ｍＬ）中１ａ（２．７９ｇ、８．１４ｍｍｏｌ）溶液を加えた。氷冷下、１．５時間撹拌した後、混合物を室温に温め、３０分間撹拌を継続した。飽和水性NH_4Cl（１００ｍＬ）を反応混合物に０℃で加え、ジエチルエーテル（１００ｍＬ）で３回抽出を実施した。抽出物を合わせてNa_2SO_4上で乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルでクロマトグラフすると、２ａが無色泡状物（３．９１ｇ、８７％）として得られた。

^1H ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．４８－７．０８（２５Ｈ，ｍ），４．３３－４．２３（１Ｈ，ｍ），３．１６－２．８９（３Ｈ，ｍ），２．８４（１Ｈ，ｂｒｓ），１．７０－１．５４（１Ｈ，ｍ），１．３５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．７，６．３Ｈｚ），１．１０（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．７，８．１Ｈｚ），１．１８－１．０５（１Ｈ，ｍ），１．０４－０．９０（１Ｈ，ｍ），０．３４（３Ｈ，ｓ），－０．１７－－０．３６（１Ｈ，ｍ）。

【０７００】

（Ｓ）－２－（メチルジフェニルシリル）－１－（（Ｓ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（３ａ）

【化２２４】



3a

【０７０１】

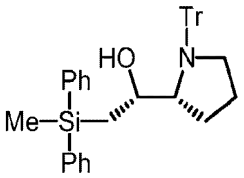
２ａ（３．９１ｇ、７．０６ｍｍｏｌ）をＤＣＭ（７０ｍＬ）中３％ＤＣＡに溶解させ、室温で１０分間撹拌した。混合物に、１Ｍ　ＮａＯＨ（２００ｍＬ）を加え、抽出をＤＣＭ（１００ｍＬ）で３回実施した。抽出物を合わせてNa_2SO上で乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルでクロマトグラフすると、３ａが淡黄色の油（１．９９ｇ、９０％）として得られた。

^1H ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．５７－７．５２（５Ｈ，ｍ），７．３８－７．３３（５Ｈ，ｍ），３．７７（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝８．９，５．４，３．５Ｈｚ），３．０１（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．４，３．６Ｈｚ），２．９７－２．７９（２Ｈ，ｍ），２．２７（２Ｈ，ｂｒｓ），１．７６－１．５３（４Ｈ，ｍ），１．３８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１５．０，９．０Ｈｚ），１．２４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１５．０，５．４Ｈｚ），０．６５（３Ｈ，ｓ）；^{13}C ＮＭＲ（１００．４ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１３７．４，１３７．１，１３４．６，１３４．５，１２９．１，１２７．８，６９．５，６４．１，４７．０、２５．８、２４．０、１９．６、－３．４．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　$C_{19}H_{26}NOSi$［Ｍ＋Ｈ］$^+$の計算値　３１２．１８，測定値　３１２．０６。

【０７０２】

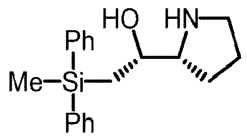
実施例Ｚ－２

【０７０３】
（Ｒ）－２－（メチルジフェニルシリル）－１－（（Ｒ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（２ｂ）
【化２２５】



2b

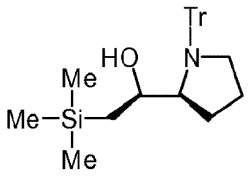
【０７０４】
化合物２ｂを、化合物２ａと同様にして、ただし１ａの代わりに１ｂを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．４８－７．１２（２５Ｈ，ｍ），４．３３－４．２４（１Ｈ，ｍ），３．１６－２．８９（３Ｈ，ｍ），２．８６（１Ｈ，ｂｒｓ），１．６９－１．５２（１Ｈ，ｍ），１．３５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，６．０Ｈｚ），１．１０（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，８．４Ｈｚ），１．１８－１．０５（１Ｈ，ｍ），１．０３－０．８９（１Ｈ，ｍ），０．３３（３Ｈ，ｓ），－０．１９－－０．３９（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．５，１３７．５，１３６．８，１３４．６，１３４．３，１２９．８，１２９．０，１２７．８，１２７．７，１２７．４，１２６．１，７７．９，７１．７，６５．１，５３．５，２５．０，２４．８，１９．６，－４．０．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{38}$Ｈ$_{40}$ＮＯＳｉ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　５５４．２９，測定値　５５４．０９。
【０７０５】
（Ｒ）－２－（メチルジフェニルシリル）－１－（（Ｒ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（３ｂ）
【化２２６】



3b

【０７０６】
化合物３ｂを、化合物３ａと同様にして、ただし２ａの代わりに２ｂを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．５８－７．５２（５Ｈ，ｍ），７．３８－７．３３（５Ｈ，ｍ），３．７８（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝９．０，５．１，３．６Ｈｚ），３．００（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．４，３．３Ｈｚ），２．９７－２．７８（２Ｈ，ｍ），２．１９（２Ｈ，ｂｒｓ），１．７６－１．５３（４Ｈ，ｍ），１．３８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．６，９．０Ｈｚ），１．２４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．６，５．１Ｈｚ），０．６６（３Ｈ，ｓ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１３７．５，１３７．１，１３４．５，１３４．４，１２９．０，１２７．７，６９．２，６４．２，４６．９，２５．８，２４．０，１９．７，－３．４．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{19}$Ｈ$_{26}$ＮＯＳｉ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　３１２．１８，測定値　３１２．０９。
【０７０７】
実施例Ｚ－３
【０７０８】
（Ｓ）－２－（トリメチルシリル）－１－（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（４ａ）

【化２２７】



4a

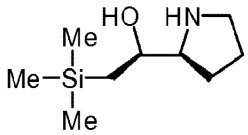
【０７０９】

化合物４ａを、化合物２ａと同様にして、ただし「クロロメチルジフェニルメチルシラン」の代わりに「クロロメチルトリメチルシラン」を用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．５８－７．５１（５Ｈ，ｍ），７．３１－７．１４（１０Ｈ，ｍ），４．１３（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．５，３．０Ｈｚ），３．３９－３．３１（１Ｈ，ｍ），３．２０－２．９９（２Ｈ，ｍ），２．８４（１Ｈ，ｓ），１．７４－１．５７（１Ｈ，ｍ），１．２９－１．１０（２Ｈ，ｍ），０．７４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，７．２Ｈｚ），０．４６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，７．２Ｈｚ），－０．１５（９Ｈ，ｓ）．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{28}$Ｈ$_{36}$ＮＯＳｉ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　４３０．２６，測定値　４３０．０９。

【０７１０】

（Ｓ）－２－（トリメチルシリル）－１－（（Ｓ）－１－ピロリジン－２－イル）エタノール（５ａ）

【化２２８】



5a

【０７１１】

化合物５ａを、化合物３ａと同様にして、ただし２ａの代わりに４ａを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ３．７６（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝８．８，５．７，３．３Ｈｚ），３．０８（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．８，３．３Ｈｚ），３．０２－２．８７（２Ｈ，ｍ），２．４８（２Ｈ，ｂｒｓ），１．８１－１．５８（４Ｈ，ｍ），０．８３（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．７，８．７Ｈｚ），０．６８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．７，６．０Ｈｚ），０．０５（９Ｈ，ｓ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ６９．６，６４．３，４６．９，２５．８，２３．９，２２．０，－０．８．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{9}$Ｈ$_{22}$ＮＯＳｉ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　１８８．１５，測定値　１８８．００。

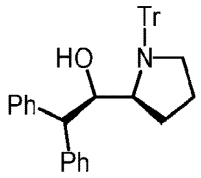
【０７１２】

実施例Ｚ－５

【０７１３】

（Ｒ）－２，２－ジフェニル－１－（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（６ａ）

【化２２９】



6a

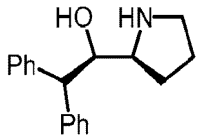
【０７１４】

無水ＴＨＦ（３６ｍＬ）中ジフェニルメタン（６．７ｍＬ、４０ｍｍｏｌ）の溶液にｎ－ＢｕＬｉ（ヘキサンの１．６７Ｍ溶液、２４ｍＬ、４０ｍｍｏｌ）を室温で滴下して加え、１時間撹拌した。無水ＴＨＦ（４０ｍＬ）中の、トルエンで共沸を繰り返し行うことによって脱水した１ａ（３．４１ｇ、１０ｍｍｏｌ）を０℃でゆっくりと混合物に加え、４５分間撹拌を続けた。次いで、飽和NH_4Cl水溶液（１００ｍＬ）及びEt_2O（１００ｍＬ）を加え、有機層を分離し、水層をEt_2O（２×１００ｍＬ）で抽出した。有機層を合わせて、Na_2SO_4上で乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した。残渣をクロマトグラフィーによってシリカゲルで精製すると、６ａ（１．４１ｇ、２８％）が白い泡状物として得られた。

【０７１５】

（Ｒ）－２，２－ジフェニル－１－（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）エタノール　（７ａ）

【化２３０】



7a

【０７１６】

６ａ（６５０ｍｇ、１．２７ｍｍｏｌ）をＤＣＭ（１３ｍＬ）中３％ＤＣＡに溶解させ、室温で１０分間撹拌した。混合物に１Ｍ　ＮａＯＨ（４０ｍＬ）を加え、ＤＣＭ（３０ｍＬ）で３回抽出を実施した。抽出物を合わせて、Na_2SO_4上で乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルでクロマトグラフすると、７ａが淡黄色の油（３１６ｍｇ、９３％）として得られた。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ７．４４－７．３８（２Ｈ，ｍ），７．３３－７．１４（８Ｈ，ｍ），４．４６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝９．９，３．３Ｈｚ），３．９１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝９．９Ｈｚ），３．０２－２．８８（２Ｈ，ｍ），２．８１－２．６９（１Ｈ，ｍ），２．５２（２Ｈ，ｂｒｓ），１．８８－１．５６（４Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ１４２．３，１４２．０，１２８．６，１２８．５，１２８．４，１２８．２，１２６．５，１２６．４，７３．５，６０．１，５５．８，４６．６，２５．８，２３．４．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　$C_{18}H_{22}NO[M+H]^+$の計算値　２６８．１７，測定値　２６８．０６。

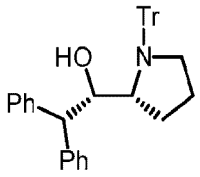
【０７１７】

実施例Ｚ－６

【０７１８】

（Ｓ）－２，２－ジフェニル－１－（（Ｒ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（６ｂ）

【化２３１】



6b

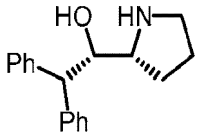
【０７１９】

化合物６ｂを、化合物６ａと同様にして、ただし１ａの代わりに１ｂを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．４４－７．３７（６Ｈ，ｍ），７．３０－７．０１（１７Ｈ，ｍ），６．６６－６．６１（２Ｈ，ｍ），４．８０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．６３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．３６－３．２８（１Ｈ，ｍ），３．２２－３．０９（１Ｈ，ｍ），３．０１－２．８９（１Ｈ，ｍ），２．６６（１Ｈ，ｓ），１．９０－１．７５（１Ｈ，ｍ），１．２９－１．０４（２Ｈ，ｍ），０．００－－０．１９（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．２，１４２．９，１４１．６，１３０．０，１２８．５，１２８．４，１２７．９，１２７．８，１２７．４，１２６．４，１２６．２，７７．９，７５．９，６１．９，５５．４，５３．４，２４．７，２４．５．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{37}$Ｈ$_{36}$ＮＯ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　５１０．２８，測定値　５１０．１１。

【０７２０】

（Ｓ）－２，２－ジフェニル－１－（（Ｒ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（７ｂ）

【化２３２】



7b

【０７２１】

化合物７ｂを、化合物７ａと同様にして、ただし６ａの代わりに６ｂを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．４５－７．１４（１０Ｈ，ｍ），４．４５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝９．９，３．３Ｈｚ），３．９１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝９．９Ｈｚ），３．００－２．８９（２Ｈ，ｍ），２．８２－２．７１（１Ｈ，ｍ），２．４０（２Ｈ，ｂｒｓ），１．８７－１．５５（４Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４２．３，１４２．０，１２８．５，１２８．３，１２８．１，１２６．３，１２６．２，７３．４，６０．１，５５．９，４６．５，２５．８，２３．５．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{18}$Ｈ$_{22}$ＮＯ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　２６８．１７，測定値　２６８．０３。

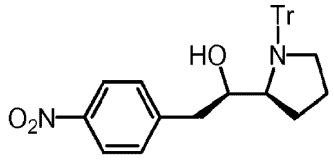
【０７２２】

実施例Ｚ－７

【０７２３】

（Ｒ）－２－（４－ニトロフェニル）－１－（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（８ａ）

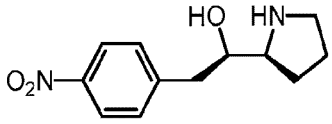
【化２３３】



8a

【０７２４】
化合物８ａを、化合物６ａと同様にして、ただし「ジフェニルメタン」の代わりに「４－ニトロベンジルクロライド」を用いて得た。
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．０９－８．０３（２Ｈ，ｍ），７．４９－７．４３（６Ｈ，ｍ），７．２８－７．０９（１１Ｈ，ｍ），４．２３（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝８．３，５．６，３．０Ｈｚ），３．４３－３．３３（１Ｈ，ｍ），３．２３－３．１１（１Ｈ，ｍ），３．０７－２．９６（１Ｈ，ｍ），２．８３（１Ｈ，ｂｒｓ），２．７４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１３．８，８．４Ｈｚ），２．４９（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１３．８，５．１Ｈｚ），１．８３－１．６７（１Ｈ，ｍ），１．４１－１．１７（２Ｈ，ｍ），０．２７－０．０８（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４７．３，１４６．３，１４４．３，１２９．８，１２９．６，１２７．５，１２６．３，１２３．４，７７．９，７４．８，６３．５，５３．２，３９．５，２５．０，２４．９．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ ｍ／ｚ Ｃ$_{31}$Ｈ$_{31}$Ｎ$_{2}$Ｏ$_{3}$［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値 ４７９．２３，測定値 ４７９．０８。

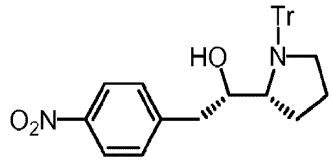
【０７２５】
（Ｒ）－２－（４－ニトロフェニル）－１－（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（９ａ）
【化２３４】



9a

【０７２６】
化合物９ａを、化合物７ａと同様にして、ただし６ａの代わりに８ａを用いて得た。
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．１５（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ），７．４２（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ），３．８６－３．７９（１Ｈ，ｍ），３．１６－３．０７（１Ｈ，ｍ），２．９９－２．６８（６Ｈ，ｍ），１．８４－１．６８（４Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４７．４，１４６．２，１２９．９，１２３．２，７２．４，６２．０，４６．６，４０．４，２５．７，２４．４．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ ｍ／ｚ Ｃ$_{12}$Ｈ$_{17}$Ｎ$_{2}$Ｏ$_{3}$［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値 ２３７．１２，測定値 ２３７．０１。

【０７２７】
実施例Ｚ－８
【０７２８】
（Ｓ）－２－（４－ニトロフェニル）－１－（（Ｒ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（８ｂ）
【化２３５】



8b

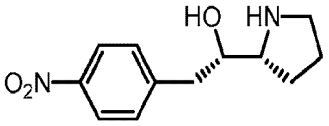
【０７２９】
化合物８ｂを、化合物８ａと同様にして、ただし１ａの代わりに１ｂを用いて得た。
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．０９－８．０４（２Ｈ，ｍ），７．４９－７．４３（６Ｈ，ｍ），７．２８－７．０９（１１Ｈ，ｍ），４．２２（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝８．４，５．６，３．０Ｈｚ），３．４３－３．３３（１Ｈ，ｍ），３．２４－

３．１０（１Ｈ，ｍ），３．０８－２．９４（１Ｈ，ｍ），２．８１（１Ｈ，ｂｒｓ），２．７５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．０，８．１Ｈｚ），２．４９（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．０，５．１Ｈｚ），１．８１－１．６７（１Ｈ，ｍ），１．４０－１．１６（２Ｈ，ｍ），０．２６－０．０９（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１４７．３，１４４．３，１２９．８，１２９．６，１２９．４，１２６．３，１２３．５，７７．９，７４．８，６３．５，５３．２，３９．５，２５．０，２４．９．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{31}$Ｈ$_{31}$Ｎ$_2$Ｏ$_3$［Ｍ＋Ｈ］$^+$の計算値　４７９．２３，測定値　４７９．０８。

【０７３０】

（Ｓ）－２－（４－ニトロフェニル）－１－（（Ｒ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（９ｂ）

【化２３６】



9b

【０７３１】

化合物９ｂを、化合物９ａと同様にして、ただし８ａの代わりに８ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ８．１９－８．１３（２Ｈ，ｍ），７．４５－７．３９（２Ｈ，ｍ），３．８３（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝７．７，５．４，３．９Ｈｚ），３．１４（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．７，３．９Ｈｚ），３．０１－２．８７（２Ｈ，ｍ），２．８３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．３Ｈｚ），２．８１（１Ｈ，ｓ），２．６２（２Ｈ，ｂｒｓ），１．７９－１．７２（４Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１４７．３，１４６．５，１３０．０，１２３．５，７２．７，６１．７，４６．７，４０．１，２５．８，２４．２．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{12}$Ｈ$_{17}$Ｎ$_2$Ｏ$_3$［Ｍ＋Ｈ］$^+$の計算値　２３７．１２，測定値　２３７．０２。

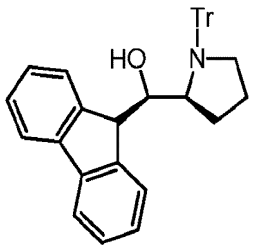
【０７３２】

実施例Ｚ－９

【０７３３】

（Ｒ）－（９Ｈ－フルオレン－９－イル）（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）メタノール（１０ａ）

【化２３７】



10a

【０７３４】

化合物１０ａを、化合物６ａと同様にして、ただし「ジフェニルメタン」の代わりに「フルオレン」を用いて得た。

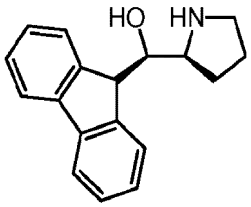
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．７０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．６６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），７．５５（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．４４－７．０９（１８Ｈ，ｍ），６．８７－６．６２（１Ｈ，ｍ），４．５５－４．４８（１Ｈ，ｍ），４．０６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），３．４３－３．３４（１Ｈ，ｍ），３．１８－３．０６（１Ｈ，ｍ），２．９８－２．８８（１Ｈ，ｍ），２．８５（１Ｈ，ｂｒｓ），１．４２－１．２４（１Ｈ，ｍ），１．１８－１．０４（１Ｈ，ｍ），０

．５３－０．３９（１Ｈ，ｍ），－０．０２－－０．２０（１Ｈ，ｍ）；ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{37}$Ｈ$_{34}$ＮＯ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　５０８．２６，測定値　５０８．１２。

【０７３５】

（Ｒ）－（９Ｈ－フルオロレン－９－イル）（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）メタノール（１１ａ）

【化２３８】



11a

【０７３６】

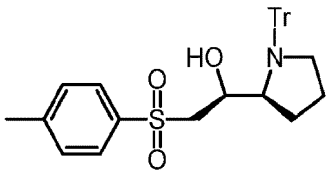
化合物１１ａを、化合物７ａと同様にして、ただし６ａの代わりに１０ａを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７６（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．６８（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝８．０Ｈｚ），７．４３－７．３５（２Ｈ，ｍ），７．３４－７．２５（２Ｈ，ｍ），４．２８（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．３Ｈｚ），４．０３（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝６．５，４．２Ｈｚ），３．１９－３．１１（１Ｈ，ｍ），２．９７－２．８８（１Ｈ，ｍ），２．８６－２．７６（１Ｈ，ｍ），２．０２（２Ｈ，ｂｒｓ），１．７７－１．５３（３Ｈ，ｍ），１．３８－１．２３（１Ｈ，ｍ）；ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ　ｍ／ｚ　Ｃ$_{18}$Ｈ$_{20}$ＮＯ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値　２６６．１５，測定値　２６６．０４。

【０７３７】

（Ｓ）－２－トシル－１－（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（１２ａ’）

【化２３９】



12a'

【０７３８】

化合物１２ａ’を、化合物２ａと同様にして、ただし「クロロメチルジフェニルメチルシラン」の代わりに「クロロメチルｐ－トリルスルホン」を用いて得た。

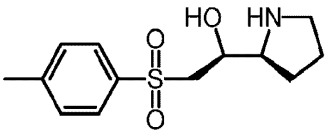
【０７３９】

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．６６（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），７．４８－７．４４（６Ｈ，ｍ），７．３５（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），７．２１－７．１３（９Ｈ，ｍ），４．３９－４．３６（１Ｈ，ｍ），３．３３（１Ｈ，ｓ），３．２４－３．２０（１Ｈ，ｍ），３．１９－３．１０（２Ｈ，ｍ），２．９８－２．９２（２Ｈ，ｍ），２．４９（３Ｈ，ｓ），１．５５－１．４９（１Ｈ，ｍ），１．３３－１．２６（１Ｈ，ｍ），１．１２－１．０４（１Ｈ，ｍ），０．２２－０．１４（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１５０．９ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．６，１４４．５，１３６．３，１２９．９，１２９．５，１２８．１，１２７．５，１２６．２，７８．０，６９．１，６３．９，６０．２，５２．６，２５．５，２４．７，２１．７。

【０７４０】

（Ｓ）－２－トシル－１－（（Ｓ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（１３ａ’）

【化２４０】



13a'

【０７４１】

化合物１３ａ’を、化合物３ａと同様にして、ただし２ａの代わりに１２ａ’を用いて得た。

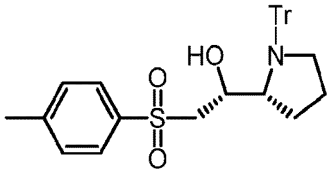
【０７４２】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８２（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），７．３７（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），４．０１（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝１２．０，５．１，３．０Ｈｚ），３．３２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，３．０Ｈｚ），３．２５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，９．０Ｈｚ），３．１６（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．８，５．１Ｈｚ），２．９０－２．８２（２Ｈ，ｍ），２．４６（３Ｈ，ｓ），２．０４（２Ｈ，ｂｒｓ），１．７８－１．６３（３Ｈ，ｍ），１．６２－１．５５（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１５０．９ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．５，１３６．７，１２９．７，１２７．７，６７．４，６１．８，６０．１，４６．７，２５．７，２１．４．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ ｍ／ｚ Ｃ$_{13}$Ｈ$_{20}$ＮＯ$_{3}$Ｓ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値 ２７０．１２，測定値 ２７０．０４。

【０７４３】

（Ｒ）－２－トシル－１－（（Ｒ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（１２ｂ’）

【化２４１】



12b'

【０７４４】

化合物１２ｂ’を、化合物１２ａ’と同様にして、１ａの代わりに１ｂを用いて得た。

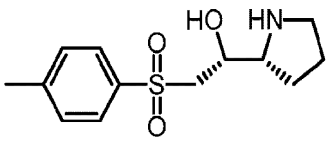
【０７４５】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．６６（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），７．４７－７．４４（６Ｈ，ｍ），７．３５（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），７．２１－７．１３（９Ｈ，ｍ），４．３７（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝８．６，２．４Ｈｚ），３．３３（１Ｈ，ｓ），３．２３－３．２０（１Ｈ，ｍ），３．１９－３．１２（２Ｈ，ｍ），２．９８－２．９２（２Ｈ，ｍ），２．４９（３Ｈ，ｓ），１．５６－１．４９（１Ｈ，ｍ），１．３２－１．２６（１Ｈ，ｍ），１．１１－１．０３（１Ｈ，ｍ），０．２３－０．１５（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１５０．９ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．６，１４４．５，１３６．３，１２９．９，１２９．６，１２８．１，１２７．６，１２６．２，７８．０，６９．１，６３．９，６０．２，５２．６，２５．５，２４．７，２１．７。

【０７４６】

（Ｒ）－２－トシル－１－（（Ｒ）－１－トリチルピロリジン－２－イル）エタノール（１３ｂ’）

【化２４２】



13b'

【０７４７】

化合物１３ｂ’を、化合物１３ａ’と同様にして、ただし１２ａ’の代わりに１２ｂ’を用いて得た。

【０７４８】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８２（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），７．３７（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），４．０１（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝９．０，５．１，３．０Ｈｚ），３．３２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，３．０Ｈｚ），３．２５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，９．０Ｈｚ），３．１７（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．２，５．１Ｈｚ），２．８９－２．８３（２Ｈ，ｍ），２．４６（３Ｈ，ｓ），２．０４（２Ｈ，ｂｒｓ），１．７９－１．６４（３Ｈ，ｍ），１．６２－１．５５（１Ｈ，ｍ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１５０．９ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．８，１３６．６，１２９．８，１２７．９，６７．７，６１．８，６０．１，４６．８，２５．９，２５．８，２１．６．ＭＡＬＤＩＴＯＦ－ＭＳ ｍ／ｚ Ｃ$_{13}$Ｈ$_{20}$ＮＯ$_{3}$Ｓ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$の計算値 ２７０．１２，測定値 ２７０．０５。

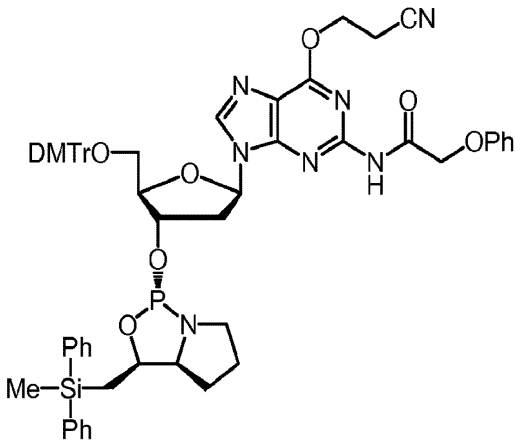
【０７４９】

実施例Ｚ－１０

【０７５０】

オキサザホスホリジンモノマー１２ａ

【化２４３】



12a

【０７５１】

脱水トルエンで共沸を繰り返し行うことによって３ａ（５６０ｍｇ、１．８０ｍｍｏｌ）を脱水し、アルゴン下、脱水ジエチルエーテル（０．９０ｍＬ）中に溶解させた。Ｎ－メチルモルホリン（４００マイクロＬ、３．６０ｍｍｏｌ）を溶液に加え、得られた溶液を脱水ジエチルエーテル（０．９０ｍＬ）中ＰＣｌ$_{3}$（１６０マイクロＬ、１．８０ｍｍｏｌ）の溶液に、アルゴン下、０℃で撹拌しながら滴下して加えた。次いで、混合物を室温に温め、３０分間撹拌した。得られたＮ－メチルモルホリンヒドロクロリドを窒素下ろ別除去し、ろ液を減圧濃縮乾固すると、粗２－クロロ－１，３，２－オキサザホスホリジン誘導体が得られた。その粗材料を、新たに蒸留したＴＨＦ（３．６ｍＬ）に溶解させて０．５Ｍ溶液を作製し、これを用いて、さらに精製することなくヌクレオシド３’－Ｏ－

オキサザホスホリジンを合成した。

【０７５２】

５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシン（６３６ｍｇ、０．８４ｍｍｏｌ）を、脱水トルエンで共沸を繰り返し行うことによって脱水し、アルゴン下、新たに蒸留したＴＨＦ（２．５ｍＬ）に溶解させた。Et_3N（０．５８ｍＬ、４．２ｍｍｏｌ）を加え、混合物を－７８℃に冷却した。新たに蒸留したＴＨＦ（３．６ｍＬ、１．８０ｍｍｏｌ）中当該粗２－クロロ－１，３，２－オキサザホスホリジン誘導体の０．５Ｍ溶液をシリンジで滴下して加え、混合物を室温で１５分間撹拌した。次いで、飽和$NaHCO_3$水溶液（７０ｍＬ）及び$CHCl_3$（７０ｍＬ）を加え、有機層を分離し、飽和$NaHCO_3$水溶液（２×７０ｍＬ）で洗浄した。水層を合わせて、$CHCl_3$（７０ｍＬ）で逆抽出した。有機層を合わせて、Na_2SO_4上で乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した。残渣をクロマトグラフィーによってシリカゲルで精製すると、１２ａ（８２９ｍｇ、９０％）が白い泡状物として得られた。

^1H ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ８．７７（１Ｈ，ｂｒｓ），７．９９（１Ｈ，ｓ），７．５４－６．９８（２４Ｈ，ｍ），６．８１－６．７３（４Ｈ，ｍ），６．３５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝８．０，６．３Ｈｚ），４．８９－４．７３（４Ｈ，ｍ），４．６８（２Ｈ，ｂｒｓ），４．０５－３．９８（１Ｈ，ｍ），３．７５（６Ｈ，ｓ），３．６２－３．４６（１Ｈ，ｍ），３．４１－３．２０（３Ｈ，ｍ），３．１８－３．０４（１Ｈ，ｍ），３．０８（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），２．５８－２．３６（２Ｈ，ｍ），１．９４－１．５９（２Ｈ，ｍ），１．５６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１５．０，８．７Ｈｚ），１．４３（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１５．０，５．７Ｈｚ），１．３３－１．１６（２Ｈ，ｍ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}P ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ１５３．５（１Ｐ，ｓ）。

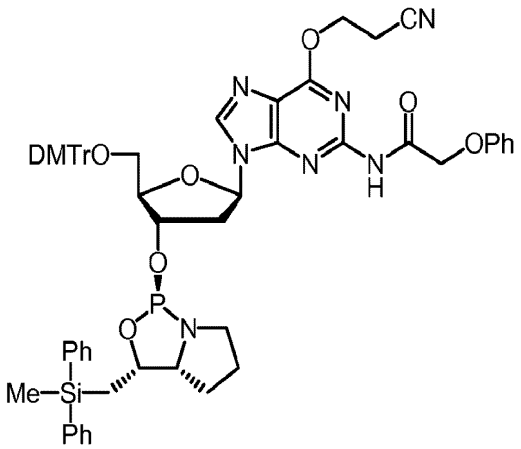
【０７５３】

実施例Ｚ－１１

【０７５４】

オキサザホスホリジンモノマー１２ｂ

【化２４４】



12b

【０７５５】

化合物１２ｂを、化合物１２ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^1H ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ８．８０（１Ｈ，ｂｒｓ），７．９６（１Ｈ，ｓ），７．５４－６．９６（２４Ｈ，ｍ），６．７９－６．７１（４Ｈ，ｍ），６．１９（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．９０－４．７３（４Ｈ，ｍ），４．６６（２Ｈ，ｂｒｓ），４．１６－４．０８（１Ｈ，ｍ），３．７６（６Ｈ，ｓ），３．６０－３．３６（２Ｈ，ｍ），３．２９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．９Ｈｚ），３．２７－３．１２（２Ｈ

，ｍ），３．０９（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），２．５９－２．４６（１Ｈ，ｍ），２．０７－１．９７（１Ｈ，ｍ），１．９４－１．４１（５Ｈ，ｍ），１．３６－１．１８（１Ｈ，ｍ），０．６５（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５７．１（１Ｐ，ｓ）。

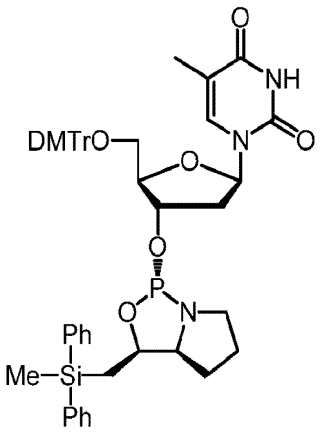
【０７５６】

実施例Ｚ－１２

【０７５７】

オキサザホスホリジンモノマー１３ａ

【化２４５】



13a

【０７５８】

化合物１３ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）チミジンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．５８－７．２３（２１Ｈ，ｍ），６．８６－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．３５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝８．１，５．７Ｈｚ），４．７９－４．６７（２Ｈ，ｍ），３．８３－３．７８（１Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．５９－３．４３（１Ｈ，ｍ），３．３４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．５，２．４Ｈｚ），３．３５－３．２４（１Ｈ，ｍ），３．２０（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．５，２．４Ｈｚ），３．１６－３．０２（１Ｈ，ｍ），２．３６－２．２６（１Ｈ，ｍ），２．１５－２．０２（１Ｈ，ｍ），１．９２－１．７７（１Ｈ，ｍ），１．７４－１．５９（１Ｈ，ｍ），１．５２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．７，９．０Ｈｚ），１．４０（３Ｈ，ｓ），１．４５－１．１５（３Ｈ，ｍ），０．６０（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５３．７（１Ｐ，ｓ）。

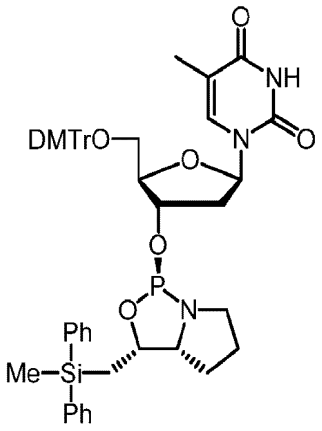
【０７５９】

実施例Ｚ－１３

【０７６０】

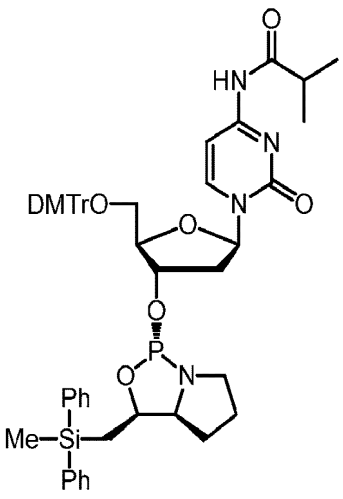
オキサザホスホリジンモノマー１３ｂ

【化２４６】



13b

【０７６１】
化合物１３ｂを、化合物１３ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．４６（１Ｈ，ｂｒｓ），７．５９－７．２０（２０Ｈ，ｍ），６．８６－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．２６（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．８Ｈｚ），４．７８－４．６５（２Ｈ，ｍ），４．０１－３．９５（１Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．５５－３．４０（１Ｈ，ｍ），３．４２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．５，２．７Ｈｚ），３．４０－３．２８（１Ｈ，ｍ），３．２２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．５，３．０Ｈｚ），３．１９－３．０６（１Ｈ，ｍ），２．１６－１．９５（２Ｈ，ｍ），１．９０－１．５４（３Ｈ，ｍ），１．４９－１．３５（１Ｈ，ｍ），１．４３（３Ｈ，ｓ），１．３４－１．１７（２Ｈ，ｍ），０．６７（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５６．２（１Ｐ，ｓ）。
上記化合物１３ｂを用い、上に開示される一般的方法によってオリゴを合成した。
【０７６２】
実施例Ｚ－１４
【０７６３】
オキサザホスホリジンモノマー１４ａ
【化２４７】

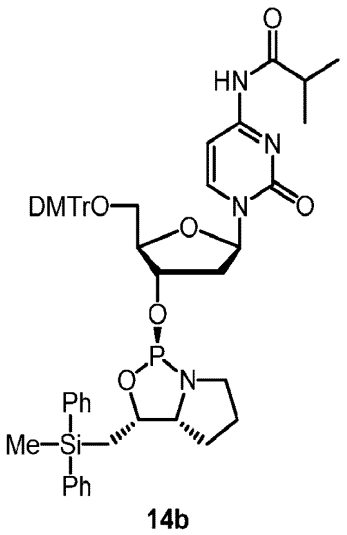


14a

【０７６４】
化合物１４ａを、化合物１２ａと同様にして、５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’Ｏ－（ＤＭＴ

ｒ）－４－Ｎ－（イソブチリル）シチジンを用いて得た。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．３３（１Ｈ，ｂｒｓ），８．１７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．５２－７．２２（１９Ｈ，ｍ），７．０７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８８－６．８１（４Ｈ，ｍ），６．２０（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．２Ｈｚ），４．８１－４．６４（２Ｈ，ｍ），３．９３－３．８７（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．５９－３．４３（１Ｈ，ｍ），３．３９－３．２９（３Ｈ，ｍ），３．１６－３．０２（１Ｈ，ｍ），２．６９－２．５２（２Ｈ，ｍ），２．１２－２．００（１Ｈ，ｍ），１．９１－１．５０（３Ｈ，ｍ），１．４７－１．３２（２Ｈ，ｍ），１．２７－１．１６（７Ｈ，ｍ），０．６０（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５４．８（１Ｐ，ｓ）。

【０７６５】
実施例Ｚ－１６
【０７６６】
オキサザホスホリジンモノマー１４ｂ
【化２４８】

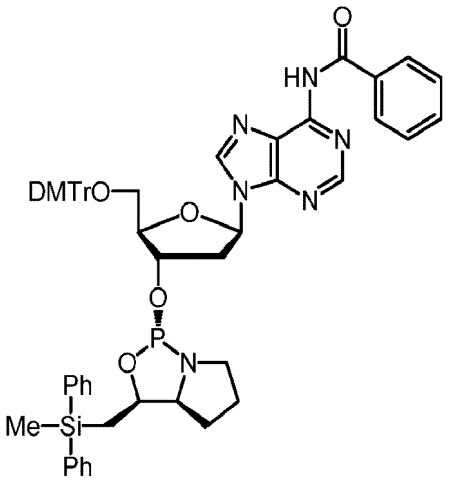


14b

【０７６７】
化合物１４ｂを、化合物１４ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．３３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），８．２３（１Ｈ，ｂｒｓ），７．５７－７．２２（１９Ｈ，ｍ），７．１２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８８－６．８１（４Ｈ，ｍ），６．１５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝６．６，４．２Ｈｚ），４．８２－４．６３（２Ｈ，ｍ），４．０３－３．９７（１Ｈ，ｍ），３．８０（６Ｈ，ｓ），３．５５－３．２６（４Ｈ，ｍ），３．１９－３．０５（１Ｈ，ｍ），２．５９（１Ｈ，ｑｕｉｎｔｅｔ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），２．３９－２．２７（１Ｈ，ｍ），２．２１－２．１０（１Ｈ，ｍ），１．９０－１．５６（３Ｈ，ｍ），１．５０－１．３２（２Ｈ，ｍ），１．２６－１．１７（７Ｈ，ｍ），０．６６（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．２（１Ｐ，ｓ）。

【０７６８】
実施例Ｚ－１７
【０７６９】
オキサザホスホリジンモノマー１５ａ

【化２４９】



15a

【０７７０】

化合物１５ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－６－Ｎ－（ベンゾイル）アデノシンを用いて得た。

【０７７１】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．７１（１Ｈ，ｓ），８．１２（１Ｈ，ｓ），８．０４（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），７．６２－７．１５（２３Ｈ，ｍ），６．８０－６．７５（４Ｈ，ｍ），６．３７（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝７．８，６．０Ｈｚ），４．９４－４．８８（１Ｈ，ｍ），４．８０（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝１２．０，６．０，５．４Ｈｚ），４．０７－４．０４（１Ｈ，ｍ），３．７６（６Ｈ，ｓ），３．５８－３．４９（１Ｈ，ｍ），３．４１－３．３４（１Ｈ，ｍ），３．３３（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．８，４．８Ｈｚ），３．２５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．８，４．８Ｈｚ），３．１３－３．０６（１Ｈ，ｍ），２．６６－２．５８（１Ｈ，ｍ），２．４０－２．３５（１Ｈ，ｍ），１．９１－１．８４（１Ｈ，ｍ），１．７３－１．６６（１Ｈ，ｍ），１．５６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１５．０，９．０Ｈｚ），１．４４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１５．０，５．４Ｈｚ），１．４７－１．４１（１Ｈ，ｍ），１．３０－１．２３（１Ｈ，ｍ），０．６３（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（２４３．０ＭＨｚ，ＣＤＣｌ^{3}）δ１５１．８（１Ｐ，ｓ）。

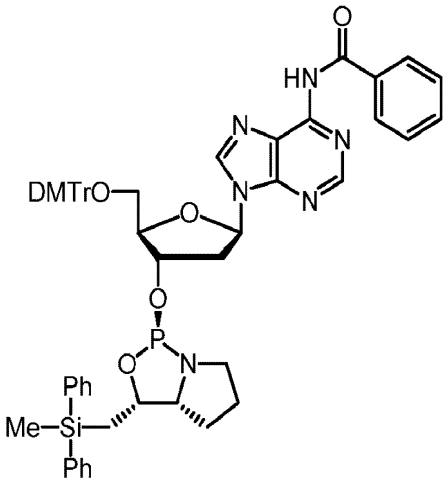
【０７７２】

実施例Ｚ－１８

【０７７３】

オキサザホスホリジンモノマー１５ｂ

【化２５０】



15b

【０７７４】

化合物１５ｂを、化合物１５ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．０６（１Ｈ，ｂｒｓ），８．７６（１Ｈ，ｓ），８．１２（１Ｈ，ｓ），８．０７－７．９９（２Ｈ，ｍ），７．６４－７．１４（２２Ｈ，ｍ），６．８３－６．７５（４Ｈ，ｍ），６．２５（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．８６－４．７５（２Ｈ，ｍ），４．２０－４．１５（１Ｈ，ｍ），３．７７（６Ｈ，ｓ），３．６１－３．３８（２Ｈ，ｍ），３．３６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．２，４．２Ｈｚ），３．２７（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．２，４．２Ｈｚ），３．２７－３．１３（１Ｈ，ｍ），２．７１－２．５９（１Ｈ，ｍ），２．１２－２．０１（１Ｈ，ｍ），１．９４－１．４２（５Ｈ，ｍ），１．３６－１．２０（１Ｈ，ｍ），０．６７（３Ｈ，ｓ））；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．３（１Ｐ，ｓ）。

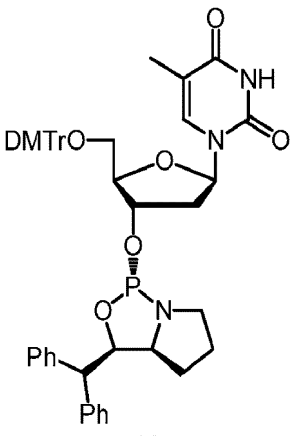
【０７７５】

実施例Ｚ－１９

【０７７６】

オキサザホスホリジンモノマー１６ａ

【化２５１】



16a

【０７７７】

化合物１６ａを、化合物１３ａと同様にして、ただし３ａの代わりに７ａを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．５７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝０．９Ｈｚ），

７．３７－６．９４（２０Ｈ，ｍ），６．８７－６．７８（４Ｈ，ｍ），６．４８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝８．６，５．７Ｈｚ），５．４２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１１．０，５．１Ｈｚ），４．８１－４．７１（１Ｈ，ｍ），４．０２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１１．０Ｈｚ），３．８３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝２．１Ｈｚ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．６１－３．４１（２Ｈ，ｍ），３．２４－３．０９（１Ｈ，ｍ），３．１６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．８，２．４Ｈｚ），３．０２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．８，２．４Ｈｚ），２．５４－２．４４（１Ｈ，ｍ），２．３４－２．２２（１Ｈ，ｍ），１．９４－１．７９（１Ｈ，ｍ），１．７４－１．５６（１Ｈ，ｍ），１．３８（３Ｈ，ｓ），１．３８－１．２８（２Ｈ，ｍ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１６０．９（１Ｐ，ｓ）。

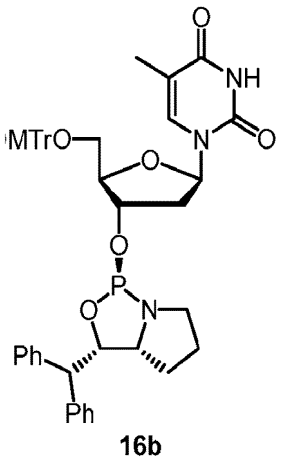
【０７７８】

実施例Ｚ－２０

【０７７９】

オキサザホスホリジンモノマー１６ｂ

【化２５２】



16b

【０７８０】

化合物１６ｂを、化合物１６ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．５７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．５Ｈｚ），７．４３－７．１１（２０Ｈ，ｍ），６．８５－６．７８（４Ｈ，ｍ），６．４８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝７．５，５．７Ｈｚ），５．５８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１１．４，５．１Ｈｚ），４．８２－４．７３（１Ｈ，ｍ），４．１７－４．０２（２Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．５６－３．４０（３Ｈ，ｍ），３．３２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．７，２．４Ｈｚ），３．２２－３．０７（１Ｈ，ｍ），２．２６－２．０４（２Ｈ，ｍ），１．９５－１．８１（１Ｈ，ｍ），１．７４－１．５６（１Ｈ，ｍ），１．４０（３Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．５Ｈｚ），１．４４－１．３４（２Ｈ，ｍ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１６２．２（１Ｐ，ｓ）。

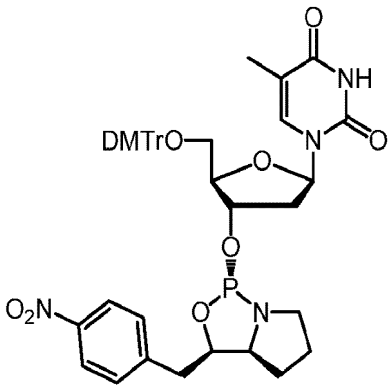
【０７８１】

実施例Ｚ－２１

【０７８２】

オキサザホスホリジンモノマー１７ａ

【化２５３】



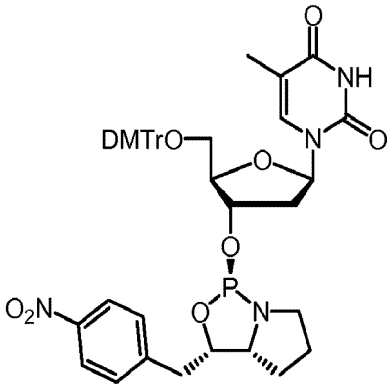
17a

【０７８３】
化合物１７ａを、化合物１３ａと同様にして、ただし３ａの代わりに９ａを用いて得た。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．２２（１Ｈ，ｂｒｓ），８．０５－７．９９（２Ｈ，ｍ），７．５２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．２Ｈｚ），７．４１－７．１９（１１Ｈ，ｍ），６．８７－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．３７（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝８．４，５．７Ｈｚ），４．８８－４．７５（２Ｈ，ｍ），３．８６－３．８０（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．２Ｈｚ），３．６４－３．４９（２Ｈ，ｍ），３．２７－３．１２（３Ｈ，ｍ），２．９７（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），２．５１－２．４１（１Ｈ，ｍ），２．３３－２．２０（１Ｈ，ｍ），２．０３－１．７５（２Ｈ，ｍ），１．７２－１．５９（１Ｈ，ｍ），１．４６－１．３６（１Ｈ，ｍ），１．４０（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．５（１Ｐ，ｓ）。

【０７８４】
実施例Ｚ－２２

【０７８５】
オキサザホスホリジンモノマー１７ｂ

【化２５４】



17b

【０７８６】
化合物１７ｂを、化合物１７ａと同様にして、ただし９ａの代わりに９ｂを用いて得た。
^{1}ＨＮ　ＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．６７（１Ｈ，ｂｒｓ），８．１８－８．１１（２Ｈ，ｍ），７．５７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．２Ｈｚ），７．４７－７．２２（１１Ｈ，ｍ），６．８６－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．２９（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ）

，４．８７（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝７．５，５．７Ｈｚ），４．８０－４．７２（１Ｈ，ｍ），４．１１－４．０５（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．６７－３．４７（２Ｈ，ｍ），３．４３（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．８，２．７Ｈｚ），３．２７（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．８，２．４Ｈｚ），３．２５－３．１３（１Ｈ，ｍ），３．０７－２．９９（２Ｈ，ｍ），２．１９－２．１２（２Ｈ，ｍ），２．０３－１．６２（３Ｈ，ｍ），１．４６－１．３０（１Ｈ，ｍ），１．４１（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．１（１Ｐ，ｓ）。

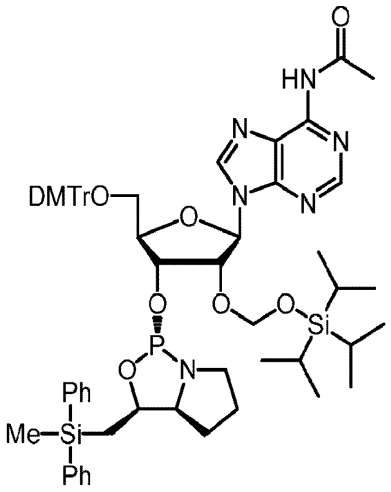
【０７８７】

実施例Ｚ－２３

【０７８８】

オキサザホスホリジンモノマー１８ａ

【化２５５】



18a

【０７８９】

化合物１８ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－ＴＯＭ－６－Ｎ－（アセチル）アデノシンを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ８．８２（１Ｈ，ｂｒｓ），８．４９（１Ｈ，ｓ），８．１０（１Ｈ，ｓ），７．５８－７．１７（１９Ｈ，ｍ），６．８３－６．７３（４Ｈ，ｍ），６．１１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），５．１５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝６．６，５．４Ｈｚ），４．９８－４．７７（４Ｈ，ｍ），４．１８－４．１１（１Ｈ，ｍ），３．７６（６Ｈ，ｓ），３．５９－３．２５（４Ｈ，ｍ），３．１６－３．０２（１Ｈ，ｍ），２．６２（３Ｈ，ｓ），１．９１－１．５３（３Ｈ，ｍ），１．４９－１．１８（３Ｈ，ｍ），０．９６－０．８０（３Ｈ，ｍ），０．９０（１８Ｈ，ｓ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５６．７（１Ｐ，ｓ）．

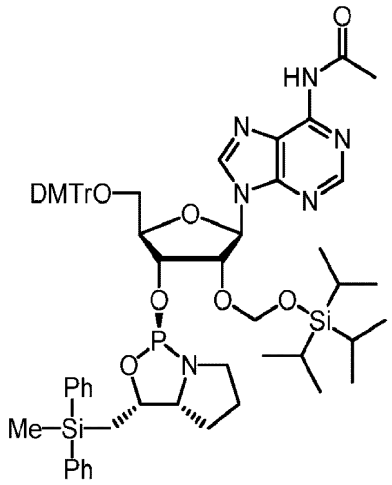
【０７９０】

実施例Ｚ－２４

【０７９１】

オキサザホスホリジンモノマー１８ｂ

【化２５６】



18b

【０７９２】

化合物１８ｂを、化合物１８ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．５６（１Ｈ，ｂｒｓ），８．５５（１Ｈ，ｓ），８．１３（１Ｈ，ｓ），７．５７－７．１７（１９Ｈ，ｍ），６．８２－６．７３（４Ｈ，ｍ），６．１６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．７Ｈｚ），５．０６（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝５．６Ｈｚ），４．９３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．１Ｈｚ），４．８３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．１Ｈｚ），４．８１－４．６９（２Ｈ，ｍ），４．２７－４．１９（１Ｈ，ｍ），３．７６（６Ｈ，ｓ），３．５５－３．４０（２Ｈ，ｍ），３．３３－３．１６（２Ｈ，ｍ），３．１２－２．９７（１Ｈ，ｍ），２．６３（３Ｈ，ｓ），１．８８－１．５２（３Ｈ，ｍ），１．４５－１．１６（３Ｈ，ｍ），０．９１－０．７９（３Ｈ，ｍ），０．８６（１８Ｈ，ｓ），０．６４（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５４．８（１Ｐ，ｓ）。

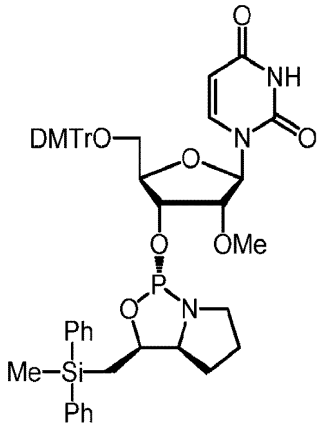
【０７９３】

実施例Ｚ－２５

【０７９４】

オキサザホスホリジンモノマー１９ａ

【化２５７】



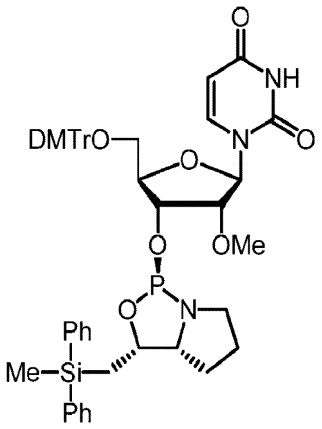
19a

【０７９５】

化合物１９ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－

（ＤＭＴｒ）－２′－Ｏ－（メチル）ウリジンを用いて得た。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．９１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），７．５８－７．２０（１９Ｈ，ｍ），６．８８－６．８０（４Ｈ，ｍ），５．９６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．３Ｈｚ），５．１９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），４．８８－４．７８（１Ｈ，ｍ），４．６６－４．５７（１Ｈ，ｍ），４．０３－３．９５（１Ｈ，ｍ），３．９０－３．７４（１Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．７７－３．７１（１Ｈ，ｍ），３．５８－３．２９（２Ｈ，ｍ），３．４５（３Ｈ，ｓ），３．１３－２．８２（２Ｈ，ｍ），１．８８－１．５３（３Ｈ，ｍ），１．４９－１．１６（３Ｈ，ｍ），０．６０（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．３（１Ｐ，ｓ）．

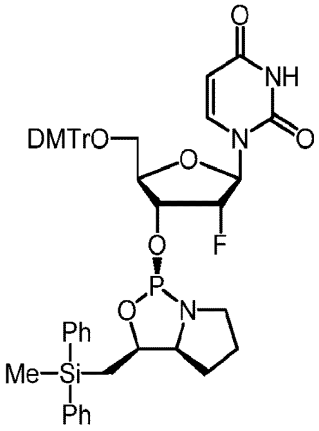
【０７９６】
実施例Ｚ－２６
【０７９７】
オキサザホスホリジンモノマー１９ｂ
【化２５８】



19b

【０７９８】
化合物１９ｂを、化合物１９ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．１０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），７．５８－７．２０（１９Ｈ，ｍ），６．８７－６．７９（４Ｈ，ｍ），５．８９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．５Ｈｚ），５．２１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），４．９２－４．８２（１Ｈ，ｍ），４．７３－４．６３（１Ｈ，ｍ），４．１５－４．０８（１Ｈ，ｍ），３．８９－３．７３（１Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．６６－３．６２（１Ｈ，ｍ），３．５７－３．２７（２Ｈ，ｍ），３．３０（３Ｈ，ｓ），３．１７－２．８２（２Ｈ，ｍ），１．８９－１．５５（３Ｈ，ｍ），１．５５－１．４０（１Ｈ，ｍ），１．３５－１．１５（２Ｈ，ｍ），０．６６（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．５（１Ｐ，ｓ）。
【０７９９】
実施例Ｚ－２７
【０８００】
オキサザホスホリジンモノマー２０ａ

【化２５９】



20a

【０８０１】

化合物２０ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－デオキシ－２’－フルオロウリジンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），７．５８－７．２０（１９Ｈ，ｍ），６．８７－６．７９（４Ｈ，ｍ），５．９８（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１６．５Ｈｚ），５．２３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），４．８６－４．６１（３Ｈ，ｍ），３．９９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），３．７６（６Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．０Ｈｚ），３．５６－３．３４（４Ｈ，ｍ），３．１０－２．９６（１Ｈ，ｍ），１．８８－１．７４（１Ｈ，ｍ），１．７２－１．５２（２Ｈ，ｍ），１．４８－１．１６（３Ｈ，ｍ），０．６１（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５４．３（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝８．９Ｈｚ）。

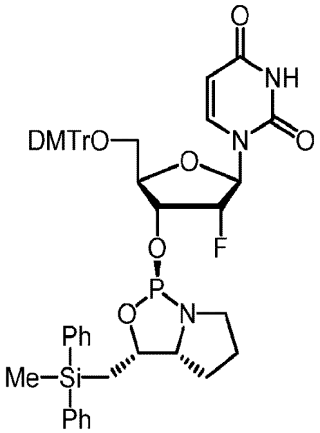
【０８０２】

実施例Ｚ－２８

【０８０３】

オキサザホスホリジンモノマー２０ｂ

【化２６０】



20b

【０８０４】

化合物２０ｂを、化合物２０ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．０１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），７．５８－７．２０（１９Ｈ，ｍ），６．８７－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．０３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１６．２Ｈｚ），５．２９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），４．９６（１Ｈ，

ｄｄ，Ｊ＝１３．１，７．５Ｈｚ），４．８０－４．５４（２Ｈ，ｍ），４．１５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝９．０Ｈｚ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．６１－３．３９（３Ｈ，ｍ），３．３７－３．２５（１Ｈ，ｍ），３．２３－３．０９（１Ｈ，ｍ），１．９１－１．５６（３Ｈ，ｍ），１．５１－１．１３（３Ｈ，ｍ），０．６６（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．９（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝４．４Ｈｚ）。

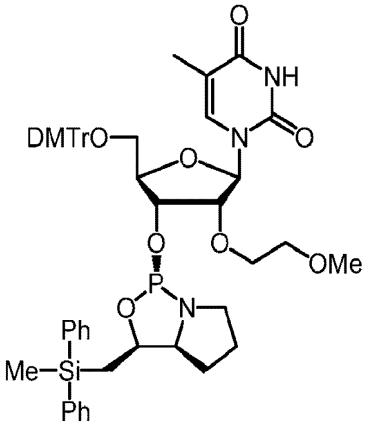
【０８０５】

実施例Ｚ－２９

【０８０６】

オキサザホスホリジンモノマー２１ａ

【化２６１】



21a

【０８０７】

化合物２１ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－メトキシエチル－５－メチルウリジンを用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．６２－７．１８（２１Ｈ，ｍ），６．８４（４Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ），６．０７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．７Ｈｚ），４．８６－４．７６（１Ｈ，ｍ），４．６３－４．５４（１Ｈ，ｍ），４．２０（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝５．４Ｈｚ），３．９５－３．８９（１Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．７８－３．７１（２Ｈ，ｍ），３．６０－３．４８（２Ｈ，ｍ），３．４４－３．０２（５Ｈ，ｍ），３．３１（３Ｈ，ｓ），１．８８－１．１５（６Ｈ，ｍ），１．３５（３Ｈ，ｓ），０．５８（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５６．３（１Ｐ，ｓ）。

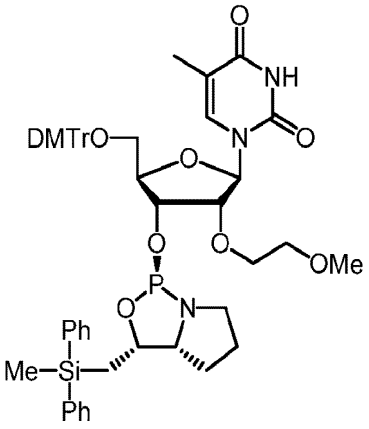
【０８０８】

実施例Ｚ－３０

【０８０９】

オキサザホスホリジンモノマー２１ｂ

【化２６２】



21b

【０８１０】

化合物２１ｂを、化合物２１ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．２Ｈｚ），７．５５－７．２２（２０Ｈ，ｍ），６．８６－６．７８（４Ｈ，ｍ），５．９９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．９Ｈｚ），４．７８－４．６２（２Ｈ，ｍ），４．１３－４．０８（１Ｈ，ｍ），４．０７－４．０２（１Ｈ，ｍ），３．７７（６Ｈ，ｓ），３．７７－３．７０（１Ｈ，ｍ），３．６５－３．５６（１Ｈ，ｍ），３．５２－３．３６（４Ｈ，ｍ），３．３３－３．１４（２Ｈ，ｍ），３．２９（３Ｈ，ｓ），３．０８－２．９４（１Ｈ，ｍ），１．８６－１．７２（１Ｈ，ｍ），１．７１－１．５５（２Ｈ，ｍ），１．３０（３Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．２Ｈｚ），１．４７－１．１６（３Ｈ，ｍ）０．６４（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．６（１Ｐ，ｓ）。

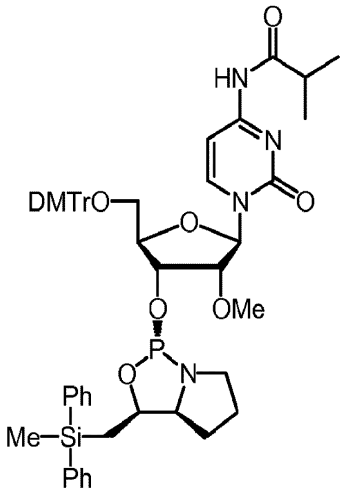
【０８１１】

実施例Ｚ－３１

【０８１２】

オキサザホスホリジンモノマー２２ａ

【化２６３】



22a

【０８１３】

化合物２２ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－メチル－４－Ｎ－（イソブチリル）シチジンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．４９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），７．５８－７．２０（１９Ｈ，ｍ），６．９６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），６．９０

－６．８２（４Ｈ，ｍ），５．９８（１Ｈ，ｓ），４．８４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１３．１，７．５Ｈｚ），４．５９（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝８．３，４．５Ｈｚ），４．１９－４．１３（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．７８－３．７２（１Ｈ，ｍ），３．６３－３．４０（３Ｈ，ｍ），３．５５（３Ｈ，ｓ），３．３６－３．２４（１Ｈ，ｍ），３．０９－２．９５（１Ｈ，ｍ），２．５９（１Ｈ，七重線，Ｊ＝６．９Ｈｚ），１．８５－１．５３（５Ｈ，ｍ），１．４８－１．３７（１Ｈ，ｍ），１．２４－１．１７（６Ｈ，ｍ），０．５９（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５５．２（１Ｐ，ｓ）。

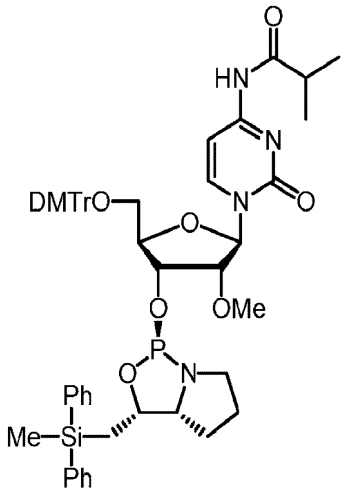
【０８１４】

実施例Ｚ－３２

【０８１５】

オキサザホスホリジンモノマー２２ｂ

【化２６４】



22b

【０８１６】

化合物２２ｂを、化合物２２ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ８．６２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．５７－７．２３（１９Ｈ，ｍ），７．０２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８９－６．８１（４Ｈ，ｍ），５．９２（１Ｈ，ｓ），４．９０（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝９．０，５．７Ｈｚ），４．６１（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝８．７，４．８Ｈｚ），４．２５－４．１７（１Ｈ，ｍ），３．８１（６Ｈ，ｓ），３．６７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．５Ｈｚ），３．６２－３．２５（４Ｈ，ｍ），３．３８（３Ｈ，ｓ），３．１６－３．０２（１Ｈ，ｍ），２．５８（１Ｈ，ｓｅｐｔｅｔ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），１．８７－１．４０（６Ｈ，ｍ），１．２６－１．１４（６Ｈ，ｍ），０．６４（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．２（１Ｐ，ｓ）。

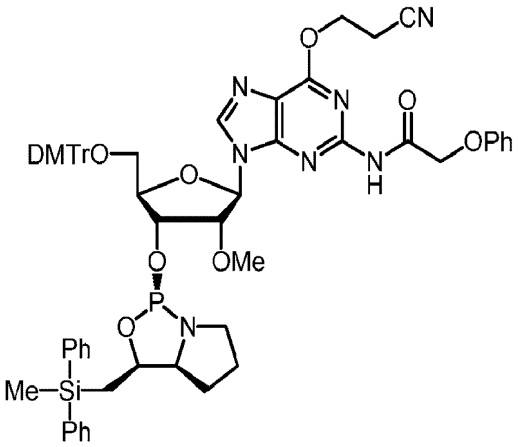
【０８１７】

実施例Ｚ－３３

【０８１８】

オキサザホスホリジンモノマー２３ａ

【化２６５】



23a

【０８１９】

化合物２３ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－メチル－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．６７（１Ｈ，ｂｒｓ），８．０１（１Ｈ，ｓ），７．５６－７．１６（２４Ｈ，ｍ），６．８３－６．７４（４Ｈ，ｍ），６．０８（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），４．８５－４．７６（１Ｈ，ｍ），４．８４（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．６５－４．５６（１Ｈ，ｍ），４．５９（２Ｈ，ｂｒｓ），４．４８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝６．６，５．１Ｈｚ），４．０９－４．０５（１Ｈ，ｍ），３．７５（６Ｈ，ｓ），３．６０－３．４２（２Ｈ，ｍ），３．４０－３．２６（２Ｈ，ｍ），３．３５（３Ｈ，ｓ），３．１８－３．０５（１Ｈ，ｍ），３．０８（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），１．８９－１．４９（３Ｈ，ｍ），１．４８－１．１６（３Ｈ，ｍ），０．５９（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５６．９（１Ｐ，ｓ）。

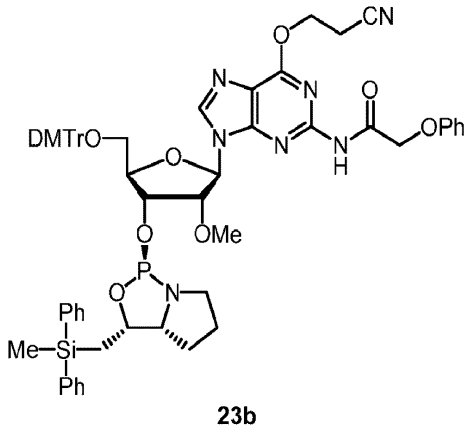
【０８２０】

実施例Ｚ－３４

【０８２１】

オキサザホスホリジンモノマー２３ｂ

【化２６６】



23b

【０８２２】

化合物２３ｂを、化合物２３ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た

。
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．７４（１Ｈ，ｂｒｓ），８．０９（１Ｈ，ｓ），７．５６－６．９４（２４Ｈ，ｍ），６．８４－６．７１（４Ｈ，ｍ），６．０９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），４．８３－４．７０（２Ｈ，ｍ），４．８３（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．６３（２Ｈ，ｂｒｓ），４．３５（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝５．０Ｈｚ），４．２３－４．１６（１Ｈ，ｍ），３．７５（６Ｈ，ｓ），３．５８－３．１９（４Ｈ，ｍ），３．３２（３Ｈ，ｓ），３．１６－３．０４（１Ｈ，ｍ），３．０７（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），１．９０－１．５５（３Ｈ，ｍ），１．４８－１．１５（３Ｈ，ｍ），０．６４（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５４．６（１Ｐ，ｓ）。

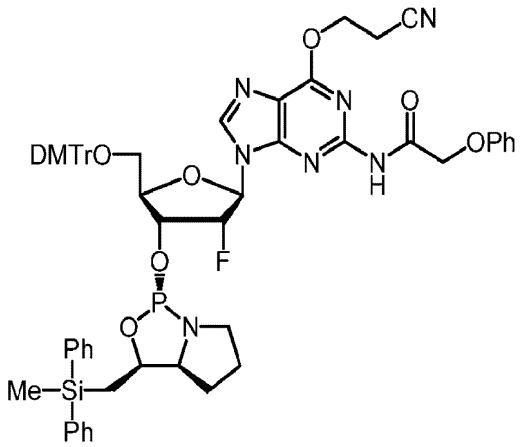
【０８２３】

実施例Ｚ－３５

【０８２４】

オキサザホスホリジンモノマー２４ａ

【化２６７】



24a

【０８２５】

化合物２４ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－デオキシ－２’－フルオロ－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．７４（１Ｈ，ｂｒｓ），８．０３（１Ｈ，ｓ），７．５５－６．９４（２４Ｈ，ｍ），６．８０－６．６９（４Ｈ，ｍ），６．２１（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．９，３．６Ｈｚ），５．３４（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝５２．３，３．６Ｈｚ），５．０１－４．７５（２Ｈ，ｍ），４．８４（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．６２（２Ｈ，ｂｒｓ），４．１５－４．０７（１Ｈ，ｍ），３．７３（６Ｈ，ｓ），３．５９－３．２９（４Ｈ，ｍ），３．１５－３．００（１Ｈ，ｍ），３．０７（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），１．９０－１．４９（３Ｈ，ｍ），１．４７－１．１２（３Ｈ，ｍ），０．５８（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．６（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝１０．９Ｈｚ）。

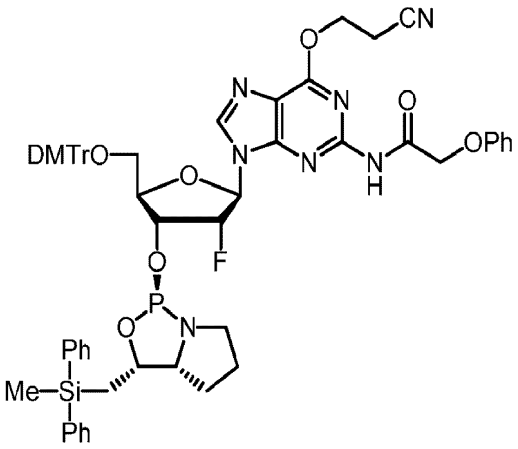
【０８２６】

実施例Ｚ－３６

【０８２７】

オキサザホスホリジンモノマー２４ｂ

【化２６８】



24b

【０８２８】

化合物２４ｂを、化合物２４ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．８１（１Ｈ，ｂｒｓ），８．０６（１Ｈ，ｓ），７．５５－６．９５（２４Ｈ，ｍ），６．７７－６．６９（４Ｈ，ｍ），６．０６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１７．１Ｈｚ），５．２４－５．０８（１Ｈ，ｍ），５．０４－４．８０（２Ｈ，ｍ），４．８７（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．６２（２Ｈ，ｂｒｓ），４．２５－４．１９（１Ｈ，ｍ），３．７３（６Ｈ，ｓ），３．５８－３．０２（５Ｈ，ｍ），３．１０（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），１．９０－１．５６（３Ｈ，ｍ），１．５０－１．１５（３Ｈ，ｍ），０．６３（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．０（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝４．４Ｈｚ）。

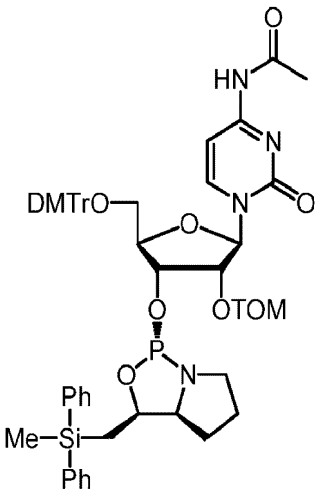
【０８２９】

実施例Ｚ－３７

【０８３０】

オキサザホスホリジンモノマー２５ａ

【化２６９】



25a

【０８３１】

化合物２５ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－ＴＯＭ－４－Ｎ－（アセチル）シチジンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１０．０４（１Ｈ，ｂｒｓ），８．３０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．５１－７．２１（１９Ｈ，ｍ），６．９９（１Ｈ，ｄ

，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８９－６．８１（４Ｈ，ｍ），６．１２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．３Ｈｚ），５．０７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），５．０５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），４．８４－４．７５（１Ｈ，ｍ），４．６２－４．５２（１Ｈ，ｍ），４．３１－４．２５（１Ｈ，ｍ），４．０８－４．０１（１Ｈ，ｍ），３．７８（６Ｈ，ｄ，Ｊ＝３．０Ｈｚ），３．５５－３．２３（４Ｈ，ｍ），３．１０－２．９６（１Ｈ，ｍ），２．２４（３Ｈ，ｓ），１．８４－１．４９（３Ｈ，ｍ），１．４６－０．９６（２４Ｈ，ｍ），０．５８（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５６．５（１Ｐ，ｓ）。

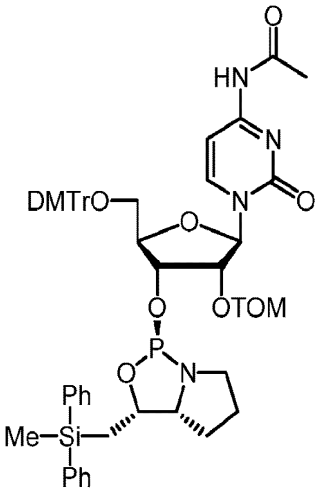
【０８３２】

実施例Ｚ－３８

【０８３３】

オキサザホスホリジンモノマー２５ｂ

【化２７０】



25b

【０８３４】

化合物２５ｂを、化合物２５ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１０．１９（１Ｈ，ｂｒｓ），８．４６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．５４－７．２３（１９Ｈ，ｍ），７．０１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８８－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．１９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．８Ｈｚ），５．１１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），５．０７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），４．８１－４．７１（１Ｈ，ｍ），４．６０－４．５１（１Ｈ，ｍ），４．２６－４．１８（２Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．６３－３．５５（１Ｈ，ｍ），３．４８－３．２８（２Ｈ，ｍ），３．２１－２．９４（２Ｈ，ｍ），２．２６（３Ｈ，ｓ），１．８１－１．４９（３Ｈ，ｍ），１．４３－０．９６（２４Ｈ，ｍ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５６．４（１Ｐ，ｓ）。

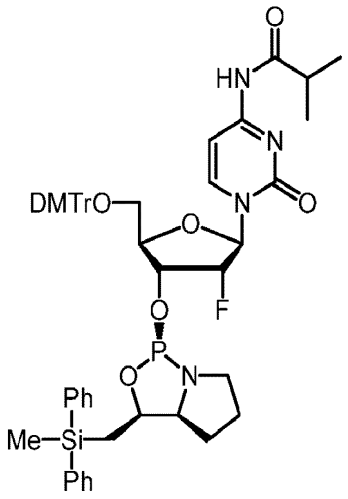
【０８３５】

実施例Ｚ－３９

【０８３６】

オキサザホスホリジンモノマー２６ａ

【化２７１】



26a

【０８３７】

化合物２６ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－デオキシ－２’－フルオロ－４－Ｎ－（イソブチリル）シチジンを用いて得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．６６（１Ｈ，ｂｒｓ），８．４１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．５５－７．２０（１９Ｈ，ｍ），７．０１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８９－６．８１（４Ｈ，ｍ），６．０６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１５．９Ｈｚ），４．８５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝５１．４，３．９Ｈｚ），４．８４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１２．９，７．５Ｈｚ），４．７７－４．５９（１Ｈ，ｍ），４．１５－４．０８（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．６３－３．２９（４Ｈ，ｍ），３．１０－２．９６（１Ｈ，ｍ），２．６５（１Ｈ，ｓｅｐｔｅｔ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），１．８５－１．５３（３Ｈ，ｍ），１．４８－１．１７（３Ｈ，ｍ），１．２１（３Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），１．１９（３Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），０．５９（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．５（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ）。

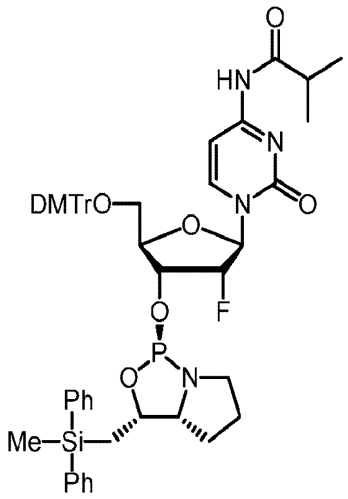
【０８３８】

実施例Ｚ－４０

【０８３９】

オキサザホスホリジンモノマー２６ｂ

【化２７２】



26b

【０８４０】

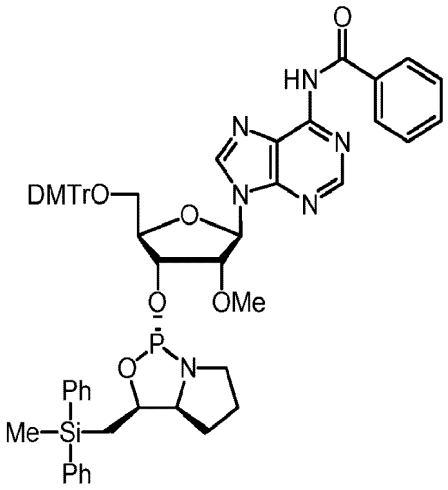
化合物２６ｂを、化合物２６ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．５３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），７．５７－７．２３（２０Ｈ，ｍ），７．１０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），６．８９－６．８１（４Ｈ，ｍ），６．１０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１５．９Ｈｚ），５．００－４．９２（１Ｈ，ｍ），４．８４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝５１．５，３．３Ｈｚ），４．７５－４．５８（１Ｈ，ｍ），４．２４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝９．３Ｈｚ），３．８１（６Ｈ，ｓ），３．６５－３．３９（３Ｈ，ｍ），３．３２－３．０６（２Ｈ，ｍ），２．５９（１Ｈ，ｓｅｐｔｅｔ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），１．８８－１．５３（４Ｈ，ｍ），１．４９－１．３４（２Ｈ，ｍ），１．２７－１．１８（６Ｈ，ｍ），０．６５（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５９．０（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝４．４）。

【０８４１】

オキサザホスホリジンモノマー２７ａ

【化２７３】



27a

【０８４２】

化合物２７ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－メチル－６－Ｎ－（ベンゾイル）アデノシンを用いて得た。

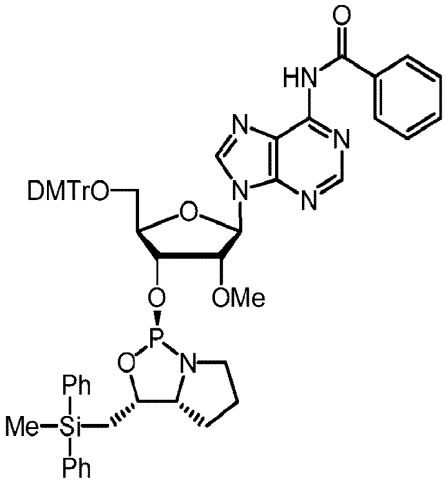
【０８４３】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．６６（１Ｈ，ｓ），８．１３（１Ｈ，ｓ），８．０３（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），７．６４－７．１６（２３Ｈ，ｍ），６．７９（４Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ），６．０８（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．３Ｈｚ），４．９１－４．８１（１Ｈ，ｍ），４．７７－４．６９（１Ｈ，ｍ），４．６４－４．５７（１Ｈ，ｍ），４．１５－４．１０（１Ｈ，ｍ），３．７６（６Ｈ，ｓ），３．６０－３．２３（４Ｈ，ｍ），３．３５（３Ｈ，ｓ），３．１４－３．００（１Ｈ，ｍ），１．９０－１．１９（６Ｈ，ｍ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．８（１Ｐ，ｓ）。

【０８４４】

オキサザホスホリジンモノマー２７ｂ

【化２７４】



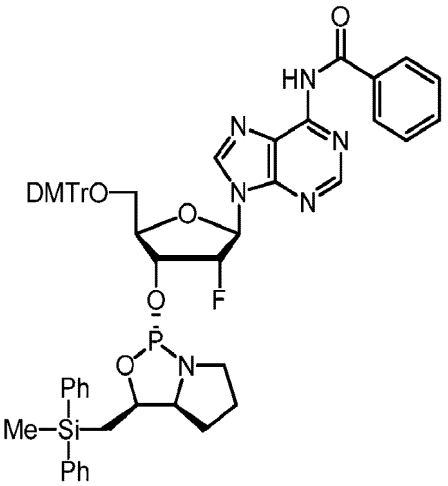
27b

【０８４５】
化合物２７ｂを、化合物２７ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

【０８４６】
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．１２（１Ｈ，ｂｒｓ），８．７３（１Ｈ，ｓ），８．２４（１Ｈ，ｓ），８．０７－８．０１（２Ｈ，ｍ），７．６２－７．１７（２２Ｈ，ｍ），６．８３－６．７７（４Ｈ，ｍ），６．１２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），４．８４－４．７３（２Ｈ，ｍ），４．４３（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），４．２５－４．１９（１Ｈ，ｍ），３．７７（６Ｈ，ｓ），３．５５－３．２０（４Ｈ，ｍ），３．２８（３Ｈ，ｓ），３．１６－３．０３（１Ｈ，ｍ），１．９０－１．１７（６Ｈ，ｍ），０．６５（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．０（１Ｐ，ｓ）。

【０８４７】
オキサザホスホリジンモノマー２８ａ

【化２７５】



28a

【０８４８】
化合物２８ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－デオキシ－２’－フルオロ－６－Ｎ－（ベンゾイル）アデノシンを用いて得た。

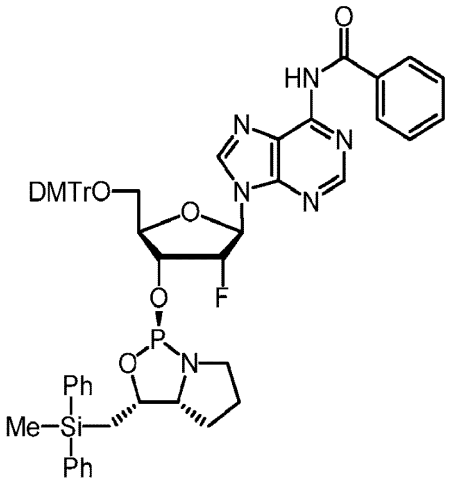
【０８４９】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．６４（１Ｈ，ｓ），８．１４（１Ｈ，ｓ），８．０６－８．０１（２Ｈ，ｍ），７．６３－７．０７（２３Ｈ，ｍ），６．７８－６．７０（４Ｈ，ｍ），６．１２（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１８．０，２．４Ｈｚ），５．２４－５．０１（２Ｈ，ｍ），４．９４－４．８４（１Ｈ，ｍ），４．１７－４．０６（１Ｈ，ｍ），３．７３（６Ｈ，ｓ），３．５５－３．４０（３Ｈ，ｍ），３．３０－３．２２（１Ｈ，ｍ），３．０３－２．８８（１Ｈ，ｍ），１．９２－１．１９（６Ｈ，ｍ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５０．５（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝７．７Ｈｚ）。

【０８５０】

オキサザホスホリジンモノマー２８ｂ

【化２７６】



28b

【０８５１】

化合物２８ｂを、化合物２８ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

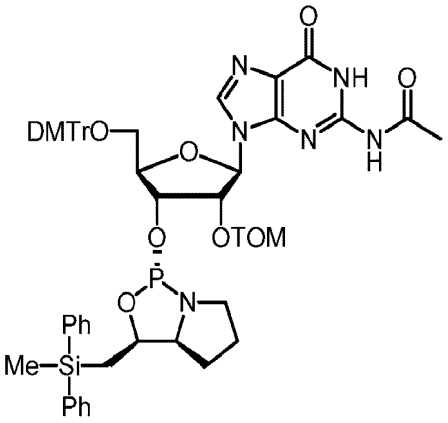
【０８５２】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．０７（１Ｈ，ｂｒｓ），８．８０（１Ｈ，ｓ），８．２４（１Ｈ，ｓ），８．０８－８．０１（２Ｈ，ｍ），７．６６－７．１５（２２Ｈ，ｍ），６．８１－６．７５（４Ｈ，ｍ），６．１４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１８．０，１．８Ｈｚ），５．１６－４．９１（３Ｈ，ｍ），４．２８－４．２１（１Ｈ，ｍ），３．７６（６Ｈ，ｓ），３．５７－３．１１（５Ｈ，ｍ），１．８２－１．１６（６Ｈ，ｍ），０．６５（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．８（１Ｐ，ｄ，Ｊ＝５．６Ｈｚ）。

【０８５３】

オキサザホスホリジンモノマー２９ａ

【化２７７】



29a

【０８５４】

化合物２９ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－ＴＯＭ－２－Ｎ－（アセチル）グアノシンを用いて得た。

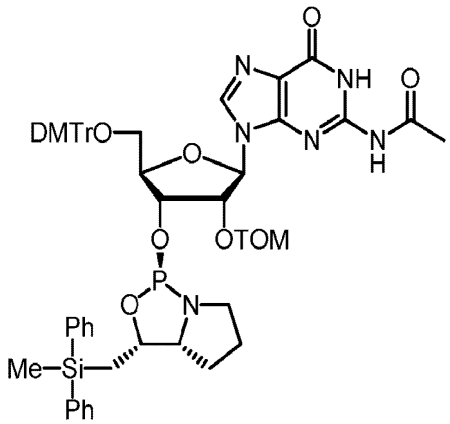
【０８５５】

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７０（１Ｈ，ｓ），７．６３－７．１３（２１Ｈ，ｍ），６．８４－６．７６（４Ｈ，ｍ），５．７７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），５．４１－５．３３（１Ｈ，ｍ），４．９０（２Ｈ，ｓ），４．７８－４．６８（２Ｈ，ｍ），３．８６（１Ｈ，ｂｒｓ），３．７５（３Ｈ，ｓ），３．７４（３Ｈ，ｓ），３．５６－３．４１（２Ｈ，ｍ），３．３２－２．９０（３Ｈ，ｍ），１．９２－１．１０（９Ｈ，ｍ），０．９７－０．８７（２１Ｈ，ｍ），０．５２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．１（１Ｐ，ｓ）。

【０８５６】

オキサザホスホリジンモノマー２９ｂ

【化２７８】



29b

【０８５７】

化合物２９ｂを、化合物２９ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

【０８５８】

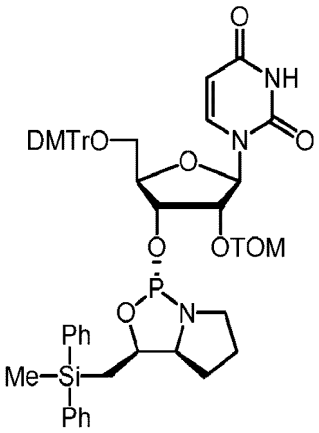
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７７（１Ｈ，ｓ），７．５６－７．１５（２１Ｈ，ｍ），６．８２－６．７５（４Ｈ，ｍ），５．８６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），５．２６－５．１７（１Ｈ，ｍ），４．９５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．４Ｈｚ），４．８５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．４Ｈｚ），４．７８－４．７１（１Ｈ，ｍ），４．５９－

４．４９（１Ｈ，ｍ），４．１０－４．０５（１Ｈ，ｍ），３．７４（６Ｈ，ｓ），３．５２－３．３７（２Ｈ，ｍ），３．３０－３．１８（１Ｈ，ｍ），３．１１－２．８５（２Ｈ，ｍ），１．８５－１．１５（９Ｈ，ｍ），０．９３－０．８４（２１Ｈ，ｍ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５２．３（１Ｐ，ｓ）。

【０８５９】

オキサザホスホリジンモノマー３０ａ

【化２７９】



30a

【０８６０】

化合物３０ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ－ＴＯＭ－ウリジンを用いて得た。

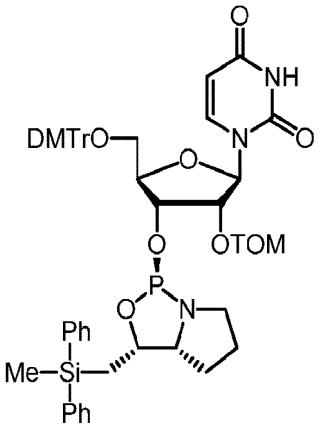
【０８６１】

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ７．７６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），７．５５－７．１８（２０Ｈ，ｍ），６．８８－６．８０（４Ｈ，ｍ），６．１１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．０Ｈｚ），５．３２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），４．９９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．１Ｈｚ），４．９３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．１Ｈｚ），４．８４－４．７５（１Ｈ，ｍ），４．５４－４．４６（１Ｈ，ｍ），４．３８（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝５．７Ｈｚ），３．８７－３．８３（１Ｈ，ｍ），３．７８（３Ｈ，ｓ），３．７７（３Ｈ，ｓ），３．５６－３．４２（１Ｈ，ｍ），３．３９－３．２８（１Ｈ，ｍ），３．３６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１１．０，２．７Ｈｚ），３．２５（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１１．０，２．７Ｈｚ），３．１６－３．０３（１Ｈ，ｍ），１．８８－１．１２（６Ｈ，ｍ），１．０８－０．９７（２１Ｈ，ｍ），０．５９（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ１５６．６（１Ｐ，ｓ）。

【０８６２】

オキサザホスホリジンモノマー３０ｂ

【化２８０】



30b

【０８６３】

化合物３０ｂを、化合物３０ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

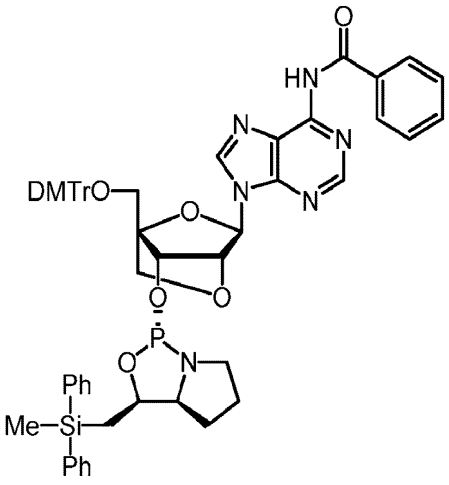
【０８６４】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），７．５２－７．４８（４Ｈ，ｍ），７．３８－７．２１（１６Ｈ，ｍ），６．８３－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．１４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），５．３３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），４．９９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．４Ｈｚ），４．８９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝５．４Ｈｚ），４．６７（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１３．８，７．２Ｈｚ），４．５２（１Ｈ，ｄｔ，Ｊ＝１０．４，４．８Ｈｚ），４．３１（１Ｈ，ｔ，Ｊ＝４．８Ｈｚ），４．０６－４．０３（１Ｈ，ｍ），３．７８（３Ｈ，ｓ），３．７７（３Ｈ，ｓ），３．４７（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１０．４，２．４Ｈｚ），３．４７－３．３９（１Ｈ，ｍ），３．２２－３．１７（２Ｈ，ｍ），３．００（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝１９．５，１０．４，４．８Ｈｚ），１．８２－１．７４（１Ｈ，ｍ），１．６８－１．５８（１Ｈ，ｍ），１．５６（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，８．４Ｈｚ），１．３８（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．４，７．２Ｈｚ），１．３１－１．２５（１Ｈ，ｍ），１．２６－１．１７（１Ｈ，ｍ），１．０８－０．９８（２１Ｈ，ｍ），０．６３（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（２４３．０ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５４．３（１Ｐ，ｓ）。

【０８６５】

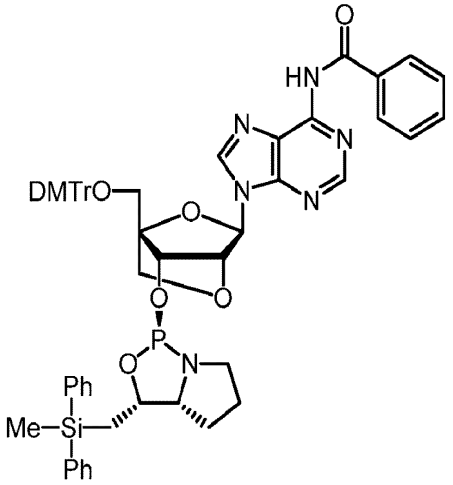
オキサザホスホリジンモノマー３１ａ

【化２８１】



31a

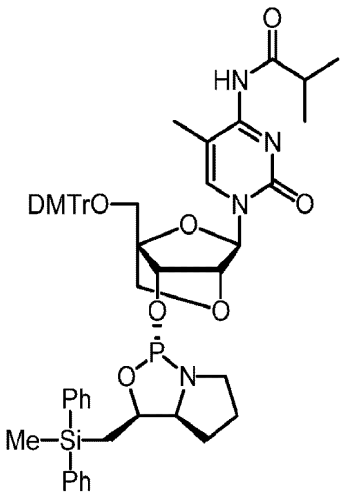
【０８６６】
化合物３１ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ，４’－Ｃ－メチレン－６－Ｎ－（ベンゾイル）アデノシンを用いて得た。
【０８６７】
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．１０（１Ｈ，ｂｒｓ），８．７６（１Ｈ，ｓ），８．３２（１Ｈ，ｓ），８．０４（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），７．６４－７．１８（２２Ｈ，ｍ），６．８４（４Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．７Ｈｚ），６．１０（１Ｈ，ｓ），４．７６（１Ｈ，ｄＪ＝６．９Ｈｚ），４．５８（１Ｈ，ｓ），４．６１－４．５１（１Ｈ，ｍ），３．９１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．７７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．７５（６Ｈ，ｓ），３．５０（１Ｈ，ｓ），３．４７－３．３３（１Ｈ，ｍ），３．３１－３．１９（１Ｈ，ｍ），３．０３－２．８８（１Ｈ，ｍ），１．８４－１．０９（６Ｈ，ｍ），０．５１（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５２．９（１Ｐ，ｓ）。
【０８６８】
オキサザホスホリジンモノマー３１ｂ
【化２８２】



31b

【０８６９】
化合物３１ｂを、化合物３１ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。
【０８７０】
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．８１（１Ｈ，ｓ），８．３０（１Ｈ，ｓ），８．０７－８．００（２Ｈ，ｍ），７．６４－７．１７（２２Ｈ，ｍ），６．８６－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．１２（１Ｈ，ｓ），４．８１－４．７２（１Ｈ，ｍ），４．６２（１Ｈ，ｄＪ＝７．２Ｈｚ），４．５７（１Ｈ，ｓ），３．９４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．８９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．７７（６Ｈ，ｓ），３．４８（２Ｈ，ｓ），３．４６－３．３２（１Ｈ，ｍ），３．２４－３．１３（１Ｈ，ｍ），３．１０－２．９７（１Ｈ，ｍ），１．８４－１．４９（３Ｈ，ｍ），１．４２－１．０９（３Ｈ，ｍ），０．５８（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．３（１Ｐ，ｓ）。
【０８７１】
オキサザホスホリジンモノマー３２ａ

【化２８３】



32a

【０８７２】

化合物３２ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ，４’－Ｃ－メチレン－４－Ｎ－（イソブチリル）－５－メチルシチジンを用いて得た。

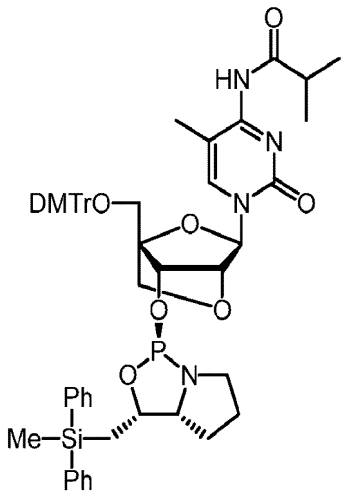
【０８７３】

^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８８（１Ｈ，ｂｒｓ），７．５８－７．１８（２０Ｈ，ｍ），６．８８－６．８０（４Ｈ，ｍ），５．６５（１Ｈ，ｓ），４．６９－４．６０（１Ｈ，ｍ），４．５２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．４９（１Ｈ，ｓ），３．８１－３．７４（１Ｈ，ｍ），３．７５（３Ｈ，ｓ），３．７３（３Ｈ，ｓ），３．６４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），３．５６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１１．１Ｈｚ），３．５３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），３．４６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１１．１Ｈｚ），３．５６－３．４０（１Ｈ，ｍ），３．３２－３．２０（１Ｈ，ｍ），３．１４－３．００（１Ｈ，ｍ），１．８５－１．１２（６Ｈ，ｍ），１．６０（３Ｈ，ｓ），１．１９（６Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），０．５５（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．９（１Ｐ，ｓ）。

【０８７４】

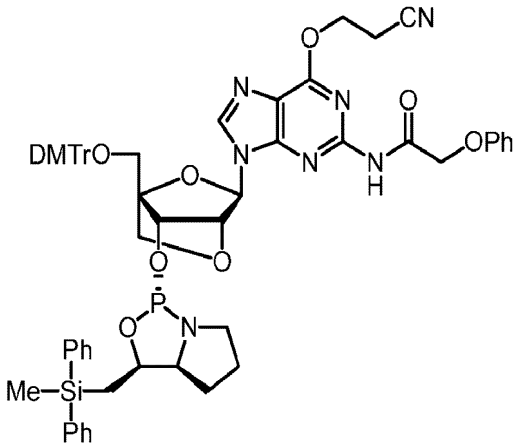
オキサザホスホリジンモノマー３２ｂ

【化２８４】



32b

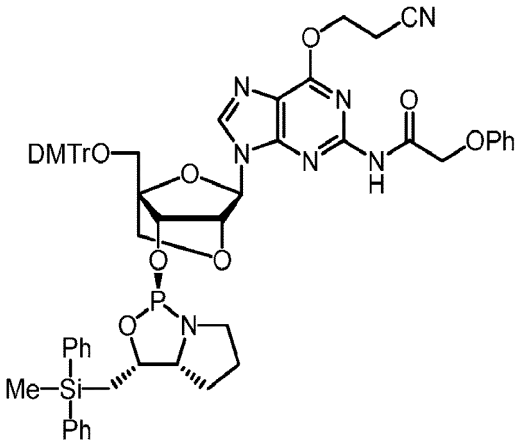
【０８７５】
化合物３２ｂを、化合物３２ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。
【０８７６】
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８６（１Ｈ，ｂｒｓ），７．５６－７．１９（２０Ｈ，ｍ），６．８８－６．７９（４Ｈ，ｍ），５．６９（１Ｈ，ｓ），４．８６－４．７６（１Ｈ，ｍ），４．４６（１Ｈ，ｓ），４．４５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），３．８０－３．７５（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．７４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），３．６９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ），３．５１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１１．１Ｈｚ），３．４４－３．３０（１Ｈ，ｍ），３．３９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１１．１Ｈｚ），３．２９－３．１７（１Ｈ，ｍ），３．１１－２．９７（１Ｈ，ｍ），１．８６－１．５２（３Ｈ，ｍ），１．６４（３Ｈ，ｓ），１．４５－１．１０（３Ｈ，ｍ），１．２１（６Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），０．６２（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．２（１Ｐ，ｓ）。
【０８７７】
オキサザホスホリジンモノマー３３ａ
【化２８５】



33a

【０８７８】
化合物３３ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ，４’－Ｃ－メチレン－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンを用いて得た。
【０８７９】
^{1}Ｈ ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．７１（１Ｈ，ｂｒｓ），８．１６（１Ｈ，ｓ），７．５０－７．１７（２１Ｈ，ｍ），７．０９－７．０１（３Ｈ，ｍ），６．８６－６．７９（４Ｈ，ｍ），６．０３（１Ｈ，ｓ），４．８４（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．７２（２Ｈ，ｓ），４．６８（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），４．５５－４．４６（１Ｈ，ｍ），４．５０（１Ｈ，ｓ），３．９０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．７７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．７５（６Ｈ，ｓ），３．５１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．４７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．４５－３．２１（２Ｈ，ｍ），３．０８（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），３．０３－２．８９（１Ｈ，ｍ），１．８０－１．０８（６Ｈ，ｍ），０．４７（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５３．２（１Ｐ，ｓ）。
【０８８０】
オキサザホスホリジンモノマー３３ｂ

【化２８６】



33b

【０８８１】

化合物３３ｂを、化合物３３ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

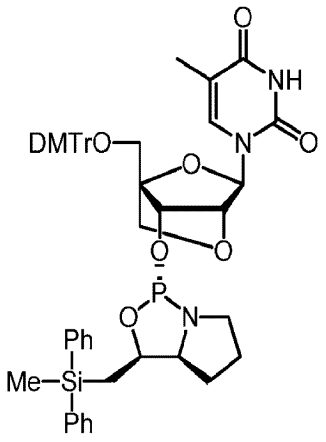
【０８８２】

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．８６（１Ｈ，ｂｒｓ），８．１３（１Ｈ，ｓ），７．５５－７．１７（２１Ｈ，ｍ），７．０８－６．９８（３Ｈ，ｍ），６．９５－６．７８（４Ｈ，ｍ），６．０１（１Ｈ，ｓ），４．８６（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），４．８２－４．７３（１Ｈ，ｍ），４．７０（２Ｈ，ｓ），４．６４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ），４．４９（１Ｈ，ｓ），３．９４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．８９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．７７（６Ｈ，ｓ），３．４６（２Ｈ，ｓ），３．４５－３．３０（１Ｈ，ｍ），３．２４－３．１２（１Ｈ，ｍ），３．０９（２Ｈ，ｔ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），３．０９－２．９６（１Ｈ，ｍ），１．８１－１．５０（３Ｈ，ｍ），１．４１－１．０６（３Ｈ，ｍ），０．５８（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．４（１Ｐ，ｓ）。

【０８８３】

オキサザホスホリジンモノマー３４ａ

【化２８７】



34a

【０８８４】

化合物３４ａを、化合物１２ａと同様にして、ただし５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２－Ｎ－（フェノキシアセチル）－６－Ｏ－（シアノエチル）グアノシンの代わりに５’－Ｏ－（ＤＭＴｒ）－２’－Ｏ，４’－Ｃ－メチレン－５－メチルウリジンを用いて得た。

【０８８５】

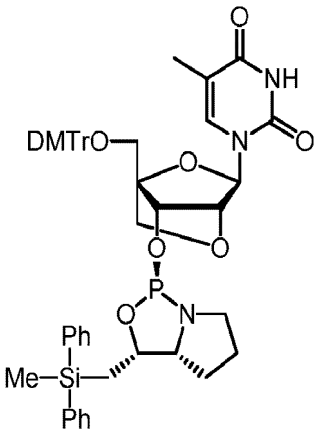
^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７１（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝０．９Ｈｚ）

，７．５０－７．１７（２０Ｈ，ｍ），６．８７－６．８０（４Ｈ，ｍ），５．６１（１Ｈ，ｓ），４．６９－４．６０（１Ｈ，ｍ），４．５５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝６．９Ｈｚ），４．４１（１Ｈ，ｓ），３．７４（３Ｈ，ｓ），３．７３（３Ｈ，ｓ），３．６４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．５５（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．５３（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．４６（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．５６－３．４２（１Ｈ，ｍ），３．３５－３．２４（１Ｈ，ｍ），３．１３－３．００（１Ｈ，ｍ），１．８５－１．４５（３Ｈ，ｍ），１．５５（３Ｈ，ｄ，Ｊ＝０．９Ｈｚ），１．４１－１．１２（３Ｈ，ｍ），０．５６（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．１（１Ｐ，ｓ）。

【０８８６】

オキサザホスホリジンモノマー３４ｂ

【化２８８】



34b

【０８８７】

化合物３４ｂを、化合物３４ａと同様にして、ただし３ａの代わりに３ｂを用いて得た。

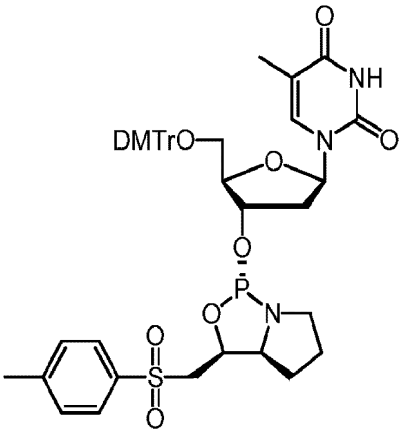
【０８８８】

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．６９（１Ｈ，ｓ），７．５６－７．１９（２０Ｈ，ｍ），６．８８－６．７９（４Ｈ，ｍ），５．６６（１Ｈ，ｓ），４．８７－４．７７（１Ｈ，ｍ），４．４７（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），４．４０（１Ｈ，ｓ），３．７８（６Ｈ，ｓ），３．７４（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．６８（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ），３．５０（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．４６－３．３２（１Ｈ，ｍ），３．３９（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１０．８Ｈｚ），３．３０－３．１９（１Ｈ，ｍ），３．１２－２．９８（１Ｈ，ｍ），１．８５－１．５６（３Ｈ，ｍ），１．５９（３Ｈ，ｓ），１．４６－１．１２（３Ｈ，ｍ），０．６３（３Ｈ，ｓ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１２１．５ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．１（１Ｐ，ｓ）。

【０８８９】

オキサザホスホリジンモノマー３５ａ

【化２８９】



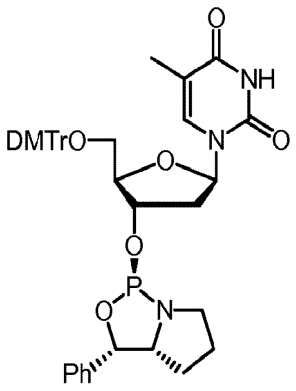
35a

【０８９０】

化合物３５ａを、化合物１３ａと同様にして、ただし３ａの代わりに１３ａ’を用いて得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７６（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝９．０Ｈｚ），７．６２（１Ｈ，ｄ，Ｊ＝１．２Ｈｚ），７．４０（２Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ），７．３２－７．２３（１０Ｈ，ｍ），６．８５（４Ｈ，ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ），６．４１（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝８．４，５．４Ｈｚ），４．９４（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１２．３，５．４Ｈｚ），４．８４－４．７９（１Ｈ，ｍ），４．０３－４．０１（１Ｈ，ｍ），３．７９（６Ｈ，ｓ），３．５９－３．５３（１Ｈ，ｍ），３．５２－３．４４（２Ｈ，ｍ），３．４１（１Ｈ，ｄｄ，Ｊ＝１４．７，７．２Ｈｚ），３．３７－３．３０（２Ｈ，ｍ），３．１３（１Ｈ，ｄｄｄ，Ｊ＝１９．３，１０．３，４．１Ｈｚ），２．５０－２．４４（１Ｈ，ｍ），２．３９（３Ｈ，ｓ），２．３５－２．２９（１Ｈ，ｍ），１．９１－１．７２（２Ｈ，ｍ），１．６４－１．５９（１Ｈ，ｍ），１．４０（３Ｈ，ｓ），１．１２－１．０５（１Ｈ，ｍ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２４３．０ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５４．２（１Ｐ，ｓ）。

【０８９１】

実施例Ｚ－４１



Z-27

【０８９２】

上記化合物Ｚ－２７は、従来のモノマーを表し、これを用いてオリゴを産生した。図７０は、比較例Ｚ－１を通して得る産物のチャートを示す。図６９及び７０に示す通り、本発明のモノマーは、より完全な脱保護とより少ない副産物を提供したということであり、このことは、産物の単離及び／又は精製をより容易とする。

【０８９３】

いくつかの実施形態では、本発明は化学的に安定なモノマーを提供する。例示的なかかるモノマーは上に実施例において示されている。いくつかの実施形態では、本発明は高い

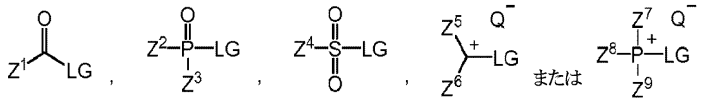
単離収率でモノマーを提供する。いくつかの実施形態では、本発明は常法より高い単離収率でモノマーを提供する。いくつかの実施形態では、単離収率は８０％を超える。例示的なかかるモノマーは上に実施例において示されている。

【０８９４】

縮合試薬

本発明の方法に従って有用な縮合試薬（C_R）は、次の一般式のいずれのものでもよく：

【化２９０】



C_R1 C_R2 C_R3 C_R4 C_R5

、

式中、Z^1、Z^2、Z^3、Z^4、Z^5、Z^6、Z^7、Z^8、及びZ^9は、互いに独立してアルキル、アミノアルキル、シクロアルキル、複素環、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アルキルオキシ、アリールオキシ、若しくはヘテロアリールオキシより選択される、任意に置換された置換基であってもよく、あるいは、Z^2とZ^3、Z^5とZ^6、Z^7とZ^8、Z^8とZ^9、Z^9とZ^7、若しくはZ^7とZ^8とZ^9、のいずれかの組み合わせにより３～２０員環脂環式環又は複素環を形成し；Q^-は対アニオンであり、ＬＧは脱離基である。

【０８９５】

いくつかの実施形態では、縮合試薬C_Rの対イオンはCl^-、Br^-、BF_4^-、PF_6^-、TfO^-、Tf_2N^-、AsF_6^-、ClO_4^-、又はSbF_6^-であり、ＴｆはCF_3SO_2である。いくつかの実施形態では、縮合試薬C_Rの脱離基はＦ、Ｃｌ、Ｂｒ、Ｉ、３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール、イミダゾール、アルキルトリアゾール、テトラゾール、ペンタフルオロベンゼン、又は１－ヒドロキシベンゾトリアゾールである。

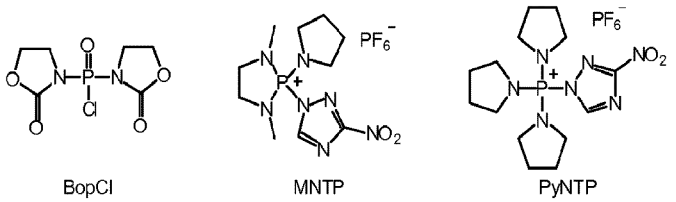
【０８９６】

本発明の方法に従って用いる縮合試薬の例としては、ペンタフルオロベンゾイルクロリド、カルボニルジイミダゾール（ＣＤＩ）、１－メシチレンスルフォニル－３－ニトロトリアゾール（ＭＳＮＴ）、１－エチル－３－（３’－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドヒドロクロリド（ＥＤＣＩ－ＨＣｌ）、ベンゾトリアゾール－１－イルオキシトリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢＯＰ）、Ｎ，Ｎ’－ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）ホスフィン酸クロリド（ＢｏｐＣｌ）、２－（１Ｈ－７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＡＴＵ）、及びＯ－ベンゾトリアゾール－Ｎ，Ｎ，Ｎ，’Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＢＴＵ）、ＤＩＰＣＤＩ；Ｎ，Ｎ’－ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）ホスフィン酸ブロミド（ＢｏｐＢｒ）、１，３－ジメチル－２－（３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）－２－ピロリジン－１－イル－１，３，２－ジアザホスホリジニウムヘキサフルオロホスフェート（ＭＮＴＰ）、３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール－１－イル－トリス（ピロリジン－１－イル）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＮＴＰ）、ブロモトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ）；Ｏ－（ベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート（ＴＢＴＵ）；及びテトラメチルフルオロホルムアミジニウムヘキサフルオロホスフェート（ＴＦＦＨ）が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、縮合試薬C_Rの対イオンはCl^-、Br^-、BF_4^-、PF_6^-、TfO^-、Tf_2N^-、AsF_6^-、ClO_4^-、又はSbF_6^-であり、ＴｆはCF_3SO_2である。

【０８９７】
いくつかの実施形態では、縮合試薬は、１－（２，４，６－トリイソプロピルベンゼンスルホニル）－５－（ピリジン－２－イル）テトラゾリド、ピバロイルクロリド、ブロモトリスピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート、Ｎ，Ｎ’－ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）ホスフィン酸クロリド（ＢｏｐＣｌ）、又は２－クロロ－５，５－ジメチル－２－オキソ－１，３，２－ジオキサホスフィナンである。いくつかの実施形態では、縮合試薬はＮ，Ｎ’－ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）ホスフィン酸クロリド（ＢｏｐＣｌ）である。いくつかの実施形態では、縮合試薬はＷＯ２００６／０６６２６０に記載のものより選択される。

【０８９８】
いくつかの実施形態では、縮合試薬は１、３－ジメチル－２－（３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）－２－ピロリジン－１－イル－１，３，２－ジアザホスホリジニウムヘキサフルオロホスフェート（ＭＮＴＰ）、又は３－ニトロ－１，２，４－トリアゾール－１－イル－トリス（ピロリジン－１－イル）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＮＴＰ）：

【化２９１】

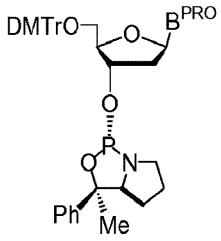


である。

【０８９９】
ヌクレオシド・カップリングパートナーの塩基及び糖の選択
本明細書に記載される通り、本発明の方法に従って用いられるヌクレオシド・カップリングパートナーは、互いに同じでもよく、互いに異なっていてもよい。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の合成において用いられるヌクレオチド・カップリングパートナーは、互いに同じ構造及び／又は立体化学的配置のものである。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の合成において用いられる各ヌクレオシド・カップリングパートナーは、オリゴヌクレオチドの所定の他のヌクレオシド・カップリングパートナーとは同じ構造及び／又は立体化学的配置のものではない。本発明の方法に従って用いられる例示的な核酸塩基及び糖は本明細書に記載される。関連する化学・合成技術分野の当業者は、本明細書に記載される核酸塩基及び糖のどのような組み合わせも本発明の方法による使用が意図されていると、認識するであろう。

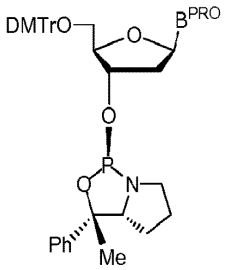
【０９００】
カップリング・ステップ
本発明に従って用いられる例示的なカップリング手順、キラル試薬、及び縮合試薬は、とりわけ、Ｗａｄａ　Ｉ（ＪＰ４３４８０７７；ＷＯ２００５／０１４６０９；ＷＯ２００５／０９２９０９）、Ｗａｄａ　ＩＩ（ＷＯ２０１０／０６４１４６）、及びＷａｄａ　ＩＩＩ（ＷＯ２０１２／０３９４４８）に概説される。本発明に従って用いられるキラルヌクレオシド・カップリングパートナーはまた、本明細書では「Ｗａｄａアミダイト」と称す。いくつかの実施形態では、カップリングパートナーは、

【化２９２】



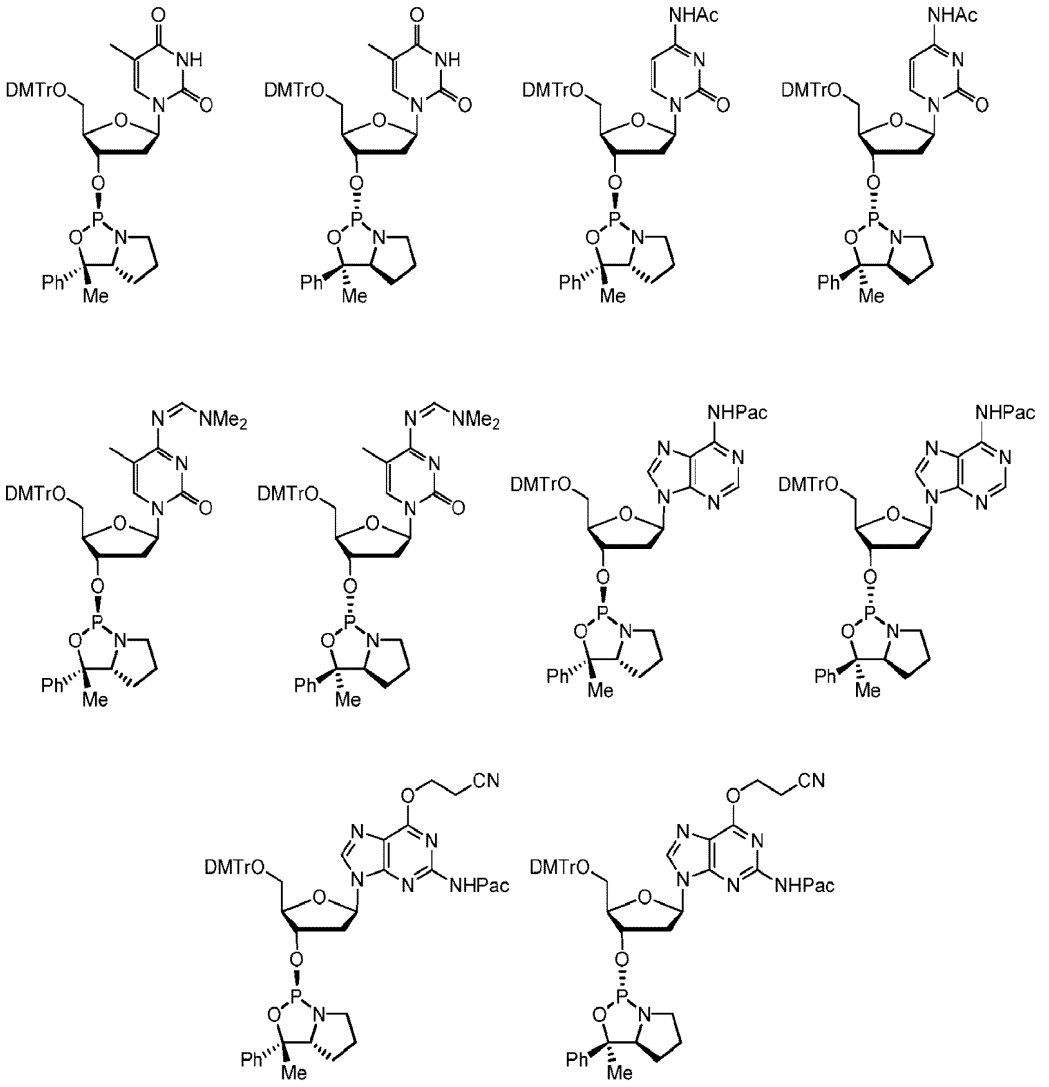
の構造を有し、Ｂ^{ＰＲＯ}は保護核酸塩基である。いくつかの実施形態では、カップリングパートナーは、

【化２９３】



の構造を有し、Ｂ^{ＰＲＯ}は保護核酸塩基である。カップリングパートナーとして例示的なキラルホスホラミダイトを下に示す。

【化２９４】

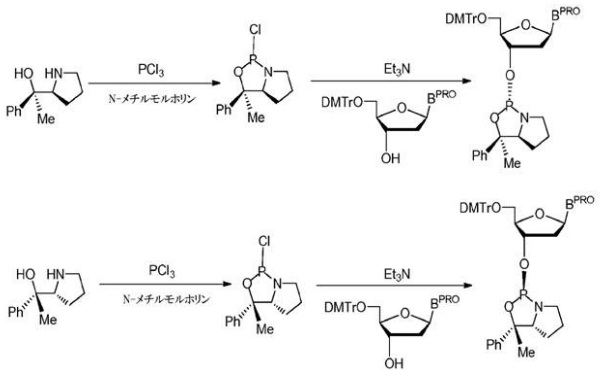


【０９０１】

カップリングパートナーを合成するために用いる方法の１つを下のスキームＩＩに示す。

スキームＩＩ　カップリングパートナーの合成例

【化２９５】



【０９０２】

いくつかの実施形態では、カップリングのステップは、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド単位の遊離ヒドロキシル基をヌクレオシド・カップリングパートナーと適切な条件下で反応させてカップリングを起こすことを含む。いくつかの実施形態では、カップリングのステップの前に脱ブロッキングのステップを行う。例えば、いくつかの実施形態では、

増殖しているオリゴヌクレオチドの５’ヒドロキシル基はブロックされ（即ち、保護され）、その後ヌクレオシド・カップリングパートナーと反応させるためには脱ブロッキングしなければならない。

【０９０３】

増殖しているオリゴヌクレオチドの適切なヒドロキシル基を脱ブロッキングした後、キラル試薬を含む溶液と活性化剤を含む溶液との送り込みの準備に当たって、支持体を洗浄し、乾燥する。いくつかの実施形態では、キラル試薬及び活性化剤を同時に送り込む。いくつかの実施形態では、同時の送り込みは、溶液（例えば、ホスホラミダイト溶液）中キラル試薬いくらかと、溶液（例えば、ＣＭＰＴ溶液）中活性化剤いくらかとを、ニトリル溶媒（例えば、アセトニトリル）等の極性非プロトン性溶媒中に送り込むことを含む。

【０９０４】

いくつかの実施形態では、カップリングのステップは、キラル亜リン酸エステル産物が９５％超のジアステレオマー過剰率で存在する粗産物組成物を提供する。いくつかの実施形態では、キラル亜リン酸エステル産物が９６％超のジアステレオマー過剰率で存在する。いくつかの実施形態では、キラル亜リン酸エステル産物が９７％超のジアステレオマー過剰率で存在する。いくつかの実施形態では、キラル亜リン酸エステル産物が９８％超のジアステレオマー過剰率で存在する。いくつかの実施形態では、キラル亜リン酸エステル産物が９９％超のジアステレオマー過剰率で存在する。

【０９０５】

キャッピング・ステップ

キラル制御オリゴヌクレオチドを作るために提供される方法は、キャッピングのステップを含む。いくつかの実施形態では、キャッピングのステップは単一のステップである。いくつかの実施形態では、キャッピングのステップは２つのステップである。いくつかの実施形態では、キャッピングのステップは２つより多くのステップである。

【０９０６】

いくつかの実施形態では、キャッピングのステップは、キラル補助基の遊離アミンをキャッピングするステップと、残留未反応５’ヒドロキシル基をキャッピングするステップとを含む。いくつかの実施形態では、キラル補助基の遊離アミンと未反応５’ヒドロキシル基は、同じキャッピング基でキャッピングされる。いくつかの実施形態では、キラル補助基の遊離アミンと未反応５’ヒドロキシル基は、同じキャッピング基でキャッピングされる。いくつかの実施形態では、キラル補助基の遊離アミンと未反応５’ヒドロキシル基は、異なるキャッピング基でキャッピングされる。ある特定の実施形態では、異なるキャッピング基でのキャッピングは、オリゴヌクレオチドの合成の間、１つのキャッピング基を他のキャッピング基より先に選択的に除去することを可能とする。いくつかの実施形態では、両方の基のキャッピングは同時に起こる。いくつかの実施形態では、両方の基のキャッピングは繰り返し起こる。

【０９０７】

ある特定の実施形態では、キャッピングは繰り返し起こり、遊離アミンをキャッピングする第１ステップと、その後遊離５’ヒドロキシル基をキャッピングする第２ステップとを含み、遊離アミン及び５’ヒドロキシル基の両方は同じキャッピング基でキャッピングされる。例えば、いくつかの実施形態では、キラル補助基の遊離アミンは、無水物（例えばフェノキシ酢酸無水物、即ちPac_2O）で５’ヒドロキシル基がキャッピングされる前に、同じ無水物を用いてキャッピングされる。ある特定の実施形態では、その同じ無水物による５’ヒドロキシル基のキャッピングは異なる条件下（例えば、１つ又は複数の追加試薬の存在下）で起こる。いくつかの実施形態では、５’ヒドロキシル基のキャッピングは、エーテル性溶媒中アミン塩基（例えば、ＴＨＦ中ＮＭＩ（Ｎ－メチルイミダゾール））の存在下で起こる。「キャッピング基」という表現は本明細書では、「保護基」及び「ブロック基」という句と互換的に用いられる。

【０９０８】

いくつかの実施形態では、アミンキャッピング基は、中間体亜リン酸エステル種の転位

及び／又は分解を防ぐようにアミンを効果的にキャッピングすることを特徴とする。いくつかの実施形態では、キャッピング基は、それがヌクレオチド間結合リンの分子内切断を防ぐことを目的としてキラル補助基のアミンを保護する能力で選択される。

【０９０９】

いくつかの実施形態では、「ショートマー（ｓｈｏｒｔｍｅｒｓ）」例えば、「ｎ－ｍ」（ｍ及びｎは整数であり、ｍ＜ｎであり；ｎは標的オリゴヌクレオチドにおける塩基の数である）不純物であって、第１サイクルで反応せず次の１つ又は複数のサイクルで反応するオリゴヌクレオチド鎖の反応から起こる不純物、の発生を防ぐようにヒドロキシル基を効果的にキャッピングすることを、５’ヒドロキシル基キャッピング基は特徴とする。かかるショートマー、特に「ｎ－１］の存在は、粗オリゴヌクレオチドの純度に有害な影響を有し、オリゴヌクレオチドの最終的な精製を時間がかかって概して低収率なものとする。

【０９１０】

いくつかの実施形態では、特定のキャップは、特定の条件下で特定のタイプの反応を容易にする傾向に基づいて選択される。例えば、いくつかの実施形態では、キャッピング基はＥ１脱離反応を容易にする能力で選択され、この反応はキャップ及び／又は補助基を増殖しているオリゴヌクレオチドから切断する。いくつかの実施形態では、キャッピング基はＥ２脱離反応を容易にする能力で選択され、この反応はキャップ及び／又は補助基を増殖しているオリゴヌクレオチドから切断する。いくつかの実施形態では、キャッピング基はβ－脱離反応を容易にする能力で選択され、この反応はキャップ及び／又は補助基を増殖しているオリゴヌクレオチドから切断する。

【０９１１】

修飾ステップ

本明細書で使われる場合、「修飾ステップ（ｍｏｄｉｆｙｉｎｇ　ｓｔｅｐ）」、「修飾ステップ（ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ｓｔｅｐ）」、及び「Ｐ－修飾ステップ」という句は互換的に用いられ、修飾ヌクレオチド間結合を導入するように用いられるいずれか１つ又は複数のステップを一般的に指す。いくつかの実施形態では、式Ｉの構造を有する修飾ヌクレオチド間結合。本発明のＰ－修飾ステップは、提供されるオリゴヌクレオチドの構築が完了する後ではなく、提供されるオリゴヌクレオチドの構築の間に起こる。こうして、提供されるオリゴヌクレオチドの各ヌクレオチド単位は、ヌクレオチド単位が導入されるサイクルの間、結合リンで個別に修飾され得る。

【０９１２】

いくつかの実施形態では、適切なＰ－修飾試薬はイオウ求電子試薬、セレニウム求電子試薬、酸素求電子試薬、ホウ素化試薬、又はアジド試薬である。

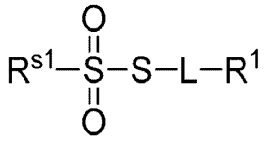
【０９１３】

例えば、いくつかの実施形態では、セレニウム試薬は元素セレニウム、セレニウム塩、又は置換ジセレニドである。いくつかの実施形態では、酸素求電子試薬は元素酸素、ペルオキシド、又は置換ペルオキシドである。いくつかの実施形態では、ホウ素化試薬は、ボラン－アミン（例えば、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（BH_3・ＤＩＰＥＡ）、ボラン－ピリジン（BH_3・Ｐｙ）、ボラン－２－クロロピリジン（BH_3・ＣＰｙ）、ボラン－アニリン（BH_3・Ａｎ））、ボラン－エーテル試薬（例えば、ボラン－テトラヒドロフラン（BH_3・ＴＨＦ））、ボラン－ジアルキルスルフィド試薬（例えば、BH_3・Me_2S）、アニリン－シアノボラン、又はトリフェニルホスフィン－カルボアルコキシボランである。いくつかの実施形態では、アジド試薬は、続く還元を経てアミン基を提供することができるアジド基を含む。

【０９１４】

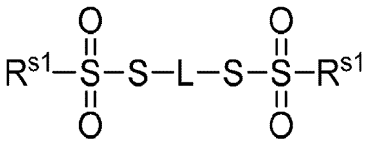
いくつかの実施形態では、Ｐ－修飾試薬は本明細書に記載される硫化試薬である。いくつかの実施形態では、修飾のステップは、リンを硫化してホスホロチオエート結合又はホスホロチオエートトリエステル結合を提供することを含む。いくつかの実施形態では、修飾のステップは式Ｉのヌクレオチド間結合を有するオリゴヌクレオチドを提供する。

【０９１５】
いくつかの実施形態では、本発明は硫化試薬、同試薬を作る方法、及び同試薬の使用法を提供する。
【０９１６】
いくつかの実施形態では、かかる硫化試薬はチオスルホン酸試薬である。いくつかの実施形態では、チオスルホン酸試薬は式Ｓ－Ｉの構造を有し：
【化２９６】



S-I

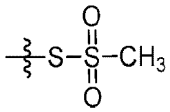
Ｓ－Ｉ、
式中、
R^{s1}はＲであり；
Ｒ、Ｌ、及びR^{1}のそれぞれは互いに独立して上及び本明細書に定義され記載される通りである。
【０９１７】
いくつかの実施形態では、硫化試薬はビス（チオスルホン酸）試薬である。いくつかの実施形態では、ビス（チオスルホン酸）試薬は式Ｓ－ＩＩの構造を有し：
【化２９７】



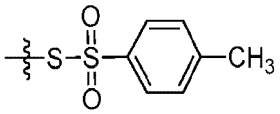
S-II

Ｓ－ＩＩ、
式中、R^{s1}及びＬのそれぞれは互いに独立して上及び本明細書に定義され記載される通りである。
【０９１８】
一般的に上に定義される通り、R^{s1}はＲであり、Ｒは上及び本明細書に定義され記載される通りである。いくつかの実施形態では、R^{s1}は置換されてもよい脂肪族、アリール、ヘテロシクリル、又はヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、R^{s1}は置換されてもよいアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}は置換されてもよいアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はメチルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はシアノメチルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はニトロメチルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}は置換されてもよいアリールである。いくつかの実施形態では、R^{s1}は置換されてもよいフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はｐ－ニトロフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はｐ－メチルフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はｐ－クロロフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はｏ－クロロフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}は２，４，６－トリクロロフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はペンタフルオロフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はされてもよい置換ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^{s1}はされてもよい置換ヘテロアリールである。
【０９１９】
いくつかの実施形態では、　R^{s1}－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｓ－は

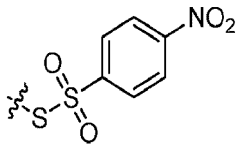
【化２９８】



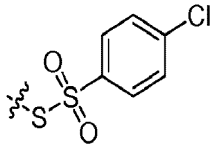
（ＭＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　Ｒ^{ｓ１}－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｓ－は
【化２９９】



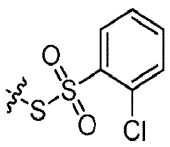
（ＴＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　Ｒ^{ｓ１}－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｓ－は
【化３００】



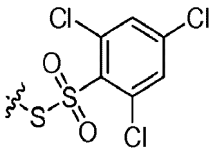
（ＮＯ$_{2}$ＰｈｅＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　Ｒ^{ｓ１}－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｓ－は
【化３０１】



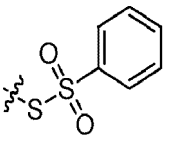
（ｐ－ＣｌＰｈｅＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　Ｒ^{ｓ１}－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｓ－は
【化３０２】



（ｏ－ＣｌＰｈｅＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　Ｒ^{ｓ１}－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｓ－は
【化３０３】

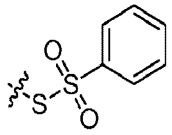


（２，４，６－ＴｒｉＣｌＰｈｅＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　Ｒ^{ｓ１}－Ｓ（Ｏ）$_{2}$Ｓ－は
【化３０４】

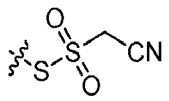


（ＰｈｅＴＳ）

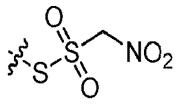
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３０５】



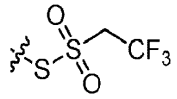
（ＰＦＰｈｅＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３０６】



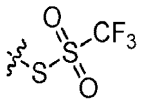
（ａ－ＣＮＭＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３０７】



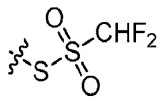
（ａ－NO_2ＭＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３０８】



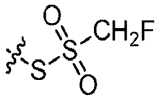
（ａ－CF_3ＭＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３０９】



（ａ－CF_3ＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３１０】



（ａ－CHF_2ＴＳ）
である。いくつかの実施形態では、　$R^{s1}-S(O)_2S-$は
【化３１１】



（ａ－CH_2FＴＳ）
である。
【０９２０】
いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、Ｌは－Ｓ－R^{L3}－又は－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－R^{L3}－である。いくつかの実施形態では、Ｌは－Ｓ－R^{L3}－又は－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－R^{L3}－であり、R^{L3}は置換されてもよいC_1～C_6アルキレンである。いくつかの実施形態では、Ｌは－Ｓ－R^{L3}－又は－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－R^{L3}－であり、R^{L3}は置換されてもよいC_1～C_6アルケニレンである。いくつかの実施形

態では、Ｌは－Ｓ－Ｒ^{Ｌ３}－又は－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ３}－であり、Ｒ^{Ｌ３}は置換されてもよいＣ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレンであり、１つ又は複数のメチレン単位は、置換されていてもよいＣ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルケニレン、アリーレン、又はヘテロアリーレンによって互いに独立して置換されていてもよい。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、Ｒ^{Ｌ３}は置換されていてもよい－Ｓ－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルケニレン）－、－Ｓ－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレン）－、－Ｓ－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレン）－アリーレン－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレン）－、－Ｓ－ＣＯ－アリーレン－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレン）－、又は－Ｓ－ＣＯ－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレン）－アリーレン－（Ｃ$_{１}$～Ｃ$_{６}$アルキレン）－である。いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、Ｌは－Ｓ－Ｒ^{Ｌ３}－又は－Ｓ－Ｃ（Ｏ）－Ｒ^{Ｌ３}－であり、イオウ原子はＲ^{１}に結合する。

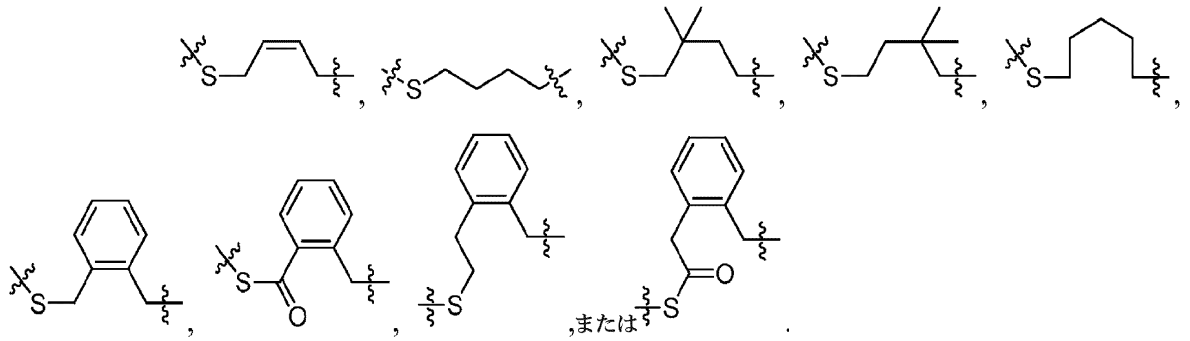
【０９２１】

いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、Ｌはアルキレン、アルケニレン、アリーレン、又はヘテロアリーレンである。

【０９２２】

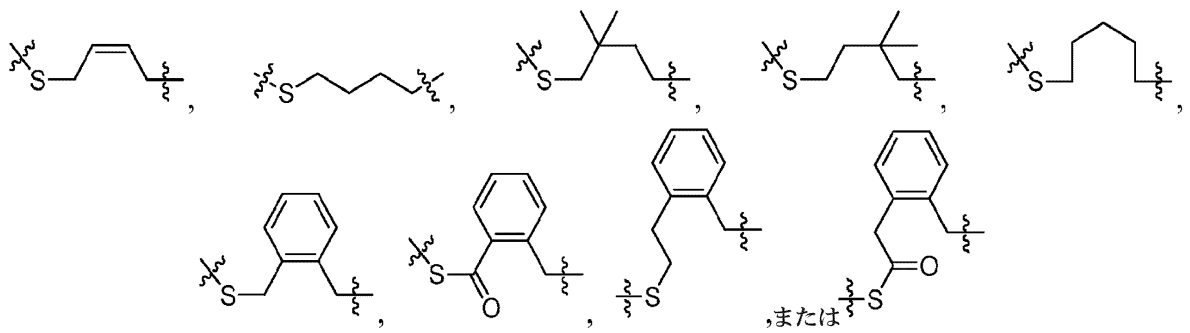
いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、Ｌは

【化３１２】



である。いくつかの実施形態では、Ｌは

【化３１３】

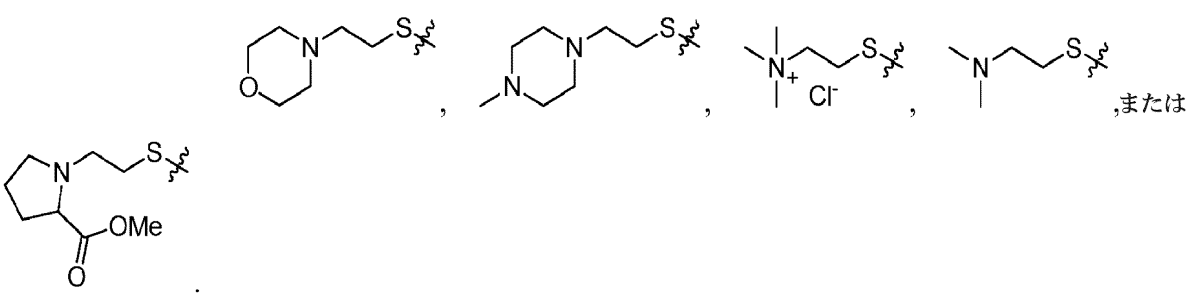


であり、イオウ原子はＲ^{１}に結合する。

【０９２３】

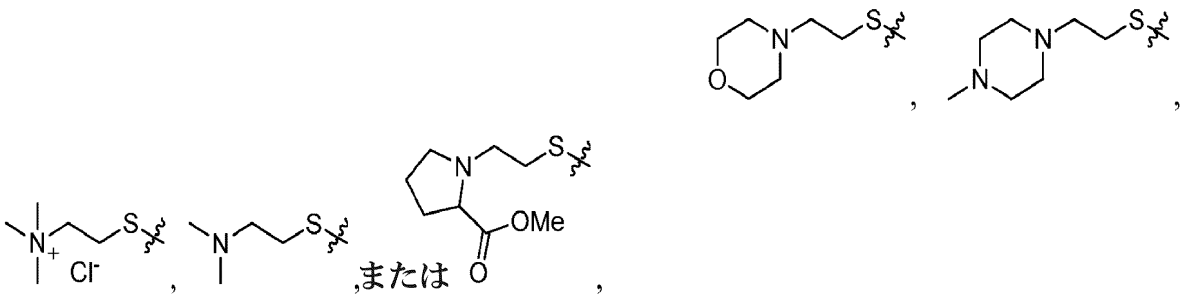
いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、Ｒ^{１}は

【化３１４】



である。いくつかの実施形態では、R^1は

【化３１５】

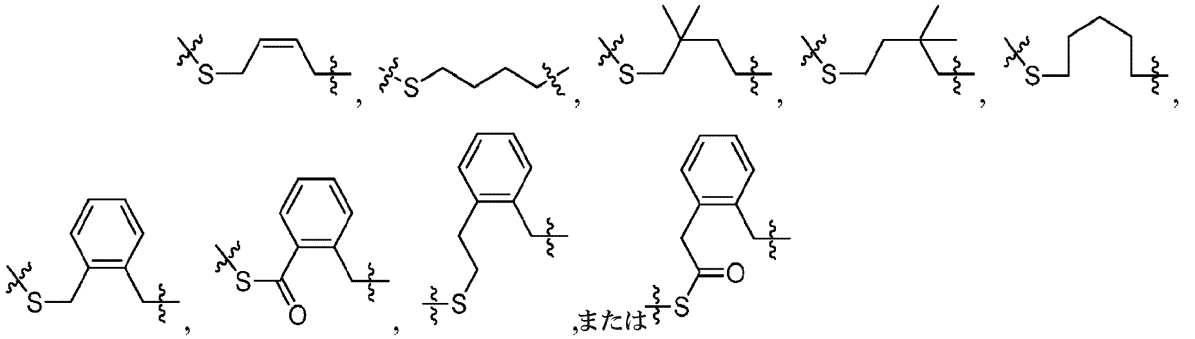


であり、イオウ原子はＬに結合する。

【０９２４】

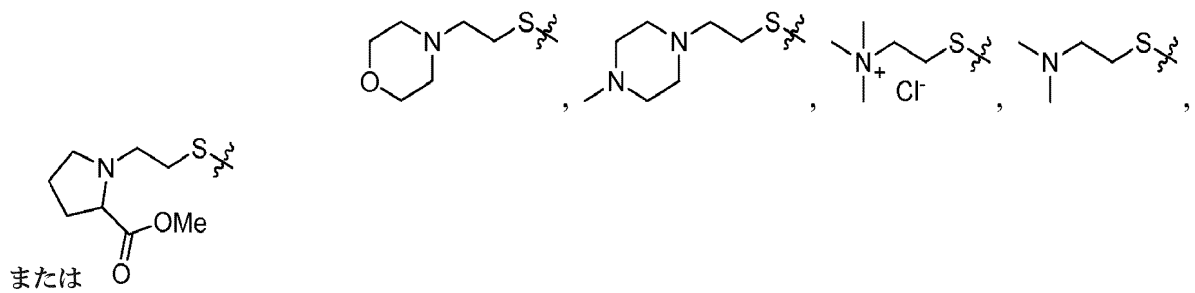
いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、Ｌは

【化３１６】



であり、イオウ原子はR^1に結合し、Ｒ１は

【化３１７】



であり、イオウ原子はＬに結合する。

【０９２５】

いくつかの実施形態では、硫化試薬はＳ－Ｉ又はＳ－ＩＩの構造を有し、R^1は－Ｓ－R^{L2}であり、R^{L2}は上及び本明細書に定義され記載される通りである。いくつかの実施形態では、R^{L2}は－Ｓ－（C_1～C_6アルキレン）－ヘテロシクリル、－Ｓ－（C_1～C_6アルケニレン）－ヘテロシクリル、－Ｓ－（C_1～C_6アルキレン）－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｓ－（C_1～C_6アルキレン）－Ｎ（Ｒ’）$_3$より選択される置換されていてもよい基であり、各Ｒ’は上に定義され本明細書に記載される通りである。

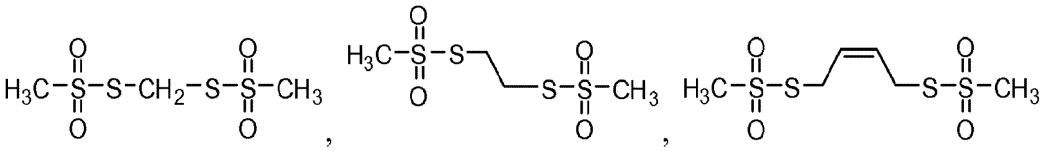
【０９２６】

いくつかの実施形態では、－Ｌ－R^1は－R^{L3}－Ｓ－Ｓ－R^{L2}であり、各変数は互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りである。いくつかの実施形態では、－Ｌ－R^1は－R^{L3}－Ｃ（Ｏ）－Ｓ－Ｓ－R^{L2}であり、各変数は互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りである。

【０９２７】

式Ｓ－ＩＩの例示的ビス（チオスルホン酸）試薬を下に示す：

【化３１８】



【０９２８】

いくつかの実施形態では、硫化試薬は次の式のうちの１つを有する化合物であり：

S_8、$R^{s2}-S-S-R^{s3}$、又は$R^{s2}-S-X^{s}-R^{s3}$、

式中、

R^{s2}及びR^{s3}のそれぞれは互いに独立して、脂肪族、アミノアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシル、アミド、イミド、又はチオカルボニルより選択される置換されていてもよい基であり；又は

R^{s2}及びR^{s3}はそれらが結合している原子とともに一緒になって、置換されていてもよい複素環又はヘテロアリール環を形成し；

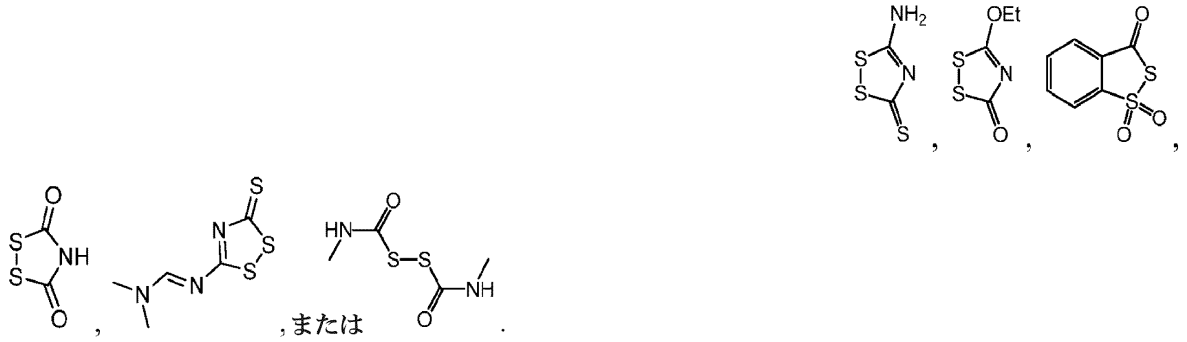
X^{s}は－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｏ－、又は－Ｎ（Ｒ’）－であり；及び

Ｒ’は上及び本明細書に定義され記載される通りである。

【０９２９】

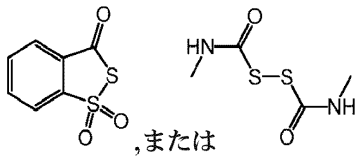
いくつかの実施形態では、硫化試薬はS_8、

【化３１９】



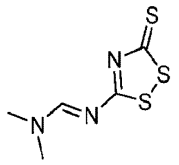
である。いくつかの実施形態では、硫化試薬はS_8、

【化３２０】



である。いくつかの実施形態では、硫化試薬は

【化３２１】



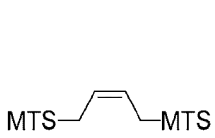
である。

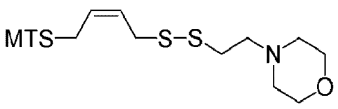
【０９３０】

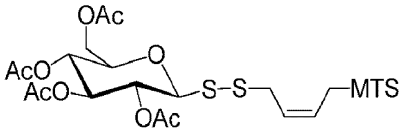
例示的な硫化試薬を下の表５に示す。

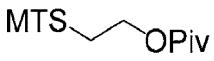
表５　例示的硫化試薬

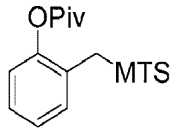
【表７】

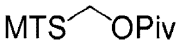


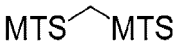


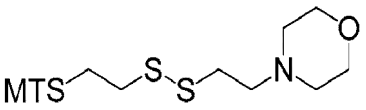


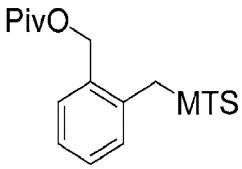


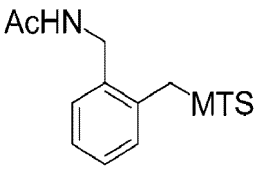


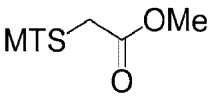


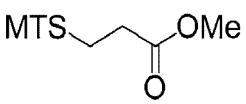


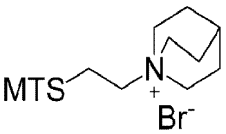


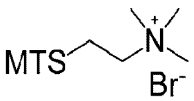


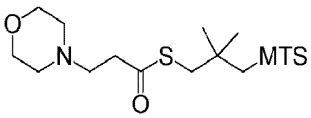


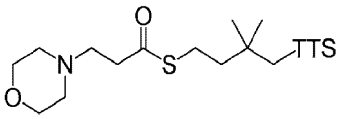


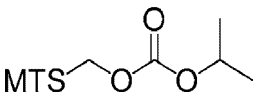


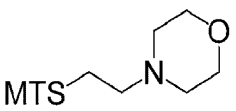


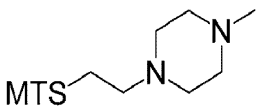


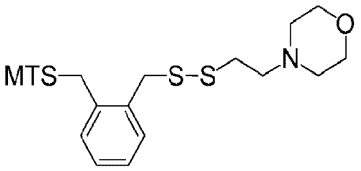


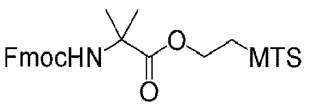


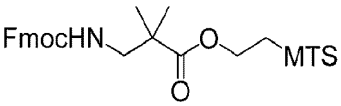


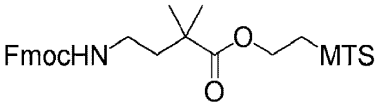


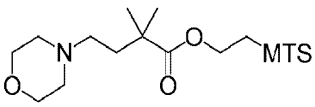


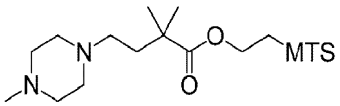


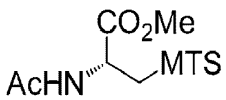


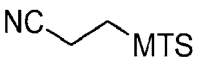


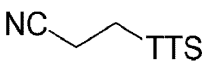


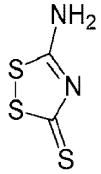


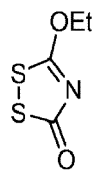


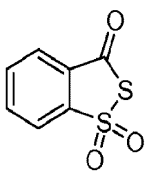


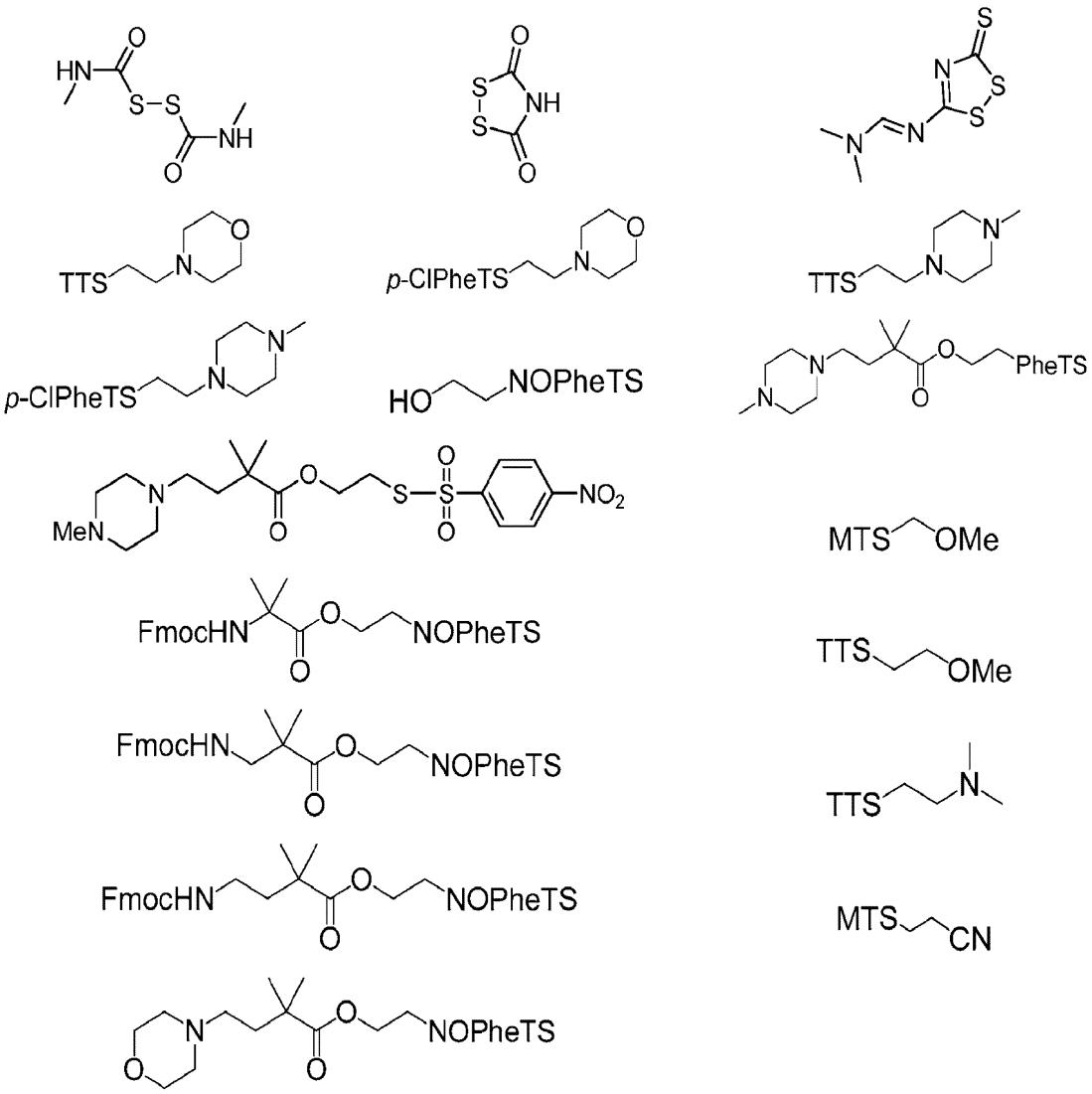








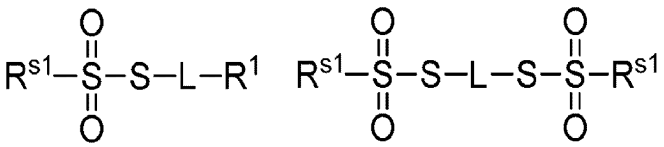




【０９３１】

いくつかの実施形態では、提供される硫化試薬を用いてＨ－ホスホネートを修飾する。例えば、いくつかの実施形態では、Ｈ－ホスホネートオリゴヌクレオチドは、例えば、Ｗａｄａ　Ｉ又はＷａｄａ　ＩＩの方法を用いて合成し、式Ｓ－Ｉ又はＳ－ＩＩの硫化試薬を用いて修飾する：

【化３２２】



S-I　　S-II

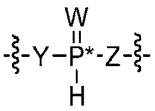
式中、R^{s1}、Ｌ、及びR^{1}のそれぞれは上及び本明細書に記載され定義される通りである。

【０９３２】

いくつかの実施形態では、本発明はホスホロチオエートトリエステルを合成する方法を提供し、本方法は、

ｉ）構造：

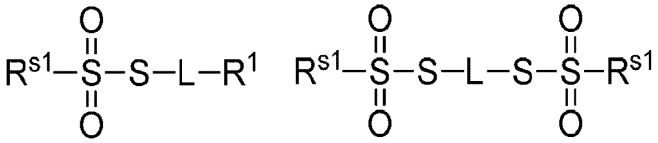
【化３２３】



（式中、Ｗ、Ｙ、及びＺのそれぞれは上及び本明細書に記載され定義される通りであり、シリル化試薬とともにシリルオキシホスホネートを提供する）のＨ－ホスホネートを反応させるステップと、

ｉｉ）シリルオキシホスホネートを構造Ｓ－Ｉ又はＳ－ＩＩ：

【化３２４】



S-I　　S-II

の硫化試薬と反応させ、ホスホロチオトリエステルを提供するステップと、

を含む。

【０９３３】

いくつかの実施形態では、セレニウム求電子試薬を硫化試薬の代わりに用いてヌクレオチド間結合へ修飾を導入する。いくつかの実施形態では、セレニウム求電子試薬は次の式の１つを有する化合物であり：

Ｓｅ、R^{s2}－Ｓｅ－Ｓｅ－R^{s3}、又はR^{s2}－Ｓｅ－X^{s}－R^{s3}、

式中、R^{s2}及びR^{s3}のそれぞれは互いに独立して、脂肪族、アミノアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシル、アミド、イミド、又はチオカルボニルより選択される置換されていてもよい基であり；又は

R^{s2}及びR^{s3}はそれらが結合している原子とともに一緒になって、置換されていてもよい複素環又はヘテロアリール環を形成し；

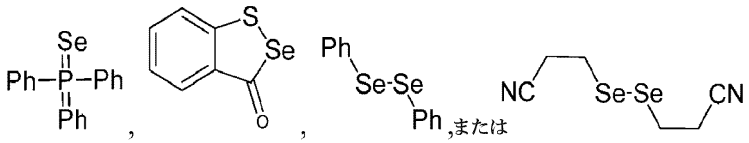
X^{s}は－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｏ－、又は－Ｎ（Ｒ’）－であり；及び

Ｒ’は上及び本明細書に定義され記載される通りである。

【０９３４】

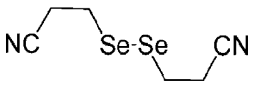
他の実施形態では、セレニウム求電子試薬はＳｅ、ＫＳｅＣＮ、

【化３２５】



の化合物である。いくつかの実施形態では、セレニウム求電子試薬はＳｅ又は

【化３２６】



である。

【０９３５】

いくつかの実施形態では、本発明に従って用いられる硫化試薬は、硫化の間リンに移動する成分が単一イオウ原子（例えば、－Ｓ$^{-}$又は＝Ｓ）ではなく置換イオウ（例えば、－ＳＲ）であることを特徴とする。

【０９３６】

いくつかの実施形態では、本発明に従って用いられる硫化試薬は、試薬の活性が、所定の電子吸引基又は電子供与基で試薬を修飾することによって調節可能であることを特徴とする。

【０９３７】

いくつかの実施形態では、本発明に従って用いられる硫化試薬は、それが結晶性であることを特徴とする。いくつかの実施形態では、本発明に従って用いられる硫化試薬は、それが高い結晶化度を有することを特徴とする。ある特定の実施形態では、本発明に従って用いられる硫化試薬は、例えば再結晶によって試薬の精製が容易であることを特徴とする。ある特定の実施形態では、本発明に従って用いられる硫化試薬は、それにイオウ含有不純物が実質的にないことを特徴とする。いくつかの実施形態では、イオウ含有不純物が実質的にない硫化試薬は効率の向上を示す。

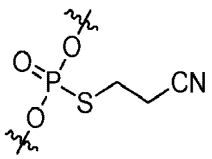
【０９３８】

いくつかの実施形態では、提供されるキラル制御オリゴヌクレオチドは１つ又は複数のリン酸ジエステル結合を含む。かかるキラル制御オリゴヌクレオチドを合成するために、１つ又は複数の修飾ステップを酸化ステップに置き換えて、同等のリン酸ジエステル結合を導入してもよい。いくつかの実施形態では、酸化ステップは、通常のオリゴヌクレオチド合成と同様に実施する。いくつかの実施形態では、酸化ステップはI_2の使用を含む。いくつかの実施形態では、酸化ステップはI_2及びピリジンの使用を含む。いくつかの実施形態では、酸化ステップは、ＴＨＦ／ピリジン／水（７０：２０：１０－ｖ／ｖ／ｖ）共溶媒系中０．０２Ｍ　I_2の使用を含む。例示的サイクルをスキームＩ－ｃに示す。

【０９３９】

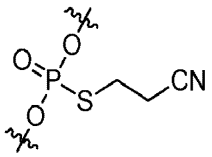
いくつかの実施形態では、ホスホロチオエート前駆体を用いて、ホスホロチオエート結合を含むキラル制御オリゴヌクレオチドを合成する。いくつかの実施形態では、かかるホスホロチオエート前駆体は

【化３２７】



である。いくつかの実施形態では、

【化３２８】



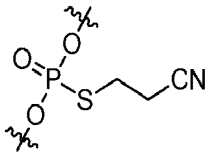
は、サイクル終了後、標準脱保護／放出手順の間、ホスホロチオエートジエステル結合へと変換される。例をさらに下に示す。

【０９４０】

いくつかの実施形態では、提供されるキラル制御オリゴヌクレオチドは１つ又は複数のリン酸ジエステル結合及び１つ又は複数のホスホロチオエートジエステル結合を含む。いくつかの実施形態では、提供されるキラル制御オリゴヌクレオチドは１つ又は複数のリン酸ジエステル結合及び１つ又は複数のホスホロチオエートジエステル結合を含み、少なくとも１つのリン酸ジエステル結合は、３’から５’に合成されるとき全てのホスホロチオエートジエステル結合の後で導入される。かかるキラル制御オリゴヌクレオチドを合成するために、いくつかの実施形態では、１つ又は複数の修飾ステップを酸化ステップに置き換えて、同等のリン酸ジエステル結合を導入してもよく、ホスホロチオエート前駆体をホスホロチオエートジエステル結合のそれぞれに対して導入する。いくつかの実施形態では、所望のオリゴヌクレオチド長を達成した後、ホスホロチオエート前駆体をホスホロチオ

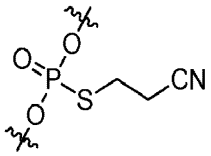
エートジエステル結合に変換する。いくつかの実施形態では、サイクル終了の間か後の脱保護／放出ステップでホスホロチオエート前駆体をホスホロチオエートジエステル結合に変換する。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエート前駆体は、それをβ脱離経路によって除去できることを特徴とする。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエート前駆体は

【化３２９】



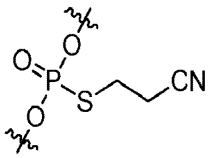
である。当業者に理解されるように、合成の間、ホスホロチオエート前駆体、例えば、

【化３３０】



を使用する利点の１つは、

【化３３１】



はある特定の条件下でホスホロチオエートより安定しているということである。

【０９４１】

いくつかの実施形態では、ホスホロチオエート前駆体は、本明細書に記載されるリン保護基、例えば、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－ｔｅｒｔ－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、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。例をさらに下に示す。

【０９４２】

所望の硫化試薬を合成する方法は、本明細書及び実施例の項に記載される。

【０９４３】

上に記する通り、いくつかの実施形態では、硫化は、増殖しているオリゴヌクレオチドからキラル試薬を切断する条件下で起こる。いくつかの実施形態では、硫化は、増殖しているオリゴヌクレオチドからキラル試薬を切断しない条件下で起こる。

【０９４４】

いくつかの実施形態では、硫化試薬を適切な溶媒に溶解させ、カラムに送り込む。ある特定の実施形態では、溶媒は、ニトリル溶媒等の極性非プロトン性溶媒である。いくつかの実施形態では、溶媒はアセトニトリルである。いくつかの実施形態では、硫化試薬の溶液は、ニトリル溶媒（例えば、アセトニトリル）中で、硫化試薬（例えば、本明細書に記載されるチオスルホン酸誘導体）をＢＳＴＦＡ（Ｎ，Ｏ－ビス－トリメチルシリル－トリフルオロアセトアミド）と混合することによって調製する。いくつかの実施形態では、ＢＳＴＦＡを含まない。例えば、本発明者は、一般式$R^{s2}-S-S(O)_2-R^{s3}$の比

較的より反応性のある硫化試薬がしばしば、ＢＳＴＦＡの不存在下、硫化反応に問題なく関与できることを見い出した。ほんの一例を挙げると、発明者は、R^{s2}がｐ－ニトロフェニルで、R^{s3}がメチルである場合ＢＳＴＦＡが必要ないことを例証した。本開示を参考にすると、当業者は、ＢＳＴＦＡを必要としない他の状況及び／又は硫化試薬を決定することが容易に可能となるであろう。

【０９４５】

いくつかの実施形態では、硫化ステップを室温で実施する。いくつかの実施形態では、硫化ステップをより低い温度、例えば、約０℃、約５℃、約１０℃、又は約１５℃で実施する。いくつかの実施形態では、硫化ステップを約２０℃より高い温度で実施する。

【０９４６】

いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約１２０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約９０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約６０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約３０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約２５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約２０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約１５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１分～約１０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約５分～約６０分間行う。

【０９４７】

いくつかの実施形態では、硫化反応は約５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約１５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約２０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約２５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約３０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約３５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約４０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約４５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約５０分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約５５分間行う。いくつかの実施形態では、硫化反応は約６０分間行う。

【０９４８】

本発明の方法に従って作られる硫化修飾産物のいくつかは予想外に安定であることが期せずして見い出された。いくつかの実施形態では、予想外に安定な産物はホスホロチオエートトリエステルである。いくつかの実施形態では、予想外に安定な産物は、式Ｉ－ｃの構造を有する１つ又は複数のヌクレオチド間結合を含むキラル制御オリゴヌクレオチドである。

【０９４９】

当業者は、本明細書に記載される硫化方法及び本明細書に記載される硫化試薬はまた、Ｗａｄａ　ＩＩ（ＷＯ２０１０／０６４１４６）に記載されるもの等、修飾Ｈ－ホスホネートオリゴヌクレオチドに関連して有用であることを認識する。

【０９５０】

いくつかの実施形態では、硫化反応は、少なくとも約８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、又は９８％の段階的硫化効率を有する。いくつかの実施形態では、硫化反応は少なくとも純度９８％の粗ジヌクレオチド産物組成物を提供する。いくつかの実施形態では、硫化反応は少なくとも純度９０％の粗テトラヌクレオチド産物組成物を提供する。いくつかの実施形態では、硫化反応は少なくとも純度７０％の粗ドデカヌクレオチド産物組成物を提供する。いくつかの実施形態では、硫化反応は少なくとも純度５０％の粗イコサヌクレオチド産物組成物を提供する。

【０９５１】

結合リンを修飾するステップが完了すると、オリゴヌクレオチドは、サイクルを再開するための準備として別の脱ブロッキングステップを経る。いくつかの実施形態では、キラル補助基は硫化後無傷のままであり、続く脱ブロッキングステップの間脱ブロッキングされ、この脱ブロッキングステップはサイクルを再開する前に必ず起こる。脱ブロッキング、カップリング、キャッピング、及び修飾のステップは、増殖しているオリゴヌクレオチ

ドが所望の長さに達するまで繰り返し、所望の長さに達した時点でオリゴヌクレオチドを、固体支持体から直ぐに切断するか、精製目的の支持体に付けたままとして後で切断するか、どちらかが可能である。いくつかの実施形態では、１つ又は複数の保護基は、ヌクレオチド塩基の１つ又は複数において存在し、支持体からのオリゴヌクレオチドの切断と塩基の脱保護は単一ステップにおいて起こる。いくつかの実施形態では、１つ又は複数の保護基は、ヌクレオチド塩基の１つ又は複数において存在し、支持体からのオリゴヌクレオチドの切断と塩基の脱保護は１つより多数のステップにおいて起こる。いくつかの実施形態では、脱保護と、支持体からの切断とは、例えば、１つ又は複数のアミン塩基を用いた塩基性条件下で起こる。ある特定の実施形態では、１つ又は複数のアミン塩基はプロピルアミンを含む。ある特定の実施形態では、１つ又は複数のアミン塩基はピリジンを含む。

【０９５２】

いくつかの実施形態では、支持体からの切断及び／又は脱保護は、約３０℃～約９０℃の高温で起こる。いくつかの実施形態では、支持体からの切断及び／又は脱保護は、約４０℃～約８０℃の高温で起こる。いくつかの実施形態では、支持体からの切断及び／又は脱保護は、約５０℃～約７０℃の高温で起こる。いくつかの実施形態では、支持体からの切断及び／又は脱保護は、約６０℃の高温で起こる。いくつかの実施形態では、支持体からの切断及び／又は脱保護は、周囲温度で起こる。

【０９５３】

例示的な精製手順は、本明細書に記載されかつ当技術分野で周知であるか、又はそのいずれかである。

【０９５４】

注目すべきは、各サイクル中、増殖しているオリゴヌクレオチドからキラル補助基を除去することが少なくとも次の理由で有利であることであり、その理由とは、（１）敏感な可能性のある官能基をリンに導入するオリゴヌクレオチド合成の最後に、何らかの分離ステップで補助基を除去する必要がないこと、（２）副反応を起こしやすく、かつ／又は後続化学作用へ干渉しやすい不安定なリン－補助基中間体が避けられることである。このようにして、各サイクル中のキラル補助基の除去は合成全体をより効率的にする。

【０９５５】

脱ブロッキングのステップがサイクルとの関連において上に記載されているが、一方、追加の一般的方法が下の通り含まれる。

【０９５６】

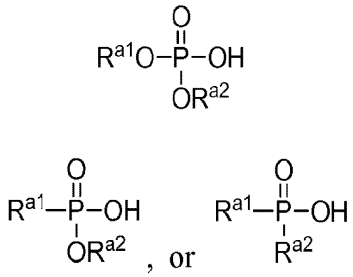
脱ブロッキングステップ

いくつかの実施形態では、カップリングのステップは、その前に脱ブロッキングのステップが来る。例えば、いくつかの実施形態では、増殖しているオリゴヌクレオチドの５’ヒドロキシル基をブロッキングし（即ち、保護し）、それを続いてヌクレオシド・カップリングパートナーと反応させるためには脱ブロッキングしなければならない。

【０９５７】

いくつかの実施形態では、酸性化を用いてブロック基を除去する。いくつかの実施形態では、酸はブレンステッド酸又はルイス酸である。有用なブレンステッド酸としては、有機溶媒又は水（８０％酢酸の場合）中に－０．６（トリフルオロ酢酸）～４．７６（酢酸）のｐＫａ（水中２５℃）値を有する、カルボン酸、アルキルスルホン酸、アリールスルホン酸、リン酸及びその誘導体、ホスホン酸及びその誘導体、アルキルホスホン酸及びそれらの誘導体、アリールホスホン酸及びそれらの誘導体、ホスフィン酸、ジアルキルホスフィン酸、並びにジアリールホスフィン酸がある。酸性化ステップで用いられる酸（１～８０％）の濃度は酸の酸性度による。強酸性条件は、脱プリン／脱ピリミジンを生じ、プリニル塩基又はピリミジニル塩基がリボース環及び／又は他の糖環から切断されるので、酸強度を考慮に入れなければならない。いくつかの実施形態では、酸は$R^{a1}COOH$、$R^{a1}SO_3H$、$R^{a3}SO_3H$、

【化３３２】



より選択され、式中、Ｒ^{ａ１}及びＲ^{ａ２}のそれぞれは互いに独立して水素又は置換されていてもよいアルキル若しくはアリールであり、Ｒ^{ａ３}は置換されていてもよいアルキル又はアリールである。

【０９５８】

いくつかの実施形態では、酸性化は有機溶媒中ルイス酸によって達成する。例示的なかかる有用なルイス酸としては、Ｚｎ（Ｘ^{ａ}）$_{２}$があり、Ｘ^{ａ}はＣｌ、Ｂｒ、Ｉ、又はＣＦ$_{３}$ＳＯ$_{３}$である。

【０９５９】

いくつかの実施形態では、酸性化のステップは、プリン成分を縮合中間体から除去することなくブロック基を除去するのに有効な量のブレンステッド酸又はルイス酸を添加することを含む。

【０９６０】

酸性化ステップに有用な酸としてはまた、有機溶媒中１０％リン酸、有機溶媒中１０％塩酸、有機溶媒中１％トリフルオロ酢酸、有機溶媒中３％ジクロロ酢酸又はトリクロロ酢酸又は水中８０％酢酸が挙げられるが、これらに限定されない。このステップで用いられるどのようなブレンステッド酸又はルイス酸の濃度も、酸の濃度が、糖成分からの核酸塩基の切断を起こす濃度を超えないように選択する。

【０９６１】

いくつかの実施形態では、酸性化は、有機溶媒中約１％トリフルオロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、有機溶媒中約０．１％～約８％トリフルオロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、有機溶媒中３％のジクロロ酢酸又はトリクロロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、有機溶媒中約０．１％～約１０％ジクロロ酢酸又はトリクロロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、有機溶媒中３％トリクロロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、有機溶媒中約０．１％～約１０％トリクロロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、水中８０％酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、水中約５０％～約９０％、又は約５０％～約８０％、約５０％～約７０％、約５０％～約６０％、約７０％～約９０％酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、酸性化は、さらに酸性溶媒へカチオンスカベンジャーを添加することを含む。ある特定の実施形態では、カチオンスカベンジャーはトリエチルシラン又はトリイソプロピルシランであってもよい。いくつかの実施形態では、ブロック基を酸性化によって脱ブロッキングし、これは有機溶媒中１％トリフルオロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、ブロック基を酸性化によって脱ブロッキングし、これは有機溶媒中３％ジクロロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、ブロック基を酸性化によって脱ブロッキングし、これは有機溶媒中３％トリクロロ酢酸を添加することを含む。いくつかの実施形態では、ブロック基を酸性化によって脱ブロッキングし、これはジクロロメタン中３％トリクロロ酢酸を添加することを含む。

【０９６２】

ある特定の実施形態では、本発明の方法は、合成装置上で完了し、増殖しているオリゴヌクレオチドのヒドロキシル基を脱ブロッキングするステップは、いくらかの量の溶媒を

合成装置カラムへ送り込むことを含み、このコラムは、オリゴヌクレオチドを付ける固体支持体を含有する。いくつかの実施形態では、溶媒は、ハロゲン化溶媒（例えば、ジクロロメタン）である。ある特定の実施形態では、溶媒は、いくらかの量の酸を含む。いくつかの実施形態では、溶媒は、いくらかの量の有機酸、例えばトリクロロ酢酸を含む。ある特定の実施形態では、酸は約１％～約２０％ｗ／ｖの量で存在する。ある特定の実施形態では、酸は約１％～約１０％ｗ／ｖの量で存在する。ある特定の実施形態では、酸は約１％～約５％ｗ／ｖの量で存在する。ある特定の実施形態では、酸は約１％～約３％ｗ／ｖの量で存在する。ある特定の実施形態では、酸は約３％ｗ／ｖの量で存在する。ヒドロキシル基を脱ブロッキングする方法は本明細書にさらに記載される。いくつかの実施形態では、酸は、ジクロロメタン中３％ｗ／ｖで存在する。

【０９６３】

いくつかの実施形態では、キラル補助基は、脱ブロッキングステップの前に除去する。いくつかの実施形態では、キラル補助基は脱ブロッキングステップの間に除去する。

【０９６４】

いくつかの実施形態では、サイクル終了を脱ブロッキングステップの前に実施する。いくつかの実施形態では、サイクル終了を脱ブロッキングステップの後に実施する。

【０９６５】

ブロック基／保護基除去の一般的条件

核酸塩基又は糖成分上に位置するヒドロキシル成分又はアミノ成分等の官能基は、合成の間ブロック（保護）基（成分）でルーチン的にブロッキングされ、その後脱ブロッキングされる。一般に、ブロック基は分子の化学官能成分を特定の反応条件に対して不活性とし、後でブロック基を分子内のそのような官能成分から、分子の残りを実質的に損傷することなく除去することが可能である（例えば、Ｇｒｅｅｎ ａｎｄ Ｗｕｔｓ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，２ｎｄ Ｅｄ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９１参照）。例えば、アミノ基は、フタルイミド、９－フルドレニルメトキシカルボニル（ｆｌｕｄｒｅｎｙｌｍｅｔｈｏｘｙｃａｒｂｏｎｙｌ）（ＦＭＯＣ）、トリフェニルメチルスルフェニル、ｔ－ＢＯＣ、４，４’－ジメトキシトリチル（ＤＭＴｒ）、４－メトキシトリチル（ＭＭＴｒ）、９－フェニルキサンチン－９－イル（ピキシル）、トリチル（Ｔｒ）、又は９－（ｐ－メトキシフェニル）キサンチン－９－イル（ＭＯＸ）等の窒素ブロック基でブロッキングすることができる。カルボキシル基はアセチル基として保護できる。ヒドロキシ基は、テトラヒドロピラニル（ＴＨＰ）、ｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ）、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（Ｃｔｍｐ）、１－（２－フルオロフェニル）－４－メトキシピペリジン－４－イル（Ｆｐｍｐ）、１－（２－クロロエトキシ）エチル、３－メトキシ－１，５－ジカルボメトキシペンタン－３－イル（ＭＤＰ）、ビス（２－アセトキシエトキシ）メチル（ＡＣＥ）、トリイソプロピルシリルオキシメチル（ＴＯＭ）、１－（２－シアノエトキシ）エチル（ＣＥＥ）、２－シアノエトキシメチル（ＣＥＭ）、［４－（Ｎ－ジクロロアセチル－Ｎ－メチルアミノ）ベンジルオキシ］メチル、２－シアノエチル（ＣＮ）、ピバロイルオキシメチル（ＰｉｖＯＭ）、レヴュニル（ｌｅｖｕｎｙｌ）オキシメチル（ＡＬＥ）等として保護できる。他の代表的なヒドロキシルブロック基については記載がなされている（例えば、Ｂｅａｕｃａｇｅ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，１９９２，４６，２２２３参照）。いくつかの実施形態では、ヒドロキシルブロック基は、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、９－フェニルキサンチン－９－イル（ピキシル）及び９－（ｐ－メトキシフェニル）キサンチン－９－イル（ＭＯＸ）等、酸に不安定な基である。化学官能基はまた、それらを前駆体形式で含むことによってブロッキングすことが可能である。このようにして、アジド基は容易にアミンに変換されるので、アミンのブロッキング形式と考えることができる。核酸合成において利用されるさらなる代表的保護基が知られている（例えば、Ａｇｒａｗａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｆｏｒ Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ，Ｅｄｓ．

，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｊｅｒｓｅｙ，１９９４，Ｖｏｌ．２６，ｐｐ．１－７２参照）。

【０９６６】

核酸からブロック基を除去する種々の方法が知られ、用いられる。いくつかの実施形態では、全てのブロック基を除去する。いくつかの実施形態では、ブロック基の一部を除去する。いくつかの実施形態では、反応条件は、所定のブロック基を選択的に除去するように調整可能である。

【０９６７】

いくつかの実施形態では、核酸塩基ブロック基が存在する場合、それは、提供されるオリゴヌクレオチドの構築の後、酸性試薬で切断可能である。いくつかの実施形態では、核酸塩基ブロック基が存在する場合、それは、酸性条件下でも塩基性条件下でも切断可能ではなく、例えば、フッ化物塩又はフッ化水素酸複合体で切断可能である。いくつかの実施形態では、核酸塩基ブロック基が存在する場合、それは、提供されるオリゴヌクレオチドの構築の後、塩基又は塩基性溶媒の存在下で切断可能である。ある特定の実施形態では、核酸塩基ブロック基の１つ又は複数は、提供されるオリゴヌクレオチドの構築の後、塩基又は塩基性溶媒の存在下で切断可能であるが、提供されるオリゴヌクレオチドの構築の間先に起こる１つ又は複数の脱保護ステップの特定の条件に対して安定していることを特徴とする。

【０９６８】

いくつかの実施形態では、核酸塩基にブロック基は必要とされない。いくつかの実施形態では、核酸塩基にブロック基が必要とされる。いくつかの実施形態では、所定の核酸塩基は１つ又は複数のブロック基を必要とし、一方、他の核酸塩基は１つ又は複数のブロック基を必要としない。

【０９６９】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、合成の後固体支持体から切断される。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、ピリジン中プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、ピリジン中２０％プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、無水ピリジン中プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、無水ピリジン中２０％プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、アセトニトリル、ＮＭＰ、ＤＭＳＯ、スルホン、及び／又はルチジン等の極性非プロトン性溶媒の使用を含む。いくつかの実施形態では、固体支持体からの切断は、溶媒、例えば極性非プロトン性溶媒、並びに１つ若しくは複数の一次アミン（例えば、$Ｃ_{１～１０}$アミン）、並びに／又は、１つ又は複数のメトキシルアミン（ｍｅｔｈｏｘｙｌａｍｉｎｅ）、ヒドラジン、及び純無水アンモニアの１つ若しくは複数、の使用を含む。

【０９７０】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドの脱保護はプロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドの脱保護はピリジン中プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドの脱保護はピリジン中２０％プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドの脱保護は無水ピリジン中プロピルアミンの使用を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドの脱保護は無水ピリジン中２０％プロピルアミンの使用を含む。

【０９７１】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、切断中に脱保護される。

【０９７２】

いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、およそ室温で実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、高温で実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌク

レオチドの脱保護は、約３０℃、４０℃、５０℃、６０℃、７０℃、８０℃、９０℃、又は１００℃のそれぞれより高い温度で実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約３０℃、４０℃、５０℃、６０℃、７０℃、８０℃、９０℃、又は１００℃で実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約４０℃～８０℃で実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約５０℃～７０℃で実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約６０℃で実施する。

【０９７３】

いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、０．１時間、１時間、２時間、５時間、１０時間、１５時間、２０時間、２４時間、３０時間、又は４０時間のそれぞれより長く実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約０．１～５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約３～１０時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約５～１５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約１０～２０時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約１５～２５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約２０～４０時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約２時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約１０時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約１５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約１８時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約２４時間実施する。

【０９７４】

いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、室温で、０．１時間、１時間、２時間、５時間、１０時間、１５時間、２０時間、２４時間、３０時間、又は４０時間のそれぞれより長く実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、室温で、約５～４８時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、室温で、約１０～２４時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、室温で、約１８時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、高温で、０．１時間、１時間、２時間、５時間、１０時間、１５時間、２０時間、２４時間、３０時間、又は４０時間のそれぞれより長く実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、高温で、約０．５～５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約６０℃で、約０．５～５時間実施する。いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、約６０℃で、約２時間実施する。

【０９７５】

いくつかの実施形態では、固体支持体からのオリゴヌクレオチドの切断、又はオリゴヌクレオチドの脱保護は、プロピルアミンの使用を含み、室温又は高温で、０．１時間、１時間、２時間、５時間、１０時間、１５時間、２０時間、２４時間、３０時間、又は４０時間のそれぞれより長く実施する。例示的な条件は、室温で約１８時間ピリジン中２０％プロピルアミン、及び６０℃で約１８時間ピリジン中２０％プロピルアミンである。

【０９７６】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、キラル制御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ジエステル結合又は少なくとも１つの、式Ｉ－ｃの構造を有するヌクレオチド間結合を含む。

【０９７７】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、（１）～（４）のうち少なくとも１つのサイクルはホスホロチオエートジエステル結合を形成する。

【０９７８】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、（１）～（４）のうち少なくとも１つのサイクルは、式Ｉ－ｃの構造を有するヌクレオチド間結合を形成する。

【０９７９】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

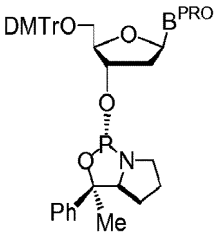
（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、

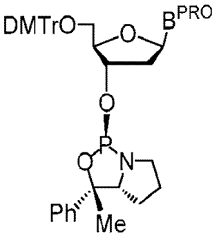
カップリングステップは活性化基及び

【化３３３】



又は

【化３３４】



を含み、式中、Ｂ^{ＰＲＯ}は保護核酸塩基であり；

キャッピングステップはキラル補助基におけるアミノ基のキャッピング及び未反応５’－ＯＨのキャッピングを含み；

修飾ステップは結合リンへの－Ｓ－Ｌ－Ｒ^{1}基の導入を含み、式中、Ｌ及びＲ^{1}のそれぞれは互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りであるり；

脱ブロッキング（ｄｅｌｏｃｋｉｎｇ）ステップは酸の使用を含む。

【０９８０】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

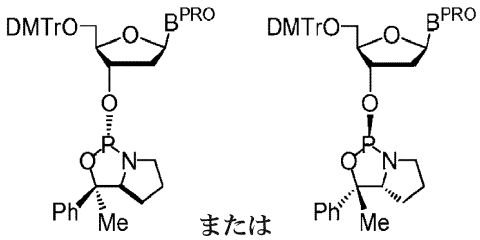
（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、

カップリングステップはＣＭＰＴ及び

【化３３５】



を含み、式中、Ｂ^{ＰＲＯ}は保護核酸塩基であり；

キャッピングステップはキラル補助基におけるアミノ基のキャッピング及び未反応５’－ＯＨのキャッピングを含み；

修飾ステップは結合リンへの－Ｓ－Ｌ－Ｒ^{1}基の導入を含み、式中、Ｌ及びＲ^{1}のそれぞれは互いに独立して上に定義され本明細書に記載される通りであるり；

脱ブロッキング（ｄｅｌｏｃｋｉｎｇ）ステップは酸の使用を含む。

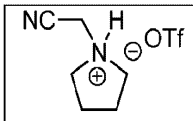
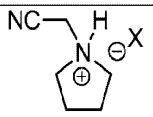
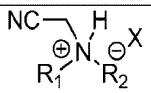
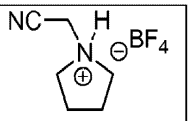
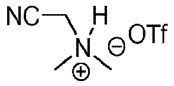
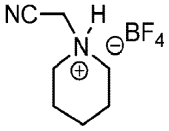
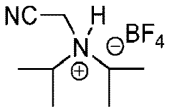
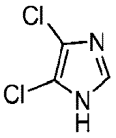
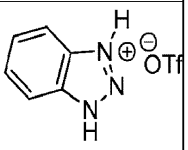
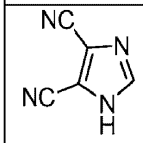
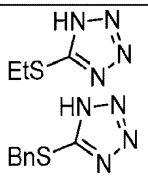
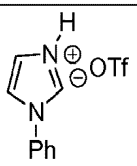
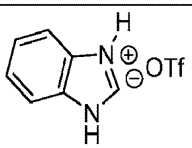
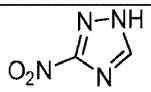
【０９８１】

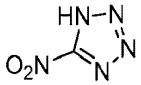
いくつかの実施形態では、活性化剤は「Ｗａｄａ」活性化剤であり、即ち、活性化剤は、上に引用されるＷａｄａ　Ｉ、ＩＩ、又はＩＩＩ文書のいずれかを拠り所とする。

【０９８２】

例示的な活性化基を下に示す：

【化３３６】

	 X＝非求核性アニオン	 X = $^{-}$OTf, BF_4^{-}, PF6^{-}, TfN^{-}		
				
				

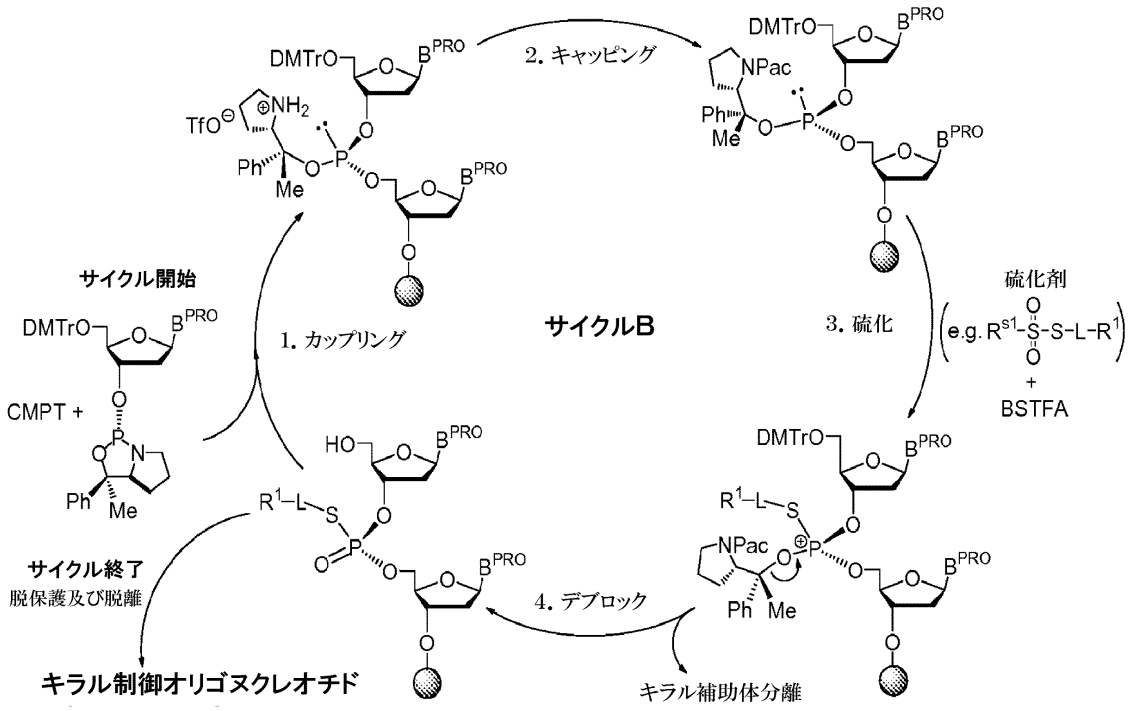
				

【０９８３】

例示的サイクルをスキームＩ－ｂに示す。

スキームＩ－ｂ　ホスホロチオエート結合の導入

【化３３７】



【０９８４】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、

キラル制御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ジエステル結合又は少なくとも１つの式Ｉ－ｃのヌクレオチド間結合、及び少なくとも１つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合を含み；

少なくとも１つの修飾ステップは、酸化ステップによって置き換えられる。

【０９８５】

いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、

（１）カップリングのステップと、

（２）キャッピングのステップと、

（３）修飾のステップと、

（４）脱ブロッキングのステップと

（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、

を含み、

キラル制御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ジエステル結合又は少なくとも１つの式Ｉ－ｃのヌクレオチド間結合、及び少なくとも１つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合を含み；

少なくとも１つの修飾ステップは、I_2の使用を含む酸化ステップによって置き換えられる。

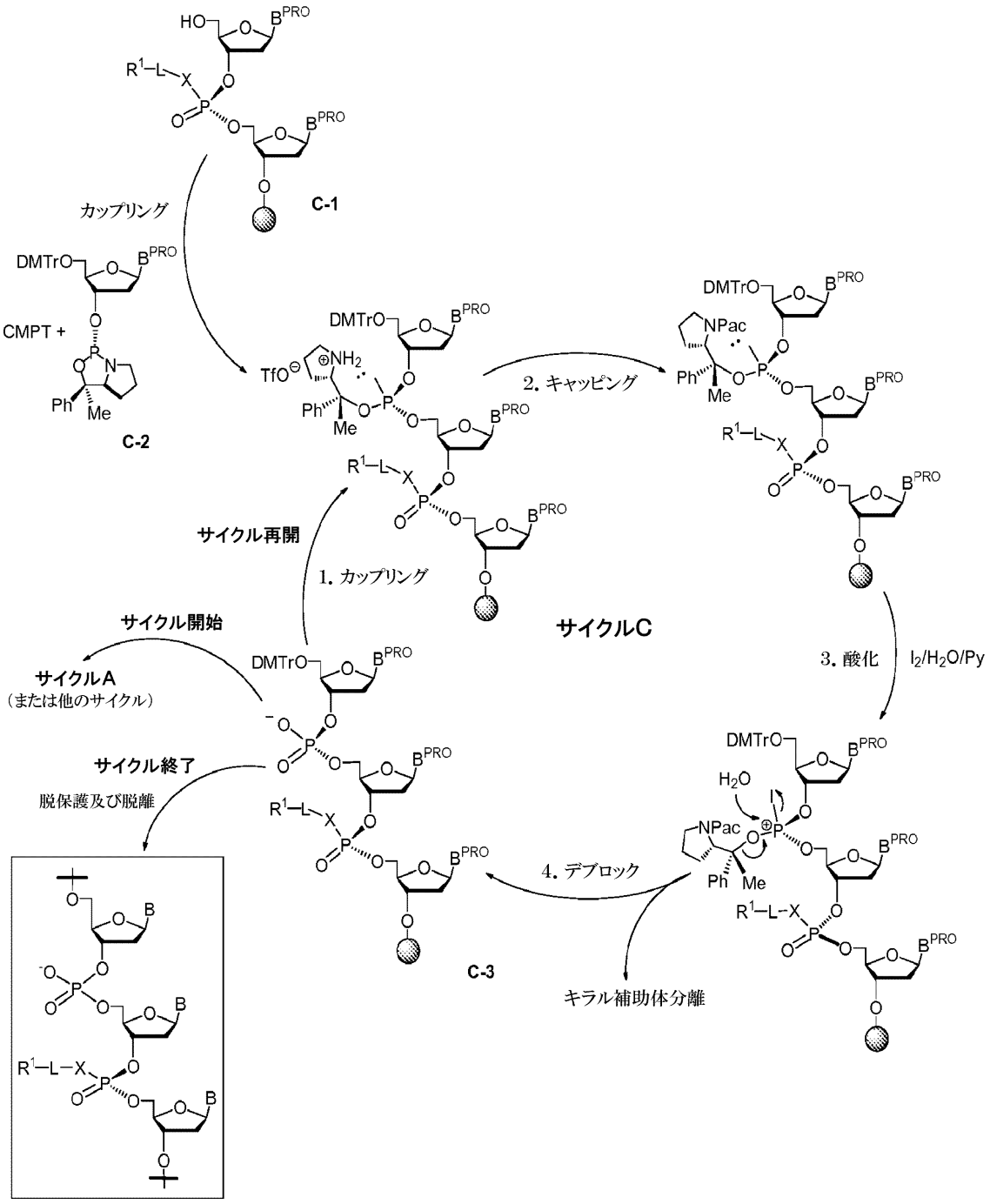
【０９８６】

例示的サイクルをスキームＩ－ｃに示す。

スキームＩ－ｃ　キラル制御オリゴヌクレオチドにおけるリン酸ジエステル及び修飾ヌ

クレオチド間結合の両方の導入

【化３３８】



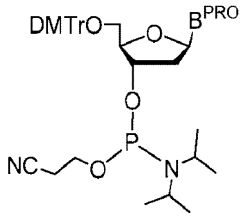
【０９８７】

スキームＩ－ｃにおいて、固体支持体（Ｃ－１）上のオリゴヌクレオチド（又はヌクレオチド、又は、修飾ヌクレオチド間結合をもったオリゴヌクレオチド）は、ホスホラミダイトＣ－２とカップリングされる。カップリングとキャッピングの後、酸化ステップを実施する。脱ブロッキングの後、リン酸ジエステル結合を形成する。サイクル産物Ｃ－３は、サイクルＣを再開してさらにリン酸ジエステル結合を導入するか、他のサイクルを開始して他のタイプのヌクレオチド間結合を導入するか、又はサイクル終了へと進むか、いずれかとなる。

【０９８８】

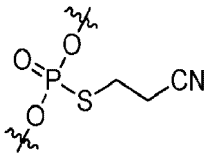
いくつかの実施形態では、非キラル純粋ホスホラミダイトを、スキームＩ－ｃにおいてＣ－２の代わりに用いることができる。いくつかの実施形態では、ＤＭＴｒで保護したβ－シアノエチルホスホラミダイトを用いる。いくつかの実施形態では、用いられるホスホ

ラミダイトは
【化３３９】

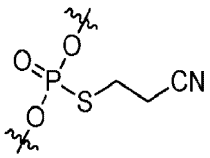


の構造を有する。
【０９８９】
いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、
（１）カップリングのステップと、
（２）キャッピングのステップと、
（３）修飾のステップと、
（４）脱ブロッキングのステップと
（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、
を含み、
キラル制御オリゴヌクレオチドは１つ又は複数のホスホロチオエートジエステル結合を含み；
１つ又は複数のホスホロチオエートジエステル前駆体は、当該ホスホロチオエートジエステル結合のそれぞれに対して形成される。
【０９９０】
いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、
（１）カップリングのステップと、
（２）キャッピングのステップと、
（３）修飾のステップと、
（４）脱ブロッキングのステップと
（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、
を含み、
キラル制御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ジエステル結合を含み；
１つ又は複数のホスホロチオエートジエステル前駆体は、当該ホスホロチオエートジエステル結合のそれぞれに対して形成され；
各ホスホロチオエートジエステル前駆体は、所望の長さが達成された後、ホスホロチオエートジエステル結合に変換される。
【０９９１】
いくつかの実施形態では、本発明はキラル制御オリゴヌクレオチドの作製方法を提供し、本方法は、
（１）カップリングのステップと、
（２）キャッピングのステップと、
（３）修飾のステップと、
（４）脱ブロッキングのステップと
（５）所望の長さを達成するまで（１）～（４）のステップを繰り返すステップと、
を含み、
キラル制御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ジエステル結合及び少なくとも１つのリン酸ジエステルヌクレオチド間結合を含み；
少なくとも１つの修飾ステップは、酸化ステップによって置き換えられ；
少なくとも１つの修飾ステップは、ホスホロチオエートジエステル結合のそれぞれにな

るためのホスホロチオエートジエステル前駆体を導入するように実施され；
　各ホスホロチオエートジエステル前駆体は、所望の長さが達成された後、ホスホロチオエートジエステル結合に変換される。
【０９９２】
　いくつかの実施形態では、ホスホロチオエートジエステル前駆体の使用は、合成の間、オリゴヌクレオチドの安定性を増加させる。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエートジエステル前駆体の使用はキラル制御オリゴヌクレオチド合成の効率を向上させる。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエートジエステル前駆体の使用はキラル制御オリゴヌクレオチド合成の収率を向上させる。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエートジエステル前駆体の使用はキラル制御オリゴヌクレオチド合成の産物純度を向上させる。
【０９９３】
　いくつかの実施形態では、上記方法におけるホスホロチオエートジエステル前駆体は、
【化３４０】

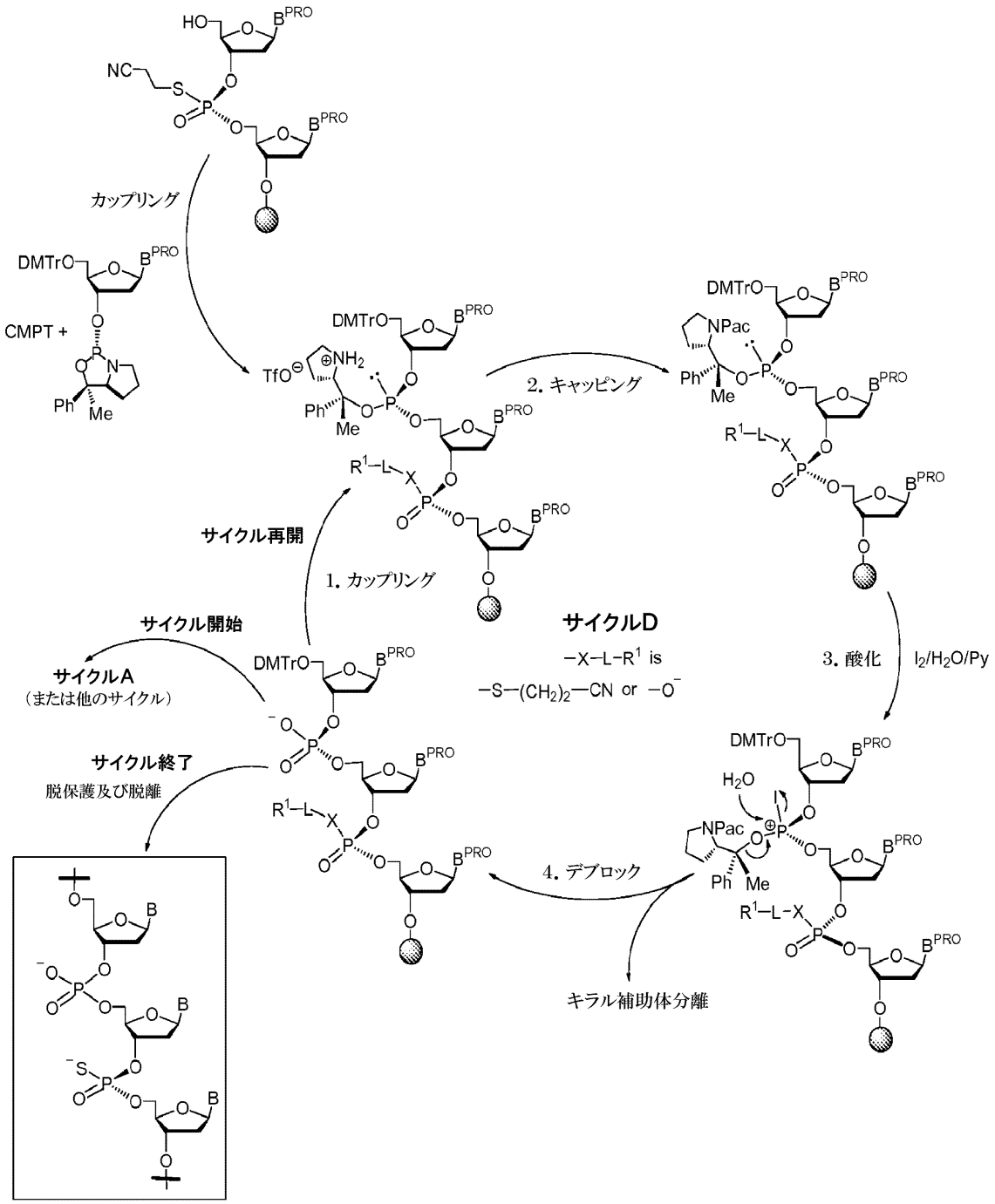


である。いくつかの実施形態では、
【化３４１】



は、脱保護／放出の間、ホスホロチオエートジエステル結合に変換される。例示的なサイクルをスキームＩ－ｄに示す。さらに例を下に示す。
　スキームＩ－ｄ　キラル制御オリゴヌクレオチド合成におけるホスホロチオエートジエステル前駆体

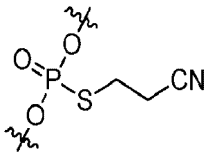
【化３４２】



【０９９４】

スキームＩ－ｄに例示する通り、ホスホロチオエート及びリン酸ジエステル結合の両方を、同じキラル制御オリゴヌクレオチドに組み入れることができる。当業者に理解される通り、提供される方法は、ホスホロチオエートジエステルとリン酸ジエステルが連続していることを必要とせず、両者間に他のヌクレオチド間結合が、上に記載のサイクルを用いて形成され得る。スキームＩ－ｄにおいて、ホスホロチオエートジエステル前駆体、

【化３４３】



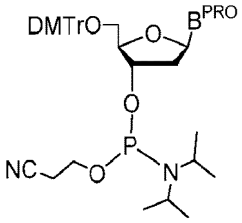
が、ホスホロチオエートジエステル結合の代わりに導入される。いくつかの実施形態では

、かかる置き換えは、所定のステップ、例えば酸化ステップの間、合成効率の向上を提供した。いくつかの実施形態では、ホスホロチオエートジエステル前駆体の使用は一般的に、合成及び／又は貯蔵の間の、キラル制御オリゴヌクレオチドの安定性を向上させる。サイクルの後、脱保護／放出の間、ホスホロチオエートジエステル前駆体はホスホロチオエートジエステル結合に変換される。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチドにリン酸ジエステル結合が存在しないとき、又は、合成の間酸化ステップが必要でないときでも、ホスホロチオエートジエステル前駆体を用いることは有益である。

【０９９５】

スキームＩ－ｃにある通り、いくつかの実施形態では、非キラル純粋ホスホラミダイトを、酸化ステップを含むサイクルに用いることができる。いくつかの実施形態では、ＤＭＴｒで保護されたβ－シアノエチルホスホラミダイトを用いる。いくつかの実施形態では、用いられるホスホラミダイトは

【化３４４】



の構造を有する。

【０９９６】

いくつかの実施形態では、本発明の方法は、特定のオリゴヌクレオチドタイプに濃縮されるキラル制御オリゴヌクレオチド組成物を提供する。

【０９９７】

いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約１０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約２０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約３０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約４０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約５０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約６０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約７０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約８０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約９０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される粗組成物の少なくとも約９５％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。

【０９９８】

いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約１％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約２％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約３％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約４％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約５％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約１０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約２０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約３０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約４０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約５０％は特定の

オリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約６０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約７０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約８０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約９０％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。いくつかの実施形態では、提供される組成物の少なくとも約９５％は特定のオリゴヌクレオチドタイプである。

【０９９９】

生物学的応用

本明細書に詳細に論じられる通り、本発明は他のことに加えてとりわけキラル制御オリゴヌクレオチド組成物を提供し、このことはその組成物が少なくとも１つのタイプのオリゴヌクレオチドを複数含有することを意味する。特定の「タイプ」の各オリゴヌクレオチド分子は、（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－修飾成分のパターン、の点から予め選択した（例えば、所定の）構造要素からなる。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組成物は、単一の合成プロセスで調製されるオリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、提供される組成物は、単一オリゴヌクレオチド分子（例えば、オリゴヌクレオチドに沿った複数の異なる残基が異なる立体化学を有する）内に１つより多いキラル構成を有するオリゴヌクレオチドを含有し；いくつかの実施形態では、かかるオリゴヌクレオチドは、１つより多いキラル結合をもった個々のオリゴヌクレオチド分子を二次的な結合ステップで生成する必要なく、単一の合成プロセスで得ることができる。

【１０００】

本明細書で提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、転写、翻訳、免疫応答、エピジェネティクス等を含み、但しこれらに限定されないいくつかの細胞関連のプロセス及び機構を調節する剤として用いることができる。加えて、本明細書で提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、研究及び／又は診断目的の試薬として用いることができる。当業者は、本明細書の本発明開示は、特定の使用に限定されないが、合成オリゴヌクレオチドの使用が望ましいどのような状況にも応用し得るということを容易に認識するものである。他のことに加えてとりわけ、提供される組成物は、治療、診断、農業、及び／又は研究の種々の用途において有用である。

【１００１】

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組成物は、本明細書に詳細に記載される１つ又は複数の構造的修飾を含むオリゴヌクレオチド及び／又はその残基を含む。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組成物は、１つ又は複数の核酸類縁体を含有するオリゴヌクレオチドを含む。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組成物は、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、モルホリノ及びロックト（ｌｏｃｋｅｄ）核酸（ＬＮＡ）、グリコン（ｇｌｙｃｏｎ）核酸（ＧＮＡ）、トレオース核酸（ＴＮＡ）、ゼノ核酸（ＺＮＡ）、並びにそのいずれもの組み合わせ等、但しそれらに限定されない１つ又は複数の人工的核酸又は残基を含有するオリゴヌクレオチドを含む。

【１００２】

いずれの実施形態においても本発明は、遺伝子発現、免疫応答等のオリゴヌクレオチドに基づく調節に有用である。したがって、本発明の立体的に規定されるオリゴヌクレオチド組成物は、所定のタイプの（即ち、キラル制御されており、任意でキラル純粋である）オリゴヌクレオチドを含有するものであり、従来の立体的にランダム又はキラル不純（ｃｈｉｒａｌｌｙ　ｉｍｐｕｒｅ）な相当物の代わりに用いることができる。いくつかの実施形態では、提供される組成物は、意図する効果の増強及び／又は望ましくない副作用の低減を示す。本発明の生物学的用途及び臨床的／治療的用途のある特定の実施形態は、下に明示的に論じる。

【１００３】

種々の投与計画を利用して、提供されるキラル制御オリゴヌクレオチド組成物を投与す

ることが可能である。いくつかの実施形態では、時間の間隔を空けて複数単位用量を投与する。いくつかの実施形態では、所与の組成物は推奨投与計画を有し、これには１回又は複数回の服用が関わる。いくつかの実施形態では、投与計画は、同じ長さの時間によってそれぞれ互いに隔てられる複数回の服用を含み；いくつかの実施形態では、投与計画は複数回の服用と、個々の服用を隔てる少なくとも２つの異なる時間とを含む。いくつかの実施形態では、投与計画内の全ての服用は、単位用量が同じである。いくつかの実施形態では、投与計画内の複数の異なる服用は、量が異なる。いくつかの実施形態では、投与計画は、第１の用量の第１の服用と、それに続く第１の用量とは異なる第２の用量の１回又は複数回の服用を含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、第１の用量の第１の服用と、それに続く第１の服用（又は前の別の服用）の量と同じか又は異なる第２の（又は後続の）用量の１回又は複数回の追加服用を含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、少なくとも１日間に少なくとも１単位用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、少なくとも１日の期間、時には１日より長い期間にわたって１回分より多い用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は少なくとも週の期間にわたって複数回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、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、２３２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０週間、又はそれ以上（例えば、約４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００週間、又はそれ以上）の期間である。いくつかの実施形態では、投与計画は、１週間より長い間に、１週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０週間、又はそれ以上（例えば、約４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００週間、又はそれ以上）の期間に、１週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、２週間より長い間に、２週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０週間、又はそれ以上（例えば、約４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００週間、又はそれ以上）の期間に、２週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、１ヶ月間に１ヶ月当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、１ヶ月より長い間に１ヶ月当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２ヶ月、又はそれより長い間に１ヶ月当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、約１０週間に１週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、約２０週間に１週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、約３０週間に１週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与計画は、２６週間に１週間当たり１回分の用量を投与することを含む。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物は、同じ配列のキラル制御されていない（例えば、立体的ランダムな）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オリゴヌクレオチド組成物に利用される投与計画とは異なる投与計画に従って投与する。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物は、同じ配列のキラル制御されていない（例えば、立体的ランダムな）オリゴヌクレオチド組成物の投与計画に比べて低減された投与計画に従って投与し、これは、後者が所与の単位時間にわたってより低い総曝露量レベルを達成し、１回又は複数回のより低い単位用量を含み、かつ／又は、所与の単位時間にわたってより少数回の服用を含むということである。いくつかの

実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物は、同じ配列のキラル制御されていない（例えば、立体的ランダムな）オリゴヌクレオチド組成物の投与計画よりも長い期間にわたる投与計画に従って投与する。理論によって限定されることを望まないが、いくつかの実施形態では、より短期的な投与計画及び／又はより長期的な服用間期間は、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物の安定性、生物学的利用率、及び／又は有効性の向上によるものであり得る、ということを出願人は注記する。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物は、同等のキラル制御されていないオリゴヌクレオチド組成物に比べてより長い投与計画を有する。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物は、同等のキラル制御されていないオリゴヌクレオチド組成物に比べて、２つの服用間の期間がより短い。理論によって限定されることを望まないが、いくつかの実施形態では、より長期的な投与計画及び／又はより短期的な服用間期間は、キラル制御オリゴヌクレオチド組成物の安全性の向上によるものであり得る、ということを出願人は注記する。

【１００４】

単一用量は、用途によって適当に望まれる種々の量の一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有していてもよい。いくつかの実施形態では、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、又はそれ以上（例えば、約３５０、４００、４５０、５００、５５０、６００、６５０、７００、７５０、８００、８５０、９００、９５０、１０００、又それ以上）ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約１ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約５ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約１０ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約１５ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約２０ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約５０ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約１００ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約１５０ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約２００ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約２５０ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、単一用量は、約３００ｍｇの一タイプのキラル制御オリゴヌクレオチドを含有する。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチドは、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも、単一用量及び／又は総用量が少ない量で投与する。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチドは、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも、単一用量及び／又は総用量が少ない量で投与し、それは有効性が向上することによる。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチドは、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも、単一用量及び／又は総用量が多い量で投与する。いくつかの実施形態では、キラル制御オリゴヌクレオチドは、キラル制御されていないオリゴヌクレオチドよりも、単一用量及び／又は総用量が多い量で投与し、それは安全性が向上することによる。

【１００５】

生物活性オリゴヌクレオチド

本明細書で使用される、提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、一本鎖及び/又は複数鎖のオリゴヌクレオチドを含んでよい。いくつかの実施形態では、一本鎖オリゴヌクレオチドは、使用される一本鎖オリゴヌクレオチドさえも少なくとも部分的に二本鎖の特性を有することができるように、関連条件下でハイブリダイズし得る自己相補性部分を含む

。いくつかの実施形態では、提供される組成物に含まれるオリゴヌクレオチドは、一本鎖、二本鎖、又は三本鎖である。いくつかの実施形態では、提供される組成物に含まれるオリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチド内に一本鎖部分及び複数鎖部分を含む。いくつかの実施形態では、上記のように、各々の一本鎖オリゴヌクレオチドは、二本鎖領域及び複数鎖領域を有することができる。

【１００６】

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、以下の鎖に完全に又は部分的に相補的な１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む：構造遺伝子、遺伝子制御及び/又は終端領域、及び/又は自己複製系、例えばウイルス又はプラスミドDNA。いくつかの実施形態では、提供される組成物は、siRNA又は他のRNA干渉試薬（RNAi剤又はiRNA剤）、shRNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、自己開裂RNA、リボザイム、その断片及び/又はその変異体（例えば、ペプチジルトランスフェラーゼ23S rRNA、RNase P、グループI及びグループIIイントロン、GIR1分岐リボザイム、レッドザイム、ヘアピンリボザイム、ハンマーヘッド型リボザイム、HDVリボザイム、哺乳動物CPEB3リボザイム、VSリボザイム、glmSリボザイム、CoTCリボザイム等）、マイクロRNA、マイクロRNAミミック、スーパーmir、アプタマー、アンチmir、アンタゴニスト、アンタゴmir、Ulアダプター、三重鎖形成オリゴヌクレオチド、RNAアクチベータ、長鎖非コーディングRNA、短鎖非コーディング（例えば、piRNAs）、免疫調節オリゴヌクレオチド（免疫刺激オリゴヌクレオチド、免疫阻害オリゴヌクレオチド）、GNA、LNA、ENA、PNA、TNA、モルフォルノ、G-四重鎖（RNA及びDNA）、抗ウイルスオリゴヌクレオチド、及びデコイ・オリゴヌクレオチドである、又はそのようなものとして働く、１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１００７】

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、1又はそれ以上のハイブリッド（例えば、キメラ）オリゴヌクレオチドを含む。本開示の文脈において、「ハイブリッド」という用語は、オリゴヌクレオチドの混合構成成分を広く意味する、ハイブリッドオリゴヌクレオチドは、例えば、（１）混合した種類のヌクレオチドを有するオリゴヌクレオチド分子、例えば、単一分子（例えば、DNA-RNA）内の部分的DNA及び部分的RNA；（２）DNA-RNA塩基対形成が分子内又は分子間のいずれか、あるいはその両方で起こるような、異なった種類の核酸の相補対；（３）２又はそれ以上の種類の骨格又は塩基間結合を有するオリゴヌクレオチド、である。

【１００８】

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、単一分子内に１種類超の核酸残基を含む１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。例えば、本明細書に記載の実施態様のいずれかでは、オリゴヌクレオチドは、DNA部分及びRNA部分を含み得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、不変部分及び変更部分を含み得る。

【１００９】

提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、例えば本明細書に記載の、多数の変更のいずれかを含むオリゴヌクレオチドを含むことができる。いくつかの実施形態では、例えば意図した使用の点から特定の変更が選択される。いくつかの実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチド（又は、一本鎖オリゴヌクレオチドの二本鎖部分）の１又は両鎖を変更することが好ましい。いくつかの実施形態では、該二本鎖（又は部分）は、異なった変更を含む。いくつかの実施形態では、該二本鎖は、同一の変更を含む。当業者は、本発明の方法によって可能となる変更の程度及び種類が、変更の多数の順列を作成できることを理解するだろう。このような変更の例は、本明細書に記載され、限定されるものではない。

【１０１０】

RNA干渉

提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、RNA干渉における適用について、他のものの中で有用である。

【１０１１】

RNA干渉（RNAi）は、RNA分子による遺伝子発現の阻害を意味する。典型的には、小さな

、二本鎖RNA分子が存在する。遺伝子発現はほとんどの細胞プロセスを制御するので、遺伝子発現を阻害する能力は、ヒト及び/又は動物（例えば、家畜又はペット）の病気を含む生物学的症状を調節するための潜在的に力強いツールを提供する。疾患関連遺伝子発現を調節又は制御することにおけるRNAiの使用を証明するために、多数の研究が行われている。例えば以下参照： Cullen, K.A., Hall, M.J. & Golosinskiy, A. 米国の外来外科http://www.rxipharma.com/wp-content/uploads/2012/05/Cullen-2009.pdf, 2006. Natl Health Stat Report 2009; 1-25; Elbashir S, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T., 21ヌクレオチドRNAの二重鎖は培養哺乳動物細胞におけるRNA干渉を介在する, Nature 2001; 411: 494-498; Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driveri SE & Mello C. カエノラブディティス・エレガンスにおける二本鎖RNAによる強力かつ特異的RNA干渉, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9486653 Nature 1998; 391 (6669): 806-811; Gauglitz, G.G., Kortin, H.C., Pavicic, T., Ruzicka, T., & Jeschke, M.G., 肥厚性瘢痕及び/又はケロイド: 病理機構及び現代の治療法, Mol Med 2011; 17(1-2): 113-125; Li-Tsang, C.W., Lau, J.C. & Chan, C.C., 肥厚性瘢痕形成の罹患及び中国人のその特徴, Burns 2005; 31, 610-616; Wang H, Ghosh A, Baigude H, Yang C, Qui L, Xia L他, 突然変異SOD1に対する化学的修飾siRNAによって送達された治療的遺伝子サイレンシングがALS進行を遅延させる, JBC 2008; 283 (23): 15845-15852; Weiser, T.G., Regenbogen, S.E., Thompson, K.D., Haynes, A.B., Lipsitz, S.R., Berry, W.R. & Gawande, A.A., 世界の外科手術の推定: 入手できるデータに基づくモデル戦略, Lancet 2008; 372(9633): 139-44。

【１０１２】

RNA干渉の現象は、最初に、C. elegansにおいて示され、そこではdsRNA分子の挿入が相補的遺伝子発現を阻害した。siRNAの使用は、遺伝子発現を下方調節するための幅広く使用されているツールとなっているが、真核生物での天然経路の存在が十分に記載されている。内因性siRNA（又はmiRNA）の起源は、トランスポゾン、ウイルス、反復配列及び遺伝子でよい。効率的な内因性siRNAを製造するステップは、３つの酵素によって制御されている。RNA依存的RNAポリメラーゼは、一本鎖RNAを二本鎖RNAに変換する。あるいは、DNA依存的RNAポリメラーゼは、逆側DNA繰り返し配列を転写することによってdsRNAを生成する。得られた大きなRNA分子は、リボヌクレアーゼIII（Dicer）による消化に供されて、短い二本鎖siRNA分子を生成する。アルゴノートタンパク質は、次いで、RISCとして知られている複合体（RNA誘導サイレンス複合体）を形成するために。siRNA分子に結合されなければならない。RISCは、二本鎖RNA断片を認識し、該二本鎖を二分割し、RISC複合体中で一本鎖を維持する。次いで、RISCは、RNA指向DNAメチル化又は標的RNA開裂によって、エピジェネティクス・サイレンシングを促進することができる。タンパク質翻訳は相当にノックダウンされ得るが、siRNAは通常、遺伝子標的の発現を完全に除外しない。従って、RISCは、RNAのガイド鎖を、その対応する細胞メッセンジャーRNA標的に結合させ、崩壊させ得る。よって、RNAiは、疾患を引き起こすタンパク質の作製を潜在的に遮断する方法を提供する。

【１０１３】

siRNA技術は有用な分子ツールを示す。遺伝子発現を人工的に操作するためのRNA干渉の使用は、細胞の抗ウイルスメカニズムの活性化によって元々限定されていた。３０超のヌクレオチド長の配列への細胞の曝露は、インターフェロン遺伝子発現を誘導して、非特異的RNA分解及び減少したタンパク質合成をもたらす、ことが明らかになっている。しかしながら、この問題は、短い（例えば、19～22ヌクレオチド）siRNA配列によって回避され得る。細胞へのsiRNA送達のための方法は、制限なく、媒体への精製されたリボヌクレオチドのリポソーム型付加、又はsiRNA分子を発現するように設計されたプラスミドベクターのトランスフェクションを含む。プラスミドベクターは、siRNA分子の転写を駆動するために２つのRNAポリメラーゼIIIプロモーター（U6及びH1）の使用に依拠する。標的配列（19～29ヌクレオチド）は、（短いヘアピンRNA又はshRNA）間の小スペーサー群と共にセ

ンス及びアンチセンス方向に配置される。一旦転写されると、Dicerによって認識され開裂され得るヘアピン構造が形成される。あるいは、RNA二本鎖は、ヘアピン構造なしで転写され、RISCによって直接にプロセシングされる。現在、siRNA、shRNA、又は一本鎖siRNA（ss-siRNA）分子を生成するために類似の概念を利用する様々なプラスミド及びウイルスベクターが存在する（例えば、以下を参照：2012 Cell-150-883 Walt Lima等，ssRNAiは動物中でRNAiを活性化する）。

【１０１４】

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又はオリゴヌクレオチド組成物は、ss-siRNA又はGalNAc複合化 siRNAとして有用である。

【１０１５】

本技術は、ツールとしてのsiRNAに影響を与えるある構造的特徴に精通している。siRNAの発見後、siRNA設計に必要とされる最適な特徴を同定するために数々の研究が試みられた。要件の中には、PKR活性化を避けるために３０ヌクレオチドより短い配列を用いること、3’末端に対するアンチセンス鎖の5’末端での配列安定性、及びTTオーバーハングを挿入することを含む。これらのような研究に基づいて、所定の遺伝子の最も効率的標的配列を予測するために、学術的及び工業的研究室によって、多数のアルゴリズムが開発されてきた。これらのプログラムのほとんどは完全ではないが、予測された配列を得る可能性は、推奨された特徴を考慮することなく配列を設計するよりも高い。複数の配列の合成及び試験が必要とされるかもしれない。siRNA実験の設計は、いくつかの潜在的な落とし穴を含むので、好適な制御及び測定可能なエンドポイントを含むように設計がなされるべきである。負の制御は、有効なsiRNA配列と熱力学的に同様な性質を有する非相補的配列を含み得る。プラスミドベクターをトランスフェクトとしてsiRNA又はshRNAを導入する場合には、脂質の核酸に対する割合は同等でよく、制御ベクターは、細胞内で転写されそしてプロセシングされる、配列を含み得る。SiRNA効果の評価はまた、RNA及びタンパク質発現の両方を測定することによっても行われ得る。

【１０１６】

ある実施態様では、本明細書で使用される提供されるオリゴヌクレオチドは、二本鎖である。典型的には、２０～２３の二本鎖構造、具体的には２１塩基対、を含む二本鎖オリゴヌクレオチドは、RNA干渉を誘導する点で特に効果的であると評価されてきた（Elbashir他，EMBO 2001，20：6877-6888）。しかしながら、より短い又はより長い二本鎖オリゴヌクレオチドも効果的であることが見出されている。

【１０１７】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される二本鎖オリゴヌクレオチドは、二本鎖構造を形成するようにハイブリダイズできるように十分に相補的である、２つのオリゴヌクレオチド鎖を含む。いくつかの実施形態では、二本鎖は約１２～約４５塩基対長である。いくつかの実施形態では、二本鎖は約１８～約２５塩基対長である。いくつかの実施形態では、二本鎖は約１９～約２４塩基対長である。いくつかの実施形態では、二本鎖は約１９～約２１塩基対長である。いくつかの実施形態では、二本鎖は約２５～約３０塩基対長の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、二本鎖は約１０～約１５塩基対長の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、二本鎖は少なくとも約２１塩基長である。

【１０１８】

いくつかの実施形態では、本発明に従って利用される二本鎖オリゴヌクレオチドは、センス鎖及びアンチセンス鎖を含み、該アンチセンスRNA鎖は標的配列の少なくとも一部に相補的である相補性の領域を有し、二本鎖領域は約１４～約３０ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、標的配列への相補性領域は、約１４～約３０ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、標的配列への相補性領域は、約１８～約２５ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、標的配列への相補性領域は、約１９～約２４ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、標的配列への相補性領域は、約１９～約２１ヌクレオチド長である。

【１０１９】
本明細書で使用される用語「アンチセンス鎖」は、対象の標的配列に実質的に又は１００％相補性であるオリゴヌクレオチドを意味する。「アンチセンス鎖」という用語は、２つの別々の鎖から形成される両オリゴヌクレオチドのアンチセンス領域、及びヘアピン又はダンベル型構造を形成することができる単分子オリゴヌクレオチドを含む。「アンチセンス」及び「ガイド鎖」という用語は本明細書で交換的に使用される。
【１０２０】
「センス鎖」という用語は、全部又は一部において、メッセンジャーRNA又はDNAの配列のような標的配列と同一のヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチドを意味する。「センス鎖」という用語及び「パッセンジャー鎖」は本明細書で交換的に使用される。
【１０２１】
「標的配列」は、その発現又は活性が調節される任意の核酸配列を意味する。標的核酸は、DNA又はRNA、例えば、内因性DNAもしくはRNA、ウイルスDNAもしくはウイルスRNA、又は遺伝子によってコードされる他のRNA、ウイルス、細菌、真菌、哺乳動物、あるいは植物でよい。いくつかの実施形態では、標的配列は疾患又は障害に関連する。
【１０２２】
「特異的にバイブリダイズすることができる」及び「相補的」は、核酸が、典型的なワトソンクリック又は他の非典型型のいずれかによって、もう一つの核酸と水素結合（複数）を形成することができることを意味する。本発明の核酸分子と関連して、核酸分子とその相補性配列との結合自由エネルギーは、核酸の関連機能を進行させる、例えば、RNAi活性、には十分である。核酸分子の結合自由エネルギーの決定は、当該分野では周知である（例えば、Turner 他, 1987, CSH Symp. Quant. Biol. LIT pp.123-133; Frier他., 1986, Proc. Nat. Acad. Sci. USA83: 9373-9377; Turner他, 1987, /. Ain. Chem. Soc. 109: 3783-3785参照）。
【１０２３】
相補性のパーセントは、第二の核酸配列との水素結合（例えば、ワトソンクリック塩基対）を形成できる核酸分子中の連続残基のパーセンテージを示す（例えば、10個のうち5、6、7、8、9、10個は、50%、60%、70%、80%、90%、及び100%相補性である）。「完全に相補性」又は100%相補性は、核酸配列のすべての連続残基が同数の第２核酸配列中の連続残基と水素結合を形成することになる、ことを意味する。完全ではない相補性とは、２つの鎖のヌクレオシド単位の一部、但しすべてではない、が互いに水素結合を形成できる状態を意味する。「実質的に相補性」とは、非相補性であるように選択される、オーバーハングのようなポリヌクレオチド鎖領域を除いて、90%以上の相補性を示すポリヌクレオチド鎖を意味する。特異的結合は、特異的結合が望ましい条件下、例えばインビボアッセイ又は治療方法の場合、又はアッセイが行われる条件下でのインビトロアッセイの場合の生理学的条件下で、オリゴマー化合物の非標的配列への非特異的結合を避けるために十分な相補性の程度を必要とする。いくつかの実施形態では、非標的配列は、対応する標的配列と少なくとも５個のヌクレオチドが異なる。
【１０２４】
二重鎖オリゴヌクレオチド
いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される二重鎖オリゴヌクレオチドは、より小さな二重鎖オリゴヌクレオチド、例えばRNAi剤、を生成するために、内因性分子、例えばDicerによって、開裂され得る程に十分大きい。いくつかの実施形態では、提供される二重鎖オリゴヌクレオチドは、標的配列のRISC介在開裂によって標的遺伝子の発現を調節する。
【１０２５】
いくつかの実施形態では、二重鎖オリゴヌクレオチドの二重鎖領域は、少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29又は30ヌクレオチド対長であるか、あるいはそれに等しい。
【１０２６】

いくつかの実施形態では、二重鎖オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、少なくとも14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29又は30ヌクレオチド長であるか、あるいはそれに等しい。

【１０２７】

いくつかの実施形態では、二重鎖オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、少なくとも10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29又は30ヌクレオチド長であるか、あるいはそれに等しい。

【１０２８】

いくつかの実施形態では、１つの鎖は、二重鎖領域中に1～5個の一本鎖ヌクレオチドの少なくとも１つのストレッチを有する。「二重鎖領域中に一本鎖ヌクレオチドのストレッチ」とは、一本鎖ストレッチの両末端に少なくとも１つのヌクレオチド塩基対が存在することを意味する。いくつかの実施形態では、２つの鎖は、二重鎖領域中に1～5個（例えば、1、2、3、4又は5個）の一本鎖ヌクレオチドの少なくとも１つのストレッチを有する。２つの鎖が二重鎖領域中に1～5個の一本鎖ヌクレオチドのストレッチを有する時に、このような一本鎖ヌクレオチドは互いに反対であり得るか（例えば、ミスマッチのストレッチ）、あるいは、第２鎖が第１鎖の一本鎖オリゴヌクレオチドに反対の、及びその逆の一本鎖ヌクレオチドを有さないように位置付けられ得る（例えば、一本鎖ループ）。いくつかの実施形態では、一本鎖オリゴヌクレオチドは、いずれかの末端から8ヌクレオチド内、例えば、２つの鎖間の相補性領域の5’又は3’末端のいずれかから8、7、6、5、4、3又は2ヌクレオチド内に存在する。

【１０２９】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される二重鎖オリゴヌクレオチドの各々の鎖は、その内容はその全体が本明細書に組み込まれる、2004年3月8日に出願された国際特許出願第PCT/US2004/07070号に記載されているように、ZXY構造を有する。

【１０３０】

ヘアピン及びダンベル

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される二重鎖オリゴヌクレオチドは、自己相補性領域を含む単一分子であり；よって、二重鎖領域の２つの「鎖」は、実際には、互いに共有結合している。このような２つの鎖は、両末端又は１末端のみでで互いに結合し得る。１末端での結合は、第１鎖の5’末端が第２鎖の3’末端に結合されるか、又は第１鎖の3’末端が第２鎖の5’末端に結合されることを意味する。この２つの鎖が両末端で互いに結合される時、第1鎖の5’末端は第２鎖の3’末端に結合され、第１鎖の3’末端は第２鎖の5’末端に結合される。いくつかの実施形態では、２つの鎖は、$(N)_n$；Nは、独立に修飾又は非修飾ヌクレオチドであり、nは3～23であるものを含むがこれに限定されないオリゴヌクレオチドリンカーによって一緒に結合される。いくつかの実施形態では、nは、3～10、例えば3、4、5、6、7、8、9又は10である。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドリンカーは、GNRA、$(G)_4$、$(U)_4$及び$(dT)_4$（ここで、Nは修飾又は非修飾ヌクレオチドであり、Rは修飾又は非修飾プリンヌクレオチドである）から成る群より選ばれる。いくつかの実施形態では、リンカー中のヌクレオチドの一部は、リンカー中の他のヌクレオチドとの塩基対相互作用に関与している。いくつかの実施形態では、２つの鎖は、非ヌクレオシドリンカーによって互いに結合されている。

【１０３１】

いくつかの実施形態では、ヘアピン及びダンベル型RNAi剤は、少なくとも14、15、15、16、17、18、19、29、21、22、23、24又は25ヌクレオチド対又はそれに等しい二重鎖を有する。いくつかの実施形態では、二重鎖領域は、200、100又は50ヌクレオチド対長以下である。いくつかの実施形態では、二重鎖領域の範囲は、約15～約30、約17～約23、約19～約23、及び約19～約21ヌクレオチド対長である。いくつかの実施形態では、ヘアピンオリゴヌクレオチドは、マイクロRNAの天然前駆体を模倣する。

【１０３２】

いくつかの実施形態では、ヘエアピンRNAi剤は、例えばヘアピンのアンチセンス側の3

’末端の、一本鎖オーバーハング又は末端不対領域を有し得る。いくつかの実施形態では、オーバーハングは、約1～約4ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、オーバーハングは、約2～約3ヌクレオチド長である。

【１０３３】

いくつかの実施形態では、ヘアピンRNAi剤は、アンチセンス鎖の3’末端がセンス鎖の5’末端に結合されていることを特徴とする。いくつかの実施形態では、ヘアピンRNAi剤は、アンチセンス鎖の5’末端がセンス鎖の3’末端に結合されていることを特徴とする。提供されるヘアピンオリゴヌクレオチドは、本明細書において「shRNA」としても言及される。

【１０３４】

一本鎖オリゴヌクレオチド

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される一本鎖オリゴヌクレオチドは、遺伝子発現産物をコードする「センス」核酸に実質的に相補的、例えば二本鎖cDNA分子のコーディング鎖に相補的であるか、又はRNA配列、例えばプレmRNA、mRNA、miRNA又はプレmiRNAに相補的、である核酸配列を含む。提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチド及び一本鎖RNAi剤を含むがこれらに限定されない。いくつかの実施形態では、相補性領域は、約30未満のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、相補性領域は、少なくとも約15未満のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、約10～約25ヌクレオチド長（例えば、約11、12、13、14、15、16、18、19、20、21、22、23又は24ヌクレオチド長）である。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、約25～約30ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、約15～約29ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、mRNA、RNA又はDNA arcに対して100%未満の相補性を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、2004年3月8日に出願された国際特許出願第PCT/US2004/07070号に記載されているように、ZXY構造を有する。

【１０３５】

いくつかの実施形態では、使用される一本鎖オリゴヌクレオチドは、相補性RNA、例えばmRNA、プレ-mRNAにハイブリダイズすることができ、標的RNA転写物への翻訳機構のアクセスを妨げ、それによってタンパク質合成を阻止することができる。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは相補的RNAにハイブリダイズすることができ、RNA標的はRNasc H等の酵素によって結果的に開裂され得、そのため、標的RNAの翻訳を阻止する。いくつかの実施形態では、提供される一本鎖オリゴヌクレオチドは、標的配列のRISC介在開裂によって標的遺伝子の発現を調整する。

【１０３６】

本明細書で使用される「一本鎖RNAi剤」は、単一分子から成るRNAi剤である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、鎖内塩基対形成によって形成された二重鎖領域を含む、例えばヘアピン又はフライパンの柄構造であるか又はそれを含む。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、標的分子に関してアンチセンスである。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、RISCに入ることができ、標的mRNAのRISC介在開裂に関与できるくらいに十分に長い。例示的な一本鎖siRNA（ss siRNA）が知られており、例えば参照によって本明細書にその全体が組み込まれる、米国特許出願公開第2006/0166901号に記載されている。

【１０３７】

いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約12ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約15ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約20ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約25ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約29ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約30ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では

、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約35ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約40ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、少なくとも約50ヌクレオチド長である。

【１０３８】

いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、200未満のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、100未満のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、60未満のヌクレオチド長である。

【１０３９】

いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は5’リン酸化されている。いくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、5’プライム末端でホスホリルアナログを含む。あるいくつかの実施形態では、一本鎖RNAi剤は、約15～約29ヌクレオチド長の長さを有する。

【１０４０】

本発明のオリゴヌクレオチドの設計のための標的として使用され得、又は鋳型として働き得る、一本鎖siRNA、マイクロRNA又はmirとして記載された及び/又は特定されたオリゴヌクレオチドを含む一本鎖オリゴヌクレオチドは、例えば、参照として本明細書にその内容全体が組み込まれる、「小非コーディングRNAの調節に使用するためのオリゴヌクレオチド及び組成物」との名称の、Esau他の米国特許出願公開第20050261218（USSN: 10/909125)に教示されている。

【１０４１】

本発明は、一本鎖オリゴヌクレオチドを含む研究及び/又は診断試薬を包含する。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される一本鎖オリゴヌクレオチドは、プライマーでありかつ/又はプライマーとして働く。いくつかの実施形態では、プライマーは、核酸を増幅するためにポリメラーゼ連鎖反応（すなわち、PCR）で使用される。これらの適用は、逆転写PCR（RT-PCR）及びリアルタイムPCR等のPCRの任意の公知の変形体を含む。

【１０４２】

マイクロRNA

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、マイクロRNAであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０４３】

マイクロRNA（miRNA又はmir）は、植物及び動物のゲノム中のDNAから転写される小RNA分子の高度に保存された種類であるが、タンパク質に翻訳されない。プレマイクロRNAはmiRNAにプロセシングされる。プロセシングされたマイクロRNAは、RNA誘導サイレンシング複合体（RISC）に組み込まれ、そして、発達、細胞増殖、アポトーシス及び分化の重要な調節因子として同定されている、一本鎖の17～25ヌクレオチド（nt）RNA分子である。それらは、特定のmRNAの3’非翻訳領域に結合することによって遺伝子発現の調節に重要な役割を果たすと考えられている。RISCは、翻訳的阻害、転写開裂又はその両方によって遺伝子発現の下方調節を介在する。RISCはまた、幅広い真核生物の核において転写サイレンシングに関係している。

【１０４４】

マイクロRNAはまた、宿主における病原の調節に関連づけられている。例えば、Jopling, C.L.他, Science (2005) vol. 309, pp 1577-1581参照。理論に拘束されるものではないが、マイクロRNA、マイクロRNAミミック、及び/又は抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドの投与は、病原の生存、成長、発育、及び/又は複製の調節をもたらす。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、マイクロRNA、マイクロRNAミミック、及び/又は抗マイクロRNAであり、マイクロRNAは宿主マイクロRNAである。これまでに同定されたmiRNA配列の数は、多数であり、増加しており、その例は、例えば、「miRBase: マイクロRIVA配列、標的及び遺伝子の専門語」Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. NAR, 2006, 34, Database Issue, D140-D144；「The microRNA Registry」Griffiths-Jones S. NAR, 2004, 32, Database Issue, D109-D111に見出される。有用なmiRNAの非限定的な例はまた、添付の添付書類（C）で提供される。

【１０４５】
リボザイム
いくつかの実施形態では、提供される組成物は、リボザイムであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。
【１０４６】
リボザイムは、エンドヌクレアーゼ活性を有する特定の触媒的ドメインを有するオリゴヌクレオチドである（Kim and Cech, Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Dec; 84(24): 8788-92; Forster and Symons, Cell. 1987 Apr 24; 49(2): 211-20）。天然酵素RNAの少なくとも６個の塩基性変形体が現在知られている。一般に、酵素核酸は、標的RNAに最初に結合することによって機能する。かかる結合は、標的RNAを開裂するために働く分子の酵素的部分のすぐそばで維持される酵素核酸の標的結合部分を介して生じる。従って、酵素核酸は、標的RNAを最初に認識し、次いで相補性塩基対形成によって結合し、一旦修正部位に結合すると標的RNAを酵素的に切断するように働く。このような標的RNAの戦略的開裂は、コードされたタンパク質の直接合成するその能力を破壊することになる。酵素核酸がそのRNA標的に結合し、標的を開裂した後に、別の標的を検索するために該RNAから放出され、繰り返し新しい標的に結合し開裂する。
【１０４７】
任意の標的配列を標的とするリボザイムを製造する方法は当該分野で知られている。リボザイムは、特に国際特許出公開第WO 93/23569号、及び同第WO 94/02595号に記載されているように設計され得る（各々が具体的に参照によって本明細書に組み込まれており、そこに記載されているようにインビトロ及びインビボで試験されるように合成される）。
【１０４８】
アプタマー
いくつかの実施形態では、提供される組成物は、アプタマーであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。
【１０４９】
アプタマーは、高親和性及び特異性を有する対象の特定の分子に結合する核酸又はペプチド分子である（Tuerk and Gold, Science 249:505 (1990); Ellington and Szostak, Nature 346: 818 (1990)）。大きなタンパク質から小さな有機分子まで多数の異なった物質に結合するDNA又はRNAアプタマーが成功的に製造されている。Eaton, Curr. Opin. Chem. Biol. 1: 10-16 (1997), Famulok, Curr. Opin. Struct. Biol. 9: 324-9(1999)、及びHermann and Patel, Science 287: 820-5 (2000)参照。アプタマーはRNA型でもDNA型でもよい。一般的に、アプタマーは、様々な分子標的、例えば低分子、タンパク質、核酸、及び更には細胞、組織及び生物に結合するように、インビトロ選択又は同等の反復、すなわちセレックス（SELEX）（試験管内人工進化法）によって作製される。セレックス法は、標的タンパク質又は他の分子での結合親和性に基づいて、一本鎖オリゴヌクレオチドが莫大な配列ライブラリーから選択される、プロトコールである（C. Tuerk, L. Gold, Science, 249 (1990), pp. 505－510; R. Green, A.D. Ellington, D.P. Bartel, J.W. Szostak, Methods Enzymol., 2 (1991), pp. 75－86; L. Gold, B. Polisky, O. Uhlenbeck, M. Yarus, Annu. Rev. Biochem., 64 (1995), pp. 763－797）。セレックス法は、通常、数10^{14}～10^{15}のランダムオリゴヌクレオチド配列から成るRNA又はDNAライブラリーで開始される。十分にランダム化されたオリゴヌクレオチドライブラリーでは、各々の分子は、該分子のヌクレオチド配列に依拠することになる特有の三次構造を示すだろう。標的タンパク質に対する該オリゴヌクレオチドの結合親和性は、オリゴヌクレオチド表面上の部分と標的タンパク質上のエピトープとの間の適合によっ決定されることになる。広大な多様性のライブラリーから開始した結果として、標的タンパク質に対するnM又はsub-nM親和性、及び高度の構造的ホモロジーを有する他のタンパク質を超える標的タンパク質に対する選択性を有するアプタマーを同定することが通常可能である（K.W. Uphoff, S.D. Bell, A.D. Ellington, Curr. Opin. Struct. Biol., 6 (1996), pp. 281－288）。セレックス法を用いて、RNA又はDNAアプタマーは、多数のタンパク質、ペプチド及びドーパミンを含む

低分子（C. Mannironi, A. Di Nardo, P. Fruscoloni, G.P. Tocchini-Valentini, Biochemistry, 36 (1997), pp. 9726－9734)、物質P (D. Nieuwlandt, M. Wecker, Biochemistry, 34 (1995), pp. 5651－5659)、サブチリシン (H. Takeno, S. Yamamoto, T. Tanaka, Y. Sakano, Y. Kikuchi, J. Biochem., 125 (1999), pp. 1115－1119)、成長因子由来の血小板 (L.S. Green, D. Jellinek, R. Jenison, A. Ostman, C-H. Heldin, N. Janjic Biochemistry, 35 (1996), pp. 14413－14424)、血管内皮細胞成長因子 (L.S. Green, D. Jellinek, C. Bell, L.A. Bebe, B.D. Feistner, S.C. Gill, F.M. Jucker, N. Janjic Chem. Biol., 2 (1995), pp. 683－695)、トロンビン (L.C. Bock, L.C. Griffen, J.A. Latham, E.H. Vermaas, J.J. Toole, Nature, 355 (1992), pp. 564－566)、及びL-セレクチン (D. O'Connell, A. Koenig, S. Jennings, B. Hicke, H.L. Han, T. Fitzwater, Y.F. Chang, N. Varki, D. Parma Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 (1996), pp. 5883－5887）に作製されている。

【１０５０】

長い間、Dua他 (2008) Recent Patents on DNA & Gene Sequences, 2: 172-186（本明細書に参照として組み込まれる）でより詳細にレビューされているように、多数の修正セレックスプロトコールが開発されている。修正セレックス法の非限定的な例は、以下の刊行物に記載されている：カウンターセレックス (US5580737)、フローセルセレックス (WO9833941)、切断セレックス (WO0056930)、融合セレックス (US5683867)、転写（Transctiption）無しセレックス (US20026387620)、溶液セレックス (US5567588)、キメラセレックス (WO9604403)、組織セレックス (US20026376474)、フォトセレックス (US6001577)、トグルセレックス (US20077312325)、共有結合セレックス/ケミセレックス (US5763595)、ゲノムセレックス (US20016261774)、精製タンパク質無しのセレックス (WO0224954)、CE-セレックス (WO03102212)、鏡像セレックス－スピエゲルマー (EP1386972)、及びレーザーセレックス、DeSELEX (WO07035532)（その各々が参照として本明細書にその全体として組み込まれる）。本発明によって包含される立体が特定されたオリゴヌクレオチドは、任意の１又はそれ以上のセレックス法の変形体で使用され得る。

【１０５１】

アプタマーは、合成、組換え及び精製方法を含む任意の公知の方法によって調製され得、単独で、又は同一の標的に特異的な他のアプタマーと組み合わせて使用され得る。更に本明細書でより十分に記載されるように、「アプタマー」という用語は、具体的には、２又はそれ以上の公知のアプタマーを所定の標的と比較することから得られるコンセンサス配列を含む「二次的アプタマー」を含む。アプタマーは、それらを魅力的な治療剤にするいくつかの特徴を有する。DNAとRNAアプタマーの両方は、低ピコモルから低ナノモルの解離定数（Kd）でその標的と結合することが示されている。アプタマーの結合は、共通の構造的ドメインを共有する関連タンパク質を識別さえできる高い特的な相互作用である。アプタマーと抗体との両方の結合親和性は同じ程度であるが、多くの事例でその競争者を圧倒する多数の追加の特徴を有する。抗体とは異なり、アプタマーは、非免疫原性標的に対してさえ標的化することができる。アプタマーは、合成中に、その安定性及び薬物動力学を改善する化学修飾に容易に供され得る。アプタマーは、内因性分子への類似に因って、治療的量でゼロか又は無視できる免疫原性レベルを示す。

【１０５２】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、抗病原剤、例えば、抗ウイルス剤、抗菌剤、抗真菌剤等として有用である。ウイルス及び細菌等の様々な病原菌のための好適な標的が、既に報告されている。例えば、各々が参照によって本明細書に全体的に組み込まれる、米国特許第5726017号、同第5654151号、同第5496938号、同第5503978号、同第5587468号、同第5527894号、米国特許出願公開第2005233317号、米国特許第5496938号、国際特許出願公開第WO08 066231号、日本特許出願公開第2002165594号、国際特許出願公開第WO02081494号、米国特許第5861501号、国際特許出願公開第WO9720072号、米国特許第5475096号、同第6569630号、中国特許出願公開第101109013号、

及び国際特許出願公開第WO03106476号を参照。

【１０５３】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、抗癌剤であるか又はそれとして働く。任意の公知の癌-又は腫瘍-関連因子、例えば、構造的タンパク質及び情報伝達分子を含む、細胞分割又は増殖、細胞周期進行、アポトーシス、細胞移動、DNA修復等の調節に関連するタンパク質が、アプタマーによって標的化され得る。例は、例えば、各々が参照として本明細書にその全体として組み込まれる、オーストラリア特許第775412号、米国特許第6232071号、国際特許出願公開第WO 08/028534号、米国特許第6933114号、国際特許出願公開第WO 04/081574号、オーストラリア特許第242462号、米国特許第6995249号、同第5668264号、同第6699843号、国際特許出願公開第WO 04/094614号、及び米国特許第5846713号を含むが、これらに限定されない。

【１０５４】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、抗血管新生薬であるか又はそれとして働く。抗血管新生薬の非限定的な例は、VEGF及び関連受容体（associates receptors）、並びに細胞外液マトリックス又は接着分子である。例えば、各々が参照として本明細書にその全体として組み込まれる、米国特許第6051698号、米国特許出願公開第2003175703号、WO 95/21853及び米国特許第7094535号参照。

【１０５５】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、抗凝血性薬であるか又はそれとして働く。血液凝固因子及びその機能、並びにプロセシング等のタンパク質調節については多くが知られている。アプタマーは、心血管疾患及び血液凝固障害等の症状を治療する際の１又はそれ以上の因子を標的とする点で有用である。例えば、その各々が参照として本明細書にその全体として組み込まれる、国際特許出願公開第WO 06/033854号、米国特許第5543293号、国際特許出願公開第WO 07/025049号、米国特許第6774118号、国際特許出願公開第WO 07/140000号を参照。

【１０５６】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、免疫調節剤であるか又はそれとして働く。アプタマーは、自己免疫疾患に関連した免疫調節分子を標的化するように作製されている。本発明は、T細胞及び抗原提示細胞（APC）等の免疫細胞上で発現された分子を標的化するために有用であり得る。例えば、各々が参照として本明細書に全体的に組み込まれる、米国特許第5869641号、国際特許出願公開第WO 01/09160号参照。いくつかの実施形態では、C1、C4、C2、C3及びC5等の補体系に関連する分子は、アプタマーによって標的化され得る。補体系は、多数の腎臓の、リウマチ学的、神経の、皮膚の、血液の、アレルギーの、感染性の及び他の疾患に関連している。例えば、各々が参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 97/28178号及び同第WO 07/103549号参照。他の免疫関連標的は、IL-12、IL-23及びIL-28（例えば、参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 07/035922号参照）、IgE（例えば、参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 05/113813号参照）、Sp-1及びSp1-、CD28、IL-2、GMCSF（例えば、参照として本明細書に全体的に組み込まれる、米国特許第6994959号）、SDF-1、CXCR4（例えば、参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 08/009437号参照）、IL-6、IL-12、IFNγ（例えば、各々が参照として本明細書に全体的に組み込まれる、米国特許第6589940号及び米国特許出願公開第2003125279号参照）、及びTLRを含むが、これらに限定されない。立体が特定されたアプタマーは、このよう疾患に対して改善された効果を発揮し得る。

【１０５７】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、抗炎症剤であるか又はそれとして働く。炎症性疾患、例えば急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、感染性ショック、肺気腫症、嚢胞性線維症、関節リウマチ及び慢性気管支炎は、その病因に関連する好中球エラスターゼを有する。そのため、ヒトエラスターゼは、炎症を調節するアプタマーを用いるこのような疾患を治療するための標的である。他の好適な標的は、ホスホ

リパーゼA2、例えば非膵分泌性PLA2（参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 96/27604号参照）、E-、P-及び L-セレクチン（参照として本明細書に全体的に組み込まれる、米国特許第5780228号参照）、３つの相同C-型レクチン、白血球、内皮細胞及び血小板他等の細胞で発現される細胞接着分子；MCP-1（参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 07/093409号参照）、NF-κB及びNF-IL6（参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 00/24404号参照）を含むが、これらに限定されない。立体が特定されたアプタマーは、このよう疾患に対して改善された効果を発揮し得る。

【１０５８】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、伝達性海綿状脳症（TSE）、及びアルツハイマー病を含むが、これらに限定されない、特定の脳疾患を治療するために有用である。公知の標的は、各々が参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 2006/138676号及びドイツ特許出願公開第19916417号、及び国際特許出願公開第WO 08/008884号を含む刊行物に記載されている。立体が特定されたアプタマーは、このよう疾患に対して改善された効果を発揮し得る。

【１０５９】

デコイ・オリゴヌクレオチド

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、デコイ・オリゴヌクレオチドであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０６０】

転写因子はその比較的短い結合配列を認識するので、周囲のゲノムDNAの非存在下でさえも、特定の転写因子のコンセンサス結合配列を有する短いオリゴヌクレオチドは、生細胞中での遺伝子発現を操作するためのツールとして使用され得る。この戦略は、その後認識され、標的因子によって結合される、「デコイ・オリゴヌクレオチド」のような細胞内送達を含む。該デコイによる転写因子のDNA結合部位の占有は、転写因子を、標的遺伝子のプロモーター領域に結果的に結合できなくさせる。デコイは、転写因子によって活性化される遺伝子の発現を阻害するか、又は転写因子の結合によって抑制される遺伝子を上方調節するかのいずれかのための、治療剤として使用され得る。デコイ・オリゴヌクレオチドの利用の例は、参照としてその全体が本明細書に明らかに組み込まれるMann et al., J. Clin. Invest., 2000, 106: 1071-1075に見出される。

【１０６１】

miRNAミミック

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、miRNAミミックであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０６２】

miRNAミミックは、１又はそれ以上のmiRNAの活性を調節する遺伝子を模倣するために使用され得る１種の分子を表す。従って、「マイクロRNAミミック」という用語は、RNAi経路に入り、遺伝子発現を調節することができる合成非コーディングRNA（すなわち、miRNAは、内因性miRNAの起源から精製によって得られない）を意味する。miRNAミミックは、成熟分子（例えば、一本鎖）又は模倣前駆体（例えば、プリ-又はプレ-miRNA）として設計され得る。

【１０６３】

いくつかの実施形態では、miRNAミミックは、二本鎖分子（例えば、約16～約31ヌクレオチド長の二重鎖領域を有する）であり、所定のmiRNAの成熟鎖との同一性を有する１又はそれ以上の配列を含む。

【１０６４】

いくつかの実施形態では、miRNAミミックは、約16～約31ヌクレオチドの二重鎖領域を含む。いくつかの実施形態では、提供されるmiRNAミミックは、以下の化学的修飾パターンの1又はそれ以上を含んでよい：センス鎖が（センスオリゴヌクレオチドの5’末端から数えて）ヌクレオチド1及び2の2’-O-メチル修飾、並びにC及びUの全てを含む；アンチセ

ンス鎖修飾がC及びUの全ての2’F修飾、該オリゴヌクレオチドの5’末端のリン酸化、及び2ヌクレオチド3’オーバーハングと関連した安定化ヌクレオチド間結合を含む。

【１０６５】

スーパーmir

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、スーパーmirであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０６６】

スーパーmirは、miRNAと実質的に同一であり、その標的に関してアンチセンスである、核酸配列を有する、オリゴヌクレオチド、例えば一本鎖、二本鎖又は部分的に二本鎖のオリゴヌクレオチドを意味する。該用語は、同様に機能する少なくとも１つの非天然部分を含むオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、スーパーmirは、センス鎖を含まない。いくつかの実施形態では、スーパーmirは、顕著な程度には自己ハイブリダイズしない。いくつかの実施形態では、スーパーmirは、二次構造を有するが、生理学的条件下では実質的に一本鎖である。実質的に一本鎖であるスーパーmirは、スーパーmir約の50%未満（例えば、約40%、30%、20%、10%又は5%未満）がそれ自体二重鎖である程度に一本鎖である。スーパーmirは、ヘアピン断片を含み得、例えば3’末端の配列は好ましくは自己ハイブリダイズし、二重鎖領域、例えば少なくとも1、2、3又は4、好ましくは8、7、6又は5ヌクレオチド、例えば5ヌクレオチドの二重鎖を形成し得る。二重鎖領域は、リンカー、例えばヌクレオチドリンカー、例えば3、4、5又は6dT、例えば修飾dTによって結合され得る。いくつかの実施形態では、スーパーmirは、例えばスーパーmirの非末端もしくは中央の3’及び5’末端の両方又はそのいずれかで、例えば5、6、7、8、9又は10ヌクレオチドの長のより短いオリゴヌクレオチドで二重化される。

【１０６７】

アンチマー又はmiRNA阻害剤

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、アンチマー又はmiRNA阻害剤であるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０６８】

「アンチマー」、「マイクロRNA阻害剤」、又は「miR阻害剤」という用語は同義であり、特定のmiRNAの活性を妨げるオリゴヌクレオチド又は修飾オリゴヌクレオチドを意味する。阻害剤は、一本鎖、二本鎖（RNA/RNA又はRNA/DNA二本鎖）、及びヘアピン設計を含む、様々な構造を採用し得る。いくつかの実施形態では、マイクロRNA阻害剤は、標的とするmiRMAの成熟鎖（又は複数の成熟鎖）と完全に又は部分的に相補性である、配列の１又はそれ以上の配列又は部分を含む。いくつかの実施形態では、miRNA阻害剤は、成熟miRMAの逆補体である配列に5’及び3’に位置する追加された配列を含む。更なる配列は、成熟miRNAが由来するプリmiRNA中の成熟miRNAに隣接する、配列の逆補体でよく、あるいは更なる配列は、（A、G、C、U又はdTの混合物を有する）任意の配列でよい。いくつかの実施形態では、更なる配列の１又は両方は、ヘアピンを形成することができる任意の配列である。従って、いくつかの実施形態では、miRNAの逆補体である配列は、ヘアピン構造によって5’側及び3’側に隣接される。いくつかの実施形態では、マイクロRNA阻害剤は二本鎖である。いくつかの実施形態では、マイクロRNA阻害剤は二本鎖であり、反対鎖のヌクレオチド間にミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、マイクロRNA阻害剤は、細胞への阻害剤の取り込みを促進するために、複合体部分と連結される。

【１０６９】

ヘアピンmiRNAを含むマイクロRNA阻害剤は、各々が参照として本明細書に全体的に組み込まれる、Vermeulen他, "Double-Stranded Regions Are Essential Design Components Of Potent Inhibitors of RISC Function," RNA 13: 723-730 (2007)、及び国際特許出願公開第WO2007/095387号及び同第WO 2008/036825号に詳述されている。

【１０７０】

miRNA型療法の例示的な適用は、その内容が参照によって本明細書に組み込まれる、Pan他（2007）World J Gastroenterol 13(33): 4431-36, “小RNAに基づくC型肝炎の新規治

療機会”に記載されている。要するに、著者は、肝臓特異的発生調節因子である、hcr遺伝子の非コーディングポリアデニル化RNA転写物から得られた22ヌクレオチドの成熟miR-122を記載している。miR-122はHCVウイルス複製に関連する肝臓特異的miRNAであるので、miR-122のサイレンシングはHCVの治療のために有用であり得る。

【１０７１】

アンタゴmir

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、アンタゴmirであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０７２】

アンタゴmirは、RNアーゼ保護及び亢進された組織及び細胞取り込み等の薬理学的性質のための様々な修飾を有するRNA様オリゴヌクレオチドである。それらは、例えば、完全な糖の2’-0-メチル化、チオリン酸エステル糖間結合、例えば3’末端でのコレステロール部分で、通常のRNAとは異なる。いくつかの実施形態では、アンタゴmirは、全てのヌクレオチドでの分子の2’-0-メチル修飾、3’末端でのコレステロール部分、5’末端での最初の２つ位置での２つのチオリン酸エステル糖間結合、及び3’末端での４つのチオリン酸エステル結合を含む。アンタゴmirは、アンタゴmir及び内因性miRNAを含む二重鎖を形成することによって内因性miRNAを効率的に発現停止（silence）するために使用され得、それによって、miRNA誘導遺伝子サイレンシングを阻害することができる。アンタゴmir介在miRNサイレンシングの例は、参照としてその全体が本明細書に組み込まれる、Krutzfeldt他，Nature，2005，438：685-689に記載のmiR-122のサイレンシングである。

【１０７３】

修飾単一オリゴヌクレオチド変形体

典型的には、２つの構成要素、すなわちRNAi関連タンパク質による認識のために必要とされる二本鎖核酸モチーフ、及びRISCのアルゴノート触媒的タンパク質において補助因子に結合するmRNAとして働くガイド鎖、が、RNAi機構を活性化するために要求される。より最近では、部分的に相補的な二重鎖に自己重合することができる１つの短い（25～28 nt）オリゴから成る新規な種類のRNAi分子が開発されている。これらの分子は、RISCを効率的に活性化し、有力な慣用的RNAi分子で得られるものに匹敵する標的mRNAサイレンシングを生成する、ことが証明された。例えば、参照としてその全体が本明細書に組み込まれる、Lapierre他，“単一オリゴヌクレオチド化合物を用いる有力かつ系統的なRNAi介在サイレンシング” RNA 2011；17:00参照。また、参照としてその全体が本明細書に組み込まれる、国際特許出願公開第WO 2010/090762号 “追加の機能性のための一本鎖チオリン酸エステルヌクレオチド領域を有するRNA二重鎖” (PCT/US2010/00348)参照。

【１０７４】

従って、本発明は、チオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域を含むRNAiコンストラクト、及び遺伝子サイレンシングにおけるこのようなコンストラクトの使用を含む。

【１０７５】

いくつかの実施形態では、本発明は、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖を含む単離された二本鎖核酸分子を利用し、ここで、該パッセンジャー鎖は、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域に開裂可能なリンカーによって結合されている。いくつかの実施形態では、本発明は、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖を含む単離された二本鎖核酸分子を利用し、ここで、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖の少なくとも１つは、少なくとも６つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域に開裂可能なリンカーによって結合されている。

【１０７６】

いくつかの実施形態では、本発明は、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖を有する単離された二本鎖核酸分子を利用し、ここで、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖の少なくとも１つは、少なくとも３つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域に開裂可能なリンカーによって結合されている。いくつかの実施形態では、二本鎖核酸分子は、以下の性質

のうちの少なくとも１つを含む。パッセンジャー鎖は、8～18ヌクレオチド長であり得る。核酸は少なくとも１つの2’-0-メチル又は2’-フルオロ修飾を有し得る。開裂可能な結合は、ヌクレオチド結合以外であり得る。核酸は脂肪親和性基を含み得る。ガイド鎖は、16～18ヌクレオチド長又は26～18ヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態では、一本鎖領域はガイド鎖に結合される。

【１０７７】

いくつかの実施形態では、開裂可能な結合は、１又はそれ以上の非修飾ヌクレオチドを含む。他の実施態様では、開裂可能なリンカーは、ホスホジエステル結合である。ある実施態様では、開裂可能なリンカーはS-Sである。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーは、DNA又はRNAである。少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、パッセンジャー鎖の3’又は5’末端のいずれかにあってよい。いくつかの実施形態では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、DNAであるが、他の実施態様においてはRNAである。

【１０７８】

いくつかの実施形態では、核酸分子の二本鎖領域は完全な二重鎖である。他の実施態様では、二本鎖領域は少なくとも１つのバルジ領域を含む。いくつかの実施形態では、パッセンジャー鎖は、分子の二本鎖領域内にニックを含む。二本鎖領域は、チオリン酸エステル修飾されている少なくとも１つのヌクレオチドを含んでよい。

【１０７９】

本発明に従って使用される核酸分子は、化学的に修飾されてよい。ある実施態様では、化学修飾は2’-0-メチル及び/又は2’-フルオロである。いくつかの実施形態では、１超の化学修飾が同一分子に存在する。いくつかの実施形態では、化学修飾は、安定性を増加させ、免疫調節の回避を増加させ、及び/又はオフターゲット遺伝子サイレンシングを阻害する。化学修飾は、パッセンジャー鎖及び/又はガイド鎖上に存在し得る。いくつかの実施形態では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、細胞において核酸分子の二本鎖領域から開裂される。いくつかの実施形態では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、哺乳動物遺伝子に対する相補性を有する。ある実施態様では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、アンチセンス分子として機能する。二本鎖領域は、少なくとも19ヌクレオチド長でよい。いくつかの実施形態では、一本鎖領域は、少なくとも12ヌクレオチド長である。

【１０８０】

いくつかの実施形態では、本発明は、RNA干渉で機能する二本鎖領域、及びアンチセンスに機能する一本鎖領域を含む二官能性核酸分子であって、該二本鎖領域がガイド鎖及びパッセンジャー鎖を含み、該二本鎖領域及び一本鎖領域が開裂可能なリンカーによって結合されている、二官能性核酸分子を利用する。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーは、１又はそれ以上の非修飾ヌクレオチドを含む。他の実施態様では、開裂可能なリンカーは、ホスホジエステル結合である。ある実施態様では、開裂可能なリンカーはS-Sである。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーはDNA又はRNAである。

【１０８１】

いくつかの実施形態では、本発明は、哺乳動物細胞中の標的遺伝子の発現を阻害するための方法であって、哺乳動物細胞を、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖を含む単離された二本鎖核酸分子と接触させることを含み、該パッセンジャー鎖が少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域に開裂可能なリンカーによって結合される、方法に関する。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーは、１又はそれ以上の非修飾ヌクレオチドを含む。他の実施態様では、開裂可能なリンカーはホスホジエステル結合である。ある特定の実施態様では、開裂可能なリンカーはS-Sである。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーはDNA又はRNAである。

【１０８２】

いくつかの実施形態では、一本鎖領域は、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌ

クレオチドを含み、パッセンジャー鎖の3’又は5’末端のいずれかでよい。いくつかの実施形態では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域はDNAであり、他の実施態様ではRNAである。いくつかの実施形態では、核酸分子の二本鎖領域は完全な二重鎖である。他の実施態様では、二本鎖領域は、少なくとも１つのバルジ領域を含む。いくつかの実施形態では、パッセンジャー鎖は、分子の二本鎖領域内にニックを含む。二本鎖領域は、チオリン酸エステル修飾されている少なくとも１つのヌクレオチドを含んでよい。

【１０８３】

本発明に従って使用される核酸分子は、化学的に修飾され得る。ある実施態様では、化学修飾は、2’-0-メチル及び/又は2’-フルオロである。いくつかの実施形態では、１超の化学修飾が同一の分子に存在する。いくつかの実施形態では、化学修飾は、安定性を増加させ、免疫調節の回避を増加させ、及び/又はオフターゲット遺伝子サイレンシングを阻害する。化学修飾は、パッセンジャー鎖及び/又はガイド鎖上に存在し得る。

【１０８４】

いくつかの実施形態では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、細胞において核酸分子の二本鎖領域から開裂される。いくつかの実施形態では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、哺乳動物遺伝子に対する相補性を有する。ある実施態様では、少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域は、アンチセンス分子として機能する。二本鎖領域は、少なくとも19ヌクレオチド長でよい。いくつかの実施形態では、一本鎖領域は、少なくとも12ヌクレオチド長である。

【１０８５】

いくつかの実施形態では、本発明は、哺乳動物細胞中の標的遺伝子の発現を阻害するための方法であって、哺乳動物細胞を、ガイド鎖及びパッセンジャー鎖を含む単離された二本鎖核酸分子と接触させることを含み、該ガイド鎖が少なくとも８つのチオリン酸エステル修飾ヌクレオチドの一本鎖領域に開裂可能なリンカーによって結合される、方法に関する。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーは、１又はそれ以上の非修飾ヌクレオチドを含む。他の実施態様では、開裂可能なリンカーはホスホジエステル結合である。ある実施態様では、開裂可能なリンカーはS-Sである。いくつかの実施形態では、開裂可能なリンカーはDNA又はRNAである。

【１０８６】

いくつかの実施形態では、本発明は、哺乳動物細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、哺乳動物細胞を、RNA干渉で機能する二本鎖領域、及びアンチセンスに機能する一本鎖領域を含む二官能性核酸分子と接触させることを含み、該二本鎖領域がガイド鎖及びパッセンジャー鎖を含み、該二本鎖領域及び一本鎖領域が開裂可能なリンカーによって結合されている、方法に関する。他の態様では、哺乳動物細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法が提供される。該方法は、哺乳動物細胞を、本明細書に記載のT単離された二本鎖核酸分子の任意と接触させることを含む。

【１０８７】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される単離された二本鎖核酸分子は、安定性を増加させる化学修飾を含む。いくつかの実施形態では、単離された二本鎖核酸分子は、免疫調節の回避を増加させる化学修飾を含む。いくつかの実施形態では、単離された二本鎖核酸分子は、オフターゲット遺伝子サイレンシングを阻害する化学修飾を含む。

【１０８８】

いくつかの実施形態では、本明細書で論じるように、使用されるオリゴヌクレオチドは、部分的に相補的な二重鎖に自己重合化することができる単一オリゴヌクレオチド分子である。いくつかの実施形態では、このような単一オリゴヌクレオチドは、約23～30ヌクレオチド長、例えば、23、24、25、26、27、28、29及び30ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、部分的に相補的な二重鎖に自己重合化することができる単一オリゴヌクレオチドは、約14～18ヌクレオチドmRNA標的領域、例えば14、15、16、17及び18ヌクレオ

チドmRNA標的領域を含む。いくつかの実施形態では、部分的に相補的な二重鎖に自己重合化することができる単一オリゴヌクレオチドは、部分的に相補的な二重鎖に自己重合化ならしめる、追加の7～11、例えば7、8、9、10及び11ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、部分的に相補的な二重鎖に自己重合化することができる単一オリゴヌクレオチドは、RNA誘導サイレンシング複合体（RISC）に効率的に入り活性化し得る。

【１０８９】

U1アダプター

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、U1アダプターであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０９０】

U1アダプターは、ポリA部位を阻害し、標的遺伝子末端エキソンにおける部位に相補的な標的ドメイン及びU1 snRNPのU1のより小さな核RNA成分に結合する「U1ドメイン」を有する二官能性オリゴヌクレオチドである。例えば、各々が参照として本明細書に全体的に組み込まれる、国際特許出願公開第W02008/121963号及びGoraczniak他，2008，Nature Biotechnology，27(3)，257-263を参照。U1 snRNPは、プレmRNAエキソン-イントロン境界に結合することによってスプライソソーム形成における初期ステップを指向するように主に機能するリボ核タンパク質複合体である。Brown及びSimpson，1998，Annu Rev Plant Physiol Plant MoI Biol 49: 77-95参照。

【１０９１】

いくつかの実施形態では、利用されるオリゴヌクレオチドはU1アダプターであって、該オリゴヌクレオチドが、少なくとも１つのエフェクタドメイン（U1ドメイン）に連結した少なくとも１つのアニーリングドメイン（標的ドメイン）を含み、該アニーリングドメインが標的遺伝子配列にハイブリダイズし、該エフェクタドメインがU1 snRNPのU1 snRNAにハイブリダイズする、U1アダプターである。いくつかの実施形態では、U1アダプターは、１つのアニーリングドメインを含む。いくつかの実施形態では、U1アダプターは、１つのエフェクタドメインを含む。

【１０９２】

理論に拘束されるものではないが、アニーリングドメインは、典型的には約10～約50ヌクレオチド長、より典型的には約10～約30ヌクレオチド長、又は約10～約20ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、アニーリングドメインは、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又は21ヌクレオチド長である。アニーリングドメインは、標的遺伝子に対して、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、又は少なくとも約100%相補性であり得る。いくつかの実施形態では、アニーリングドメインは、（例えば、ポリアデニル化部位を介して）末端コーディング領域、及び3’UTR及びポリアデニル化シグナル配列を含むプレmRNAのY末端エキソン内の標的部位にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、標的部位は、プレmRNAのポリ（A）シグナル配列の、約500塩基対、約250塩基対、約100塩基対、又は約50塩基対内にある。いくつかの実施形態では、アニーリングドメインは、標的遺伝子配列と1、2、3又は4個のミスマッチを有する。

【１０９３】

いくつかの実施形態では、エフェクタドメインは、約8ヌクレオチド～約30ヌクレオチド長の範囲である。いくつかの実施形態では、エフェクタドメインは、約10ヌクレオチド～約20ヌクレオチド長の範囲である。いくつかの実施形態では、エフェクタドメインは、約10ヌクレオチド～約15ヌクレオチド長の範囲である。U1ドメインは、U1 snRNA、特に5’末端、より具体的にはヌクレオチド2～11とハイブリダイズし得る。いくつかの実施形態では、U1ドメインは、内因性U1 snRNAのヌクレオチド2～11と完全に相補性である。いくつかの実施形態では、U1ドメインは、配列番号1（5’-GCCAGGIL1AAGUAU-3’）、配列番号2（5"-CCAGGLIAA.GUAII-3"）、配列番号4（5"-CAGGUAAGUAU-3’）、配列番号5（5 [2]-CAGGLIAAGU-3’）、配列番号6（5’-- CM.16ITAAC1-3’）、及び配列番号7（5’-CAGG1IA2=‘,,3’）からなる群より選ばれるヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、第III

ドメインは、ヌクレオチド配列、配列番号8（5"-CAGGUAAGUA-3"）を含む。理論に拘束されるものではないが、塩基対形成をステム1に含むように及び/又はU1 snRNAの位置1に塩基対形成を含むようにU1ドメインの長さを増加させることは、U1 snRNAに対するU1アダプターの親和性を改善する。

【１０９４】

U1アダプターのアニーリング及びエフェクタドメインは、エフェクタドメインがアニーリングドメインの5’末端及び/又は3’末端にあるように連結される。この２つのドメインは、１つのドメインの3’末端がもう一方のドメインの5’末端に連結されるか、１つのドメインの3’末端がもう一方のドメインの3’末端に連結されるか、あるいは１つのドメインの5’末端がもう一方のドメインの5’末端に連結されるかのように、連結され得る。アニーリング及びエフェクタドメインは、互いに直接に連結され得るか、又はヌクレオチド型もしくは非ヌクレオチド型リンカーによって連結され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、ヌクレオチド塩基であり、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、最大15、最大20、又は最大25のヌクレオチドを含む。

【１０９５】

いくつかの実施形態では、アニーリングドメインとエフェクタドメインとのリンカーは多価であり、例えば三価、四価、五価である。理論に拘束されるものではないが、多価リンカーは、単一のアニーリングドメインを多数のアダプタードメインと一緒に結合するために使用され得る。

【１０９６】

いくつかの実施形態では、U1アダプターは、本明細書に記載の任意のオリゴヌクレオチド修飾を含む。例示的なこのような修飾は、細胞及び生物におけるアニーリング親和性、特異性、バイオアベイラビリティ、細胞及び/又は核輸送、安定性、及び/又は分解抵抗性を増加させる修飾を含む。いくつかの実施形態では、U1アダプターは、少なくとも１つの他のRNAi剤と組み合わせて投与され得る。

【１０９７】

RNAアクチベータ

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、RNAアクチベータ又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１０９８】

最近の研究は、dsRNAがまた、遺伝子発現、すなわち「小RNA誘導遺伝子活性化」又はRNAaと称されるメカニズムを活性化できることが見出されている。例えば、Li, L.C.他 Proc Nati Auld Sci U S A. (2006), 103(46): 17337-42、及びLi L.C. (2008) "小RNA介在遺伝子発現" 遺伝子発現のRNA及び調節: 複雑性の隠された層 Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-25-7参照。dsRNA標的遺伝子プロモーターは、関連遺伝子の強力な転写活性を誘導することが示されている。RNAaを引き起こす内因性miRNAもヒトで見出されている。Check E. Nature (2007) 448 (7156): 855-858。

【１０９９】

別の観察は、RNAaによる遺伝子活性が長時間継続することである。遺伝子発現の誘導は、10日間超続くと考えられている。このRNAaの長期の効果は、dsRNA標的部位での後成的変化に起因し得る。

【１１００】

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、提供されるオリゴヌクレオチドが遺伝子発現を増加させるRNAアクチベーターである。いくつかの実施形態では、増加された遺伝子発現は生存性、成長生育、及び/又は再生を阻害する。

【１１０１】

非コーディングRNA（ncRNA）

本発明は、長い非コーディングRNA（lncRNA）及び短い非コーディングRNA（sncRNA）等の、非コーディングRNAを包含する。

【１１０２】

従って、提供される本発明のオリゴヌクレオチド組成物は、疾患関連長非コーディングRNAを調節するために有用であり得る。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される方法に従って合成されたオリゴヌクレオチドは、lncRNA領域を標的とするために、転写レプレッサー複合体の結合を特異的にブロックし、それによって関連標的遺伝子の発現を誘導するために使用される。いくつかの実施形態では、転写リプレッサー複合体は、サイレンシング因子である。いくつかの実施形態では、転写リプレッサー複合体は、ヒストンメチルトランスフェラーゼ活性を有する。いくつかの実施形態では、転写リプレッサー複合体は、ヒストンH3をメチル化する。いくつかの実施形態では、転写リプレッサー複合体は、PRC2（Polycomb Repressive Complex 2）である。

【１１０３】

ある特定のPRC2関連lncRNAは、潜在的な治療標的及び/又はバイオマーカーとして報告されている（Zhao他，2010．“RIP配列によるポリコーム関連RNAの全ゲノム同定”Molecular Cell 40: 939-53）。PCR2タンパク質の過剰発現は、転移性前立腺癌及び乳癌、及び結腸、乳及び肝臓の癌を含む様々な種類の癌に関連付けられている。PRC2介在遺伝子抑制の薬理学的阻害は、インビトロで数個の癌細胞株でアポトーシスを誘導することが見出されたが、様々な種類の正常細胞では見い出されなかった。この系でのアポトーシスの誘導は、PRC2によって抑制された遺伝子の再活性化に依拠する。PRC2介在遺伝子抑制が癌幹細胞の幹細胞性の維持に関連し得る、との証拠もある。この結果は、少なくともいくつかの事例では、PRC2介在遺伝子抑制の阻害（PRC2を救援するlncRNAsを重要な遺伝子に標的化することによることを含む）が様々な種類の癌を治療するための有力な戦略である、ことを示唆している。本明細書で提供される方法に従って調製され得る核酸の非限定的配列は、例えば、参照として本明細書にその内容が組み込まれる“ポリコーム関連非コーディングRNA”というタイトルの国際特許出願公開第WO 2012/065143号（PCT/US2011/60493）号に見出される。

【１１０４】

本発明の提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、piwi-相互作用性RNA（piRNAs）等の小非コーディングRNAでもよく又はそれとして働いもよい。piRNAは、動物細胞で発現される小非コーディングRNA分子の最大の種類であり、ゲノム中のクラスターに見出される。piRNAは、piwiタンパク質との相互作用によってRNA-タンパク質複合体を形成することが知られている。piRNA複合体は、レトロトランスポゾンの後成的遺伝子サイレンシングと転写後遺伝子サイレンシングの両方、及び精子形成を含む生殖細胞中の他の遺伝子要素に関連付けられている。典型的には、piRNAは、26～31ヌクレオチド長であり、典型的なmiRNAと比較して、配列保存性を欠き、より高い複雑性を示す。いくつかの実施形態では、本発明に従って利用されるオリゴヌクレオチド組成物は、5’ウリジンを含む。いくつかの実施形態では、本発明に従って利用されるオリゴヌクレオチド組成物は、5’一リン酸、及び2’又は3’酸素のいずれかをブロックするように働く3’修飾を含む。いくつかの実施形態では、3’修飾は2’-O-メチル化である。

【１１０５】

三重鎖形成性オリゴヌクレオチド

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、三重鎖形成性オリゴヌクレオチドであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１１０６】

最近の研究は、配列特異的な方法で二本鎖螺旋状DNAのポリプリン及び/又はポリピリミジン領域を認識し、結合できる三重鎖形成性オリゴヌクレオチド（TFO）が、設計できることを示している。これらの認識の法則は、Maher III, L.J.他, Science (1989) vol. 245, pp 725-730; Moser, H. E.他, Science (1987) vol. 238, pp 645- 630; Beal, P.A.他, Science (1992) vol. 251, pp 1360-1363; Conney, M.他, Science (1988) vol. 241, pp 456-459、及びHogan, M.E.他, EP公開第375408号によって概説されている。オリゴヌクレオチドの修飾、例えばインターキレータの導入、糖間結合置換、及び結合条件の最適化（pH及びカチオン濃度）は、電荷反発及び不安定性等のTFO活性に関する固有の障害

を解消する点で役に立っており、オリゴヌクレオチドが特定の配列を標的化し得ることが最近示されている（最近のレビューとして、Seidman及びGlazer, Clin Invest 2003 2.:487-94参照）。一般的には、三重鎖形成オリゴヌクレオチドは、以下の配列一致性を有する：

オリゴ3’-A G G T
二重鎖5’-A G C T
二重鎖3’-T C G A

【１１０７】

しかしながら、A-AT及びG-GC三重鎖が最大の三重螺旋状安定性を有することが示されている（Reither及びJeltsch, BMC Biochem, 2002, Sept12, Epub）。同一の著者は、A-AT及びG-GC規則に従って設計されたTFOが非特異的三重鎖を形成しないことを証明している。該三重鎖形成は実際に配列特異的であることを示している。従って、任意の所定の配列については、三重鎖形成配列が考案され得る。いくつかの実施形態では、三重鎖形成オリゴヌクレオチドは、少なくとも約15、約25、又は約30以上のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、三重鎖形成オリゴヌクレオチドは、最大約50又は約100ヌクレオチド長である。

【１１０８】

標的DNAとの三重鎖螺旋状構造の形成は、立体及び機能的変化を誘導し、転写開始及び伸長をブロックし、内因性DNAの所望の配列変化を導入し、及び遺伝子発現の特的下方調節をもたらす。TFOによって処理された細胞中の遺伝子発現のこのような抑制の例は、哺乳動物細胞中のエピソームsupFGI及び内因性HPRTのノックアクトを誘導する（Vasquez他, Nucl Acids Res. 1999; 27: 1176-81、及びPuri他, J Biol Chem, 2001; 276: 28991-98）、Ets2転写因子（Carbone他, Nucl Acid Res. 2003; 31: 833-43）及び前炎症性ICAM-I遺伝子（Besch他, J Biol Chem, 2002; 277: 32473-79）の発現の配列-及び標的特異的下方調節は、前立腺癌疫学において重要である。更に、Vuyisich及びBealは、配列特異的TFOがdsRNAに結合でき、RNA依存的キナーゼ等のdsRNA依存的酵素の活性を阻害することを最近示している（Vuyisich及びBeal, Nuc, Acids Res 2000; 28: 2369-74）。

【１１０９】

更に、上記原理に従って設計されたTFOは、DNA修復を達成できる指向性突然変異を誘発することができ、よって内因性遺伝子の発現の下方調節及び上方調節を提供する（Seidman及びGlazer, JInvest 2003; 112: 487-94）。効果的TFOの設計、合成及び投与の詳細な説明は、本明細書に参照としてその全体の内容が組み込まれる、Froehier他のS. Pat. App. Nos. 2003 017068及び2003 0096980、及びEmanude他の2002 012821/8及び2002 0123476、並びにLawnの米国特許第5,721,138号に見い出される。

【１１１０】

複合体/リンカー

本発明はまた、いくつかの実施形態では、利用したオリゴヌクレオチドが細胞取り込みのために最適化されることを考慮する。本発明によって包含される任意の利用されるオリゴヌクレオチドにおいて、ガイド及び/又はパッセンジャー鎖は複合体に結合され得る。いくつかの実施形態では、該複合体は疎水性である。疎水性複合体は、10超の分配係数を有する低分子でよい。複合体は、ステロール型分子、例えばコレステロール、又はC17に結合された増加した長さのポリ炭素鎖を有する分子であり、複合体の存在は、脂質トランスフェクション試薬と共に又は無しで細胞に取り込まれるRNA分子の能力に影響を与え得る。複合体は、疎水性リンカーによってパッセンジャー又はガイド鎖に結合され得る。いくつかの実施形態では、疎水性リンカーは5～12C長、及び/又はヒドロキシピロリジン型である。いくつかの実施形態では、疎水性複合体は、パッセンジャーに結合され、パッセンジャー及び/又はガイド鎖のいずれかのCU残基は修飾される。いくつかの実施形態では、パッセンジャー及び/又はガイド鎖上のCU残基の少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%又は95%は、修飾される。いくつかの実施形態では、本発明に関連する分子は、自己送達する（sd）。本明細書で使用される「自己送達」は、トランスフェク

ション試薬のような追加の送達ビヒクルのための必要性なしに細胞に送達される分子の能力を意味する。本発明の態様は、RNAiでの使用のための分子を選択することに関する。

【１１１１】

本明細書に包含される態様の任意においては、利用されるオリゴヌクレオチドは、分子を細胞に標的化する及び/又は送達するための疎水性部分と会合し得る。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、リンカーを介して核酸分子と会合される。いくつかの実施形態では、会合は非共有結合相互作用による。いくつかの実施形態では、会合は共有結合による。当該分野で知られている任意のリンカーは、疎水性部分を有する核酸と会合するために使用され得る。当該分野で知られているリンカーは、参照として本明細書に組み込まれる、公表されたPCT出願である、国際特許出願公開第WO 92/03464、同第WO 95/23162号、同第WO 2008/021157号、同第WO 2009/021157号、同第WO 2009/134487号、同第WO 2009/126933号、米国特許出願公開第2005/0107325号、米国特許第5,414,077号、同第5,419,966号、同第5,512,667号、同第5,646, 126号、及び同第5,652,359号に記載されている。リンカーは多原子リンカーに対する共有結合のように簡単でよい。リンカーは環状でも又は非環状でもよい。リンカーは場合により置換されていてよい。いくつかの実施形態では、リンカーは核酸から開裂され得る。ある実施態様では、リンカーは、生理学的条件下で加水分解され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは酵素（例えば、エステラーゼ又はホスホジエステラーゼ）によって開裂され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは疎水性部分から核酸を分離するためのスペーサー要素を含む。該スペーサー要素は、1～30炭素原子又はヘテロ原子を含み得る。ある実施態様では、リンカー及び/又はスペーサー要素は、プロトン化可能な官能基を含む。このようなプロトン化可能な官能基は、核酸分子のエンドソーム脱出を促進し得る。プロトン化可能な官能基はまた、細胞への核酸の送達を促進し、例えば分子の全体的な荷電を中和する。いくつかの実施形態では、リンカー及び/又はスペーサー要素は、生物学的に不活性である（すなわち、生物学的活性を与えないか、又は得られる核酸分子に機能を与えない）。

【１１１２】

疎水性分子は、リンカー分子によってポリヌクレオチドに結合され得る。場合によりリンカー部分は、非ヌクレオチドリンカー部分である。非ヌクレオチドリンカーは、例えば、脱塩基の残基（sSpacer）、オリゴエチレングリコール、例えばトリエチレングリコール（スペーサー9）又はヘキサエチレングリコール（スペーサー18）、あるいはアルカンジオール、例えばブタンジオールである。スペーサー単位は、好ましくは、ホスホジエステル又はチオリン酸エステル結合によって連結される。リンカー単位は、例えばホスホジエステル、チオリン酸エステル、メチルリン酸エステル又はアミド結合によって、分子に1回のみ出現してもよく、又は数回組み込まれてもよい。

【１１１３】

典型的な複合化プロトコールは、配列の1又はそれ以上の位置でアミノリンカーを有するポリヌクレオチドの合成を含むが、リンカーは必要とされない。該アミノ基は、次いで、好適なカップリング又は活性化試薬を用いて、複合化される分子と反応する。複合化反応は、固体支持体にそのまま結合されたポリヌクレオチドを用いて、又は溶液相でのポリヌクレオチドの開裂に従ってのいずれかで、達成され得る。HPLCによる修飾ポリヌクレオチドの精製は、典型的には、純粋な物質を与える。

【１１１４】

いくつかの実施形態では、連結基は、ヌクレオモノマーに結合し得、輸送ペプチドは該リンカーに共有結合的に結合され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、輸送ペプチドの両方の結合部位として機能し得、ヌクレアーゼに対する安定性を提供し得る。好適なリンカーの例は、置換又は非置換C_1-C_{20}アルキル鎖、C_2-C_{20} アルケニル鎖、C_2-C_{20}アルキニル鎖、ペプチド、及びヘテロ原子（例えば、S、O、NH等）を含み。他の例示的なリンカーは、二官能性架橋剤、例えばスルホスクシンイミジル-4-（マレイミドフェニル）-酪酸エステル（SMPB）を含む（例えば、Smith他 Biochem J 1991. 276: 417-2参照）。

【１１１５】

いくつかの実施形態では、本発明の提供されるオリゴヌクレオチドは、遺伝子を細胞に送達するための受容体介在エンドサイトーシス機構を利用する分子複合体として合成される（例えば、Bunnell他 1992. Somatic Cell and Molecular Genetics. 18: 559、及び本明細書で引用されている参考文献参照）。

【１１１６】

標的化剤

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、組成物及び/又はそこに含まれる個々のオリゴヌクレオチドと会合した１又はそれ以上の標的化剤を含む。このような標的化剤の例は、上に記載され、更に本明細書に記載される。「標的化剤」及び「標的化部分」という用語は、本明細書で交換的に使用される。

【１１１７】

オリゴヌクレオチド及び/又はその組成物の送達は、オリゴヌクレオチドを細胞受容体に送達することによって一般的に改善され得る。標的化部分は、オリゴヌクレオチドに複合化され得るか、又はオリゴヌクレオチドに連結された担体基（例えば、ポリ（L-リジン）又はリポソーム）に結合され得る。本方法は、特定の受容体介在エンドサイトーシスを示す細胞に十分に適合される。

【１１１８】

例えば、6-ホスホマンノシル化タンパク質に対するオリゴヌクレオチド複合体は、遊離のオリゴヌクレオチドよりもマンノース6-リン酸エステル特異的受容体を発現する細胞によって、20倍超効率的に内部に取り入れられる。オリゴヌクレオチドはまた、生分解性リンカーを用いて細胞受容体に対するリガンドに結合され得る。別の例では、送達コンストラクトは、ビオチン化オリゴヌクレオチドとの堅い複合体を形成するマンノシル化ストレプトアビジンである。マンノシル化ストレプトアビジンは、ビオチン化オリゴヌクレオチドの内在化を20倍増加させることが判っている（Vlassov他 1994. Biochimica et Biophysica Acta 1197: 95-108）。

【１１１９】

RNA干渉の分野は、生物学的プロセスの研究に革命を起こした。これらのツールは、低分子阻害RNA (siRNA)、低分子ヘアピンRNA (shRNA)、及びリボザイムを含む。RNA干渉技術が進歩したことに伴い、使用のための確証済みのRNA標的配列及び試薬のリストも増加している。本願によって包含される、提供される組成物及び方法は、このような標的配列の各々に容易に適用され得る。確証済みのsiRNA標的配列のデータベース、及びRNA干渉実験のために使用され得るキット及び試薬へのリンクについては、例えば、http://www.rnainterference.org/index.html参照。本発明に有用な例示的なsiRNA標的配列は、添付の添付書類（A）で提供される。

【１１２０】

免疫調節オリゴヌクレオチド

いくつかの実施形態では、提供される組成物は、免疫調節オリゴヌクレオチドであるか又はそれとして働く１又はそれ以上のオリゴヌクレオチドを含む。

【１１２１】

本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、免疫調節剤、すなわち、対象に投与される時に免疫応答を調節するか又は制御することができる物質であることができる。そのような物質によって誘起される免疫応答は、生来の及び/又は適合性のある免疫応答であることができる。免疫系は、より生来の免疫系と、脊椎動物の獲得された適合性免疫系とに分けられる。このうちの後者は、体液性細胞成分に更に分類される。いくつかの実施形態では、免疫応答は粘膜性でよい。本明細書に記載の免疫調節モチーフは、ODNクラス、例えばAクラス、Bクラス、Cクラス、Eクラス、Tクラス及びPクラスを含む免疫調節オリゴヌクレオチドの先に記載のクラスの状況で使用され得る。

【１１２２】

本発明のいくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫調節オリゴヌクレオチドは、１又はそれ以上の免疫調節モチーフを含む。いくつかの実施形態では、本発明に

従って使用されるオリゴヌクレオチドは、１又はそれ以上の「CpGジヌクレオチド」を含む。CpGジヌクレオチドは、メチル化されても又はメチル化されなくてよい。少なくとも１つの非メチル化CpGジヌクレオチドを含む免疫刺激オリゴヌクレオチドは、非メチル化シトシン-グアニンジヌクレオチド配列（すなわち、非メチル化5’シチジン、その後に結合される3’グアノシンであり、リン酸エステル結合によって連結されている）を含み、免疫系を活性化する、オリゴヌクレオチド分子である；このような免疫刺激オリゴヌクレオチドはCpGオリゴヌクレオチドである。CpGオリゴヌクレオチドは、参照として本明細書にその内容が組み込まれる、米国特許第6,194,388号；同第6,207,646号；同第6,214,806号；同第6,218,371号；同第6,239,116号；及び同第6,339,068号を含む、多数の発行された特許、公表された特許出願、及び他の刊行物に記載されている。いくつかの実施形態では、使用されるオリゴヌクレオチドは、トール様受容体のアゴニストであるか又はそれとして働く。いくつかの実施形態では、使用されるオリゴヌクレオチドは、トール様受容体9（TLR9）のアゴニストであるか又はそれとして働く。いくつかの実施形態では、使用されるオリゴヌクレオチドは、トール様受容体のアンタゴニストであるか又はそれとして働く。いくつかの実施形態では、使用されるオリゴヌクレオチドは、トール様受容体9（TLR9）のアンタゴニストであるか又はそれとして働く。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される立体が特定されたオリゴヌクレオチドは、立体がランダムな対応物と比べて、各々の受容体/標的に対するより高い親和性を示す。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される立体が特定されたオリゴヌクレオチドは、立体がランダムな対応物と比べて、個体間の変動の程度が低い特定の臨床的基準を満たす対象に投与された時に、１又はそれ以上の免疫応答を誘起する。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される立体が特定されたオリゴヌクレオチドは、立体がランダムな対応物と比べて、臨床的基準を満たす対象に投与された時に、低度の毒性副作用を起こすか又はほとんど副作用を起こさない。

【１１２３】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、CpGジヌクレオチドモチーフを有さない。CpGジヌクレオチドモチーフを有さないこれらのオリゴヌクレオチドは、非CpGオリゴヌクレオチドと言われ、非CpG免疫刺激モチーフを有する。いくつかの実施形態では、これらは、T-豊富免疫刺激オリゴヌクレオチド、例えば少なくとも80% Tを有するオリゴヌクレオチドである。

【１１２４】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Bクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。

【１１２５】

「Bクラス」ODNは、B細胞の活性化に強力であるが、IFN-α及びNK細胞活性化を誘導する点では比較的弱い。BクラスCpGオリゴヌクレオチドは、典型的には十分に安定化され、特定の好ましい塩基事情内に非メチル化CpGジヌクレオチドを含む。例えば、米国特許第6,194,388号；同第6,207,646号；同第6,214,806号；同第6,218,371号；同第6,239,116号；及び同第6,339,068号参照。

【１１２６】

別のクラスは、IFN-α及びNK細胞活性化に強力であるが、B細胞を刺激する点で比較的弱い；このクラスは、「Aクラス」と称される。いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Aクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。AクラスCpGオリゴヌクレオチドは、典型的には、5’及び3’末端において安定化したポリG配列、及び少なくとも6ヌクレオチドにおいてパリンドロームホスホジエステルCpGジヌクレオチド配列を含む。例えば、公表された特許出願PCT/US00/26527 (WO 01/22990)を参照。

【１１２７】

CpGオリゴヌクレオチドの更に別のクラスは、B細胞及びNK細胞を活性化し、IFN-αを誘導する；このクラスはCクラスと呼ばれる。いくつかの実施形態では、本発明に従って使

用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Cクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。「Cクラス」免疫刺激オリゴヌクレオチドは、少なくとも2つの異なったモチーフを含み、免疫系の細胞に対する特有かつ望ましい刺激効果を有する。これらのODNの中には、典型的な「刺激的」CpG配列と、「GC-リッチ」又は「B細胞中和」モチーフとの両方を有するものがある。これらの組み合わせモチーフオリゴヌクレオチドは、B細胞活性化及び樹状細胞(DC)活性化の強力な誘導因子である、典型的な「クラスB」CpG ODNに関連した免疫刺激効果と、IFN-α及びナチュラルキラー（NK）細胞活性化の強力なインデューサであるがB細胞及びDC活性化の比較的弱い誘導因子である、免疫刺激オリゴヌクレオチド（「クラスA」CpG ODN)のより最近記載されテイルクラスに関連した免疫刺激効果との間のどこかに含まれる、免疫刺激効果を有する。Krieg AM他（1995）Nature 374: 546-9; Ballas ZK他（1996）J Immunol 157: 1840-5; Yamamoto S他（1992）J Immunol 48: 4072-6。好ましいクラスB CpG ODNは、多くの場合チオリン酸エステル骨格を有し、好ましいクラスA CpG ODNは、混合又はキメラ骨格を有するが、組み合わせモチーフ免疫刺激オリゴヌクレオチドのCクラスは、安定化される、例えばチオリン酸エステル、キメラ、又はホスホジエステル骨格のいずれかを有してよく、そして、いくつかの実施形態では、準ソフトな骨格を有する。このクラスは、その全体内容が参照として本明細書に組み込まれる、2002年8月19日に出願された米国特許出願第USI 0/224,523号に記載されている。

【１１２８】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Eクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。「Eクラス」オリゴヌクレオチドは、IFN-αの分泌を誘導する亢進された能力を有する。これらのODNは、YGZモチーフの親油性置換ヌクレオチドアナログ5’及び/又は3’を有する。Eクラス式の化合物は、例えば、以下の親油性置換ヌクレオチドアナログのいずれかを有する：置換ピリミジン、置換ウラシル、疎水性Tアナログ、置換トルエン、置換イミダゾール又はピラゾール、置換トリアゾール、5-クロロ-ウラシル、5-ブロモ-ウラシル、5-ヨード-ウラシル、5-エチル-ウラシル、5-プロピル-ウラシル、5-プロピニル-ウラシル、(E)-5-(2-ブロモビニル)-ウラシル、又は2,4-ジフルオロ-トルエン。Eクラスオリゴヌクレオチドは、少なくとも米国仮出願第60/847,811号に記載されている。

【１１２９】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Tクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。「Tクラス」オリゴヌクレオチドは、本発明のODN、IFN-関連サイトカイン及びケモカインにおけるように修飾されない場合には、B又はCクラスオリゴヌクレオチドよりもIFN-αのより低レベルの分泌を誘発すると同時に、Bクラスオリゴヌクレオチドに類似のIL-10レベルを誘発する能力を保持する。Tクラスオリゴヌクレオチドは、少なくとも、参照として本明細書にその全体的内容が組み込まれる、米国特許第出願第11/099,683号に記載されている。

【１１３０】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Pクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。「Pクラス」免疫調節オリゴヌクレオチドは、5TLR活性化ドメイン、2二重鎖形成領域及び任意のスペーサー及び3’テイルを含む、数個のドメインを有する。この種類のオリゴヌクレオチドは、場合によっては、Cクラスよりもはるかに高いレベルのIFN-αを誘導する能力を有する。Pクラスオリゴヌクレオチドは、インビトロ及び/インビボのいずれかで自発的に自己集合してコンカタマーになる能力を有する。これらの分子の作用の方法について任意の特定の理論に拘束されるものではないが、１つの可能な仮説は、この性質が、特定の免疫細胞内でTLR9に、より高く架橋する能力を有するPクラスオリゴヌクレオチドに提供し、先に記載のCpGオリゴヌクレオチドのクラスと比べて免疫活性化の明確に異なったパターンを誘導することである。TLR9受容体の架橋は、形質細胞様樹状細胞におけるI型IFNRフィードバックループによるより強いIFN-αの活性化を誘導し得る。Pクラスオリゴヌクレオチドは、少なくとも米国特許出願第11/706,561号に記載されている。

【１１３１】
いくつかの実施形態では、本発明に従って使用される免疫刺激オリゴヌクレオチドは、Sクラス免疫調節オリゴヌクレオチドである。本発明の免疫調節オリゴヌクレオチドは、免疫抑制オリゴヌクレオチドであり得る。本明細書に記載の免疫調節モチーフは、「Sクラス」等のODNクラスを含む免疫抑制オリゴヌクレオチドの上記クラスの文脈で使用され得る。阻害の、又はSクラスのODNは、免疫刺激を阻害するために望ましい場合にはいつでも有用である。阻害ODNは、感染性ショック、炎症、アレルギー、喘息、移植拒絶、移植片対宿主病（GvHD）、自己免疫疾患、Th1-又はTh2-介在疾患、細菌感染症、寄生虫感染症、自発吸収、及び腫瘍を予防及び治療するために使用され得る。阻害ODNは、一般的に、関連TLRを発現する全ての細胞の活性化を阻害するために、より具体的には抗原提示細胞、B細胞、形質細胞様樹状細胞（pDC）、単球、単球由来細胞、好酸球、及び好中球の活性化を阻害するために、使用され得る。SクラスODNは、少なくとも米国特許出願第10/977,560号に更に記載されている。

【１１３２】
本発明によれば、免疫調節オリゴヌクレオチドは、安定化FANAプリンヌクレオチド（複数）に加えて安定化ヌクレオチド間結合の骨格、又は安定化されたホスホジエステルヌクレオチド結合のキメラ骨格を有し得る。「安定化ヌクレオチド間結合」は、ホスホジエステルヌクレオチド結合と比べて、（例えば、エキソヌクレアーゼ又はエンドヌクレアーゼによる）インビボ分解に比較的抵抗性である、ヌクレオチド間結合を意味するものとする。いくつかの実施形態では、安定化ヌクレオチド間結合は、チオリン酸エステル、ジチオリン酸エステル、メチルリン酸エステル、チオメチルリン酸エステル、ホスホノ酢酸エステル、Rp-チオリン酸エステル、Sp-チオリン酸エステル、ボラノリン酸エステル、又は3’-チオホルムアセタール、又はそれらの混合物を含むが、これらに限定されない。他の安定化オリゴヌクレオチドは以下を含む：非イオン性DNAアナログ、例えばアルキル及びアリールリン酸エステル（荷電したリン酸エステル酸素がアルキル又はアリール基によって置換されている）、ホスホジエステル、及び荷電した酸素部分がアルキル化されているアルキルホスホトリエステル。ジオール、例えばテトラエチレングリコール又はヘキサエチレングリコールを末端のいずれか又は両方に含むオリゴヌクレオチドはまた、ヌクレアーゼ分解に実質的に抵抗性であることが判っている。

【１１３３】
本明細書でより詳細に記載されているように、本発明によれば、これらの及び他の修飾は、立体特異的なオリゴヌクレオチド分子を得るようにオリゴヌクレオチド内の予備決定された位置（複数）/パターン（複数）に選択的に導入され得る。更に、本発明によれば、多数のこのようなオリゴヌクレオチドを含む組成物は、相当に高い純度（例えば、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、本質的に100%）で得られる。従って、１又はそれ以上の予備決定された種類のオリゴヌクレオチドを含む提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、インビボ投与に好適である。組成物中のオリゴヌクレオチドの高度の構造的純度に因って（それによって組成物が１つの特定の種類のオリゴヌクレオチドを含む）、提供される組成物は、対象に投与された時に、改善された生物学的活性、増加された効率、減少された応答変数、及び/又は減少された望ましくない副作用を発揮し得る。

【１１３４】
従って、本発明の使用されたオリゴヌクレオチドは、具体的には、医薬組成物に製剤化され場合に治療剤として有用である。いくつかの実施形態では、このような治療剤は、免疫調節剤である。いくつかの実施形態では、提供される免疫調節剤は、免疫刺激剤である。いくつかの実施形態では、提供される免疫調節剤は、免疫阻害（又は免疫抑制）剤である。いくつかの実施形態では、提供される免疫調節剤は、アジュバントとして働く。いくつかの実施形態では、提供される免疫調節剤は、炎症性Th2応答を抑制できるTh1型サイトカインを誘導することによってTh2型免疫応答をTh1型免疫応答に転じることができる。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組成物は、遺伝子発現を制御する

物質として有用である。例えば、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組成物は、対象の遺伝子、例えば疾患又は障害に関連した遺伝子をサイレンシングすることができる物質として有用である。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組成物は、RNAスプライシングを制御するための物質として有用である。

【１１３５】

例えば、このようなオリゴヌクレオチドの実施態様には、少なくとも１つのCpGジヌクレオチドモチーフを含むものを含む。いくつかの実施形態では、そのようなオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つの非メチル化CpGジヌクレオチドモチーフを含む。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、クラスA（クラスD）オリゴヌクレオチドとして分類される。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、クラスB（クラスK）オリゴヌクレオチドとして分類される。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、クラスCオリゴヌクレオチドとして分類される。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、クラスPオリゴヌクレオチドとして分類される。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、少なくとも１つのパリンドローム配列を含む。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、「ダンベル様」構造を形成し得る。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、「Y」状構造又はその多量体を形成し得る。いくつかの実施形態では、本発明に有用なCpG含有オリゴヌクレオチドは、四面体構造を形成し得る。リビューのために、例えば、Bode他 (2011) Expert Rev. Vaccines 10(4): 499-511; Hanagata (2012) Int. J. Nanomedicine 7: 2181-95参照。

【１１３６】

いくつかの実施形態では、本発明に従って使用されるオリゴヌクレオチドは、トール様受容体（複数）を発現する細胞に対する免疫調節効果を誘発する。いくつかの実施形態では、このようなオリゴヌクレオチドに対して応答する標的細胞は、抗原提示細胞（APC）、抗原特異的T及びB細胞、細胞傷害性T細胞（CTL）、ナチュラルキラー（NK）細胞、及び樹状細胞（DC）を含むがこれらに限定されない。いくつかの実施形態では、免疫調節効果は、このようなオリゴヌクレオチドを認識する受容体又は複数の受容体を発現する細胞によって誘発される直接的効果である。いくつかの実施形態では、このようなオリゴヌクレオチドは、トール様受容体9（TLR9）をリガンドとして発現する細胞に対する免疫調節効果を誘発する。例えば、本発明の実施態様の中には、１又はそれ以上のトール様受容体のアゴニストとして働くCpGオリゴヌクレオチドを含むものもある。本発明の実施態様の中には、１又はそれ以上のトール様受容体のアンタゴニストとして働くCpGオリゴヌクレオチドを含むものもある。いくつかの実施形態では、免疫調節効果は、必ずしもこのようなオリゴヌクレオチドに直接に応答し又はそのような受容体を発現しない細胞を含む、下流で起こる間接的効果である。

【１１３７】

いくつかの実施形態では、本発明のために有用であるCpGオリゴヌクレオチドは、TLR-9によってヒトB細胞及び形質細胞様樹状細胞を直接活性化することを特徴とする。いくつかの実施形態では、本発明のために有用であるCpGオリゴヌクレオチドは、ナチュラルキラー細胞、T細胞及び単球/マクロファージの成熟及び増殖を間接的に支持することを特徴とする。

【１１３８】

いくつかの実施形態では、本発明のために有用であるCpGオリゴヌクレオチドは、Th1型及び前炎症性サイトカイン、ケモカイン及び多反応性IgMの産生によって特徴付けられる。

【１１３９】

いくつかの実施形態では、本発明のために有用であるCpGオリゴヌクレオチドは、慣用的なタンパク質抗原及びペプチド型ワクチンの免疫原性がそのようなオリゴヌクレオチドによって亢進されることを特徴とする。特定の理論に拘束されるものではないが、このよ

うアジュバント効果は、専門の抗原提示細胞の改善された機能、及び体液性及び細胞性ワクチン特異的免疫応答の得られた世代によって介在されると考えられている。

【１１４０】

いくつかの実施形態では、本発明のために有用であるCpGオリゴヌクレオチドは、該CpGオリゴヌクレオチドがワクチン誘発応答の程度を増加させ、該応答の進行を促進することを特徴とする。それらはまた、記憶の誘発を改善し、それによって体液性及び細胞性免疫の期間を延長する。

【１１４１】

いくつかの実施形態では、本発明のために有用であるCpGオリゴヌクレオチドは、減少した免疫機能を有する対象群（例えば、患者集団）、例えば高齢及び抑制免疫系を有する人、の免疫を高めることを特徴とする。これらは、全身的に又は粘膜的にのいずれかで投与される時に効果的である。混合キラリティー（例えば、キラルに純粋でない）のCpGオリゴヌクレオチドを用いる前臨床及び臨床試験は、感染性疾患及び癌を標的化するワクチンの免疫原性を高めることができる。更に、臨床試験は、ワクチンアジュバントとして投与された時に、CpGオリゴヌクレオチドが合理的に安全でありことを指摘する。

【１１４２】

本発明の開示に従って調製された免疫調節オリゴヌクレオチドは、多数の治療的適用に有用である。そのため、使用された免疫調節オリゴヌクレオチドは、好適な医薬組成物に製剤化され得る。かかる医薬組成物は、好適な投与経路によって本明細書に更に記述される、疾患、障害又は症状を治療するために有効な量で対象に投与され得る。本発明によれば、免疫刺激オリゴヌクレオチドの有効量は、免疫系を高める（例えば、亢進された免疫応答）ことから利益を得そうである対象に投与され得る。いくつかの実施形態では、臨床的利点は、例えばそのトール様受容体タンパク質へのリガンドの結合によって、その標的免疫細胞に対して作用する免疫調節オリゴヌクレオチドによって直接的に与えられる。いくつかの実施形態では、臨床的利点は、対象の免疫系を全体的に高めることによって少なくとも一部は間接的に達成される。

【１１４３】

本明細書で使用される用語「有効量」及び「有効投薬量」は、その意図した目的（複数）すなわち、許容される利益/リスク比で組織又は対象での望ましい生物学的又は医薬的応答、を充たすために十分である化合物又は組成物の任意の量又は投薬量を指す。適切な意図した目的は、客観的（すなわち、ある試験又はマーカーによって測定可能）でも、又は主観的（すなわち、対象が効果の兆候を示すか、又は効果を感じる）でもよい。いくつかの実施形態では、治療上有効量は、（例えば、顕在化された症状、疾患進行/段階、遺伝的プロファイル等によって決定されるような）疾患又は障害についての特定の臨床的基準を満たす対象群に投与された時に、統計的に顕著な治療的応答が該集団で得られる量である。治療上有効量は、複数の単位投薬量を含み得る投薬レジメで一般的に投与される。任意の特定の医薬物質について、治療上有効量（及び/又は有効な投薬レジメ内の好適な単位投薬量）は、例えば、他の医薬物質と組み合わせた投薬経路に依って変動し得る。いくつかの実施形態では、任意の特定の患者についての具体的な治療上有効量（及び/又は単位投薬量）は、治療されるべき疾患及び疾患の重度；採用される具体的な医薬物質の活性；採用される具体的な組成物；患者の年齢、体重、全身的な健康、性別及び栄養；採用される投与時間、投与経路、及び/又は具体的医薬物質の排出及び代謝速度；治療期間；並びに医薬分野で周知である類似の要因、を含む様々な要因に依拠し得る。当業者は、本発明のいくつかの実施形態では、陽性の結果と関連する投薬レジメの文脈で単、位投薬量が投与の好適量を含む場合に、有効量を含むと考えられる。従って、いくつかの実施形態では、本発明に従って調製されたCpGオリゴヌクレオチドは、そのキラル純度のために改善された有効性及び免疫調節効果を奏し得る。いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチドの有効量は、純度の低い対応物よりも低い。

【１１４４】

いくつかの実施形態では、免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、健常な対象に投与さ

れる。いくつかの実施形態では、免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、ワクチンの一部として対象に投与され、該免疫調節オリゴヌクレオチドはアジュバントとして働く。いくつかの実施形態では、免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、抑制された（例えば、損傷された）免疫系で対象に投与される。いくつかの実施形態では、免疫系が抑制され、慣用的なワクチンに十分に応答しない対象は、本発明によって包含される免疫調節オリゴヌクレオチドを含むワクチンに応答する。いくつかの実施形態では、このようなワクチンから利益を得るかもしれない対象は、感染症、例えばウイルス感染症、例えばHIV、HBV、HCV等に関連した免疫系を抑制している。

【１１４５】

本発明は、免疫応答の刺激又は抑制によって治療され得る症状を有する対象の治療のために本明細書で企図される免疫調節オリゴヌクレオチドの使用を包含する。従って、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、感染症、癌、アレルギー、喘息、炎症性症状、自己免疫疾患、及びそれらの任意の組み合わせを含むがこれらに限定されない、疾患又は症状の治療に有用である。

【１１４６】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、臨床的症状を発症するリスクのある対象の治療のために本発明のある態様において有用である。非限定的な臨床的症状は、アレルギー、喘息、感染性生物による感染症、炎症及び自己免疫疾患を含む。本明細書で使用されるリスクのある対象は、病原菌、癌又はアレルゲンを引き起こす感染への曝露の何らのリスクを有するか、あるいは癌を発症するリスクを有する、対象である。例えば、リスクのある対象は、感染性物質の特定の種類が見出される地域に旅行を計画している対象であり得、その生活様式を介して又は医療手段を介して感染性生物を含み得る体液に曝露されるか、又は直接に該生物に曝露される対象であり得、あるいは感染性生物又はアレルゲンが同定されている地域に住んでいる任意の対象ですらあり得る。感染症を発症するリスクのある対象はまた、医療機関が特定の感染性生物抗原でのワクチン接種を推奨している一般的集団を含む。抗原がアレルゲンであり、対象が該特定の抗原に対してアレルギー反応を発症し、対象が該抗原にすなわち花粉の季節において曝露され得る場合には、該対象は該抗原への曝露のリスクにある。アレルギー又は喘息を発症するリスクにある対象は、アレルギー又は喘息を有すると特定されているが免疫調節オリゴヌクレオチド治療中に活動性疾患を有さない対象、及び一般的又は環境的因子のためにそれらの疾患を発症するリスクにあると考えられる対象を含む。癌を発症するリスクにある対象は、癌を発症する高い確率を有する人である。これらの対象は、例えば、全身性異常であって、その存在が癌を発症するより高い可能性と相関関係と有すると証明されている全身性異常を有する対象、及びタバコ、アスベスト又は他の化学的毒素等の癌を引き起こす物質に曝露された対象、又は癌についてこれまに治療されたことがあり、明らかに寛解にある対象である。癌を発症するリスクにある対象が、該対象が発症するリスクにある癌種に特異的な抗原及びCpG免疫刺激オリゴヌクレオチドで治療される時に、該対象は癌細胞が発症するにつれて該細胞を殺し得る。腫瘍が該対象において形成し始めるならば、該対象は腫瘍抗原に対する特定の免疫応答を進行させるだろう。

【１１４７】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、喘息、アレルギー及び関連症状を含む免疫疾患又は障害を有する対象を治療するために有用である。

【１１４８】

アレルギーを有する対象は、アレルゲンに反応したアレルギー反応を発症するリスクを有するか又はそのリスクにある対象である。アレルギーは、物質（アレルゲン）に対する獲得過敏性を指す。アレルギー症状は、湿疹、アレルギー性鼻炎又は鼻感冒、枯れ草熱、結膜炎、気管支喘息、じんましん（urticaria）（じんましん（hives））及び食物アレルギー、及び他のアトピー性症状を含むが、これらに限定されない。

【１１４９】

アレルギーは、一般的に、無害のアレルゲンに対するIgE抗体産生によって起こる。免疫調節オリゴヌクレオチドの全身性又は粘膜投与によって誘発されるサイトカインは、主に、TH1と称されるクラス（例えば、IL-12、IP-10、IFN-α及びIFN-γ）であり、これらは体液性及び細胞性免疫応答を誘発する。IL-4及びIL-5サイトカインの産生に関連する免疫応答の他の主な種類は、Th2免疫応答と称される。一般的に、アレルギー疾患はTh2型免疫応答によって介在されるようである。主なTh2（IgE抗体及びアレルギーの産生に関連する）からTh2/Th1バランス応答（アレルギー反応に対して保護的である）まで対象において免疫応答をシフトする免疫調節オリゴヌクレオチドの能力に基づいて、免疫調節オリゴヌクレオチドの免疫応答を誘発するための有効投薬量は、喘息及びアレルギーを治療又は予防するために対象に投与され得る。

【１１５０】

従って、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、喘息のようなアレルギー及び非アレルギー症状の治療において顕著な治療的有用性を有する。Th2サイトカイン、特にIL-4及びIL-5は、喘息対象の気道で上昇する。これらのサイトカインは、IgE同型転換（isotope switching）、好酸球走化因子、活性化及び肥満細胞増殖を含む、喘息性炎症応答に重要な局面を促進する。Th1サイトカイン、特にIFN-γ及びIL-12は、Th2クローンの形成及びTh2サイトカインの産生を抑制することができる。喘息は、炎症、気道の狭小化、及び吸引剤への気道の増加した反応性によって特徴付けられる呼吸器系の障害を指す。喘息は、多くの場合、それに限られるわけではないが、アトピー又はアレルギー症状を伴う。

【１１５１】

提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、抗アレルギー療法と組み合わせて投与されてもよい。アレルギーを治療又は予防するための慣用的な方法は、アレルギー医薬又は鈍化療法の使用を含んでいる。アレルギーを治療又は予防するためのいくつかの進化療法は、抗IgE抗体を中和する使用を含む。アレルギー反応の化学的メディエータの効果を妨害する抗ヒスタミン及び他の薬物は、アレルギー症状の重度を制御することに役立つが、アレルギー反応を防止せず、次に起こるアレルギー応答に対して何の効果も有さない。鈍化療法は、アレルゲンに対するIgG型応答を誘発するために、通常皮下での注射によって、アレルゲンの少量を与えることによって行われる。IgG抗体の存在は、IgEステップの誘発から起こるメディエータの産生を中和するために役立つと考えられている。最初に、対象は、重度の反応を誘発しないようにアレルゲンの極低量で治療され、次いで該投薬量がゆっくり増加される。この種の治療法は、アレルギー応答を引き起こす化合物が対象に実際に投与され、重度のアレルギー反応が起こり得るので、危険である。

【１１５２】

抗アレルギー医薬は、抗ヒスタミン、コルチステロイド、及びプロスタグランジン誘導剤を含むが、これらに限定されない。抗ヒスタミンは、巨細胞又は好塩基球によって放出されたヒスタミンを中和する化合物である。これらの化合物は当該分野で周知であり、アレルギーの治療に一般的に使用される。抗ヒスタミンは、アクリバスチン、アステミゾール、アザタジン、アゼラスチン、ベタタスチン、ブロムフェニラミン、ブクリジン、セチリジン、セチリジンアナログ、クロルフェニラミン、クレマチスン、CS 560、シプロヘプタジン、デスロラタジン、デキスクロルフェニルアミン、エバスチン、エピナスチン、フェキソフェナジン、HSR 609、ヒドロキシジン、レボカバスチン、ロラチジン、メトスコポラミン、ミゾラスチン、ノラステミゾール、フェニンダミン、プロメタジン、ピリラミン、テルフェナジン、及びトラニラストを含むが、これらに限定されない。コルチコステロイドは、メチルプレドニソロン、プレドニソロン、ベクロメタゾン、ブデソニド、デキサメタソン、フルニソリド、フルシカゾンプロピオン酸塩、及びトリアムシノロンを含むが、これらに限定されない。デキサメタソンは、抗炎症活性を有するコルチコステロイドであるが、高度に吸収され、有効投薬量で長期間の抑制副作用を有するために、吸入形態でのアレルギー又は喘息の治療のために恒常的に使用されない。しかしながら、デキサメタソンは、アレルギー又は喘息を治療するために本発明に従っ

て使用され得る。本発明の組成物と組み合わせて投与された時に副作用を減少させるために低用量で投与され得るからである。コルチコステロイド使用に関連した副作用の中には、咳、発音障害、口内がこう瘡（カンジダ症）が含まれ、より高用量では、全身性の効果、例えば副腎抑制、ブドウ糖不耐性、骨粗鬆症、骨の無菌壊死、白内障形成、成長抑制、高血圧、筋衰弱、皮膚菲薄化、及び容易に打撲傷ができやすいことが含まれる。Barnes及びPeterson (1993) Am Rev Respir Dis 148: S1-S26; 及びKamada AK他 (1996) Am J Respir Crit Care Med 153: 1739-48。

【１１５３】

本発明に従う提供されるオリゴヌクレオチド組成物及び方法は、単独で、又は喘息の治療のために有用である他の物質及び方法を組み合わせて使用され得る。１つの態様では、本発明は、喘息を有する対象を治療する方法を提供する。本発明のこの態様に従う方法は、喘息を有する対象に、該対象を治療するために本発明の組成物の有効量を投与するステップを含む。

【１１５４】

いくつかの実施形態では、本発明は喘息を有する対象を治療する方法を提供する。本発明の態様に従う方法は、喘息を有する対象に本発明の組成物の有効量を投与するステップ及び該対象を治療するための抗喘息療法を含む。

【１１５５】

本明細書で使用される「喘息」は、炎症及び気道の狭窄化、及び吸入剤への気道の増加した反応性によって特徴付けられる呼吸器系の障害を指す。喘息は、多くの場合、それに限られるわけではないが、アトピー又はアレルギー症状を伴う。喘息の症状は、気流閉塞から起こる、息切れ（wheezing）、息切れ（breathlessness）、胸部絞扼感及び咳、の再発性エピソードを含む。喘息に伴う気道炎症は、多数の生理学的変化、例えば気道粘膜上皮の浸食、基底膜下のコラーゲン沈着、浮腫、巨細胞活性化、好中球、好酸球及びリンパ球を含む炎症性細胞浸入の観察によって検出され得る。気道炎症の結果、喘息患者は、通常、気道過剰反応性、気流制限、呼吸器症状、及び疾患の慢性化を経験する。気流制限は、急性急性気管支収縮、気道浮腫、粘液栓形成、及び気道リモデリング、一般的に気管支閉塞を招く特徴を含む。喘息のいくつかの症例では、基底膜下線維症が起こることがあり、このことは肺機能の持続性の異常を招く。

【１１５６】

過去数年に渡る研究は、喘息が炎症性細胞、メデェエータ、及び気道に存在する他の細胞及び組織間の複雑な相互作用から得られるようであることを明らかにした。巨細胞、好酸球、上皮細胞、マクロファージ、及び活性化T細胞はすべて、喘息に関連する炎症性プロセスで重要な役割を果たす。Djukanovic R他 (1990) Am Rev Respir Dis 142: 434-457。これらの細胞は、局所組織に対して直接的又は間接的に作用し得る、予備形成そして新規に合成されたメディェータの分泌を介して、気道機能に影響を及ぼし得る、と考えられている。Tリンパ球（Th2）の亜集団は、選択的サイトカインを放出し、疾患慢性を確立することによって、気道においてアレルギー炎症を制御する点で重要な役割を果たしていると認識されてもいる。Robinson DS他 (1992) N Engl J Med 326: 298-304。

【１１５７】

喘息は、様々な発達段階で起こる複雑な障害であり、症状の程度に基づいて急性、亜急性又は慢性に分類され得る。急性炎症性応答は、気道への細胞の初期の動員と関連する。亜急性炎症性応答は、細胞の動員、及び常在細胞の活性化が関与し、持続性の炎症パターンを起こす。慢性炎症性応答は、気道における永続的異常を招き得る、持続性レベルの細胞損傷、及び進行する修復プロセスによって特徴付けられる。

【１１５８】

「喘息を有する対象」は、炎症及、気道の狭窄化、及び吸入剤への気道の増加した反応性によって特徴付けられる呼吸器系の障害を有する対象である。喘息の開始と関連する因子は、アレルゲン、寒冷温度、運動、ウイルス感染及びSO_2を含むが、これらに限定されない。

【１１５９】
上記のように、喘息は、Th2サイトカインであるIL-4及びIL-5、並びにIgE抗体同型置換によって少なくとも部分的に特徴付けられる、免疫応答のTH2型と関連し得る。Th1及びTh2免疫応答は、免疫応答のTh1型への免疫応答の傾きがアレルギーを含む免疫応答のTh2型を抑制又は緩和し得るように、相互に拮抗的作用的である。従って、本発明の提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、喘息を有する対象を治療するためにそれ自体有用である。なぜならば、アナログは免疫応答のTh1型に免疫応答を傾かせ得るからである。
【１１６０】
本発明の提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、喘息療法と組み合わせて投与されてもよい。喘息を治療又は予防するための慣用的方法は、抗アレルギー療法（上記）及び吸入剤を含む多数の他の物質の使用を含む。
【１１６１】
喘息治療のための医療は、一般的に、２つのカテゴリー、すなわち迅速緩和医療及び長期管理医療に分類される。喘息患者は、持続性の喘息の管理を達成し維持するための毎日の原則に基づいて長期管理医療を受けている。長期管理医療は、抗炎症剤、例えばコルチコステロイド、クロモリンナトリウム及びネドクロミル；長期作用気管支拡張薬、例えば長期作用β_2-アゴニスト及びメチルキサンチン；及びロイコトリエン修飾因子を含む。迅速緩和医療は、短時間作用β_2-アゴニスト、抗コリン作働性薬、及び全身性コルチコステロイドを含む。これらの薬物の各々と関連した多くの副作用が存在し、薬物のいずれも、単独又は組み合わせて、喘息を予防し又は完全に治療することができない。
【１１６２】
抗喘息医薬は、PDE-4阻害剤、気管支拡張薬/β-2アゴニスト、カリウム（K^+）チャネル開口薬、VLA-4アンタゴニスト、ニューロキニンアンタゴニスト、トロンビン A2（TXA2）合成阻害剤、キサンチン、アラキドン酸アンタゴニスト、5 リポオキシゲナーゼ阻害剤、TXA2受容体アンタゴニスト、TXA2アンタゴニスト、5-リポックス活性化タンパク質の阻害剤、及びプロテアーゼ阻害剤を含むが、これらに限定されない。
【１１６３】
気管支拡張薬/β_2アゴニストは、気管支拡張又は平滑筋拡張を引き起こす化合物の種類である。気管支拡張薬/β_2アゴニストは、サルメテロール、サルブタモール、アルブテロール、テルブタリン、D2522/ホルモテロール、フェノテロール、ビトルテロール、ピルブエロールメチルキサンチン、及びオルシプレナリンを含むが、これらに限定されない。長期作用β_2アゴニスト及び気管支拡張薬は、抗炎症療法に加えて長期間症状抑制のために使用される化合物である。長期作用β_2アゴニストは、サルメテロール及びアルブテロールを含むがこれらに限定されない。これらの化合物は、通常、コルチコステロイドト組わ合せて使用され、一般的に何からの炎症療法なしには使用されない。それらは、副作用、例えば、頻拍、骨格筋振戦、低カリウム血、及び過剰投与量でのQTc間隔の延長が伴っている。
【１１６４】
メチルキサンチンは、例えばテオフィリンを含み、症状の長期制御及び抑制にために使用されている。これらの化合物は、ホスホジエステラーゼ阻害剤から起こる気管支拡張、及びおそらくアデノシン拮抗を引き起こす。用量関連急性毒性が、これらの種類の化合物に関して特定の問題である。結果として、毎日の血清濃度が、代謝クリアランスの個々の差から起こる毒性及び狭い治療的範囲を考慮するために監視されなければならない。副作用は、頻脈、頻脈性不整脈、吐き気及び嘔吐、中枢神経系刺激、頭痛、発作、吐血、高血糖症、及び低カリウム血を含むが、それらに限定されない。短時間作用β_2アゴニストは、アルブテロール、ビトルテロール、ピルブテロール、及びテルブタリンを含むが、これらに限定されない。短時間作用β_2アゴニストの投与に関連する逆作用の一部は、頻脈、骨格筋振戦、増加した乳酸、頭痛、及び高血糖症を含む。
【１１６５】
クロモリンナトリウム及びネドクロミルは、運動から起こる喘息症状又はアレルゲンか

ら起こるアレルギー症状を主に抑制するための長期間制御医薬として使用される。これらの化合物は、塩化物チャネル機能を妨げることによってアレルゲンへの早期及び遅延反応を遮断すると考えられている。それらはまた、巨細胞膜を安定させ、好酸球（inosineophils）及び上皮細胞からのメディエータの活動及び放出を阻害する。最大の利益を達成するために、4～6週間の投与が一般的に必要とされる。

【１１６６】

抗コリン作働性薬は、一般的に、急性気管支痙攣の緩和のために使用される。これらの化合物は、ムスカリン性コリン受容体の拮抗阻害によって機能すると考えられている。抗コリン作働性薬は、イプラトロピウムブロミドを含むが、これらに限定されない。これらの化合物は、コリン作動性介在気管支痙攣のみを逆転し、抗原に対する反応を何ら変更しない。副作用は、口及び呼吸器分泌物の乾燥、個体によっては増加した喘鳴、及び眼に噴霧した場合には視力障害を含む。

【１１６７】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、気道リモデリングを治療するために有用であり得る。気道リモデリングは平滑筋細胞増殖及び/又は気道中の粘膜下肥厚をもたらし、究極的には気道の狭小化を起こし、これは制限された気流を招く。本発明の免疫調節オリゴヌクレオチドは、更なるリモデリングを抑制し、おそらく、リモデリングプロセスから起こる組織構築を減少さえし得る。

【１１６８】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、炎症性障害を有する対象を治療するために有用である。本明細書で用いられる「炎症性障害」という用語は、感染、毒素曝露又は細胞損傷の部位において、白血球及び血漿タンパク質の蓄積及び活性化を含む生来の免疫系の抗原非特異的反応と関連する症状を指す。炎症に特徴的であるサイトカインは、腫瘍壊死因子（TNF-α）、インターロイキン1（IL-1）、IL-6、IL-12、インターフェロンα（IFN-α）、インターフェロンβ（IFN-β）、及びケモカインを含む。従って、喘息、アレルギー、及び自己免疫障害のある種類は、炎症性障害の特徴を有することがある。炎症性障害はまた、例えば、心血管疾患、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、気管支拡張症、慢性胆嚢炎、結核、橋本病、敗血症、サルコイドーシス、硅肺及び他の塵肺症、及び創傷における移植された異物を含むが、これらに限定されない。本明細書で使用される「敗血症」という用語は、微生物侵入に対する宿主の全身性炎症性応答に関連したよく知られた臨床的症候群を指す。本明細書で使用される「敗血症」という用語は、発熱又は低体温症、頻脈及び急速呼吸によって典型的には前兆とされる症状を言い、重度の場合には、低血圧、臓器不全、死にさえ進行進行し得る。

【１１６９】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、感染症を有する対象を治療するために有用である。いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、病原又は複数の病原に曝露されたかもしれない人を含む、感染症に罹患し易い対象を治療するために有用である。本発明に従って使用される免疫調節オリゴヌクレオチドはまた、いくつかの実施形態では、ウイルス、細菌、真菌、又は寄生虫による感染症を治療又は抑制するために使用され得る。感染症を有する対象は、感染性病原菌に曝露されており、体内に該病原菌の急性又は慢性の検出可能なレベルを有する、対象である。免疫調節オリゴヌクレオチドは、感染性病原菌のレベルを減少させ又は感染性病原菌を全滅させることができる、抗原特異的全身性又は粘膜性免疫応答を高めるために、抗原と共に又は抗原なしで使用され得る。本明細書で使用される感染性疾患は、体内において外来微生物の存在から起こる疾患である。病原菌の侵入の主な部位である体内の粘膜表面を保護するために有効なワクチン戦略及び治療を開発することは特に重要である。

【１１７０】

ウイルスは、一般的に核酸コア及びタンパク質被覆を含むが、独立して生物ではない、小さな感染性作用物である。ウイルスはまた、タンパク質を欠く感染性核酸の形態をとり

得る。ウイルスは、中で複製できる細胞の非存在下では生存することができない。ウイルスは、エンドサイトーシス又はDNA（ファージ）の直接的な注入のいずれかによって特定の細胞に入り、増殖して疾患を引き起こす。増殖したウイルスは、次いで、放出され、更なる細胞を感染し得る。ウイルスの一部はDNA含有ウイルスであり、他のウイルスはRNA含有ウイルスである。DNAウイルスは、ポックス、ヘルペス、アデノ、パポバ、パルボ、及びヘパドナヘパドナを含む。RNAウイルスは、ピコルナ、カリシ、アストロ、トガ、フラビ、コロナ、パラミキソ、オルトミキソ、ブンヤ、アレナ、ラブド、フィーオ、ボルナ、レオ及びレトロを含む。ある態様では、本発明はまた、プリオンが疾患進行で関係している疾患、例えば、牛海綿状脳症（すなわち、狂牛病、BSE）又は動物のスクレイピー感染症、又はヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病を治療することを意図する。

【１１７１】

ウイルスは、エンテロウイルス（ピコルナウイルス科ファミリーのウイルス、例えばポリオウイルス、コクサッキー（Coxsackie）ウイルス、エコーウイルスを含むがこれらに限定されない）、ロタウイルス、アデノウイルス、及び肝炎ウイルス、例えばA、B、C、D及びE型肝炎ウイルスを含むが、これらに限定されない。ヒトで見出されているウイルスの具体例は、以下を含むが、これらに限定されない：レトロウイルス科（Retroviridae）（例えば、ヒト免疫不全ウイルス、例えばHIV-1（HTLV-III、LAV又はHTLV-III/LAV、又はHIV-IIIとも呼ばれる）；及び他の単離物、例えばHIV-LP；ピコルナウイルス科（Picornaviridae）（例えば、ポリオウイルス、A型肝炎ウイルス；エンテロウイルス、ヒトコクサッキー（Coxsackie）ウイルス、リノウイルス、エコーウイルス）；カリシウイルス科（Calciviridae）（例えば、胃腸炎を引き起こす株）；トガウイルス科（Togaviridae）（例えば、ウマ脳炎ウイルス、ルベラウイルス）；フラビウイルス科（Flaviviridae）（例えば、デングウイルス、脳炎ウイルス、黄熱病ウイルス）；コロナウイルス科（Coronaviridae）（例えば、コロナウイルス）；ラブドウイルス科（Rhabdoviridae）（例えば、水疱性口炎ウイルス、狂犬病ウイルス）；フィロウイルス科（Filoviridae）（例えば、エボラウイルス）；パラミクソウイルス科（Paramyxoviridae）（例えば、パラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻しんウイルス、呼吸系発疹ウイルス）；オルソミクソウイルス科（Orthomyxoviridae）（例えば、インフルエンザウイルス）；ブニヤウイルス科（Bunyaviridae）（例えば、ハンタン（Hantaan）ウイルス、ブンヤウイルス、フレボウイルス、及びナイロ（Nairo）ウイルス）；アレナウイルス科（Arenaviridae）（出血熱ウイルス）；レオウイルス科（Reoviridae）（例えば、レオウイルス、オルビウイルス、及びロタウイルス）；ビルナウイルス科（Birnaviridae）；ヘパドナウイルス科（Hepadnaviridae）（B型肝炎ウイルス）；パルボウイルス科（Parvoviridae）（パルボウイルス）；パポバウイルス科（Papovavihdae）（パピローマウイルス、ポリオーマウイルス）；アデノウイルス科（Adenoviridae）（ほとんどがアデノウイルス）；ヘルペスウイルス科（Herpesviridae）（ヘルペス単純ウイルス（HSV）1型及び2型、水痘・帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV））；ポックスウイルス科（Poxviridae）（痘瘡ウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス）；イリドウイルス科（Iridoviridae）（例えば、アフリカ豚コレラウイルス）；及び他のウイルス、急性喉頭気管支炎ウイルス、アルファウイルス（Alphavirus）、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス、ニューカッスル（Newcastle）病ウイルス、ニパ（Nipah）ウイルス、ノルウォーク（Norwalk）ウイルス、パピローマウイルス（Papillomavirus,）、パラインフルエンザウイルス、鳥インフルエンザ、SARインフルエンザ、西ナイル熱。植物に感染するウイルスは、例えば、以下の科及び/又は属ーのウイルス：アルファウイルス（Alfamoviruses）：ブロモウイルス科（Bromoviridae）、アルファクリプトウイルス（Alphacryptoviruses）：パルティティウイルス科（Partitiviridae）、バドナウイルス（Badnaviruse）、ベータクリプトウイルス（Betacryptoviruses）：パルティティウイルス（Partitiviridae）、ビゲミニウイルス（Bigeminiviruses）：ジェミニウイルス（Geminiviridae）、ブロモウイルス（Bromoviruses）：ブロモウイルス科（Bromoviridae）、ビモウイルス（Bymoviruses）：ポチウイルス科（Potyviridae）、カプロウイルス（Capilloviruses）；カルラウイルス（Carlaviruses

）、カルモウイルスウイルス（Carmovirus virus）：トムブスウイルス科（Tombusviridae）、カリモウイルス（Caulimoviruses）、クロステロウイルス（Closteroviruses）、コモウイルスウイルス（Comovirus viruses）：コモウイルスウイルス科（Comoviridae）、クロステロウイルス（Closteroviruses）、コモウイルスウイルス（Comoviruses）：コモウイルスウイルス科（Comoviridae）、ククモウイルスウイルス（Cucumoviruses）：ブロモウイルス科（Bromoviridae）、サイトラブドウイルス（Cytorhabdoviruses）：ラブドウイルス科（Rhabdoviridae）、ダイアンソウイルス（Dianthoviruses）、エナモウイルス（Enamoviruses）、ファバウイルスウイルス（Fabaviruses）：コモウイルスウイルス科（Comoviridae）、フィジーウイルス Fijiviruses）：レオウイルス科（Reoviridae）、フロウイルス（Furoviruses）、ホルデイウイルス（Hordeiviruses）、ヒブリジェミニウイルス（Hybrigeminiviruses）：ジェミニウイルス科（Geminiviridae）、イダエオウイルス（Idaeoviruses）、イラルウイルスウイルス（Ilarviruses）：ブロモウイルス科（Bromoviridae）、イポモウイルス（Ipomoviruses）：ポチウイルス科（Potyviridae）、ルテオウイルス（Luteoviruses）、マクロモウイルス（Machlomoviruses）、マクルラウイルス（Macluraviruses）、マラフィウイルスウイルス（Marafiviruses）、モノジェミニウイルス（Monogeminiviruses）：ジェミニウイルス科（Geminiviridae）、ナナウイルス（Nanaviruses）、ネクロウイルス（Necroviruses）、ネポウイルスウイルス（Nepoviruses）：コモウイルスウイルス科（Comoviridae）、ヌクレオラブドウイルス（Nucleorhabdoviruses）：ラブドウイルス科（Rhabdoviridae）、オリザウイルス（Oryzaviruses）：レオウイルス科（Reoviridae）、ウルミアウイルス（Ourmiaviruses）、リトレオウイルス（Phytoreoviruses）：レオウイルス科（Reoviridae）、ポテクスウイルス（Potexviruses）、ポチウイルス（Potyviruses）：ポチウイルス科（Potyviridae）、リモウイルス（Rymoviruses)：ポチウイルス科（Potyviridae）、サテライトRNA、サテライトウイルス（Satelliviruses）、セキウイルス（Sequiviruses）：セキウイルス科（Sequiviridae）、ソベモウイルス（Sobemoviruses）、テヌイウイルス（Tenuiviruses）、トバモウイルス（Tobamoviruses）、トブラウイルス（Tobraviruses）、トムブスウイルス（Tombusviruses）：トスポウイルス（Tospoviruses）：ブニヤウイルス科（Bunyaviridae）、Trichoviruses（トリコウイルス）、チモウイルス（Tymoviruses）、ウムブラウイルス（Umbraviruses）、未帰属ポチウイルス： ポチウイルス科（Potyviridae）、未帰属ラブドウイルス科：バリコサウイルス（Varicosaviruses）、ワイカウイルス（Waikaviruses）：セキウイルス科（Sequiviridae）、未分類ウイルス、ブロモウイルス、ポチウイルス科及びチモウイルス；特定の関連植物ウイルスは、例えば、タバコモザイクウイルス（Tobacco mosaic virus (TMV)）、トマト・スポッテド・ウイルトウイルス（Tomato spotted wilt virus）、トマト黄化葉巻ウイルス（Tomato yellow leaf curl virus）、キュウリモザイクウイルス（Cucumber mosaic virus）、ジャガイモYウイルス（Potato virus Y）、カリフラワーモザイクウイルス（Cauliflower mosaic virus）、アフリカキャッサバモザイクウイルス（African cassava mosaic virus）、プラム・ポックス・ウイルス（Plum pox virus）、ブロムモザイクウイルス（Brome mosaic virus）、ジャガイモXウイルス（Potato virus X）、カンキツトリステザウイルス（Citrus tristeza virus）、オオムギ黄化萎縮ウイルス（Barley yellow dwarf virus）、ジャガイモ葉捲病ウイルス（Potato leaf roll virus）、及びトマトブッシースタントウイルス（Tomato bushy stunt virus）。

【１１７２】

ウイルス性肝炎は、腫れ、圧痛、時には肝臓への永続的な損傷を生じ得る、臓の炎症である。肝臓の炎症が少なくとも6ヶ月以上継続する場合には、慢性肝炎と言われる。A、B、C、D及びE型肝炎を含む、ウイルス性肝炎を引き起こすことが知られている少なくとも5種のウイルスが存在する。A型肝炎は、一般的に、ヒトの糞で汚染された食物又は飲み水によって伝染する。B型肝炎は、一般的に、血液のような体液を介して蔓延する。例えば、母親から出生時の子供に、性交、汚染された血液輸液及び針を介して、蔓延し得る。C型肝炎は、極めて一般的であり、B型肝炎と類似し、血液輸液及び汚染された針を介して一般的に蔓延する。D型肝炎は、それが互いに関連付られるB型肝炎ウイルスを保持するIV

薬物使用者に最も頻繁に見出される。E型肝炎は、ウイルス性A型肝炎に類似し、一般的に衛生不良に関連する。

【１１７３】

グラム陰性及びグラム陽性細菌は、脊椎動物において抗原として働く。かかるグラム陽性細菌は、パスツレラ（Pasteurella）属、スタフィロコッカス（Staphylococci）属、及びストレプトコッカス（Streptococcus）属を含むが、これらに限定されない。グラム陰性細菌は、エシェリヒア・コリ（Escherichia coli）、シュードモナス（Pseudomonas）属、及びサルモネラ（Salmonella）属を含むが、これらに限定されない。感染性細菌の具体的な例は、ヘリコバクター・ピロリ（Helicobacter pyloris）、ボレリア・ブルグドルフェリ（Borelia burgdorferi）、レジオネラ・ニューモフィラ（Legionella pneumophilia）、マイコバクテリウム（Mycobacteria）属（例えば、M. チュベルクロシス、M. アビウム、M. イントラセルラーレ、M. カンサシー、M. ゴルドナエ)、スタフィロコッカス・アウレウス（Staphylococcus aureus）、ナイセリア・ゴナーリエ（Neisseria gonorrhoeae）、ナイセリア・メニンギタイディス（Neisseria meningitidis）、リステリア・モノサイト
ゲネス（Listeria monocytogenes）、ストレプトコッカス・ピオゲネス（Streptococcus pyogenes）（群Aストレプトコッカス)、ストレプトコッカス・アガラクティエ（Streptococcus agalactiae）（群Bストレプトコッカス)、ストレプトコッカス（Streptococcus）（viridans group）、ストレプトコッカスフェカーリス（Streptococcus faecalis）、ストレプトコッカス‐ボビス（Streptococcus bovis）、ストレプトコッカス（Streptococcus）（嫌気性属）、ストレプトコッカス・
ニゥモニエ（Streptococcus pneumoniae）、病原性カンピロバクター（Campylobacter）属、エンテロコッカス（Enterococcus）属、ヘモフィルス-インフルエンザ（Haemophilus influenzae）、バチルス・アンシラシス（Bacillus antracis）、コリネバクテリウム・ジフセリエ（corynebacterium diphtheriae）、コリネバクテリウム（corynebacterium）属、エリジペロスリックス・ルジオパシエ（Erysipelothrix rhusiopathiae）、クロストリジウム・ペルリンゲルス（Clostridium pen‘ringers）、クロストリジウム・テタニ（Clostridium tetani）、エンテロバクター・アエロゲネス（Enterobacter aerogenes）、クレブシエラ・ニューモニエ（Klebsiella pneumoniae）、パスツレラ・ムルトシダ（Pasturella multocida）、バクテロイデス（Bacteroides）属、フゾバクテリウム・ヌクレアータム（Fusobacterium nucleatum）、

【１１７４】

ストレプトバシラス・モニリフォルミス（Streptobacillus moniliformis）、トレポネーマーパリダム（Treponema pallidium）、トレポネーマ・ペルテニュ（Treponema pertenue）、レプトスピラ（Leptospira）属、リケッチア（Rickettsia）、及びアクチノマイセス・イスラエリ（Actinomyces israelii）を含むが、これらに限定されない。

【１１７５】

真菌の例は、クリプトコッカス・ネオフォルマンス（Cryptococcus neoformans）、ヒストプラスマ・カプスラーツム（Histoplasma capsulatum）、コクシジオイデス・イミチス（Coccidioides immitis）、ブラスト
ミセス・デルマチチジス（Blastomyces dermatitidis）、クラミジア・トラコマチス（Chlamydia trachomatis）、カンジダ・アルビカンス（Candida albicans）を含む。

【１１７６】

他の感染性生物（すなわち、原生生物）は、プラスモディウム（Plasmodium）属、例えば、プラスモディウム・ファルシパルム（Plasmodium falciparum）、プラスモディウム・マラリエ（Plasmodium malariae）、プラスモディウム・オ
バレ（Plasmodium ovale）、プラスモディウム・ビバックス（Plasmodium vivax）、及びトキソプラズマ・ゴンジイ（Toxoplasma gondii）を含む。
血液によって感染する寄生虫及び/又は組織寄生虫は、プラスモディウム属、バベシア・ミクロチ（Babesia microti）、バベシア・ジベルゲンス（Babesia divergens）、リーシ

ュ
マニア・トロピカ（Leishmania tropica）、リーシュ
マニア（Leishmania）属、リーシュ
マニア・ブラジリエンシス（Leishmania braziliensis）、リーシュマニア・ドノバニ（Leishmania donovani）、トリパノソーマ・ガンビエンセ（Trypanosoma gambiense）及びトリパノソーマ・ロデシエンセ（Trypanosoma rhodesiense）（アフリカ睡眠病）、トリパノソーマ・クルーズ（Trypanosoma cruzi）（シャーガス病)、及びトキソプラズマ・ゴンジイを含む。

【１１７７】

他の医薬的に関連する微生物は文献に広範に記載されており、例えば、参照として本明細書にその全体の内容が組み込まれる、C.G.A Thomas, Medical Microbiology, Bailliere Tindall, Great Britain 1983を参照のこと。農業上関連する微生物（例えば、作物及び/又は家畜に感染する微生物）も知られている、例えば、George N. Agrios, Plant Pathology, Elsevier Academic Press, 第5版, 2005; John Lucas, Plant Pathology and Plant Pathogens, Wiley-Blackwell; 第3版, 1998; Dwight C. Hirsh, N. James MacLachlan, Richard L. Walker, Veterinary Microbiology, Wiley-Blackwell; 2 edition, 2004; 及びP. J. Quinn, et al, Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Wiley-Blackwell; 第2版, 2011に記載の微生物を含むが、これらに限定されない。

【１１７８】

本発明の提供されるオリゴヌクレオチド組成物は、抗菌剤と共に、対象（ヒト対象、又はいくつかの実施形態では、動物（例えば、家畜又はペット）又は植物（例えば、作物対象）に投与され得る。本明細書で使用される抗菌剤は、感染性微生物を殺し又は阻害することができる天然又は合成化合物を指す。本発明に従って有用である抗菌剤の種類は、対象が感染される又は感染されるリスクにある微生物の種類に依拠することになる。抗菌剤は、抗菌剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤及び抗寄生虫剤を含むが、これらに限定されない。「抗感染剤」、「抗菌剤」、「抗ウイルス剤」、「抗真菌剤及」、「抗寄生虫剤」及び「殺寄生虫薬」のような用語は、当業者に良く知られた意味を有し、標準的な医療テキストで定義されている。すなわち、抗菌剤は細菌を殺し又は阻害し、抗生物質及び同様な機能を有する他の合成又は天然化合物を含む。抗生物質は、細胞による二次代謝として産生される低分子量分子、例えば微生物である。一般的に、抗生物質は、微生物に特異的であって宿主細胞に存在しない、１又はそれ以上の細菌性機能又は構造を妨害する。抗ウイルス剤は、天然源から単離されるか又は合成され得、ウイルスを殺し又は阻害するために有用である。抗真菌剤は、表在性の真菌感染症並びに日和見性の及び主要な全身性真菌感染症を治療するために使用される。抗寄生虫剤は寄生虫を殺す又は阻害する。

【１１７９】

抗寄生虫薬の例は、ヒト投与に有用である殺寄生虫薬とも言われ、アルベンダゾール、アンホテリシンB、ベンズニダゾール、ビチオノール、クロロキンHCl、クロロキンリン酸塩、クリンダマイシン、デヒドロエメチン、ジエチルカルバマジン、フロン
酸ジロキサニド、エフロルニチン、フラゾリダオン、グルココルチコイド、ハロファントリン、ヨードキノール、イベルメクチン、メベンダゾール、メフロキン、アンチモン酸メグルミオン、メラルソプロール、メトリホネート、メトロニダゾール、ニクロサミド、ニフルチモックス、オキサムニキン、パロモマイシン、イセチオン酸ペンタミジン、ピペラジン、プラジカンテル、プリマキンリン酸塩、プログアニル、パモ酸ピランテル、ピリメタンミン・スルホンアミド、ピリメタンミン・スルファドキシン、キナクリンHCl、キニーネ硫酸塩、キニジングルコネート、スピラマイシン、スチボグルコン酸ナトリウム（グルコン酸アンチモンナトリウム）、スラミン、テトラサイクリン、ドキシサイクリン、チアベンダゾール、チニダゾール、トリメトプリム-スルファメトザゾール、及びトリパルサミドを含むが、これらに限定されない。それらの内の一部は単独で又は他のものと組み合わせて使用される。

【１１８０】

抗菌剤は細菌の増殖又は機能を殺すか又は阻害する。抗菌剤の大きな類は抗生物質である。幅広い範囲の細菌を殺し又は阻害するために有効である抗生物質は、広域スペクトル抗生物質と言われる。他の種類の抗生物質は、グラム陽性又はグラム陰性クラスの細菌に対して主に有効である。これらの種類の抗生物質は、狭域スペクトル抗生物質と言われる。単一の生物又は疾患に対して有効であるが他の種類の細菌に対しては有効性ない他の抗生物質は、制限スペクトル抗生物質と言われる。抗菌剤は、その主な作用形式に基づいて分類されることがある。一般的に、抗菌剤は、細胞壁合成阻害性、細胞膜阻害剤、タンパク質合成阻害剤、核酸合成又は機能性阻害剤、及び拮抗阻害剤である。

【１１８１】

抗ウイルス剤は、ウイルスによる細胞の感染又は該細胞内でのウイルスの複製を抑制する化合物である。抗菌薬よりもずっと少ない抗ウイルス薬が存在する。ウイルス複製のプロセスは宿主細胞内のDNAの複製に非常に密接に関連するために、非特異的抗ウイルス剤は一般に宿主に対して毒性であるからである。抗ウイルス剤によって遮断又は阻害され得るウイルス感染のプロセスには数個の段階が存在する。これらの段階は、宿主細胞へのウイルスの接着（免疫グロブリン又は結合ペプチド）、ウイルスの脱コーティング（例えば、アマンタジン）、ウイルス性mRNAの合成又は翻訳（例えば、インターフェロｎロン）、ウイルス性RNA又はDNAの複製（例えば、ヌクレオチドアナログ）、新規ウイルスタンパク質の成熟（例えば、プロテアーゼ阻害剤）、及びウイルスの発芽及び放出、を含む。

【１１８２】

ヌクレオチドアナログは、ヌクレオチドに似ているが、不完全なもしくは異常なデオキシリボース又はリボース基を有する、合成化合物である。一旦ヌクレオチドアナログが細胞内にあると、それらはリン酸化されて、ウイルス性DNA又はRNAへの取り込みのために正常なヌクレオチドと拮抗する、形成三リン酸エステルを生成する。一旦ヌクレオチドアナログの三リン酸エステル形態が成長する核酸鎖に取り込まれると、ウイルス性ポリメラーゼとの不可逆的な会合を引き起こし、そのため連鎖停止を引き起こす。核酸アナログは、アシクロビル（ヘルペス単純ウイルス及び水痘－帯状疱疹の治療のために使用される）、ガンシクロビル（サイトメガロウイルスの治療のために有用である）、イドクスウリジン、リバビリン（呼吸器多核体ウイルスの治療のために有用である）、ジデオキシイノシン、ジデオキシシチジン、ジドブジン（アジドチミジン）、イミキモド、及びレシキモドを含むが、これらに限定されない。

【１１８３】

インターフェロンは、ウイルス感染細胞及び免疫細胞によって分泌されるサイトカインである。インターフェロンは、感染細胞に隣接した細胞上の特定の受容体に結合することによって機能し、ウイルスによる感染から細胞を保護する細胞中の変化を引き起こし；α及びβ-インターフェロンはまた、感染細胞表面上にクラスI及びクラスII MHC分子の発現を誘発し、宿主免疫細胞認識のための増加した抗原提示をもたらし；α及びβ-インターフェロンは、組換え体として入手でき、慢性肝炎B及びC感染症の治療のために使用されている。抗ウイルス療法に効果的である投薬量において、インターフェロンは、発熱、不調及び体重減少のような重度の副作用を有する。

【１１８４】

本発明で有用な抗ウイルス剤は、免疫グロブリン、アマンタジン、インターフェロン、ヌクレオチドアナログ、及びプロテアーゼ阻害剤を含むが、これらに限定されない。抗ウイルス剤の具体例は、アシクロビル；アシクロビルナトリウム；アデホビル；アロジン；アルビル
セプトスドトックス（Alvircept Sudotox）；塩酸アマンタジン；アラノチン；アリルドン；
メシル酸アテビルジン；アブリジン；シドフォビル；シパムフィリン；塩酸シタラビン；メシル
酸デラビルジン；デスシクロビル；ジダノシン；Disoxaril；エドクスジン；エンビラデン；エンビロキシム；ファミチクロビル；塩酸ファモチン；フィアシタビン；フィアルリ

ジン；フォサリレート；ホスカルネットナトリウム；ホスホネットナトリウム；ガンシクロビル；ガンシクロビルナトリウム；イドクスウリジン；ケトキサール；ラミブジン；ロブカビル；塩酸メモチン；
メチサゾン；ネビラピン；ペンシクロビル；ピロダビル；リバビリン；塩酸リマンタジン；メシル酸サキナビル；塩酸ソマンタジン；ソリブジン；スタトロン；スタブジン；塩酸チロロン；トリフルリジン；塩酸バラシクロビル；ビダラビン；リン酸ビダラビン；ビダラビンナトリウムリン酸；ビロ
キシム；ザルシタビン；及びジンビロキシムを含むが、これら限定されない。

【１１８５】

抗真菌剤は、感染性真菌の治療及び予防のために有用である。抗真菌剤は、時にはその作用機構によって分類される。抗真菌剤の中には、グルコース合成酵素を阻害することによって細胞壁阻害剤として機能するものもある。これらは、

【１１８６】

バシウンギン/ECBを含むがこれ限定されない。他の抗真菌剤は、膜統合性を不安定化することによって機能する。これらは、イミダゾール、例えばクロトリマゾール、セルタコナゾール、フルコナゾール、イントラコナゾール、ケトコナゾール、ミコナゾール及びボリコナゾール、並びにFK 463、アンホテリシンB、BAY 38-9502、MK 991、プラディマイシン、UK 292、ブテナフィン、及びテルビナフィンを含むが、これらに限定されない。他の抗真菌剤は、キチン（例えば、キチナーゼ）を切断することによって、又は免疫抑制（501クリーム）によって機能する。

【１１８７】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、癌等の細胞増殖性疾患を有する対象を治療するために有用である。癌を有する対象は、検出可能な癌性細胞を有する対象である。癌は、悪性、又は非悪性癌であり得る。癌又は腫瘍は、胆管癌；脳腫瘍；乳癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸癌；子宮内膜癌螺旋；食道癌；胃癌；上皮内腫瘍；リンパ腫；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞及び非小細胞）；メラノーマ；神経芽細胞腫；経口癌；卵巣癌；膵癌；前立腺癌；直腸癌；肉腫；皮膚癌；睾丸癌；甲状腺癌；及び腎癌、及び他の悪性腫瘍及び肉腫を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、癌は、ヘアリー細胞白血病、慢性骨髄性白血病、癌性T細胞白血病、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、悪性メラノーマ、扁平上皮癌、腎癌、前立腺癌、膀胱細胞癌、又は結腸癌である。

【１１８８】

提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、単独で又は抗癌療法と組み合わせて投与され得る。抗癌療法は、放射線療法、化学療法、免疫療法、又は癌ワクチン、ホルモン療法、生物学的応答修飾因子、及び外科的手段を含むが、これらに限定されない。癌医薬は、癌を治療する目的で対象に投与される物質を意味する。本明細書で使用される「癌を治療すること」は、癌の進行を防止すること、癌の症状を減少させること、及び/又は確立した癌の成長を阻害することを含む。他の態様では、癌医薬は、癌の発症のリスクを減少させる目的で癌を進行するリスクにある対象に投与される。癌の治療のための医薬の様々な種類が本明細書に記載される。この特定の目的で、癌医薬は、化学療法剤、免疫療法剤、癌ワクチン、ホルモン療法及び生物学的応答修飾因子として分類される。

【１１８９】

更に、本発明の方法は、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物と共に1より多い医薬の使用を包含することを意図する。例として、好適には、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物は、化学療法剤及び免疫療法剤の両方と共に投与され得る。あるいは、癌医薬は、免疫療法剤及び癌ワクチン、又は化学療法剤及び癌ワクチン、又は化学療法剤、免疫療法剤及び癌ワクチンを包含し得、これらはすべて、癌を有する又は癌の発症のリスクにある対象を治療する目的で1対象に投与される。

【１１９０】

化学療法剤は、以下から成る群から選択することができるが、それらに限定されない：

メトトレキサート、ビンクリスチン、アドリアマイシン、シスプラチン、非糖含有クロロエチルニトロソウレア、5－フルオロウラシル、マイトマシンC、ブレオマイシン、ダウノルビシン、ダカルバジン、タキソール、フラギリシン、メグラミンGLA、バルルビシン、カルムスタイン及びポリフェルポサン、MMI270、BAY 12-9566、RASファルネシル基転移酵素阻害剤（famesyl transferase inhibitor）、ファルネシル基転移酵素阻害剤（famesyl transferase inhibitor）、MMP、MTA/LY231514、LY264618/ロメテキソール、グラモレック、CI-994、TNP-470、ハイカムチン/トポテカン、PKC412、バルスポダール/PSC833、ノバントロン/ミトキサントロン、メタレット/スラミン、バチマスタット、E7070、BCH-4556、CS-682、9-AC、AG3340、AG3433、インセル/VX-710、VX-853、ZD0101、ISI641、ODN 698、TA 2516/マルミスタット、BB2516/マルミスタット、CDP 845、D2163、PD183805、DX8951f、レモナールDP 2202、FK 317、ピシバニル/OK-432、AD 32/バルルビシン、メタストロン/ストロンチウム誘導体、テモダール/テモゾロミド、エバセット/リポソーム化ドキソルビシン、イエウタキサン／パクリタキセル、タキソール/パクリタキセル、ゼローダ/カペシタビン、フルツロン/ドキシフルリジン、シクロパックス/経口パクリタキセル、経口トキソイド、SPU-077/シスプラチン、HMR 1275/フラボピリドール、CP-358 (774)/EGFR、CP-609 (754)/RAS癌遺伝子阻害剤、BMS-182751/経口プラチナ、UFT(テガフル/ウラシル)、エルガミゾール/レバミゾール、エニルラシル/776C85/5FUエンハンサー、カンプト/レバミゾール、カンプトサル/イリノテカン、トミュデックス/ラルチトレキセド、レウスタチン/クラドリビン、パクセクス/パクリタキセル、ドキシル/リポソーム化ドキソルビシン、カエリクスリポソーム化ドキソルビシン、フルダラ/フルダラビン、ファルモルビシン/エピルビシン、デポCyt、ZD1839、LU 79553/ビスナフタレンイミド（Bis-Naphtalimide）、LU 103793/ドラスタチン、カエチクス/リポソーム化ドキソルビシン、ジェムザール/ゲムシタビン、ZD 0473/アノルメド、YM 116、ヨードシード、CDK4及びCDK2阻害剤、PARP阻害剤、D4809/デキシフォサミド、イフェス/メスネクス/イフォサミド、ブモン/テニポシド、パラプラチン/カルボプラチン、プランチノール/カルボプラチン、プランチノール/シスプラチン、ベペシド/エトポシド、ZD 9331、タキソテレ/ドセタキセル、グアニンアラビノシドのプロドラッグ、タキサンアナログ、ニトロソウレア、アルキル化剤、例えばメルフェラン及びシクロホスファミド、アミノグルテチミド、アスパラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、クロラムブシル、シタラビンHCl、ダクチノマイシン、ダウノルビシンHCl、エストラムスチンリン酸ナトリウム、エトポシド（VP16-213）、フルオロキシウリジン、フルオロウラシル（5-FU)、フルタミド、ヒドロキシウレア（ヒドロキシカルバミド）、イソスファミソ、インターフェロンα-2a、α-2b、酢酸リュープロリド（LHRH-放出因子アナログ）、ロムスチン（CCNU）、メイロレタミンHCl（窒素マスタード）、メルカプトプリン、メスナ、ミトタン（o.p ‘-DDD）、ミトキサントロンHCl、オクトレオチド、プリカマイシン、プロカルバジンHCl、ストレプトゾシン、

【１１９１】

タモキシフェンクエン酸塩、チオグアニン、チオテパ、ビンブラスチン硫酸塩、アムサクリン（m-AMSA）、アザシチジン、エリスロポイエチン、ヘキサメチルメラミン（HMM）、インターロイキン2、ミトグアゾン（メチル-GAG; メチルグリオキールビス-グアニルヒドラゾン; MGBG）、ペントスタチン（2’-デオキシコホルマイシン）、セムスチン（メチル-CCNU）、テニポシド（VM-26）及びビンデシン硫酸塩。

【１１９２】

免疫治療剤は、リブタキシン、ハーセプチン、クアドラメット、パノレックス、IDEC-Y2B8、BEC2、C225、オンコリム、SMART M195、アトラジェン、オバレックス、ベキサール、LDP-03、ior tβ、MDX-210、MDX-11、MDX-22、OV103、3622W94、抗VEGF、Zenapax、MDX-220、MDX-447、MELIMMUNE-2、MELIMMUNE-1、シアシド、プレターゲット、NovoMAb-G2、TNT、Gliomab-H、GNI-250、EMD-72000、LymphoCide、CMA 676、monopharm-C、4B5、ior egf.r3、ior c5、BABS、抗FLK-2、MDX-260、ANA Ab、SMART 1 D10 Ab、SMART ABL 364 Ab、及びImmuRAIT-CEAから成る群より選ばれ得るが、これらに限定されない。

【１１９３】

癌ワクチンは、EGF、抗ヨード型癌ワクチン、Gp75抗原、GMKメラノーマワクチン、MGVガングリオシド複合体ワクチン、Her2/neu、Ovarex、M-Vax、O-Vax、L-Vax、STn-KHL theratope、BLP25 (MUC-1)、リポソーム性ヨー素ワクチン、メラチン、ペプチド抗原ワクチン、毒素/抗原ワクチン、MVA-型ワクチン、PACIS、BCGワクチン、TA-HPV、TA-CIN、DISC-ウイルス及びImmuCyst/TheraCysから成る群から選択することができるが、それらに限定されない。

【１１９４】

本明細書で使用される「癌抗原」及び「腫瘍抗原」という用語は、癌細胞によって差異的に発現され、それによって癌細胞を標的とするために利用され得る、抗原を指すために、互換的に使用される。癌抗原は、明らかに腫瘍特異的免疫応答を潜在的に刺激することができる抗原である。これらの抗原の中には、正常細胞によって必ずしも発現されないが、コードされるものもある。これらの抗原は、正常細胞中では通常サイレント（すなわち、発現されない）もの、分化の特定の段階でのみ発現されるもの、及び胚性抗原及び胎児抗原のような一時的に発現されるものとして特徴付けられる。他の癌抗原は、突然変異細胞遺伝子、例えば癌遺伝子（例えば、活性化されたras癌遺伝子）、サプレッサ遺伝子（例えば、変異体p53）、内部削除又は染色体転位から得られる融合タンパク質によってコードされる。なお更に他の癌抗原は、ウイルス性遺伝子、例えばRNA及びDNA腫瘍ウイルス上に担持されたものによってコードされ得る。

【１１９５】

いくつかの実施形態では、提供される免疫調節オリゴヌクレオチド組成物はまた、自己免疫疾患を治療及び予防するために有用であり得る。自己免疫疾患は、対象自身の抗体が宿主組織と反応するか、又は免疫エフェクタT細胞が内因性自己ペプチドに対して自己反応性であり組織崩壊を引き起こす、疾患類である。従って、免疫応答は、自己抗原と称される、対象自身の抗原に対してなされる。自己免疫疾患は、円形脱毛症、後天性血友病、強直性せきつい炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫関連不妊症、自己免疫性脳脊髄炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性糖尿病、自己免疫性血小板減少性紫斑病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、慢性疲労免疫不全症候群（CFIDS）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、チャーグ・ストラウス症候群、眼部瘢痕性類天疱瘡、CREST症候群、寒冷凝集素症、皮膚筋炎、円板状紅斑性狼瘡、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛症、線維筋炎、ギラン・バレー症候群、橋本病、糸球体腎炎（例えば、急速進行性糸球体腎炎、増殖性糸球体腎炎）、グレーブス病、移植片対宿主病、グッドパスチャー症候群、天疱瘡（例えば、尋常性天疱瘡）、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病、インスリン抵抗性、特発性アジソン病、IgA腎症、炎症性腸疾患（クーロン病及び潰瘍性大腸炎を含む）、若年性関節炎、扁平紅色苔癬、重症筋無力症、多発性硬化症、混合性結合組織病、多発筋炎、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、レーノー現象、ライター症候群、若年性及び成人関節リウマチ、シェーグレン症候群、抗コラーゲン抗体関連強皮症、スティッフパーソン症候群、全身性紅斑性狼瘡（SLE）、高安動脈炎、臓器移植拒絶、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、ぶどう膜炎、潰瘍性大腸炎、脈管炎、及び尋常性白斑を含むが、これらに限定されない。

【１１９６】

本明細書で用いられる「自己抗原」は、正常な宿主組織の抗原を指す。正常な宿主組織は癌細胞を含まない。従って、自己免疾患の文脈において、自己抗原に対して起こった免疫応答は、望ましくない免疫応答であり、組織の崩壊及び損傷の原因となるが、癌抗原に対して起こった免疫応答は望ましい免疫応答であり、腫瘍又は癌の崩壊に寄与する。従って、自己免疫疾患を治療することを目的とする本発明のいくつかの態様において、免疫調節オリゴヌクレオチドが自己抗原、特に自己免疫疾患の標的である自己抗原と一緒に投与されることは推奨されない。

【１１９７】

他の例では、本発明に従って使用される免疫調節オリゴヌクレオチドは、抵投薬量の自

己抗原と共に送達され得る。多数の動物試験は、低投薬量の抗原の粘膜投与が免疫低応答性又は「寛容」の状態をもたらすことを証明している。活動的な機構は、主としてTh2及びTh3に対してTh1から離れたサイトカイン介在免疫誘導（すなわち、TGF-β支配）であるようである。低投薬量抗原による活動的な抑制はまた、自己免疫疾患、例えば慢性関節リウマチ及びSLEの治療において非常に興味深い非関連免疫応答を抑制する（バイスタンダー効果）。バインダー効果は、前炎症性及びTh1サイトカインが抗原特異的又は抗原非特異的な方法のいずれかで放出される局所環境での、Th1拮抗制御性、抑制性サイトカインの分泌を含む。本明細書で用いられる「寛容」は、この現象を指す。実際に、経口寛容は、実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）、実験的自己免疫性重症筋無力症、コラーゲン誘発関節炎（CIA）、及びインスリン依存性糖尿病を含む動物の多数の自己免疫疾患の治療に効果的となっている。これらのモデルでは、自己免疫疾患の予防及び抑制は、Th1からTh2/Th3応答までの抗原特異的体液性及び細胞性応答におけるシフトと関連する。

【１１９８】

本発明に従って使用され得る有用な免疫調節オリゴヌクレオチドの非限定的な例は、添付の添付書類（B）で提供される。

【１１９９】

RIPtide

いくつかの実施形態では、本発明に従って利用されるオリゴヌクレオチドは、ＲＮＡ相互作用ポリヌクレオチド（「RIPtide」）である、またはそれとして作用する。RIPtideは、疾病に関係づけられる構造的ＲＮＡを不活性化することにより、「創薬可能でない（undruggable）」標的の空白の可能性を開くことを意図した療法の１つである。RIPtideは、典型的に、構造ＲＮＡの作用を結合および分裂させる小ヌクレオチド配列（約８ヌクレオチド）である。それらの大きさのため、これらの分子は、容易に細胞膜を通過できる。例えば、米国特許第６，０８０，５８５号参照。

【１２００】

RIPtideは、いくつかの臨床応用に対して有用であり得る。癌治療との関連で、少なくとも１つの標的は、癌細胞中約９０％存在するテロメラーゼである。従って、いくつかの実施形態では、本発明の立体制御されたオリゴヌクレオチドは、様々な癌治療用途で、テロメラーゼを標的とするために使用され得る。加えて、RIPtideは、感染症治療用途に有用であり得る。ＨＩＶおよびＣ型肝炎などのウイルスは、複製するために、宿主細胞を乗っ取ることができる必要がある。従って、構造ＲＮＡは、多くのウイルスの成熟および複製に重要な役割を果たし得る。従って、いくつかの実施形態では、本発明の立体制御されたオリゴヌクレオチドは、ウイルスの成熟および／または複製に関連するＤＮＡまたはＲＮＡの部分を標的とするために使用され得る。

【１２０１】

従って、本発明は、様々なウイルス性感染症治療用途に有用である。ウイルスとしては、エンテロウイルス（ポリオウイルス、コクサッキーウイルス、エコーウイルスなどのピコルナウイルス科のウイルスを含むがこれに限定されない）、ロタウイルス、アデノウイルス、およびＡ型、Ｂ型、Ｃ型、Ｄ型およびＥ型肝炎などの肝炎ウイルスが挙げられるが、これに限定されない。ヒト中に見られるウイルスの具体例としては：レトロウイルス科（例えば、ＨＩＶ１型などのヒト免疫不全ウイルス、（ＨＴＬＶ-ＩＩＩとも呼ばれる）、ＬＡＶまたはＨＴＬＶ-ＩＩＩ／ＬＡＶ、またはＨＩＶ-ＩＩＩ；およびＨＩＶ－ＬＰなどの他の分離株；ピコルナウイルス科（例えば、ポリオウイルス、Ａ型肝炎ウイルス；エンテロウイルス、ヒトコクサッキーウイルス、ライノウイルス、エコーウイルス）；カリシウイルス科（例えば、胃腸炎の原因となる株）；トガウイルス科（例えば、ウマ脳炎ウイルス、風疹ウイルス）；フラビウイルス科（例えば、デングウイルス、脳炎ウイルス、黄熱病ウイルス）；コロナウイルス科（例えば、コロナウイルス）；ラブドウイルス科（例えば、水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス）；フィロウイルス科（例えば、エボラウイルス）；パラミクソウイルス科（例えば、パラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、ＲＳウイルス）；オルトミクソウイルス科（例えば、インフルエ

ンザウイルス）；ブニヤウイルス科（例えば、ハンタンウイルス、ブニアウイルス、フレボウイルスおよびナイロウイルス）；アレナウイルス科（出血熱ウイルス）；レオウイルス科（例えば、レオウイルス、オルビウイルスおよびロタウイルス）；ビルナウイルス科；ヘパドナウイルス科（Ｂ型肝炎ウイルス）；パルボウイルス科（パルボウイルス）；パポバウイルス科（パピローマウイルス、ポリオーマウイルス）；アデノウイルス科（主にアデノウイルス）；ヘルペスウイルス科（単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）１型および２型、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ））；ポックスウイルス科（痘瘡ウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス）；イリドウイルス科（例えば、アフリカブタコレラウイルス）；および他のウイルス急性喉頭気管気管支炎ウイルス、アルファウイルス、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ニパーウイルス、ノーウォークウイルス、パピローマウイルス、パラインフルエンザウイルス、トリインフルエンザ、ＳＡＲＳウイルス、ウエストナイルウイルスが挙げられるが、これに限定されない。

【１２０２】

アンチセンス薬

本発明は、様々なアンチセンスに基づく療法も包含する。典型的に、アンチセンス薬は、好ましい薬物特性を設計するために化学的に修飾された小ＤＮＡ様またはＲＮＡ様化合物（１２～２１ヌクレオチド）である。当技術分野で有用ないくつかのアンチセンス薬としては、ホスホロチオエートまたはデオキシオリゴヌクレオチドが挙げられ、この場合、硫黄基は、リン酸骨格上の非架橋酸素と交換される。これは、リボヌクレアーゼ分解に対する耐性を増加し、薬理的安定性を改良する。さらに、他の薬剤、いわゆる「次世代アンチセンス分子」では、該オリゴヌクレオチドは、該骨格の２’－Ｏ－メトキシエチル修飾であり、これは、標的ＲＮＡのこれらのオリゴヌクレオチドに対する親和性を増加させ得る。しかしながら、場合によっては、これらの薬剤の多くは、望ましくない免疫応答などの副作用を伴う。少なくともいくつかの状況においては、かかるこれらの薬剤の望ましくない特性は、それらのステレオランダムな本性に、少なくとも部分的に起因している。本発明は、改良された親油性およびＲＮＡ結合増加などの好ましい特性を有する立体制御された相当物を提供する。

【１２０３】

いくつかのアンチセンスに基づく療法が開発されている、または開発中である。アンチセンス療法の限定されない例を下記に挙げる。本明細書に記載の立体制御された（例えば、キラル純粋な）オリゴヌクレオチドは、当技術分野で現在利用可能なアンチセンス薬と比較して、有効性の改良、標的への親和性増加、副作用の低減、薬物動態の改良、安定性強化および／または生物的利用度増加を達成するために合成され得る。いくつかの実施形態では、アンチセンス療法としては、モルホリノ薬類が挙げられる。例えば：Morcos, PA (2007). "Achieving targeted and quantifiable alteration of mRNA splicing with Morpholino oligos". Biochem Biophys Res Commun 358 (2): 521－7参照。

【１２０４】

サイトメガロウイルス性網膜炎：ホミビルセン（ビトラベンとして市販）は、サイトメガロウイルス性網膜炎用治療として、１９８８年８月に、米国食品医薬品局により認可された。

【１２０５】

出血熱ウイルス：２００６年初頭に、米国陸軍感染症研究所でエボラ出血熱ウイルス研究の科学者は、４頭のアカゲザルが感染して、米国バイオ企業であるアビバイオファーマにより開発されたアンチセンスモルホリノ薬で治療の後、７５％回復したと公表した。［米国陸軍感染症研究所、メリーランド州フォートデトリック。新聞発表：遺伝子特異性エボラ治療が非ヒト霊長類を致命的病気から守る。２００６年１月１３日］エボラウイルスに感染したサルの通常の死亡率は１００％である。２００８年後半に、アビバイオファーマは、マールブルクウイルスおよびエボラウイルスのためのその２つのリード商品を、米国食品医薬品局に、成功裏に治験薬（ＩＮＤ）申請した。これらの薬剤、ＡＶＩ－６００

２（Lu, X; Yu, Q; Binder, GK; Chen, Z; Slepushkina, T; Rossi, J; Dropulic, B (2004). "Antisense-Mediated Inhibition of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Replication by Use of an HIV Type 1-Based Vector Results in Severely Attenuated Mutants Incapable of Developing Resistance". Journal of Virology 78 (13): 7079－88）およびＡＶＩ－６００３は、抗ウイルス効力が、モルホリノオリゴマー鎖への正帯電した成分の添加により増強される、ＡＶＩのＰＭＯアンチセンス化学品に基づいた新規類似体である。ＡＶＩ－６００２およびＡＶＩ－６００３の前臨床結果は、それぞれ、エボラおよびマールブルクウイルスの致命的感染に曝露された非ヒト霊長類の再現性のある高生存率を示した（メディカルニュースト ゥデイ。アビバイオファーマは、米国食品医薬品局が、エボラおよびマールブルクウイルス治療用ＲＮＡ治療薬の臨床試験の治験薬申請を承認すると発表。２００８年１２月３０日）。

【１２０６】

癌：また、２００６年に、ドイツの医師は、高悪性度グリオーマを患っている患者の化合物ＡＰ１２００９（ヒトトランスフォーミング増殖因子ＴＧＦ－β２のｍＲＮＡに特異性のあるホスホロチオエートアンチセンスオリゴデオキシヌクレオチド）の用量漸増研究を報告した。報告時に、全生存中央値は得られず、著者は、潜在的治療薬を示唆した（Ｇ００４の結果、再発性未分化星状細胞腫を対象とした、ＴＧＦ－ｂ２を標的とする化合物ＡＰ１２００９の第ＩＩｂ相アクチブ制御臨床試験－Hauら２４（１８補足）：１５６６－米国臨床腫瘍学会ミーティング抄録）。

【１２０７】

例えば、トラベデルセン（ＡＰ１２００９－Ｐ００１）は、進行型膵癌、悪性メラノーマ、脳腫瘍、未分化星状細胞腫、および結腸直腸癌を患っている患者の治療用途の単剤療法として開発される。ＡＰ１２００９－Ｐ００１は、ＴＧＦ－ｂ２を過剰産生することが知られている進行性固形腫瘍を患っている、確立した療法で治療可能でない、あるいはもはや治療可能でない６１名の患者にトラベデルセンの静脈内投与の安全性および耐容性を評価する非盲検多施設第Ｉ／ＩＩ相用量漸増試験において評価されている。

【１２０８】

癌中で過剰発現されるタンパク質を標的とするアンチセンス薬の他の例としては：前立腺癌細胞中の増殖因子ＴＧＦβおよび転写制御因子ＴＷＩＳＴ１により誘導される上皮間葉転換を調節するクラスタリン（ＯＧＸ－０１１／ＴＶ０１０１１）；前立腺癌治療のＡＴＬ１１０１（インスリン様成長因子Ｉ受容体（ＩＧＦ－ＩＲ）の次世代アンチセンス阻害剤）；慢性リンパ性白血病治療用オブリメルセン（商品名：ジェナセンス）；慢性骨髄性白血病、メラノーマ、神経芽細胞腫、ならびに乳房、膵臓および結腸の癌の治療用Ｇ４４６０およびＬＲ３００１（ｃ－ｍｙｂ阻害剤）；腎細胞癌の治療用ＭＧ９８（ＤＮＡメチルトランスフェラーゼＩ阻害剤）；ＩＳＩＳ５１３２（ｃ－Ｒａｆアンチセンス）；ＬＹ９０００３（タンパク質キナーゼＣαアンチセンス）；Ｇ３１３９（Ｂｃｌ－２アンチセンス）、他が挙げられる。

【１２０９】

ＨＩＶ／ＡＩＤＳ：２００４年に開始して、米国の研究者らは、ＨＩＶと闘うためにアンチセンス技術を使用して研究を行っている。ＨＩＶ型１ベースベクターの使用によるヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）複製のアンチセンス介在阻害が、耐性を生じることが不可能なひどく弱毒な変異株をもたらすことが知られている。２０１０年２月に、研究者らは、回収、ＲＮＡアンチセンス鎖を用いて、ＨＩＶウイルス性エンベロープタンパク質に修飾、およびレトロウイルスの薬物療法の計画経過中に患者中に再注入された該患者Ｔ細胞を用いて、ＨＩＶウイルス量の減少に成功したと報告した。

【１２１０】

高コレステロール：２０１０年に、ミポメルセン（以前のＩＳＩＳ３０１０１２、商品名Ｋｙｎａｍｒｏ）は、高コレステロールのいくつかの型に対して、第三相試験を、成功裏に完了した。ミポメルセンは、コレステロール低下薬候補である。それは、アポリポタンパク質Ｂに対するメッセンジャーＲＮＡを標的とするアンチセンス治療である。Merki

E, Graham MJ, Mullick AE, et al. (August 2008)参照。「ヒトアポリポタンパク質Ｂ－１００を対象とするアンチセンスオリゴヌクレオチドは、リポタンパク質（ａ）トランスジェニックマウス中のヒトアポリポタンパク質Ｂ－１００粒子上のリポタンパク質（ａ）量および酸化リン脂質を減少させる」。Circulation 118 (7): 743－53; El Harchaoui K, Akdim F, Stroes ES, Trip MD, Kastelein JJ (2008)。「低密度リポタンパク質－コレステロールを達成できない患者の管理のための現在と将来の薬理的選択肢は、スタチン系薬剤で達成される」。Am J Cardiovasc Drugs 8 (4): 233－42; Athyros VG, Kakafika AI, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP (July 2008)。「循環器疾患の予防または治療のためのアンチセンス技術：次の画期的新薬は？」。Expert Opin Investig Drugs 17 (7): 969－72。それは、週１回の注射で投与される。該化合物は、「次世代」アンチセンスオリゴヌクレオチド；該ヌクレオチドは、ＲＮＡとＤＮＡのホスホジエステル結合でなく、ホスホロチオエート結合で結合され、該糖部分は、該分子の中間部分のデオキシリボースおよび該両末端の２’－Ｏ－メトキシエチル修飾リボースである。これらの修飾は、該薬剤のヌクレアーゼによる分解耐性を、毎週投薬されることを可能にする。該薬剤は、肝臓に蓄積し、そのことは、アポリポタンパク質Ｂがそこで支配的に作用するので、好都合である。該完全な配列は、
Ｇ＊－Ｃ＊－Ｃ＊－Ｕ＊－Ｃ＊－ｄＡ－ｄＧ－ｄＴ－ｄＣ－ｄＴ－ｄＧ－ｄｍＣ－ｄＴ－ｄＴ－ｄｍＣ－Ｇ＊－Ｃ＊－Ａ＊－Ｃ＊－Ｃ＊［ｄ＝２’－デオキシ、＊＝２’－Ｏ－（２－メトキシエチル）］（３’→５’ホスホロチオエート結合を有する）である。第三相試験は、家族性高コレステロール血症（ＦＨ）、ホモ接合（ｈｏ）およびヘテロ接合（ｈｅ）の両方を有する患者において行われた。ＦＨは、例外的に高レベルの低密度リポタンパク質コレステロールの原因となる遺伝性疾患である。両方に試験は、それらの２つの患者集団中で今まで見られた最高の有効性、および他の注射可能な薬剤と比較して相対的に低中退率を有する例外的性能を示した。

【１２１１】

デュシェンヌ型筋ジストロフィ：デュシェンヌ型筋ジストロフィ（ＤＭＤ）では、患者の筋肉細胞が破壊し失って、進行性筋力低下および死に至る。ＡＶＩ－４６５８は、ジストロフィン、デュシェンヌ型筋ジストロフィ患者が欠乏する主要タンパク質の発現を回復する標的アンチセンス治療である。１９名の患者の非盲検第二相用量漸増研究からの結果は、治療が完了したとき、筋生検を各患者から採取したことを示した。該チームは、「エキソンスキッピング」を通して機能的ｍＲＮＡを産生する患者の能力が、ＡＶＩ－４６５８の使用で修復され、最終的に、彼らが、機能的ジストロフィンタンパク質を作ることを可能にしたことを発見した。

【１２１２】

筋緊張性ジストロフィー：筋緊張性ジストロフィーは、主に骨格筋、心臓および神経系を冒す成人の最も一般的な筋疾患である。ＤＭＰＫと呼ばれる遺伝子中の遺伝子コード（ＣＴＧ）の３文字の多くのリピートの原因となる突然変異によって引き起こされる。それは、変異遺伝子から産生されたメッセンジャーＲＮＡは、該ＲＮＡが細胞核内に集積する原因となる異常なリピート伸長も含む。そこで、それは、Ｍｕｓｃｌｅｂｌｉｎｄ－ｌｉｋｅ１と呼ばれるタンパク質の機能を隔離および遮断し、ＣＥＬＦ１と呼ばれる別のタンパク質を活性化する。これらのタンパク質は、もう１つのタンパク質を拮抗し、その結果、成体組織内の多くの他の遺伝子からタンパク質を異常発現し、疾病に至る。これに対抗するため、Cooperおよび同僚らは、該異常なＲＮＡリピート部分を探求し、リボヌクレアーゼＨを、その分解の原因となる該有害ＲＮＡを対象に標的化する遺伝子材料の単純鎖であるアンチセンスオリゴヌクレオチドを作り出した。該アンチセンスオリゴヌクレオチドを、該隔離されたＭｕｓｃｌｅｂｌｉｎｄ－ｌｉｋｅ１の放出を助ける他のアンチセンスオリゴヌクレオチドと併用すると、該効果を増強し得ることも報告された。

【１２１３】

糖尿病：ＳＧＬＴ２（ＩＳＩＳ３８８６２６）は、糖尿病患者の血中グルコースレベルの有意な低下をもたらすナトリウム－グルコース共輸送体２（ＳＧＬＴ２）レベルの低下

を達成するアンチセンス薬である。

【１２１４】

肝炎：持続性Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）感染は、肝疾患の主要原因である。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、抗ウイルス薬の有望な分類である。開発中のかかる薬剤としては、ＨＣＶ複製およびタンパク質発現を阻害する２０単位ホスホロチオエートオリゴデオキシヌクレオチドであるＩＳＩＳ１４８０３が挙げられる。

【１２１５】

治療方法

本明細書に記載の提供されるオリゴヌクレオチドおよびその組成物は、抗ウイルス薬としての使用を含む様々な病状に対する治療薬として有用である。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、ＤＮＡおよび／またはＲＮＡ活性の調節を通して疾病の治療用薬剤として使用され得る。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、特異的遺伝子発現を阻害するために使用され得る。例えば、提供されるオリゴヌクレオチドは、特異的標的メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）配列に相補的であり得る。それは、種々のウイルスのウイルス性複製を阻害するために使用され得る。実例となるウイルスファミリーとしては、オルトミクソウイルス、ポックスウイルス、ヘルペスウイルス、パピローマウイルス、ピコルナウイルス、フラビウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルス、パラミクソウイルス、レオウイルス、パルボウイルス、フィロウイルス、コロナウイルス、アレナウイルス、ラブドウイルスおよびアデノウイルスが挙げられる。さらにウイルスファミリーが知られており、本明細書中において企図されている。他の例としては、ＨＩＶ　ＲＮＡもしくは他のレトロウイルス性ＲＮＡに対する、またはｔａｔタンパク質をコードするＨＩＶ　ｍＲＮＡへ、またはＨＩＶ　ｍＲＮＡのＴＡＲ領域へハイブリダイズするためのアンチセンス化合物としての使用が挙げられる。いくつかの実施形態では、該核酸は、ＨＩＶ　ｍＲＮＡのＴＡＲ領域の二次構造を模倣し、そうすることにより、ｔａｔタンパク質と結合する。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、細胞を提供されるオリゴヌクレオチドと接触させることにより、該細胞中の他のタンパク質発現は阻害しない、または最小限にのみ阻害し、標的タンパク質の発現を阻害するために使用される。いくつかの実施形態では、標的タンパク質阻害は、哺乳類の生体内で起こる。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の治療効果量が、標的タンパク質発現を阻害するために投与される。

【１２１６】

発現が調節され得るタンパク質の他の例としては、Ｊｕｎ－Ｎ末端キナーゼ（ＪＮＫ）タンパク質、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼＩ、アポリポタンパク質Ｂ、グルカゴン受容体、オーロラＢ、アシルＣｏＡコレステロールアシルトランスフェラーゼ２、Ｃ反応性タンパク質、タンパク質のＳＴＡＴ（シグナル伝達物質および転写活性化剤）ファミリー、およびＭＤＲ　Ｐ糖タンパク質が挙げられる。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、タンパク質ホスファターゼ１Ｂ（ＰＴＰ１Ｂ）発現、ＲＮＡ依存性ＲＮＡウイルス性ポリメラーゼを阻害するために使用され得る。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、癌細胞内のアポトーシスなどのイベントを誘導するため、または細胞がアポトーシスを起こしやすくするために使用され得る。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、タンパク質活性を調節するために使用され得る。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、多剤耐性（ＭＤＲ）ＲＮＡ分子を標的化するリボヌクレアーゼＨ活性の調節を手助けし得る。

【１２１７】

いくつかの実施形態では、本発明は、望ましくない遺伝子発現を介した疾病の治療をかかる治療を必要とする対象（例えば、ヒトなどの哺乳類）において行う方法を提供する。「疾病」は、疾病、または病徴を意味する。方法は、例えば、提供されるオリゴヌクレオチドの効果量を、該対象に投与することを含む。

【１２１８】

望ましくない遺伝子発現により媒介される疾病の例としては、癌(例えば、白血病、腫瘍、および転移)、アレルギー、喘息、肥満症、炎症(例えば、炎症性呼吸器疾患症候群などの炎症性疾患)、高コレステロール血症、血液疾患、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）、閉塞性気道疾患、喘息、自己免疫疾患、ＡＩＤＳまたはＨＩＶなどのレトロウイルス性疾患、他のウイルス性感染症、子宮内感染症、代謝疾患、感染（例えば、細菌性、ウイルス性、酵母、真菌性）、中枢神経疾患、脳癌腫瘍、変性神経疾患、循環器疾患、および血管新生関連性疾患、血管新生、および血管形成が挙げられる。

【１２１９】

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、膵癌、および異常細胞増殖を有する他の疾患または障害を含む癌治療用途に有用である。

【１２２０】

上腹部（後腹膜内）の位置し、膵臓は、消化系および内分泌系の二重機能腺である。場合によっては、膵臓は、内分泌腺（例えば、いくつかの重要なホルモン類を産生する）として機能する。場合によっては、膵臓は、内分泌腺（例えば、小腸を通過する消化酵素を含む分泌液）として機能する。

【１２２１】

膵癌は、米国で４番目に多い癌死亡の原因（肺癌、結腸癌および乳癌の次）であり、全癌関連死の６％である。２００８年に、米国で、推定３７，６８０名が、新たに膵癌患者と診断され、３４，２９０名が死亡するだろう。発病率は、喫煙（喫煙者は、非喫煙者より４倍該疾患を発病しやすくなる）という決定的リスク因子のみで、５０歳になると直線的に上昇する。浸潤性膵癌は、ほとんどの場合、致命的である。全患者の生存期間の集団中央値は４～６ヶ月である。相対的な１年生存率は２４％であり；全体の５年生存率は５％未満である。

【１２２２】

膵癌は、早期では無症候性であり、しばしば、数ヶ月診断されないままとなる（発症後２ヶ月以内で診断される患者は３分の１未満）。場合によっては、診断が遅延した結果、（部分的にあるいは全部）癌性細胞が肝臓またはリンパ節に転移する。

【１２２３】

現在、手術（膵臓切除）が、膵癌の主要な、唯一の治癒的療法である。しかしながら、診断時に、腫瘍の１５～２５％しか切除可能でなく、手術を行った患者の１０～２０％が、２年以上生存するのみである。一旦、腫瘍湿潤が起こり、他組織が侵されると、手術はもはや不可能である。

【１２２４】

場合によって、糖尿病または膵炎は、個体を病気に罹らせて、複数の膵細胞の増殖性疾患を発病する。場合によって、個体は、遺伝性非ポリポーシス大腸癌（ＨＮＰＣＣ）および家族性大腸腺腫症（ＦＡＰ）から成る群から選択される遺伝性症候群のため、複数の膵細胞の増殖性疾患を発病するリスクが増大している。場合によって、個体は、ＭＳＨ２、ＭＳＨ６、ＭＬＨ１、およびＡＰＣから成る群から選択される遺伝子突然変異のため、複数の膵細胞の増殖性疾患を発病するリスクが増大している。

【１２２５】

理想的には、膵癌の効果的治療は、（ｉ）初期腫瘍量を、最初にそして引き続き抑制し、（ｉｉ）転移性腫瘍細胞を治療すべきである。化学予防（薬剤、生物製剤、栄養剤などの薬剤投与）は、発癌の進行を示し、無効にし、または阻害し、それによって、湿潤性または臨床的に有意な疾患を発病するリスクを低減する。

【１２２６】

特定の実施形態では、本明細書中に、膵癌治療の方法が開示される。本明細書で使用されるとき、「膵癌」は、膵臓の癌の形態を包含する。いくつかの実施形態では、膵癌は、転移性膵癌である。いくつかの実施形態では、膵癌は、癌腫、肉腫、癌、またはその組み合わせである。いくつかの実施形態では、治療される膵癌は、散発性および遺伝性膵癌を包含する。いくつかの実施形態では、膵癌は、管細胞癌、腺房細胞癌、乳頭粘液性癌、印

環癌、腺扁平上皮癌、未分化癌、粘液性癌、巨細胞癌、小細胞癌、嚢腫癌、漿液性嚢腫癌、粘液嚢腫癌、未分類膵癌、膵芽腫、またはその組み合わせである。

【１２２７】

いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体は、膵臓の局所腫瘍の症状が見られる。いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体は、陰性所属リンパ節生検の症状が見られる。いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体は、結節性陰性膵腫瘍（例えば、リンパ節転移陰性）の症状が見られる。いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体は、結節性陽性腫瘍（例えば、リンパ節転移陽性）の症状が見られる。

【１２２８】

いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体の膵癌は、体内の他の場所に転移している。いくつかの実施形態では、膵癌は、リンパ節、胃、胆管、肝臓、骨、卵巣、腹膜および脳から成る群から選択される場所に転移している。

【１２２９】

いくつかの実施形態では、癌細胞または前癌性細胞は、組織試料（例えば、生検試料）の組織の分類または類別により特定される。いくつかの実施形態では、癌細胞または前癌性細胞は、適切な分子マーカーの使用を通して特定される。

【１２３０】

いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体の膵癌は、アメリカ癌合同委員会（ＡＪＣＣ）ＴＮＭ分類システムに従って段階分類され、腫瘍（Ｔ）は、Ｔｘの病期、Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３、Ｔ４に分類され；所属リンパ節（Ｎ）は、ＮＸの病期、Ｎ０、Ｎ１に分類され；遠隔転移（Ｍ）は、ＭＸの病期、Ｍ０、またはＭ１に分類される。いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体の膵癌は、病期０、Ｉ、ＩＡ、ＩＢ、ＩＩ、ＩＩＡ、ＩＩＢ、ＩＩＩ、およびＩＶ膵癌に段階分類される。いくつかの実施形態では、膵癌の治療を必要とする個体の膵癌は、悪性度ＧＸ（例えば、悪性度は評価できない）、悪性度１、悪性度２、悪性度３または悪性度４に段階分類される。

【１２３１】

提供されるオリゴヌクレオチドを用いて治療される癌のより具体例としては、乳癌、肺癌、メラノーマ、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、前立腺癌、腎癌、扁平上皮癌、神経膠芽腫、カポジ肉腫、多発性骨髄腫、および白血病が挙げられる。

【１２３２】

癌の評価および治療

「腫瘍細胞抗原」という語は、無関係の腫瘍細胞、正常細胞、または正常体液より、腫瘍細胞または体液中に高い量で存在する抗原として、本明細書で定義される。該抗原の存在は、当業者に周知のいくつものアッセイによち試験され得、ＥＬＩＳＡアッセイ、ラジオイムノアッセイ、またはウェスタンブロット法などの抗体を用いた正のおよび／または負の選択が挙げられるが、これに限定されない。

【１２３３】

「アポトーシス誘導剤」は、アポトーシス／プログラム細胞死を誘導することとして、本明細書で定義され、例えば、抗癌薬および細胞（例えば、腫瘍細胞）がプログラム細胞死を起こすように誘導される治療を含む。実例となるアポトーシス誘導剤は、下記にさらに詳細に記載する。

【１２３４】

「アポトーシス」または「プログラム細胞死」という語は、不必要なまたは無用の細胞が、発育および他の正常な生物学的過程の中で取り除かれる生物学的過程を表す。アポトーシスは、正常な生物学的条件下で起こる細胞死の形式であり、該細胞は、その自身の終焉（「細胞の自殺」）に積極的参加する。それは、正常な細胞回転および組織の恒常性、胚形成、誘導および免疫寛容の維持、神経系の発達および内分泌依存性組織萎縮中、ほとんどの場合に見られる。アポトーシスを起こす細胞は、特有の形態的および生化学的特徴を示す。これらの特徴としては、クロマチン凝縮、核および細胞質凝縮、リボソームを含

む小胞に結合した膜中への細胞質および核の分割、形態的に無傷のミトコンドリアおよび核物質が挙げられる。生体内で、これらのアポトーシス小体は、即座に、マクロファージ、樹状細胞または隣接上皮細胞により認識され貪食される。生体内のアポトーシス細胞を取り除くこの効率的な機序のおかげで、炎症反応が誘発されない。生体外では、残った細胞断片だけでなく、アポトーシス小体が、極度に膨潤し最終的に溶解する。生体外細胞のこの終末過程は、「二次的ネクローシス」と名付けられている。アポトーシスは、ＤＮＡ断片化、アネキシンＶの曝露、カスパーゼの活性化、チトクロムｃの放出、他などの当業者に周知の方法により測定され得る。死に誘導された細胞は、本明細書中、「アポトーシス細胞」と呼ぶ。アポトーシスは、標準アネキシンＶアポトーシスアッセイを用いても試験され得る：ＮＩＨ：ＯＶＣＡＲ－３細胞を６ウェルプレート（ＮＵＮＣ）で生育し、照射またはアンタゴニスト（または別の抗癌薬と併用して）で４～４８時間処理し、洗浄し、アネキシンＶ－ＦＩＴＣ（ＢＤファーミンジェン）で１時間染色する。細胞を、フローサイトメトリー（ベクトンディッキンソン社ＣｅｌｌＱｕｅｓｔ）により分析し、ヨウ化プロピジウムを用いて対比染色して、フローサイトメトリーで再度分析する。

【１２３５】

患者は、治療レジメン前に、間に、および後に含む、１つ以上の時点で、症状に関して評価され得る。治療は、結果として、該対象の症状を改善し、１つ以上の次の因子、すなわち腫瘍の縮小、細胞増殖減少、細胞数減少、血管新生減少、アポトーシス増加、または腫瘍細胞の少なくとも一部の生存率低下が起こったかどうかを決定することにより評価され得る。いくつかの場合、これら１つ以上が起こると、結果として、該癌の部分的または全排除および該患者の生存期間延長がもたらし得る。あるいは、末期癌では、治療は、結果として、病気の小康、生活の質向上および／または生存期間延長をもたらし得る。

【１２３６】

細胞遊走アッセイ方法

細胞遊走アッセイは、文献、例えば、by Brooks, et al., J. Clin. Invest 1997, 99: 1390-1398に記載されており、細胞遊走の測定方法は、当業者に周知である。本明細書に記載の１つの細胞遊走測定方法では、トランスウェル遊走チャンバーからの膜を、基質でコートし、該トランスウェルを洗浄し、非特異性結合部位をＢＳＡでブロックする。サブコンフルエント培養から腫瘍細胞を回収し、洗浄して、アッセイ抗体のありなしで、遊走緩衝液中に再懸濁する。該腫瘍細胞を、該コート済みトランスウェル膜の裏面に遊走可能にした後、該膜の上面に残った細胞を除去し、該裏面に遊走する細胞を、クリスタルバイオレットで染色する。それから、細胞遊走を、顕微鏡視野当たりの細胞数を直接定量化する。

【１２３７】

腫瘍増殖アッセイ方法

腫瘍増殖は、当業者に周知の方法、例えば、ＳＣＩＤマウスモデル、ヌードマウスモデル、および同系腫瘍を有するＢＡＬＢ／ｃマウスによりアッセイされ得る。腫瘍増殖用ＳＣＩＤマウスモデルは、次のように実行される：サブコンフルエントヒトＭ２１メラノーマ細胞（またはいずれかの所望の腫瘍細胞型）を回収し、洗浄して、滅菌ＰＢＳ（２０ｘ１０６／ｍＬ）中に再懸濁する。ＳＣＩＤマウスに、１００μＬのＭ２１ヒトメラノーマ細胞（２ｘ１０６）懸濁液を皮下注射する。腫瘍細胞注射後３日目に、マウスは、処置しない、または所望の用量範囲のアンタゴニストで腹腔内にで処置をする。該マウスを、２４日間毎日処置する。腫瘍サイズを、ノギスで測定し、該体積を、式Ｖ＝（ＬｘＷ２）／２（式中、Ｖは容量と同じ、Ｌは長さと同じ、およびＷは幅と同じ）を用いて見積もる。

【１２３８】

あるいは、ヌードマウスモデル、ＳＣＩＤマウスモデルおよび／またはＢＡＬＢ／ｃ同系マウスモデルを、本明細書に記載のヒト化抗エンドグリン抗体または抗原結合フラグメントにより、腫瘍増殖およびその阻害を評価するためにも利用することができる。

【１２３９】

細胞増殖アッセイ方法

細胞増殖は、当業者に周知の方法によりアッセイされ得る。本明細書に記載のように、サブコンフルエントヒト内皮細胞（ＨＵＶＥＣ）を、ＥＣＶまたはＥＣＶＬ細胞からＣＭ（２５μＬ）のありなしで、低（５．０％）血清を含む増殖緩衝液中に再懸濁し、内皮細胞を、２４時間増殖させ得る。増殖を、市販のＷＳＴ－１アッセイキット（ケミコン社）を用いて、ミトコンドリアの脱水素酵素活性の測定により定量化する。また、本明細書に記載のように、増殖は、標準法を用いて３Ｈ取込みの測定により定量化され得る。（Ｓｈｅ ｅｔ ａｌ., Ｉｎｔ. Ｊ. Ｃａｎｃｅｒ, １０８： ２５１－２５７ （２００４））。

【１２４０】

細胞増殖評価の他の方法は、当分野で周知であり、本明細書で企図される。さらに、制限されない例を、実施例により詳細に記載している。

【１２４１】

本明細書に記載の分類および段階分類システムは、本明細書に記載の癌治療を評価することを意味している表し；加えて、他の段階分類スキームは、当分野で周知であり、本明細書に記載の方法と共に使用され得ることは理解するはずである。例のみとして、悪性腫瘍のＴＮＭ分類は、患者体内の癌の程度を説明するための癌段階分類システムとして使用され得る。Ｔは、腫瘍サイズおよび隣接組織に浸潤しているかどうかを記述し、Ｎは、関わる所属リンパ節を記述し、Ｍは、遠隔転移を記述する。ＴＮＭは、国際対癌協会（ＵＩＣＣ）により維持され、アメリカ癌合同委員会（ＡＪＣＣ）および国際婦人科産科学連盟（ＦＩＧＯ）により採用されている。例えば、脳腫瘍など、全ての腫瘍がＴＮＭ分類を有するわけではない。一般に、Ｔ（ａ、ｉｓ、（０）、１～４）は、原発性腫瘍のサイズまたは直接の程度として測定される。Ｎ（０～３）は、所属リンパ節への拡散の程度を表し：Ｎ０は、腫瘍細胞が所属リンパ節にないことを意味し；Ｎ１は、腫瘍細胞が所属リンパ節の最近接部または少数に拡散していることを意味し、Ｎ２は、腫瘍細胞がＮ１とＮ３の間の程度で拡散していることを意味し；Ｎ３は、腫瘍細胞が最遠隔部または多数の所属リンパ節に拡散していることを意味する。Ｍ（０／１）は、転移の存在を表し：Ｍ０は、遠隔転移が存在しないことを意味し；Ｍ１は、転移が遠隔器官（所属リンパ節を超えて）に起こっていることを意味する。他のパラメーターも評価され得る。Ｇ（１～４）は、癌細胞の悪性度を表す（すなわち、それらが、もし、正常細胞と類似して見えるならば、低悪性度であり、もし、低分化に見えるならば高悪性度である）。Ｒ（０／１／２）は、手術の完全性（すなわち、切除境界の癌細胞がないかどうか）を表す。Ｌ（０／１）は、リンパ管中への浸潤を表す。Ｖ（０／１）は、静脈中への浸潤を表す。Ｃ（１～４）は、Ｖの確実性（質）因子を表す。

【１２４２】

本明細書中で、癌細胞を分解、増殖阻害または死滅するために有効な、本明細書に記載の化合物のある量と、該細胞を接触させることを含む、該癌細胞を分解、増殖阻害または死滅するための方法が提供される。

【１２４３】

本明細書中で、腫瘍サイズ増大を抑制、腫瘍サイズ縮小、腫瘍増殖低減または腫瘍増殖阻止するために、本明細書に記載の化合物の効果量を、個体に投与することを含む、前記個体の腫瘍サイズ増大を抑制、腫瘍サイズ縮小、腫瘍増殖低減または腫瘍増殖阻止する方法が提供される。いくつかの場合に、腫瘍治療は、症状の小康、すなわち、該患者の治療により、該癌が悪化せず、該患者の生存期間が延長されることを含む。

【１２４４】

患者は、治療レジメン前に、間に、および後に含む、１つまたはそれ以上の複数時点で、症状に関して評価され得る。治療は、結果として、該対象の症状を改善し、１つ以上の次のイベント：腫瘍の縮小、腫瘍細胞増殖の減少、細胞数減少、血管新生減少および／またはアポトーシス増加が起こるかどうかを決定することにより評価され得る。いくつかの場合、これら１つ以上が起こると、結果として、該癌の部分的または全排除および該患者の生存期間延長がもたらし得る。あるいは、末期癌では、治療は、結果として、病気の小

康、生活の質向上および／または生存期間延長をもたらし得る。

【１２４５】

治療を評価する他の方法は、当分野で周知であり、本明細書中で企図される。例示的実施形態では、本発明のプロオリゴヌクレオチドは、医学的疾患、例えば、癌、または望まれない細胞分類の存在により特徴付けられる非悪性症状に患っている、哺乳類（例えば、ヒト）などの対象に投与される。

【１２４６】

主要結果尺度は、本明細書に記載の方法を用いて治療される患者で評価され得、例えば、無増悪生存期間を含む。一実施形態では、無増悪生存期間増加は、治療のない場合と比較して、約２倍、５倍、１０倍、２０倍、５０倍またはそれ以上多い量で観察される。別の実施形態では、無増悪生存期間増加は、治療のない場合と比較して、約３ヶ月、約６ヶ月、約９ヶ月、約１２ヶ月、約１８ヶ月、約２年、約３年、約４年、約５年またはそれ以上長く生存期間が増加する。

【１２４７】

副次結果尺度も評価され得、奏効期間、腫瘍進行時間、全生存、重篤および重篤でない有害事象を含む。例えば、治療は、病気の進行を阻止（すなわち、小康）または改善をもたらし得る。あるいは、または加えて、他の目的は、１つ以上の次のもの：腫瘍量減少、血管新生減少、副作用減少、有害反応減少、および／または患者のコンプライアンス向上に関して測定され得る。

【１２４８】

本発明の化合物または組成物による治療が治療または予防に有用である、疾病または障害の他の具体例としては、移植片拒絶（例えば、腎臓、肝臓、心臓、肺、島細胞、膵臓、骨、骨髄、角膜、小腸、皮膚同種移植または異種移植および他の移植片）、移植片対宿主病、変形性関節症、関節リウマチ、多発性硬化症、糖尿病、糖尿病性網膜症、炎症性腸疾患(例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎、および他の腸疾患)、腎疾患、悪液質、敗血症性ショック、ループス、重症筋無力症、乾癬、皮膚炎、湿疹、脂漏、アルツハイマー病、パーキンソン病、化学療法中幹細胞保護、自家または同種骨髄移植のための生体外選択または生体外浄化、眼球内疾患、網膜症(例えば、黄斑変性症、糖尿病性網膜症、および他の網膜症)、角膜疾患、緑内障、感染症(例えば、細菌性、ウイルス性、または真菌性)、これに限定されないが再狭窄を含む心疾患が挙げられるが、これに限定されない。

【１２４９】

リボヌクレアーゼＬの活性化

２’－５’オリゴアデニル化（２－５Ａ）／リボヌクレアーゼＬ経路は、インターフェロンにより誘導される酵素経路の１つである。リボヌクレアーゼＬは、２’－５’アデニル酸の５’－リン酸化フラグメントに結合後活性化される。２’－５’アデニル酸（２－５Ａ）のこれらのフラグメントは、２’－５’オリゴ（Ａ）シンテターゼの制御下産生される。この経路は、自然免疫系の部分であり、ウイルス性感染症の予防に重要な役割を有する。一本鎖ＲＮＡの２－５Ａ誘導切断は、アポトーシスをもたらす。２－５Ａの生体内安定なホスホロチオエート類似体は、リボヌクレアーゼＬの強力な活性剤であることが示されている（Xianh et al., Cancer Research (2003), 63:6795-6801）。この研究では、該２－５Ａ類似体は、リボヌクレアーゼＬ活性を誘導し、末期転移ヒト前立腺癌細胞株ＤＵ１４５、ＰＣ３およびＬＮＣａＰの培養液中アポトーシスを引き起こした。

【１２５０】

リボヌクレアーゼＬの持続的活性化は、癌性／腫瘍細胞だけでなく、ウイルス感染細胞を除去するアポトーシスのミトコンドリア経路を開始させる。リボヌクレアーゼＬは、線維肉腫増殖、前立腺癌増殖、結腸直腸癌増殖および膵癌増殖を阻害し得る。種々の癌でリボヌクレアーゼＬの共通の役割が与えられ、本明細書に記載の本発明は、いずれもの型の癌の治療に使用され得ることが企図されている。Silverman, RH, Cytokine Growth Factor Rev, 18(5-6): 381-388 (2007)；Bisbal, C. and Silverman, RH, Biochimie. 89(6-7): 789－798 (2007)。例として、リボヌクレアーゼＬの下方制御は、典型的健康人集団の

リボヌクレアーゼＬの所定レベルと比較して、リボヌクレアーゼＬをコードする遺伝子（単数）または遺伝子（複数）の発現レベルのいずれもの減少、リボヌクレアーゼＬをコードする遺伝子（単数）または遺伝子（複数）のサイレンシング、リボヌクレアーゼＬを含むタンパク質の発現／翻訳のレベルの低減、細胞内に存在するリボヌクレアーゼＬの量の減少、および／またはリボヌクレアーゼＬの活性のいずれもの低下を表す。あるいは、本明細書に記載のリボヌクレアーゼＬレベルのいずれもの減少は、リボヌクレアーゼＬの下方制御を示し得る。

【１２５１】

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、下方制御されたリボヌクレアーゼＬを有する疾病の治療のために有用である。いくつかの実施形態では、下方制御されたリボヌクレアーゼＬに関連する疾病は癌である。いくつかの実施形態では、該癌は、膵癌、前立腺癌、または結腸直腸癌である。あるいは、本明細書に記載の提供されるオリゴヌクレオチドは、発現上昇したリボヌクレアーゼＬを有する疾病の治療のために有用である。いくつかの実施形態では、発現上昇したリボヌクレアーゼＬを有する疾病は、慢性疲労症候群である。発現上昇したリボヌクレアーゼＬを有するさらなる疾病は、当分野で周知であり、本明細書中に考察される。

【１２５２】

治療として使用されるとき、提供されるオリゴヌクレオチドは、医薬組成物として投与される。いくつかの実施形態では、該医薬組成物は、その薬剤的に許容可能な塩を含む提供されるオリゴヌクレオチド、またはその薬剤的に許容可能な塩の治療効果量、および薬剤的に許容可能な希釈剤、薬剤的に許容可能な賦形剤、および薬剤的に許容可能な担体から選択される少なくとも１つの薬剤的に許容可能な不活性成分を含む。別の実施形態では、該医薬組成物は、静脈注射、経口投与、口腔投与、吸入、鼻腔内投与、局所投与、眼投与または耳投与用途に処方される。さらなる実施形態では、該医薬組成物は、錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、吸入剤、点鼻液剤、坐剤、懸濁剤、ゲル剤、コロイド剤、分散剤、懸濁剤、液剤、乳剤、軟膏剤、ローション剤、点眼剤または点耳剤である。

【１２５３】

医薬組成物

治療として使用されるとき、本明細書に記載の提供されるオリゴヌクレオチドまたは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。いくつかの実施形態では、該医薬組成物は、提供されるオリゴヌクレオチド、またはその薬剤的に許容可能な塩の治療効果量、および薬剤的に許容可能な希釈剤、薬剤的に許容可能な賦形剤、および薬剤的に許容可能な担体から選択される少なくとも１つの薬剤的に許容可能な不活性成分を含む。いくつかの実施形態では、該医薬組成物は、静脈注射、経口投与、口腔投与、吸入、鼻腔内投与、局所投与、眼投与または耳投与用途に処方される。いくつかの実施形態では、該医薬組成物は、錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、吸入剤、点鼻液剤、坐剤、懸濁剤、ゲル剤、コロイド剤、分散剤、懸濁剤、液剤、乳剤、軟膏剤、ローション剤、点眼剤または点耳剤である。

【１２５４】

いくつかの実施形態では、本発明は、キラル制御されたオリゴヌクレオチド、または薬剤的に許容可能な賦形剤と混合したその組成物を含む医薬組成物を提供する。当業者は、該医薬組成物は、上記の該キラル制御されたオリゴヌクレオチドの薬剤的に許容可能な塩、またはその組成物を含むことを認識するだろう。

【１２５５】

送達を増強および標的化する化合物

本明細書に記載の提供されるオリゴヌクレオチドは、様々なリガンドとの核酸複合体、ならびにナノ担体のアプローチの使用を含む様々な送達戦略を用いて送達され得る。いずれの核酸送達戦略も、本明細書に記載の提供されるオリゴヌクレオチドの使用が企図される。これに限定されないが、化学複合体、カチオン性脂質／リポソーム輸送媒体および超分子ナノ担体を含む典型的送達戦略間の選択は、該治療の状況に依存し、最適な送達様式

を決定する方法は、当業者に周知であり、本明細書でさらに考察される。

【１２５６】

細胞貫通性化合物（「ＣＰＣ」）

多数の化合物が、核酸などの積荷の担体として作用し、生体内設定の細胞中の核酸の流入を促進することが知られている。実例となる担体は、Dietz et al., Molecular & Cellular Neuroscience, 27(2): 85-131 (2004)（参照することにより、本明細書中に組み入れられるものとする）に記載されている。Ｔａｔおよびアンテナペディア転写制御因子由来プロトタイプＣＰＣは、大多数の新しい部分によって連結されている。例として、ペプチドであるＣＰＣは、アルギニンおよびリジンが多い相対的短い（９～３０アミノ酸）ポリカチオン性ペプチド、または膜相互作用疎水性配列であり得る。ＣＰＣは、組み換えＤＮＡ技術により結合またはペプチド、オリゴヌクレオチドもしくはナノ担体と化学的に結合し得、それから、ＣＰＣの「積荷」を含む。

【１２５７】

細胞標的リガンド（「ＣＴＬ」）

別の戦略は、効率的インターナリゼーションが可能な細胞表面受容体と高親和性で結合するＣＴＬの使用により、オリゴヌクレオチドを送達することである。有望なリガンドとしては、抗体、ファージディスプレイライブラリー由来のポリペプチド、および小有機分子が上げられる。さらなる細胞標的リガンドは、当業者に周知であり、または開発されるだろうし、本明細書に記載の本発明での使用をが企図される（ＡＳＧＰＲのため－ＧａｌＮＡｃ複合化ｓｉＲＮＡおよびオリゴヌクレオチド、例えば、国際公開ＷＯ第２０１２０３７２５４号Ａ１）。様々な受容体が、しばしば、特定の細胞型で選択的に発現されるので、このアプローチは、該オリゴヌクレオチド試薬に対する改良された選択性の可能性を提供する。実例となる受容体標的としては、リポタンパク質受容体（肝臓中のものなど）、インテグリン、受容体型チロシンキナーゼ、およびＧタンパク質共役受容体（ＧＰＣＲ）スーパーファミリーが挙げられるが、これに限定されない。

【１２５８】

ナノ担体

様々な超分子ナノ担体は、核酸の送達のために使用され得る。実例となるナノ担体としては、リポソーム、カチオン性ポリマー複合体および様々な高分子が挙げられるが、これに限定されない。様々なポリカチオンと核酸の複合体形成は、細胞間送達のため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共重合体、およびデンドリマーの使用が挙げられる。ＰＥＩおよ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担体は、エンドソームからの内容物の放出を助ける。他のアプローチとしては、ポリマーナノ粒子、ポリマーミセル、量子ドットおよびリポプレックスの使用が挙げられる。

【１２５９】

さらなる核酸送達戦略が、本明細書に記載の例示的送達戦略に加えて知られている。

【１２６０】

治療および／または診断応用では、本発明の化合物は、全身および局所または局在的投与を含む様々な投与方法用途で処方され得る。技術および処方物は、一般に、Remington, The Science and Practice of Pharmacy, (20th ed. 2000)中に見出される。

【１２６１】

提供されるオリゴヌクレオチド、およびその組成物は、広い用量範囲に渡って有効である。例えば、成人治療では、１日に、約０．０１～約１０００ｍｇ、約０．５～約１００ｍｇ、約１～約５０ｍｇ、および１日に、約５～約１００ｍｇが、使用され得る用量の例である。正確な用量は、投与経路、化合物が投与される形態、被治療対象、被治療対象の体重、ならびに主治医の選好および経験に依存するだろう。

【１２６２】

薬剤的に許容可能な塩は、一般に、当業者に周知であり、例えば、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（carnsylate）、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、エシレート、フマル酸塩、グルセプト酸塩、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、ヘキシルレゾルシン酸塩、ヒドラバミン、臭化水素、塩化水素、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、粘液酸塩、ナプシル酸塩、硝酸塩、パモ酸塩（パモ酸塩）、パントテン酸塩、リン酸塩／二リン酸塩、ポリガラクツロ酸塩、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、またはテオクル酸塩が挙げられるが、これに限定されない。他の薬剤的に許容可能な塩は、例えば、Remington, The Science and Practice of Pharmacy (20th ed. 2000)で、見られ得る。好ましい薬剤的に許容可能な塩としては、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、塩化水素、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、または酒石酸塩が挙げられる。

【１２６３】

治療される特定の症状に依存して、かかる薬剤は、液または固体剤形に処方され、全身的にまたは局所的に投与され得る。該薬剤は、例えば、当業者に周知の時限的または持続的低放出形態で送達され得る。製剤技術および投与は、Remington, The Science and Practice of Pharmacy (20th ed. 2000)で見出され得る。適当な経路としては、経口、口腔、吸入スプレー、舌下、直腸内、経皮、経膣、経粘膜、経鼻または腸投与；筋肉内、皮下、くも膜下腔内、直接的脳（心）室内、静脈内、関節内、胸骨内、髄液包内、肝内、病巣内、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内、または眼内注射だけでなく、髄内注射を含む非経口送達、または他の送達方法が挙げられ得る。

【１２６４】

注射用では、本発明の薬剤は、ハンクス液、リンゲル溶液、または生理食塩水などの生理的に適合した緩衝液中などの水溶液中に処方および希釈され得る。かかる経粘膜投与用では、浸透される該関門に適切な浸透剤が、該処方物に使用される。かかる浸透剤は、一般に、当分野で周知である。

【１２６５】

全身投与に適切な製剤中に、本発明の実践のため開示された本明細書中の化合物を処方するための薬剤的に許容可能な不活性担体の使用は、本発明の範囲内である。担体の適切な選択および適切な製造実践で、本発明の組成物、特に，液剤のこれらの処方物は、静脈内注射など、非経口投与され得る。

【１２６６】

該化合物は、経口投与用途に適切な製剤中に、当業者に周知の薬剤的に許容可能な担体を使用して、容易に処方され得る。かかる担体は、本発明の化合物を、被治療対象（例えば、患者）の経口摂取用途の錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤などとしての処方を可能にする。

【１２６７】

経鼻または吸入送達用途では、本発明の薬剤は、当業者に周知の方法によっても処方され得、例えば、生理食塩水などの可溶化、希釈、または分散物質、ベンジルアルコールなどの保存剤、吸収促進剤、およびフッ化炭素の例が挙げられるが、これに限定されない。

【１２６８】

本発明の使用に適切な医薬組成物としては、該活性成分がその意図される目的を達成するための効果量で含有される組成物が挙げられる。効果量の決定は、特に、本明細書で提供される詳細な開示に照らして、当業者なら十分に行うことができる。

【１２６９】

該活性成分に加えて、これらの医薬組成物は、薬剤的に使用され得る製剤中に、該活性化合物の過程を促進する賦形剤および助剤を含む適当な薬剤的に許容可能な担体を含み得る。経口投与用途に処方される該製剤は、錠剤、糖衣剤、カプセル剤、または液剤の形態であり得る。

【１２７０】
経口使用用途の医薬製剤は、該活性化合物を、適当な助剤を添加後、必要に応じて、錠剤または糖衣剤コアを得るために、固体賦形剤と混合し、得られた混合物を粉砕してもよく、および顆粒剤の混合加工により得られ得る。適当な賦形剤は、特に、ラクトース、ショ糖、マンニトール、またはソルビトールを含む糖類；セルロース製剤、例えば、トウモロコシデンブン、小麦デンプン、米デンプン、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、カルボキシメチルセルロース（ＣＭＣ）ナトリウム、および／またはポリビニルピロリドン（ＰＶＰ：ポビドン）などの充填剤である。必要に応じて、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、またはアルギン酸もしくはアルギン酸ナトリウムなどのその塩など、崩壊剤が添加され得る。
【１２７１】
糖衣剤コアは、適当なコーティングと一緒に提供される。この目的のため、高濃度糖溶液が使用され得、これは、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カーボポールゲル、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、および／または二酸化チタン、ラッカー液、および適当な有機溶媒または溶媒混合物を含有してもよい。色素または顔料が、種々の組み合わせの活性化合物用量を識別または特徴付けするために、該錠剤または糖衣剤コーティングに添加され得る。
【１２７２】
経口的に使用され得る医薬製剤としては、ゼラチンで製造される密封軟カプセル剤およびグリセロールまたはソルビトールなどの可塑剤だけでなく、ゼラチンで製造されたプッシュフィットカプセル剤が挙げられる。該プッシュフィットカプセル剤は、ラクトースなどの充填剤、デンプンなどの結合剤、および／またはタルクもしくはステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤との混合物中、および安定剤を混合してもよく、該活性成分を含み得る。軟カプセル剤中、該活性化合物は、脂肪油、流動パラフィンまたは液体ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの適当な液体中に溶解または懸濁され得る。加えて、安定剤が添加され得る。
【１２７３】
治療または予防される特定に症状または病状に依存して、その症状を治療または予防するために正常に投与される追加の治療薬は、本発明の阻害剤と一緒に投与され得る。例えば、化学療法薬または他の抗増殖剤は、増殖性疾患および癌を治療するため、本発明の阻害剤と併用し得る。周知の化学療法薬の例としては、アドリアマイシン、デキサメタゾン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、フルオロウラシル、トポテカン、タキソール、インターフェロン類、および白金誘導体が挙げられるが、これに限定されない。
【１２７４】
薬剤の他の例、本発明の非ラセミプロオリゴヌクレオチドは、限定されないが、副腎皮質ステロイド類、ＴＮＦ遮断薬類、ＩＬ－１　ＲＡ、アザチオプリン、シクロホスファミド、およびスルファサラジンなどの抗炎症薬類；シクロスポリン、タクロリムス、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、インターフェロン類、副腎皮質ステロイド類、シクロホスファミド、アザチオプリン、およびスルファサラジンなどの免疫調節薬類および免疫抑制薬類；アセチルコリンエステラーゼ阻害薬類、ＭＡＯ阻害剤類、インターフェロン類、鎮痙薬類、イオンチャネル遮断薬類、リルゾール、および抗パーキンソン薬などの神経栄養因子類；β遮断薬類、ＡＣＥ阻害薬、利尿薬、硝酸薬類、カルシウムチャネル遮断薬類、およびスタチン系薬剤などの循環器疾患治療薬類；副腎皮質ステロイド類、コレスチラミン、インターフェロン類、および抗ウイルス薬類などの肝疾患治療薬類；副腎皮質ステロイド類、抗白血病薬類、および増殖因子類などの血液疾患治療薬類；インスリン、インスリン類似体などの糖尿病治療薬、αグルコシダーゼ阻害薬、ビグアナイド、およびインスリン感受性改善薬類；およびγグロブリンなどの免疫不全症治療薬類とも併用され得る。
【１２７５】
これらの追加の薬剤は、複数の投薬レジメンの部分として、提供されるキラル制御され

たオリゴヌクレオチド、およびその組成物と別々に投与され得る。あるいは、これらの追加の薬剤は、単一の組成物中に、提供されるキラル制御されたオリゴヌクレオチド、およびその組成物と一緒に混合した単一剤形の部分であり得る。

【１２７６】

下記に提供される実施例および製剤は、提供されるオリゴヌクレオチドおよびその組成物、およびその製造方法を、さらに例示および例証する。本発明の範囲が、次の実例および製剤の範囲により、決して制限されないことを理解されるものとする。

【１２７７】

本発明のこれらおよび他の実施形態の機能および利点は、下記実施例からもっと詳しく理解されるだろう。次の実施例は、本発明の利益を例示することを意図し、本発明の全範囲を例証するものではない。

【１２７８】

オリゴヌクレオチド組成物の分析方法

いくつかの実施形態では、本発明は、オリゴヌクレオチド組成物を分析する方法を提供する。いくつかの実施形態では、提供される方法は、例えば、１つ以上のオリゴヌクレオチドの同定、純度、定量および／または品質を検出、決定、および／または定量化する。いくつかの実施形態では、本発明は、

ａ）複数の種々の型のオリゴヌクレオチドを含む１番目の組成の１番目の分析を実施するステップ；および

ｂ）該実施した１番目の分析を、該オリゴヌクレオチドのキラル制御された組成物である２番目の組成物の２番目の分析と、該１番目の分析と同等な条件下で比較するステップであり、該１番目と２番目の分析間の差が、該２番目の組成物と比較して、該１番目の少なくとも１つの該オリゴヌクレオチドの存在下またはレベルでの差を反映するステップ

を含む方法を提供する。

【１２７９】

いくつかの実施形態では、２番目の組成物は、該オリゴヌクレオチドの単一の型のみを含む。いくつかの実施形態では、２番目の組成物は、該オリゴヌクレオチドの１つ以上の型を含む。いくつかの実施形態では、提供される方法は、例えば、実施例１７および４８に示されるオリゴヌクレオチド組成物の品質制御のために使用される。当業者により認識されるように、実施例４８に示したデータは、該組成物を比較する示した分析は、該ランダムオリゴヌクレオチド組成物（該１番目組成物）が、非キラル制御オリゴヌクレオチド合成により合成されるとき、該キラル制御組成物（該２番目組成物）の全ＲｐまたはＳｐなどの特定のオリゴヌクレオチド型を極端に低いレベルで含むことを示していることを確証している。

【実施例】

【１２８０】

前述のものは、本発明の特定の非限定的な実施形態の記載である。したがって、本明細書において記載される本発明の実施形態は、本発明の原理の適用について単に説明するものであることが理解されるべきである。説明する実施形態の詳細について、本明細書における言及は、請求の範囲を限定することを意図するものではない。

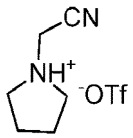
【１２８１】

オリゴヌクレオチド合成の概要

【１２８２】

前記のとおり、およびここに記載するとおり、いくつかの実施形態においては、本発明はオリゴヌクレオチドおよびその調製方法を提供する。いくつかの実施形態においては、オリゴヌクレオチドの合成は固体担体を使用して行う。いくつかの実施形態においては、オリゴヌクレオチドの合成は溶液中で行う。いくつかの実施形態においては、オリゴヌクレオチドの合成は、固体担体を使用するステップと、溶液相におけるステップを含む。いくつかの実施形態においては、固体担体を使用するステップは、オリゴヌクレオチド合成装置で行う。

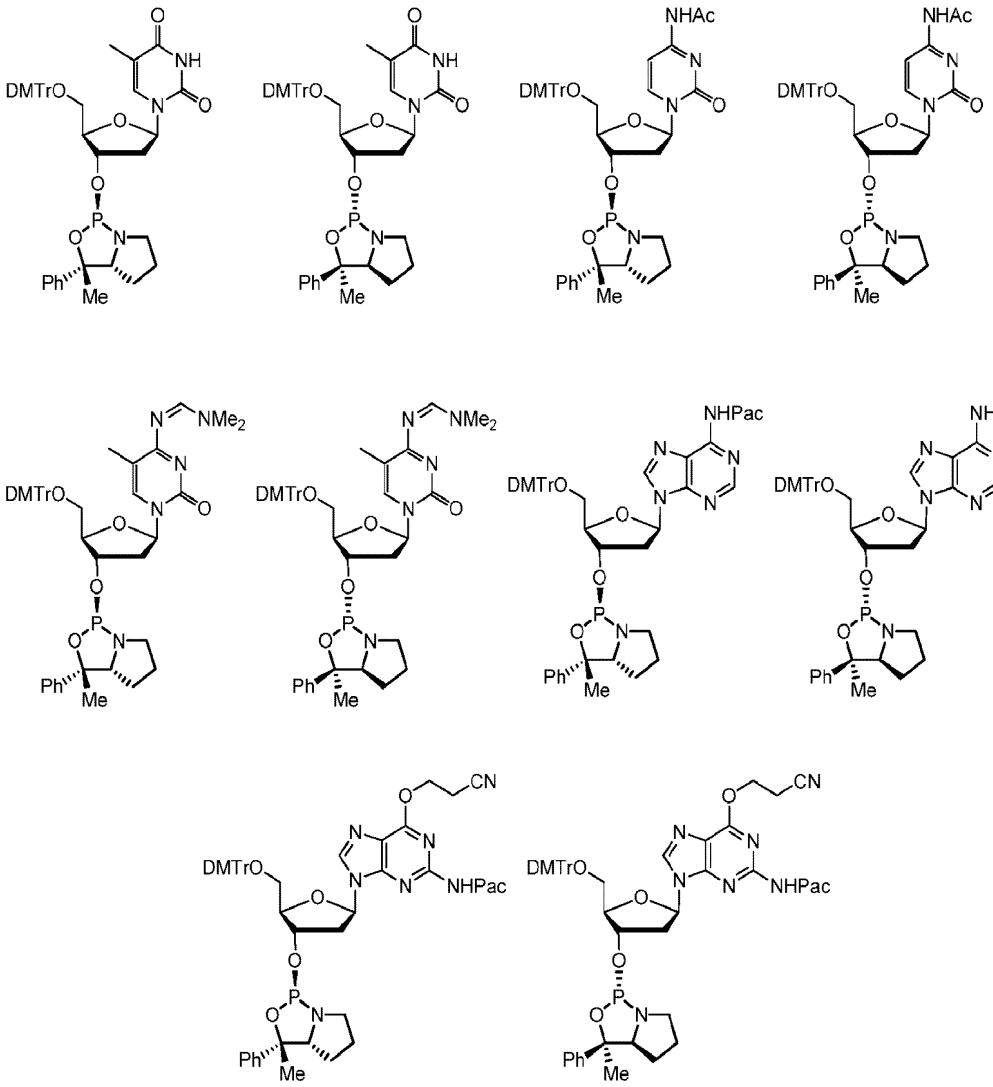
【１２８３】
固体担体の調製：
担体（高架橋ポリスチレン（ＨＣＰ）または制御多孔性ガラス（ＣＰＧ））を使用して、オリゴヌクレオチド配列に含有される第１の５’－Ｏ－ＤＭＴｒ保護ヌクレオシドを充填した。いくつかの実施形態においては、AlulらのOxalyl-CPG: a labile support for synthesis of sensitive oligonucleotide derivatives, Nucleic Acids Research 1991, 19(7), 1527において記載の通り、オキサリル基を使用して第１ヌクレオシドの３’－ＯＨ基を固体担体のアミノ基に結合した。いくつかの実施形態においては、標準的なサクシニル基をリンカーとして使用した。
【１２８４】
固体担体上でのヌクレオチドの脱トリチル：
３％ＴＣＡ（トリクロロ酢酸）ジクロロメタン（ＤＣＭ、CH_2Cl_2）溶液を、合成装置に設置した、担体を含有するカラムに展開し、５’－Ｏ－ＤＭＴｒを脱ブロックした。
【１２８５】
ＣＭＰＴ媒介キラルホスホラミダイトカップリング：
固体担体を無水アセトニトリル（ＡＣＮ）で洗浄し、乾燥アルゴンの逆流により乾燥した後、遊離の５’－ＯＨを、オリゴヌクレオチド配列中の次のヌクレオチドと結合し、３’末端から５’末端に伸長させた。WadaらのJ. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 16031-1603；Angew. Chem. Intern. Ed. 2009, 48, 496-499に記載されるとおり、これはＣＭＰＴ（下記）を伴ったキラルホスホラミダイト溶液の固体担体への共展開をもたらし、その結果、高効率なカップリングと優れた鏡像体過剰率（典型的に、９９％超）を示し、キラル亜リン酸ジエステル生成物を得た。溶媒は通常アセトニトリル（ＡＣＮ）であったが、他の溶媒も使用することができた。
【化３４５】



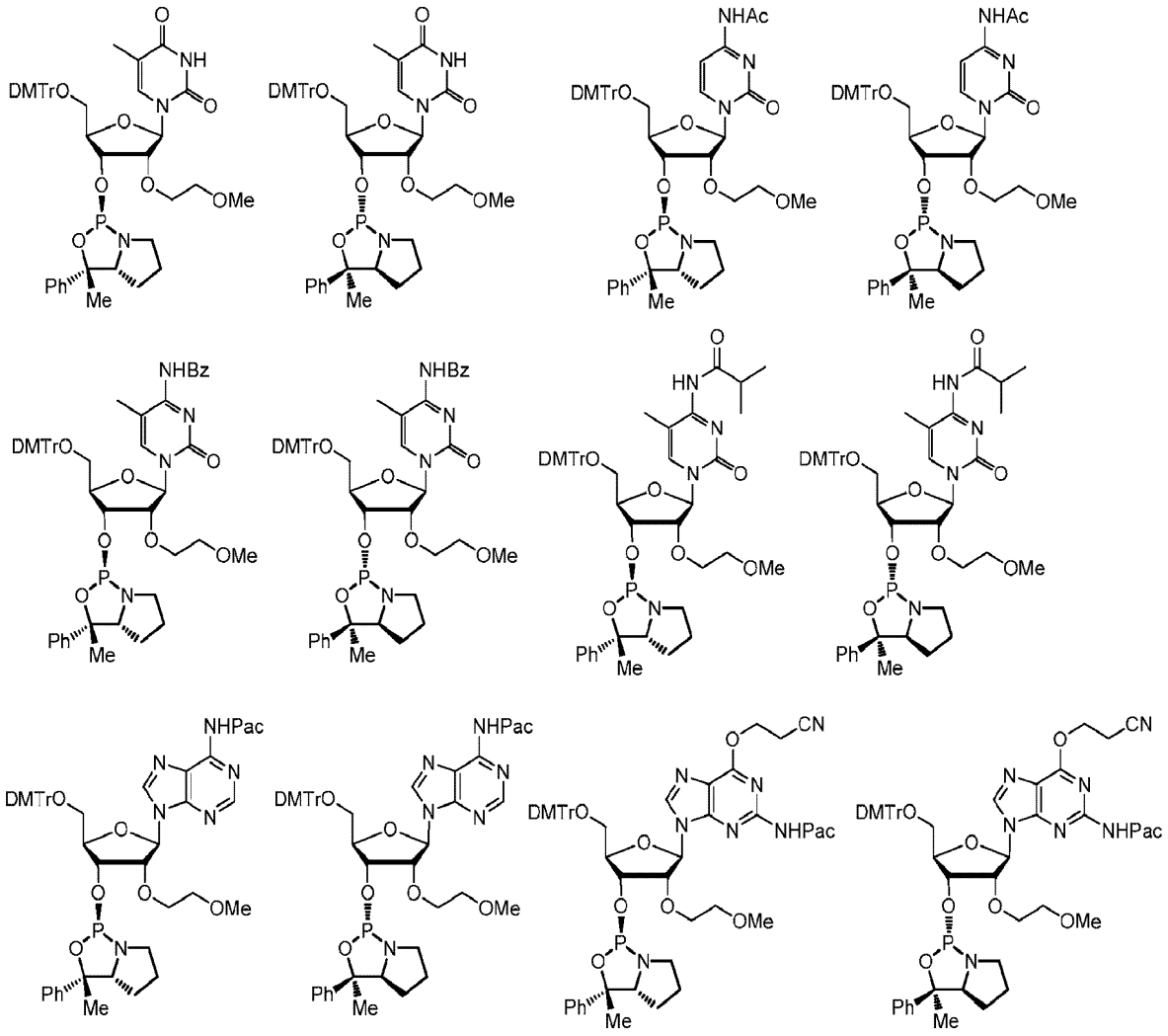
CMPT

これらの研究で使用したキラルホスホラミダイトは以下の通りである：

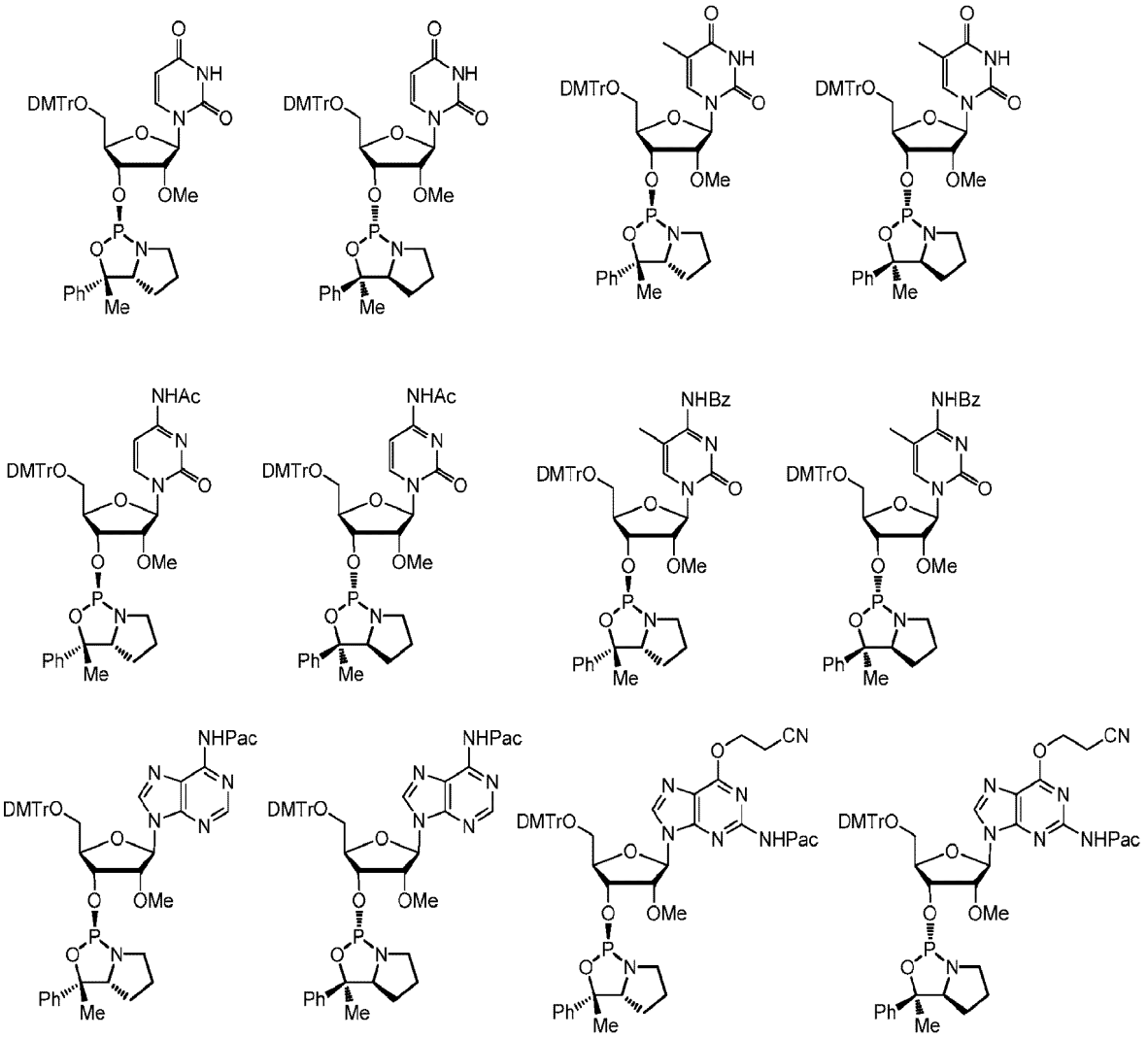
【化３４６】



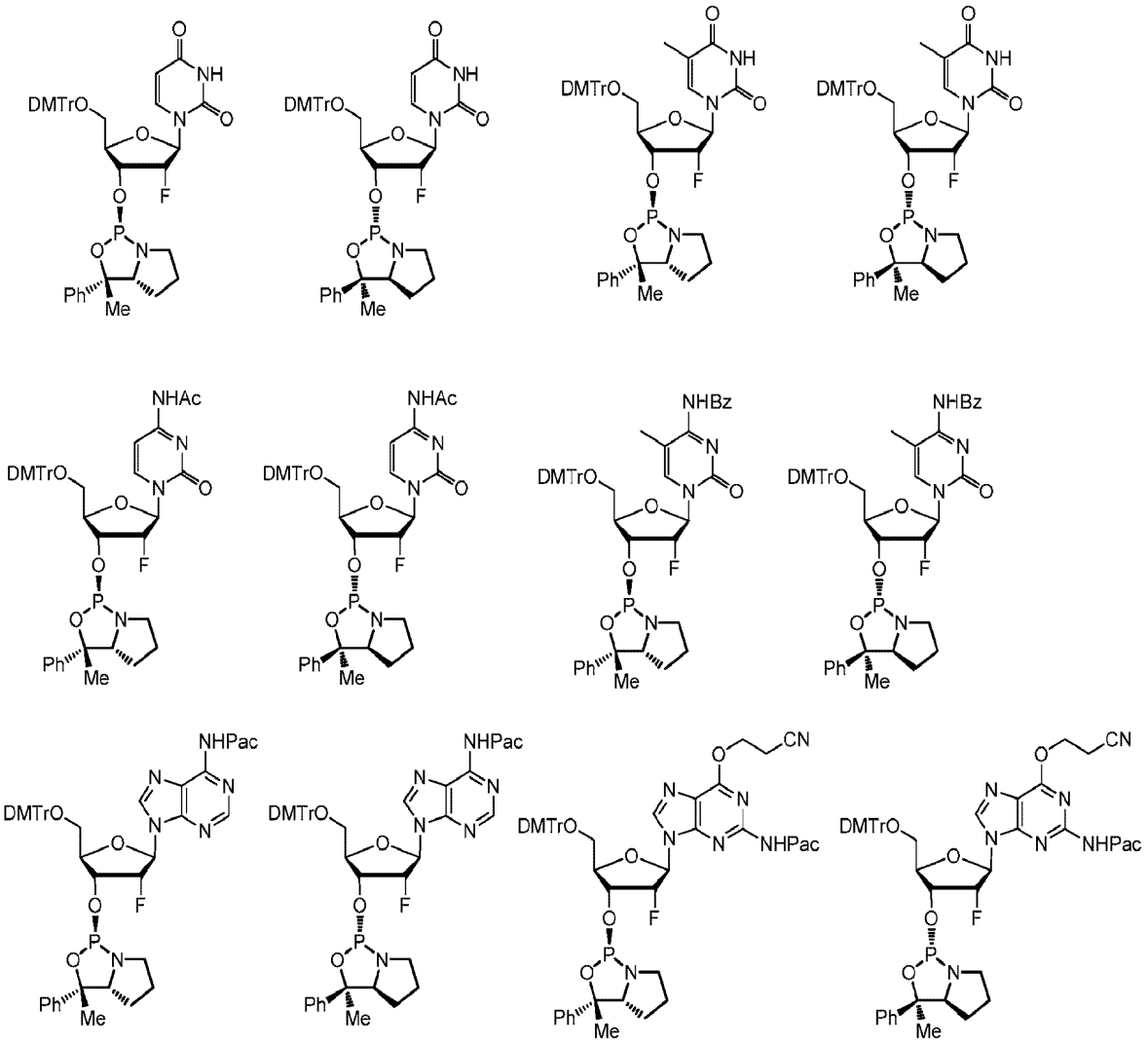
【化３４７】



【化３４８】

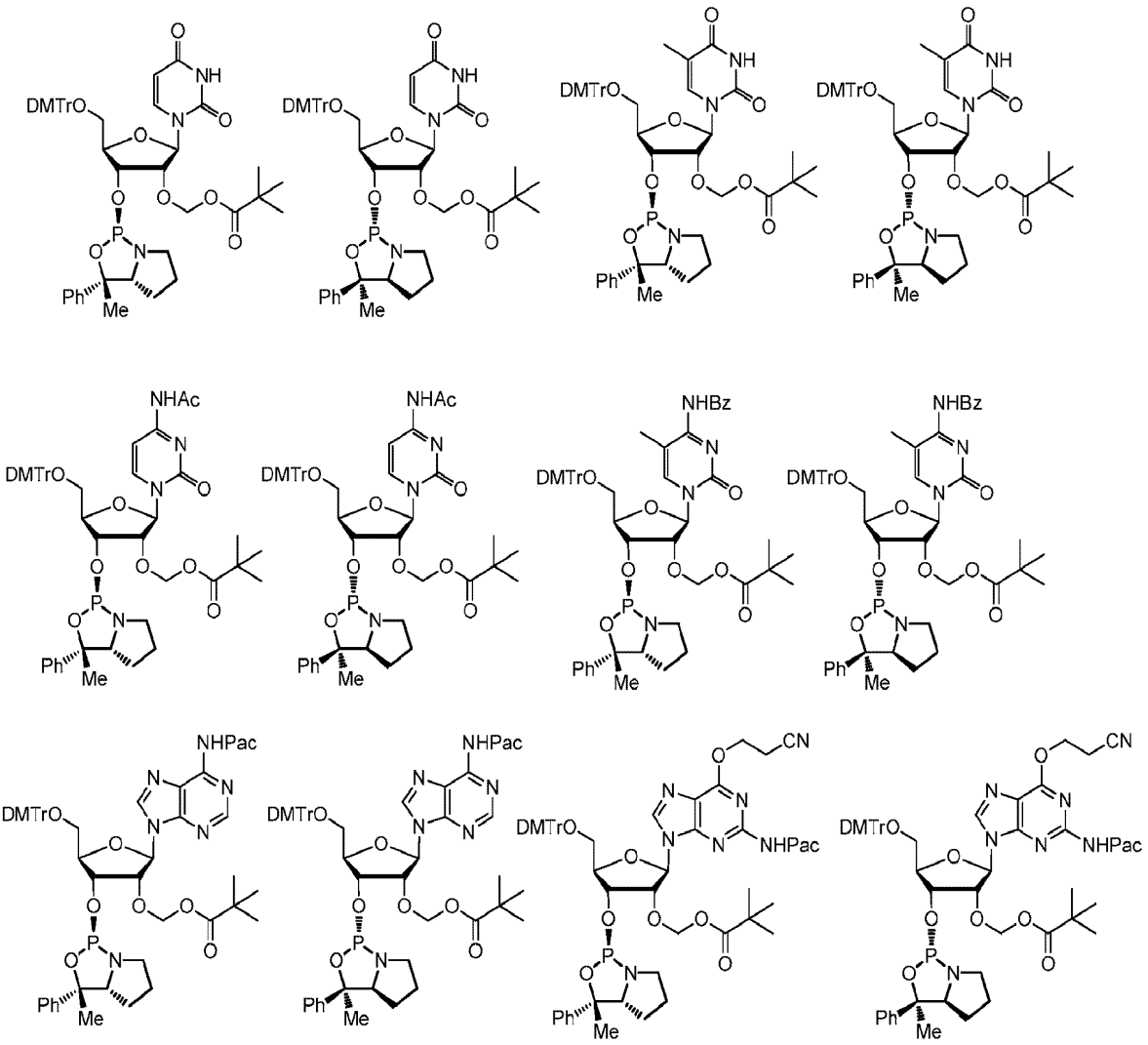


【化３４９】

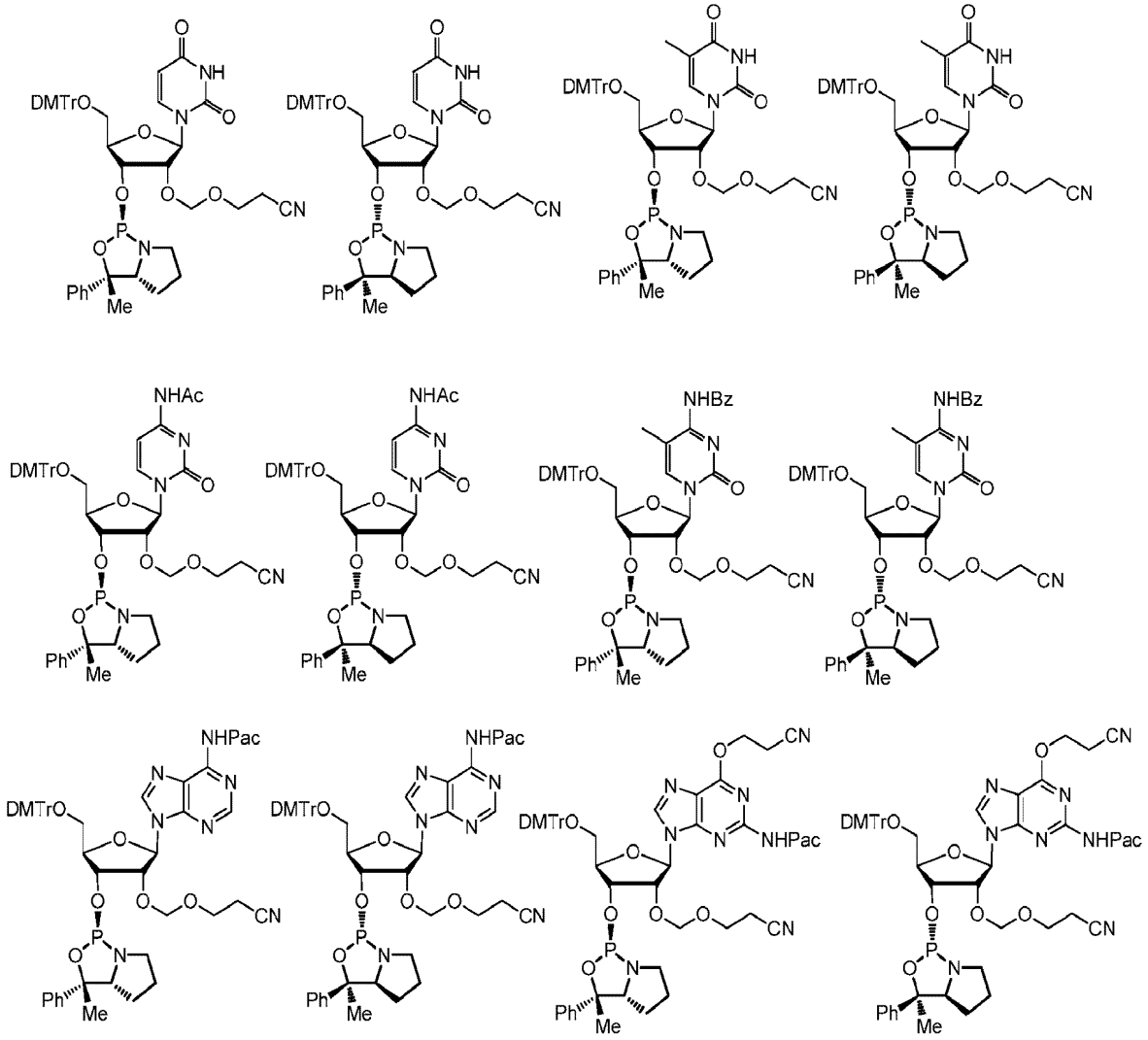


さらなるホスホラミダイトは以下の通りである：

【化３５０】



【化３５１】



【１２８６】

キャッピング：

いくつかの実施形態においては、キャッピングステップは２ステップで行った。いくつかの実施形態においては、上記の２つのキャッピングステップを１つに組み合わせ、ワンポットで行った。他に明記されない限り、本明細書において記載される実施例の合成においては、２ステップキャッピングを使用した。

【１２８７】

２ステップキャッピングでは、固体担体を無水ＡＣＮで洗浄し、乾燥アルゴンの逆流により乾燥した後、通常２，６‐ルチジン／ＴＨＦ‐１：４（ｖ／ｖ）中に５％Pac_2O溶液を含む「キャップＡ」試薬を固体担体に展開した。理論により限定されることを意図するものではないが、キャップＡは、キラル補助基の遊離アミンを効率的にキャップする（アシル化する）のに十分に反応性であった。いくつかの実施形態においては、このような保護が中間体亜リン酸エステルの再配列／分解を妨げる。この処理後ただちに、「キャップＡ」および「キャップＢ」試薬の１：１混合物を、固体担体を含有するカラムに流した。「キャップＢ」は、１６％Ｎ‐メチルイミダゾール（ＮＭＩ）ＴＨＦ溶液であり、「キャップＡ」と混合すると、例えば固体担体に結合した未反応の５’‐ＯＨオリゴヌクレオチドのキャッピングを生じさせる。理論により限定されることを意図するものではないが、キラル補助基のアミノ基のキャッピング無しでは、例えば補助基の遊離アミンのリン原子への望まれない分子間求核攻撃に起因して、次のサイクル内の硫化ステップがヌクレオチド間結合の開裂およびオリゴヌクレオチドの分解を引き起こす点において、キャッピ

ングステップは非常に重要であった。さらに、最終精製が不可能でないにしても、不良配列の伸長の蓄積および冗長に起因する低収率ならびに困難を避けて、高純度の粗製完全長オリゴヌクレオチドを得ることに関して、流出した未カップリングの固体担持されたオリゴヌクレオチドショートマー（shortmer）の５’‐ＯＨ基のキャッピングが非常に重要であった。

【１２８８】

硫化：

固体担体を無水ＡＣＮで洗浄し、乾燥アルゴンの逆流により乾燥した後、生成したキャップされた亜リン酸トリエステル中間体を酸化的硫化に付した。硫化剤溶液は、ＡＣＮ中で、例えばチオスルホン酸アルキル誘導体（３００ｍＭ）である硫化剤とＮ，Ｏ‐ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセタミド（ＢＳＴＦＡ）（１００ｍＭ）を混合することにより調製した。次にこれを、固体担体を含有するカラムに展開し、ある特定の時間（通常５～６０分）反応させた。いくつかの実施形態においては、ＢＳＴＦＡを添加せず、硫化剤のチオスルホネート試薬を無水ＡＣＮ中の３００ｍＭ溶液として使用した。いくつかの実施形態においては、ＢＳＴＦＡを有する試薬溶液およびＢＳＴＦＡを有さない試薬溶液は同様の結果を生じた。

【１２８９】

酸化：

いくつかの実施形態においては、硫化ステップの代わりに、リン酸ジエステルへの酸化を行った。ＴＨＦ／ピリジン／水（７０：２０：１０‐ｖ／ｖ／ｖ）共溶媒系中の０．０２Ｍ　I_2 溶液を展開して酸化を達成し、非キラルリン酸ジエステル結合を形成した。

【１２９０】

ＤＭＴｒ基の５’‐脱ブロック：

ＤＭＴｒの除去は、ＤＣＭ中の３％ＴＣＡを使用して行った。脱ブロック後、次に、カップリング、キャッピング、硫化／酸化（次サイクルのそれぞれについて、同じ硫化剤を用いた硫化、もしくは異なる硫化剤を用いた硫化、または硫化の代わりの酸化のいずれか）および脱ブロックのさらなる反復ラウンドへサイクルを進めることができる。あるいは、あらかじめ設計した長さに到達した際は、オリゴヌクレオチドをサイクル出口および任意に合成後処理に付した。いくつかの実施形態においては、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基の脱ブロック前にオリゴヌクレオチドを除去した。

【１２９１】

キラル補助基の自発的除去：

キラル補助基の自発的除去は、硫化、酸化、ＤＭＴｒ基の脱ブロック、またはそれらの組合せの間に達成した。キラル補助基を除去するのに、特定のステップは必要としなかった。

【１２９２】

開裂および脱保護：

所望の長さのオリゴヌクレオチドを、対応するリンカー（オキサリルまたはサクシニル結合ＨＣＰまたはＣＰＧ）を開裂することにより、その固体担体から除去し、それと同時にオリゴヌクレオチドの保護基を脱保護した。いくつかの実施形態においては、ReeseおよびYanのJ. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 2002, 2619.に記載の通り、固体に担持されたオリゴヌクレオチドをまず、脱水ＡＣＮ‐塩化トリメチルシリル‐１６：１（ｖ／ｖ）中の無水１Ｍ　１，５‐ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ‐５‐エン（ＤＢＮ）または１，８‐ジアザビシクロウンデカ‐７‐エン（ＤＢＵ）溶液を用いて室温で１０分間処理し、次に脱水ＣＮで洗浄した。いくつかの実施形態においては、その物質を脱水プロピルアミンの脱水ピリジン溶液（通常、１：４の比）を用いて、室温で１８時間、または６０℃で２時間処理した。いくつかの実施形態においては、どちらの条件においても同質の粗製化合物を生じた。いくつかの実施形態においては、２８％アンモニア水を用いて、室温で１８時間、または６０℃で５時間処理することにより、粗製オリゴヌクレオチドを担体から開裂させ、脱保護した。いくつかの実施形態においては、どちらの条件においても同

質の粗製化合物を生じた。次に溶媒を蒸発させ、０～５０％ＤＭＳＯと混合した約ｐＨ１．５（所望であれば、ｐＨを変化させてもよい）の水溶液で残渣を処理し、粗製生成物をＨＰＬＣおよびＵＰＬＣ／ＭＳの組合せによる分析に付した。逆相ＨＰＬＣ（ＲＰ‐ＨＰＬＣ）、順相ＨＰＬＣ、イオン交換ＨＰＬＣ（ＩＥ‐ＨＰＬＣ）もしくは分子ふるいクロマトグラフィーの１つ、またはそれらの組合せにより生成物を精製した。いくつかの実施形態においては、ＤＭＴｒ基の脱ブロック前にオリゴヌクレオチドを担体から除去し、脱保護し、精製した。

【１２９３】

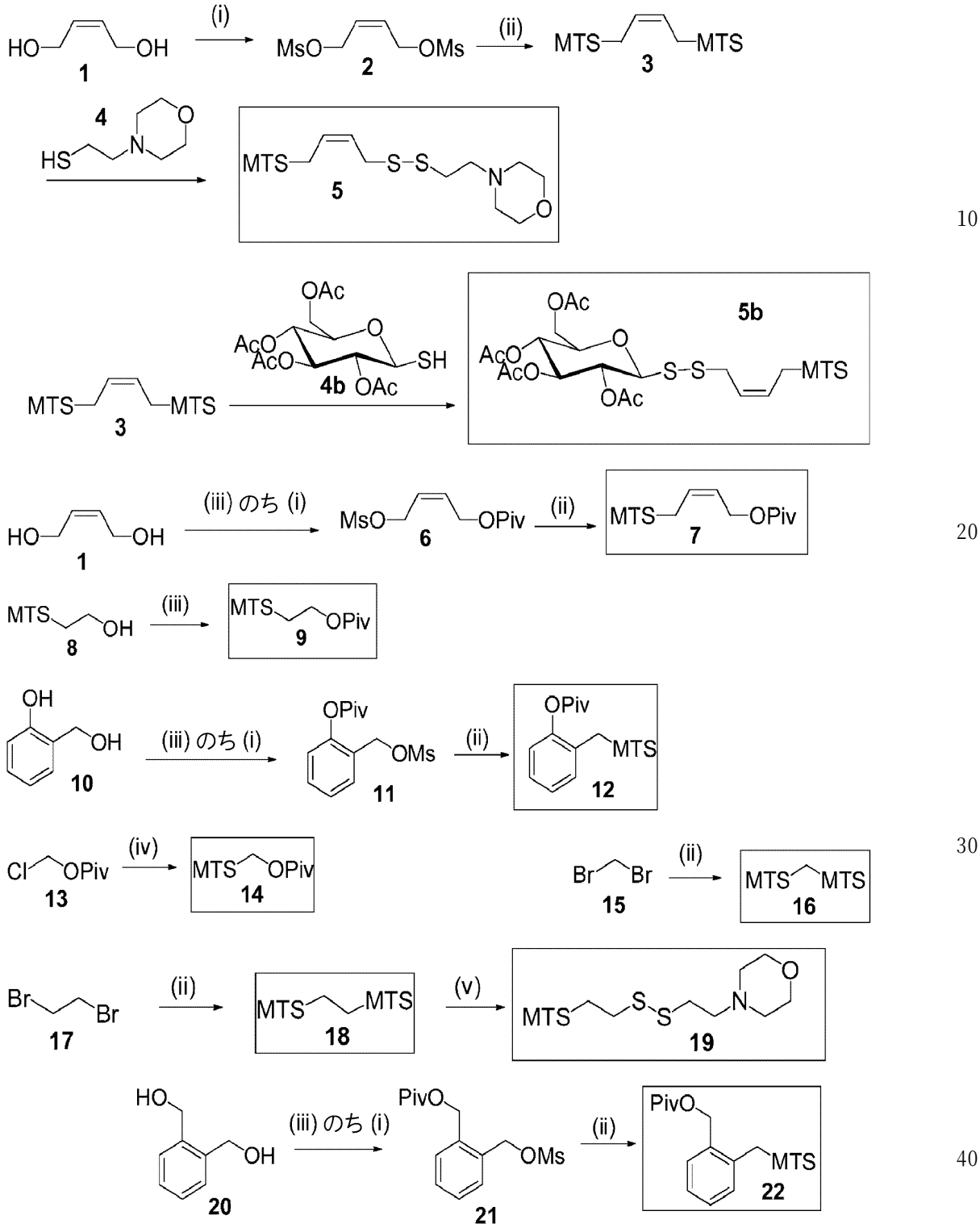
実施例１：硫化剤の合成およびホスホラミダイトの合成

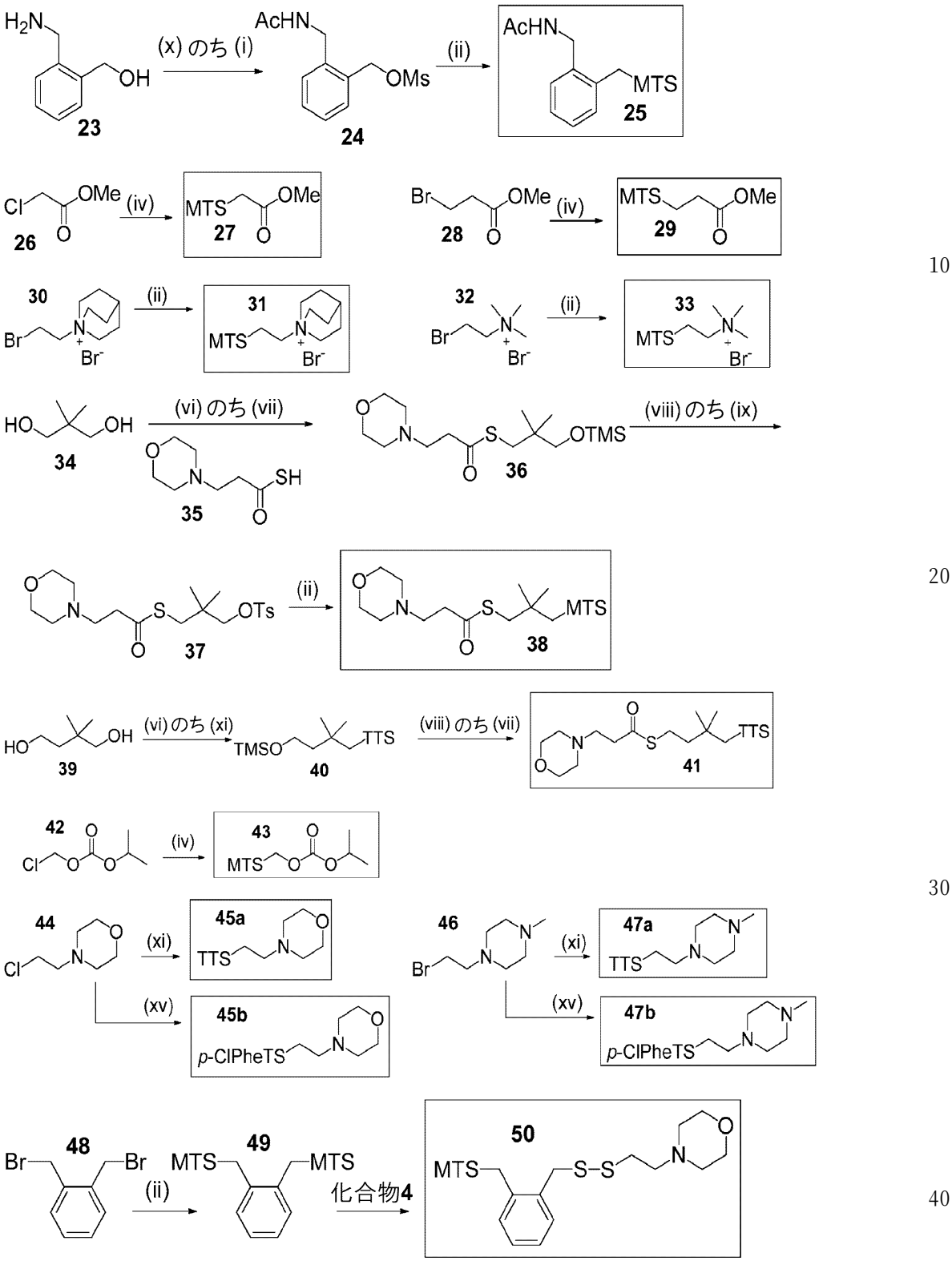
【１２９４】

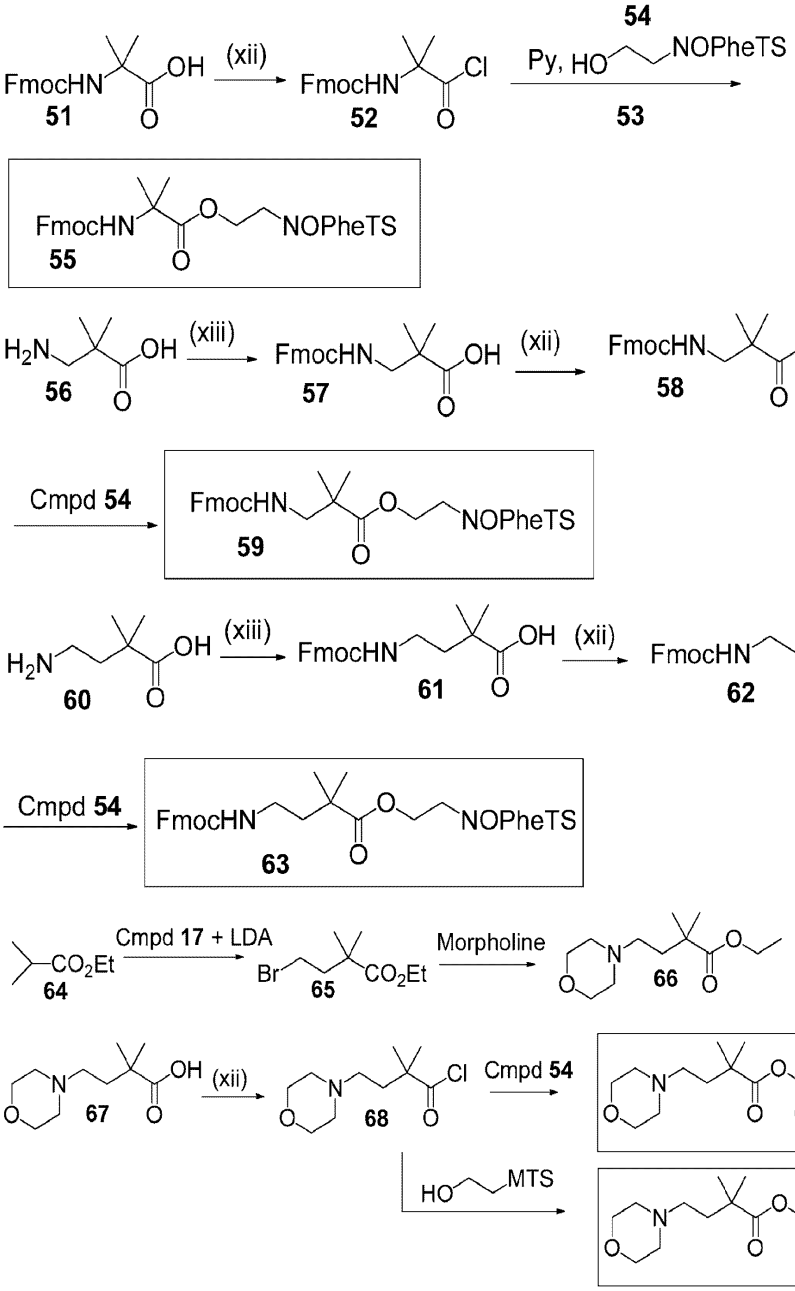
いくつかの実施形態において、本発明は硫化剤およびその作製方法を提供する。いくつかの実施形態においては、提供する硫化剤を、本願において記載されるオリゴヌクレオチドの合成において使用した。例示的な硫化剤およびそれらの合成をスキームＥ‐１に図示する。

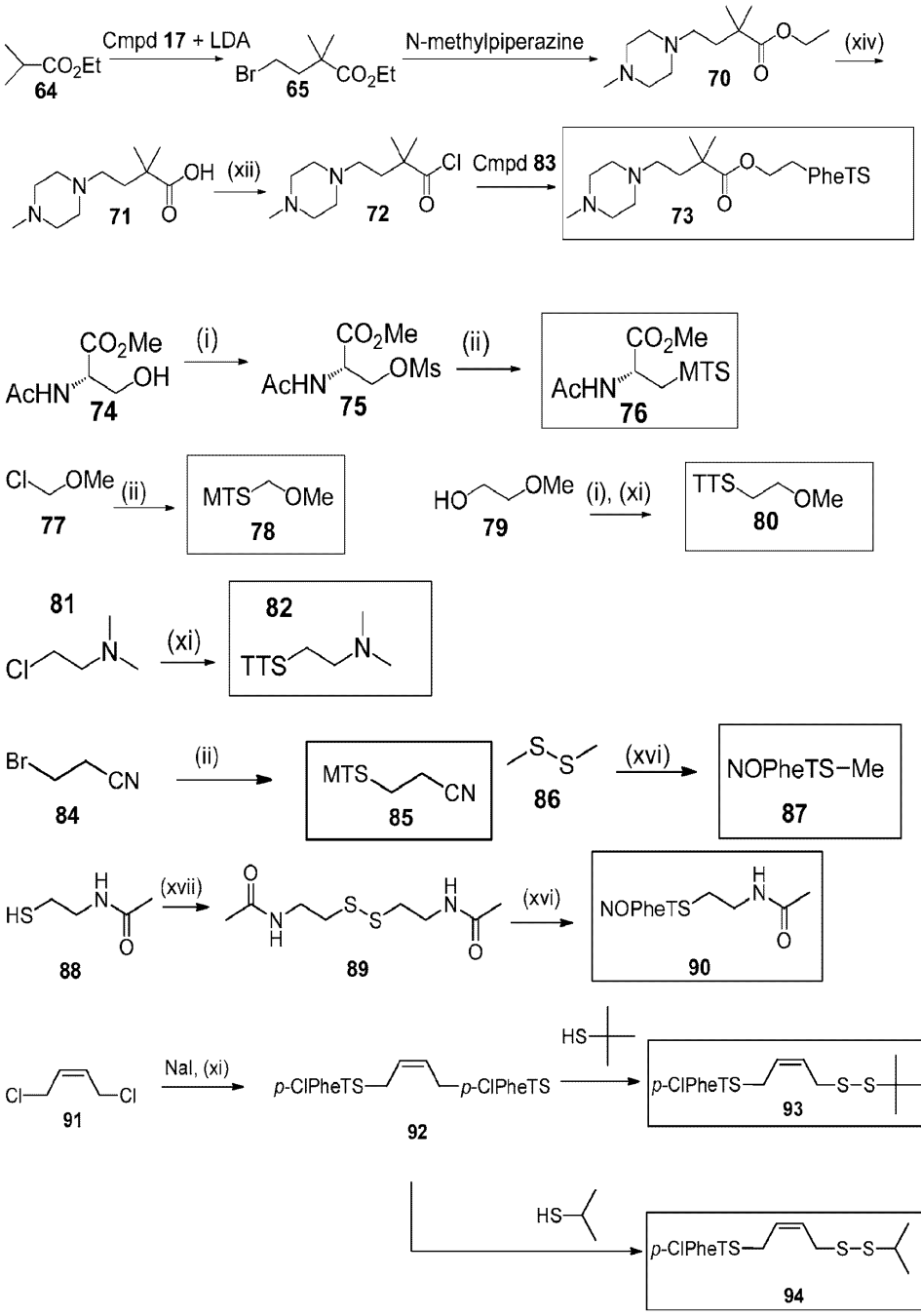
スキームＥ‐１　硫化剤の合成

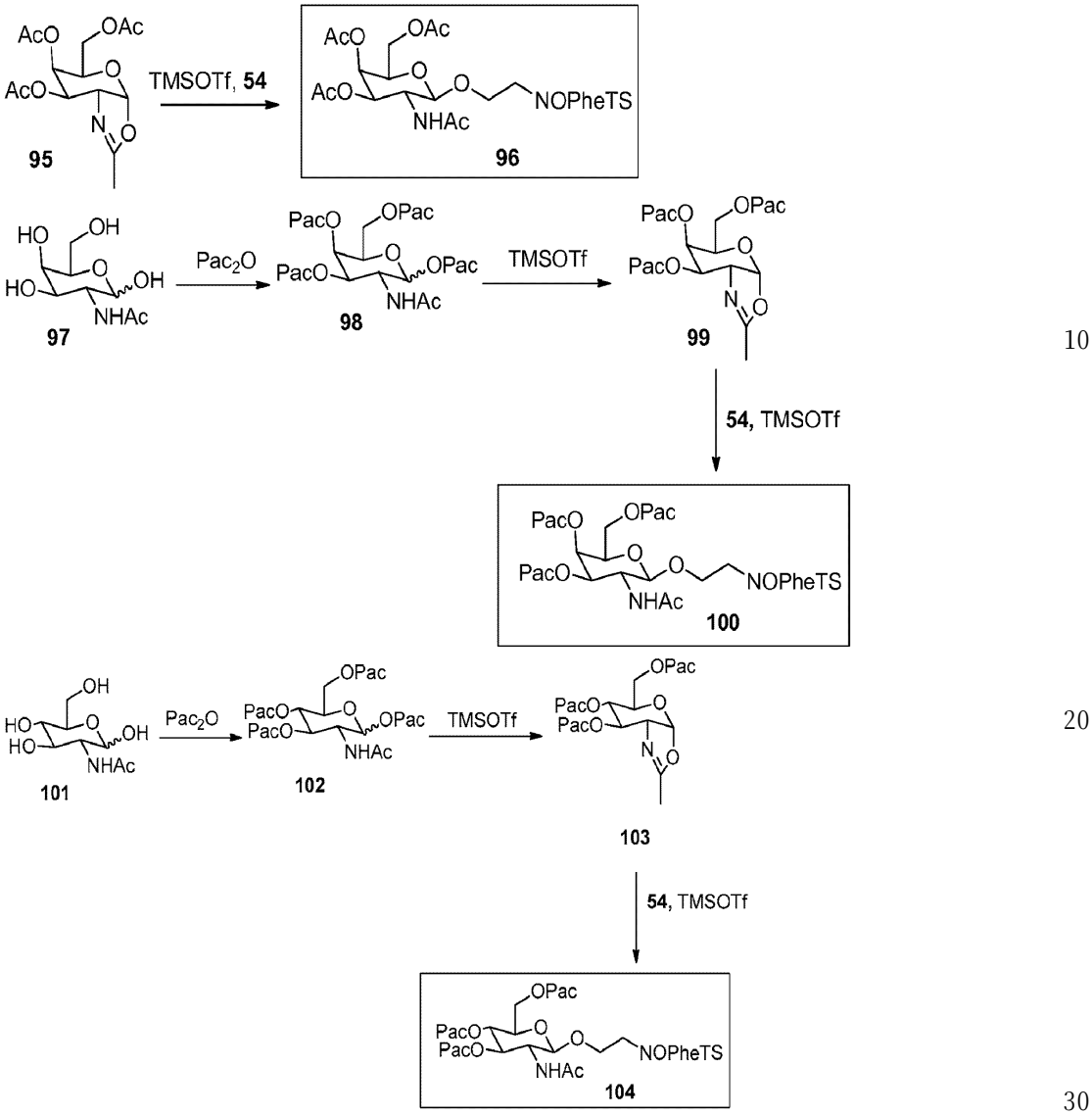
【化３５２】

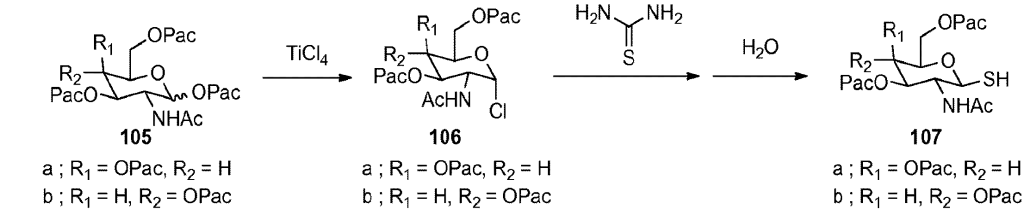

HO
OH
1
(i)
MsO
OMs
2
(ii)
MTS
MTS
3
4
HS
N
O
MTS
S-S
N
O
5
OAc
AcO
AcO
O
SH
4b OAc
MTS
MTS
3
OAc
AcO
AcO
O
S-S
MTS
OAc
5b
HO
OH
1
(iii) のち (i)
MsO
OPiv
6
(ii)
MTS
OPiv
7
MTS
OH
8
(iii)
MTS
OPiv
9
OH
OH
10
(iii) のち (i)
OPiv
OMs
11
(ii)
OPiv
MTS
12
Cl
OPiv
13
(iv)
MTS
OPiv
14
Br
Br
15
(ii)
MTS
MTS
16
Br
Br
17
(ii)
MTS
MTS
18
(v)
MTS
S
S
N
O
19
HO
OH
20
(iii) のち (i)
PivO
OMs
21
(ii)
PivO
MTS
22

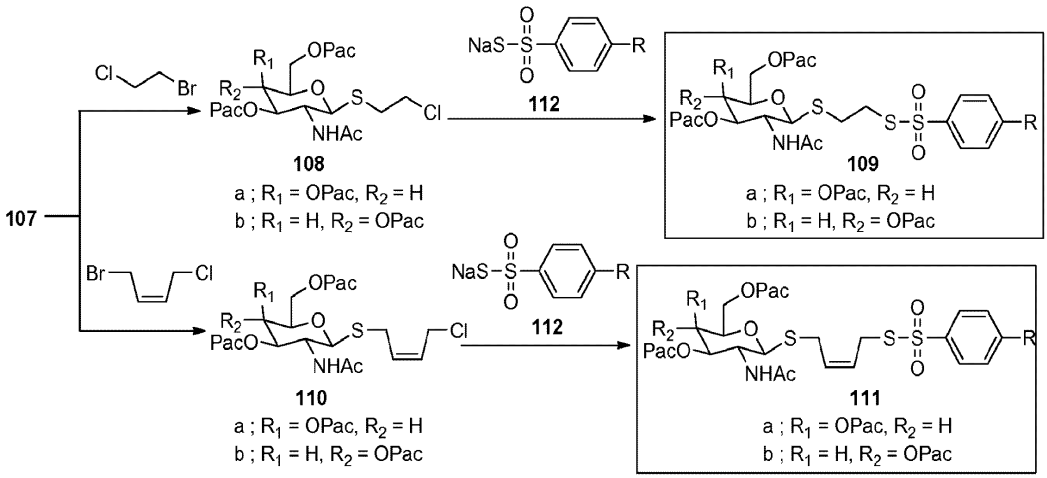

H2N
OH
23
(x) のち (i)
AcHN
OMs
24
(ii)
AcHN
MTS
25
Cl
OMe
O
26
(iv)
MTS
OMe
27
Br
28
MTS
29
30
Br
Br-
(ii)
31
32
33
HO
OH
34
(vi) のち (vii)
SH
35
OTMS
36
(viii) のち (ix)
OTs
37
38
39
(vi) のち (xi)
TMSO
TTS
40
(viii) のち (vii)
41
42
43
44
45a
45b
p-ClPheTS
46
47a
47b
48
49
50
化合物4

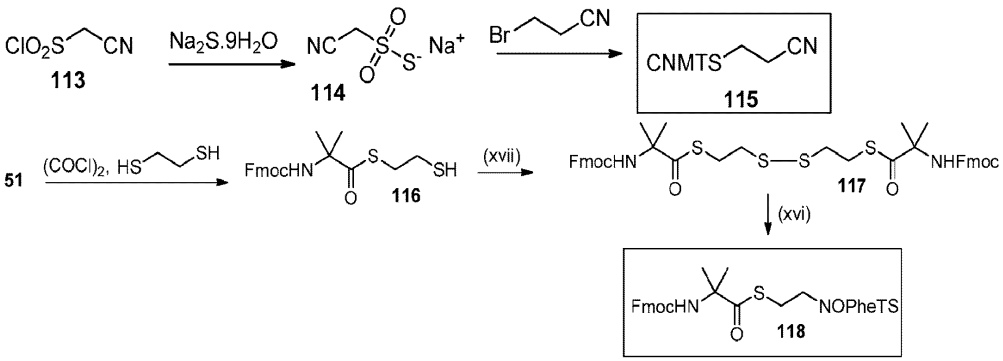

54
FmocHN
OH
51
(xii)
FmocHN
Cl
52
Py, HO
NOPheTS
53
FmocHN
NOPheTS
55
H2N
OH
56
(xiii)
FmocHN
OH
57
(xii)
FmocHN
Cl
58
Cmpd 54
FmocHN
NOPheTS
59
H2N
OH
60
(xiii)
FmocHN
OH
61
(xii)
FmocHN
Cl
62
Cmpd 54
FmocHN
NOPheTS
63
CO2Et
64
Cmpd 17 + LDA
Br
CO2Et
65
Morpholine
66
(xiv)
OH
67
(xii)
Cl
68
Cmpd 54
NOPheTS
69a
HO
MTS
MTS
69b

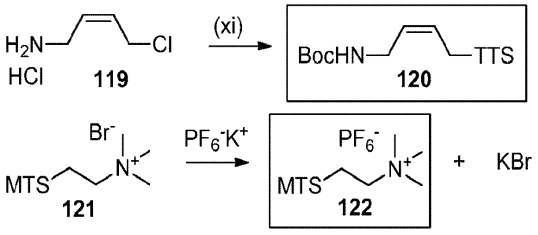

Cmpd 17 + LDA
N-methylpiperazine
(xiv)
64
65
70
71
(xii)
72
Cmpd 83
PheTS
73
(i)
(ii)
74
75
76
77
78
79
(i), (xi)
80
81
(xi)
82
84
85
86
(xvi)
87
(xvii)
88
89
90
Nal, (xi)
91
92
93
94

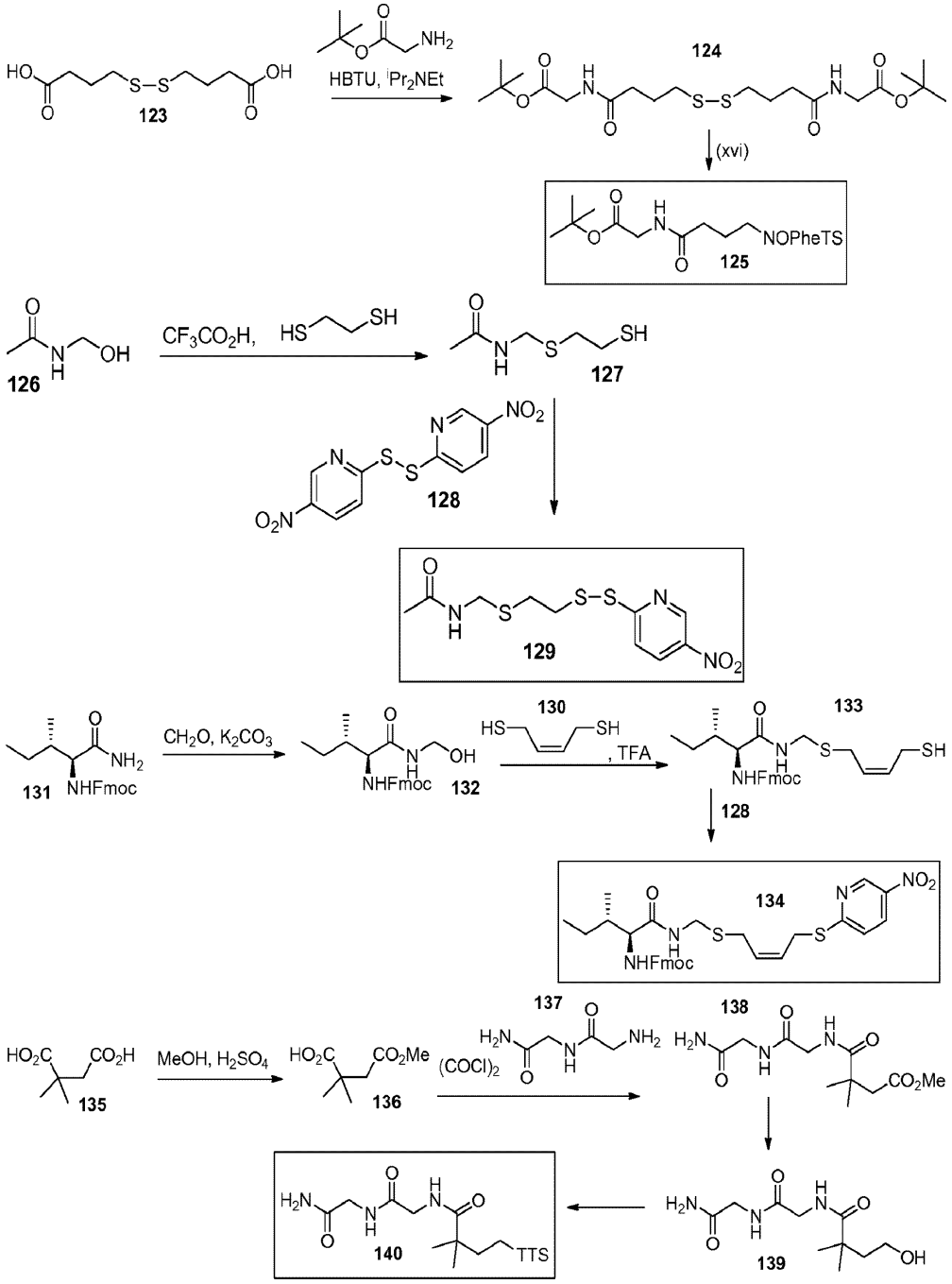

AcO
OAc
AcO
O
N
O
95
TMSOTf, 54
AcO
OAc
AcO
O
O
NOPheTS
NHAc
96
HO
OH
HO
OH
NHAc
97
Pac2O
PacO
OPac
PacO
O
OPac
NHAc
98
TMSOTf
PacO
OPac
PacO
O
N
O
99
54, TMSOTf
PacO
OPac
PacO
O
O
NOPheTS
NHAc
100
OH
HO
OH
HO
NHAc
101
Pac2O
OPac
PacO
O
PacO
OPac
NHAc
102
TMSOTf
OPac
PacO
O
PacO
N
O
103
54, TMSOTf
OPac
PacO
O
PacO
O
NOPheTS
NHAc
104

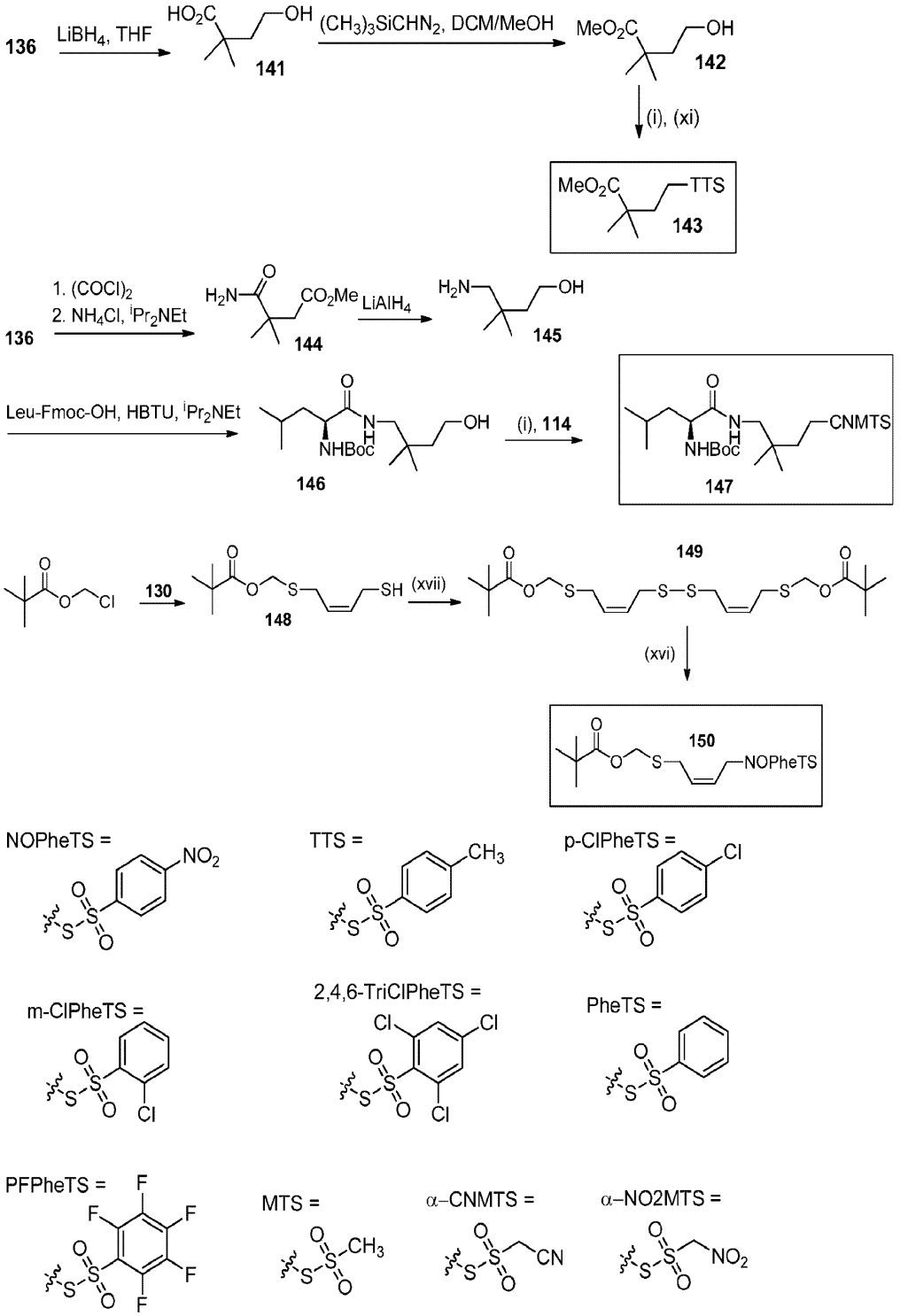

105
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac
TiCl4
106
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac
H2O
107
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac


107
108
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac
112
109
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac
110
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac
112
111
a ; R1 = OPac, R2 = H
b ; R1 = H, R2 = OPac


113
Na2S.9H2O
114
115
51
(COCl)2, HS SH
116
(xvii)
117
(xvi)
118


119
(xi)
120
121
PF6-K+
122
KBr

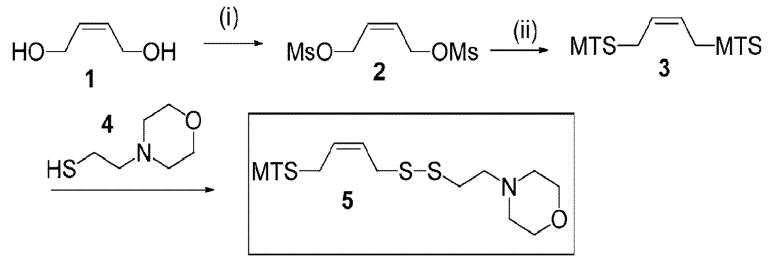

HBTU, iPr2NEt
123
124
(xvi)
125
NOPheTS
126
CF3CO2H,
127
128
129
131
CH2O, K2CO3
132
130
, TFA
133
134
135
MeOH, H2SO4
136
(COCl)2
137
138
139
140
TTS



（ｉ）ＭｓＣｌ、ＮＥｔ$_3$；（ｉｉ）ＮａＭＴＳ；（ｉｉｉ）ＰｉｖＣｌ、ＮＥｔ$_3$；（ｉｖ）ＮａＭＴＳ、ＮａＩ；（ｖ）化合物４；（ｖｉ）ＴＭＳＣｌ、ＮＥｔ$_3$；（ｖｉｉ）化合物３５、ＤＥＡＤ、ＰＰｈ$_3$；（ｖｉｉｉ）ＴＢＡＦ；（ｉｘ）ＴｓＣｌ、ピリジン；（ｘ）Ａｃ$_2$Ｏ、ピリジン；（ｘｉ）ＫＴＴＳ；（ｘｉｉ）（ＣＯＣｌ）$_2$；（ｘｉｉｉ）Ｆｍｏｃ－ＯＳｕ、Ｐｙ；（ｘｉｖ）ＮａＯＨ（ａｑ）；（ｘｖ）Ｎａ－ｐ－ＣｌＰｈｅＴＳ；４－ニトロベンゼンスルフィン酸ナトリウム、Ｂｒ$_2$；（ｘｖｉｉ）Ｈ$_2$Ｏ$_2$、ＮａＩ

化合物５の合成

【化３５３】



【１２９５】

化合物２：（Ｚ）－ブタ－２－エン－１，４－ジオール（０．９３ｍｌ、１１．３ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（３．３ｍｌ、２４ｍｍｏｌ）のジクロロメタン（ＤＣＭ、５０ｍＬ）溶液を、氷冷したメタンスルホニルクロリド（１．９ｍｌ、２４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５０ｍＬ）溶液に撹拌しながら滴下した。室温で０．５時間撹拌後、混合物を氷上に注ぎ、抽出した。有機層を回収し、乾燥して（$MgSO_4$）ろ過した。溶媒除去後、２．６６ｇの化合物２を得た（９６％）。化合物が反応の次の段階において直接使用するのに十分高純度であることを、ＮＭＲにより判断した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５．９４（ｄｄｄ、Ｊ＝５．４、４．１、１．３Ｈｚ、２Ｈ）、４．８３（ｄｄ、Ｊ＝４．１、１．３Ｈｚ、４Ｈ）、３．０４（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ　１２８．３４、６４．３８、３８．２７；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋NH_4）$^+$：２６２．０４、実測値：２６２．０５；R_f＝０．３（１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１２９６】

化合物３：メタンスルホノチオ酸ナトリウム（１．５１ｇ、１１．３ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（２０ｍｌ）溶液を、希釈していないジメタンスルホン酸（Ｚ）－ブタ－２－エン－１，４－ジイル（１．２５ｇ、５．１２ｍｍｏｌ）で、室温にて処理した。５分後、沈殿物が生じるのを観察した。３６時間後、混合物を水およびＤＣＭ間で分割した。有機層を分離し、乾燥して（$MgSO_4$）、ろ過した。溶媒を除去して、無色油状物質を得た。カラムクロマトグラフィー（ＩＳＣＯ）により純粋な化合物３を無色油状物質として得た（０．８９ｇ、６３％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５．８４（ｄｄｄ、Ｊ＝６．６、５．１、１．５Ｈｚ、２Ｈ）、３．９２（ｄｄ、Ｊ＝５．１、１．５Ｈｚ、４Ｈ）、３．３３（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ　１２８．１、５１．４７、３３．１３；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋NH_4）$^+$：２９４．００、実測値：２９４．０４；R_f＝０．４（１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１２９７】

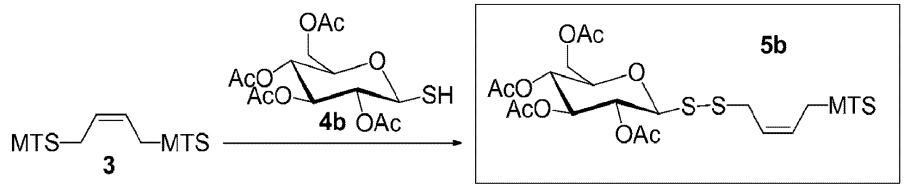
化合物４：アルゴン雰囲気下、丸底フラスコ内でモルホリン（１０ｇ、１１５ｍｍｏｌ）をエチレンスルフィド（１５ｇ、２５０ｍｍｏｌ）に加えた。この反応物を７時間撹拌し、シリカゲルカラムに直接充填した。カラムをまずＤＣＭで洗浄し、次に２％ＭｅＯＨ／ＤＣＭを使用して、化合物４を無色油状物質として得た（１５．３ｇ、９１％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ３．６７－３．５９（ｍ、４Ｈ）、２．６３－２．５２（ｍ、２Ｈ）、２．５１－２．４５（ｍ、２Ｈ）、２．４４－２．３４（ｍ、４Ｈ）；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$＝１４８．０７、実測値：１４８．１。

【１２９８】

化合物５：２－モルホリノエタンチオール（０．２１ｇ、１．４４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１ｍＬ）溶液を、化合物３（０．４０ｇ、１．４４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１０ｍＬ）溶液に、撹拌しながら、室温でシリンジを使用して滴下した。添加後ただちに反応をＴＬＣにより確認し、生成物およびいくらかの２量体の急速な形成を示した。０．５時間後、混合物を水の添加により分割した。抽出して有機層を分離し、乾燥して（$MgSO_4$）、ろ過した。真空下で溶媒を除去後、カラムクロマトグラフィーにより化合物５を無色油状物質として得た（０．２９ｇ、５８％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５

．７８（ｍ、２Ｈ）、３．９２（ｄ、Ｊ＝７．３Ｈｚ、２Ｈ）、３．７０（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、４Ｈ）、３．４６（ｄ、Ｊ＝５．５Ｈｚ、２Ｈ）、３．３１（ｓ、３Ｈ）、２．８４（ｄｄ、Ｊ＝７．８、６．７Ｈｚ、２Ｈ）、２．６６（ｄｄ、Ｊ＝７．８、６．７、２Ｈ）、２．４８（ｔ、Ｊ＝４．６Ｈｚ、４Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ　１３０．３５、１２６．２７、６６．９７、５８．２０、５３．６７、５１．５２、３６．２２、３５．１６、３３．６７；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：３４４．０５、実測値：３４４．０６；R_f＝０．３（ＥｔＯＡｃ）。

【化３５４】

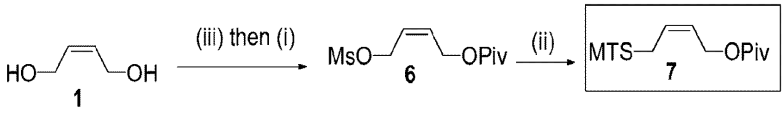


【１２９９】

化合物５ｂ：化合物４ｂ（３９５ｍｇ、１．０８５ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１ｍＬ）溶液を、化合物３（３００ｍｇ、１．０８５ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１５ｍＬ）溶液に、撹拌しながら、室温でシリンジを使用して滴下した。１時間後、生成した溶液を水の添加により分割した。抽出して有機層を分離し、乾燥して（$MgSO_4$）、ろ過した。真空下で溶媒を除去後、カラムクロマトグラフィーにより化合物５ｂを無色油状物質として得た（０．３５ｇ、５８％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５．８３‐５．７０（ｍ、２Ｈ）、５．３５‐５．２１（ｄｔ、Ｊ＝２６．０、９．３Ｈｚ、２Ｈ）、５．１６‐５．０７（ｍ、１Ｈ）、４．５９‐４．５４（ｄ、Ｊ＝９．５Ｈｚ、１Ｈ）、４．２９‐４．２３（ｍ、１Ｈ）、４．２３‐４．１８（ｍ、１Ｈ）、３．９９‐３．８８（ｄｄ、Ｊ＝６．７、１．２Ｈｚ、２Ｈ）、３．８０‐３．７２（ｄｄｄ、Ｊ＝１０．１、４．６、２．６Ｈｚ、１Ｈ）、３．６４‐３．５６（ｍ、１Ｈ）、３．５０‐３．４３（ｍ、１Ｈ）、３．３１（ｓ、３Ｈ）、２．０９（ｓ、３Ｈ）、２．０３（ｓ、６Ｈ）、２．００（ｓ、３Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７０．６８、１７０．３０、１６９．５１、１６９．３０、１２９．４３、１２７．１４、８７．７３、７６．４９、７３．８９、６９．１６、６７．９９、６１．９９、５１．６４、３５．８９、３３．５８、２０．９５、２０．８０、２０．７４、２０．７１；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋NH_4）$^{+}$：５７８．０７、実測値：５７７．９６；R_f＝０．５（１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物７の合成

【化３５５】



【１３００】

化合物６：氷冷した（Ｚ）‐ブタ‐２‐エン‐１，４‐ジオール（０．９３ｍｌ、１１．３ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（１．６ｍＬ、１１．５ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５０ｍｌ）溶液を、塩化ピバロイル（１．４ｍｌ、１１．４ｍｍｏｌ）と２分以上かけてシリンジを使用して滴下しながら処理した。１時間後、ＴＬＣは良好な反応結果を示した。生成した混合物を水の添加により分割した。抽出して有機層を分離し、乾燥して（$MgSO_4$）、真空下で濃縮した。ＴＬＣ（Ｒｆ＝０．６、１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）により、この粗製化合物は出発原料であるジオールを含有しないことがわかり、粗製のまま

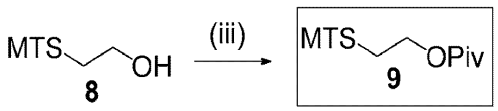
使用してメシラートを調製した。その粗製物質を、トリエチルアミン（１．７ｍＬ、１２ｍｍｏｌ）を含有するＤＣＭ（５０ｍｌ）に入れ、氷浴上で冷却した。メタンスルホニルクロリド（０．９８ｍｌ、１２．６６ｍｍｏｌ）を、シリンジを使用して２分以上かけて滴下した。添加直後のＴＬＣは、出発物質が完全に消費されたことを示した。生成した混合物を水の添加により分割した。抽出して有機層を分離し、乾燥して（$MgSO_4$）、真空下で濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物６を無色油状物質として得た（１．４８ｇ、５２％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５．８９‐５．７５（ｍ、２Ｈ）、４．８９‐４．８４（ｄ、Ｊ＝５．７Ｈｚ、２Ｈ）、４．６８‐４．６３（ｄ、Ｊ＝５．９Ｈｚ、２Ｈ）、３．０３（ｓ、３Ｈ）、１．１９（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７８．２８、１３０．６１、１２６．１１、６５．０８、５９．６５、３８．８４、３８．２１、２７．２５；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋NH_4）$^+$：２６８．１２、実測値：２６８．２０；R_f＝０．３（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１３０１】

化合物７：メタンスルホノチオ酸ナトリウム（０．６３ｇ、４．７０ｍｍｏｌ）およびピバル酸（Ｚ）‐４‐（メチルスルホニルオキシ）ブタ‐２‐エニル（１．００ｇ、４．００ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（１０ｍｌ）溶液を室温で１８時間撹拌し、白色沈殿が形成した（１０分後）。生成した混合物を水およびＤＣＭの添加により分割した。ＤＣＭで抽出して有機層を分離し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより化合物７を無色油状物質として得た（０．８３ｇ、７８％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５．８２‐５．７３（ｍ、２Ｈ）、４．７３‐４．６６（ｍ、２Ｈ）、３．９５‐３．８７（ｍ、２Ｈ）、３．３２（ｓ、３Ｈ）、１．１９（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７８．３５、１２９．３７、１２７．３２、５９．５０、５１．４４、３８．８４、３３．６１、２７．２８；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋NH_4）$^+$：２８４．１０、実測値：２８４．１９；R_f＝０．４（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物９の合成

【化３５６】

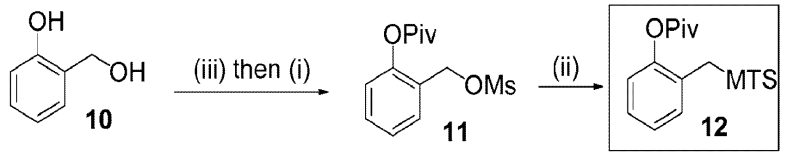


【１３０２】

化合物９：塩化ピバロイル（０．６０ｇ、５．０ｍｍｏｌ）を、メタンスルホノチオ酸Ｓ‐２‐ヒドロキシエチル（０．６５ｇ、４．１６ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２０ｍｌ）溶液に、撹拌しながら滴下した。室温で２時間後、白色沈殿を有する生成した混合物を水で分割した。有機層を分離し、乾燥し（Na_2SO_4）、ろ過し、濃縮して油状物質を得た。カラムクロマトグラフィーにより化合物９を無色油状物質として得た（０．４５ｇ、４５％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ４．３９‐４．３４（ｔ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、２Ｈ）、３．４４‐３．３９（ｔ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、２Ｈ）、３．３６（ｓ、３Ｈ）、１．２０（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ６２．１０、５１．１１、３８．９６、３５．１９、２７．２４；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋NH_4）$^+$：１５８．０８、実測値：１５８．０４；R_f＝０．３（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物１２の合成

【化３５７】



【１３０３】

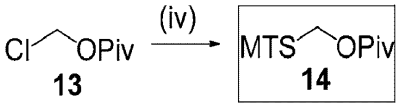
化合物１１：塩化ピバロイル（４．９６ｍｌ、４０．３ｍｍｏｌ）を、氷冷した２‐ヒドロキシメチルフェノール（５ｇ、４０．３ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（５．６１ｍｌ、４０．３ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５０ｍＬ）溶液に、シリンジを使用して滴下した。氷冷した粗製のピバル酸エステル溶液を、トリエチルアミン（６．７４ｍｌ、４８．４ｍｍｏｌ）および５０ｍＬのＤＣＭで処理した。次にメタンスルホニルクロリド（３．４３ｍｌ、４４．３ｍｍｏｌ）を、シリンジを使用してゆっくり加え（５分）、生成した混合物を室温まで温めた。混合物を氷上に注ぎ、有機層を分離し、次に飽和ＮａＨＣＯ$_3$（ａｑ）で洗浄し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過し、濃縮して１０．５ｇの淡黄色の粗製油状物質を得た。カラムクロマトグラフィー（ＩＳＣＯ）により純粋な化合物１１を得た（５．４５ｇ、４７％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ７．５３‐７．４６（ｄｄ、７．７、１．８Ｈｚ、１Ｈ）、７．４６‐７．４０（ｄｔ、７．７、１．８Ｈｚ、１Ｈ）、７．３２‐７．２４（ｔ、７．７Ｈｚ、１Ｈ）、７．１３‐７．０６（ｄ、７．７Ｈｚ、１Ｈ）、５．２１（ｓ、２Ｈ）、２．７９（ｓ、３Ｈ）、１．４０（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７７．０５、１５０．０６、１３１．１８、１３１．０７、１２６．３５、１２５．９４、１２３．２１、６６．８８、３９．４８、３８．８２、２７．３０、２７．２６；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_4$）$^+$：３０４．１２、実測値：３０３．９９；Ｒ$_f$＝０．４（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１３０４】

化合物１２：メタンスルホノチオ酸ナトリウム（０．８２５ｇ、６．１５ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（２０ｍＬ）溶液を、ピバル酸２‐（（メチルスルホニルオキシ）メチル）フェニル（１．７６ｇ、６．１５ｍｍｏｌ）で室温にて処理し、１８時間撹拌した。混合物を水とＤＣＭ間で分割した。有機層を分離し、乾燥して（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過し、濃縮して無色油状物質を得た。カラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物１２を薄い無色油状物質として得た（０．７５４ｇ、４１％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ７．４８‐７．４４（ｄｄ、Ｊ＝７．７、１．７Ｈｚ、１Ｈ）、７．３９‐７．３４（ｔｄ、Ｊ＝７．８、１．７Ｈｚ、１Ｈ）、７．２５‐７．２０（ｔｄ、Ｊ＝７．６、１．２Ｈｚ、１Ｈ）、７．１０‐７．０６（ｄｄ、Ｊ＝８．２、１．２Ｈｚ、１Ｈ）、４．２９（ｓ、２Ｈ）、２．９０（ｓ、３Ｈ）、１．３９（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７６．６９、１４９．５９、１３１．１７、１２９．８５、１２７．４１、１２６．１８、１２３．４０、５１．４３、３９．４７、３６．０１、２７．３０；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_4$）$^+$：３２０．１０、実測値：３２０．０９；Ｒ$_f$＝０．４（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物１４の合成

【化３５８】

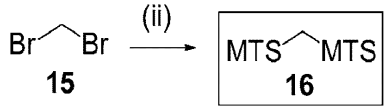


【１３０５】

化合物１４：ピバル酸クロロメチル（０．４７８ｍｌ、３．３２ｍｍｏｌ）を、アセトン（７ｍｌ）中のヨウ化ナトリウム（０．０５０ｇ、０．３３ｍｍｏｌ）およびメタンスルホノチオ酸ナトリウム（０．４４５ｇ、３．３２ｍｍｏｌ）の混合物に、撹拌しながら室温で加えた。２４時間後、ＴＬＣは生成物への良好な変換を示した。溶媒を除去し、残渣を水およびＤＣＭ間で分割した。有機層を分離し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、濃縮して無色油状物質を得た。カラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物１４をわずかにピンク色の固体として得た（０．４１ｇ、５５％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５．６７（ｓ、２Ｈ）、３．３９（ｓ、３Ｈ）、１．２４（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７７．３５、６７．８４、５２．２０、３８．９３、２７．０５；R_f＝０．５（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物１６の合成

【化３５９】

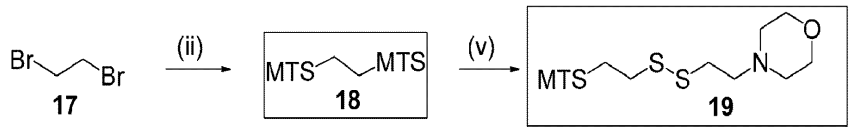


【１３０６】

化合物１６：米国特許第３，４８４，４７３号において以前に記載の通り、化合物１５およびＮａＭＴＳより調製した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ４．８６（ｓ、２Ｈ）、３．４５（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５２．１５、４１．５０。

化合物１８および１９の合成

【化３６０】



【１３０７】

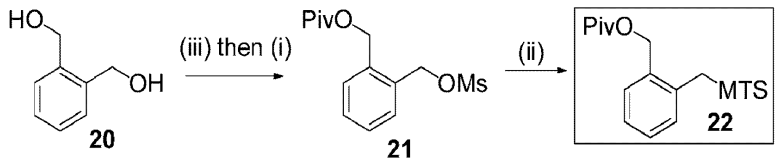
化合物１８：以前に記載の通り、化合物１７およびＮａＭＴＳより調製した：Chem. Pharm. Bull. Vol. 12(11) p. 1271, 1964。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ３．５５（ｓ、４Ｈ）、３．４０（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ５０．６７、３５．９６。

【１３０８】

化合物１９：２‐モルホリノエタンチオール（０．１７ｇ、１．２ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１ｍＬ）溶液を、化合物１８（３００ｍｇ、１．２ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１０ｍＬ）溶液に、撹拌しながら、室温でシリンジを使用して滴下した。添加直後、ＴＬＣは生成物およびいくらかの２量体の急速な形成を示した。０．５時間後、混合物を$NaHCO_3$溶液の添加により分割した。抽出して有機層を分離し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、真空下で濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物１９を無色油状物質として得た（０．２０ｇ、５３％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ３．７３‐３．６７（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、４Ｈ）、３．５１‐３．４６（ｍ、２Ｈ）、３．３５（ｓ、３Ｈ）、３．０７‐３．０１（ｍ、２Ｈ）、２．８８‐２．８３（ｍ、２Ｈ）、２．６９‐２．６３（ｍ、２Ｈ）、２．５２‐２．４３（ｔ、Ｊ＝４．６Ｈｚ、４Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ６６．９６、５７．９１、５３．５８、５０．７９、３７．６６、３６．１０、３５．５２；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：３１８．０３、実測値：３１８．０４；R_f＝０．３（ＥｔＯＡｃ）。

化合物２２の合成

【化３６１】



【１３０９】

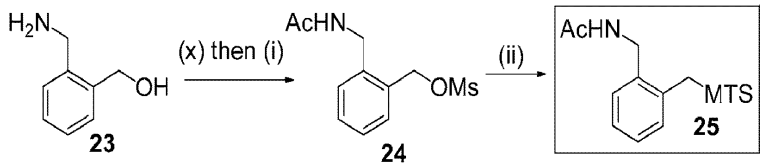
化合物２１：化合物１１について記載した手順と類似の手順により、化合物２０を化合物２１に変換した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．４５‐７．３６（ｍ、４Ｈ）、５．３７（ｓ、２Ｈ）、５．２１（ｓ、２Ｈ）、２．９３（ｓ、３Ｈ）、１．２１（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１７８．２０、１３５．６５、１３１．９２、１３０．４８、１２９．９８、１２９．７８、１２８．８８、６９．０５、６３．３９、３８．９４、３８．３６、２７．２７；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_{4}$）$^{+}$：３１８．２４、実測値：３１８．１４；Ｒ$_{f}$＝０．４（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１３１０】

化合物２２：化合物１２について記載した手順と類似の手順により、化合物２１を化合物２２に変換した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．４６‐７．３２，（ｍ、４Ｈ）、５．２１（ｓ、２Ｈ）、４．５０（ｓ、２Ｈ）、３．０３（ｓ、３Ｈ）、１．２１（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１７８．２４、１３５．１０、１３３．１５、１３０．９３、１３０．３２、１２９．０５、１２９．００、６３．６１、５１．０７、３８．９７、３８．０３、２７．３０；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_{4}$）$^{+}$：３３４．１１、実測値：３３４．１３；Ｒ$_{f}$＝０．４（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物２５の合成

【化３６２】



【１３１１】

化合物２３：化合物２３は、文献の方法（Journal of Medicinal Chemistry、50(23)、5568-5570、2007）に従って調製する。

【１３１２】

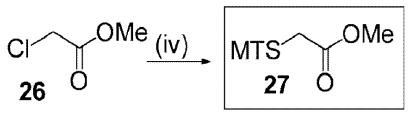
化合物２４：氷冷した化合物２３（１ｍｍｏｌ）のピリジン（１０ｍＬ）溶液を塩化アセチル（１ｍｍｏｌ）と滴下しながら処理し、次に５分後、続いてＭｓＣｌ（１．１ｍｍｏｌ）と滴下しながら処理する。溶液を室温まで温め、次に溶媒を除去する。残渣をＥｔＯＡｃに溶解し、水で洗浄し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_{4}$）、ろ過して、真空下で濃縮する。カラムクロマトグラフィーにより精製して、純粋な化合物２４を得る。

【１３１３】

化合物２５：化合物１２について記載した手順と類似の手順により、化合物２４を化合物２５に変換する。

化合物２７の合成

【化３６３】

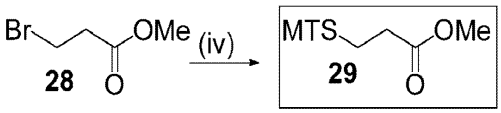


【１３１４】

化合物２７：化合物１４について記載した手順と類似の手順により、化合物２６を化合物２７に変換した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ３．９７（ｓ、２Ｈ）、３．７９（ｓ、３Ｈ）、３．４８（ｓ、３Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１６８．８４、５３．３５、５１．５３、３７．８３；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_{4}$）$^{+}$：２０２．０２、実測値：２０１．９６；Ｒ$_{f}$＝０．２（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物２９の合成

【化３６４】

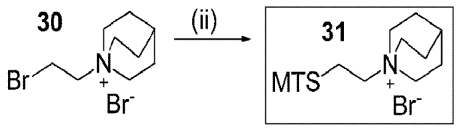


【１３１５】

化合物２９：化合物１４について記載した手順と類似の手順により、化合物２８を化合物２９に変換した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ３．７２（ｓ、３Ｈ）、３．３９（ｔ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、２Ｈ）、３．３４（ｓ、３Ｈ）、２．８５（ｔ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、２Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１７１．５３、５２．２９、５０．６６、３４．５１、３１．２０；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_{4}$）$^{+}$：２１６．１０、実測値：２１６．０４；Ｒ$_{f}$＝０．２（２０％　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物３１の合成

【化３６５】



【１３１６】

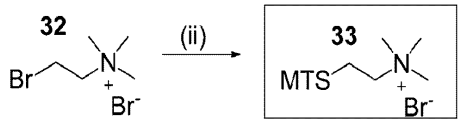
化合物３０：化合物３０は、文献の方法（Tetrahedron、42(2)、601-607；1986）に従って調製する。

【１３１７】

化合物３１：化合物３１は、特許の手順（米国特許第２００９０１８１４４４号）に従って、化合物３０より調製する。

化合物３３の合成

【化３６６】

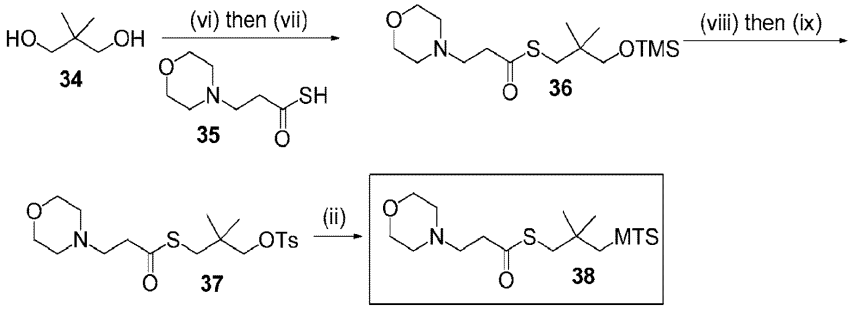


【１３１８】

化合物３３：化合物３３は、特許の手順（米国特許第２００９０１８１４４４号）に従って、化合物３２より調製する。

化合物３８の合成

【化３６７】



【１３１９】

化合物３６：氷冷した化合物３４（１ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２０ｍＬ）溶液をNEt_3（１ｍｍｏｌ）で処理し、その後ＴＭＳ‐Ｃｌ（１．１ｍｍｏｌ）を滴下する。１時間後、この溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。ＴＭＳで保護したこの粗製物質をＴＨＦ（１０ｍＬ）に再溶解し、そこへPPh_3（１．２ｍｍｏｌ）、化合物３５（１．２ｍｍｏｌ）、次にＤＥＡＤ（１．２ｍｍｏｌ、滴下しながら）を続けて加える。室温で１８時間撹拌後、溶媒を真空下で除去し、残渣をＤＣＭに再溶解し、その溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。カラムクロマトグラフィーによる精製により、純粋な化合物３６を得る。

【１３２０】

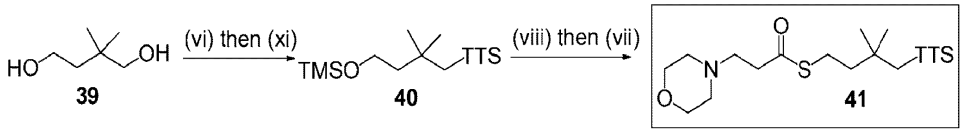
化合物３７：化合物３６（０．５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１０ｍＬ）溶液を、ＴＬＣによりモニターしながら、ＴＢＡＦ（１ＭのＴＨＦ溶液の１ｍｍｏｌ）で処理する。ＴＭＳ開裂が完了したら溶媒を真空下で除去し、残渣をＤＣＭに再溶解し、その溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。粗製アルコールをピリジン（５ｍＬ）に再溶解し、ＴｓＣｌ（０．５５ｍｍｏｌ）を加える。室温で１８時間後、溶媒を除去し、残渣をＤＣＭに再溶解し、その溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。カラムクロマトグラフィーによる精製により化合物３７を得る。

【１３２１】

化合物３８：化合物１２について記載した手順と類似の手順により、化合物３７を化合物３８に変換する。

化合物４１の合成

【化３６８】



【１３２２】

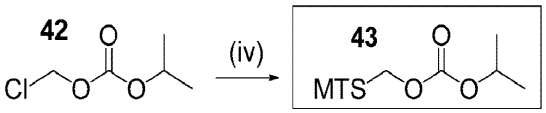
化合物４０：氷冷した化合物３９（１ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２０ｍＬ）溶液をNEt_3（１ｍｍｏｌ）で処理し、その後ＴＭＳ‐Ｃｌ（１．１ｍｍｏｌ）を滴下する。１時間後、この溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。ＴＭＳで保護したこの粗製物質をＴＨＦ（１０ｍＬ）に再溶解し、そこへPPh_3（１．２ｍｍｏｌ）、ｐ‐トルエンチオスルホン酸カリウム（ＫＴＴＳ、１．２ｍｍｏｌ）、無水$ZnCl_2$（１ｍｍｏｌ）、次にＤＥＡＤ（１．２ｍｍｏｌ、滴下しながら）を続けて加える。室温で１８時間撹拌後、溶媒を真空下で除去し、残渣をＤＣＭに再溶解し、その溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。カラムクロマトグラフィーによる精製により、純粋な化合物４０を得る。

【１３２３】

化合物４１：化合物４０（０．５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１０ｍＬ）溶液を、ＴＬＣによりモニターしながら、ＴＢＡＦ（１ＭのＴＨＦ溶液の１ｍｍｏｌ）で処理する。ＴＭＳ開裂が完了したら溶媒を真空下で除去し、残渣をＤＣＭに再溶解し、その溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。粗製アルコールをＴＨＦ（１０ｍＬ）に再溶解し、そこへPPh_3（１．２ｍｍｏｌ）、化合物３５（１．２ｍｍｏｌ）、次にＤＥＡＤ（１．２ｍｍｏｌ、滴下しながら）を続けて加える。室温で１８時間撹拌後、溶媒を真空下で除去し、残渣をＤＣＭに再溶解し、その溶液を水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮する。カラムクロマトグラフィーによる精製により化合物４１を得る。

化合物４３の合成

【化３６９】

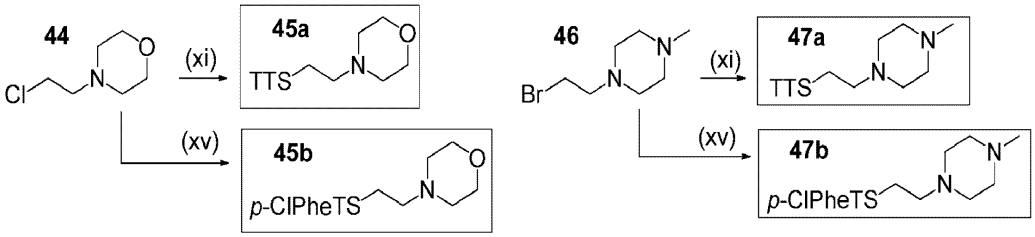


【１３２４】

化合物４３：化合物１４について記載した手順と類似の手順により、化合物４２を化合物４３に変換する。

化合物４５ａ、４５ｂ、４７ａおよび４７ｂの合成

【化３７０】



【１３２５】

化合物４５ａ：４‐（２‐クロロエチル）モルホリン塩酸塩（化合物４４）（５０ｇ、２６９ｍｍｏｌ）、ヨウ化ナトリウム（４．０３ｇ、２６．９ｍｍｏｌ）および４‐メチルベンゼンスルホノチオ酸カリウム（７３．０ｇ、３２２ｍｍｏｌ）の混合物をＭｅＯＨ（２００ｍｌ）中で撹拌し、６０℃で７２時間にわたり加熱した。淡黄色の混合物を冷却し、２００ｍＬの水で希釈し、０．５時間撹拌後、次に白色固体をろ過により回収し、水（１００ｍＬ）、ＩＰＡ（２００ｍＬ）、ＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）およびエーテル（２００ｍＬ）で洗浄した。乾燥質量＝６８ｇであった。この微結晶性粉末を９０℃の水（２００ｍＬ）から再結晶し、室温で一晩静置後、この結晶塊をろ過により回収した（６４ｇ、７１％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８３（ｄ、Ｊ＝８．４Ｈｚ、２Ｈ）、７．３６（ｄ、Ｊ＝８．４Ｈｚ、２Ｈ）、３．６７（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、４Ｈ）、３．１６（ｔ、Ｊ＝６．９Ｈｚ、２Ｈ）、２．６４（ｔ、Ｊ＝６．９Ｈｚ、２Ｈ）、２．４７（ｓ、３Ｈ）、２．４１（ｔ、Ｊ＝４．４Ｈｚ、４Ｈ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４４．８２、１４１．９９、１２９．９５、１２７．１４、６６．８５、５６．５４、５３．１８、３３．４４、２１．７８；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：３０２．０８、実測値：３０２．２２。

【１３２６】

化合物４５ｂ：化合物４５ａについて記載の方法と類似の方法で、４‐メチルベンゼンスルホノチオ酸カリウムを４‐クロロベンゼンスルホノチオ酸カリウムに置き換えて化合物４５ｂを合成した。（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：３２４．０３、３２２．０４、実測値：３２４．２２、３２２．２０（^{37}Ｃｌ、^{35}Ｃｌ同位元素パターン）。

【１３２７】

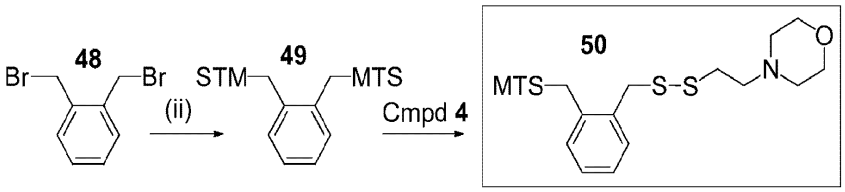
化合物４７ａ：化合物４５ａについて記載の方法と類似の方法で、４‐（２‐クロロエチル）モルホリン塩酸塩を４‐（２‐ブロモエチル）‐Ｎ‐メチルピペラジン臭化水素酸塩（化合物４６）に置き換えて化合物４７ａを合成した。ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：３１５．１２、実測値：３１５．０７。

【１３２８】

化合物４７ｂ：化合物４５ａについて記載の方法と類似の方法で、４‐（２‐クロロエチル）モルホリン塩酸塩を４‐（２‐ブロモエチル）‐Ｎ‐メチルピペラジン臭化水素酸塩で置き換え、かつ４‐メチルベンゼンスルホノチオ酸カリウムを４‐クロロベンゼンスルホノチオ酸カリウムに置き換えて化合物４７ｂを合成する。

化合物５０の合成

【化３７１】



【１３２９】

化合物４９：化合物４８（５００ｍｇ、１．８９４ｍｍｏｌ）およびメタンスルホノチオ酸ナトリウム（５３４ｍｇ、３．９８ｍｍｏｌ）の混合物をアセトン（１０ｍｌ）に溶解し、室温で４時間撹拌した。ＴＬＣは、完全に反応したことを示した。溶媒を除去し、次に混合物を水およびＤＣＭの添加により分割した。抽出して有機層を分離し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_{4}$）、ろ過して、真空下で濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより純粋な生成物を無色固体として得た（０．６０ｇ、９７％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．４７（ｄｄ、Ｊ＝５．５、３．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．３８（ｄｄ、Ｊ＝５．５、３．５Ｈｚ、２Ｈ）、４．５５（ｓ、４Ｈ）、３．１３（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１３３．４１、１３１．７５、１２９．５１、５１

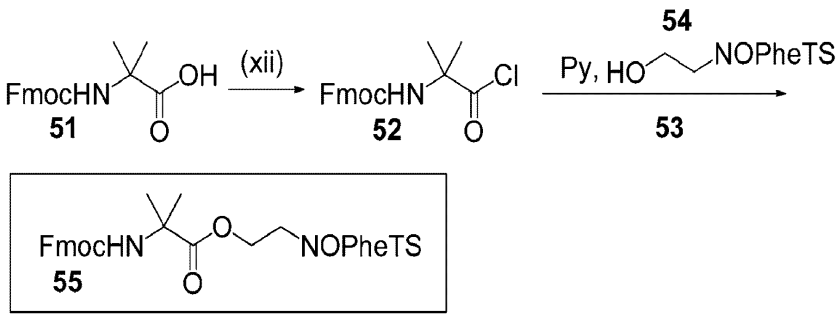
．０２、３７．０９；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋ＮＨ$_4$）$^+$：３４４．０１、実測値：３４４．０１；Ｒ$_f$＝０．５（１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１３３０】

化合物５０：化合物４（１８０ｍｇ、１．２２５ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２ｍＬ）溶液を、化合物４９（４００ｍｇ、１．２２５ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２０ｍＬ）溶液に、撹拌しながら、室温でシリンジを使用して滴下した。０．５時間後、混合物をＮａＨＣＯ$_3$の添加により分割した。抽出して有機層を分離し、次に乾燥し（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過して、真空下で濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより生成物を無色油状物質として得た（１７０ｍｇ、３５％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ７．４３‐７．３９（ｍ、１Ｈ）、７．３５‐７．２７（ｍ、３Ｈ）、４．５４（ｓ、２Ｈ）、４．０３（ｓ、２Ｈ）、３．６７（ｔ、Ｊ＝４．６Ｈｚ、４Ｈ）、３．０５（ｓ、３Ｈ）、２．５８‐２．５０（ｍ、４Ｈ）、２．３８（ｔ、Ｊ＝４．６Ｈｚ、４Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１３６．０９、１３３．２０、１３１．８７、１３１．２１、１２８．８６、１２８．５４、６６．９５、５７．９５、５３．５２、５１．０４、４０．８１、３８．１８、３５．８２；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）：３９４．０６、実測値：３９４．２３；Ｒ$_f$＝０．５（ＥｔＯＡｃ）。

化合物５５の合成

【化３７２】



【１３３１】

化合物５４：ＤＣＭ（５０ｍＬ）中の臭素（０．２４６ｍｌ、４．７８ｍｍｏｌ）を、ＤＣＭ（５０ｍＬ）中の４‐ニトロベンゼンスルフィン酸ナトリウム（２ｇ、９．５６ｍｍｏｌ）および２‐ヒドロキシエチルジスルフィド（０．５８５ｍｌ、４．７８ｍｍｏｌ）の混合物に、撹拌しながら、室温で０．５時間かけて滴下した。室温で２時間後、混合物をろ過して塩を除去した。溶媒を除去し、その後カラムクロマトグラフィーによるカラム精製により、生成物を無色油状物質として得た（２．１ｇ、８３％）。Ｒｆ＝０．４（１：１　ＥＡ／ヘキサン。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ８．４１（ｄ、Ｊ＝８．８Ｈｚ、２Ｈ）、８．１３（ｄ、Ｊ＝８．８Ｈｚ、２Ｈ）、３．８９（ｔ、Ｊ＝５．８Ｈｚ、２Ｈ）、３．２３（ｔ、Ｊ＝５．８Ｈｚ、２Ｈ）、２．０２‐１．９４（ｓ、ｂｒ、１Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１４９．７３、１２８．４０、１２４．８２、６０．９４、３９．２８。

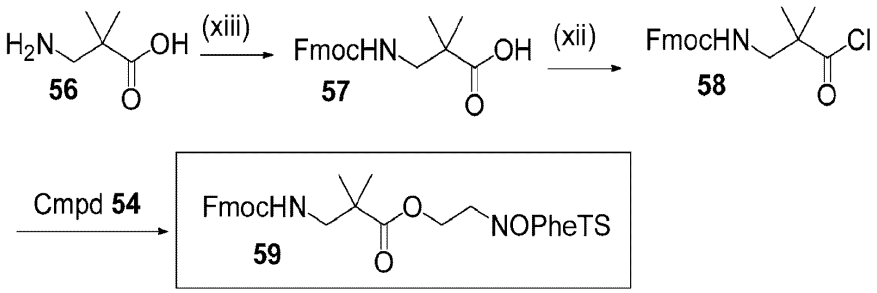
【１３３２】

化合物５５：ＤＣＭ（５０ｍＬ）中の化合物５１（１ｇ、３．０７ｍｍｏｌ）を、二塩化オキサリル（０．５２７ｍｌ、６．１５ｍｍｏｌ）と滴下しながら処理し、室温で撹拌した。反応中、均一な無色液体が形成した。室温で１時間後、溶媒を真空下で除去した。白色残渣（粗製の酸塩化物、化合物５２）をＤＣＭ（２０ｍＬ）に再溶解し、化合物５４（０．４８ｇ、３．１ｍｍｏｌ）のピリジン（２０ｍＬ）溶液に、撹拌しながら加えた。１８時間後、反応が完了したと判断した。溶媒を除去した。残渣をトルエンに再溶解し、水で分割した。トルエン抽出物を回収し、飽和食塩水で洗浄し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過して、濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物５５を無色固体とし

て得た（０．８６ｇ、６０％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．３１（ｄ、Ｊ＝８．９Ｈｚ、２Ｈ）、８．０３（ｄ、Ｊ＝８．９Ｈｚ、２Ｈ）、７．７（ｄ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．５８（ｄ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．４２（ｔ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．３２（ｄｔ、Ｊ＝７．５、１．２Ｈｚ、２Ｈ）、５．２２（ｓ、ｂｒ、１Ｈ）、４．３４（ｓ、ｂｒ、４Ｈ）、４．１９（ｔ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．２３（ｔ、Ｊ＝６．０Ｈｚ、２Ｈ）、４．１７（ｓ、ｂｒ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１７３．９１、１５５．１０、１５０．６０、１４９．５３、１４３．８５、１４１．４２、１２８．２７、１２８．２０、１２７．９１、１２７．２２、１２７．１８、１２５．１２、１２４．８４、１２０．１７、６６．８１、６２．６０、５６．４０、４７．２５、３４．７６、２５．３７；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：５７１．１１、実測値：５７１．００；Ｒ$_{f}$＝０．５（ＥｔＯＡｃ）。

化合物５９の合成

【化３７３】



【１３３３】

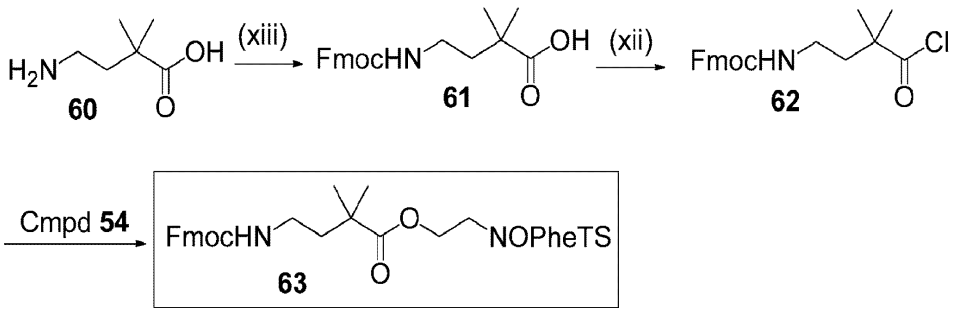
化合物５７：化合物５７は、ピリジン中の１．５当量のＦｍｏｃ‐ＯＳｕと室温で１８時間反応させることにより、化合物５６（１ｍｍｏｌ）から調製する。水で分離し、次にカラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物５７を得る。

【１３３４】

化合物５９：化合物５５について記載した手順と類似の手順により、化合物５９を化合物５７から調製する。

化合物６３の合成

【化３７４】



【１３３５】

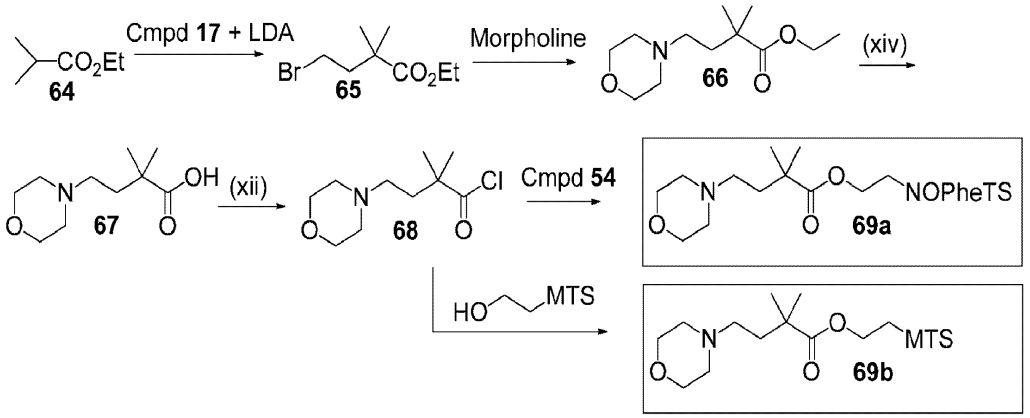
化合物６１：化合物５７について記載した手順と類似の手順により、化合物６１を化合物６０から調製する。

【１３３６】

化合物６３：化合物５５について記載した手順と類似の手順により、化合物６３を化合

物６１から調製する。

化合物６９の合成
【化３７５】



【１３３７】
化合物６５：イソ酪酸エチル（１１．６ｇ、１００ｍｍｏｌ）を、冷却した（－７８℃）ＬＤＡのＴＨＦ溶液（５３ｍＬ、２Ｍ）に０．５時間かけて加えた。次にオレンジ色の混合物を０℃まで短時間温め、－７８℃に再冷却した。次に１，２‐ジブロモエタン（２０ｇ、１０６ｍｍｏｌ）を０．５時間かけて加え、この溶液をゆっくり室温まで温め、一晩撹拌した。生成した混合物を水およびＥＡの添加により分割した。ＥＡに抽出し、飽和食塩水で洗浄し、オレンジ色の層を分離し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、真空下で濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより純粋な生成物を無色油状物質として得た（６．０ｇ、２５％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ４．１５（ｑ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、２Ｈ）、３．３５（ｔ、Ｊ＝８．４Ｈｚ、２Ｈ）、２．１６（ｔ、Ｊ＝８．４Ｈｚ、２Ｈ）、１．２７（ｔ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、３Ｈ）、１．２２（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７６．７８、６０．８３、４３．８３、４２．８９、２８．４５、２５．２０、１４．３２；R_f＝０．５（５％ ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。
【１３３８】
化合物６６：ＴＨＦ（２０ｍｌ）中の化合物６５（３．４ｇ、１５．２４ｍｍｏｌ）およびモルホリン（１３．２８ｇ、１５２ｍｍｏｌ）の混合物を、ガラス圧力容器内で、５０℃で７２時間にわたり加熱した。白色沈殿の形成を観察した。混合物を水およびＥＡ間で分割した。ＥＡ抽出物を乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより生成物を無色液体として得た（３．５ｇ、１００％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ４．１１（ｑ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、２Ｈ）、３．６７（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、４Ｈ）、２．４１（ｔ、ｂｒ、Ｊ＝４．０Ｈｚ、４Ｈ）、２．３０‐２．２６（ｍ、２Ｈ）、１．７４‐１．７０（ｍ、２Ｈ）、１．２３（ｔ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、３Ｈ）、１．１７（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７７．６９、６７．１１、５５．１５、５４．０２、４１．１０、３７．０４、２５．４９、１４．３５；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：２３０．１８、実測値：２３０．３３；R_f＝０．５（５％ ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。
【１３３９】
化合物６７：化合物６６（１２０ｍｇ、０．５２３ｍｍｏｌ）および水酸化ナトリウム（１２０ｍｇ、３．００ｍｍｏｌ）を、１：１のＥｔＯＨ／H_2O（１０ｍＬ）中で一緒に撹拌した。３６時間後、濃ＨＣｌの添加により溶液のｐＨを約２に調整し、次にｐＨが約１０になるまでNEt_3を加えた。SiO_2（２ｇ）を加え、溶媒／水を蒸発させた。乾式充填（ＤＣＭ中の２％NEt_3を有するＭｅＯＨ／ＤＣＭ）したカラムクロマトグラ

フィーにより、生成物を部分（約１／３ｍｏｌ　当量）ＨＮＥｔ$_3$塩として得た。調整収量は１０３ｍｇ、８４％であった。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$および３滴のＤＭＳＯ－ｄ６）δ３．６２（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、４Ｈ）、２．５１‐２．４６（ｂｒ、４Ｈ）、２．４０（ｔ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、２Ｈ）、１．６２（Ｊ＝７．１Ｈｚ、２Ｈ）、１．０８（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７９．９１、６５．９１、５４．２９、５２．８７、４５．４４、４１．３７、３５．０９、２５．９３、８．５６；ＭＳ（ＥＳＩ－ｖｅ）：計算値（Ｍ－Ｈ）$^-$：２００．１３、実測値：２００．１６；Ｒ$_f$＝０．５（２％ＮＥｔ$_3$／１０％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）。

【１３４０】

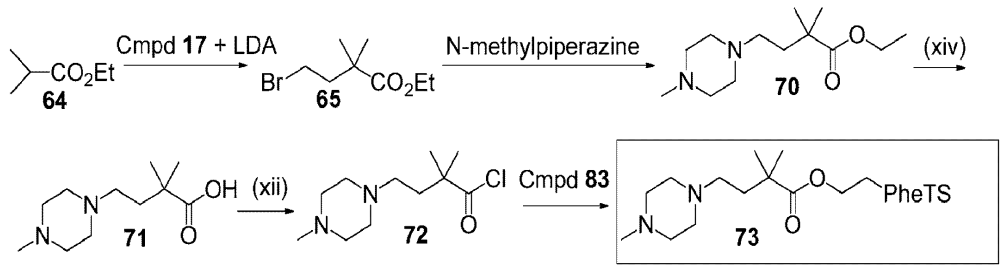
化合物６９ａ：ＤＣＭ（２００ｍＬ）中の化合物６７（１１ｇ、５４．９ｍｍｏｌ）の懸濁液を、塩化オキサリル（９．４２ｍｌ、１１０ｍｍｏｌ）で処理し、室温で撹拌した。反応中、均一な無色溶液が形成した。室温で１時間後、溶媒を減圧下で除去した。黄色残渣を、ＤＣＭ（２００ｍＬ）およびＰｙ（１００ｍＬ）の混合物中で懸濁させ、次にＳ‐２‐ヒドロキシエチル化合物５４（１５．９１ｇ、６０．４ｍｍｏｌ）（ＤＢ‐７‐５）を全て一度に加え、反応をＨＰＬＣ／ＭＳによりモニターした。１８時間後、ＭＳおよびＴＬＣにより反応が実質的に完了したと判断した。溶媒を除去し、次に残渣をＤＣＭ／炭酸水素塩に再溶解した。ひとつにまとめた有機物を乾燥し（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過して、濃縮した。カラムクロマトグラフィーによる精製により、１２．５ｇ、５１％の化合物６９ａを黄色油状物質として得た。この油状物質は静置して結晶化した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ８．４１（ｄ、Ｊ＝８．５Ｈｚ、２Ｈ）、８．１３（ｄ、Ｊ＝８．５Ｈｚ、２Ｈ）、４．２７（ｔ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、２Ｈ）、３．６５（ｔ、Ｊ＝４．６Ｈｚ、４Ｈ）、３．２８（ｔ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、２Ｈ）、２．４０（ｓ、ｂｒ、４Ｈ）、２．２７（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、１．７１（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、１．１４（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７７．１１、１５０．７１、１４９．６９、１２８．３４、１２４．９２、６６．９６、６１．６６、５４．９５、５３．９２、４１．２５、４６．８１、３５．１１、２５．３６；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：４４７．１２、実測値：４４６．９８。

【１３４１】

化合物６９ｂ：ＤＣＭ（１２ｍＬ）中の化合物６７（１２８ｍｇ、０．６３６ｍｍｏｌ）の懸濁液を、塩化オキサリル（５４５μｌ、６．３６ｍｍｏｌ）と滴下しながら処理し、室温で撹拌した。反応中、均一な無色溶液が形成し、この溶液はすぐに無色沈殿を析出した。Ｎ‐プロピルアミドへの変換により示されるように、ＨＰＬＣ／ＭＳは酸塩化物（化合物６８）への良好な変換を示した。溶媒を減圧下で除去した。白色残渣を氷浴上で冷却し、メタンスルホノチオ酸Ｓ‐２‐ヒドロキシエチル（化合物５４）（９９ｍｇ、０．６３６ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１２ｍＬ）溶液で処理し、その後撹拌しながらヒューニッヒ塩基（０．３４ｇ、２．６ｍｍｏｌ、４ｅｑ）を滴下した。１．５時間後、溶液を希釈したＮａＨＣＯ$_3$（ａｑ）で洗浄した。ひとつにまとめた抽出物を乾燥し（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過して、濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより、生成物を無色油状物質として得た（８４ｍｇ、３９％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ４．４０（ｔ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、２Ｈ）、３．７０（ｔ、Ｊ＝４．６Ｈｚ、４Ｈ）、３．４４（ｔ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、２Ｈ）、３．３９（ｓ、３Ｈ）、２．４７‐２．４３（ｂｒ、４Ｈ）、２．３２（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、１．７７（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、１．６４‐１．５８（ｂｒ、４Ｈ）、１．２２（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７７．３０、６７．０８、６２．２７、５５．０３、５４．０１、５１．０７、４１．３２、３６．９９、３５．１４、２５．４４；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：３４０．１３、実測値：３４０．２７；Ｒ$_f$＝０．２（ＥｔＯＡｃ）。

化合物７３の合成

【化３７６】



【１３４２】

化合物７０：化合物７０は、化合物６６について記載した手順と類似の手順により、Ｎ－メチルピペラジンと化合物６５の反応により調製した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ４．１０（ｑ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、２Ｈ）、２．３－２．６（ｂｒ、８Ｈ）、２．２８（ｔ、Ｊ＝８．０Ｈｚ、２Ｈ）、２．２６（ｓ、３Ｈ）、１．７２（ｔ、Ｊ＝８．０Ｈｚ、２Ｈ）、１．２３（ｔ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、３Ｈ）、１．１５（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１７７．７１、６０．４４、５５．２７、５４．６４、５３．５０、４６．１８、４１．１５、３７．３６、２５．４７、１４．３４；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：２４３．２０、実測値：２４３．３１。

【１３４３】

化合物７１：化合物７１は、化合物６７について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物７０の加水分解により調製した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１２－１０（ｖｂｒ、１Ｈ）、３．２－２．２（ｖｂｒ、８Ｈ）、２．４４（ｔ、Ｊ＝８．０Ｈｚ、２Ｈ）、２．３６（ｓ、３Ｈ）、１．７１（ｔ、Ｊ＝８．０Ｈｚ、２Ｈ）、１．１７（ｓ、６Ｈ）、^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１８１．３６、５５．１８、５３．５１、５２．１８、４４．３１、４１．５７、３７．１９、２６．２８；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：２１５．１７、実測値：２１５．１９。

【１３４４】

化合物８３：ＤＣＭ（５０ｍＬ）中の臭素（２．５８ｍｌ、５０．０ｍｍｏｌ）を、ＤＣＭ（５０ｍＬ）中のベンゼンスルフィン酸ナトリウム（１６．４ｇ、１００ｍｍｏｌ）および２－ヒドロキシエチルジスルフィド（６．１１ｍｌ、４９．９ｍｍｏｌ）の混合物に、撹拌しながら、室温で０．５時間かけて滴下した。室温で２時間後、ＴＬＣが良好な反応（Ｒｆ＝０．４（１：１　ＥＡ／ヘキサン））を示したので、混合物をろ過して塩を除去した。溶媒を除去し、その後カラムクロマトグラフィーにより、生成物を無色油状物質として得た（１７．４ｇ、８０％）。

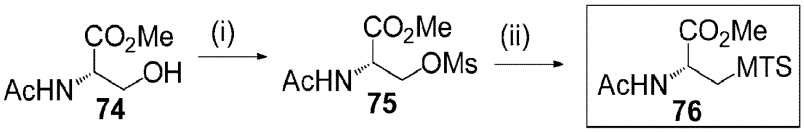
【１３４５】

化合物７３：ＤＣＭ（２０ｍＬ）中の化合物７１（１．３４２ｇ、６．２９ｍｍｏｌ）を、塩化オキサリル（１．０７９ｍｌ、１２．５８ｍｍｏｌ）で処理し、室温で撹拌した。反応中、淡黄色沈殿の形成を観察した。室温で０．５時間後、溶媒を減圧下で除去した。淡黄色残渣を、ＤＣＭ（２０ｍＬ）およびＰｙ（２０ｍＬ）の混合物中で懸濁させ、次に化合物８３（２．０６０ｇ、９．４４ｍｍｏｌ）を全て一度に加えた。１８時間後、ＴＬＣにより反応が完了したと判断した。溶媒を除去し、次に残渣を水に再溶解し、エーテルで洗浄した。水層を濃縮して茶色固体を得た。沸騰したＥｔＯＨ（１０ｍＬ）から再結晶して、わずかに不純物を含むＨＣｌ塩を得た。これを遊離塩基（ＤＣＭ中のＮＥｔ$_{3}$）にして、シリカゲルに直接充填した。カラムクロマトグラフィーにより、０．９５ｇ、３６％の純粋な化合物７３を得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．９６（ｄ、Ｊ＝８．０Ｈｚ、２Ｈ）、７．６８（ｔ、Ｊ＝７．２Ｈｚ、１Ｈ）、７．５９（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、４．２５（ｔ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、２Ｈ）、３．２５（ｔ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、２Ｈ）、２．８－２．３（ｖｂｒ、８Ｈ）、２．３６（ｓ、３Ｈ）、２．３３（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、１．７４（ｔ、Ｊ＝７．７Ｈｚ、２Ｈ）、１．１６

（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７７．１３、１４４．６８、１３４．０９、１２９．５９、１２７．０９、６１．９９、５４．８６、５４．３５、５２．８４、４５．９５、４５．７１、４１．２６、３７．０５、３４．６６、２５．３９；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：４１５．１７、実測値：４１５．０９。

化合物７６の合成

【化３７７】



【１３４６】

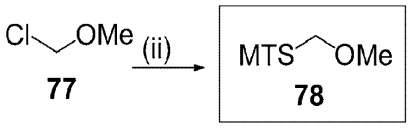
化合物７５：化合物２について記載した手順と類似の手順により、化合物７４を化合物７５に変換した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ６．４９‐６．４１（ｂｒ、ｄ、Ｊ＝６．３Ｈｚ、１Ｈ）、４．９１（ｄｔ、Ｊ＝６．３、２．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．５９（ｄｄｄ、Ｊ＝３１．４、１０．６、３．０Ｈｚ、２Ｈ）、３．８４（ｓ、３Ｈ）、３．０４（ｓ、３Ｈ）、２．０９（ｓ、３Ｈ）；１７０．２７、１６９．０５、６８．９０、５３．３３、５２．０３、３７．６３、２３．１６；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：２４０．０６、実測値：２４０．２４。

【１３４７】

化合物７６：化合物３について記載した手順と類似の手順により、化合物７５を化合物７６に変換した。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ６．５６‐６．４０（ｂｒ、ｄ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、１Ｈ）、４．９３（ｑ、Ｊ＝５．９Ｈｚ、１Ｈ）、３．８１（ｓ、３Ｈ）、４　３．７４（ｄｄ、Ｊ＝１４．６、４．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．５７（ｄｄ、Ｊ＝１４．６、５．６Ｈｚ、１Ｈ）、　３．３８（ｓ、３Ｈ）、２．０７（ｓ、３Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１７０．４４、１７０．１９、５３．２３、５２．０２、５０．７３、３７．７７、２３．１２；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：２５６．０３、実測値：２５６．２１。

化合物７８の合成

【化３７８】

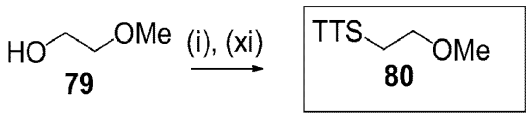


【１３４８】

化合物７７（２．４９ｍｌ、３２．８ｍｍｏｌ）およびメタンスルホノチオ酸ナトリウム（４．４ｇ、３２．８ｍｍｏｌ）の混合物をアセトン（８０ｍｌ）中で６時間にわたり撹拌した。アセトンをロータリーエバポレーションにより除去し、混合物をＤＣＭで破砕した。ろ過後、ＤＣＭを蒸発により除去し（粗収量５ｇ）、混合物をカラムクロマトグラフィーによる精製に付した。純粋な化合物７８の収量は２．８ｇ、５５％であり、無色油状物質で、Ｒｆ＝０．３（２０％ＥＡ／ヘキサン）であった。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ５．３０（ｓ、２Ｈ）、３．４８（ｓ、３Ｈ）、３．３８（ｓ、３Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ８０．０７、５７．４０、２２．７１。

化合物８０の合成

【化３７９】

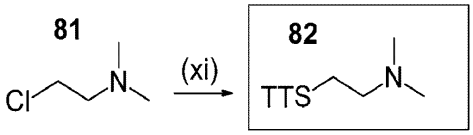


【１３４９】

氷冷した化合物７９（５ｇ、６５．７ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（１１ｍｌ、７９ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１５０ｍＬ）溶液を、メタンスルホニルクロリド（５．５９ｍｌ、７２．３ｍｍｏｌ）で２分かけて処理した。１時間後、ＴＬＣにより反応が完了したと判断した。水を加え、有機抽出物を希ＨＣｌ、飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で順次洗浄し、次に乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、濃縮した。生成物のメシラート（９．４ｇ、６１ｍｍｏｌ、９６％）をアセトンに入れ（２００ｍｌ）、次にトルエンチオスルフィン酸カリウム塩（６１ｍｍｏｌ）を加え、溶液を５０℃で１８時間にわたって撹拌した。粘稠な白色沈殿の形成を観察した。混合物をろ過し、濃縮して油状物質とし、次にＤＣＭ／水に抽出した。有機抽出物を乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより、純粋な化合物８０を無色油状物質として得た。この油状物質は静置して、結晶化した。Ｒｆ＝０．３（２０％ＥＡ／ヘキサン）。

化合物８２の合成

【化３８０】

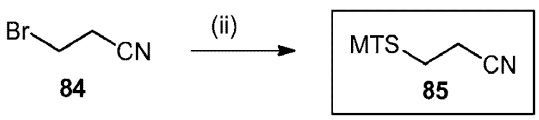


【１３５０】

２‐クロロ‐Ｎ，Ｎ‐ジメチルエタンアミン塩酸塩（１０ｇ、６９．４ｍｍｏｌ）、ヨウ化ナトリウム（１．０４１ｇ、６．９４ｍｍｏｌ）および４‐メチルベンゼンスルホノチオ酸カリウム（１８．８６ｇ、８３ｍｍｏｌ）の混合物をＭｅＯＨ（５０ｍｌ）中で撹拌し、６０℃で７２時間にわたり加熱した。水での後処理、その後カラムクロマトグラフィーにより、純粋な化合物８２を無色油状物質として得た（８．５ｇ、４７％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ７．８１（ｄ、Ｊ＝８．４Ｈｚ、２Ｈ）、７．３３（ｄｄ、Ｊ＝８．４、０．６Ｈｚ、２Ｈ）、３．０９（ｔ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、２Ｈ）、２．５３（ｔ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、２Ｈ）、２．４４（ｓ、３Ｈ）、２．１７（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１４４．７６、１４２．０３、１２９．９２、１２７．１８、５７．５１、４５．１４、３４．２９、２１．７７；ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：２６０．０７、実測値：２６０．１６。

化合物８５の合成

【化３８１】

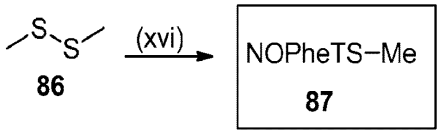


【１３５１】

メタンスルホン酸ナトリウム（１１．５ｇ、８６ｍｍｏｌ）を、乾燥した５０ｍＬの１口フラスコに入れた。乾燥したガラスシリンジを使用して、３０ｍＬの無水ＤＭＦ（アル

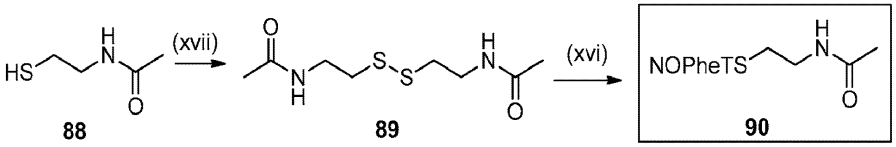
ドリッチ（Ａｌｄｒｉｃｈ））を加えた。乾燥したガラスシリンジを使用して、５ｍＬの３‐ブロモプロピオニトリル（化合物８４）（８．２ｇ、６１．２ｍｍｏｌ）を加えた。反応フラスコをアルゴン下で閉じて密閉し、５０℃で２４時間撹拌した。ＴＬＣ（系：ヘキサン／酢酸エチル‐５：５‐ｖ／ｖ）を使用して、反応をモニターした。反応混合物を１００ｍＬの酢酸エチルで希釈し、水で５回洗浄した（５×１００ｍＬ）。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、乾燥するまで蒸発させた。残渣を５ｍＬのジクロロメタンに溶解し、ヘキサン中の酢酸エチルの直線勾配を使用してシリカゲルクロマトグラフィー（ＣｏｍｂｉＦｌａｓｈ）により精製した。純粋な化合物８５を無色油状物質として得た（７．２ｇ、５２％）。^{1}Ｈ‐ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$、３９９ＭＨｚ）δ３．４３（ｓ、３Ｈ）、３．４１（ｔ、２Ｈ、Ｊ＝２．５Ｈｚ）、２．９３（ｔ、２Ｈ、Ｊ＝２．５Ｈｚ）；^{13}Ｃ‐ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$、１００ＭＨｚ）δ１１７．７、５１．２、３１．７、１９．６。

化合物８７の合成
【化３８２】



【１３５２】
化合物８７：化合物８６（１．１１ｍＬ、１２．５ｍｍｏｌ）および４‐ニトロベンゼンスルフィン酸ナトリウム（５．２３ｇ、２５．０ｍｍｏｌ）をＤＣＭ（１２．５ｍＬ）中に加えて、白色懸濁液を得た。臭素（０．６４ｍｌ、１２．５ｍｍｏｌ）を撹拌しながら溶液に加えた。溶液を室温で３０分間撹拌し、ろ過して塩を除去し、次にろ液を減圧下で蒸発させた。粗製生成物をシリカゲルカラムに入れ、ヘキサン‐ＥｔＯＡｃで溶出させて、純粋な化合物８７を得た（４．８０ｇ、２０．６ｍｍｏｌ、収率８２％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．４４‐８．４０（ｍ、２Ｈ）、８．１５‐８．１０（ｍ、２Ｈ）、２．５８（ｓ、３Ｈ）；^{13}Ｃ ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４９．００、１２８．５４、１２４．８７、９４．６１、１８．５５；Ｒ$_{f}$＝０．６０（１：１ ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物９０の合成
【化３８３】



【１３５３】
化合物８９：化合物８８のＮ‐（２‐メルカプトエチル）アセトアミド（１１．９２ｇ、１００ｍｍｏｌ）を、１Ｌの丸底フラスコ内でＥｔＯＡｃ（３００ｍＬ）に溶解して、無色溶液を得た。ヨウ化ナトリウム（０．１５０ｇ、１．０００ｍｍｏｌ）および水（１１．３ｍＬ）中の３０％過酸化水素（３．４０ｇ、１００ｍｍｏｌ）を溶液に加え、この溶液を室温で４５分間撹拌した。飽和Ｎａ$_{2}$Ｓ$_{2}$Ｏ$_{3}$を溶液に加えた。水層をＥｔＯＡｃで抽出した（３×３００ｍＬ）。ひとつにまとめた有機層をＮａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥し、ろ過して、ロータリーエバポレーションにより濃縮した。粗製生成物をカラムクロマトグラフィーに付し、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ勾配で溶出させて、純粋な化合物８９を得た（４．９４ｇ

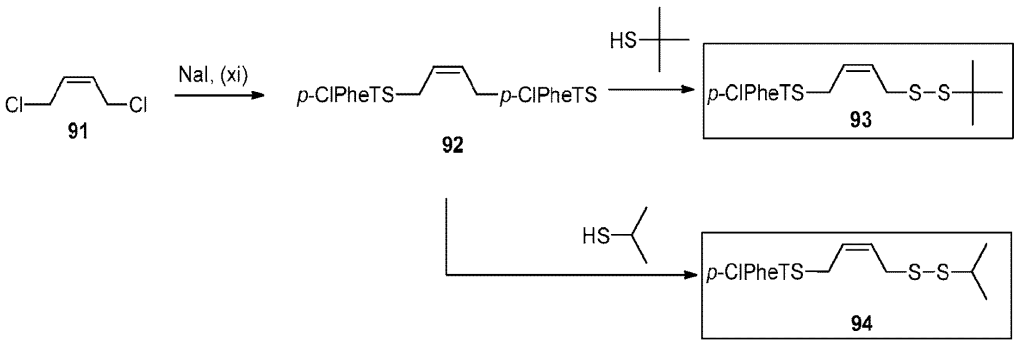
、２０．９０ｍｍｏｌ、収率４１．８％）。この化合物８９は、反応の次の段階で直接使用するのに十分高純度であるとＴＬＣにより判定した。Ｒｆ＝０．３５（９：１　ＤＣＭ／メタノール）。

【１３５４】

化合物９０：化合物８９（２．３６４ｇ、１０．００ｍｍｏｌ）および４‐ニトロベンゼンスルフィン酸ナトリウム（４．１８ｇ、２０ｍｍｏｌ）を、１００ｍＬ丸底フラスコ内でCH_2Cl_2（２０ｍＬ）に溶解して、白色懸濁液を得た。臭素（０．５１６ｍｌ、１０．００ｍｍｏｌ）を撹拌しながら溶液に加えた。溶液を室温で３０分間撹拌し、ろ過して塩を除去し、次にろ液を減圧下で蒸発させた。粗製生成物をシリカゲルカラムに入れ、ヘキサン‐ＥｔＯＡｃで溶出させて、純粋な化合物９０を得た（２．３７ｇ、７．７９ｍｍｏｌ、収率３９％）。^{1}H　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ８．４５‐８．４０（ｍ、２Ｈ）、８．１７‐８．１２（ｍ、２Ｈ）、３．６０‐３．５４（ｄｔ、２Ｈ）、３．２１‐３．１６（ｔ、２Ｈ）、２．００（ｓ、３Ｈ）；^{13}C　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１３０．３５、１２６．２７、６６．９７、５８．２０、５３．６７、５１．５２、３６．２２、３５．１６、３３．６７；R_f＝０．４０（ＥｔＯＡｃ）。

化合物９３および９４の合成

【化３８４】



【１３５５】

化合物９２：４‐クロロベンゼンスルホノチオ酸ナトリウム（１４．５ｇ、６３．０ｍｍｏｌ）を、２５０ｍＬ丸底フラスコ内でＭｅＯＨに溶解した。化合物９１のｃｉｓ‐１，４‐ジクロロ‐２‐ブテン（３．１６ｇ、３０．０ｍｍｏｌ）およびヨウ化ナトリウム（４５０ｍｇ、３．０ｍｍｏｌ）を撹拌しながら溶液に加えた。溶液を室温で３時間撹拌し、次に５０℃に加熱した。５０℃で１８時間撹拌後、溶媒を減圧下で除去した。生成した粗製物質をＤＣＭ（３００ｍＬ）で希釈し、水で洗浄した（１×１００ｍＬ）。水層をＤＣＭで抽出した（１×１００ｍＬ）。ひとつにまとめた有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過して濃縮した。粗製生成物をカラムクロマトグラフィーに付し、ＥｔＯＡｃ／ヘキサン勾配で溶出させて、化合物９２を得た（５．９９ｇ、１２．８ｍｍｏｌ、収率４３％）。^{1}H　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ７．８７－７．８４（ｍ、４Ｈ）、７．５６－７．５１（ｍ、４Ｈ）、５．５６－５．５０（ｍ、２Ｈ）、３．７２－３．６８（ｍ、４Ｈ）；^{13}C　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）１３０．３５、１２６．２７、６６．９７、５８．２０、５３．６７、５１．５２、３６．２２、３５．１６、３３．６７；R_f＝０．３５（１：３　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１３５６】

化合物９３：化合物９２（３．０９ｇ、６．５８ｍｍｏｌ）を１００ｍＬ丸底フラスコ内で、０℃でＴＨＦに溶解した。トリエチルアミン（４５９μＬ、３．２９ｍｍｏｌ）および２‐メチル‐２‐プロパンチオール（７４２μＬ、６．５８ｍｍｏｌ）を、０℃で撹拌しながら溶液に加えた。溶液を０℃で２０分間撹拌し、次にトリエチルアミン（２３０

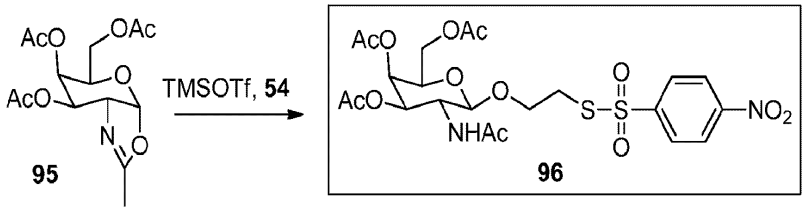
μＬ、１．６５ｍｍｏｌ）を、０℃で撹拌しながら溶液に加えた。０℃で４０分間撹拌後、溶媒を減圧下で除去した。生成物をカラムクロマトグラフィーに付し、ＥｔＯＡｃ／ヘキサン勾配で溶出させて、化合物９３を得た（１．７７ｇ、４．６２ｍｍｏｌ、収率７０％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．９０－７．８５（ｍ、２Ｈ）、７．５６－７．５２（ｍ、２Ｈ）、５．７３－５．６５（ｍ、１Ｈ）、５．５５－５．４８（ｍ、１Ｈ）、３．７８－３．７５（ｄ、２Ｈ）、３．３６－３．３２（ｄ、２Ｈ）、１．３２（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４３．５４、１４０．６０、１３０．９０、１２９．８３、１２８．６６、１２４．５６、４８．２９、３７．０５、３３．３５、３０．１６；Ｒ$_{f}$＝０．６０（１：３　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

【１３５７】

化合物９４：化合物９３について記載した手順と類似の手順を使用して、２－メチル－２－プロパンチオールの代わりに２－プロパンチオールを使用して、純粋な化合物９４を得た（１．１３ｇ、３．０６ｍｍｏｌ、収率７２％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．９０－７．８２（ｍ、２Ｈ）、７．５６－７．４８（ｍ、２Ｈ）、５．７２－５．６４（ｍ、１Ｈ）、５．５７－５．４７（ｍ、１Ｈ）、３．７９－３．７２（ｄ、２Ｈ）、３．３３－３．２６（ｄ、２Ｈ）、３．６１－２．９２（ｍ、１Ｈ）、１．２７（ｄ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１４３．２８、１４０．３６、１３１．３７、１２５．６３、１２４．５５、１２４．５６、４１．３２、３８．０２、３５．８１、３３．０８、２２．５４；Ｒ$_{f}$＝０．５５（１：３　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物９６の合成

【化３８５】

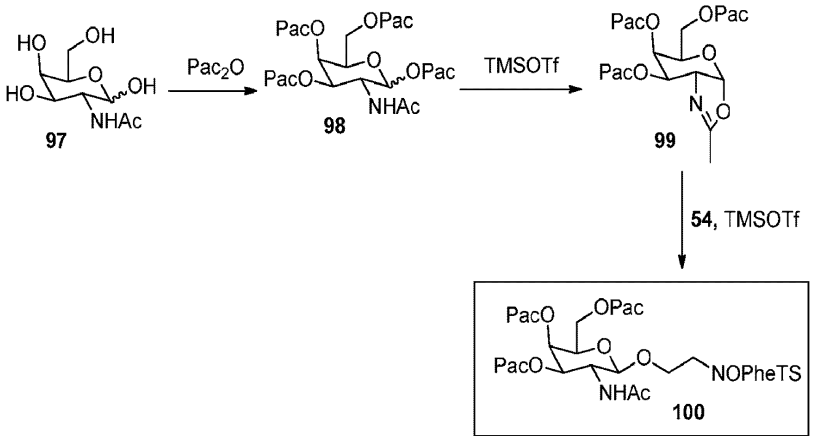


【１３５８】

化合物９６：化合物９（１．８１ｇ、５．５０ｍｍｏｌ）および化合物５４（２．１７ｇ、８．２５ｍｍｏｌ）を混合し、無水トルエンとの同時蒸発により脱水した（３×２ｍＬ）。混合物を脱水１，２－ジクロロエタン（１６．５ｍＬ）に溶解した。溶液に４Åの分子ふるいを加え、室温で３０分間撹拌した。トリメチルシリルトリフラート（４９７μＬ、２．７５ｍｍｏｌ）を撹拌しながら溶液に加えた。溶液を室温で９時間撹拌し、次にさらなる化合物５４（０．７２３ｇ、２．７５ｍｍｏｌ）を撹拌しながら溶液に加えた。室温で１６時間撹拌後、溶液をＤＣＭ（１００ｍＬ）で希釈し、飽和ＮａＨＣＯ$_{3}$で洗浄した（１×１００ｍＬ）。水層をＤＣＭで抽出した（１×５０ｍＬ）。ひとつにまとめた有機層をＮａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥し、ろ過して、ロータリーエバポレーションにより濃縮した。粗製生成物をカラムクロマトグラフィーに付し、ＥｔＯＡｃ／ヘキサン勾配で溶出させて、化合物９６を得た（２．２１ｇ、３．７３ｍｍｏｌ、収率６８％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．４２－８．３６（ｄ、２Ｈ）、８．１２－８．０６（ｄ、２Ｈ）、６．０７－６．００（ｄ、１Ｈ）、５．３３－５．３０（ｄ、１Ｈ）、５．２３－５．１５（ｄｄ、１Ｈ）、４．６９－４．６３（ｄ、１Ｈ）、４．１５－４．０４（ｍ、３Ｈ）、４．０４－３．８７（ｍ、２Ｈ）、３．８４－３．７３（ｍ、１Ｈ）、３．２２－３．１２（ｔ、２Ｈ）、２．１２－１．９２（ｍ、１２Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）１７９．９５、１７０．７４、１７０．４８、１５０．７７

、１４９．５９、１２８．４７、１２５．０３、１０１．４０、７１．０８、７０．０２、６７．３９、６６．９２、６１．７６、５１．１２、３６．５１、２３．７２、２０．９２；R_f＝０．２５（１：９　ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）。

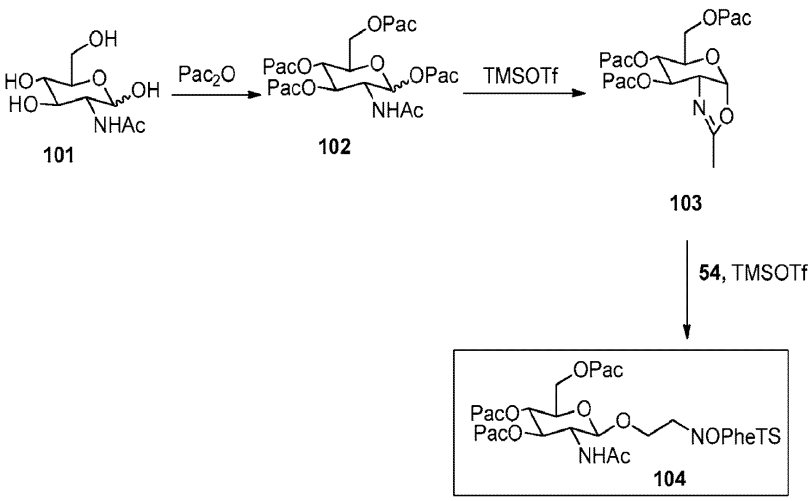
化合物１００の合成
【化３８６】



【１３５９】
化合物９８：氷冷した化合物９７（４．８７ｇ、２２．０ｍｍｏｌ）の脱水ピリジン（７０ｍＬ）溶液を、フェノキシ酢酸無水物（３７．８ｇ、１３２．０ｍｍｏｌ）および４－ジメチルアミノピリジン（２６．９ｍｇ、２２０μｍｏｌ）で処理した。室温で１２時間撹拌後、混合物を真空下で濃縮し、トルエンと同時蒸発させた。生成物をＤＣＭ（４００ｍＬ）により希釈し、飽和$NaHCO_3$で洗浄した（１×４００ｍＬ）。抽出して有機層を分離し、Na_2SO_4で乾燥し、ろ過して、真空下で濃縮した。生成物をカラムクロマトグラフィーに付し、ＥｔＯＡｃ／ヘキサン勾配で溶出させて、純粋な化合物９８を得た（１６．７ｇ、２２．０ｍｍｏｌ、収率１００％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ７．３６－６．７５（ｍ、２０Ｈ）、６．２７－６．２０（ｄ、１Ｈ）、５．４３－５．３６（ｍ、１Ｈ）、５．２２－５．０６（ｍ、２Ｈ）、４．８１－４．６５（ｍ、３Ｈ）、４．６０－４．５２（ｍ、２Ｈ）、４．４５－４．２９（ｍ、２Ｈ）、４．１７－４．０２（ｍ、２Ｈ）、３．９７－３．８７（ｍ、１Ｈ）、１．８５および１．７４（ｄ、３Ｈ、回転異性体）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７０．２０、１６８．７８、１６８．７０、１６８．３６、１６７．５２、１５７．５６、１５７．４８、１５７．４０、１３０．０９、１２９．７０、１２９．６６、１２９．６０、１２２．３２、１２２．０１、１２１．９４、１１４．６１、１１４．５８、１１４．５８、１１４．３９、９１．９３、６８．３７、６８．２５、６７．３０、６４．５４、６１．２５、４６．４３、２２．９５；R_f＝０．３５（１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。
【１３６０】
化合物９９：化合物９８（１５．１５ｇ、２０．０ｍｍｏｌ）を$ClCH_2CH_2Cl$（４０ｍＬ）に溶解し、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル（５．４３ｍＬ、３０．０ｍｍｏｌ）を、室温で撹拌しながら溶液に加えた。溶液を５０℃で２４時間撹拌し、トリエチルアミン（１２．６ｍＬ、９０．０ｍｍｏｌ）を加え、混合物を真空下で濃縮した。生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ＥｔＯＡｃ（２．５％Et_3N）－ヘキサン）により精製し、微量のフェノキシ酢酸を含有する、わずかに不純物を含む化合物９９を得た。この物質をさらなる精製なしで、反応スキームの次の段階において使用した。

【１３６１】
化合物１００：化合物９９（３．６３ｇ、６ｍｍｏｌ）および化合物５４のＳ－２－ヒドロキシエチル－４－ニトロベンゼンスルホノチオアート（２．７６ｇ、１０．５ｍｍｏｌ）を$ClCH_2CH_2Cl$（１８ｍＬ）に溶解して無色溶液を得た。溶液に、撹拌しながら室温で４Åの分子ふるいを加えた。溶液を室温で３０分間撹拌し、次にトリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル（０．５４３ｍｌ、３．００ｍｍｏｌ）を加えた。混合物を室温で２４時間撹拌し、ＴＬＣは反応が約９０％完了したことを示した。さらなる化合物５４（２３７．０ｍｇ、０．９０ｍｍｏｌ）を混合物に加え、さらに３６時間撹拌して反応を完了させた。混合物をＤＣＭ（１００ｍＬ）で希釈し、飽和$NaHCO_3$で洗浄した（１×１００ｍＬ）。水層をCH_2Cl_2で逆抽出した（１×５０ｍＬ）。ひとつにまとめた有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過し、濃縮して、１２０ｍＬのAc_2O－ピリジン（１：９、ｖ／ｖ）に溶解した。混合物を１２時間撹拌し、次に減圧下で濃縮した。生成物をCH_2Cl_2（１００ｍＬ）で希釈し、飽和$NaHCO_3$で洗浄した（１×１００ｍＬ）。水層をCH_2Cl_2で逆抽出した（１×５０ｍＬ）。ひとつにまとめた有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過し、濃縮した。生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ＥｔＯＡｃ－ヘキサン勾配）により精製し、純粋な化合物１００を得た（２．５６ｇ、２．９４ｍｍｏｌ、収率４９．０％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ８．７０－８．６２（ｄ、２Ｈ）、８．４１－８．３３（ｄ、２Ｈ）、７．６５－７．０３（ｍ、１５Ｈ）、６．３５－６．２７（ｄ、１Ｈ）、５．８１－５．７２（ｍ、２Ｈ）、５．０６－４．９７（ｍ、３Ｈ）、４．９２－４．８５（ｍ、２Ｈ）、４．８３－４．６２（ｍ、２Ｈ）、４．５８－４．４４（ｍ、２Ｈ）、４．３４－４．２６（ｍ、２Ｈ）、４．２６－４．１５（ｍ、１Ｈ）、４．０６－３．９５（ｍ、１Ｈ）、３．５１－３．４０（ｍ、２Ｈ）、２．２２および２．１８（ｄ、３Ｈ、回転異性体）；^{13}ＣＮＭＲ（１００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７１．１７、１６９．１３、１６９．０５、１６８．９２、１５７．８６、１５７．８０、１５７．７６、１５０．８２、１４９．６３、１３０．０１、１２９．９６、１２８．４７、１２５．０６、１２２．２７、１２２．２３、１１４．９３、１１４．７４、１００．８６、７０．６４、７０．５４、６５．３６、６４．９０、６２．２１、５１．３０、３６．５４、２３．７４；R_f＝０．６０（１：１　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）。

化合物１０４の合成
【化３８７】



【１３６２】
化合物１０２：化合物９８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物９７

の代わりに化合物１０１を使用して、純粋な化合物１０２を得る。

【１３６３】

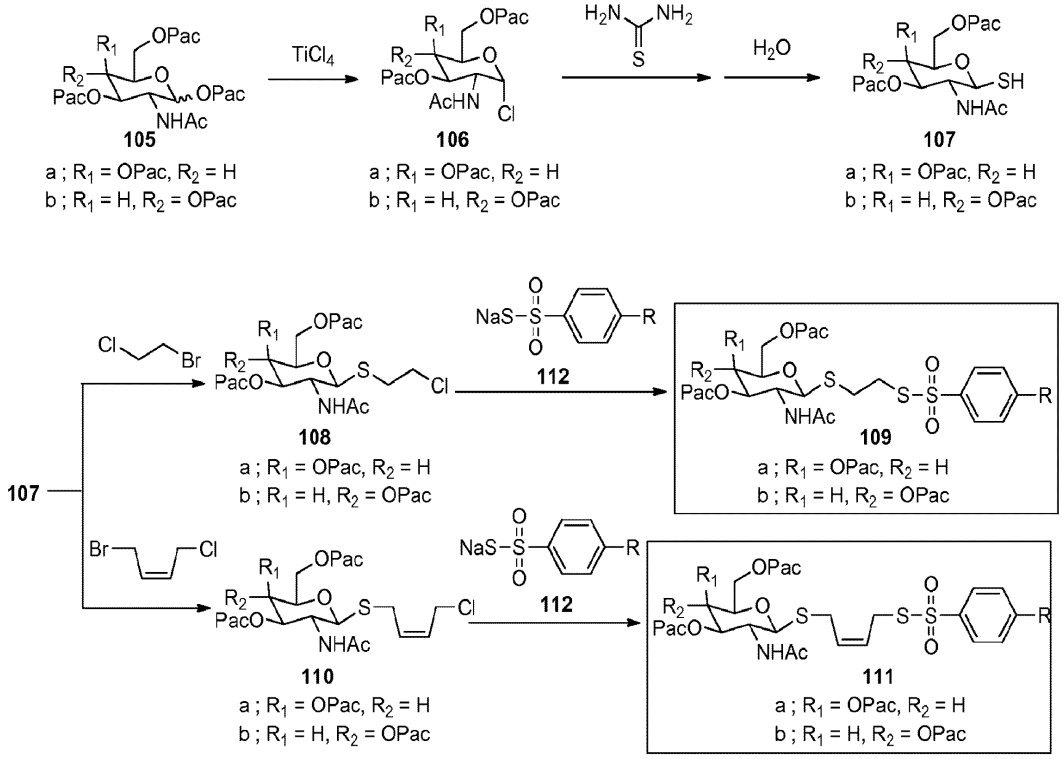
化合物１０３：化合物９９について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物９８の代わりに化合物１０２を使用して、純粋な化合物１０３を得る。

【１３６４】

化合物１０４：化合物１００について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物９９の代わりに化合物１０３を使用して、純粋な化合物１０３を得る。

化合物１０９および１１１の合成

【化３８８】



【１３６５】

化合物１０６：化合物１０５（１００ｍｍｏｌ）の脱水１，２‐ジクロロエタン（３００ｍＬ）溶液を、ＴｉＣｌ$_4$（１１０ｍｍｏｌ）と、シリンジを使用して滴下しながら２分かけて処理する。１６時間還流後、ＴＬＣが反応の完了を示す。粗製物をＤＣＭで希釈し、飽和ＮａＨＣＯ$_3$で洗浄する。ひとつにまとめた有機層をＮａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、ろ過し、濃縮して、さらなる精製なしで次の反応において使用する。

【１３６６】

化合物１０７：チオ尿素（１５０ｍｍｏｌ）および化合物１０６（１００ｍｍｏｌ）を、アルゴン下でアセトン（２００ｍＬ）に溶解する。反応混合物を６０℃に加熱し、撹拌する。２時間後、ろ過により白色沈殿を除去する。沈殿を再結晶する。ろ過した結晶およびＮａ$_2$Ｓ$_2$Ｏ$_5$（１４０ｍｍｏｌ）を、撹拌しながらＤＣＭ（５００ｍＬ）およびＨ$_2$Ｏ（２５０ｍＬ）の混合物に加える。反応混合物を、Ａｒ下で加熱還流する。３時間後、反応混合物を室温まで冷却し、相を分離させる。水層をＤＣＭで逆抽出する。ひとつにまとめた有機層をＮａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、ろ過し、濃縮して化合物１０７を得る。

【１３６７】

化合物１０８：１‐ブロモ‐２‐クロロエタン（１００ｍｍｏｌ）、トリエチルアミン（２００ｍｍｏｌ）、および化合物１０７（１００ｍｍｏｌ）を、Ａｒ下でアセトニトリ

ル（２００ｍＬ）に溶解する。反応混合物を６０℃に加熱し、撹拌する。ＴＬＣが反応完了を示す。混合物をＤＣＭ（５００ｍＬ）で希釈し、$NaHCO_3$（２５０ｍＬ）で洗浄する。有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過し、濃縮し、精製して化合物１０８を得る。

【１３６８】

化合物１０９：化合物１１２（１２０ｍｍｏｌ）、ヨウ化ナトリウム（１０．０ｍｍｏｌ）、および化合物１０８（１００ｍｍｏｌ）を、Ａｒ下でＭｅＯＨ（２００ｍＬ）に溶解する。反応混合物を６０℃に加熱し、撹拌する。ＴＬＣが反応完了を示す。混合物をＤＣＭ（５００ｍＬ）で希釈し、$NaHCO_3$（２５０ｍＬ）で洗浄する。有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過し、濃縮し、精製して化合物１０９を得る。

【１３６９】

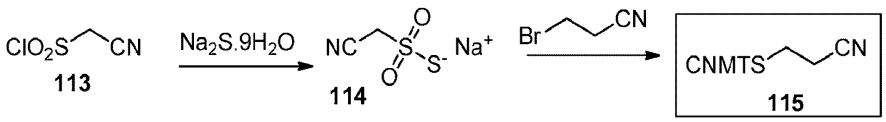
化合物１１０：１‐ブロモ‐４‐クロロ‐２，３‐ｃｉｓ‐ブテン（１００ｍｍｏｌ）、トリエチルアミン（２００ｍｍｏｌ）、および化合物１０７（１００ｍｍｏｌ）を、Ａｒ下でアセトニトリル（２００ｍＬ）に溶解する。反応混合物を６０℃に加熱する。ＴＬＣが反応完了を示す。混合物をＤＣＭ（５００ｍＬ）で希釈し、$NaHCO_3$（２５０ｍＬ）で洗浄する。有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過し、濃縮し、精製して化合物１１０を得る。

【１３７０】

化合物１１１：化合物１１２（１２０ｍｍｏｌ）、ヨウ化ナトリウム（１０．０ｍｍｏｌ）、および化合物１１０（１００ｍｍｏｌ）を、Ａｒ下でＭｅＯＨ（２００ｍＬ）に溶解する。反応混合物を６０℃に加熱する。ＴＬＣが反応完了を示す。混合物をＤＣＭ（５００ｍＬ）で希釈し、$NaHCO_3$（２５０ｍＬ）で洗浄する。有機層をNa_2SO_4で乾燥し、ろ過し、濃縮し、精製して化合物１１１を得る。

化合物１１５の合成

【化３８９】



【１３７１】

化合物１１３：２‐クロロスルホニルアセトニトリル（化合物１１３）は、Sammesの手順（特許ＧＢ１２５２９０３において記載のとおり）に従って調製する。

【１３７２】

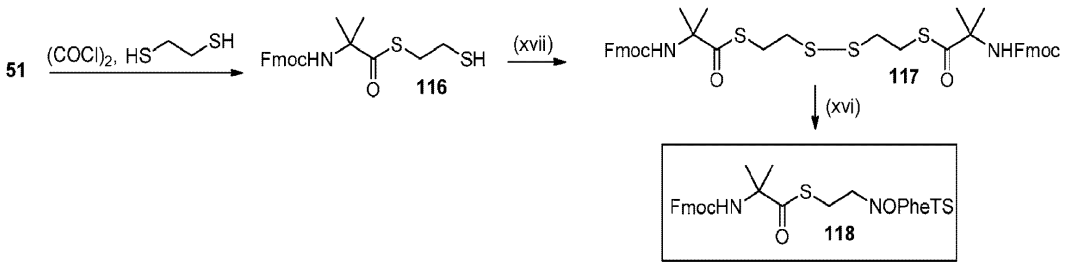
化合物１１４：硫化ナトリウム九水和物（６５ｍｍｏｌ）を１００ｍＬの水に入れる。フラスコを水浴中で保持する。水浴を穏やかに温めながら、化合物１１３（５０ｍｍｏｌ）を、撹拌しながら溶液に滴下する。フラスコ内で、硫黄の出現を観測し、その後硫黄は消失する。溶媒を真空下で蒸発させ、残渣をエタノールから再結晶する。このようにして、シアノメタンスルホノチオ酸ナトリウム（化合物１１４）を無色結晶性固体として得る。

【１３７３】

化合物１１５：１００ｍＬ丸底フラスコ内で、化合物１１４（１３．６９ｇ、８６ｍｍｏｌ）を無水ＤＭＦ（３０ｍＬ）に撹拌しながら入れる。次に、３‐ブロモプロピオニトリル（５ｍＬ、８．２ｇ、６１．２ｍｍｏｌ）を加え、ＴＬＣによりモニターしながら生成する混合物を５０℃で１８時間撹拌する。反応が完了したら（３‐ブロモプロピオニトリルが完全に消費されたら）、反応混合物をＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で希釈し、有機層を５×２０ｍＬのH_2Oで洗浄する。次に分離した有機層を乾燥して（$MgSO_4$）、ろ過し、ロータリーエバポレーションにより濃縮して油状物質を得る。粗製油状物質を、ＥｔＯＡｃ／ヘキサン勾配を使用してカラムクロマトグラフィーにより精製し、高純度物質

を含有する留分を回収し、ロータリーエバポレーションにより溶媒を除去し、次に真空下でさらに乾燥して、純粋な化合物１１５を無色油状物質として得る。

化合物１１８の合成
【化３９０】



【１３７４】
化合物１１６：ＤＣＭ（５０ｍＬ）中の化合物５１（２．９ｇ、８．９１ｍｍｏｌ）を、二塩化オキサリル（０．５３ｍｌ、６．１５ｍｍｏｌ）で滴下しながら処理し、次にＤＭＦ（１０μＬ）と滴下しながら処理し、室温で撹拌した。反応中、均一な無色溶液が形成した。室温で２時間後、溶媒を減圧下で除去した。白色残渣をＤＣＭ（２０ｍＬ）に再溶解し、次にＵＰＬＣ／ＭＳによりモニターしながら、エタン‐１，２‐ジチオール（８．４０ｇ、８９ｍｍｏｌ）のピリジン（１０ｍＬ）溶液に撹拌しながら滴下した。１８時間後、反応が完了したと判断した。溶媒を除去し、残留するエタンチオールをトラップからトラップへの蒸留により除去し、次に残渣を、ＤＣＭを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製し、純粋な化合物１１６を無色固体として得た。収量は１．８２ｇ、５１％であった。ＭＳ（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$：４２４．１０、実測値：４２４．０６；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７９（ｄ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．６３（ｄ、Ｊ＝５．７Ｈｚ、２Ｈ）、７．４３（ｔ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．３４（ｔ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、２Ｈ）、５．４０‐５．１５（ｂｒ、１Ｈ）、４．６０‐４．３５（ｂｒ、２Ｈ）、４．３１‐４．１９（ｍ、１Ｈ）、３．１５‐３．０４（ｂｒ、２Ｈ）、２．９５‐２．８０（ｍ、１Ｈ）、２．７５‐２．６０（ｂｒ、２Ｈ）、１．７２‐１．４３（ｍ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ２０３．１４、１５４．７５、１４３．９２、１４１．４９、１２７．８４、１２７．１９、１２５．１７、１２０．１３、６６．８１、６２．６９、４７．４１、３３．０１、２５．７８、２４．６０。
【１３７５】
化合物１１７：化合物１１６（１．７ｇ、４．２３ｍｍｏｌ）のＥｔＯＡｃ（１２ｍＬ）溶液に、ヨウ化ナトリウム（６．３５ｍｇ、０．０４２ｍｍｏｌ）および過酸化水素（０．１４４ｇ、４．２３ｍｍｏｌ）（３０％水溶液の０．４５ｍＬ）を加え、混合物を室温で１５分撹拌した。ＴＬＣは出発物質が完全に消費されたことを示した。溶液が無色になるまで含水チオ硫酸ナトリウムを加えた。溶液を水で洗浄し、乾燥して（ＭｇＳＯ$_{4}$）、その後カラムクロマトグラフィー（ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）により、純粋な化合物１１７を無色固体泡状物質として得た（１．４５ｇ、８６％）。ＭＳ（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：８０２．０７、実測値：８０２．０８；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．７８（ｄ、Ｊ＝７．６Ｈｚ、４Ｈ）、７．６３（ｄ、Ｊ＝５．８Ｈｚ、４Ｈ）、７．４２（ｔ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、４Ｈ）、７．３３（ｔ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、４Ｈ）、５．４２‐５．２５（ｂｒ、２Ｈ）、４．５５‐４．３５（ｂｒ、４Ｈ）、４．３０‐４．１８（ｂｒ、２Ｈ）、３．２５‐３．１０（ｂｒ、４Ｈ）、２．９５‐２．７０（ｂｒ、４Ｈ）、１．６５‐１．４５（ｂｒ、１２Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ２０３．１９、１５４．７１、１４３．９０、１４１．４５、１２７．８０

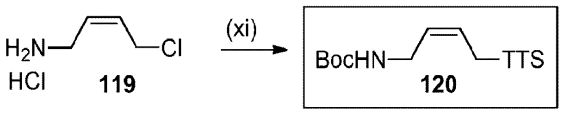
、１２７．１７、１２５．１６、１２０．１０、６６．７６、６２．６５、４７．３７、３７．９０、２８．５６、２５．７３。

【１３７６】

化合物１１８：臭素（０．０９１ｍｌ、１．７７ｍｍｏｌ）を、ＤＣＭ（１０ｍＬ）中の４‐ニトロベンゼンスルフィン酸ナトリウム（０．７４２ｇ、３．５５ｍｍｏｌ）および化合物１１７（１．４２ｇ、１．７７３ｍｍｏｌ）の混合物に、撹拌しながら、室温で２分かけて滴下した。室温で３０分撹拌後、混合物をろ過し、ろ液を真空下で濃縮してオレンジ色の固体泡状物質を得た。カラムクロマトグラフィー（ＤＣＭ／ヘキサン）により、純粋な化合物１１８を淡黄色固体泡状物質として得た（１．２６ｇ、６０％）。ＭＳ（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：５８７．７１、実測値：８０２．０８；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ８．３６（ｄ、Ｊ＝８．２Ｈｚ、２Ｈ）、８．１４（ｄ、Ｊ＝７．３Ｈｚ、２Ｈ）、７．７９（ｄ、Ｊ＝７．０Ｈｚ、２Ｈ）、７．６３（ｓ、２Ｈ）、７．４３（ｔ、Ｊ＝６．７Ｈｚ、２Ｈ）、７．３５（ｄ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、２Ｈ）、５．３５‐５．１５（ｂｒ、１Ｈ）、４．５５‐４．３５（ｂｒ、２Ｈ）、４．３０‐４．２０（ｂｒ、１Ｈ）、３．３０‐３．００（ｂｒ、４Ｈ）、１．７０‐１．２５（ｂｒ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ２０２．７１、１５４．６６、１５０．６０、１４９．６３、１４３．７８、１４１．４６、１２８．４０、１２７．９１、１２７．２１、１２５．１２、１２４．８１、１２０．１８、６６．８６、６２．５９、４７．３５、３５．８４、２８．４２、２５．６１。

化合物１２０の合成

【化３９１】

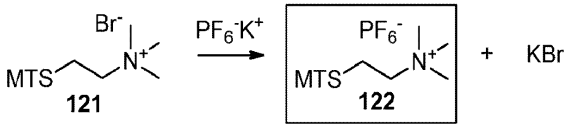


【１３７７】

化合物１２０：市販の化合物１１９（１ｇ、７．０４ｍｍｏｌ）および４‐メチルベンゼンスルホノチオ酸カリウム（１．７５３ｇ、７．７５ｍｍｏｌ）をＭｅＯＨ（１０ｍＬ）中、室温で５日間にわたり撹拌し、次に４０℃で２４時間にわたり撹拌した。ＴＬＣは、生成物への良好な変換を示した。ＭｅＯＨを蒸発させ、残渣をＤＣＭ（３０ｍＬ）に入れ、Ｂｏｃ$_{2}$Ｏ（１．５４ｇ、７．０４ｍｍｏｌ）を加えた。溶液が実質的に均一になるまで、混合物をトリエチルアミン（１．０３０ｍｌ、７．３９ｍｍｏｌ）と室温で１０分かけて、滴下しながら処理した。水（５０ｍＬ）で洗浄し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_{4}$）、ろ過し、蒸発させて粗製生成物を得て、これをさらにカラムクロマトグラフィーにより精製して純粋な化合物１２０を無色固体として得た（１．６４ｇ、６５％）。ＭＳ（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｎａ）$^{+}$：３８０．１０、実測値：３８０．１１；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ７．８０（ｄ、Ｊ＝８．２Ｈｚ、２Ｈ）、７．３４（ｄｄ、Ｊ＝８．５、０．８Ｈｚ、２Ｈ）、５．５４（ｄｄｔ、Ｊ＝２４．７、１６．６、７．９Ｈｚ、２Ｈ）、４．６５（ｓ、１Ｈ）、３．７７‐３．６６（ｍ、４Ｈ）、２．４５（ｓ、３Ｈ）、１．４３（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５５．８３、１４５．０５、１４２．０６、１３１．８０、１３０．０１、１２７．１５、１２４．５５、７９．７２、３７．２９、３２．７５、２８．５１、２１．７９。

化合物１２２の合成

【化３９２】

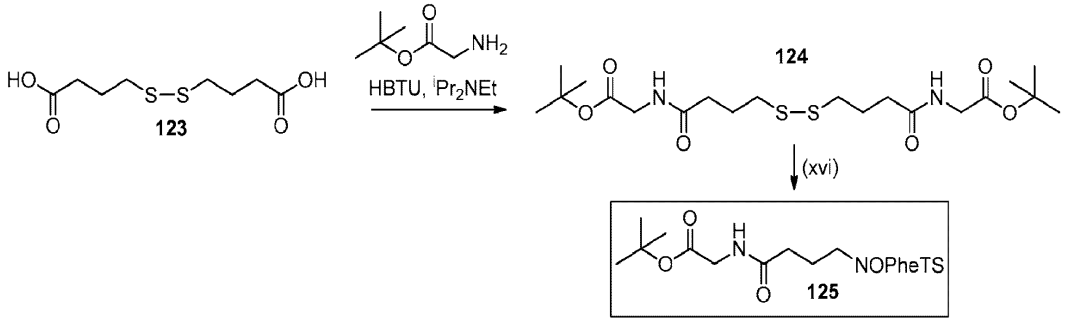


【１３７８】

化合物１２２：市販の化合物１２１（１ｇ、３．５９ｍｍｏｌ）の水（１ｍＬ）溶液を、ヘキサフルオロリン酸カリウム（０．６６２ｇ、３．５９ｍｍｏｌ）の水（１０ｍＬ）溶液と全て一度に処理し、室温で５分間振とうすることにより撹拌した。生成した固体をろ過により回収し、２×３ｍＬの水で洗浄し、真空下、ＫＯＨで乾燥して純粋な化合物１２２を無色固体として得た（１．０１ｇ、８２％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ、CD_3CN）δ３．６７‐３．６０（ｍ、２Ｈ）、３．４９（ｓ、３Ｈ）、３．５３‐３．４５（ｍ、２Ｈ）、３．１０（ｓ、９Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、CD_3CN）δ６５．９８、５４．０５（ｑ、Ｊ＝４．１Ｈｚ）、５１．１１、２８．９９；^{19}Ｆ　ＮＭＲ（３７６ＭＨｚ、CD_3CN）δ－７３．１５（ｄ、Ｊ＝７０６．５Ｈｚ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、CD_3CN）δ－１４３．５０（ｈｅｐｔ、Ｊ＝７０６．６Ｈｚ）。

化合物１２５の合成

【化３９３】



【１３７９】

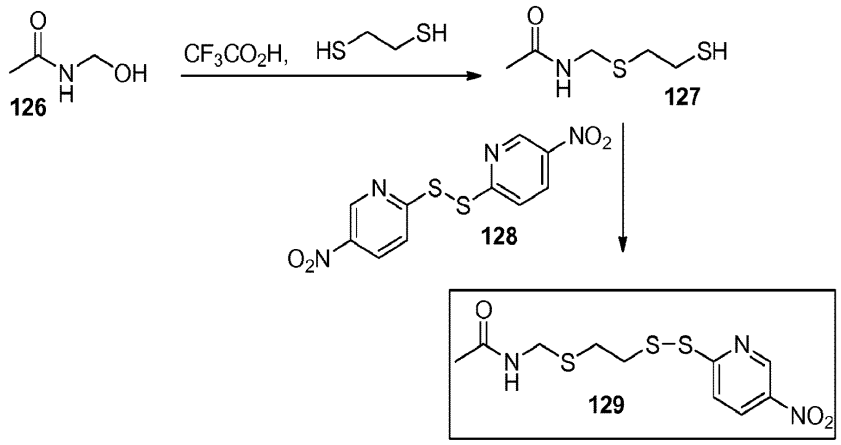
化合物１２４：市販の化合物１２３（１０ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（５０ｍＬ）溶液を、ｔｅｒｔ‐ブチル‐２‐アミノアセタート（２２ｍｍｏｌ）、ジイソプロピルエチルアミン（５０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（２４ｍｍｏｌ）で続いて処理する。室温で１時間撹拌後、水（１００ｍＬ）を加え、生成した溶液をＥｔＯＡｃ（２×５０ｍＬ）で抽出し、５％$NaHCO_3$（２×２５ｍＬ）で洗浄し、次に希釈した飽和食塩水（２×２５ｍＬ）で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過して、ロータリーエバポレーションにより濃縮する。カラムクロマトグラフィーによる精製により、純粋な化合物１２４を得る。

【１３８０】

化合物１２５：臭素（０．０９１ｍｌ、１．７７ｍｍｏｌ）を、ＤＣＭ（１０ｍＬ）中の４‐ニトロベンゼンスルフィン酸ナトリウム（０．７４２ｇ、３．５５ｍｍｏｌ）およびジ‐ｔｅｒｔ‐ブチル‐２，２’‐（（４，４’‐ジスルファンジイル‐ビス（ブタノイル））ビス（アザンジイル））ジアセタート（８２４ｍｇ、１．７７ｍｍｏｌ）の混合物に、撹拌しながら、室温で２分かけて滴下する。室温で３０分撹拌後、混合物をろ過し、ろ液を真空下で濃縮して固体泡状物質を得る。カラムクロマトグラフィーにより、純粋な生成物を固体泡状物質として得る。

化合物１２９の合成

【化３９４】



【１３８１】

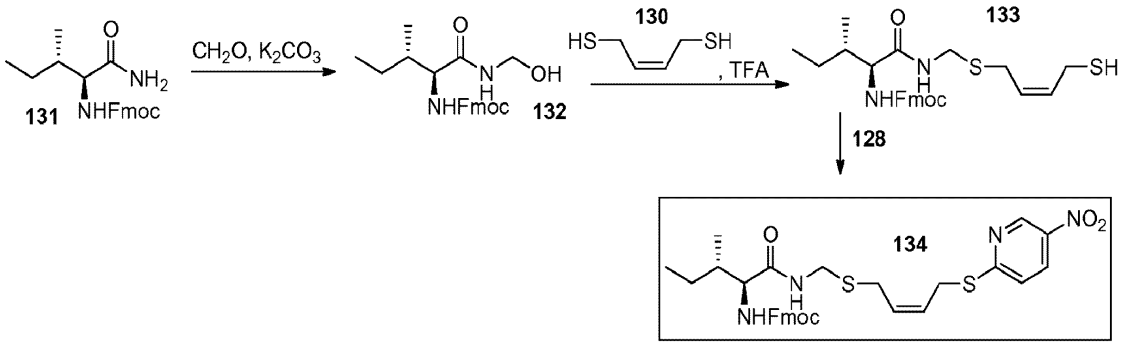
化合物１２７：エタン－１，２－ジチオール（１．１３０ｇ、１２ｍｍｏｌ）のＴＦＡ（１０ｍＬ）溶液を、市販の化合物１２６（０．８９ｇ、９．９９ｍｍｏｌ）で全て一度に処理した。溶液は温かくなった。室温で１時間撹拌後、揮発性物質を除去し、残渣をカラムクロマトグラフィーに付して、純粋な化合物１２７を無色油状物質として得た（０．９５ｇ、４８％）。R_f＝０．６（５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ６．０９－５．９３（ｂｒ、１Ｈ）、４．４１（ｄ、Ｊ＝６．４Ｈｚ、２Ｈ）、２．８７－２．８３（ｍ、２Ｈ）、２．７９（ｄｄｄ、Ｊ＝９．７、７．３、３．５Ｈｚ、２Ｈ）、２．０４（ｓ、３Ｈ）、１．７１（ｔ、Ｊ＝８．０Ｈｚ、１Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７０．２５、４０．８９、３５．２２、２４．９１、２３．４４。

【１３８２】

化合物１２９：温かい（３５℃）市販の化合物１２８（９３９ｍｇ、３．０ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１０ｍＬ）溶液を、化合物１２７（２５０ｍｇ、１．５１３ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５ｍＬ）溶液で、５分かけて滴下しながら処理した。ＴＬＣで確認後、高真空下でロータリーエバポレーションにより溶媒を除去し、次に残渣をＤＣＭ（５０ｍＬ）で破砕し、ろ過し、ろ液を５×５％$NaHCO_3$で洗浄し、その後乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、濃縮して淡黄色固体を得た。カラムクロマトグラフィーにより、純粋な化合物１２９を淡黄色固体として得た。ＭＳ（ＥＳＩ＋）：計算値$(M+H)^+$：３２０．０２、実測値：３２０．３４；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ９．２８（ｄｄ、Ｊ＝２．７、０．７Ｈｚ、１Ｈ）、８．４３（ｄｄ、Ｊ＝８．９、２．６Ｈｚ、１Ｈ）、７．９３（ｄｄ、Ｊ＝８．９、０．７Ｈｚ、１Ｈ）、６．１０－５．９０（ｂｒ、１Ｈ）、４．４１（ｄ、Ｊ＝６．５Ｈｚ、２Ｈ）、３．１３（ｄｄ、Ｊ＝８．６、６．３Ｈｚ、２Ｈ）、２．９３（ｄｄ、Ｊ＝８．６、６．４Ｈｚ、２Ｈ）、２．００（ｓ、３Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、$CDCl_3$）δ１７０．１８、１６８．５７、１４５．２２、１４２．２２、１３１．８１、１１９．５９、４０．６５、３８．５９、３０．０７、２３．３９。

化合物１３４の合成

【化３９５】



【１３８３】

化合物１３０：化合物１３０は、以前に記載された方法により調製する（Heterocycles、Vol 54、p 139、2001）。

【１３８４】

化合物１３２：化合物１２６の合成について以前に記載された手順（Organic Syntheses、Coll. Vol. 6、p.5（1988））と類似の手順を使用して、K_2CO_3を含有するホルムアルデヒド水溶液の存在下で穏やかに加熱することにより、化合物１３１（Tetrahedron Letters、48(39)、7038-7041；2007）を化合物１３２に変換する。

【１３８５】

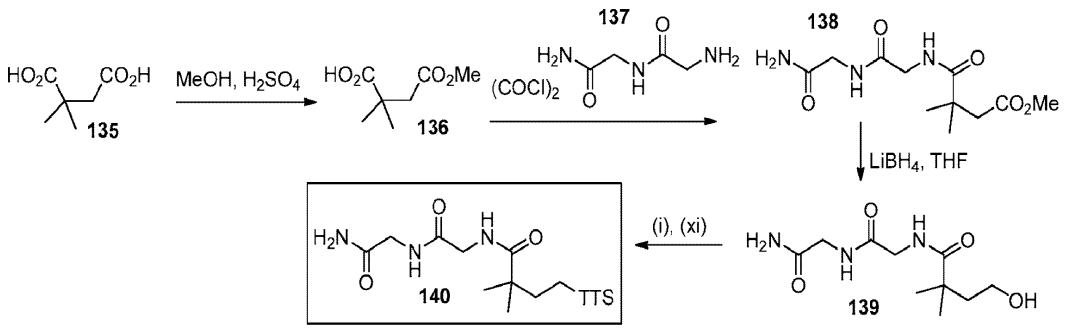
化合物１３３：化合物１２７の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物１２６の代わりに化合物１３２を使用して、かつエタン－１，２－ジチオールの代わりに化合物１３０を使用して、このようにして純粋な化合物１３３を得る。

【１３８６】

化合物１３４：化合物１２９の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物１２７の代わりに化合物１３３を使用して、このようにして純粋な化合物１３４を得る。

化合物１４０の合成

【化３９６】



【１３８７】

化合物１３６：市販の化合物１３５（５０ｇ、３４２ｍｍｏｌ）の氷冷した溶液およびメタノール（２７７ｍＬ）を、硫酸（３．３６ｇ、３４．２ｍｍｏｌ）で１０分かけて滴下しながら処理し、次に一晩かけてゆっくり室温に温めた。ロータリーエバポレーションにより大半の溶媒を除去し、次に飽和$NaHCO_3$水溶液を注意深く加えた。１ＭのＨＣｌを添加することにより溶液のｐＨを１．９に調整し、次にＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）で抽出し、希釈した飽和食塩水（５０ｍＬ）で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、濃縮して２９ｇの無色油状物質を得た。カラムクロマトグラフィーにより、純粋な化合物１

３６を無色固体として得た（１２．５ｇ、２３％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１２．５‐１０．５（ｖｂｒ、１Ｈ）、３．６９（ｓ、３Ｈ）、２．６３（ｓ、２Ｈ）、１．３２（ｓ、６Ｈ）；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２６ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１８３．３２、１７１．７６、５１．７２、４３．８８、４０．６０、２５．３４。

【１３８８】

化合物１３８：ＤＣＭ（５０ｍＬ）中の化合物１３６（１０ｍｍｏｌ）を、二塩化オキサリル（１０ｍｍｏｌ）で滴下しながら処理し、次にＤＭＦ（１０μＬ）で滴下しながら処理し、室温で撹拌する。反応中、均一な無色溶液が形成する。室温で２時間後、溶媒を減圧下で除去する。白色残渣をＤＣＭ（２０ｍＬ）に再溶解し、次にＴＬＣによりモニターしながら、化合物１３７（１０ｍｍｏｌ）のピリジン（１０ｍＬ）溶液に撹拌しながら滴下する。１８時間後、溶媒を除去し、残渣を、ＤＣＭを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製し、純粋な化合物１３７を得る。

【１３８９】

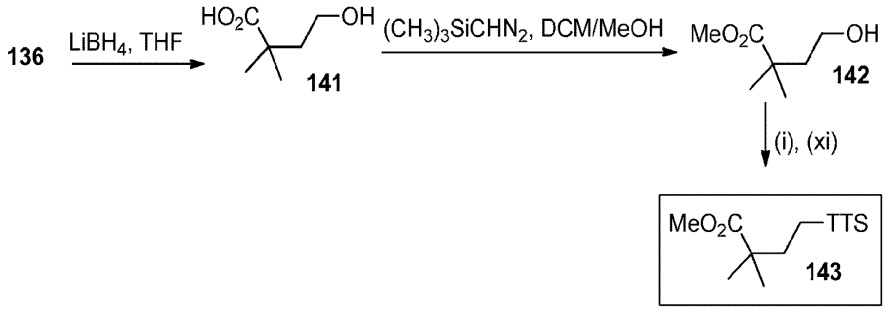
化合物１３９：化合物１３８（５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（２０ｍＬ）溶液を、氷冷したＬｉＢＨ$_{4}$（５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（２０ｍＬ）溶液に加える。ＴＬＣにより、室温における反応の進行を判断する。反応完了後（出発物質が完全に消費された後）、氷冷した溶液に水（１００ｍＬ）を注意深く加え、この溶液を続いてＥｔＯＡｃ（２×１００ｍＬ）で抽出する。ひとつにまとめた有機抽出物を乾燥し（ＭｇＳＯ$_{4}$）、ろ過し、溶媒をロータリーエバポレーションにより除去する。残渣をカラムクロマトグラフィーに付し、このようにして純粋な化合物１３９を得る。

【１３９０】

化合物１４０：化合物８０の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物７９の代わりに化合物１３９を使用して、このようにして純粋な化合物１４０を得る。

化合物１４３の合成

【化３９７】



【１３９１】

化合物１３９：化合物１３９の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物１３８の代わりに化合物１３６を使用して、このようにして純粋な化合物１４１を得る。

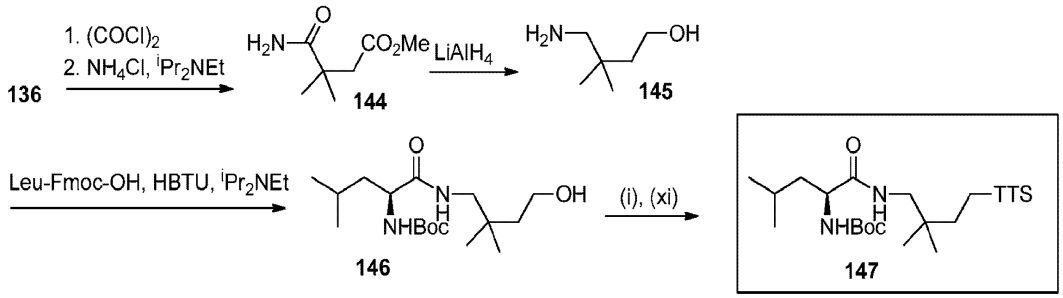
【１３９２】

化合物１４２：化合物１４１（８．３９ｍｍｏｌ）のＤＣＭ／ＭｅＯＨ（１２／３ｍＬ）溶液を、２Ｍの（ジアゾメチル）トリメチルシラン（１．０５ｇ、９．２３ｍｍｏｌ）のエーテル溶液で、０℃で３０分かけて滴下しながら処理する。ＡｃＯＨで過剰の試薬を失活させた後、水（２×５ｍＬ）で洗浄し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_{4}$）、ろ過し、ロータリーエバポレーションにより溶媒を除去し、次にカラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物１４２を得る。

【１３９３】

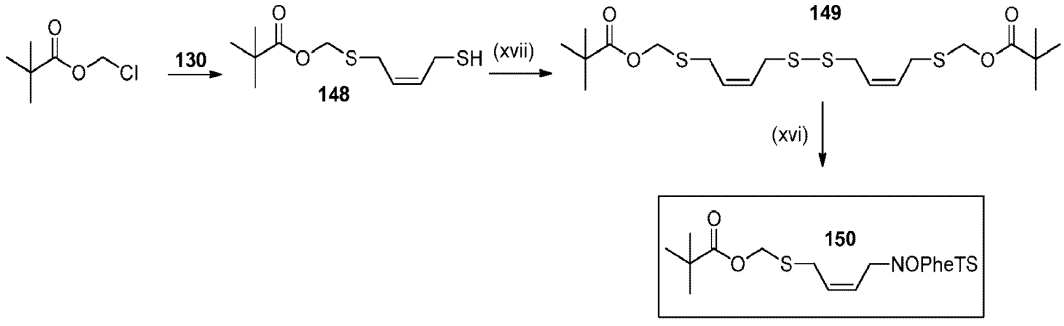
化合物１４３：化合物８０の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物７９の代わりに化合物１４２を使用して、このようにして純粋な化合物１４３を得る。

化合物１４７の合成
【化３９８】



【１３９４】
化合物１４４：化合物６９ａの合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物６７の代わりに化合物１３６を使用して、かつNH_4Clと$^iPr_2NEt$の代わりに化合物５４を使用して、このようにして純粋な化合物１４４を得る。
【１３９５】
化合物１４５：$LiAlH_4$（２ＭのＴＨＦ溶液の１００ｍＬ）を氷冷した化合物１４４（８６ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（５００ｍＬ）溶液に滴下する。混合物を室温に温め、次に０．５時間還流する。氷冷した溶液へ、顆粒状沈殿が形成するまで飽和Na_2SO_4を注意深く添加することにより、残留の$LiAlH_4$を壊す。混合物をろ過し、濃縮して、次にＥｔＯＡｃに再溶解し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、真空下で濃縮して、化合物１４５を得る。この化合物１４５は反応の次の段階において直接使用するのに十分高純度である。
【１３９６】
化合物１４６：化合物１２４の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物１２３の代わりに化合物１４５を使用して、かつ２‐アミノ酢酸ｔｅｒｔ‐ブチルの代わりにＬｅｕ‐Ｆｍｏｃ‐ＯＨを使用して、このようにして純粋な化合物１４６を得る。
【１３９７】
化合物１４７：化合物８０の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物７９の代わりに化合物１４６を使用して、かつ４‐メチルベンゼンスルホノチオ酸カリウムの代わりに化合物１１４を使用して、このようにして純粋な化合物１４７を得る。

化合物１５０の合成
【化３９９】



【１３９８】
化合物１４８：市販のピバル酸クロロメチル（１０ｍｍｏｌ）を、化合物１３０（２０

ｍｍｏｌ）の１，２‐ジクロロエタン（１００ｍＬ）溶液に、アルゴン下で撹拌しながら滴下する。強制して完了させるため（ＴＬＣによりピバル酸クロロメチル物質の消失を確認する）、生成した溶液を加熱する。溶媒をロータリーエバポレーションにより除去し、次に残渣をカラムクロマトグラフィーに付し、純粋な化合物１４８を得る。

【１３９９】

化合物１４９：化合物８９の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物８８の代わりに化合物１４８を使用して、このようにして純粋な化合物１４９を得る。

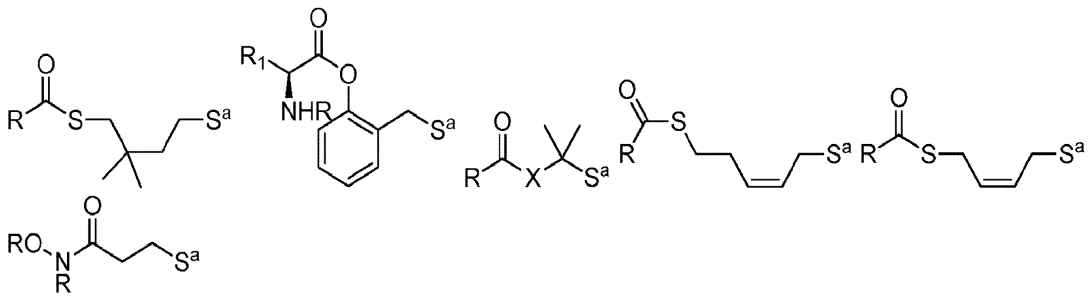
【１４００】

化合物１５０：化合物８７の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物８６の代わりに化合物１４９を使用して、このようにして純粋な化合物１５０を得る。

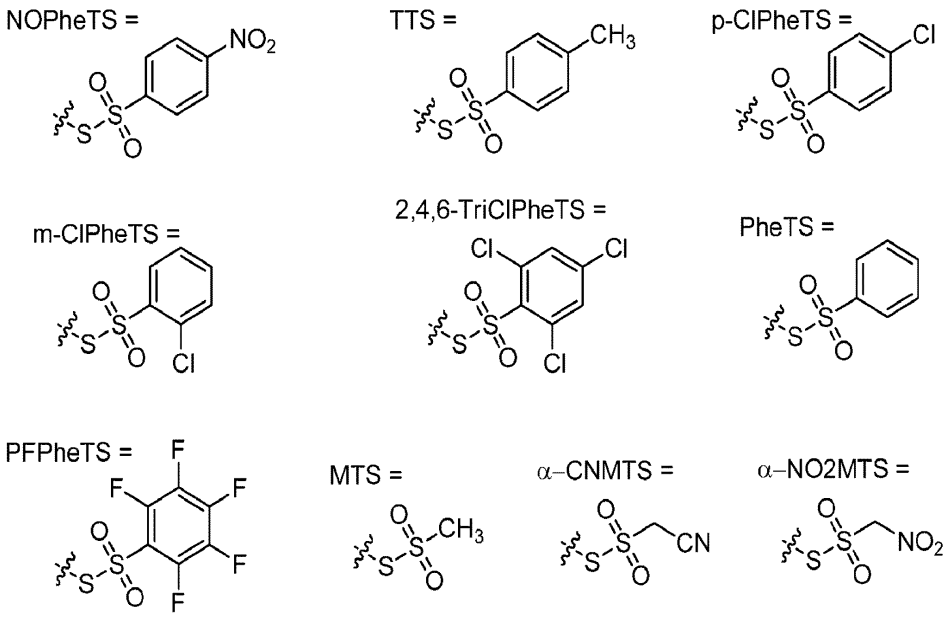
【１４０１】

さらなる硫化剤：

【化４００】



式中、Ｓ^{a}は以下の構造のいずれかを表わす：

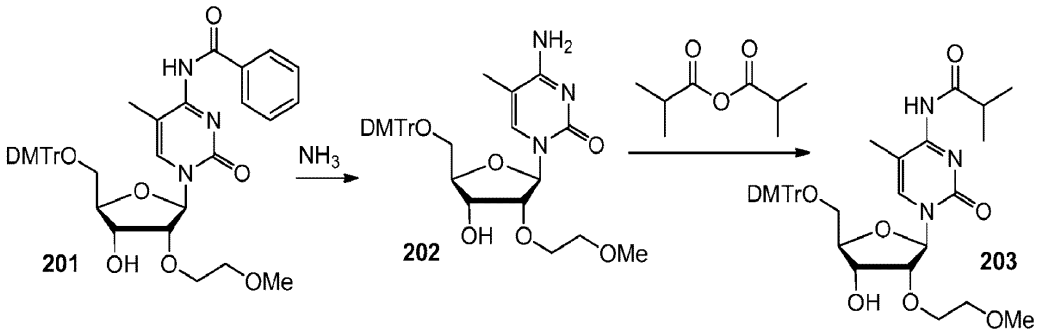


【１４０２】

ホスホラミダイトの合成

いくつかの実施形態においては、本発明はホスホラミダイト、およびその作製方法を提供する。いくつかの実施形態においては、提供するホスホラミダイトは、本願において記載されるオリゴヌクレオチドの合成において使用した。例示的なホスホラミダイトおよびそれらの合成を以下に記載する。

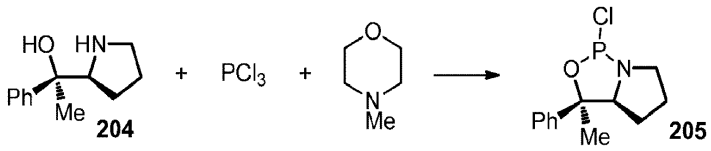
化合物２０３の合成
【化４０１】



【１４０３】
化合物２０２：ＴＬＣおよびＵＰＬＣ／ＭＳでモニターしながら、Ｎ^4－Ｂｚ－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－ＭＯＥ－５－メチルシチジン（化合物２０１）（２．００ｇ、２．７７ｍｍｏｌ）を、２－プロパノール（アルドリッチ（Ａｌｄｒｉｃｈ）、無水、４５ｍＬ）中の２Ｍのアンモニアおよびピリジン（２２．５ｍＬ）と６０℃で５時間処理し、次に室温で一晩処理した。溶媒を除去し（３×トルエンとの共沸混合物）、次にカラムクロマトグラフィー（０－１０％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）により純粋な化合物２０２を無色固体として得た（１．６２ｇ、９５％）。ＴＬＣおよびＨＰＬＣより、この化合物２０２は均一であった。（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：６１８．２８、実測値：６１８．５３；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ７．８２（ｄ、Ｊ＝１．３Ｈｚ、１Ｈ）、７．４７－７．４０（ｍ、２Ｈ）、７．３７－７．１８（ｍ、８Ｈ）、６．８３（ｄｄ、Ｊ＝８．９、１．７Ｈｚ、４Ｈ）、５．９３（ｄ、Ｊ＝１．１Ｈｚ、１Ｈ）、４．４３（ｔｄ、Ｊ＝８．３、４．９Ｈｚ、１Ｈ）、４．２４（ｄｄｄ、Ｊ＝１１．７、５．１、３．０Ｈｚ、１Ｈ）、４．０７（ｄｔ、Ｊ＝８．６、２．４Ｈｚ、１Ｈ）、４．０３－３．９８（ｍ、１Ｈ）、３．９０（ｄｄｄ、Ｊ＝１１．７、６．３、３．３Ｈｚ、１Ｈ）、３．７９（ｄ、Ｊ＝１．０Ｈｚ、６Ｈ）、３．６３－３．５２（ｍ、３Ｈ）、３．４４（ｄｄ、Ｊ＝１１．０、３．０Ｈｚ、１Ｈ）、３．３７（ｓ、３Ｈ）、３．３２（ｄ、Ｊ＝９．４Ｈｚ、１Ｈ）、１．８０－１．６４（ｓ、ｂｒ、１Ｈ）、１．１３（ｓ、３Ｈ）。

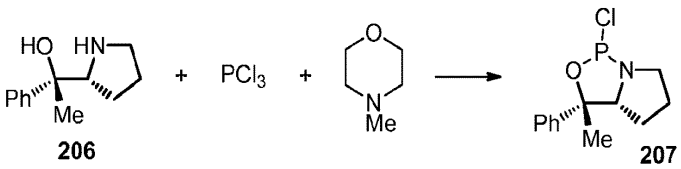
【１４０４】
化合物２０３：イソ酪酸無水物（０．４８ｍｌ、２．９ｍｍｏｌ）を、化合物２０２（１．６１ｇ、２．６１ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１３ｍｌ）溶液に室温で滴下した。溶液を室温で２４時間にわたり撹拌し、次に溶媒を真空下、３５℃で除去した。エーテル／炭酸水素塩へ抽出し、次に乾燥し（ＭｇＳＯ$_4$）、ろ過し、溶媒を除去して、粗製生成物を無色固体泡状物質として得た。カラムクロマトグラフィー（０－４％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）により、純粋な生成物を無色固体泡状物質として得た（１．７５ｇ、９８％）。ＴＬＣおよびＨＰＬＣより、この生成物は均一であった。（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：６８８．３２、実測値：６８８．５６；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ８．００－７．７５（ｂｒ、１Ｈ）、７．４５－７．３９（ｍ、２Ｈ）、７．３４－７．２０（ｍ、８Ｈ）、６．８４（ｄｄ、Ｊ＝９．０、１．２Ｈｚ、４Ｈ）、５．９７（ｓ、１Ｈ）、４．４３（ｄ、Ｊ＝６．１Ｈｚ、１Ｈ）、４．２０－４．０４（ｍ、３Ｈ）、３．７９（ｄ、Ｊ＝０．９Ｈｚ、６Ｈ）、３．６４－３．５８（ｍ、１Ｈ）、３．６４－３．５２（ｍ、２Ｈ）、３．４７－３．４０（ｍ、２Ｈ）、３．３８（ｓ、３Ｈ）、１．７０－１．５５（ｂｒ、１Ｈ）、１．３９（ｄ、Ｊ＝１．０Ｈｚ、３Ｈ）、１．１８（ｄ、Ｊ＝６．９Ｈｚ、６Ｈ）。

化合物２０５の合成
【化４０２】



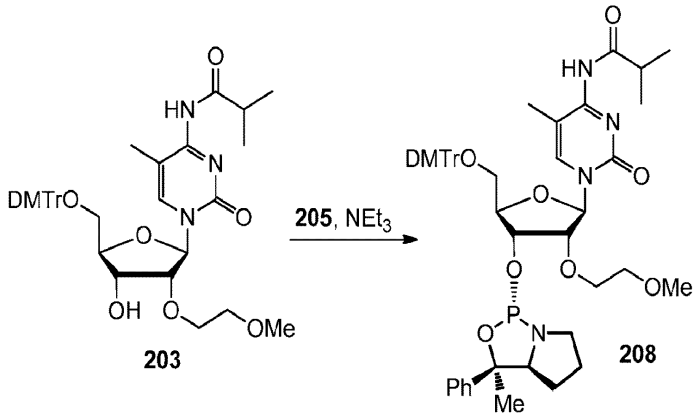
【１４０５】
化合物２０５：（Ｒ）－１－フェニル－１－（（Ｓ）－ピロリジン－２－イル）エタノール（化合物４）をトルエン（３×３ｍＬ）との共沸蒸留により乾燥した。乾燥した化合物４（０．７２５ｇ、３．７９ｍｍｏｌ）および４－メチルモルホリン（０．８３３ｍｌ、７．５８ｍｍｏｌ）のトルエン（５ｍＬ）溶液を、氷冷した三塩化リン（０．３３１ｍｌ、３．７９ｍｍｏｌ）のトルエン（５ｍＬ）溶液に加え、次にこれを１時間室温に温め、その後Ａｒ下でろ過し、濃縮して油状物質を得た。この油状物質は、さらなる精製なしで反応の次の段階において使用した。

化合物２０７の合成
【化４０３】



【１４０６】
化合物２０７：化合物２０５の合成について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０４の代わりに化合物２０６を使用して、化合物２０７を粗製の茶色油状物質として得た。この油状物質は、さらなる精製なしで反応の次の段階において使用した。

化合物２０８の合成
【化４０４】

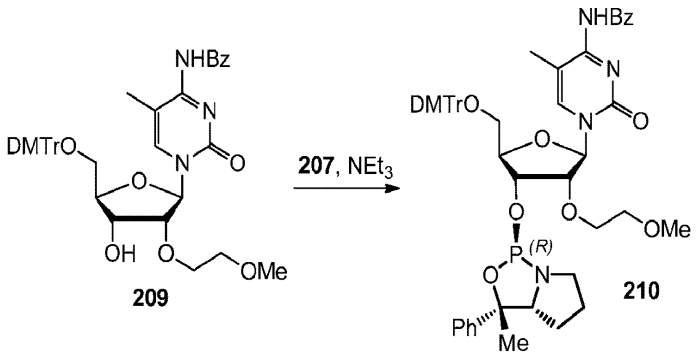


【１４０７】
化合物２０８：化合物２０３（１．７４ｇ、２．５３ｍｍｏｌ）をピリジン（３×５ｍ

Ｌ）と、次にトルエン（５×５ｍＬ）との同時蒸発により脱水した。生成した、脱水した化合物２０３をＴＨＦ（１５ｍＬ）に溶解し、次にトリエチルアミン（２．４７ｍｌ、１７．７ｍｍｏｌ）を加え、CO_2／アセトン冷却浴法により溶液を－７８℃に冷却した。粗製の化合物２０５（３．７９ｍｍｏｌ）のＴＨＦ溶液（１５ｍＬ）を０．５時間かけて滴下し、次にゆっくり室温まで温めた。室温で１時間後、ＴＬＣは化合物２０３が生成物に完全に変換したことを示した。混合物をクロロホルム（１００ｍＬ）で洗浄して分液漏斗に入れ、次に$NaHCO_3$（飽和、水溶液、５０ｍＬ次に２×２５ｍＬ）で抽出した。各抽出で、水性抽出物をさらなる１×１０ｍＬのクロロホルムで洗浄した。ひとつに合わせたクロロホルム抽出物を乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、３２℃でロータリーエバポレーションにより濃縮した。このようにして粗製固体を得て、トリエチルアミンを数滴含有するＤＣＭに再溶解し、次に２％の定常濃度のトリエチルアミンを含有するヘキサン／ＥｔＯＡｃ勾配でのカラムクロマトグラフィーに付し、純粋な化合物２０８を白色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、CD_3CN）δ７．９２‐７．８０（ｓ、１Ｈ）、７．５２‐７．４７（ｍ、２Ｈ）、７．４０‐７．２４（ｍ、１２Ｈ）、６．８８（ｄｄ、Ｊ＝９．０、１．１Ｈｚ、４Ｈ）、５．９４（ｄ、Ｊ＝３．９Ｈｚ、１Ｈ）、４．７９（ｄｔ、Ｊ＝９．６、５．６Ｈｚ、１Ｈ）、４．３１‐４．２７（ｍ、１Ｈ）、４．２７‐４．２２（ｍ、１Ｈ）、３．８７（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、２Ｈ）、３．７５（ｄ、Ｊ＝２．０Ｈｚ、６Ｈ）、３．６６（ｔｄ、Ｊ＝５．９、５．５、２．２Ｈｚ、１Ｈ）、３．５８‐３．５３（ｍ、２Ｈ）、３．５０（ｄｄ、Ｊ＝１１．１、２．４Ｈｚ、１Ｈ）、３．３８（ｄｄ、Ｊ＝１１．０、３．３Ｈｚ、１Ｈ）、３．３１（ｓ、３Ｈ）、２．８５（ｄｑ、Ｊ＝１０．５、７．４、６．９Ｈｚ、２Ｈ）、１．７３（ｓ、３Ｈ）、１．５２（ｄ、Ｊ＝１．０Ｈｚ、３Ｈ）、１．４７‐１．３２（ｍ、２Ｈ）、１．１７（ｄｄ、Ｊ＝６．９、０．７Ｈｚ、６Ｈ）、１．０５‐０．９０（ｍ、２Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、CD_3CN）δ１５５．３５。

化合物２１０の合成

【化４０５】



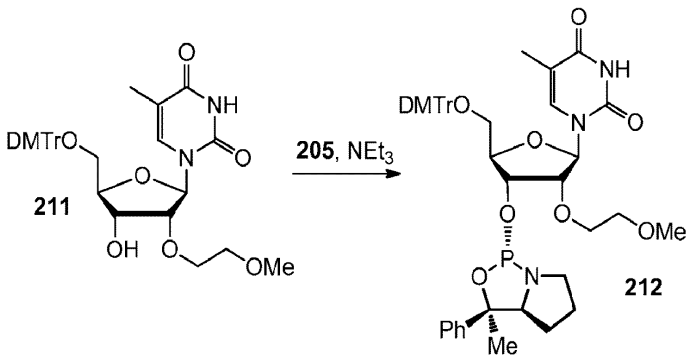
【１４０８】

化合物２１０：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２０９を使用して、かつ化合物２０５の代わりに化合物２０７を使用して、純粋な化合物２１０を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、CD_3CN）δ８．３１‐８．２７（ｍ、２Ｈ）、７．８６（ｄ、Ｊ＝１．２Ｈｚ、１Ｈ）、７．６２‐７．５５（ｍ、１Ｈ）、７．５５‐７．４５（ｍ、５Ｈ）、７．４４‐７．２４（ｍ、１２Ｈ）、６．９４‐６．９０（ｍ、４Ｈ）、５．９６（ｄ、Ｊ＝３．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．８６‐４．７６（ｍ、１Ｈ）、４．２９（ｄｄ、Ｊ＝５．０、３．８Ｈｚ、１Ｈ）、４．２３（ｄｔ、Ｊ＝５．８、２．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．９２‐３．８０（ｍ、２Ｈ）、３．７８（ｓ、６Ｈ）、３．７４（ｄｄｄ、Ｊ＝７．１、５．３、２．１Ｈｚ、１Ｈ）、３．５５（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、２Ｈ）、３．５１（ｄ、Ｊ＝２．３Ｈ

ｚ、１Ｈ）、３．４１（ｄｄ、Ｊ＝１１．１、３．４Ｈｚ、１Ｈ）、３．３０（ｓ、３Ｈ）、３．２６（ｄｄｄ、Ｊ＝１０．３、６．１、２．２Ｈｚ、１Ｈ）、２．８６（ｄｄｔ、Ｊ＝１０．１、８．２、７．２Ｈｚ、１Ｈ）、１．７２（ｄ、Ｊ＝０．７Ｈｚ、３Ｈ）、１．６２（ｄ、Ｊ＝１．１Ｈｚ、３Ｈ）、１．５６‐１．４１（ｍ、２Ｈ）、１．０９‐０．８７（ｍ、２Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、ＣＤ$_3$ＣＮ）δ１５５．２２。

化合物２１２の合成

【化４０６】

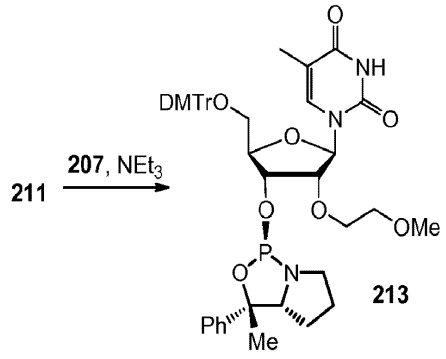


【１４０９】

化合物２１２：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２１１を使用して、純粋な化合物２１２を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ９．２５‐８．７０（ｂｒ、１Ｈ）、７．６９（ｄ、Ｊ＝１．３Ｈｚ、１Ｈ）、７．４６‐７．４０（ｍ、２Ｈ）、７．４０‐７．１７（ｍ、１２Ｈ）、６．８１（ｄｄ、Ｊ＝９．０、２．５Ｈｚ、４Ｈ）、６．０９（ｄ、Ｊ＝４．３Ｈｚ、１Ｈ）、４．７８（ｄｔ、Ｊ＝９．６、５．２Ｈｚ、１Ｈ）、４．３６‐４．２６（ｍ、２Ｈ）、３．９４‐３．８８（ｍ、２Ｈ）、３．７４（ｄｄ、Ｊ＝４．０、０．９Ｈｚ、６Ｈ）、３．６９（ｔｄ、Ｊ＝６．４、２．９Ｈｚ、１Ｈ）、３．６４‐３．５６（ｍ、３Ｈ）、３．４４‐３．３７（ｍ、２Ｈ）、３．３６（ｄ、Ｊ＝０．９Ｈｚ、３Ｈ）、３．００（ｄｔｄ、Ｊ＝１０．３、７．９、６．４Ｈｚ、１Ｈ）、１．７２（ｓ、３Ｈ）、１．５４‐１．４４（ｍ、１Ｈ）、１．３８（ｄｄ、Ｊ＝６．８、５．４Ｈｚ、１Ｈ）、１．３４（ｄ、Ｊ＝１．２Ｈｚ、３Ｈ）、１．２３‐１．１３（ｍ、１Ｈ）、０．９７‐０．８７（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．１８。

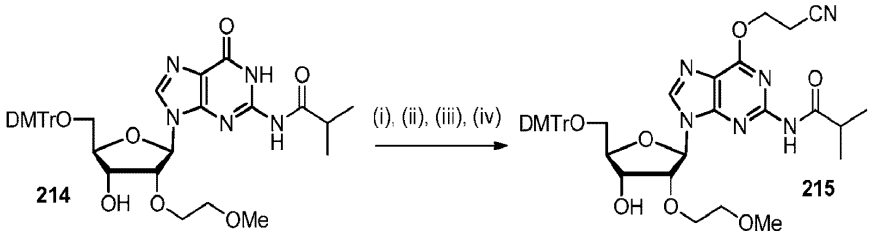
化合物２１３の合成

【化４０７】



【１４１０】
化合物２１３：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２１１を使用して、純粋な化合物２１３を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．５５－９．１０（ｂｒ、１Ｈ）、８．０９（ｄ、Ｊ＝１．５Ｈｚ、１Ｈ）、７．８０－７．７１（ｍ、２Ｈ）、７．６９－７．４７（ｍ、１２Ｈ）、７．２０－７．０８（ｍ、４Ｈ）、６．３２（ｄ、Ｊ＝２．９Ｈｚ、１Ｈ）、５．２０－５．１１（ｍ、１Ｈ）、４．６６－４．５９（ｍ、１Ｈ）、４．４９－４．３９（ｍ、１Ｈ）、４．３３－４．２４（ｍ、１Ｈ）、４．１６－４．０２（ｍ、８Ｈ）、４．００－３．９３（ｍ、１Ｈ）、３．９１－３．８４（ｍ、２Ｈ）、３．７３（ｄｄ、Ｊ＝１１．０、２．５Ｈｚ、１Ｈ）、３．６５－３．５２（ｍ、４Ｈ）、３．２７－３．１６（ｍ、１Ｈ）、２．１５（ｓ、３Ｈ）、１．８８－１．７６（ｍ、１Ｈ）、１．７６－１．６５（ｍ、１Ｈ）、１．６３－１．４９（ｍ、４Ｈ）、１．２９－１．１８（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１６０．０８。

化合物２１５の合成
【化４０８】

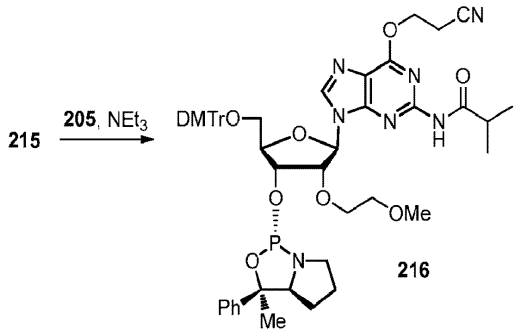


（ｉ）ＴＭＳＣｌ、ＮＥｔ$_{3}$、０℃；(ii)２，４，６－トリメチルベンゼン－１－スルホニルクロリド、ＤＭＡＰ；（ｉｉｉ）１－メチルピロリジン、３－ヒドロキシプロパンニトリル、ＤＢＵ、０℃；（ｉｖ）ＭｅＯＨ／Ｈ$_{2}$Ｏ、４ｄ、室温
【１４１１】
化合物２１５：（ｉ）一時的なＴＭＳ保護：Ｎ^{2}－イソブチリル－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－ＭＯＥ－グアノシン（化合物２１４）（１５．０４ｇ、２１．１ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（１１．８ｍｌ、８５ｍｍｏｌ）の溶液をＡＣＮ（２００ｍＬ）に入れ、次にクロロトリメチルシラン（１０．４ｍｌ、８２ｍｍｏｌ）を氷冷したこの溶液に滴下し、この溶液をＴＬＣでモニターしながら室温で１時間撹拌した。ろ過し、溶媒を除去し、次に抽出（ＤＣＭ／ＮａＨＣＯ$_{3}$　５００ｍＬ／２００ｍＬ）し、乾燥し（ＭｇＳＯ$_{4}$）、ろ過し、そして溶媒を除去して、粗製化合物を得た。この化合物はさらなる精製なしで、反応の次の段階において使用した。ＴＬＣ（Ｒ$_{f}$＝０．６、（５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ））より、化合物は均一であった。（ｉｉ）シアノエチル保護に向けたＯ^{6}部位の活性化：残渣をＤＣＭ（５００ｍＬ）に再溶解し、次にトリエチルアミン（１３．１ｍｌ、９４ｍｍｏｌ）を加え、その後２，４，６－トリメチルベンゼン－１－スルホニルクロリド（６．１５ｇ、２８．１ｍｍｏｌ）およびＤＭＡＰ（０．１４ｇ、１．１４６ｍｍｏｌ）を加えた。出発物質が完全に消失するまで、かつＴＬＣ（Ｒ$_{f}$＝０．９、（５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ））で新たなスポットが出現するまで、ＴＬＣによりモニターしながら混合物を室温で３時間撹拌した。（ｉｉｉ）シアノエチル保護：１－メチルピロリジン（２２．４３ｍｌ、２１１ｍｍｏｌ）を氷冷した溶液にゆっくり滴下し、ＴＬＣ（新たなスポット、Ｒ$_{f}$＝０．２、ストリーク、（５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ））によりモニターしながら、０℃で１時間にわたりさらに反応させた。まだ氷冷した溶液に、３－ヒドロキシプロパンニトリル（１４．４０ｍｌ、２１１．０ｍｍｏｌ）を滴下し、その後続いてＤＢＵ（６．３２ｍＬ、４２．１ｍｍｏｌ）を滴下し、ＴＬＣ（新たなスポット、Ｒ$_{f}$＝０．６、（

５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ））によりモニターしながら、さらに９０分間撹拌を続けた。強制して反応をほぼ完了させるため、ＴＬＣにより注意深くモニターしながら、さらに１．６ｍＬのＤＢＵを滴下した。混合物をNaH_2PO_4（４００ｍＬの水中に５０ｇ）に注ぎ、有機物を分離し、希釈したNaH_2PO_4（２００ｍＬの水中に１０ｇ）で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、ろ過し、ロータリーエバポレーションにより濃縮した。（ｉｖ）ＴＭＳ脱保護：前ステップにおいてこのようにして得た残渣をＭｅＯＨ（２５０ｍＬ）に再溶解し、次に沈殿が生じないよう注意しながら水を滴下した。ＴＬＣによりモニターしながら、４日にわたり滴下を続けた。大半の溶媒を除去し、残渣を抽出し（ＤＣＭ／ＮａＨCO_3（５００／２００ｍＬ））、ろ過して濃縮した。残渣をカラム精製（０‐５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）に付し、純粋な化合物２１５を白色泡状物質として得た。ＴＬＣおよびＨＰＬＣより、この泡状物質は均一であった。（ＥＳＩ＋）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：７６７．３４、実測値：７６７．０３；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ、CD_3CN）δ８．６３（ｓ、１Ｈ）、８．０７（ｓ、１Ｈ）、７．４４‐７．３６（ｍ、２Ｈ）、７．３３‐７．１８（ｍ、７Ｈ）、６．８４‐６．７２（ｍ、４Ｈ）、６．０２（ｄ、Ｊ＝３．２Ｈｚ、１Ｈ）、４．７４（ｔｄ、Ｊ＝６．２、０．９Ｈｚ、２Ｈ）、４．７１‐４．６４（ｍ、２Ｈ）、４．１４‐４．０６（ｍ、１Ｈ）、３．８８‐３．７３（ｍ、８Ｈ）、３．５７‐３．４１（ｍ、４Ｈ）、３．３２‐３．２３（ｍ、３Ｈ）、３．０８（ｔ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、２Ｈ）、２．７７（ｄｔ、Ｊ＝１３．７、６．９Ｈｚ、１Ｈ）、１．１４（ｄｄ、Ｊ＝６．９、１．２Ｈｚ、６Ｈ）。

化合物２１６の合成

【化４０９】

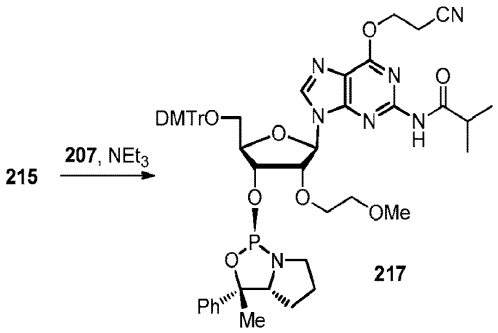


【１４１２】

化合物２１６：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２１５を使用して、純粋な化合物２１６を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、CD_3CN）δ８．４１（ｓ、１Ｈ）、８．１２（ｓ、１Ｈ）、７．５０‐７．４４（ｍ、２Ｈ）、７．４０‐７．１９（ｍ、１２Ｈ）、６．８０（ｄｄ、Ｊ＝８．９、５．２Ｈｚ、４Ｈ）、６．０４（ｄ、Ｊ＝５．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．９９（ｔ、Ｊ＝５．５Ｈｚ、１Ｈ）、４．９４（ｄｄｄ、Ｊ＝９．９、５．２、３．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．７５（ｔ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、２Ｈ）、４．２９（ｑ、Ｊ＝３．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．８９‐３．８２（ｍ、１Ｈ）、３．７６‐３．６８（ｍ、７Ｈ）、３．６４（ｄｄｄ、Ｊ＝６．８、５．５、２．３Ｈｚ、１Ｈ）、３．５０‐３．４６（ｍ、２Ｈ）、３．４２（ｓ、２Ｈ）、３．３８‐３．２８（ｍ、１Ｈ）、３．２１（ｓ、３Ｈ）、３．０９（ｔ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、２Ｈ）、２．８４（ｄｑ、Ｊ＝１０．２、７．３Ｈｚ、１Ｈ）、２．７０‐２．５８（ｍ、１Ｈ）、１．７６（ｓ、３Ｈ）、１．４６‐１．２７（ｍ、２Ｈ）、１．１２（ｄ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、３Ｈ）、１．０７（ｄ、Ｊ＝６．８Ｈｚ、３Ｈ）、１．０４‐０．８９（ｍ、２Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、CD_3CN）δ１５４．４０。

化合物２１７の合成

【化４１０】

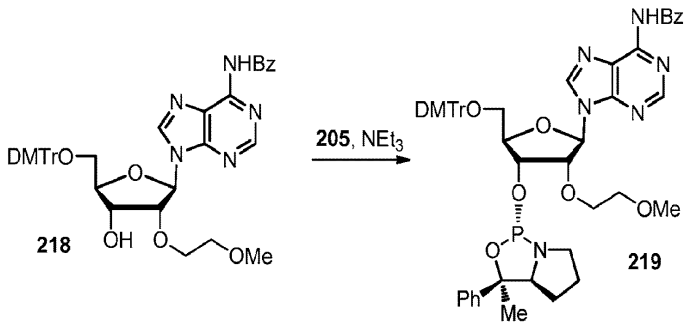


【１４１３】

化合物２１７：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２１５を使用して、純粋な化合物２１７を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤ$_{3}$ＣＮ）δ８．５６（ｓ、１Ｈ）、８．１３（ｓ、１Ｈ）、７．４４（ｄｄ、Ｊ＝８．２、１．５Ｈｚ、２Ｈ）、７．３９‐７．１９（ｍ、１２Ｈ）、６．８１（ｄｄ、Ｊ＝１０．４、８．９Ｈｚ、４Ｈ）、６．０６（ｄ、Ｊ＝４．５Ｈｚ、１Ｈ）、４．９６‐４．８６（ｍ、２Ｈ）、４．７５（ｔ、Ｊ＝６．２Ｈｚ、２Ｈ）、４．３０（ｔｄ、Ｊ＝５．１、４．７、２．４Ｈｚ、１Ｈ）、３．８３（ｄｔ、Ｊ＝１１．２、４．３Ｈｚ、１Ｈ）、３．７９‐３．７０（ｍ、７Ｈ）、３．６７（ｄｄｄ、Ｊ＝７．１、５．２、２．０Ｈｚ、１Ｈ）、３．５２‐３．４５（ｍ、３Ｈ）、３．４１（ｄｄ、Ｊ＝１０．８、２．７Ｈｚ、１Ｈ）、３．３４‐３．２４（ｍ、１Ｈ）、３．２１（ｓ、３Ｈ）、３．０８（ｔ、Ｊ＝６．１Ｈｚ、２Ｈ）、２．８９‐２．７２（ｍ、２Ｈ）、１．６８（ｓ、３Ｈ）、１．５４‐１．３８（ｍ、２Ｈ）、１．１４（ｄｄ、Ｊ＝６．８、５．４Ｈｚ、６Ｈ）、１．０９‐１．００（ｍ、１Ｈ）、０．９５‐０．８３（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、ＣＤ$_{3}$ＣＮ）δ１５４．９３。

化合物２１９の合成

【化４１１】



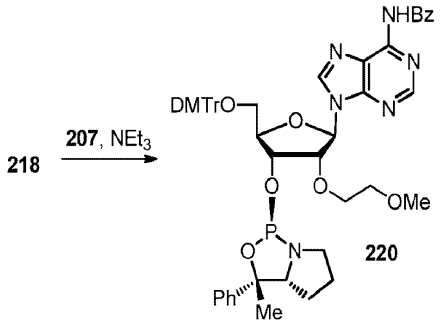
【１４１４】

化合物２１９：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２１８を使用して、純粋な化合物２１９を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．３１（ｓ、１Ｈ）、８．７２（ｓ、１Ｈ）、８．２６（ｓ、１Ｈ）、８．０７‐７．９８（ｍ、２Ｈ）、７．６０‐７．５３（ｍ、１Ｈ）、７．５２‐７．４３（ｍ、４Ｈ）、７．３８‐７．１５（ｍ、１２Ｈ）、６．８３‐６．７４（ｍ、４Ｈ）、６．２４（ｄ、Ｊ＝５．２Ｈｚ、１Ｈ）、５．０３‐４．９２（ｍ、２Ｈ）、４．４５（ｑ、Ｊ＝３．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．９３（ｄｔ、Ｊ＝１１．４、４．２Ｈｚ、１Ｈ）、３．７７（ｄｄｄ、Ｊ＝７．５、５．８、３．２Ｈ

ｚ、２Ｈ）、３．７３（ｓ、６Ｈ）、３．６０‐３．４９（ｍ、３Ｈ）、３．４７‐３．３７（ｍ、２Ｈ）、３．２６（ｓ、３Ｈ）、３．０２‐２．９２（ｍ、１Ｈ）、１．８１（ｓ、３Ｈ）、１．５６‐１．４３（ｍ、１Ｈ）、１．３７（ｄｑ、Ｊ＝１３．２、６．５Ｈｚ、１Ｈ）、１．２２‐１．０９（ｍ、１Ｈ）、０．９６（ｄｄｔ、Ｊ＝１３．１、７．９、６．８Ｈｚ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５７．７３。

化合物２２０の合成

【化４１２】

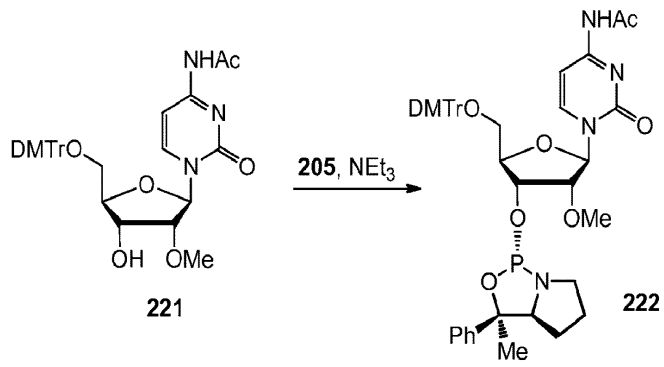


【１４１５】

化合物２２０：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２１８を使用して、純粋な化合物２２０を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ９．２６（ｓ、１Ｈ）、８．７３（ｓ、１Ｈ）、８．３１（ｓ、１Ｈ）、８．０２（ｄ、Ｊ＝７．６Ｈｚ、２Ｈ）、７．６０‐７．５３（ｍ、１Ｈ）、７．５２‐７．４０（ｍ、４Ｈ）、７．３９‐７．１３（ｍ、１２Ｈ）、６．８４‐６．７６（ｍ、４Ｈ）、６．２４（ｄ、Ｊ＝４．５Ｈｚ、１Ｈ）、４．９９（ｄｔ、Ｊ＝１０．０、５．０Ｈｚ、１Ｈ）、４．８４（ｔ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．４６（ｑ、Ｊ＝４．０Ｈｚ、１Ｈ）、３．９１（ｄｔ、Ｊ＝１１．１、４．２Ｈｚ、１Ｈ）、３．８５‐３．６９（ｍ、８Ｈ）、３．６３‐３．５０（ｍ、３Ｈ）、３．４２（ｄｄ、Ｊ＝１０．７、４．０Ｈｚ、１Ｈ）、３．４０‐３．３１（ｍ、１Ｈ）、３．２７（ｓ、３Ｈ）、３．００‐２．８９（ｍ、１Ｈ）、１．８２（ｓ、３Ｈ）、１．５８‐１．３８（ｍ、２Ｈ）、１．２０‐１．０９（ｍ、１Ｈ）、１．００（ｄｄｔ、Ｊ＝１２．３、８．８、５．９Ｈｚ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．９８。

化合物２２２の合成

【化４１３】

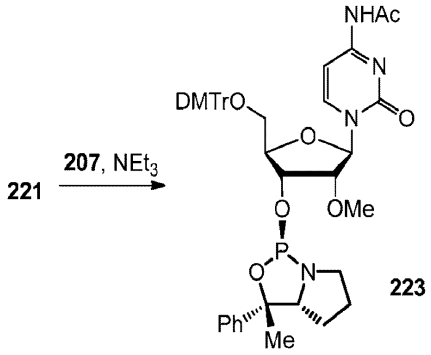


【１４１６】

化合物２２２：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２２１を使用して、純粋な化合物２２２を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１０．４６（ｓ、ｂｒ、１Ｈ）、８．６２（ｄ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、１Ｈ）、７．４２（ｄ、Ｊ＝７．１Ｈｚ、２Ｈ）、７．３６－７．２１（ｍ、１２Ｈ）、７．００（ｄ、Ｊ＝７．５Ｈｚ、１Ｈ）、６．８２（ｄｄ、Ｊ＝９．０、７．１Ｈｚ、４Ｈ）、６．０３（ｓ、１Ｈ）、４．７７（ｔｄ、Ｊ＝８．７、４．８Ｈｚ、１Ｈ）、４．３４（ｄｔ、Ｊ＝９．４、２．３Ｈｚ、１Ｈ）、３．９７（ｄ、Ｊ＝４．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．７８（ｄｄ、Ｊ＝６．７、３．４Ｈｚ、１Ｈ）、３．７４（ｓ、３Ｈ）、３．７１（ｓ、６Ｈ）、３．６８－３．５８（ｍ、２Ｈ）、３．４８－３．３８（ｍ、１Ｈ）、３．０１（ｐ、Ｊ＝７．８Ｈｚ、１Ｈ）、２．２７（ｓ、３Ｈ）、１．７２（ｓ、３Ｈ）、１．４９（ｔｔ、Ｊ＝１２．３、７．０Ｈｚ、１Ｈ）、１．４０（ｄｑ、Ｊ＝１３．２、６．６Ｈｚ、１Ｈ）、１．１８（ｄｑ、Ｊ＝１３．９、７．０Ｈｚ、１Ｈ）、１．０２－０．９０（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．７１。

化合物２２３の合成

【化４１４】

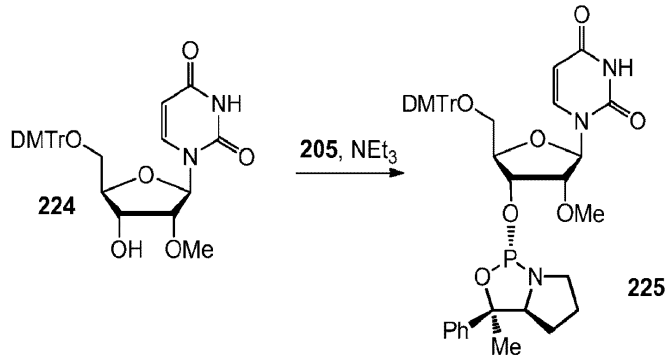


【１４１７】

化合物２２３：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２２１を使用して、純粋な化合物２２３を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．７６（ｓ、１Ｈ）、８．７０（ｄ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、１Ｈ）、７．４８－７．４１（ｍ、２Ｈ）、７．４１－７．１８（ｍ、１２Ｈ）、７．０６（ｄ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、１Ｈ）、６．８７（ｄｄ、Ｊ＝８．９、１．９Ｈｚ、４Ｈ）、６．００（ｓ、１Ｈ）、４．８０（ｔｄ、Ｊ＝９．２、４．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．３３（ｄ、Ｊ＝９．５Ｈｚ、１Ｈ）、３．８４（ｄ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、１Ｈ）、３．８１（ｓ、３Ｈ）、３．８０（ｓ、３Ｈ）、３．７２（ｔｄ、Ｊ＝６．６、３．４Ｈｚ、１Ｈ）、３．７０－３．６２（ｍ、４Ｈ）、３．５３（ｄｄ、Ｊ＝１１．３、２．２Ｈｚ、１Ｈ）、３．３４（ｔｄｄ、Ｊ＝１０．７、７．８、４．９Ｈｚ、１Ｈ）、２．９６（ｄｑ、Ｊ＝１０．３、７．６Ｈｚ、１Ｈ）、２．２５（ｓ、３Ｈ）、１．８３（ｓ、３Ｈ）、１．５６－１．４８（ｍ、１Ｈ）、１．４３（ｄｑ、Ｊ＝１３．１、６．４Ｈｚ、１Ｈ）、１．２４－１．１６（ｍ、１Ｈ）、１．００－０．９１（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５７．１７。

化合物２２５の合成

【化４１５】

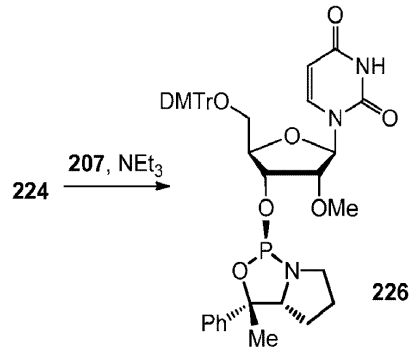


【１４１８】

化合物２２５：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２２４を使用して、純粋な化合物２２５を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．７６（ｓ、ｂｒ、１Ｈ）、８．７０（ｄ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、１Ｈ）、７．４８‐７．４１（ｍ、２Ｈ）、７．４１‐７．１８（ｍ、１２Ｈ）、７．０６（ｄ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、１Ｈ）、６．８７（ｄｄ、Ｊ＝８．９、１．９Ｈｚ、４Ｈ）、６．００（ｓ、１Ｈ）、４．８０（ｔｄ、Ｊ＝９．２、４．７Ｈｚ、１Ｈ）、４．３３（ｄ、Ｊ＝９．５Ｈｚ、１Ｈ）、３．８４（ｄ、Ｊ＝４．７Ｈｚ、１Ｈ）、３．８１（ｓ、３Ｈ）、３．８０（ｓ、３Ｈ）、３．７２（ｔｄ、Ｊ＝６．６、３．４Ｈｚ、１Ｈ）、３．６９‐３．６２（ｍ、４Ｈ）、３．５３（ｄｄ、Ｊ＝１１．３、２．２Ｈｚ、１Ｈ）、３．３４（ｔｄｄ、Ｊ＝１０．７、７．８、４．９Ｈｚ、１Ｈ）、２．９６（ｄｑ、Ｊ＝１０．３、７．６Ｈｚ、１Ｈ）、２．２５（ｓ、３Ｈ）、１．８３（ｓ、３Ｈ）、１．５６‐１．４８（ｍ、１Ｈ）、１．４３（ｄｑ、Ｊ＝１３．１、６．４Ｈｚ、１Ｈ）、１．２４‐１．１６（ｍ、１Ｈ）、１．００‐０．９１（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．９７。

化合物２２６の合成

【化４１６】



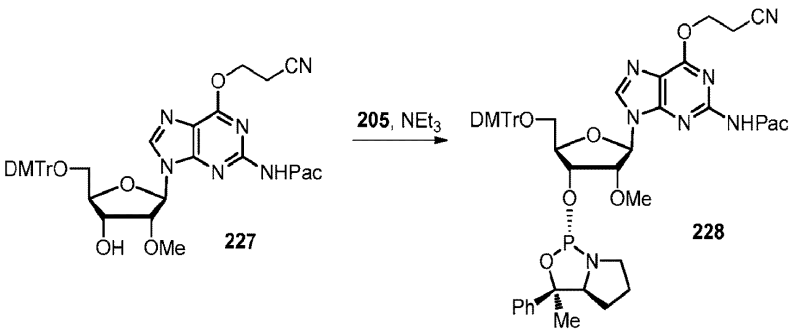
【１４１９】

化合物２２６：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２２４を使用して、純粋な化合物２２６を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．８‐９．０（ｂｒ、１Ｈ）、８．０９（ｄ、Ｊ＝８．２Ｈｚ、１Ｈ）、７．４０（ｄ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、２Ｈ）、７．３６‐７．１９（ｍ、１２Ｈ）、６．８０（ｄｄ、Ｊ＝１１．４、８．８Ｈｚ、４Ｈ）、６．０２（ｄ、Ｊ＝２．２Ｈｚ、１Ｈ）、５．２２（ｄ、Ｊ＝８．１Ｈｚ、１Ｈ）、４．８２（ｔｄ、Ｊ＝８．１、４．９Ｈｚ、１Ｈ）、４．２７（ｄ、Ｊ＝７．４Ｈｚ、１Ｈ）、

３．９６（ｄｄ、Ｊ＝５．０、２．２Ｈｚ、１Ｈ）、３．８１‐３．７６（ｍ、１Ｈ）、３．７４（ｓ、３Ｈ）、３．７０（ｓ、３Ｈ）、３．６２（ｓ、３Ｈ）、３．６１‐３．５４（ｍ、２Ｈ）、３．５０‐３．４１（ｍ、１Ｈ）、３．０４（ｄｔｄ、Ｊ＝１０．２、８．０、６．３Ｈｚ、１Ｈ）、１．７５（ｓ、３Ｈ）、１．５６‐１．４７（ｍ、１Ｈ）、１．４４‐１．３５（ｍ、１Ｈ）、１．２６‐１．１８（ｍ、１Ｈ）、０．９５（ｄｑ、Ｊ＝１２．３、７．５Ｈｚ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．９６。

化合物２２８の合成

【化４１７】

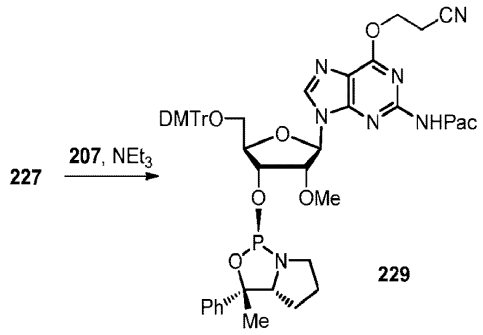


【１４２０】

化合物２２８：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２２７を使用して、純粋な化合物２２８を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．１６。

化合物２２９の合成

【化４１８】

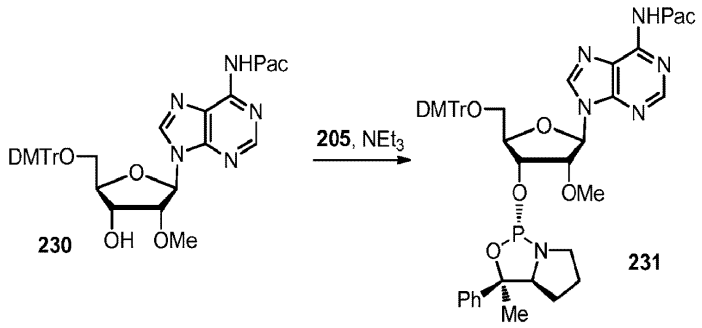


【１４２１】

化合物２２９：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２２７を使用して、純粋な化合物２２９を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．８４。

化合物２３１の合成

【化４１９】

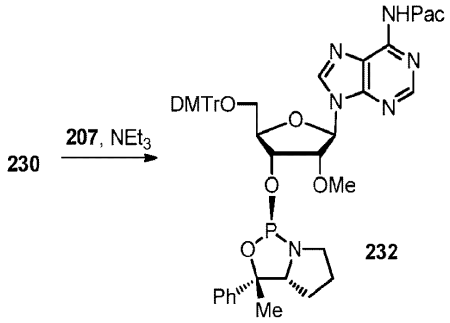


【１４２２】

化合物２３１：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２３０を使用して、純粋な化合物２３１を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．６‐９．３（ｓ、１Ｈ）、８．７３（ｓ、１Ｈ）、８．３２（ｓ、１Ｈ）、７．５０‐７．４１（ｍ、２Ｈ）、７．３９‐７．１６（ｍ、１４Ｈ）、７．１０‐７．０１（ｍ、３Ｈ）、６．８２（ｄ、Ｊ＝８．８Ｈｚ、４Ｈ）、６．２１（ｄ、Ｊ＝４．１Ｈｚ、１Ｈ）、４．９６（ｄｔ、Ｊ＝１０．１、５．１Ｈｚ、１Ｈ）、４．８６（ｓ、２Ｈ）、４．５４（ｔ、Ｊ＝４．５Ｈｚ、１Ｈ）、４．４３（ｑ、Ｊ＝３．９Ｈｚ、１Ｈ）、３．８１‐３．７５（ｍ、７Ｈ）、３．６２（ｄｄ、Ｊ＝１０．８、３．３Ｈｚ、１Ｈ）、３．５４（ｓ、３Ｈ）、３．４６‐３．４２（ｍ、１Ｈ）、３．４１‐３．３３（ｍ、１Ｈ）、３．０１‐２．９３（ｍ、１Ｈ）、１．８２（ｓ、３Ｈ）、１．５６‐１．４７（ｍ、１Ｈ）、１．４４（ｄｑ、Ｊ＝１３．２、６．５Ｈｚ、１Ｈ）、１．２２‐１．１１（ｍ、１Ｈ）、１．０３‐０．９４（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ１５８．１１。

化合物２３２の合成

【化４２０】

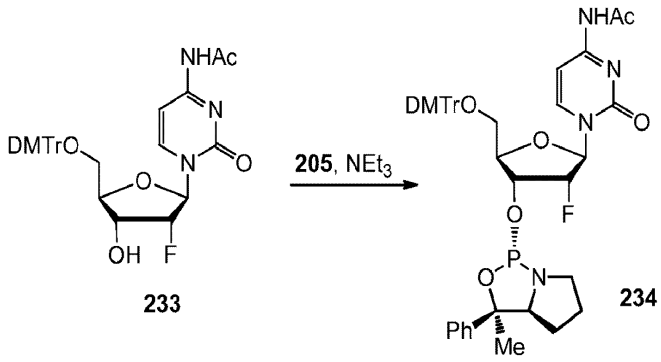


【１４２３】

化合物２３２：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２３０を使用して、純粋な化合物２３２を無色固体泡状物質として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４９９ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_{3}$）δ９．８‐９．２（ｂｒ、１Ｈ）、８．７１（ｓ、１Ｈ）、８．２３（ｓ、１Ｈ）、７．４９‐７．４３（ｍ、２Ｈ）、７．４０‐７．１５（ｍ、１４Ｈ）、７．０９‐７．０２（ｍ、３Ｈ）、６．７９（ｄ、Ｊ＝８．９Ｈｚ、４Ｈ）、６．２０（ｄ、Ｊ＝５．６Ｈｚ、１Ｈ）、４．９３（ｄｄｄ、Ｊ＝９．３、５．０、３．８Ｈｚ、１Ｈ）、４．８６（ｓ、２Ｈ）、４．７３（ｔ、Ｊ＝５．３Ｈｚ、１Ｈ）、４．４３（ｑ、Ｊ＝３．９Ｈｚ、１Ｈ）、３．７９‐３．７５（ｍ、１Ｈ）、３．７４（ｓ、３Ｈ）、３．７４（ｓ、３Ｈ）、３．５７（ｄｔ、Ｊ＝６．８、３．８Ｈｚ、１Ｈ）、３．５２（ｓ、３Ｈ）、３．４６‐３．３６（ｍ、２Ｈ）、２．９９（

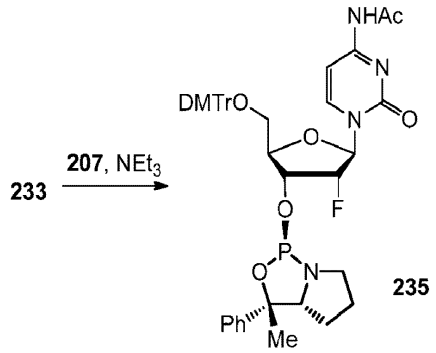
ｄｔｄ、Ｊ＝１０．１、７．９、６．５Ｈｚ、１Ｈ）、１．８０（ｓ、３Ｈ）、１．５４－１．４５（ｍ、１Ｈ）、１．３９－１．３１（ｍ、１Ｈ）、１．２３－１．１３（ｍ、１Ｈ）、０．９９－０．９０（ｍ、１Ｈ）；^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．１３。

化合物２３４の合成
【化４２１】



【１４２４】
化合物２３４：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２３３を使用して、純粋な化合物２３４を無色固体泡状物質として得た。

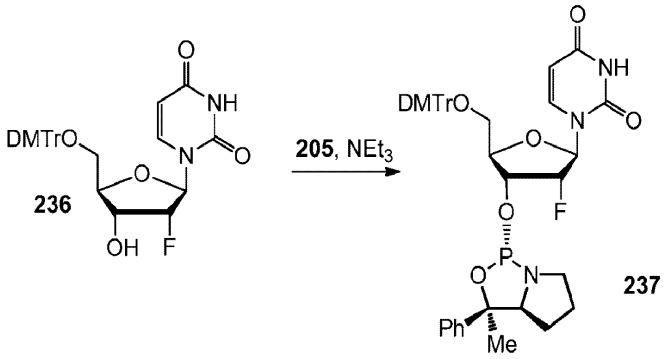
化合物２３５の合成
【化４２２】



【１４２５】
化合物２３５：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２３３を使用して、純粋な化合物２３５を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５８．７５。

化合物２３７の合成

【化４２３】

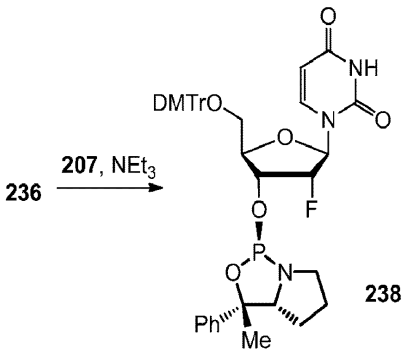


【１４２６】

化合物２３７：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２３６を使用して、純粋な化合物２３７を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、クロロホルム‐ｄ）δ１５９．５１（ｄ、J_{P-F}＝９．５Ｈｚ）。

化合物２３８の合成

【化４２４】

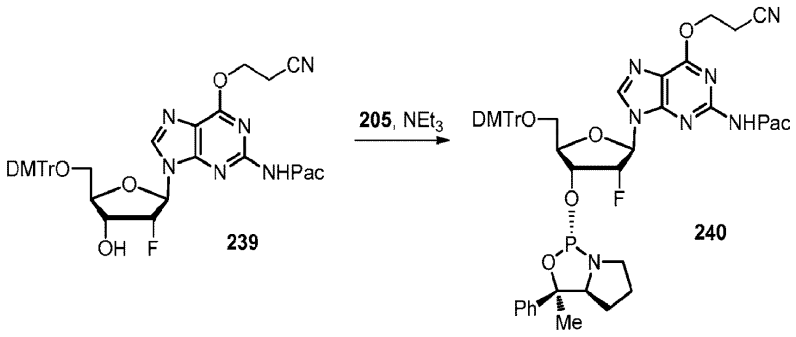


【１４２７】

化合物２３８：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２３６を使用して、純粋な化合物２３８を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、クロロホルム‐ｄ）δ１５９．４８。

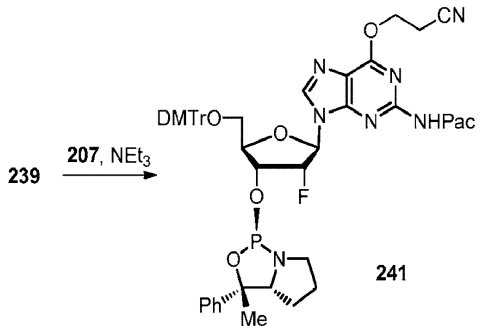
化合物２４０の合成

【化４２５】



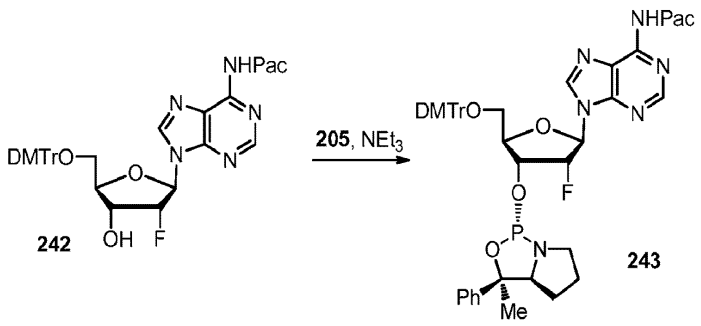
【１４２８】
化合物２４０：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２３９を使用して、純粋な化合物２４０を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１６０．２０（ｄ、J_{P-F}＝１１．０Ｈｚ）。

化合物２４１の合成
【化４２６】



【１４２９】
化合物２４１：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２３９を使用して、純粋な化合物２４１を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５９．６６（ｄ、J_{P-F}＝８．４Ｈｚ）。

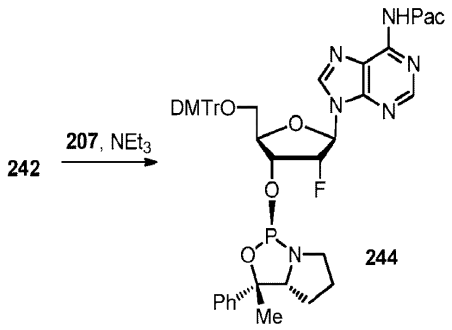
化合物２４３の合成
【化４２７】



【１４３０】
化合物２４３：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２４２を使用して、純粋な化合物２４３を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１６０．２０（ｄ、Ｊ＝１１．０Ｈｚ）。

化合物２４４の合成

【化４２８】

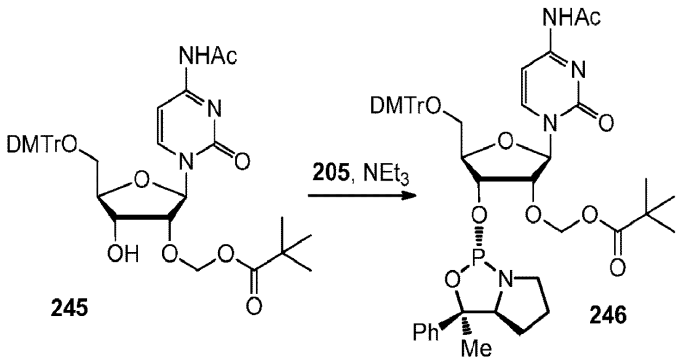


【１４３１】

化合物２４４：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２４２を使用して、純粋な化合物２４４を無色固体泡状物質として得た。^{31}Ｐ　ＮＭＲ（２０２ＭＨｚ、ＣＤＣｌ$_3$）δ１５６．５２（ｄ、Ｊ$_{Ｐ－Ｆ}$＝８．５Ｈｚ）。

化合物２４６の合成

【化４２９】

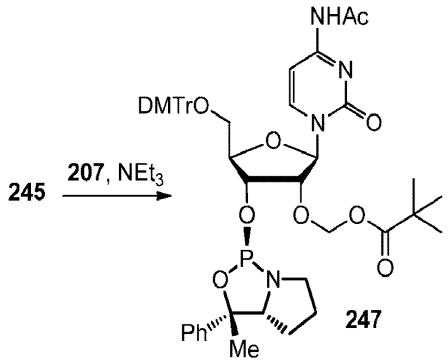


【１４３２】

化合物２４６：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２４５を使用して、純粋な化合物２４６を無色固体泡状物質として得る。

化合物２４７の合成

【化４３０】

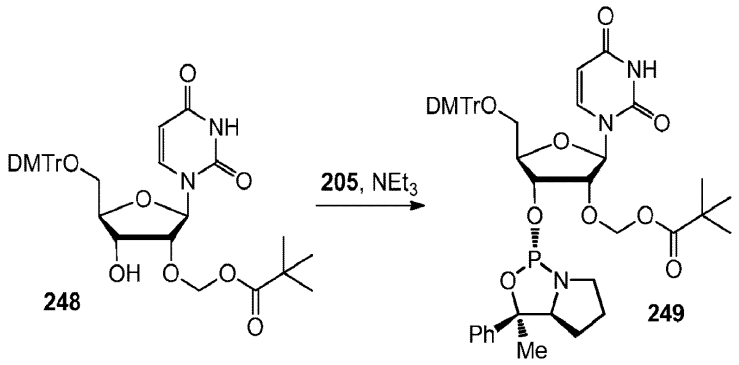


【１４３３】

化合物２４７：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２４５を使用して、純粋な化合物２４７を無色固体泡状物質として得る。

化合物２４９の合成

【化４３１】

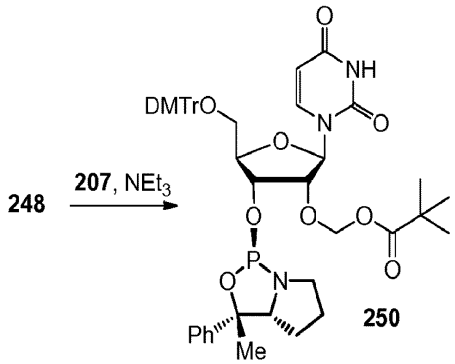


【１４３４】

化合物２４９：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２４８を使用して、純粋な化合物２４９を無色固体泡状物質として得る。

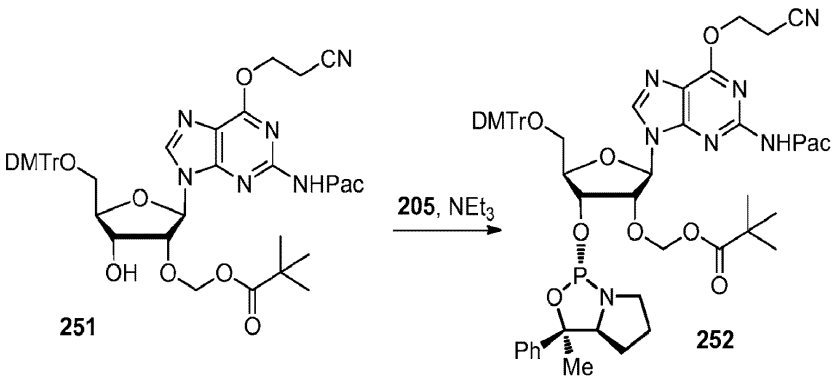
化合物２５０の合成

【化４３２】



【１４３５】
化合物２５０：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２４８を使用して、純粋な化合物２５０を無色固体泡状物質として得る。

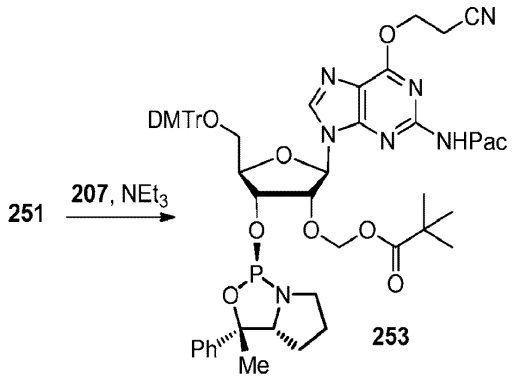
化合物２５２の合成
【化４３３】



251 252

【１４３６】
化合物２５２：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２５１を使用して、純粋な化合物２５２を無色固体泡状物質として得る。

化合物２５３の合成
【化４３４】

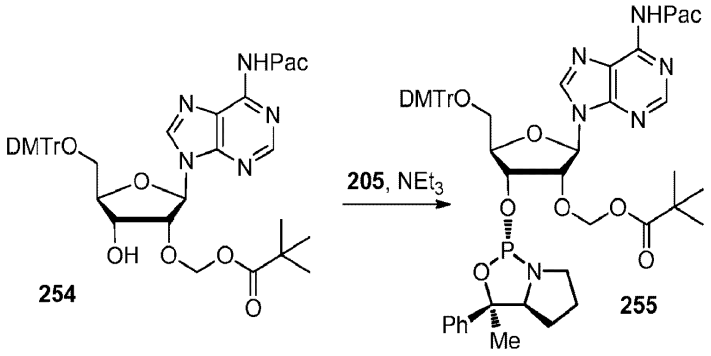


253

【１４３７】
化合物２５３：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２５１を使用して、純粋な化合物２５３を無色固体泡状物質として得る。

化合物２５５の合成

【化４３５】

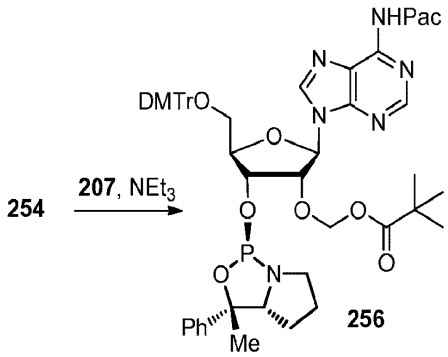


【１４３８】

化合物２５５：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２５４を使用して、純粋な化合物２５５を無色固体泡状物質として得る。

化合物２５６の合成

【化４３６】

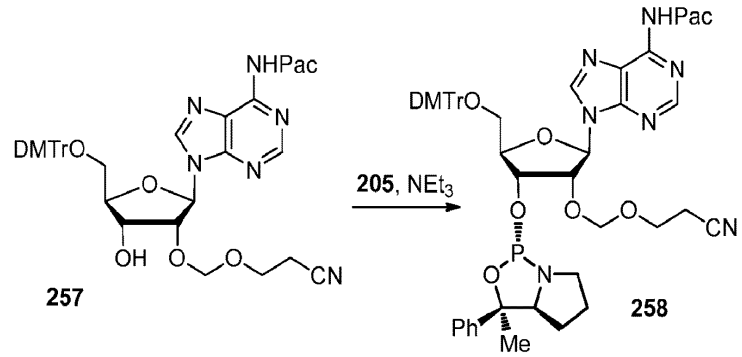


【１４３９】

化合物２５６：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２５４を使用して、純粋な化合物２５６を無色固体泡状物質として得る。

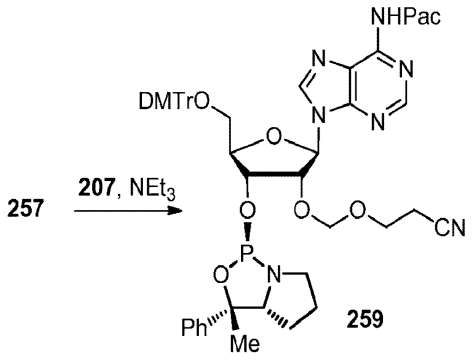
化合物２５８の合成

【化４３７】



【１４４０】
化合物２５８：化合物２０８について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０３の代わりに化合物２５７を使用して、純粋な化合物２５８を無色固体泡状物質として得る。

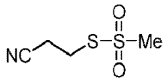
化合物２５９の合成
【化４３８】



【１４４１】
化合物２５９：化合物２１０について記載した手順と類似の手順を使用して、化合物２０９の代わりに化合物２５７を使用して、純粋な化合物２５９を無色固体泡状物質として得る。
【１４４２】
実施例２‐１６
ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４における実施例２－１６の合成手順を、以下の表Ｅ‐１においてまとめる。

表Ｅ－１　実施例２－１６の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表８】

ステップ	反応	処理	処理時間(秒)		待ち時間(秒)	
			1 μmol	10 μmol	1 μmol	10 μmol
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	3 + 90 + 10	N.A.	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	10 + 6	30 + 600	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	30	60	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	30	60	60
5	硫化	0.3 M S-シアノエチル メチルチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	15 + 4×4	300 + 3×150 + 600	300 + 3×150 + 600

【１４４３】

実施例２－９：表Ｅ－１にまとめたサイクルに従って、立体的に規定された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有するオリゴヌクレオチドを、１０μｍｏｌ合成カラムと、ＣＰＧにサクシニルで結合した６．５μｍｏｌのｄＣを使用して、ＡＢＩ－３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。次に乾燥した固体担体を、脱水ＡＣＮ－塩化トリメチルシリル－１６：１（ｖ／ｖ）中の１，８－ジアザビシクロウンデカ－７－エン（ＤＢＵ）の無水１Ｍ溶液５ｍＬで、室温で１０分間処理した。その間、カラム出口に固定したプラスチックルアーシリンジにより、カラムを通して、溶液をゆっくり押し出した。次に担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＣＰＧをプラスチックバイアルに入れ、次に３ｍＬの２８％アンモニア水と室温で１８時間処理した。溶媒を蒸発させて乾燥し、残渣を１０％ＤＭＳＯ水溶液に再懸濁させ、そして固体担体をろ過して除去した。粗製生成物を陰イオン交換分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭ　ＮａＯＨ中のＮａＣｌの０．２５～１．７５Ｍ勾配）により精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

【１４４４】

実施例１０－１６：表Ｅ－１にまとめたサイクルに従って、立体的に規定された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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＣＰＧにサクシニルで結合した３μｍｏｌのｄＣを使用して、ＡＢＩ－３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。次に乾燥した固体担体を、脱水ＡＣＮ－塩化トリメチルシリル－１６：１（

ｖ／ｖ）中の１，５‐ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ‐５‐エン（ＤＢＮ）の無水１Ｍ溶液５ｍＬで、室温で１０分間処理した。ＤＢＮ溶液を、カラム出口に固定したプラスチックルアーシリンジにより、カラムを通して、溶液をゆっくり押し出した。次に担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＣＰＧをプラスチックバイアルに入れ、次に２ｍＬの２８％アンモニア水と室温で１８時間処理した。溶媒を蒸発させて乾燥し、残渣を１０％ＤＭＳＯ水溶液に再懸濁させ、そして固体担体をろ過して除去した。

【１４４５】

実施例２‐１６の精製および脱塩

２４８７　２波長検出器ならびにＦＣＯおよびＦｌｅｘインジェクトを備えたＷａｔｅｒｓ２５２５　ＢＧＭ　ＨＰＬＣシステムにより、粗製生成物を精製した。ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ）製ＡＰ‐１ガラスカラム（１０×２００ｍｍ）に、Ｓｏｕｒｃｅ１５Ｑ　Ｓｕｐｐｏｒｔ（ＧＥヘルスケア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）、品番１７－０９４７－０１）を充填し、流速４ｍＬ／分で使用した。精製中は全て、７５℃に設定したＴＬ６００移動相ヒーターおよびＴＬ１５０温度コントローラ（Ｔｉｍｂｅｒｌｉｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）を使用してカラムを加熱した。緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ＮａＯＨおよび緩衝液Ｂ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、２．５Ｍ　ＮａＣｌを、３０％Ｂから始まり７０％Ｂまでの段階勾配で使用した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、水から８０％ＡＣＮの勾配、および４ｍＬ／分の流速を用いた逆相カラム（ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｓｅｍｉ　Ｐｒｅｐ、２５０×１０ｍｍ、$Ｃ_{１８}$、５μｍ）により、同じＨＰＬＣシステムで脱塩した。最終脱塩生成物をＳｐｅｅｃｖａｃで濃縮し、その後水から凍結乾燥した。

【１４４６】

精製したオリゴヌクレオチドのＨＰＬＣ分析：オリゴヌクレオチドの性質を、ＤＮＡ　Ｐａｃ１００（１０×２５０ｍｍ）を使用して、以下の条件を使用して決定した：

緩衝液Ａ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、５０％ＨＣｌ、ｐＨ＝８．０

緩衝液Ｂ：Ａ＋０．８Ｍ　$ＮａＣｌＯ_{４}$、ｐＨ＝８．０

カラム温度：６０℃

勾配法：

【表９】

	時間	流量	%A	%B	カーブ
1	0.01	1.00	85.0	15.0	
2	3.00	1.00	85.0	15.0	1
3	23.00	1.00	40.0	60.0	6
4	25.00	1.00	5.0	95.0	6
5	25.50	1.00	85.0	15.0	6
6	30.00	1.00	85.0	15.0	1

ＬＣＭＳ分析法：

溶出剤Ａ：１５ｍＭ　ＴＥＡ、４００ｍＭ　ＨＦＩＰ、水

溶出剤Ｂ：５０：５０　緩衝液Ａ／メタノール

カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　$Ｃ_{１８}$　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ

カラム温度＝５０℃

勾配法：

【表１０】

時間	流量	%A	%B	カーブ
0	0.2	95	5	
10	0.2	35	65	6
12	0.2	5	95	6
12.5	0.2	95	5	6
15	0.2	95	5	1

【１４４７】
実施例２　オリゴヌクレオチド１０１（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］）の合成
【１４４８】
オリゴヌクレオチド１０１を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１４．７０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１０．４。
【１４４９】
実施例３　オリゴヌクレオチド１０２（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］）の合成
【１４５０】
オリゴヌクレオチド１０２を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．４９分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１０．２。
【１４５１】
実施例４　オリゴヌクレオチド１０３（（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（５Ｒ‐９Ｓ‐５Ｒ））の合成
オリゴヌクレオチド１０３を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．１０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１０．３。
【１４５２】
実施例５　オリゴヌクレオチド１０４（（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（５Ｓ‐９Ｒ‐５Ｓ））の合成
【１４５３】
オリゴヌクレオチド１０４を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．０４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３０７．２。
【１４５４】
実施例６　オリゴヌクレオチド１０５（（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（１Ｓ‐１７Ｒ‐１Ｓ））の合成
【１４５５】
オリゴヌクレオチド１０５を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１４．７５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$

に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１０．２。
【１４５６】
実施例７　オリゴヌクレオチド１０６（（Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（１Ｒ－１７Ｓ－１Ｒ））の合成
【１４５７】
オリゴヌクレオチド１０６を上記のとおり合成した。ＩＥＸ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．４３分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３０９．６。
【１４５８】
実施例８　オリゴヌクレオチド１０７（（Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（（Ｒ／Ｓ）$_9$Ｒ））の合成
【１４５９】
オリゴヌクレオチド１０７を上記のとおり合成した。ＩＥＸ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．０２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１０．７。
【１４６０】
実施例９　オリゴヌクレオチド１０８（（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（（Ｓ／Ｒ）$_9$Ｓ））の合成
【１４６１】
オリゴヌクレオチド１０８を上記のとおり合成した。ＩＥＸ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．１０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３０７．９。
【１４６２】
実施例１０　オリゴヌクレオチド１０９（（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（３Ｓ－１３Ｒ－３Ｓ））の合成
【１４６３】
オリゴヌクレオチド１０９を上記のとおり合成した。ＩＥＸ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１４．９１分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３０９．５。
【１４６４】
実施例１１　オリゴヌクレオチド１１０（（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（３Ｒ－１３Ｓ－３Ｒ））の合成
【１４６５】
オリゴヌクレオチド１１０を上記のとおり合成した。ＩＥＸ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．２４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３０９．３。
【１４６６】
実施例１２　オリゴヌクレオチド１１１（（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）－ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ

]（（１８Ｓ／Ｒ^{19}））の合成
【１４６７】
オリゴヌクレオチド１１１を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．６９分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３０９．４。
【１４６８】
実施例１３　オリゴヌクレオチド１１３（（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（１８Ｓ／Ｒ^{2}））の合成
【１４６９】
オリゴヌクレオチド１１３を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１５．７２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１１．０。
【１４７０】
実施例１４　オリゴヌクレオチド１１４（（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（（ＲＲＳ）$_{6}$‐Ｒ））の合成
【１４７１】
オリゴヌクレオチド１１４を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１４．１４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１３．７。
【１４７２】
実施例１５　オリゴヌクレオチド１１５（（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）‐ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（Ｓ‐（ＲＲＳ）$_{6}$））の合成
【１４７３】
オリゴヌクレオチド１１５を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１４．３０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１３．７。
【１４７４】
実施例１６　オリゴヌクレオチド１１６（（Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）ｄ［ＧｓＣｓＣｓＴｓＣｓＡｓＧｓＴｓＣｓＴｓＧｓＣｓＴｓＴｓＣｓＧｓＣｓＡｓＣｓＣ］（ＲＳ‐（ＲＲＳ）$_{5}$‐ＲＲ））の合成
【１４７５】
オリゴヌクレオチド１１６を上記のとおり合成した。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１４．１７分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{191}H_{246}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６３１０．２；実測値：６３１２．４。
【１４７６】
実施例２‐１６の結果を、以下の表Ｅ‐２にまとめる：

表Ｅ‐２　実施例２‐１６の概要

【表１１】

オリゴヌクレオチド	5’- 配列 -3’	立体化学の詳細	RT－IEX（分）
101	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	All-(*R*p)	14.70
102	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	All-(*S*p)	15.49
103	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	5R-9S-5R	15.10
104	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	5S-9R-5S	15.04
105	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	1S-17R-1S	14.75
106	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	1R-17S-1R	15.43
107	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(R/S)_9R$	15.02
108	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(S/R)_9S$	15.10
109	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	3S-13R-3S	14.91
110	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	3R-13S-3R	15.24
111	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{19}$	15.69
113	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$18S/R^{2}$	15.72
114	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	$(RRS)_6$-R	14.14
115	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	S-$(RRS)_6$	14.30
116	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	RS-$(RRS)_5$-RR	14.17

【１４７７】

実施例１７　対照オリゴヌクレオチドの合成

【１４７８】

対照オリゴヌクレオチド（表Ｅ－３参照）を、自動化固相オリゴヌクレオチド合成の標準的な化学的方法を使用して合成した（Beaucage，S.L.およびIyer，R.P.，Tetrahedron，1992，48，2223-2311）。より詳細には、標準的なＤＮＡホスホラミダイト（ＣｈｅｍＧｅｎｅｓ　Ｃｏ．）、活性化剤としてエチルチオテトラゾール（ＥＴＴ、Muangら、Tetrahedron Lett.，2004，45，6497-6499）（Ｇｌｅｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）、および硫化剤としてＮ，Ｎ－ジメチル－Ｎ’－（３－チオキソ－３Ｈ－１，２，４－ジチアゾール－５

‐イル）メタンイミドアミド（ＤＤＴＴ、ＡＭ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ）を使用して、立体的にランダムなＤＮＡを合成した（Guzaev, A.; Tetrahedron Lett., 2011, 52, 434－437）。ホスホラミダイトカップリング時間は２分であり、硫化時間は１０分であった。標準方法を使用して、オリゴヌクレオチドを脱保護し、精製した。標準的なＤＮＡホスホラミダイト、活性剤としてＥＴＴ、および酸化剤としてのヨウ素／ピリジン／水を使用して、ＤＮＡリン酸ジエステルを合成した。社内で調製した２’‐Ｏ‐メトキシエチル（ＭＯＥ）ホスホラミダイト（Martin, P.; Helv. Chim. Acta. 1995, 78, 486－504；Ross, B.；Song, Q.;２００４年米国特許公報第２００４００８２７７５号）、活性剤としてＥＴＴ、および硫化剤としてＤＤＴＴを使用して、２’‐Ｏ‐メトキシエチル（ＭＯＥ）ＤＮＡを合成した。カップリング時間は１０分であり、硫化時間は１０分であった。標準的なＲＮＡホスホラミダイト（ＣｈｅｍＧｅｎｅｓ　Ｃｏ．）、活性剤としてＥＴＴ、酸化剤としてヨウ素／ピリジン／水を使用して、ＲＮＡを合成した。カップリング時間は１０分であった。

【１４７９】

全てのオリゴヌクレオチドは、標準方法を使用して脱保護し、精製した。

【１４８０】

ＲＮＡ（オリゴヌクレオチド１１７）の精製：

Ｗａｔｅｒｓ２５２５　ＢＧＭ、ＦＣＯおよびＦｌｅｘ注入器を備えた２４８７　２波長検出器

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　リン酸ナトリウム　ｐＨ＝８．５

緩衝液Ｂ：２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、１Ｍ　ＮａＢｒ　ｐＨ＝８．５

カラム：東ソー（ＴＯＳＯＨ）製Ｓｕｐｅｒ　Ｑ‐５ＰＷ（２０）、ＴＳＫ　Ｇｅｌ（陰イオン交換）を充填した、ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ）製ＡＰ‐１ガラスカラム、１０×２００ｍｍ

カラム温度：７０℃（Ｔｉｍｂｅｒｌｉｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、ＴＬ６００移動相ヒーターおよびＴＬ１５０温度コントローラ）

使用した勾配：

【表１２】

時間	流量(mL/分)	%Ａ	%Ｂ	カーブ
初期		100	0	
10	4	100	0	1
25	4	80	20	6
115	4	55	45	6
125	4	0	100	6
130	4	100	0	6
140	4	100	0	1

【１４８１】

図１に示すように、キラル制御したホスホロチオエートジエステル２０量体オリゴヌクレオチド（Ａｌｌ－（Ｒｐ）、オリゴヌクレオチド１０１、図１、Ａ）は、ホスホロチオエートジエステル２０量体の立体的にランダムな標準的オリゴヌクレオチド（オリゴヌクレオチド１１８、図１、Ｃ）と異なる保持時間を有し、より鋭いピークを有する。立体的にランダムなオリゴヌクレオチド１０８を精製する間、Ａｌｌ－（Ｒｐ）オリゴヌクレオチド（１０１、立体的にランダムなオリゴヌクレオチド１０８混合物の約１／2^{19}分画で存在）のほとんどがおそらく失われるであろうことは、当業者が理解する。

【１４８２】

実施例１７の結果を、以下の表Ｅ‐３にまとめる。

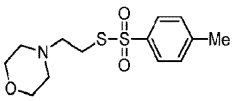
表Ｅ‐３　実施例１７の概要
【表１３】

オリゴヌクレオチド	5’- 配列 -3’	詳細	RT（分）
117	GGUGCGAAGCAGACUGAGGC	RNA	5.10
118	d[GsCsCsTsCsAsGsTsCsTsGsCsTsTsCsGsCsAsCsC]	任意の立体化学	15.04
119	d[GCCTCAGTC TGC TTC GCACC]	DNA	6.90
120	(Gs5mCs5mCsTs5mCs)$_{MOE}$ d[AsGsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCs](Gs5mCsAs 5mCs5mC)$_{MOE}$	任意の立体化学	15.49
121	d[GsAsTsGsCsCsTsCsTsCsCsTsAsCsGsCsGsCsCsT]	組み換え	15.09

【１４８３】
実施例１８‐２１の手順：表Ｅ‐４にまとめたサイクルに従って、立体的に規定されたモルホリノエチル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した０．８μｍｏｌのｄＣを使用して、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣにより精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

表Ｅ‐４　実施例１８－２１の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表１４】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M S-シアノエチル メチルチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１４８４】

実施例１８－２１の一般的な精製方法：

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ホスファート　ｐＨ＝６．０（リン酸で調節した）

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｐｒｅｐ　$Ｃ_{１８}$、５μｍ、$Ｃ_{１８}$、２５０×１０ｍｍ、品番＃１８６００３２５６

緩衝液ヒーター設定温度＝５０℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表１５】

時間	流量(mL/分)	%Ａ	%Ｂ	カーブ
初期		99	1	
5	4	99	1	1
10	4	77	23	6
60	4	70	30	6
65	4	20	80	6
70	4	20	80	6
71	4	99	1	6
80	4	99	1	1

【１４８５】
オリゴヌクレオチドの分析ＨＰＬＣ方法
ＨＰＬＣ方法１：
緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ホスファート　ｐＨ＝６．０（リン酸で調節した）
緩衝液Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ$_{18}$、３．５μｍ、Ｃ$_{18}$、４．６×５０ｍｍ、品番＃１８６００３０３４
緩衝液ヒーター設定温度＝３５℃
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：
【表１６】

時間	流量(mL/分)	%Ａ	%Ｂ	カーブ
初期		95	5	
3	1	95	5	1
23	1	60	40	6
25	1	40	60	6
25.5	1	95	5	6
30	1	95	5	1

【１４８６】
ＨＰＬＣ方法２：
緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝７．８
緩衝液Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ$_{18}$、３．５μｍ、Ｃ$_{18}$、４．６×５０ｍｍ、品番＃１８６００３０３４
緩衝液ヒーター設定温度＝６０℃
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：
【表１７】

時間	流量(mL/分)	%Ａ	%Ｂ	カーブ
初期		99	1	
2	1	99	1	1
22	1	65	35	6
25	1	5	95	6
25.5	1	5	95	6
30	1	99	1	1

ＨＰＬＣ方法３：

【表１８】

時間	流量(mL/分)	%A	%B	カーブ
初期		85	15	
2	1	85	15	1
20	1	60	40	6
22	1	5	95	6
25	1	5	95	6
25.5	1	85	15	6
30	1	85	15	1

ＨＰＬＣ方法４：

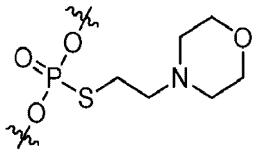
【表１９】

時間	流量(mL/分)	%A	%B	カーブ
初期		85	15	
2	1	85	15	1
20	1	40	60	6
22	1	5	95	6
25	1	5	95	6
25.5	1	85	15	6
30	1	85	15	1

【１４８７】

実施例１８　オリゴヌクレオチド１２２（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［Ｇｓ１Ｃｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１Ｃｓ１Ａｓ１Ｃｓ１Ｃ］（ｓ１は以下に示すとおり）の合成

【化４３９】



【１４８８】

オリゴヌクレオチド１２２を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１５．２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{305}H_{455}N_{86}O_{121}P_{19}S_{19}$に対する計算値：８４６０．２５；実測値：８４６２．０。

【１４８９】

実施例１９　オリゴヌクレオチド１２３（（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）‐ｄ［Ｇｓ１Ｃｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１Ｃｓ１Ａｓ１Ｃｓ１Ｃ］（（１Ｓ‐１７Ｒ‐１Ｓ）の合成

【１４９０】

オリゴヌクレオチド１２３を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１６．２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{305}H_{455}N_{86}O_{121}P_{19}S_{19}$に対する計算値：８４６０．３；実測値：８４６１．５。

【１４９１】

実施例２０　オリゴヌクレオチド１２４（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［Ｇｓ１Ｃｓ１Ｃｓ１

Ｔｓ１Ｃｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１Ｃｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１Ｃｓ１Ｇｓ１Ｃｓ１Ａｓ１Ｃｓ１Ｃ］）の合成

【１４９２】

オリゴヌクレオチド１２４を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１８．３分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{305}H_{455}N_{86}O_{121}P_{19}S_{19}$に対する計算値：８４６０．３；実測値：８４６１．８。

【１４９３】

実施例２１　オリゴヌクレオチド１２５（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｔｓ１Ｇ］）の合成

【１４９４】

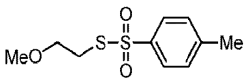
オリゴヌクレオチド１２５を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１６．３２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{58}H_{85}N_{18}O_{22}P_3S_3$に対する計算値：１５７５．５；実測値：１５７５．２。

【１４９５】

実施例２２および４２においては、表Ｅ‐５にまとめたサイクルに従って、立体的に規定されたメトキシエチル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した０．８μｍｏｌのｄＣを使用して、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

表Ｅ‐５　実施例２２および４２の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

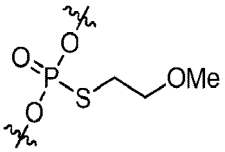
【表２０】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M S-MOE トルイルチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１４９６】

実施例２２　オリゴヌクレオチド１２６（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［Ｃｓ２Ａｓ２Ｇｓ２Ｔ］（ｓ２は以下に示すとおり）の合成

【化４４０】



【１４９７】

オリゴヌクレオチド１２６を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１６．２３分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{48}H_{68}N_{15}O_{22}P_3S_3$に対する計算値：１３９６．２；実測値：１３９５．２。

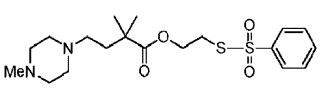
【１４９８】

実施例２３：表Ｅ‐６にまとめたサイクルに従って、立体的に規定された嵩高いＮ‐メチルピペラジノエステル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴを使用して、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾

配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

表Ｅ－６　実施例２３の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ－３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

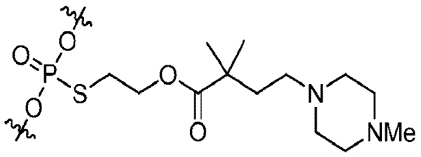
【表２１】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M N-メチルピペラジノエステル フェニルチオスルフォネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１４９９】

実施例２３　オリゴヌクレオチド１２７（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［Ｃｓ３Ａｓ３Ｇｓ３Ｔ］（ｓ３は以下に示すとおり）の合成

【化４４１】



【１５００】

オリゴヌクレオチド１２７を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：２０．２４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{78}H_{122}N_{21}O_{25}P_3S_3$に対する計算値：１９４３．１；実測値：１９４１．０。

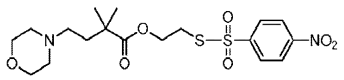
【１５０１】

実施例２４および４３：表Ｅ－７にまとめたサイクルに従って、立体的に規定された嵩高いモルホリノエステル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴを使用して、ＡＢＩ－３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８

時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

表Ｅ－７　実施例２４および４３の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ－３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

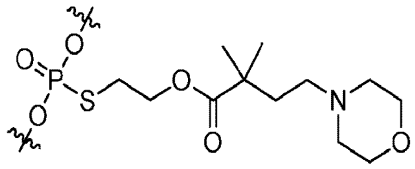
【表２２】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M N-メチルピペラジノエステル ニトロフェニルチオスルフォネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１５０２】

実施例２４　オリゴヌクレオチド１２８（Ａｌｌ－（Ｓｐ）－ｄ［Ｃｓ４Ａｓ４Ｇｓ４Ｔ］（ｓ４は以下に示すとおり）の合成

【化４４２】



【１５０３】

オリゴヌクレオチド１２８を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法３）：１９．７５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{75}H_{113}N_{18}O_{28}P_3S_3$に対する計算値：１９０２．９；実測値：１９０４．０。

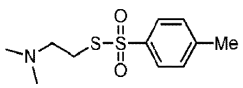
【１５０４】

実施例２５：表Ｅ－８にまとめたサイクルに従って、立体的に規定されたジメチルアミノエチル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴ

を使用して、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

表Ｅ‐８　実施例２５の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

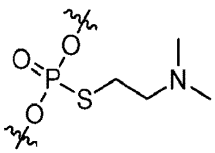
【表２３】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M ジメチルアミノエチル トルイルチオスルフォネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	900 + 3×600 + 900

【１５０５】

実施例２５　オリゴヌクレオチド１２９（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［Ｃｓ５Ａｓ５Ｇｓ５Ｔ］（ｓ５は以下に示すとおり）の合成

【化４４３】



【１５０６】

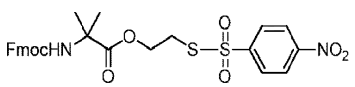
オリゴヌクレオチド１２９を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１７．２５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{51}H_{77}N_{18}O_{19}P_3S_3$に対する計算値：１４３５．４；実測値：１４３５．０。

【１５０７】

実施例２６：表Ｅ‐９にまとめたサイクルに従って、立体的に規定されたジメチルアラニンエステル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴを使用して、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

表Ｅ‐９　実施例２６の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

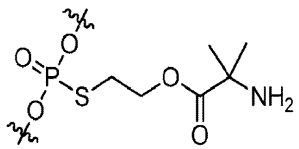
【表２４】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M ジメチルアラニン-Fmocエステル ニトロフェニルチオスルフェート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	900 + 3×600 + 900

【１５０８】

実施例２６　オリゴヌクレオチド１３０（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［Ｃｓ６Ａｓ６Ｇｓ６Ｔ］（ｓ６は以下に示すとおり）の合成

【化４４４】



【１５０９】

オリゴヌクレオチド１３０を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（Ｈ

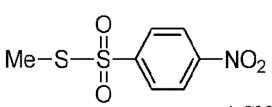
ＰＬＣ方法２）：１６．４５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{57}H_{83}N_{18}O_{25}P_3S_3$に対する計算値：１６０９．５；実測値：１６０９．６。

【１５１０】

実施例２７および２８：表Ｅ－１０にまとめたサイクルに従って、立体的に規定されたＳ－メチル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有するオリゴヌクレオチドを、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した０．８μｍｏｌのｄＣを使用して、ＡＢＩ－３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で合成した。合成サイクルは、末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

表Ｅ－１０　実施例２７および２８の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ－３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

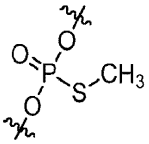
【表２５】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M S-メチルニトロフェニル チオスルフォネート  -ACN溶液	10 + 4×2	900 + 3×600 + 900

【１５１１】

実施例２７　オリゴヌクレオチド１３１（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［Ｇｓ７Ｃｓ７Ｃｓ７Ｔｓ７Ｃｓ７Ａｓ７Ｇｓ７Ｔｓ７Ｃｓ７Ｔｓ７Ｇｓ７Ｃｓ７Ｔｓ７Ｔｓ７Ｃｓ７Ｇｓ７Ｃｓ７Ａｓ７Ｃｓ７Ｃ］（ｓ７は以下に示すとおり）の合成

【化４４５】



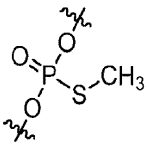
【１５１２】

オリゴヌクレオチド１３１を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：２７．６５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{210}H_{284}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６５７６．７１；実測値：６５７５．６。

【１５１３】

実施例２８　オリゴヌクレオチド１３２（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［Ｇｓ７Ｃｓ７Ｃｓ７Ｔｓ７Ｃｓ７Ａｓ７Ｇｓ７Ｔｓ７Ｃｓ７Ｔｓ７Ｇｓ７Ｃｓ７Ｔｓ７Ｔｓ７Ｃｓ７Ｇｓ７Ｃｓ７Ａｓ７Ｃｓ７Ｃ］（ｓ７は以下に示すとおり）の合成

【化４４６】



【１５１４】

オリゴヌクレオチド１３２を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ：３２．６５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{210}H_{284}N_{67}O_{102}P_{19}S_{19}$に対する計算値：６５７６．７１；実測値：６５７４．８。

【１５１５】

修飾核酸塩基を含むキラル制御したオリゴヌクレオチドの合成

一般的に前記のとおり、および一般的にここに記載するとおり、いくつかの実施形態においては、本発明はＡ、Ｔ、ＣおよびＧ以外のオリゴヌクレオチドを含むキラル制御したオリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの実施形態においては、このようなキラル制御したオリゴヌクレオチドは、５‐メチルシトシン（５ｍＣ）を含む。実施例２１および以下に、非限定的な実施例を示す。

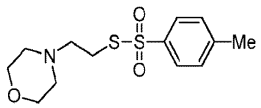
【１５１６】

実施例２９‐４１を、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置における自動化合成を使用して、表Ｅ‐１１にまとめた合成サイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．７５μｍｏｌのｄＧを使用して合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。自動化オリゴヌクレオチド合成の完了後、ＨＣＰ担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（下記の手順に従う)により精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～３０％勾配）により脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

【１５１７】

表Ｅ‐１１　実施例２９‐４１の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表２６】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M S-モルホリノエチル トルイルチオスルフォネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	900 + 3×600 + 900

【１５１８】

実施例２９－４１の一般的な精製方法：

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ホスファート　ｐＨ＝６．０（リン酸で調節した）

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｐｒｅｐ　$Ｃ_{１８}$、５μｍ、$Ｃ_{１８}$、２５０×１０ｍｍ、品番＃１８６００３２５６

緩衝液ヒーター設定温度＝５０℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表２７】

時間	流量(mL/分)	%Ａ	%Ｂ	カーブ
初期		99	1	
5	4	99	1	1
10	4	77	23	6
60	4	70	30	6
65	4	20	80	6
70	4	20	80	6
71	4	99	1	6
80	4	99	1	1

【１５１９】

実施例２９　オリゴヌクレオチド１３５（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇ

ｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］）の合成

【１５２０】

オリゴヌクレオチド１３５を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１７．５０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９１．９。

【１５２１】

実施例３０　オリゴヌクレオチド１３６（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］）の合成

【１５２２】

オリゴヌクレオチド１３６を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１９．２５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９０．８。

【１５２３】

実施例３１　オリゴヌクレオチド１３７（（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（１Ｓ‐９Ｒ‐１Ｓ））の合成

【１５２４】

オリゴヌクレオチド１３７を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１７．８５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９１．９。

【１５２５】

実施例３２　オリゴヌクレオチド１３８（（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（２Ｓ‐７Ｒ‐２Ｓ））の合成

【１５２６】

オリゴヌクレオチド１３８を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１８．１０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９１．９。

【１５２７】

実施例３３　オリゴヌクレオチド１３９（（Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（１Ｒ‐９Ｓ‐１Ｒ））の合成

【１５２８】

オリゴヌクレオチド１３９を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１８．７５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０８８．９。

【１５２９】

実施例３４　オリゴヌクレオチド１４０（（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（２Ｒ‐７Ｓ‐２Ｒ））の合成

【１５３０】

オリゴヌクレオチド１４０を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１８．７２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９１．３。

【１５３１】

実施例３５　オリゴヌクレオチド１４１（（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（３Ｓ‐５Ｒ‐３Ｓ））の合成

【１５３２】

オリゴヌクレオチド１４１を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（Ｈ

ＰＬＣ方法１）：１８．０９分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９０．９。

【１５３３】

実施例３６　オリゴヌクレオチド１４２（（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（３Ｒ－５Ｓ－３Ｒ））の合成

【１５３４】

オリゴヌクレオチド１４２を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ：１８．３５分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ（ＨＰＬＣ方法１）：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０８８．９。

【１５３５】

実施例３７　オリゴヌクレオチド１４３（（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（$(SSR)_3$－ＳＳ））の合成

【１５３６】

オリゴヌクレオチド１４３を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１８．４８分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９２．０。

【１５３７】

実施例３８　オリゴヌクレオチド１４４（（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］（$(RRS)_3$－ＲＲ））の合成

【１５３８】

オリゴヌクレオチド１４４を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１８．０２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{186}H_{278}N_{51}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５０９０．０；実測値：５０９１．４。

【１５３９】

実施例３９　オリゴヌクレオチド１４５（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｔｓ１５ｍＣｓ１Ｇｓ１５ｍＣ］）の合成

【１５４０】

オリゴヌクレオチド１４５を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法１）：１７．３０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{234}H_{352}N_{62}O_{92}P_{14}S_{14}$に対する計算値：６３８８．３；実測値：６３９０．６。

【１５４１】

実施例４０　オリゴヌクレオチド１４６（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［Ｇｓ１５ｍＣｓ１Ｔｓ１Ｇ］）の合成

【１５４２】

オリゴヌクレオチド１４６を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１５．８９分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{58}H_{85}N_{18}O_{23}P_3S_3$に対する計算値：１５９１．５；実測値：１５９０．８。

【１５４３】

実施例４１　オリゴヌクレオチド１４７（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１Ｇｓ１Ｔ］）の合成

【１５４４】

オリゴヌクレオチド１４７を上記のとおり合成した。ＲＰ－ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１６．３０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ：$C_{58}H_{85}N_{18}O_{22}P_3S_3$に対する計算値：１５７５．５；実測値：１５７５．２。

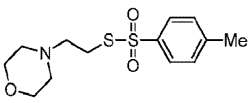
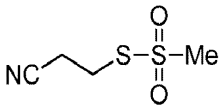
【１５４５】

実施例４２　オリゴヌクレオチド１４８（Ａｌｌ－（Ｒｐ）－ｄ［５ｍＣｓ２Ａｓ２Ｇ

ｓ２Ｔｓ２５ｍＣｓ２Ｔｓ２Ｇｓ２５ｍＣｓ２Ｔｓ２Ｔｓ２５ｍＣｓ２Ｇ］）の合成
【１５４６】
オリゴヌクレオチド１４８を、実施例２２における硫化剤を使用して、上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法３）：１６．５１分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{153}H_{223}N_{40}O_{73}P_{11}S_{11}$に対する計算値：４４８４．１；実測値：４４８３．０。
【１５４７】
実施例４３　オリゴヌクレオチド１４９（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ４Ａｓ４Ｇｓ４Ｔｓ４５ｍＣｓ４Ｔｓ４Ｇｓ４５ｍＣｓ４Ｔｓ４Ｔｓ４５ｍＣｓ４Ｇ］）の合成
【１５４８】
オリゴヌクレオチド１４９を、実施例２４における硫化剤を使用して、上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法４）：１７．８７分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{252}H_{388}N_{51}O_{95}P_{11}S_{11}$に対する計算値：６３４５．６；実測値：６３４６．５。
【１５４９】
異なるヌクレオチド間結合を含む、キラル制御したキメラオリゴヌクレオチドの合成
一般的に前記のとおり、および一般的にここに記載するとおり、いくつかの実施形態においては、本発明は異なるヌクレオチド間結合を含む、キラル制御したオリゴヌクレオチドを提供する。以下の非限定的な実施例は、このようなキラル制御したオリゴヌクレオチドおよびその合成方法を示す。
【１５５０】
実施例４４‐４５は、異なるヌクレオチド間結合を含む、キラル制御したキメラオリゴヌクレオチドの合成を示す。ジアステレオマーとして純粋なモルホリノエチルホスホロチオエートトリエステル／ホスホロチオエートジエステルが混合したヌクレオチド間結合を含有するオリゴヌクレオチドを、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ‐１２にまとめたサイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴを使用して合成した。各反復サイクルでは、異なる硫化剤を反応させることができるので、２つの異なるチオスルホネートを使用した。合成は、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。次に乾燥した固体担体を、脱水ＡＣＮ‐塩化トリメチルシリル‐１６：１（ｖ／ｖ）中の１，５‐ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ‐５‐エン（ＤＢＮ）の無水１Ｍ溶液５ｍＬと、室温で１０分間処理した。ＤＢＮ溶液を、カラム出口に固定したプラスチックルアーシリンジにより、カラムを通してゆっくり押し出した。次に担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

表Ｅ‐１２　実施例４４‐４５の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表２８】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化1	0.3 M S-モルホリノエチル トルイルチオスルフォネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600
6	硫化2	0.3 M S-シアノエチル メチルチオスルフォネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１５５１】

実施例４４　オリゴヌクレオチド１５０（Ａｌｌ-（Ｒｐ）-ｄ［ＴｓＣｓ１ＡｓＴ］）の合成

【１５５２】

オリゴヌクレオチド１５０を上記のとおり合成した。ＲＰ-ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１２．７２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ-ＭＳ：$C_{45}H_{62}N_{13}O_{21}P_3S_3$に対する計算値：１３１０．２；実測値：１３０９．２。

【１５５３】

実施例４５　オリゴヌクレオチド１５１（Ａｌｌ-（Ｓｐ）-ｄ［Ｃｓ１ＡｓＧｓ１Ｔ］）の合成

【１５５４】

オリゴヌクレオチド１５１を上記のとおり合成した。ＲＰ-ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１４．７１分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ-ＭＳ：$C_{51}H_{72}N_{17}O_{21}P_3S_3$に対する計算値：１４４８．４；実測値：１４４６．９。

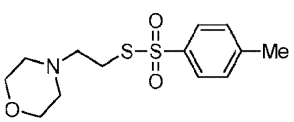
【１５５５】

実施例４６は、リン酸ジエステルヌクレオチド間結合および変形ヌクレオチド間結合の両方を含む、キラル制御したキメラオリゴヌクレオチドの合成を記載する。モルホリノエ

チルホスホロチオエートトリエステル／リン酸ジエステルが混合したヌクレオチド間結合を含有する例示的なオリゴヌクレオチドを、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ‐１３にまとめたサイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴを使用して合成した。各反復サイクルでは、異なる硫化剤または酸化剤を反応させることができるので、１つのチオスルホネート試薬を１サイクルの硫化に使用し、ヨウ素促進酸化をもう一方のサイクルで使用した。合成は、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

表Ｅ‐１３　実施例４６の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表２９】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化	0.3 M S-モルホリノエチル トルイルチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600
6	酸化	0.02 M I_2, ピリジン/水	10	300

【１５５６】

実施例４６　オリゴヌクレオチド１５２（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［Ｃｓ１ＡＧｓ１Ｔ］）の合成

【１５５７】

オリゴヌクレオチド１５２を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１３．４２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{51}H_{72}N_{17}O_{22}P_3S_2$に対する計算値：１４３２．３；実測値：１４３１．７。

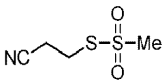
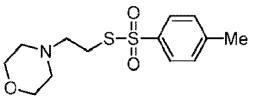
【１５５８】

実施例４７は、リン酸ジエステルヌクレオチド間結合、ならびにキラルとして純粋な変形のリン酸トリエステルおよびリン酸ジエステルヌクレオチド間結合の両方を含む、キラル制御したキメラオリゴヌクレオチドの合成を記載する。混合したモルホリノエチルホスホロチオエートトリエステル／リン酸ジエステル／ホスホロチオエートジエステルが混合した結合を含有する、キラル制御したオリゴヌクレオチドを、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ‐１４にまとめたサイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．５μｍｏｌのｄＴを使用して合成した。各反復サイクルでは、異なる硫化剤または酸化剤を反応させることができるので、２つの異なるチオスルホネート試薬を２つの異なる硫化サイクルに使用し、ヨウ素促進酸化をもう一方のサイクルで使用した。合成は、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。次に乾燥した固体担体を、脱水ＡＣＮ‐塩化トリメチルシリル‐１６：１（ｖ／ｖ）中の１，５‐ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ‐５‐エン（ＤＢＮ）の無水１Ｍ溶液５ｍＬと、室温で１０分間処理した。ＤＢＮ溶液を、カラム出口に固定したプラスチックルアーシリンジにより、カラムを通してゆっくり押し出した。次に担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（２０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液中のＡＣＮの５～６５％勾配、ｐＨ＝６．０)により精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％勾配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

【１５５９】

表Ｅ‐１４　実施例４７の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表３０】

ステップ	反応	試薬	処理時間(秒)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 + 60 + 10	N.A.
2	カップリング	0.15 M ホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	5 + 4	30 + 600
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	20	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	20	60
5	硫化1	0.3 M S-シアノエチル メチルチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600
6	硫化2	0.3 M S-モルホリノエチル メチルチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600
7	酸化	0.02 M I_2, ピリジン/水	10	300

【１５６０】

実施例４７　オリゴヌクレオチド１５３（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［ＣＡｓ１ＧｓＴ］）の合成

オリゴヌクレオチド１５３を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法２）：１１．４８分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{45}H_{61}N_{16}O_{21}P_3S_2$に対する計算値：１３１８．１；実測値：１３１８．１。

【１５６１】

当業者に理解されるとおり、実施例４６および４７、ならびに本明細書において記載される他の実施例および方法に従って、より長いキメラのキラル制御したオリゴヌクレオチドを調製することができる。

【１５６２】

キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドは、非立体特異的合成によるジアステレオマーの混合物とは異なる特性を有する

上記のとおりおよびここに記載するとおり、いくつかの実施形態においては、同一の塩

基配列を有するが非立体特異的オリゴヌクレオチド合成により合成されるジアステレオマーの混合物とは異なる化学的特性および生物学的特性を有する、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドを本願は提供する。

【１５６３】

実施例４８　キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドおよび非立体特異的合成によるジアステレオマーの混合物のＨＰＬＣ特性

【１５６４】

キラルとして純粋なホスホロチオエートジエステルオリゴヌクレオチドＡ（全R_P、オリゴヌクレオチド１０１）およびＢ（全S_P、オリゴヌクレオチド１０２）、ならびに標準的な非立体特異的オリゴヌクレオチド合成により作製された非立体特異的Ｃ（立体的にランダムなホスホロチオエートジエステルヌクレオチド間結合）を、同一のＲＰ-ＨＰＬＣ条件により分析し、対応するＨＰＬＣトレースを図２に示す。

【１５６５】

図２において明らかに示されるとおり、ホスホロチオエートジエステル２０量体オリゴヌクレオチドの立体化学は、ＲＰ‐ＨＰＬＣおよびＩＥＸ‐ＨＰＬＣにより決定されるそれらの挙動に影響を及ぼす。理論により拘束されることを意図するものではないが、保持時間（ＲＴ）傾向は保存されるので、ＲＰ‐ＨＰＬＣおよびＩＥＸ‐ＨＰＬＣの保持時間（ＲＴ）に相関が観測される。全R_P立体異性体（Ａ）は、全S_P立体異性体（Ｂ）よりも短い保持を有し、また、全2^{19}立体異性体の混合物である立体的にランダムなホスホロチオエートジエステルオリゴヌクレオチド（Ｃ）は幅広いＨＰＬＣピークを有し、極限全R_Pおよび全S_Pジアステレオマー間に溶出する。

【１５６６】

当業者に理解されるとおり、同一の配列を有する異なるキラル制御またはキラル非制御の（例えば、立体的にランダムな）オリゴヌクレオチド組成物を比較して示す解析が、例示的なキラル非制御オリゴヌクレオチド組成物（すなわち、非キラル制御オリゴヌクレオチド合成により調製されたもの）は全R_PまたはS_P型等の特定のオリゴヌクレオチド型を非常に低いレベルでのみ含むことを示すことを、共に示されたデータが確証している。

【１５６７】

実施例４９　熱的変性実験（Ｔｍ）

【１５６８】

各ＤＮＡ鎖を、１×ＰＢＳ中で、０．５μＭの等モル濃度で相補ＲＮＡと混合した。全量２．５ｍＬの溶液を各２本鎖用に調製し、混合物を９０℃で２分間加熱し、数時間にわたり放冷した。次に、混合物を４℃で２時間保管した。ペルチェユニットを備えたパーキンエルマー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）製ＵＶ分光光度計を使用して、０．５分間隔で、１５℃から開始して９０℃までの温度勾配で０．５℃／分で上昇させ、２５４ｎｍにおける吸光度を記録した。２５４ｎｍの吸光度を温度に対してプロットし、Ｔｍ値を各曲線のそれぞれの１次導関数から算出した。

【１５６９】

図３は、２つの立体的に純粋なジアステレオ異性体ホスホロチオエートオリゴヌクレオチド（全R_P２０量体Ａおよび全S_P２０量体Ｂ）ならびに立体的にランダムなホスホロチオエートオリゴヌクレオチドＣ間のＴｍの差を示す。全R_PホスホロチオエートＤＮＡは、反対の全S_Pジアステレオ異性体および立体的にランダムな２０量体の両方と比較すると、相補ＲＮＡに対するより高い親和性を示す。

【１５７０】

以下の表Ｅ‐１５に、キラル制御したオリゴヌクレオチドと立体的にランダムなオリゴヌクレオチド間の差をまとめる。

表Ｅ－１５　キラル制御したオリゴヌクレオチドと立体的にランダムなオリゴヌクレオチド間の差

【表３１】

オリゴヌクレオチド	RT–IEX（分）	Tm (℃) ±0.5	IC_{50} (nM)（整数に切り上げ）
101	14.70	68.3	4
102	15.49	60.5	6
103	15.10	63.4	6
104	15.04	63.5	4
105	14.75	66.5	3
106	15.43	61.8	4
107	15.02	64.5	4
108	15.10	64.8	3
109	14.91	65.8	2
110	15.24	62.9	7
111	15.69	NA	NA
113	15.72	NA	NA
114	14.14	65.2	5
115	14.30	65.2	3
116	14.17	64.8	2
118	15.04	64.5	3
119	6.90	73.4	未検出
120	15.49	65.3	4

【１５７１】
実施例５０　キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドの生物学的活性
【１５７２】
ＯＤ確認後、全オリゴヌクレオチド候補分子を２０μＭの開始濃度に希釈した。多投与フォワードトランスフェクション実験を、Ｈｅｐ３Ｂ細胞（ＡＴＣＣ（登録商標）、カタログＨＢ‐８６０４（商標））を使用して、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ１１６６８‐０１９）トランスフェクション試薬を使用して、９６ウェルプレートに設定した。
【１５７３】
トランスフェクションプロトコル：
【１５７４】
１ウェルあたり２×１０^{4}個のＨｅｐ３Ｂを播種し、３７℃で２４時間、CO_2インキュベータ内で、１０％ＦＢＳおよび１％Ｇｌｕｔａｍａｘ　Ｉ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ３５０５００６１）を含有する１００μｌの抗菌剤を含まないＭＥＭ培地（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ１１０９５０９８）でインキュベートした。ヌクレアーゼを含まない水中で、１２個の希釈を設定した（表Ｅ‐１６）。

表Ｅ－１６　オリゴヌクレオチドトランスフェクションストックプレートの濃度
【表３２】

希釈率	1	2	3	4	5	6
In μM	20	10	3.33333	1.11111	0.37037	0.12346
希釈率	7	8	9	10	11	12
In μM	0.04115	0.01372	0.00457	0.00152	0.00051	0.00017

【１５７５】
各ウェルで、０．５μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００を９．５μＬのＯｐｔｉ　ＭＥＭ　Ｉ還元型血清培地（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ３１９８５０６２）と混合し、５分間インキュベートした。インキュベーション後、穏やかなピペット操作により、報告された濃度の１０μＬの各候補を希釈したＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００と混合した。次に混合物を室温で２０分間インキュベートし、複合体を形成させた。この間、細胞成長培地を、新しい前述の抗菌剤を含まないＭＥＭ８０μＬと置き換えた。２０μＬの脂質‐オリゴ複合体を各ウェルに穏やかに混合し、全体積を１００μＬにした。次に細胞を３７℃で２４時間、CO_2インキュベータ内でインキュベートした。
【１５７６】
ＲＮＡ抽出：
【１５７７】
２４時間のインキュベーション後、細胞成長培地を除去し、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　ｍＲＮＡ　Ｄｉｒｅｃｔキット（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ６１０１２）を使用して、キットマニュアルで提供される手順に修正なしで従って、ＲＮＡを抽出した。この磁性Ｏｌｉｇｏ（ｄＴ）$_{25}$ビードシステムは、対費用効果の高く、丈夫なハイスループットポリ（Ａ）ＲＮＡ抽出を可能にし、ＤＮＡｓｅ処理を回避できる。ヌクレアーゼを含まない水でＲＮＡを溶出し、－８０℃で保管した。
【１５７８】
ｃＤＮＡ合成：
【１５７９】
高容量ｃＤＮＡ逆転写キット（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ４３７

４９６７）を使用し、ＲＮＡｓｅ阻害剤とキットプロトコルを使用した２０μＬのｃＤＮＡ合成反応において、１０μＬのＲＮＡを使用した。逆転写を、Ｃ１０００Ｔｏｕｃｈサーマルサイクラー（Ｂｉｏｒａｄ、カタログ１８５‐１１９６ＥＤＵ）で、９６ウェルフォーマットにおいて行った。

【１５８０】

遺伝子発現解析：

【１５８１】

遺伝子発現を、ＬｉｇｈｔＣｙｃｌｅｒ（登録商標）４８０　ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ Ｉ　Ｍａｓｔｅｒ（Ｒｏｃｈｅ、カタログ０４７０７５１６００１）を使用して、ＬｉｇｈｔＣｙｃｌｅｒ４８０　リアルタイムＰＣＲ装置で、定量ＰＣＲにより測定した。標的アポリポタンパク質Ｂ（Ａｐｏ　Ｂ）（ＮＭ＿０００３８４）のヒト配列のプライマーおよび内在性コントロールグリセルアルデヒド３リン酸脱水素酵素（ＧＡＰＤＨ）（ＮＭ＿００２０４６）を設計し、ＩＤＴから順序付けした（表Ｅ‐１７）。

【１５８２】

表Ｅ－１７　遺伝子発現定量化に使用したＨＰＬＣ精製プライマーの配列

【表３３】

プライマー	標的	配列	場所
Apo B フォワード プライマー	*H.sapiens* Apo B	AGCCTTGGTGGATACCCTGAAGTT	3209-3232
Apo B リバース プライマー	*H.sapiens* Apo B	TGGACAAGGTCATACTCTGCCGAT	3289-3312
GAPDH フォワード プライマー	*H.sapiens* GAPDH	CTCTGCTCCTCCTGTTCGAC	30-49
GAPDH リバース プライマー	*H.sapiens* GAPDH	ACGACCAAATCCGTTGACTC	122-141

【１５８３】

標的および内因性コントロールの測定を、別個のウェルで、同一のｃＤＮＡ鋳型からの物質を使用して行った。ＳＹＢＲ緑色アッセイＰＣＲ条件を、ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　Ｉ　Ｍａｓｔｅｒプロトコルにおいて記載のとおり設定した（表Ｅ‐１８）。

表Ｅ－１８　ＳＹＢＲ緑色アッセイのリアルタイムＰＣＲ条件

【表３４】

手順	繰り返し回数
プレインキュベーション	1
増幅	45
溶融曲線分析	1
冷却	1

温度(℃)	時間	Acquisition Mode	Ramp rate °C/s	Acquisition per °C
プレインキュベーション				
95	5分	なし	4.4	None
増幅				
95	10秒	なし	4.4	None
60	10秒	なし	2.2	None
72	10秒	Single	4.4	None
溶融曲線				
95	5秒	なし	4.4	None
65	1分	なし	2.2	None
97		連続	0.11	5
冷却				
40	30秒	なし	2.2	None

【１５８４】
融解曲線解析は、各プライマー対に対し、単一単位複製配列ピークを示している（図４）。
【１５８５】
データは３個の生物学的複製の結果である。全試料を未処置の非トランスフェクト対照と比較した。以下の結果を、ＳＹＢＲ緑色を使用して、リアルタイムＰＣＲにより遺伝子発現を評価した際に観察した（表Ｅ‐１９、図５）。

表Ｅ－１９　ＳＹＢＲ緑色により評価した完全ＩＣ$_{50}$データ
【表３５】

オリゴヌクレオチド	IC_{50} (nM)
101 All-R	4.368
102 All-S	6.345
103 5R-9S-5R	5.727
104 5S-9R-5S	4.291
105 1S-17R-1S	2.877
106 1R-17S-1R	~3.855
107 $(R/S)_9R$	~4.180

108 $(S/R)_9S$	3.189
118 Stereorandom	3.087
109 3S-13R-3S	1.722
110 3R-13S-3R	7.437
114 3R-13S-3R	5.234
115 $S-(RRS)_6$	2.689
116 $RS-(RRS)_5-RR$	1.919
120 Mipomersen	4.386

【１５８６】

いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、８ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、７ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、６ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、５ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、４ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、３ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、２ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、０．５～８ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、１～４ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、１．５～３ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、１．５～２ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、０．５～２ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、１～２．５ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、１．５～３ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、２．５～５ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、３～６ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、５～８ｎＭの範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかの実施形態においては、提供するキラル制御したオリゴヌクレオチドは、上方境界および下方境界間の範囲内のＩＣ$_{50}$を示す。いくつかのこのような実施形態においては、上方境界は、８，５，４、または３ｎＭである。いくつかのこのような実施形態においては、下方境界は、１、１．５、２、または２．５ｎＭである。実施例の参照により見られるとおり、本開示は、このような代表的なＩＣ$_{50}$値を示す多様なキラル制御したオリゴヌクレオチド、またはキラル制御したオリゴヌクレオチド組成物を詳細に例証する。

【１５８７】

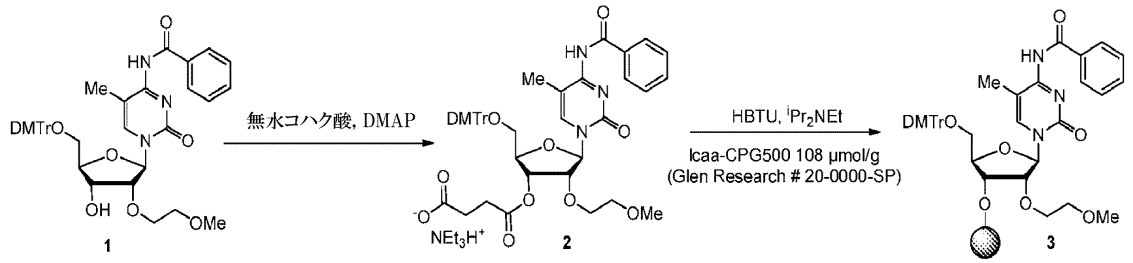
表Ｅ－１９は、キラル制御形態における試験の際、特定のキラル制御したオリゴヌクレオチド／オリゴヌクレオチド組成物は、対応する立体的にランダムなオリゴヌクレオチド

混合物より有効であることを示し（オリゴヌクレオチド１１８と比較して、オリゴヌクレオチド１０５、１０９、１１５および１１６）；それらは立体的にランダムなオリゴヌクレオチド混合物であるミポメルセンよりも活性であることも示している（オリゴヌクレオチド１２０と比較して、オリゴヌクレオチド１０４、１０５、１０６、１０７、１０９、１１５および１１６）。

さらなるキラル制御した製剤

実施例５１　キラル制御したオリゴヌクレオチド製剤の調製

【化４４７】



【１５８８】

本実施例は、本明細書において記載される特定のオリゴヌクレオチドの、多様な特定のキラル制御した組成物の調製を記載する。特には、本実施例は、積載されたｌｃａａ－ＣＰＧ－５００を使用したオリゴヌクレオチド調製を記載する。

【１５８９】

Ｎ^4－Ｂｚ－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－ＭＯＥ－５ｍＣ（１）（４．０ｇ、５．５ｍｍｏｌ）を無水ＤＣＭ（２０ｍＬ）に溶解し、２当量の無水コハク酸（１．１ｇ、１１．１ｍｍｏｌ）、および３当量の４－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン（２．０ｇ、１６．６ｍｍｏｌ）と混合した。反応物をアルゴン下、室温で撹拌した。ＴＬＣにより決定されるように、出発物質が完全に消費された後（１時間）、溶媒を蒸発させて乾燥し、粗製残渣を１％のトリエチルアミンを含有するＤＣＭに溶解し、次に２％のトリエチルアミンを含有するＤＣＭ中のＭｅＯＨの０～２％勾配を使用して、フラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。エバポレーション後の高純度化合物（２）の収量は４．５ｇ、８８％であった。生成した３’－Ｏ－コハク酸エステル（２）（０．９２ｇ、１．０ｍｍｏｌ）、Ｎ，Ｎ－ジイロプロピルエチルアミン（０．８２ｍｌ、５．０ｍｍｏｌ）およびＣＰＧ－５００（１０ｇ）をＤＭＦ（５０ｍＬ）に入れ、次にＨＢＴＵ（０．４２ｇ、１．１ｍｍｏｌ）を加えた。混合物を２時間振とうし、その後ろ過した。担体をＤＭＦ、ＭｅＯＨ、そして最後にＤＣＭで洗浄し、次に真空下で乾燥した。トリチル陽イオン分析（５０４ｎｍでモニター）は、担体（３）へのヌクレオシドの積載量は６３μｍｏｌ／ｇであることを示した。

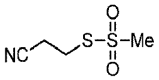
【１５９０】

立体的に規定されたキメラデオキシおよび２’－Ｏ－ＭＯＥホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド結合を含有する、キラル制御したオリゴヌクレオチド組成物を、ＭｅｒＭａｄｅ－１２　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置（ＢｉｏＡｕｔｏｍａｔｉｏｎ）で、表Ｅ－２０にまとめたサイクルに従って、２．０ｇ（１２６μｍｏｌ）のサクシニルで結合した非キャップのＮ^4－Ｂｚ－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－ＭＯＥ－５ｍＣ（６３μｍｏｌ／ｇ、Ｇｌｅｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ製ｌｃａａ　ＣＰＧ－５００）を充填したＭＭ－６－２００合成カラム（ＢｉｏＡｕｔｏｍａｔｉｏｎ）を使用して合成した。オリゴヌクレオチド合成サイクルは、予備キャッピングステップ（キャッピング２）で行い、最終末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒオリゴヌクレオチド基の除去なしで行った（ＤＭＴ　Ｏｎ）。立体特異的硫化ステップは、０．３Ｍ　メチルチオスルホン酸Ｓ－（２－シアノエチル）試薬を使用して、対応するキラルホスホラミドのカップリングおよび２ステップのキャッピングステップ後に行った（表Ｅ－２０）。

【１５９１】
最終５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基が付いたまま、自動化オリゴヌクレオチド合成サイクルが完了したら、合成カラムをＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置から外し、真空下で乾燥した。乾燥した担体を空のガラスマニュアルペプチド合成装置に移し、４０ｍＬ溶液の０．５Ｍ　１，５－ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ－５－エン（ＤＢＮ）、ＡＣＮ中の０．２５Ｍ　Ｎ，Ｏ－ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセタミド（ＢＳＴＦＡ）を５分間、流れを止めずに連続的に、マニュアルペプチド合成装置内で担体に通した。担体を５０％　Ｐｙ／ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で１秒間乾燥した。次に、担体を空のスクリュー蓋プラスチックバイアルへ移し、５％　ＥｔＯＨ／濃NH_3（２０ｍＬ）と６０℃で６時間処理し、室温で１２時間放置した。担体をろ過により除去し、濃NH_3で洗浄した。ろ液を真空下で乾燥し、次に生成物を５０ｍＭ　ＴＥＡＡ（１２０ｍＬ）に溶解した。溶液中に浮遊物があった場合、さらなるろ過を行った。溶液をＳｅｐ－Ｐａｋカートリッジ（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ）、Ｓｅｐ－Ｐａｋ　Ｖａｃ　３５ｃｃ（１０ｇ）C_{18}カートリッジ）に充填した。カートリッジを２０％　ＡＣＮ／５０ｍＭ　ＴＥＡＡ（７０ｍＬ）で洗浄し、キャップされた全切断型配列を除去し、０．５％濃NH_3を含有する５０％ＡＣＮ／水（５０ｍＬ）で全長ＤＭＴ　Ｏｎオリゴヌクレオチドを溶出させた。ＤＭＴ　Ｏｎオリゴヌクレオチドを含有する溶液を真空下で乾燥し、次に５０ｍＭ　ＴＥＡＡ（１２０ｍＬ）で希釈し、他のＳｅｐ－Ｐａｋカートリッジ（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ）、Ｓｅｐ－Ｐａｋ　Ｖａｃ　３５ｃｃ（１０ｇ）C_{18}カートリッジ）に充填した。カートリッジをミリＱ水（５０ｍＬ）、２％　ＴＦＡ／水（５０ｍＬ）、次に水（５０ｍＬ）で洗浄した。ＤＭＴ　Ｏｆｆオリゴヌクレオチドを、０．５％濃NH_3を含有する５０％ＡＣＮ／水（５０ｍＬ）で溶出させた。

表Ｅ－２０　キラル制御した合成に使用するＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＭｅｒＭａｄｅ－１２におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表３６】

ステップ	反応	試薬	吐出容積(ml)	待ち時間(秒)
1	脱トリチル化	3% TCA-DCM溶液	3 × 10	3 × 24
2	カップリング	0.15 M キラルホスホロアミド-ACN溶液 ＋ 1.2 M CMPT-ACN溶液	2 × 3.4	2 x 450 (MOE) 2 x 300 (DNA)
3	キャッピング1	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液	8	60
4	キャッピング2	5% Pac_2O -THF/2,6-ルチジン溶液 ＋ 16% NMI-THF溶液	6.8	60
5	硫化	0.3 M S-(2-シアノエチル) メタンチオスルホネート  -ACN/BSTFA溶液	9	600

【１５９２】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－７５（Ａｌｌ（Ｒｐ））－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣの合成
【１５９３】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８０（Ａｌｌ（Ｓｐ））－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣの合成
【１５９４】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－７７（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣ（５Ｒ－１０Ｓ－４Ｒ）の合成
【１５９５】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８１（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣ（５Ｓ－１０Ｒ－４Ｓ）の合成
【１５９６】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８７（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣ（５Ｒ－（ＳＳＲ）$_3$－５Ｒ）の合成
【１５９７】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８８（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣ（５Ｓ－（ＲＲＳ）$_3$－５Ｓ）
【１５９８】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８９（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）－ＧｓｍＣｓｍＣｓＴｓｍＣｓＡｓＧｓＴｓｍＣｓＴｓＧｓｍＣｓＴｓＴｓｍＣｓＧｓｍＣｓＡｓｍＣｓｍＣ（（ＳＲ）$_9$Ｓ）の合成
【１５９９】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８２（Ａｌｌ（Ｒｐ））－ＧｓＴｓｍＣｓｍＣｓｍＣｓＴｓＧｓＡｓＡｓＧｓＡｓＴｓＧｓＴｓｍＣｓＡｓＡｓＴｓＧｓｍＣの合成
【１６００】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８４（Ａｌｌ（Ｓｐ））－ＧｓＴｓｍＣｓｍＣｓｍＣｓＴｓＧｓＡｓＡｓＧｓＡｓＴｓＧｓＴｓｍＣｓＡｓＡｓＴｓＧｓｍＣの合成
【１６０１】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８５（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ＧｓＴｓｍＣｓｍＣｓｍＣｓＴｓＧｓＡｓＡｓＧｓＡｓＴｓＧｓＴｓｍＣｓＡｓＡｓＴｓＧｓｍＣ（５Ｒ－１０Ｓ－４Ｒ）の合成
【１６０２】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－８６（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）－ＧｓＴｓｍＣｓｍＣｓｍＣｓＴｓＧｓＡｓＡｓＧｓＡｓＴｓＧｓＴｓｍＣｓＡｓＡｓＴｓＧｓｍＣ（５Ｓ－１０Ｒ－４Ｓ）の合成
【１６０３】

実施例５２　粗製ＤＭＴ　Ｏｎオリゴヌクレオチドおよび精製したＤＭＴ　Ｏｆｆオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＲＰ‐ＨＰＬＣ方法

本実施例は、本明細書において記載されるキラル制御した合成により調製される粗製および精製したオリゴヌクレオチド組成物のＲＰ‐ＨＰＬＣ分析を記載する。

緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝７．０

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　C_{18}、３．５μｍ、C_{18}、４．６×５０ｍｍ、品番＃１８６００３０３４

カラム温度＝５０℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表３７】

Time(min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		99	1	
2	1	99	1	6
52	1	50	50	6
55	1	5	95	6
55.5	1	5	95	6
56	1	99	1	6
60	1	99	1	1

【表３８】

RP-HPLC of Crude DMT on:	**Figure 35:**
ONT-75 (All (*Rp*))-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC	(Panel A)
ONT-80 (All (*Sp*))-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC	(Panel B)
ONT-77: (*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5R-10S-4R)	(Panel C)
ONT-81 (*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5S-10R-4S)	(Panel D)
ONT-87 (*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5R-$(SSR)_3$-5R)	(Panel E)
ONT-88 (*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5S-$(RRS)_3$-5S)	(Panel F)
ONT-89 (*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC ($(SR)_9S$)	(Panel G)
ONT-82 (All (*Rp*))-GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC	(Panel H)
ONT-84 (All (*Sp*))-GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC	(Panel I)
ONT-85 (*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*,	(Panel J)

Rp)- GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC (5R-10S-4R)	
ONT-86 (*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC (5S-10R-4S)	(Panel K)

【１６０４】

実施例５３　粗製ＤＭＴ　Ｏｎオリゴヌクレオチドおよび精製したＤＭＴ　Ｏｆｆオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法

本実施例は、本明細書において記載されるキラル制御した合成により調製される粗製および精製したオリゴヌクレオチド組成物のＩＥＸ‐ＨＰＬＣ分析を記載する。

緩衝液Ａ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、５０％　ＡＣＮ、ｐＨ＝８．０

緩衝液Ｂ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、８００ｍＭ　$NaClO_4$、ｐＨ＝８．０

カラム：ＤＩＯＮＥＸ、ＤＮＡＰａｃ、ＰＡ‐１００、分析用、４．０×２５０ｍｍ、品番＃０６３０００

カラム温度＝６０℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表３９】

Time (min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		85	15	
3	1	85	15	1
23	1	60	40	6
25	1	5	95	6
25.5	1	85	15	6
30	1	85	15	1

【１６０５】

実施例５４　精製したＤＭＴ　Ｏｆｆオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ方法

本実施例は、本明細書において記載されるキラル制御した合成により調製される精製したオリゴヌクレオチド組成物のＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ分析を記載する。

緩衝液Ａ：１５ｍＭ　ＴＥＡ、４００ｍＭ　ＨＦＩＰ、水

緩衝液Ｂ：５０：５０　緩衝液Ａ／メタノール

カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　C_{18}　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ

カラム温度＝５０℃

使用した勾配：

【表４０】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial	0.2	80	20	
2	0.2	80	20	1
22	0.2	30	70	6
25	0.2	5	95	6
25.5	0.2	80	20	6
30	0.2	80	20	1

【１６０６】

実施例５５　粗製ＤＭＴ　Ｏｆｆオリゴヌクレオチドの精製用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法

【１６０７】

本実施例は、本明細書において記載されるキラル制御した合成により調製される粗製オリゴヌクレオチド組成物のＩＥＸ‐ＨＰＬＣ精製を記載する。

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、ｐＨ＝１１．０

緩衝液Ｂ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、２．５Ｍ　ＮａＣｌ、ｐＨ＝１１．０

カラム：空のカラム　Ｗａｔｅｒｓ　ＡＰ‐２（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ））、Ｓｏｕｒｃｅ１５Ｑ担体（ＧＥヘルスケア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ））をカスタム社内充填した。個々の精製カラムを充填し、異なる立体的に純粋なオリゴヌクレオチドに使用した。

装置：Ｐ‐９００ポンプ、ＵＰＣ‐９００検出器、および５０ｍＬ注入ＳｕｐｅｒＬｏｏｐ（ＧＥヘルスケア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ））を備えたＡＫＴＡ精製機

緩衝液ヒーター温度設定＝７０℃

２５４ｎｍで信号をモニター

分画容量：５ｍＬ

使用した勾配：

【表４１】

Time (min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		100	0	
25	10	100	0	1
40	10	85	15	6
60	10	85	15	1
80	10	70	30	6
100	10	70	30	1
140	10	60	40	6
180	10	60	40	1
200	10	45	55	6
210	10	45	55	1
211	10	100	0	6
235	10	100	0	1

【１６０８】

回収した分画を、上記の分析条件および勾配を使用して分析用ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにより個々に分析した。２５４ｎｍのＵＶ吸収プロファイルにより決定される９５％以上の純度の精製物質を提供するため、高純度分画を集めた。

【表４２】

RP-HPLC of Purified DMT Off	Figure 36:
ONT-75 (All (*Rp*))-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC	(Panel A)
ONT-80 (All (*Sp*))-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC	(Panel B)
ONT-77 (*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5R-10S-4R)	(Panel C)
ONT-81 (*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5S-10R-4S)	(Panel D)
ONT-87 (*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5R-$(SSR)_3$-5R)	(Panel E)
ONT-88 (*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC (5S-$(RRS)_3$-5S)	(Panel F)
ONT-89 (*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)-Gs5mCs5mCsTs5mCsAs GsTs5mCsTsGs5mCsTsTs5mCsGs5mCsAs 5mCs5mC ($(SR)_9S$)	(Panel G)
ONT-82 (All (*Rp*))-GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC	(Panel H)
ONT-84 (All (*Sp*))-GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC	(Panel I)
ONT-85 (*Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*)- GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC (5R-10S-4R)	(Panel J)
ONT-86 (*Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Rp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*, *Sp*)-GsTs5mCs5mCs5mCsTsGsAsAsGsAsTsGsTs5mCsAsAsTsGs5mC (5S-10R-4S)	(Panel K)

【１６０９】

表Ｅ－２１　実施例ＸＸにおいて記載のとおり合成した立体的に純粋なホスホロチオエートオリゴヌクレオチドの物理化学特性の集計

【１６１０】

配列Ａ：ヒトＡｐｏＢ配列５′－Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ－３′。

【１６１１】
配列Ｂ：マウスＡｐｏＢ配列５′‐ＧｓＴｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓＧｓＡｓＡｓＧｓＡｓＴｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＡｓＴｓＧｓ５ｍＣ‐３′。
【１６１２】
下線のヌクレオチドは２’‐Ｏ‐ＭＯＥを示す。ｓ＝ホスホロチオエート結合である。５ｍｃ＝５‐メチル‐２’‐デオキシシチジンである。５ｍｃ＝５‐メチル‐２’‐Ｏ‐ＭＯＥ‐シチジンである。立体構造は、オリゴヌクレオチドの所定のホスホロチオエート結合における各リン原子の立体異性体性質（R_P／S_P）を記載する。ＩＥＸ‐ＨＰＬＣの保持時間（t_R）および実測分子量（ＭＷ）値を、精製した化合物（上記）の対応する分析方法を使用して得た。
【表４３】

sequence ID	sequence	stereo architecture	t_R IEX-HPLC (min)	Calc MW	Found MW
ONT-41	A	Stereorandom diastereomixture	17.34	7177.2	7175.7
ONT-75	A	All *Rp*	16.44	7177.2	7177.0
ONT-77	A	5R-10S-4R	17.44	7177.2	7177.5
ONT-80	A	All *Sp*	18.13	7177.2	7175.5
ONT-81	A	5S-10R-4S	17.67	7177.2	7175.8
ONT-87	A	5R-$(SSR)_3$-5R	13.64	7177.2	-
ONT-88	A	5S-$(RRS)_3$-5S	14.88	7177.2	7177.0
ONT-89	A	$(SR)_9S$	14.25	7177.2	-
ONT-83	B	Stereorandom diastereomixture	17.02	7233.2	7231.8
ONT-82	B	All *Rp*	16.43	7233.2	7231.6
ONT-84	B	All *Sp*	19.51	7233.2	7232.1
ONT-85	B	5R-10S-4R	18.76	7233.2	7231.1
ONT-86	B	5S-10R-4S	18.75	7233.2	7230.9

【１６１３】
実施例５６　精製したＤＭＴ　Ｏｆｆオリゴヌクレオチドの重ね合せ分析用の一般的なＲＰ‐ＨＰＬＣ方法
本実施例は、本明細書において記載されるキラル制御した合成により調製される精製したオリゴヌクレオチド組成物のＲＰ‐ＨＰＬＣ分析を記載する。
緩衝液
Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝７．０
緩衝液Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　C_{18}、３．５μｍ、C_{18}、４．６×５０ｍｍ
カラム温度＝５０℃
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：

【表４４】

Time(min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		95	5	
2	1	95	5	1
52	1	70	30	6
54	1	5	95	6
54.5	1	5	95	1
55	1	99	1	6
60	1	99	1	1

【１６１４】

図３７のパネルＡは、精製したＤＭＴ　ＯｆｆオリゴヌクレオチドオリゴヌクレオチドＯＮＴ‐７５、ＯＮＴ‐７７、ＯＮＴ‐８０、ＯＮＴ‐８１、ＯＮＴ‐８７、ＯＮＴ‐８８、ＯＮＴ‐８９、およびＯＮＴ‐４１（ジアステレオ混合物）‐Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣのＲＰ‐ＨＰＬＣトレースの重ね合せである。

【１６１５】

図３７のパネルＢは、パネルＡの拡大図を示し、各曲線を以下のように標識している。

【表４５】

Curve #	Oligonucleotide
1	diastereomixture (ONT-41)
2	all-Rp (ONT-75)
3	5R-$(SSR)_3$-5R (ONT-87)
4	$(SR)_9$-S (ONT-89)
5	5R-10S-4R (ONT-77)
6	5S-10R-4S (ONT-81)
7	5S-$(RRS)_3$-5S (ONT-88)
8	all-Sp (ONT-80)

【１６１６】

図３８のパネルＡは、精製したＤＭＴ　ＯｆｆオリゴヌクレオチドオリゴヌクレオチドＯＮＴ‐８２、ＯＮＴ‐８４、ＯＮＴ‐８５、ＯＮＴ‐８６、およびＯＮＴ‐８３（ジアステレオ混合物）‐ＧｓＴｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓＧｓＡｓＡｓＧｓＡｓＴｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＡｓＴｓＧｓ５ｍＣのＲＰ‐ＨＰＬＣの重ね合せである。

【１６１７】

図３８のパネルＢは、パネルＡの拡大図を示し、各曲線を以下のように標識している。

【表４６】

Curve #	Oligonucleotide
1	diastereomixture (ONT-83)
2	all-Rp (ONT-82)
3	5S-10R-4S (ONT-86)
4	5R-10S-4R (ONT-85)
5	all-Sp (ONT-84)

【１６１８】
実施例５７：熱変性実験（Ｔｍ）
【１６１９】
本実施例は、熱変性を使用して、キラル制御したオリゴヌクレオチド組成物の特性を記載している。
【１６２０】
各ＤＮＡ鎖を、１×ＰＢＳ中で、１μＭの等モル濃度で相補ＲＮＡと混合した。全量３ｍＬの溶液を各２本鎖用に調製し、混合物を９０℃で２分間加熱し、数時間にわたり放冷した。次に、混合物を４℃で２時間保管した。Ｃａｒｙ１００シリーズ（アジレント・テクノロジー（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ））を使用して、０．５分間隔で、１５．０℃から開始して９５．０℃までの温度勾配で０．５℃／分で上昇させ、２５４ｎｍにおける吸光度を記録した。２５４ｎｍの吸光度を温度に対してプロットし、Ｔｍ値を各曲線のそれぞれの１次導関数から算出した。
【１６２１】
図３９は、キラル制御したオリゴヌクレオチドおよび立体的にランダムなオリゴヌクレオチドのＴｍ重ね合せを示す。
【１６２２】
図３９は、４つの立体的に純粋なジアステレオ異性体ホスホロチオエートオリゴヌクレオチド（ａｌｌ－R_P２０量体、ａｌｌ－S_P２０量体、５Ｒ‐１０Ｓ‐４Ｒおよび５Ｓ‐１０Ｒ‐４Ｓギャップマー（ｇａｐｍｅｒｓ））ならびに立体的にランダムなホスホロチオエートオリゴヌクレオチド間のＴｍの差を示す。全R_PホスホロチオエートＤＮＡは、１番低い親和性を有する全Ｓｐ２０量体（Ｔｍ＝７５．１℃）と比較すると、１番高い相補ＲＮＡに対する親和性（Ｔｍ＝８５．１℃）を示す。５Ｒ‐１０Ｓ‐４Ｒおよび５Ｓ‐１０Ｒ‐４Ｓギャップマー（ｇａｐｍｅｒｓ）、および立体的にランダムなホスホロチオエートオリゴヌクレオチドは、全て中間の値（Ｔｍ範囲＝８０．１～８１．２℃）を示した。
【１６２３】
以下の表Ｅ‐２２に、ヒトＡｐｏＢ配列５′‐Ｇｓ５ｍＣｓ５ｍＣｓＴｓ５ｍＣｓＡｓＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ５ｍＣｓＧｓ５ｍＣｓＡｓ５ｍＣｓ５ｍＣ‐３′を有する、調査した立体的に純粋なホスホロチオエートオリゴヌクレオチドおよび立体的にランダムなホスホロチオエートオリゴヌクレオチドのＴｍ値と、ホスホロチオエートバックボーン上の様々な立体化学構造を示す。

表Ｅ－２２

【表４７】

sequence ID	stereo architecture	Tm (°C)
ONT-41	Stereorandom diastereomixture	81.0
ONT-75	All *Rp*	85.1
ONT-77	5R-10S-4R	80.1
ONT-80	All *Sp*	75.1
ONT-81	5S-10R-4S	81.2

【１６２４】

実施例５８　例示的なキラル制御したＳｉＲＮＡオリゴヌクレオチド標的ＰＣＳＫ９の調製

プロタンパク質コンバターゼサブチリシン／ケキシン９型（ＰＣＳＫ９）は、コレステロール代謝に関わる酵素である。ＰＣＳＫ９は低密度リポタンパク（ＬＤＬ）の受容体に結合し、その破壊を誘引する。受容体が破壊される場合、受容体に随伴するＬＤＬも除去されるが、結合しているＰＣＳＫ９の正味の影響は、実際ＬＤＬレベルを増加させ、これは受容体がそうでなければ細胞表面へサイクルに戻り、より多くのコレステロールを除去するであろうからである。

【１６２５】

いくつかの会社はＰＣＳＫ９を標的にする治療薬を開発している。本開示に特に関連するのは、Ｉｓｉｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ、Ｓａｎｔａｒｉｓ　ＰｈａｒｍａおよびＡｌｎｙｌａｍ　ＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓがＰＣＳＫ０を阻害する核酸薬剤を開発していることである。アンチセンスオリゴヌクレオチドであるＩｓｉｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ製品は、マウスにおいてＬＤＬＲの発現を増加させ、循環全コレステロールレベルを減少させることを示している（Ｇｒａｈａｍら "Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｐｒｏｔｅｉｎ ｃｏｎｖｅｒｔａｓｅ ｓｕｂｔｉｌｉｓｉｎ／ｋｅｘｉｎ ｔｙｐｅ ９ ｒｅｄｕｃｅｓ ｓｅｒｕｍ ＬＤＬ ｉｎ ｈｙｐｅｒｌｉｐｉｄｅｍｉｃ ｍｉｃｅ". Ｊ. Ｌｉｐｉｄ Ｒｅｓ. ４８（４）：７６３－７, Ａｐｒｉｌ ２００７）。Ａｌｎｙｌａｍ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ製品のＡＬＮ‐ＰＣＳでの初期臨床試験では、ＲＮＡ干渉がＰＣＳＫ９を阻害する効果的な機構を与えることを明らかにしている（Ｆｒａｎｋ－Ｋａｍｅｎｅｔｓｋｙら “Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ＲＮＡｉ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ＰＣＳＫ９ ａｃｕｔｅｌｙ ｌｏｗｅｒｓ ｐｌａｓｍａ ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｏｌ ｉｎ ｒｏｄｅｎｔｓ ａｎｄ ＬＤＬ ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｏｌ ｉｎ ｎｏｎｈｕｍａｎ ｐｒｉｍａｔｅｓ”. Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. Ｕ. Ｓ. Ａ. １０５（３３）：１１９１５－２０, Ａｕｇｕｓｔ ２００８）。

【１６２６】

本実施例は、キラル制御したまたは立体的にランダムな、ＰＣＳＫ９を対象とする様々なｓｉＲＮＡ薬剤を記載する。詳細には、この実施例は、以下の表Ｅ‐２３に示すとおり、以下の各オリゴヌクレオチド組成物の調製を記載する。

表Ｅ－２３

【表４８】

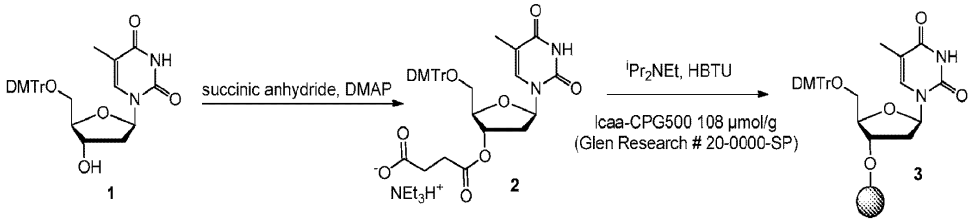
ONT #	Sequence	Type
ONT-106	(*Rp*)- uucuAGAccuGuuuuGcuudT*s*dT	PCSK9 sense
ONT-107	(*Sp*)- uucuAGAccuGuuuuGcuudT*s*dT	PCSK9 sense
ONT-108	(*Rp*)- AAGcAAAAcAGGUCuAGAAdT*s*dT	PCSK9 antisense
ONT-109	(*Sp*)- AAGcAAAAcAGGUCuAGAAdT*s*dT	PCSK9 antisense
ONT-110	(*Rp*, *Rp*)- a*s*AGcAAAAcAGGUCuAGAAdT*s*dT	PCSK9 antisense
ONT-111	(*Sp*, *Rp*)- a*s*GcAAAAcAGGUCuAGAAdT*s*dT	PCSK9 antisense
ONT-112	(*Sp*, *Sp*)- a*s*GcAAAAcAGGUCuAGAAdT*s*dT	PCSK9 antisense
ONT-113	(*Rp*, *Sp*)- a*s*GcAAAAcAGGUCuAGAAdT*s*dT	PCSK9 antisense

注記：小文字は２’ＯＭｅ　ＲＮＡ残基を表し；大文字は２’ＯＨ　ＲＮＡ残基を表し；太字および斜体の「ｓ」はホスホロチオエート部を示す。

【１６２７】

これらのオリゴヌクレオチドの調製において使用したＬｃａａ‐ＣＰＧ‐５００は、以下の反応に従って調製した。

【化４４８】



【１６２８】

具体的には、５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ‐２’デオキシチミジン（１）（４．２８ｇ、７．８６ｍｍｏｌ）を無水ＤＣＭ（５０ｍＬ）に溶解し、２当量の無水コハク酸（１．５７ｇ、１５．７ｍｍｏｌ）、および３当量の４‐Ｎ，Ｎ‐ジメチルアミノピリジン（２．８８ｇ、２３．６ｍｍｏｌ）と混合した。反応物をアルゴン下、室温で撹拌した。ＴＬＣにより決定されるように、出発物質が完全に消費された後（１時間）、溶媒を蒸発させて乾燥し、粗製残渣を１％のトリエチルアミンを含有するＤＣＭに溶解し、次に２％のトリエチルアミンを含有するＤＣＭ中のＭｅＯＨの０～２％勾配を使用して、フラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。エバポレーション後の高純度化合物（２）の収量は５．５ｇ、９４％であった。生成した５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ‐２’‐デオキシチミジン‐３’‐Ｏ‐コハク酸エステル（２）（０．６０ｇ、０．８１ｍｍｏｌ）、Ｎ，Ｎ‐ジイロプロピルエチルアミン（０．７１ｍＬ、４．０２ｍｍｏｌ）およびＣＰＧ‐５００（１０ｇ）をＤＭＦ（５０ｍＬ）に入れ、次にＨＢＴＵ（０．３７ｇ、０．９７ｍｍｏｌ）を加えた。混合物を２時間振とうし、その後ろ過した。担体をＤＭＦ、ＭｅＯＨ、そして最後にＤＣＭで洗浄し、次に真空下で乾燥した。トリチル陽イオン分析（５０４ｎｍでモニター）は、担体（３）へのヌクレオシドの積載量は３８μｍｏｌ／ｇであることを示した。

【１６２９】

上記表Ｅ‐２３に示されるとおり、２’‐ＯＨおよび２’‐ＯＭｅホスホジエステルならびに立体的に規定された２’‐デオキシおよび２’‐ＯＭｅ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有する各ヌクレオチドを、ＡＢＩ３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ‐２４および表Ｅ‐２５にそれぞれまとめたサイクルに従って、１３０ｍｇ（４．９μｍｏｌ）のサクシニルで結合した５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ‐２’‐デオキシチミジン（３８μｍｏｌ／ｇ）を充填した１０μｍｏｌ容量の合成カラムを使用して合成した。合成前に、予備キャッピングステップ（キャッピング２）を行い、末端５’‐Ｏ‐ＤＭ

Ｔｒ基を除去して合成を終了した。酸化ステップは、市販のｔｅｒｔ‐ブチルヒドロペルオキシド（ＴＢＨＰ）の５～６Ｍ　デカン溶液を使用して行い、次にこれを４部のジクロロメタンで希釈した。立体特異的硫化ステップは、０．３Ｍ　メチルチオスルホン酸Ｓ‐シアノエチル試薬を使用して、対応するキラルホスホラミドのカップリングおよび２ステップのキャッピングステップ後に行った（表Ｅ‐２５）。

【１６３０】

自動化オリゴヌクレオチド合成サイクルが完了し、最終５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去したら、合成カラムをＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置から外し、真空下で乾燥した。１０ｍＬ溶液の０．５Ｍ　１，５‐ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ‐５‐エン（ＤＢＮ）、ＡＣＮ中の０．２５Ｍ　Ｎ，Ｏ‐ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセタミド（ＢＳＴＦＡ）を１分間、流れを止めずに、合成カラムの一端に取り付けられたシリンジを使用して、合成カラムを通して連続的に担体に加えた。次に担体を無水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。次に、乾燥した担体を空のスクリュー蓋プラスチックバイアルへ移し、４０％ $MeNH_2$ 水溶液（０．５ｍＬ）と６０℃で１０分間処理した。その後、バイアルをただちに冷却し、ＤＭＳＯ（０．５ｍＬ）で希釈後、担体をろ過により除去し、ＤＭＳＯ（１ｍＬ）で再度洗浄し、ろ過した。ろ液を冷却し、次にただちに３ＨＦ・Et_3N（０．７５ｍＬ）と６０℃で１０分間処理し、次にただちに冷凍し、精製前に４℃で保管した。

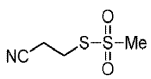
表Ｅ－２４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要（２’‐Ｏ‐ＴＢＤＭＳおよび２’‐ＯＭｅ置換ＲＮＡサイクル）

【表４９】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 120 + 10	N. A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 2 M CMPT in ACN	7 + 6	30 + 600
3	capping	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	10	20
4	oxidation	1.1 M *tert*-butyl hydroperoxide in 4:1 dichloromethane:decane	20	110

表Ｅ－２５　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要（立体的に規定されたホスホロチオエート２’‐デオキシおよび２’‐ＯＭｅ　ＲＮＡサイクル）

【表５０】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 120 + 10	N. A.
2	coupling	0.15 M chiral phosphoramidite in ACN + 2 M CMPT in ACN	8 + 6	30 + 900 (2'-OMe RNA) 30 + 600 (DNA)
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	30	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	30	60
5	sulfurization	0.3 M *S*-(2-cyanoethyl) methylthiosulfonate  in ACN/BSTFA	15 + 3×4	120 + 3×60 + 300

【１６３１】

実施例５９　粗製および生成したＤＭＴ　Ｏｆｆ　ＲＮＡオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、ｐＨ＝１１．０

緩衝液Ｂ：２０ｍＭ　リン酸ナトリウム、１Ｍ　ＮａＢｒ、ｐＨ＝１１．０

カラム：ＤＩＯＮＥＸ、ＤＮＡＰａｃ、ＰＡ‐１００、分析用、４．０×２５０ｍｍ

カラム温度：６０℃

２５４ｎｍおよび２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表５１】

Time (min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		95	5	
3	1	95	5	1
23	1	20	80	6
25	1	5	95	6
25.5	1	95	5	6
30	1	95	5	1

【１６３２】

実施例６０　精製したＤＭＴ　Ｏｆｆ　ＲＮＡオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ方法

緩衝液Ａ：１５ｍＭ　ＴＥＡ、４００ｍＭ　ＨＦＩＰ、水

緩衝液Ｂ：５０：５０　緩衝液Ａ／メタノール

カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　C_{18}　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ

カラム温度＝５０℃

使用した勾配：

【表５２】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial	0.2	95	5	
10	0.2	35	65	6
12	0.2	5	95	6
12.5	0.2	95	5	6
15	0.2	95	5	1

【１６３３】

実施例６１　粗製ＤＭＴｒ　Ｏｆｆ　ＲＮＡオリゴヌクレオチドの精製用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、ｐＨ＝８．５

緩衝液Ｂ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、１Ｍ　ＮａＢｒ、ｐＨ＝８．５

カラム：空のカラム　Ｗａｔｅｒｓ　ＡＰ‐２（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ））、Ｓｏｕｒｃｅ１５Ｑ担体（ＧＥヘルスケア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ））をカスタム自家充填した。同一の精製カラムを異なる立体的に純粋なオリゴヌクレオチドに使用した。

装置：２５２５　２成分勾配モジュール、２４８７　２波長吸光度検出器、および２０ｍＬ　Ｆｌｅｘ注入器を備えたＷａｔｅｒｓ　ＨＰＬＣユニット（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ））。

緩衝液ヒーター温度設定＝７０℃

２５４ｎｍおよび２８０ｎｍで信号をモニター

分画容量：４．５ｍＬ

使用した勾配：

【表５３】

Initial		100	0	
10	10	100	0	1
25	10	80	20	6
85	10	67.5	32.5	6
95	10	67.5	32.5	1
155	10	55	45	6
165	10	0	100	6
170	10	100	0	6
180	10	100	0	1

【１６３４】

回収した分画を、上記の分析条件および勾配を使用して分析用ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにより個々に分析した。２５４ｎｍのＵＶ吸収プロファイルにより決定される９５％以上の純度の精製物質を提供するため、高純度分画を集めた。

【１６３５】

実施例６２　精製したＲＮＡオリゴヌクレオチドの脱塩用の一般的なＲＰ‐Ｓｅｐ‐Ｐａｋ方法

【１６３６】

保存した純粋な分画の溶液を、水で前調整したＳｅｐ‐Ｐａｋカートリッジ（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ）、Ｓｅｐ‐Ｐａｋ　Ｖａｃ　３５ｃｃ（１０ｇ）C_{18}カートリッジ）に充填した。試料（１００ｍＬ）を充填後、カートリッジをミリＱ水（５０ｍＬ）で洗浄し、全ての塩を除去し、次に５０％　ＡＣＮ／水で洗浄して、全長脱塩ＲＮＡオリゴヌクレオチドを溶出させた。回収した溶液を真空下で５ｍＬの体積になるまで濃縮し、水から凍結乾燥した。

【１６３７】

実施例６３　キラル制御したオリゴヌクレオチド鎖を使用した、２本鎖ｓｉＲＮＡ薬剤の調製

【１６３８】

本実施例は、上記のキラル制御したオリゴヌクレオチド鎖の熱アニーリングによる２本

鎖ｓｉＲＮＡ薬剤の調製を記載する。

【１６３９】

各ＲＮＡ鎖を、１×ＰＢＳ中で、１０μＭの等モル濃度で相補ＲＮＡ鎖と混合した。全量０．５ｍＬの溶液を各２本鎖用に調製し、混合物を９０℃で２分間加熱し、数時間にわたり放冷した。次に、混合物を４℃で保管した。使用したＲＮＡ鎖の物理化学特性を表Ｅ－２６に示す。

表Ｅ－２６

【表５４】

duplex ID	sequence	sequence ID	stereo architecture	Calc MW	Found MW

ONT D-1	S	ONT-116	Stereorandom diastereomixture	6735.4	6734.9
	AS1	ONT-114	Stereorandom diastereomixture	6805.4	6805.2
ONT D-2	S	ONT-107	*Sp*	6735.4	6736.6
	AS1	ONT-109	*Sp*	6805.4	6801.6
ONT D-3	S	ONT-106	*Rp*	6735.4	6731.8
	AS1	ONT-109	*Sp*	6805.4	6801.6
ONT D-4	S	ONT-107	*Sp*	6735.4	6736.6
	AS1	ONT-108	*Rp*	6805.4	6799.2
ONT D-5	S	ONT-106	*Rp*	6735.4	6731.8
	AS1	ONT-108	*Rp*	6805.4	6799.2
ONT D-7	S	ONT-116	Stereorandom diastereomixture	6735.4	6734.9
	AS2	ONT-115	Stereorandom diastereomixture	6835.5	6835.2
ONT D-8	S	ONT-106	*Rp*	6735.4	6731.8
	AS2	ONT-110	*Rp*, *Rp*	6835.5	6832.3
ONT D-9	S	ONT-107	*Sp*	6735.4	6736.6
	AS2	ONT-110	*Rp*, *Rp*	6835.5	6832.2
ONT D-10	S	ONT-106	*Rp*	6735.4	6731.8
	AS2	ONT-111	*Sp*, *Rp*	6835.5	6832.4
ONT D-11	S	ONT-107	*Sp*	6735.4	6736.6
	AS2	ONT-111	*Sp*, *Rp*	6835.5	6832.4
ONT D-12	S	ONT-106	*Rp*	6735.4	6731.8
	AS2	ONT-112	*Sp*, *Sp*	6835.5	6836.2
ONT D-13	S	ONT-107	*Sp*	6735.4	6736.6
	AS2	ONT-112	*Sp*, *Sp*	6835.5	6836.2
ONT D-14	S	ONT-106	*Rp*	6735.4	6731.8
	AS2	ONT-113	*Rp*, *Sp*	6835.5	6834.6
ONT D-15	S	ONT-107	*Sp*	6735.4	6736.6
	AS2	ONT-113	*Rp*, *Sp*	6835.5	6834.6

【１６４０】

使用したオリゴヌクレオチド配列、ヒトＰＣＳＫ９　ｓｉＲＮＡ：センス鎖（Ｓ）５′‐ｕｕｃｕＡＧＡｃｃｕＧｕｕｕｕＧｃｕｕｄＴｓｄＴ‐３′；アンチセンス鎖１（ＡＳ１）５′‐ＡＡＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓｄＴ‐３′；アンチセンス鎖２（ＡＳ２）５′‐ａｓＡＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓｄＴ‐３′。大文字ヌクレオチド：ＲＮＡ、小文字ヌクレオチド　２’‐ＯＭｅ、ｄ＝２’‐デオキシ、ｓ＝ホスホロチオエート。立体構造は、オリゴヌクレオチドの所定のホスホロチオエート結

合における各リン原子の立体異性体性質（R_P／S_P絶対配置）を記載する。実測分子量（ＭＷ）値を、精製した化合物（上記）の対応する分析方法を使用して得た。

【１６４１】

図５１は、ＩＥＸ‐ＨＰＬＣプロファイルの重ね合せを示し、立体的に純粋なＲＮＡオリゴヌクレオチド間の保持時間の違いを示す。

【表５５】

Curve #	Oligonucleotide
1	ONT-109 (S*p*)
2	ONT-114 (diastereomixture)
3	ONT-108 (R*p*)

【１６４２】

図５２は、ＩＥＸ‐ＨＰＬＣプロファイルの重ね合せを示し、立体的に純粋なＲＮＡオリゴヌクレオチド間の保持時間の違いを示す。

【表５６】

Curve #	Oligonucleotide
1	ONT-109 (R*p*)
2	ONT-114 (diastereomixture)
3	ONT-107 (S*p*)

【１６４３】

上記に詳細に例示した、調製したキラル制御ｓｉＲＮＡオリゴヌクレオチドに加え、本発明は、いくつかのキラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、および全キラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合を有するｓｉＲＮＡ鎖の調製も提供する。

【１６４４】

例えば、本発明に従って、２’‐Ｏ‐ＰｉｖＯＭ（Ｄｅｂａｒｔら、Ｃｈｅｍ．Ｅｕｒ．Ｊ．，２００８，１４，９１３５）、２’‐Ｏ‐ＣＥＭ（Ｏｈｇｉら、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．，２００５，７，７９１３；Ｗａｄａら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２０１２，７７，７９１３）、２’‐Ｏ‐ＴＯＭ（Ｐｉｔｓｃｈら、Ｈｅｌｖ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ，２００１，８４，３７７３）、または２’‐Ｏ‐ＴＣ（Ｄｅｌｌｉｎｇｅｒら、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２０１１，１３３，１１５４０）等の適切な２’‐ＯＨ保護基を有する適切なキラルＲＮＡ３’‐ホスホラミダイトを使用して、複数のキラルホスホロチオエート結合をＲＮＡオリゴヌクレオチド内に導入する。いくつかのキラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、および全キラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合を有する以下のヒトＰＣＳＫ９　ｓｉＲＮＡセンス鎖のそれぞれを、本発明に従って調製することができる。

【表５７】

	PCSK9 siRNA Sense Strands
PCSK9 (1)	(All (*S*p))- ususcsusAsGsAscscsusGsususususGscsususdTsdT
PCSK9 (2)	(All (*R*p))- ususcsusAsGsAscscsusGsususususGscsususdTsdT
PCSK9 (3)	(All (*S*p))- usucuAsGsAsccuGsuuuuGscuusdTsdT
PCSK9 (4)	(All (*R*p))- usucuAsGsAsccuGsuuuuGscuusdTsdT
PCSK9 (5)	(*R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p)-ususcsusAsGsAscscsusGsususususGscsususdTsdT
PCSK9 (6)	(*S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p)-ususcsusAsGsAscscsusGsususususGscsususdTsdT

注記：小文字は２’－ＯＭｅ　ＲＮＡ残基を表し；大文字はＲＮＡ残基を表し；ｄ＝２’－デオキシ残基であり；「ｓ」はホスホロチオエート部を示す。

【１６４５】

いくつかのキラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、および全キラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合を有するヒトＰＣＳＫ９　ｓｉＲＮＡアンチセンス鎖の合成例。

【表５８】

	Human PCSK9 siRNA Antisense Strands
PCSK9 (7)	(All (*R*p))- AsAsGscsAsAsAsAscsAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (8)	(All (*S*p))- AsAsGscsAsAsAsAscsAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (9)	(All (*R*p))- AsAGcAAAAcsAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (10)	(All (*S*p))- AsAGcAAAAcsAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (11)	(All (*R*p))- AAsGscsAsAsAsAscAGGUCuAGAAdTsdT
PCSK9 (12)	(All (*S*p))- AAsGscsAsAsAsAscAGGUCuAGAAdTsdT
PCSK9 (13)	(All (*R*p))- AsAsGscAsAsAsAscAsGsGsUsCsuAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (14)	(All (*S*p))- AsAsGscAsAsAsAscAsGsGsUsCsuAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (15)	(All (*R*p))- AsAGcAAAsAscAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (16)	(All (*S*p))- AsAGcAAAsAscAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (17)	(*R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p)-AsAGcAAAsAscAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT
PCSK9 (18)	(*S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p, *S*p, *R*p)-AsAGcAAAsAscAsGsGsUsCsusAsGsAsAsdTsdT

注記：小文字は２’－ＯＭｅ　ＲＮＡ残基を表し；大文字はＲＮＡ残基を表し；ｄ＝２’－デオキシ残基であり；「ｓ」はホスホロチオエート部を示す。

【１６４６】

代替的にまたは追加的に、本発明は、いくつかのキラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、および全キラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、ならびに全修飾リボース部を有するｓｉＲＮＡ２本鎖の調製を提供する。

【１６４７】

例えば、特定の実施形態においては、２’－デオキシ－２’－フルオロ（２’－Ｆ）ま

たは２’－Ｏ－メチル（２’－ＯＭｅ）等の対応する所望のリボース２’－化学修飾を有する適切なキラルＲＮＡ３’－ホスホラミダイトを使用して、複数のキラルホスホロチオエート結合を、全リボース修飾ＲＮＡオリゴヌクレオチド内に導入する。２、３個の例を挙げれば、いくつかのキラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、および全キラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合を有する、以下のヒトＰＣＳＫ９　ｓｉＲＮＡ全修飾２’－Ｆ／２’－ＯＭｅセンス鎖のそれぞれを調製することができる。

【表５９】

	Human PCSK9 siRNA fully modified 2'-F/2'-OMe Sense Strands
PCSK9 (19)	(All (*Rp*))- UfsusCfsusAfsgsAfscsCfsusGfsusUfsusUfsgsCfsusUfsdTsdT
PCSK9 (20)	(All (*Sp*))- UfsusCfsusAfsgsAfscsCfsusGfsusUfsusUfsgsCfsusUfsdTsdT
PCSK9 (21)	(All (*Rp*))- UfsuCfsuAfsgAfscCfsuGfsuUfsuUfsgCfsuUfsdTsdT
PCSK9 (22)	(All (*Sp*))- UfsuCfsuAfsgAfscCfsuGfsuUfsuUfsgCfsuUfsdTsdT
PCSK9 (23)	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*,
	Sp)- UfsusCfsusAfsgsAfscsCfsusGfsusUfsusUfsgsCfsusUfsdTsdT
PCSK9 (24)	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)- UfsusCfsusAfsgsAfscsCfsusGfsusUfsusUfsgsCfsusUfsdTsdT

注記：小文字は２’－ＯＭｅ　ＲＮＡ残基を表し；大文字は２’－Ｆ　ＲＮＡ残基を表し；ｄ＝２’－デオキシ残基であり；「ｓ」はホスホロチオエート部を示す。

【１６４８】

いくつかのキラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合、および全キラルホスホロチオエートヌクレオチド間結合を有するヒトＰＣＳＫ９　ｓｉＲＮＡ全修飾２’－Ｆ／２’－ＯＭｅアンチセンス鎖の合成例。

【表６０】

	Human PCSK9 siRNA fully modified 2'-F/2'-OMe Antisense Strands
PCSK9 (25)	(All (*Rp*))- asAfsgsCfsasAfsasAfscsAfsgsGfsusCfsusAfsgsAfsasdTsdT
PCSK9 (26)	(All (*Sp*))- asAfsgsCfsasAfsasAfscsAfsgsGfsusCfsusAfsgsAfsasdTsdT
PCSK9 (27)	(All (*Rp*))- asAfgCfaAfaAfcsAfsgsGfsusCfsusAfsgsAfsasdTsdT
PCSK9 (28)	(All (*Sp*))- asAfgCfaAfaAfcsAfsgsGfsusCfsusAfsgsAfsasdTsdT
PCSK9 (29)	(All (*Rp*))- asAfsgCfsaAfsaAfscAfsgGfsuCfsuAfsgAfsadTsdT
PCSK9 (30)	(All (*Sp*))- asAfsgCfsaAfsaAfscAfsgGfsuCfsuAfsgAfsadTsdT
PCSK9 (31)	(*Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*)- asAfgCfaAfasAfscAfsgsGfsusCfsusAfsgsAfsasdTsdT
PCSK9 (32)	(*Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*, *Sp*, *Rp*)- asAfgCfaAfasAfscAfsgsGfsusCfsusAfsgsAfsasdTsdT

注記：小文字は２’－ＯＭｅ　ＲＮＡ残基を表し；大文字は２’－Ｆ　ＲＮＡ残基を表し；ｄ＝２’－デオキシ残基であり；「ｓ」はホスホロチオエート部を示す。

【１６４９】

２本鎖を構築するため、ＲＮＡ鎖熱アニーリングおよびｓｉＲＮＡ２本鎖の調製を行う。詳細には、各ＲＮＡ鎖を、１×ＰＢＳ中で、１０μＭの等モル濃度で相補ＲＮＡ鎖と混合する。全量０．５ｍＬの溶液を各２本鎖用に調製し、混合物を９０℃で２分間加熱し、数時間にわたり放冷する。その後、混合物を４℃で保管する。

【１６５０】

熱ＲＮＡ鎖アニーリングステップ後、全ての可能なｓｉＲＮＡ２本鎖の組合せを、アンチセンス鎖の任意の可能な相補鎖と、任意のセンス鎖をアニーリングすることにより調製することができる。

【１６５１】

ＨｅＬａ細胞またはＨｅｐ３Ｂ細胞（例えば、本明細書において記載されるとおり）におけるトランスフェクション後、調製した全てのｓｉＲＮＡ２本鎖を、そのＰＣＳＫ９遺伝子サイレンシング特性について生体外で評価することができる。本発明に従って、異なる２本鎖に対し、異なる有効性を観測してもよく、例えばキラルホスホロチオエートバックボーン結合の数、位置および／または立体構造において異なり、任意に１以上の他の化学修飾の存在、レベルおよび／または型において異なる。

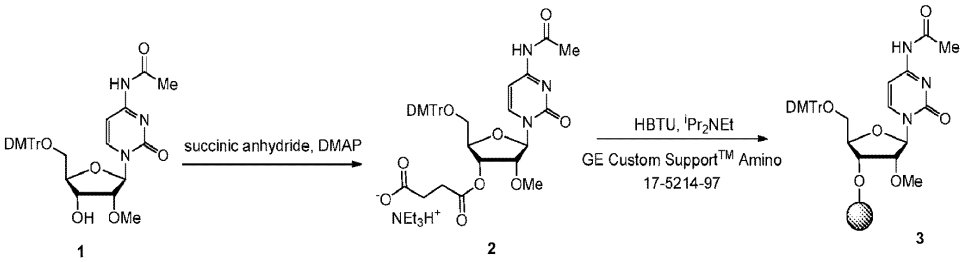
【１６５２】

例えばヌクレアーゼ抵抗性、細胞浸透、エンドソームエスケープ、２本鎖熱力学安定性、２本鎖の３次元構造、様々な酵素相互作用の機構ステップに対する親和性、標的ｍＲＮＡに対する親和性、特異的オフターゲット効果、免疫刺激、作用持続時間、薬物動態等の、任意のまたは全てのｓｉＲＮＡ特性を、上記のキラルホスホロチオエートバックボーン結合の立体化学により調節してもよく、影響されてもよい。

【１６５３】

実施例６４　キラル制御したオリゴヌクレオチド製剤の調製

【化４４９】



【１６５４】

本実施例は、本明細書において記載される特定のオリゴヌクレオチドの、多様な特定のキラル制御した組成物の調製を記載する。

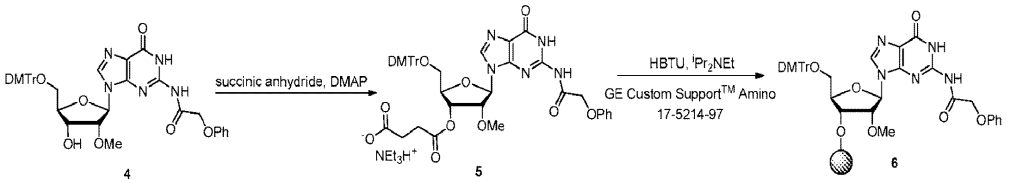
【１６５５】

Ｎ^4－アセチル－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－メチルシチジン（１）（１．１５ｇ、１．９１ｍｍｏｌ）を無水ＤＣＭ（２０ｍＬ）に溶解し、２当量の無水コハク酸（０．３８３ｇ、３．８２ｍｍｏｌ）、および３当量の４－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン（０．７０１ｇ、５．７３ｍｍｏｌ）と混合した。反応物をアルゴン下、室温で撹拌した。ＴＬＣにより決定されるように、出発物質が完全に消費された後（１時間）、溶媒を蒸発させて乾燥し、粗製残渣を１％のトリエチルアミンを含有するＤＣＭに溶解し、次に２％のトリエチルアミンを含有するＤＣＭ中のＭｅＯＨの０～２％勾配を使用して、フラッシュシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。蒸発後の高純度化合物（２）の収量は１．５０ｇ、９８％であった。ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^+$：７０２．２７、実測値：７０２．３４。生成したＮ^4－アセチル－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－３’－Ｏ－サクシニル－２’－Ｏ－メチルシチジン（２）（０．１８ｇ、０．２２ｍｍｏｌ）、Ｎ，Ｎ－ジイロプロピルエチルアミン（０．１８ｍｌ、０．７９ｍｍｏｌ）およびＧＥ　Ｃｕｓｔｏｍ　Ｓｕｐｐｏｒｔ（商標）Ａｍｉｎｏ（１ｇ）をＤＭＦ（５ｍＬ）に入れ、次にＨＢＴＵ（０．１０ｇ、０．２６ｍｍｏｌ）を加えた。混合物を２時間振とうし、その後ろ過した。担体をＤＭＦ、ＭｅＯＨ、そして最後にＤＣＭで洗浄し、次に真空下で乾燥した。トリチル陽イオン分析（５０４ｎｍでモニター）は、担体（３）へのヌクレオシドの積載量は１８０μｍｏｌ／ｇであることを示した。

【１６５６】

実施例６５　キラル制御したオリゴヌクレオチド製剤の調製

【化４５０】



【１６５７】

実施例６４において記載の手順と類似の手順を使用して、Ｎ^{4}－フェノキシアセチル－５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－３’－Ｏ－サクシニル－２’－Ｏ－メチルグアノシン（４、ＭＳ（ＥＳＩ＋ｖｅ）：計算値（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$：８３４．３０、実測値：８３４．３２）をＧＥ Ｃｕｓｔｏｍ Ｓｕｐｐｏｒｔ（商標）Ａｍｉｎｏに充填した。トリチル陽イオン分析（５０４ｎｍでモニター）は、担体（６）へのヌクレオシドの積載量は１４０μｍｏｌ／ｇであることを示した。

【１６５８】

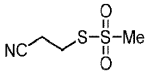
いくつかの実施例においては、立体的に規定された２’－ＯＭｅホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド間結合を含有するヌクレオチドを、ＡＢＩ３９４ ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ－２７にまとめたサイクルに従って、６０ｍｇ（それぞれ１０．８および８．４μｍｏｌ）の未キャップのサクシニルで結合した５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－メチル－Ｇ^{Ｐａｃ}（６、１４０μｍｏｌ／ｇ）または５’－Ｏ－ＤＭＴｒ－２’－Ｏ－メチル－Ｃ^{Ａｃ}（３、１８０μｍｏｌ／ｇ）のいずれかを充填した１０μｍｏｌ容量の合成カラムを使用して合成した。合成サイクルは、予備キャッピングステップ（キャッピング２）と、末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基の除去とともに行った。立体特異的硫化ステップは、ＢＳＴＦＡを含有するＡＣＮ中の０．３Ｍ メチルチオスルホン酸Ｓ－（２－シアノエチル）試薬を使用して、対応するキラルホスホラミドのカップリングおよび２ステップのキャッピングステップ後に行った（表Ｅ－２７）。

【１６５９】

自動化オリゴヌクレオチド合成サイクルが完了し、最５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基を除去したら、合成カラムをＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置から外し、真空下で乾燥した。乾燥した担体を空のガラスマニュアルペプチド合成装置に移し、１０ｍＬ溶液の０．５Ｍ １，５－ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ－５－エン（ＤＢＮ）、ＡＣＮ中の０．２５Ｍ Ｎ，Ｏ－ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセタミド（ＢＳＴＦＡ）を５分間、流れを止めずに連続的に、マニュアルペプチド合成装置内で担体に加えた。担体をＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。次に担体を５％ ＥｔＯＨ／濃ＮＨ$_{3}$（２０ｍＬ）と６０℃で６時間処理し、室温で１２時間放置した。担体をろ過により除去し、濃ＮＨ$_{3}$で洗浄した。ろ液を真空下で濃縮し、その後ＩＥＸにより精製した。

表Ｅ－２７ オリゴヌクレオチド合成の概要

【表６１】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 120 + 10	N. A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 2 M CMPT in ACN	8 + 6	30 + 900
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	30	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	30	60
5	sulfurization	0.3 M (*S*-cyanoethyl)-methylthiosulfonate  in ACN/BSTFA	15 + 3×4	120 + 3×60 + 300

【１６６０】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－９４の合成：（Ａｌｌ（Ｓｐ））－ｇｓｇｓｕｓｇｓｇｓａｓａｓｇｓｇｓｃ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１８．２６分。計算値のＭＷ：３５６３．９；実測値のＭＷ：３５６２．６。
【１６６１】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－９６の合成：（Ａｌｌ（Ｒｐ））－ｇｓｇｓｕｓｇｓｇｓａｓａｓｇｓｇｓｃ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１８．１６分。計算値のＭＷ：３５６３．９；実測値のＭＷ：３５６１．７。
【１６６２】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－９８の合成：（Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）－ｇｓｇｓｕｓｇｓｇｓａｓａｓｇｓｇｓｃ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１８．０５分。計算値のＭＷ：３５６３．９；実測値のＭＷ：３５６２．５。
【１６６３】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－１００の合成：（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）－ｇｓｇｓｕｓｇｓｇｓａｓａｓｇｓｇｓｃ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１７．８６分。計算値のＭＷ：３５６３．９；実測値のＭＷ：３５６１．１。
【１６６４】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－１０２の合成：（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ｇｓｇｓｕｓｇｓｇｓａｓａｓｇｓｇｓｃ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１８．３０分。計算値のＭＷ：３５６３．９；実測値のＭＷ：３５６１．３。
【１６６５】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－１０４の合成：（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）－ｇｓｇｓｕｓｇｓｇｓａｓａｓｇｓｇｓｃ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１７．９５分。計算値のＭＷ３５６３．９；実測値のＭＷ：３５６２．７。
【１６６６】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ－９５の合成：（Ａｌｌ（Ｓｐ））－ｇｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ－ＨＰＬＣ）：１４．７８分。計算値のＭＷ：２７０９．２；

実測値のMW：２７０７．４。
【１６６７】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐９７の合成：（Ａｌｌ（Ｒｐ））‐ｇｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１５．６０分。計算値のMW：２７０９．２；実測値のMW：２７０８．３。
【１６６８】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐９９の合成：（Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ）‐ｇｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１６．１０分。計算値のMW：２７０９．２；実測値のMW：２７０８．０。
【１６６９】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１０１の合成：（Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｓｐ）‐ｇｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１６．２３分。計算値のMW：２７０９．２；実測値のMW：２７０８．２。
【１６７０】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１０３の合成：（Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ）－ｇｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１６．２６分。計算値のMW：２７０９．２；実測値のMW：２７０７．８。
【１６７１】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１０５の合成：（Ｓｐ、Ｓｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｒｐ、Ｓｐ、Ｓｐ）－ｇｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１６．２２分。計算値のMW：２７０９．２；実測値のMW：２７１０．０。
【１６７２】
立体的に規定されたキメラ２’‐ＯＭｅホスホロチオエートトリエステルおよび２’‐Ｏ‐ＭＯＥ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有するオリゴヌクレオチドを、ＡＢＩ３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡで、本明細書の実施例において記載される手法と類似の手法で合成した。
【１６７３】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐９０の合成：（Ａｌｌ（Ｒｐ））－$G_{MOE}sG_{MOE}susG_{MOE}sG_{MOE}sasasG_{MOE}sG_{MOE}sc$。$t_R$（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１５．３５分。計算値のMW：３８２８．２；実測値のMW：３８２６．５。
【１６７４】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１１９の合成：（Ａｌｌ（Ｓｐ））－$G_{MOE}sG_{MOE}susG_{MOE}sG_{MOE}sasasG_{MOE}sG_{MOE}sc$。$t_R$（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１６．４２分。計算値のMW：３８２８．２；実測値のMW：３８２７．２。
【１６７５】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐９１の合成：（Ａｌｌ（Ｒｐ））－G_{MOE}ｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１５．６９分。計算値のMW：２７５３．３；実測値のMW：２７５１．５。
【１６７６】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１２０の合成：（Ａｌｌ（Ｓｐ））－G_{MOE}ｓｃｓｃｓｕｓｃｓｃｓａｓｇ。t_R（ＩＥＸ‐ＨＰＬＣ）：１４．７１分。計算値のMW：２７５３．３；実測値のMW：２７５１．４。
【１６７７】
実施例６６　粗製および精製したＤＭＴ　Ｏｆｆ　ＲＩＰｔｉｄｅオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法：
緩衝液Ａ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、５０％　ＡＣＮ、ｐＨ＝８．０
緩衝液Ｂ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、８００ｍＭ　$NaClO_4$、５０％　ＡＣＮ、ｐＨ＝８．０
カラム：ＤＩＯＮＥＸ、ＤＮＡＰａｃ、ＰＡ‐１００、分析用、４．０×２５０ｍｍ
カラム温度＝６０℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：
【表６２】

Time (min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		95	5	
2	1	95	5	1
22	1	70	30	6
25	1	5	95	6
25.5	1	95	5	6
30	1	95	5	1

【１６７８】
実施例６７　精製したＤＭＴ　Ｏｆｆ　ＲＩＰｔｉｄｅオリゴヌクレオチドの分析用の一般的なＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ方法：
緩衝液Ａ：１５ｍＭ　ＴＥＡ、４００ｍＭ　ＨＦＩＰ、水
緩衝液Ｂ：５０：５０　緩衝液Ａ／メタノール
カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　C_{18}　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ
カラム温度＝５０℃
使用した勾配：
【表６３】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial	0.2	80	20	
2	0.2	80	20	1
22	0.2	30	70	6
25	0.2	5	95	6
25.5	0.2	80	20	6
30	0.2	80	20	1

【１６７９】
実施例６８　粗製ＤＭＴ　Ｏｆｆ　ＲＩＰｔｉｄｅオリゴヌクレオチドの精製用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法
緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、ｐＨ＝１１．０
緩衝液Ｂ：２０ｍＭ　ＮａＯＨ、２．５Ｍ　ＮａＣｌ、ｐＨ＝１１．０
カラム：空のカラム　Ｗａｔｅｒｓ　ＡＰ‐２（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ））、Ｓｏｕｒｃｅ１５Ｑ担体（ＧＥヘルスケア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ））をカスタム社内充填した。同一の精製カラムを異なる立体的に純粋なＲＩＰｔｉｄｅオリゴヌクレオチドに使用した。
装置：Ｐ‐９００ポンプ、ＵＰＣ‐９００検出器、および５０ｍＬ注入ＳｕｐｅｒＬｏｏｐ（ＧＥヘルスケア（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ））を備えたＡＫＴＡ精製機
緩衝液ヒーター温度設定＝７０℃
カラムヒーターテープ設定＝７０℃
２５４ｎｍで信号をモニター
分画容量：５ｍＬ
使用した勾配：

【表６４】

Time (min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
Initial		100	0	
15	4	100	0	1
25	4	90	10	6
35	4	90	10	1
45	4	80	20	6
60	4	80	20	1
80	4	65	35	6
95	4	65	35	1
120	4	45	55	6
125	4	45	55	1
126	4	100	0	6
140	4	100	0	1

【１６８０】

回収した分画を、上記の分析条件および勾配を使用して分析用ＩＥＸ‐ＨＰＬＣにより個々に分析した。２５４ｎｍのＵＶ吸収プロファイルにより決定される９５％以上の純度の精製物質を提供するため、高純度分画を集めた。

【１６８１】

精製したＲＩＰｔｉｄｅオリゴヌクレオチドの脱塩用の一般的なＲＰ‐Ｓｅｐ‐Ｐａｋ方法。保存した純粋な分画の溶液を、水で前調整したＳｅｐ‐Ｐａｋカートリッジ（ウォーターズ（Ｗａｔｅｒｓ）、Ｓｅｐ‐Ｐａｋ　Ｖａｃ　３５ｃｃ（１０ｇ）C_{18}カートリッジ）に充填した。試料（１００ｍＬ）を充填後、カートリッジをミリＱ水（５０ｍＬ）で洗浄し、全ての塩を除去し、次に５０％　ＡＣＮ／水で洗浄して、全長脱塩ＲＮＡオリゴヌクレオチドを溶出させた。回収した溶液を真空下で５ｍＬの体積になるまで濃縮し、水から凍結乾燥した。

【１６８２】

むき出しのｈＴＲに結合する立体制御した全ホスホロチオエート修飾ＲＩＰｔｉｄｅ（８量体または１０量体）のパネルを、テロメラーゼＲＮＰ複合体の活性の生体外阻害について調べる。Ｃｙ５‐ＴＲＡＰアッセイ（Shayら、Nat. Protoc., 2006, 1, 1583）、ＴＲＡＰの変形（Shayら、Science, 1994, 266, 2011）を使用して、ＨｅＬａ細胞抽出物を使用して、以前に報告されたプロトコルに従って（Verdineら、J. Biol. Chem., 2012, 287, 18843）、立体制御したホスホロチオエートＲＩＰｔｉｄｅのIC_{50}値を決定する。

【１６８３】

定量系として蛍光を使用する以前に報告されたプロトコルに従って、いくつか修正して、ＴＲＡＰアッセイを行う。簡単に言うと、テロメラーゼによる蛍光性人工基質の伸長を３０℃で３０分行い、その後３０ＰＣＲサイクルで増幅する（３４℃　３０秒、５９℃　３０秒、７２℃　１分）。複製実験においては、ＲＩＰｔｉｄｅの阻害活性は、最初はＨｅＬａ細胞抽出物において評価し、６００ｐＭ～６０μＭの濃度範囲を使用する。選択したＲＩＰｔｉｄｅでの実験をＨｅｌａ、ＤＵ１４５（前立腺がん）およびＨＥＫ２９３細胞抽出物において０．０６ｐＭ～６０μＭの濃度範囲で繰り返す。これらのアッセイにおいてはいくつかのコントロールを使用する：正の対照を（未処理の細胞可溶化物）、負の対照（緩衝液のみ、熱失活し、ＲＮａｓｅ処理した細胞抽出物）およびＰＣＲ増幅コントロール（テロメラーゼ伸長後、ＰＣＲ前に添加する６０μＭのＲＩＰｔｉｄｅ）。特定の実施形態においては、キラル制御したＲＩＰｔｉｄｅ薬剤は、正の対照と比較してｈＴＲの阻害の増大を示し、かつ／または、負の対照と比較してｈＴＲの阻害の増大を示し；いくつかの実施形態においては、いくつかの、ただし任意に全部ではない、所定の配列のＲＩＰｔｉｄｅがこのような特性を示す。いくつかの実施形態においては、この文脈において「増大する」とは、約５倍～約１０倍に増大することを意味する。いくつかの実施形態においては、「増大する」とは、約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、または１０．０倍以上を意味する。

【１６８４】

細胞培養条件。形質転換した胚性腎臓株化細胞ＨＥＫ２９３および前立腺がん株化細胞ＤＵ１４５を、５％CO_2中、３７℃で、１０％ウシ胎仔血清で補充したＤＭＥＭ中で維持する。製造業者の指示書に記載のとおり、ＴＲＡＰアッセイ用可溶性細胞抽出物を、２００μＬの１×ＣＨＡＰＳ　Ｌｙｓｉｓ緩衝液（Ｃｈｅｍｉｃｏｎ）との１０６細胞の洗剤溶解により調製する。

【１６８５】

本発明に従って、様々な立体構造の全立体制御ホスホロチオエートＲＩＰｔｉｄｅに対し、異なる有効性および／または異なる他の特性を観察してもよい。例えば、ヌクレアーゼ抵抗性、組織蓄積、細胞浸透、エンドソームエスケープ、ＲＩＰｔｉｄｅの３次元構造、標的折畳みｈＴＲ　ＲＮＡに対する親和性、免疫刺激、作用持続時間、薬物動態等の、ＲＩＰｔｉｄｅ特性は、同一の配列を共有するが１以上のキラルホスホロチオエートバックボーン結合の異なる位置および／または立体科学に関して互いに異なるキラル制御したＲＩＰｔｉｄｅ薬剤で異なってもよい。

【１６８６】

実施例６９：キラル制御したオリゴヌクレオチド組成物は、同一の配列を有するキラル非制御の組成物と比較して、生体内において異なる活性を示す

【１６８７】

本実施例は、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドの生体内薬理学活性を、「もとの」立体的にランダムな混合物（すなわち、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドと同一の配列であるがキラルとして純粋ではない、例えば立体的にランダムな過程により調製された結果のオリゴヌクレオチドを含有する組成物）で観察される活性と比較する。特定の標的転写物または関心のあるタンパク質をコードする遺伝子の配列と相補的な配列をそれぞれが有する４つのキラルとして純粋なオリゴヌクレオチドを合成し、調剤し、それぞれ２つの投与レベルで１週間に２度、５週間、標的遺伝子を発現している動物に投与した。コードされたタンパク質のレベルを定量化した。本実施例においては、ヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）にアンチセンスの配列を有する、（従ってヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）を標的にする）オリゴヌクレオチドを、遺伝子導入マウス発現ヒトＡｐｏＢにおける概念証明に使用した。

【１６８８】

被験品

被験品はＰＢＳ単独（すなわち、オリゴヌクレオチドコントロールなし）または関連オリゴヌクレオチド組成物（すなわち、ミポメルセン（ＯＮＴ‐４１）、ＯＮＴ‐７５、ＯＮＴ‐７７、ＯＮＴ‐８０またはＯＮＴ‐８１オリゴヌクレオチド（構造については実施例５２を参照のこと））を、１×ＰＢＳ（ヌクレアーゼを含まない水（Ｑｉａｇｅｎ、１２９１１５）を使用して１０×ＰＢＳ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ＡＭ９６２４）から希釈した）中で、５および１０ｍｇ／ｋｇでの投与に対しそれぞれ０．５および１ｍｇ／ｍＬで製剤した。調合は活性物質の調節なしで、絶対質量に基づいた。オリゴヌクレオチド濃度を、Ｃａｒｒｙ‐１００　ＵＶ‐Ｖｉｓ（アジレント・テクノロジー（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ））での測定により確かめた。全被験品の試料を、動力学Ｐｙｒｏｃｈｒｏｍｅ色素生産性エンドトキシンアッセイ（Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ　ｏｆ　Ｃａｐｅ　Ｃｏｄ、１５００－５、Ｅ００５－５）を使用して、エンドトキシンレベルについて調べた。全被験試料は０．５ＥＵ／ｍｌの許容限界よりも低い量のエンドトキシンを有することがわかった。

【１６８９】

動物および生体内手順

高血漿中濃度のヒトアポリポタンパク質Ｂ１００およびリポタンパク（ａ）（J. Clin. Invest. 92: 3029-3037）を発現している雌の遺伝子導入マウス（ｈｕＡｐｏＢマウス）

をＴａｃｏｎｉｃ（系統Ｂ６．ＳＪＬ－Ｔｇ（ＡＰＯＢ）ｌ　１０２Ｓｇｙ　Ｎ２０＋？、モデル＃１００４－Ｆ）から得た。全動物は納品前に遺伝子決定された。

【１６９０】

マウスが納品され、そのマウスを調査開始前に７日間以上順応させた。全マウスは、通常の固形飼料および水を自由に与え、化合物投与前に絶食させなかった。マウスを調査グループにランダム割り当てし、各投与日に投与前に測定した個体マウスの体重に基づき、１０ｍｌ／ｋｇで、第１、４、８、１１、１５、１８、２２、２５、２９および３２日に、腹腔内投与（ＩＰ）した。第０（最初の投与前日）、１７、２４、３１、３８、４５、５２および６０日の調査中に、顎下（頬）出血により血液を回収し、第６６日に心穿刺により屠殺し、その後血清に処理した。

【１６９１】

アポリポタンパク質Ｂタンパク質アッセイ

血清中のＡｐｏＢタンパク質レベルを、ＡｐｏＢヒトＥＬＩＳＡキット（Ａｂｃａｍ、ａｂ１０８８０７）を使用して測定した。血清試料を１：２０，０００に希釈し、キット推奨プロトコルに従って修正なしでアッセイした。自動化洗浄を、Ａｑｕａｍａｘ４０００（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用して、３０秒浸漬周期で行った。色素源基質と１２分インキュベーション後反応を停止し、ＳｐｅｃｔｒａｍａｘＭ５（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）で測定を行った。

【１６９２】

標準濃度をｘ軸に、対応する平均４５０ｎｍ吸光度をｙ軸にプロットすることにより標準曲線を作成した。ｌｏｇ‐ｌｏｇ曲線フィッティングを使用して、回帰分析により最適合線を決定した。各アッセイプレートはネガティブ（ＰＢＳ処理）およびポジティブ（ミポメルセン処理）コントロールを含み、各マウス血清試料を４技法複製でアッセイした。

【１６９３】

各試料で、ＡｐｏＢの平均絶対レベルを、ＰＢＳ処理グループの平均値に正規化して、ＡｐｏＢタンパク質発現の相対レベルを得た。一例においては、測定が２標準偏差でコホート平均から逸脱したため、動物を解析から除外した。ＡｐｏＢタンパク質発現の相対レベルを、二元配置ＡＮＯＶＡとその後のＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験による統計解析（Ｇｒａｐｈｐａｄ　Ｐｒｉｓｍ）に使用した。

【１６９４】

結果

結果を表Ｅ‐２８ａおよび図４０に示す。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐７５では、調査第２４日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、８７％（ｐ＜０．０５）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐７７では、調査第２４日および３１日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの７２％（ｐ＜０．０００１）、８１％（ｐ＜０．０５）のへ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８０では、調査第２４日および３１日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの８３％（ｐ＜０．０５）、８０％（ｐ＜０．０５）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８１では、調査第１７日および２４日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの８５％（ｐ＜０．０５）、７０％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。

表Ｅ‐２８ａ：ｈｕＡｐｏＢマウス（Ｎ＝４－５）における５ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンの複数ＩＰ投与後のＰＢＳに関する血清ヒトアポリポタンパク質Ｂレベル

【表６５】

	Day				
Sample	17	24	31	38	45
PBS	100 ± 9	100 ± 9	100 ± 9	100 ± 11	100 ± 9
ONT-41	54 ± 11	49 ± 7	54 ± 9	64 ± 10	80 ± 9
ONT-75	103[d] ± 11	87[dw] ± 10	94[d] ± 10	97[d] ± 10	98[a] ± 9
ONT-77	83[d] ± 15	72[cz] ± 10	81[dw] ± 9	91[d] ± 13	95[a] ± 12
ONT-80	89[d] ± 9	83[dw] ± 8	80[dw] ± 3	95[d] ± 7	87 ± 11
ONT-81	85[dw] ± 12	70[cz] ± 5	88[d] ± 15	101[d] ± 10	102[b] ± 7

ａ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｂ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｃ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｄ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｗ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｘ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｙ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｚ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

【１６９５】

５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐７５では、調査第１７、２４、３１および３８日（ｐ＜０．０００１）ならびに２４日（ｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に少ない減少となった。５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐７７では、調査第１７、３１および３８日（ｐ＜０．０００１）２４日（ｐ＜０．００１）ならびに４５日（ｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に少ない減少となった。５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８０では、調査第１７、２４、３１および３８日（ｐ＜０．０００１）おける血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に少ない減少となったが、第４５日（ｐ＞０．０５）では違いはなかった。５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８１では、調査第１７、３１および３８日（ｐ＜０．０００１）ならびに２４日（ｐ＜０．００１）ならびに４５日（ｐ＜０．０１）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に少ない減少となった。図４０は、ｈｕＡｐｏＢマウスにおける５ｍｇ／ｋｇの立体異性体またはミポメルセンのＩＰ投与後のＰＢＳに関する血清ヒトアポリポタンパク質Ｂレベルの時間経過を示す。下へ向かう矢印は、投与日数を示す。ＰＢＳ対照群に正規化したグループ平均を示し、各グループは４～５の動物からなる。エラーバーは標準偏差を表わす。

【１６９６】

１０ｍｇ／ｋｇ投与パラダイムの結果を表Ｅ‐２８ｂおよび図５３に示す。ＰＢＳに関して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐７５では、調査第１７、２４および３８日におけ

る血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ７８％（ｐ＜０．０００１）、７６％（ｐ＜０．０００１）および８２％（ｐ＜０．００１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐７７では、調査第１７、２４、３１、３８、４５および５２日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの６２％（ｐ＜０．０００１）、６１％（ｐ＜０．０００１）、５４％（ｐ＜０．０００１）、５９％（ｐ＜０．０００１）、７２％（ｐ＜０．０００１）および７３％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８０では、調査第１７、２４、３１、３８、４５、５２および６６日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの５５％（ｐ＜０．０００１）、５９％（ｐ＜０．０００１）、７３％（ｐ＜０．０００１）、６７％（ｐ＜０．０００１）、７６％（ｐ＜０．０００１）、７６％（ｐ＜０．０００１）および８０％（ｐ＜０．０１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８１では、調査第１７、２４、３１、３８および４５日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの４９％（ｐ＜０．０００１）、６２％（ｐ＜０．０００１）、７１％（ｐ＜０．０００１）、７４％（ｐ＜０．０００１）および７９％（ｐ＜０．００１）へ有意に減少する結果となった。

【１６９７】

表Ｅ‐２８ｂ：ｈｕＡｐｏＢマウス（Ｎ＝４－５）における１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ‐７５、‐７７、‐８０もしくは‐８１）またはミポメルセンの複数ＩＰ投与後のＰＢＳに関する血清ヒトアポリポタンパク質Ｂレベル

【表６６】

	Day							
Sample	17	24	31	38	45	52	60	66
PBS	100 ± 11	100 ± 9	100 ± 17	100 ± 11	100 ± 7	100 ± 7	100 ± 9	100 ± 7
ONT-41	31 ± 13	24 ± 24	23 ± 6	29 ± 10	46 ± 10	64 ± 8	77 ± 8	64 ± 7
ONT-75	78^{dz} ± 5	76^{dz} ± 4	82^{dy} ± 7	95^{d} ± 9	97^{d} ± 3	94^{d} ± 13	108^{d} ± 6	87^{c} ± 12
ONT-77	62^{dz} ± 9	61^{dz} ± 4	54^{dz} ± 6	59^{dz} ± 10	72^{dz} ± 7	73^{z} ± 7	95^{a} ± 5	87^{b} ± 11
ONT-80	55^{cz} ± 4	59^{dz} ± 3	73^{dz} ± 4	67^{dz} ± 10	76^{dz} ± 10	76^{z} ± 11	87 ± 10	80^{bx} ± 7
ONT-81	49^{bz} ± 7	62^{dz} ± 19	71^{dz} ± 7	74^{dz} ± 7	79^{dy} ± 11	88^{c} ± 5	90 ± 6	89^{c} ± 8

ａ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｂ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｃ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｄ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｗ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｘ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｙ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｚ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

【１６９８】

１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐７５では、調査第１７、２４、３１、３８、４５、５２、６０日（ｐ＜０．０００１）および６６日（ｐ＜０．００１）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に

低い減少（ノックダウン）を示した。１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐７７では、調査第１７、２４、３１、３８および４５日（ｐ＜０．０００１）、６０日（ｐ＜０．０５）ならびに６６日（ｐ＜０．０１）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に低い減少（ノックダウン）を示した。１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８０では、調査第２４、３１、３８および４５日（ｐ＜０．０００１）、１７日（ｐ＜０．００１）ならびに６６日（ｐ＜０．０１）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に低い減少（ノックダウン）を示した。１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８１では、調査第２４、３１、３８および４５日（ｐ＜０．０００１）、１７日（ｐ＜０．０１）、５２および６６日（ｐ＜０．００１）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に少ない減少（ノックダウン）を示した。

【１６９９】

第３８日（すなわち最終投与後６日）までに、血清ＡｐｏＢタンパク質レベルはＯＮＴ‐７５後のベースラインに戻った。開始時の血清ＡｐｏＢタンパク質レベル減少を考慮すると、血清ＡｐｏＢタンパク質レベルのベースラインへの回復速度は、ＯＮＴ‐７７およびＯＮＴ‐８０後より遅く、血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは第５２日までのミポメルセンレベルと類似であった。

【１７００】

さらなる立体的に純粋な構造の５ｍｇ／ｋｇ投与パラダイムの結果を表Ｅ‐２８ｃおよび図５４に示す。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８７では、調査第１７、２４、３１および３８日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの２７％（ｐ＜０．０００１）、４０％（ｐ＜０．０００１）、５５％（ｐ＜０．０００１）および７１％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８８では、調査第１７、２４、３１および３８日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの４７％（ｐ＜０．０００１）、３４％（ｐ＜０．０００１）、６９％（ｐ＜０．０００１）および８５％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８９では、調査第１７、２４および３１日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの４３％（ｐ＜０．０００１）、４８％（ｐ＜０．０００１）および８５％（ｐ＜０．０５）へ有意に減少する結果となった。

【１７０１】

表Ｅ‐２８ｃ：ｈｕＡｐｏＢマウス（Ｎ＝３－４）における５ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ‐８７、‐８８、もしくは‐８９）またはミポメルセンの複数ＩＰ投与後のＰＢＳに関する血清ヒトアポリポタンパク質Ｂレベル

【表６７】

	Day			
SAMPLES	17	24	31	38
PBS	100 ± 5	100 ± 12	100 ± 4	100 ± 8
ONT-41	33^{z} ± 3	44^{z} ± 2	75^{y} ± 11	76^{y} ± 8
ONT-87	27^{z} ± 11	40^{z} ± 5	55^{bz} ± 8	71^{z} ± 7
ONT-88	47^{az} ± 5	34^{z} ± 8	69^{z} ± 13	85^{z} ± 7
ONT-89	43^{z} ± 9	48^{z} ± 6	85^{w} ± 12	93^{a} ± 7

ａ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｂ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｃ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

ｄ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｗ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｘ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｙ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｚ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

【１７０２】

５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８７では、調査第３１日（ｐ＜０．０１）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に高い減少（ノックダウン）を示した。５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８８では、調査第１７日（調査のｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に低い減少（ノックダウン）を示した。５ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８９では、調査第３８日（ｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に低い減少（ノックダウン）を示した。

【１７０３】

さらなる立体的に純粋な構造の１０ｍｇ／ｋｇ投与パラダイムの結果を表Ｅ‐２８ｄならびに図５５および５６に示す。ＰＢＳと比較して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８７では、調査第１７および２４日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの２７％（ｐ＜０．０００１）、１４％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８８では、調査第１７および２４日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの２３％（ｐ＜０．０００１）、および１７％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。ＰＢＳと比較して、１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ＯＮＴ‐８９では、調査第１７および２４日における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルが、それぞれ対照レベルの２９％（ｐ＜０．０００１）、および２３％（ｐ＜０．０００１）へ有意に減少する結果となった。

表Ｅ‐２８ｄ：ｈｕＡｐｏＢマウス（Ｎ＝３－４）における１０ｍｇ／ｋｇの立体異性体（ＯＮＴ‐８７、‐８８、もしくは‐８９）またはミポメルセンの複数ＩＰ投与後のＰＢＳに関する血清ヒトアポリポタンパク質Ｂレベル

【表６８】

	Day	
Sample	17	24
PBS	100 ± 5	100 ± 8
ONT-41	44^{z} ± 17	27^{z} ± 9
ONT-87	$27^{a,z}$ ± 10	14^{z} ± 3
ONT-88	$23^{a,z}$ ± 6	17^{z} ± 5
ONT-89	$29^{a,z}$ ± 12	23^{z} ± 8

ａ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｂ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｃ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｄ：ミポメルセン対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配

置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｗ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０５（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｘ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｙ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）
ｚ：ＰＢＳ対照群（ＯＮＴ‐４１）と統計的に異なる、ｐ＜０．０００１（二元配置ＡＮＯＶＡとＮｅｗｍａｎ－Ｋｅｕｌｓ事後試験）

【１７０４】

１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８７では、調査第１７日（ｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に高い減少（ノックダウン）を示した。１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８８では、調査第１７日（ｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に高い減少（ノックダウン）を示した。１０ｍｇ／ｋｇ　ＩＰ　ミポメルセンと比較して、同一の投与パラダイムで投与したＯＮＴ‐８９では、調査第１７日（ｐ＜０．０５）における血清ＡｐｏＢタンパク質レベルは、有意に高い減少（ノックダウン）を示した。

【１７０５】

このようにして、少なくともいくつかの実施形態においては、本発明は、生物学的活性を示し、適切な参照（例えば、特に立体的にランダムな薬剤を含む、同一配列であるが異なるキラル特異性のオリゴヌクレオチドの薬剤）と比較して、長時間にわたる持続および／または時間経過に伴うその活性の減衰速度が遅くなることによって特徴づけられる、キラル制御したオリゴヌクレオチド組成物を提供する。そのような長時間にわたる持続および／または遅い減衰速度が観察されるいくつかの実施形態においては、提供するキラル制御した組成物を、より少ない全量の投与でおよび／またはより長い期間で、「もとの」立体的にランダムな組成物とともに使用される２以上の投与の間で、投与計画に従って投与してもよく、匹敵する生物学的および／または薬理学的効果を達成する。例えば、本実施例において実証したように、ミポメルセンと比較して、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドでの治療後の血清ＡｐｏＢタンパク質のベースラインへの遅い回復は、キラルとして純粋なＡｐｏＢオリゴヌクレオチドがもとの立体的にランダムな混合物より（例えば、ミポメルセンより）より少ない頻度で投与され得ることを示唆している。

【１７０６】

本実施例において示される結果は、例えば、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチド組成物は、適切な参照（例えば、特に立体的にランダムな薬剤を含む、同一配列であるが異なるキラル特異性のオリゴヌクレオチドの薬剤）と比較して、詳細には「もとの」立体的にランダムな薬剤と比較して、有意に異なる薬理学活性を有し得ることを実証する。当業者は、この実証を考慮すると、本開示により提供するキラル制御したオリゴヌクレオチド組成物が予想外の活性および特性を有することを理解するであろう。当業者は、本開示を考慮すると、非キラル制御組成物（例えば、同一のヌクレオチド配列を有するもの）に使用する投与計画とは異なる投与計画を使用した治療的方法を含む様々な手法が提供されることをさらに理解するであろう。いくつかの実施形態においては、対照（例えば、立体的にランダムなコントロール）と比較して、比較的多いキラル制御（例えば、キラルとして純粋な）オリゴヌクレオチドの個々の投与を使用してもよい。いくつかの実施形態においては、対照（例えば、立体的にランダムなコントロール）と比較して、比較的少ないキラル制御（例えば、キラルとして純粋な）オリゴヌクレオチドの個々の投与を使用してもよい。いくつかの実施形態においては、コントロール（例えば、立体的にランダムなコントロール）と比較して、所定の期間内で、比較的回数が少ないキラル制御（例えば、キラルとして純粋な）オリゴヌクレオチドの投与を使用してもよい。

【１７０７】

実施例７０：キラル制御オリゴヌクレオチドを含むｓｉＲＮＡ薬剤はＰＣＳＫ‐９を阻害する

【１７０８】

本実施例は、本明細書において記載されるキラル制御したオリゴヌクレオチドからなるｓｉＲＮＡ薬剤を使用した標的遺伝子発現の阻害の成功を実証する。詳細には、この実施例は、本明細書において記載されるキラル制御した合成により調製される個々のオリゴヌクレオチド鎖のハイブリダイゼーションを記載し、２本鎖キラル制御ｓｉＲＮＡオリゴヌクレオチド組成物を提供する。本実施例は、この薬剤での細胞のトランスフェクションの成功をさらに実証し、さらには、標的遺伝子発現の阻害の成功を実証する。

【１７０９】

キラルｓｉＲＮＡ分子のｓｉＲＮＡトランスフェクション

Ｈｅｐ３ＢまたはＨｅＬａ細胞を、９６‐ウェルプレートにおいて２．０×１０^{4}細胞／ウェルの密度で逆トランスフェクトした。ｓｉＲＮＡのトランスフェクションを、リポフェクタミンＲＮＡｉＭａｘ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号１３７７８－１５０）と、製造業者のプロトコルを使用し、リポフェクタミンＲＮＡｉＭａｘの量を１ウェルあたり０．２μｌに減らして行った。１μＭから開始して１２個の１：３ｓｉＲＮＡ２本鎖希釈液を作成した。次に１０μｌの１０×ｓｉＲＮＡ２本鎖を、９．８μｌの血清を含まない培地および１ウェルあたり０．２μｌのリポフェクタミンＲＮＡｉＭａｘの調製混合物とリポプレックスにした。１０～１５分のインキュベーション後、８０μｌのＥＭＥＭ細胞成長培地（ＡＴＣＣ、３０－２００３）中の２．０×１０^{4}細胞／ウェルを加え、１ウェルあたり１００μｌの最終体積にした。２つの別のトランスフェクションイベントを各投与に対し行った。

【１７１０】

トランスフェクションの２４時間後、Ｈｅｐ３ＢまたはＨｅＬａ細胞を溶解し、ＭａｇＭＡＸ（商標）‐９６全ＲＮＡ単離キット（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ＡＭ１８３０）を使用して、ＰＣＳＫ９　ｍＲＮＡを精製し；ＲＮａｓｅ阻害剤を有する高容量ｃＤＮＡ逆転写キット（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、４３７４９６７）で１５μｌのｃＤＮＡを合成した。Ｐｒｏｂｅｓ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ｒｏｃｈｅ、０４７０７　４９４　００１）を使用して製造業者のプロトコルに従って、ＰＣＳＫ９用ＦＡＭ‐標識Ｔａｑｍａｎプローブセット（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｈｓ０３０３７３５５＿ｍ１）およびＶＩＣ‐標識ＧＡＰＤＨプライマー限定内在性コントロール（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ＮＭ＿００２０４６．３）を使用して、Ｌｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ４８０（Ｒｏｃｈｅ）で遺伝子発現をリアルタイムＰＣＲにより評価した。

【１７１１】

ＩＣ５０およびデータ解析

デルタデルタＣｔ法を使用して、値を計算した。試料はｈＧＡＰＤＨに正規化し、偽のトランスフェクトおよび未処理試料に較正した。立体的にランダムな分子を正の対照として使用した。Ｇｒａｐｈｐａｄプリズムを使用して、２つの生物学的複製の平均値としてデータを表した。相対的なＩＣ５０を計算するため、４パラメータの直線回帰曲線をデータにフィッティングし、最下部および最上部をそれぞれ０および１００の定数に束縛した。

表Ｅ‐２９　相対ＩＣ５０値［Ｈｅｐ３Ｂトランスフェクション］

【表６９】

	Bottom	Top	LogIC50		HillSlope		IC50 [nM]
			Mean	SEM	Mean	SEM	
ONT-D1	0	100	-0.39	0.12	-0.27	0.02	0.41
ONT-D2	0	100	-0.85	0.14	-0.24	0.03	0.14
ONT-D3	0	100	-0.62	0.14	-0.24	0.02	0.24
ONT-D4	0	100	-0.49	0.09	-0.28	0.02	0.33
ONT-D5	0	100	-0.32	0.09	-0.31	0.02	0.48

表Ｅ－３０　相対ＩＣ５０値［ＨｅＬａトランスフェクション］

【表７０】

	Bottom	Top	LogIC50		HillSlope		IC50
			Mean	SEM	Mean	SEM	
ONT-D1	0	100	-1.73	0.07	-0.61	0.05	0.02
ONT-D2	0	100	-1.94	0.07	-0.66	0.07	0.01
ONT-D3	0	100	-1.72	0.08	-0.62	0.07	0.02
ONT-D4	0	100	-1.26	0.06	-0.74	0.06	0.06
ONT-D5	0	100	-1.03	0.08	-0.86	0.12	0.09

表Ｅ－３１　３ホスホロチオエート立体中心を有するｓｉＲＮＡの相対ＩＣ５０値［ＨｅＬａトランスフェクション］

【表７１】

	Bottom	Top	LogIC50		HillSlope		IC50
			Mean	SEM	Mean	SEM	
ONT-D7	0	100	0.75	0.15	-0.24	0.02	5.60
ONT-D8	0	100	0.39	0.09	-0.32	0.02	2.45
ONT-D9	0	100	0.43	0.13	-0.22	0.02	2.68
ONT-D10	0	100	1.57	0.20	-0.27	0.03	36.86
ONT-D11	0	100	2.92	0.33	-0.12	0.01	839.42
ONT-D12	0	100	-0.17	0.10	-0.38	0.03	0.68
ONT-D13	0	100	1.20	0.21	-0.39	0.08	15.97
ONT-D14	0	100	-0.22	0.18	-0.43	0.07	0.60
ONT-D15	0	100	-0.25	0.16	-0.41	0.06	0.57

【１７１２】

図４５～５０はこれらの調査結果を表わす。図４５は、ｓｉＲＮＡ２本鎖とのＨｅｐ３Ｂ処理後の残留する％ＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡを示す。図４６は、ｓｉＲＮＡ２本鎖とのＨｅｐ３Ｂ処理後の残留する％ＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡ曲線フィッティングを示す。図４７は、ｓｉＲＮＡ２本鎖とのＨｅＬａ処理後の残留する％ＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡを示す。図４８は、ｓｉＲＮＡ２本鎖とのＨｅＬａ処理後の残留する％ＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡ曲線フィッティングを示す。図４９は、３ホスホロチオエート立体中心を含有するｓｉＲＮＡ２本鎖とのＨｅＬａ処理後の残留する％ＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡを示す。図５０は、３ホスホロチオエート立体中心を含有するｓｉＲＮＡ２本鎖とのＨｅＬａ処理後の残留する％ＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡ曲線フィッティングを示す。

【１７１３】

わかるとおり、各鎖に単一の立体化学的に規定されたホスホロチオエートを有する分子においては、センスおよびアンチセンス鎖両方においてホスホロチオエートでＳ$_{P}$立体化学を有する分子でわずかに有効性が増加することが観察された。詳細に例証したｓｉＲＮＡ薬剤は、１鎖あたり１つのキラル中心のみを含有するが、本開示を読んでいる当業者は、キラルの存在が活性に影響を及ぼすという原理の証明として、実証した差異の効果の重

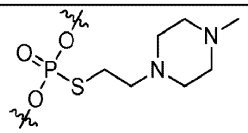
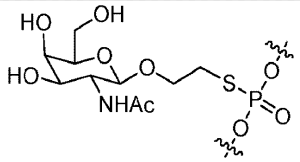
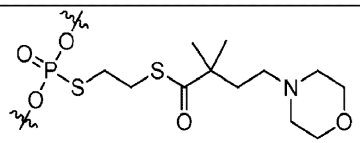
要性を認識するであろう。

【１７１４】

キラルの影響は２より多い立体中心を有するｓｉＲＮＡにおいてより明白である。３キラルホスホロチオエート（１つはセンス鎖に、２つはアンチセンス鎖にある）を有するｓｉＲＮＡにおいては、アンチセンス鎖の３’末端（ヌクレオチドｎ２０およびｎ２１間）でのR_P立体化学と組み合わせた５’末端（ヌクレオチドｎ１およびｎ２間）でのS_P立体化学が有効性に有害な効果を有した。しかしながら、アンチセンス鎖の３’末端（ヌクレオチドｎ２０およびｎ２１間）でのS_P立体化学と組み合わせた５’末端（ヌクレオチドｎ１およびｎ２間）でのR_P立体化学は、立体的にランダムな対照ｓｉＲＮＡに対し、有意なＰＣＳＫ－９　ｍＲＮＡノックダウンの改良を示した。この結果は、両方の鎖がホスホロチオエートの立体化学により影響されることを示唆している。観察された有効性の差異は、より多いキラル中心を有する薬剤で増加するように思われ、さらに、キラル中心の場所および型が、例えば、安定性、有効性、および／またはその両方を通して活性に影響を与えることができるように思われる。したがって本開示を読んでいる当業者は、１本鎖および２本鎖両方のキラル制御したオリゴヌクレオチド組成物の教示、ならびに少なくともいくつかの実施例においてはこのようなキラル制御したオリゴヌクレオチドおよび薬剤を同一の配列を有する立体的にランダムな薬剤と識別するその用途を、本開示が提供することを理解するであろう。

実施例７１　さらなる例示的オリゴヌクレオチドおよびその合成

【表７２】

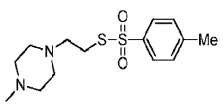
s16	
s17	
s18	

【１７１５】

オリゴヌクレオチドＮ１０１－Ｎ１０４を、ＡＢＩ－３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置における自動化合成を使用して、表Ｅ－３２にまとめた合成サイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．７μｍｏｌのｄＧ$^{CE,\ Pac}$を使用して合成した。合成サイクルは、末端５’－Ｏ－ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。自動化オリゴヌクレオチド合成の完了後、ＨＣＰ担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、１ｍＬの飽和NH_3／Ｐｙと、５５℃で１時間処理し、次に脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣を、ｐＨ約１．５の１０％ＤＭＳＯを含有するＨＣｌ水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣ（下記の手順に従う)により精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（下記の手順に従う）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

表Ｅ－３２　オリゴヌクレオチドＮ１０１－Ｎ１０２の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ－３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表７３】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 60 + 10	N.A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 1.2 M CMPT in ACN	5 + 4	30 + 600
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	20	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	20	60
5	sulfurization	0.3 M S-(N-methylpiperazinoethyl-ToluylThioSulfonate  in ACN/BSTFA	7 + 1.5×4	360 + 3×180 + 900

【１７１６】

実施例７２　Ｎ１０１およびＮ１０２のＨＰＬＣ方法：

緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝９．６（ＴＥＡで調節した）

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　C_8、３．５μｍ、４．６×５０ｍｍ、品番＃１８６００３０３４

緩衝液ヒーター設定温度＝３５℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表７４】

Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		99	1	
2	1	99	1	1
22	1	70	30	6
25	1	5	95	6
25.5	1	5	95	6
30	1	99	1	1

【１７１７】

実施例７３　Ｎ１０１およびＮ１０２の一般的なＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ方法：

緩衝液Ａ：１０ｍＭ　ギ酸アンモニウム、ｐＨ９．５（NH_3ａｑ．で調節した）

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　C_{18}　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ

カラム温度＝３５℃

使用した勾配：
【表７５】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial	0.5	99	1	
2	0.5	99	1	1
12	0.5	60	40	6
13	0.5	5	95	6
13.5	0.5	5	95	6
15	0.5	99	1	1

【１７１８】
実施例７４　Ｎ１０１およびＮ１０２の一般的な精製方法：
緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝９．６（ＴＥＡで調節した）
緩衝液Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｐｒｅｐ　$Ｃ_{１８}$、５μｍ、$Ｃ_{１８}$、２５０×１０ｍｍ、品番１８６００３２５６
緩衝液ヒーター設定温度＝室温
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：
【表７６】

Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		99	1	
5	4	99	1	1
10	4	95	5	6
30	4	74	26	6
35	4	5	95	6
36	4	5	95	6
38	4	99	1	6
45	4	99	1	1

１００μＬの４９～５１％リン酸を各分画（ｐＨ３）に加え、ＨＰＬＣにより確認し、次に凍るまで－８０℃で保管した。分画を１／２の体積になるまで凍結乾燥機で２～３時間保管し、その後－８０℃で保管した。

【１７１９】
実施例７５　Ｎ１０１およびＮ１０２の一般的な脱塩方法：
緩衝液Ａ：１０ｍＭ　ギ酸
緩衝液Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｐｒｅｐ　$Ｃ_{１８}$、５μｍ、２５０×１０ｍｍ、品番＃１８６００３２５６
緩衝液ヒーター設定温度＝室温
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：

【表７７】

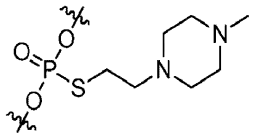
Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		100	0	
12	4	100	0	1
13	4	65	35	6
21	4	65	35	1
21.5	4	100	0	6
30	4	100	0	1

回収した分画を凍るまで－８０℃で保管し、乾燥するまで凍結乾燥機で保管し、ＨＰＬＣにより確認した。

【１７２０】

実施例７６　オリゴヌクレオチドＮ１０１（（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１６Ａｓ１６Ｇｓ１６Ｔ］）（ｓ１６は以下に示すとおり）の合成

【化４５１】



【１７２１】

オリゴヌクレオチドＮ１０１を上記のとおり合成し、精製した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法Ｎ１）：１５．９分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：１６１４．６４；実測値［＋Ｈ］：１６１５．０６。

【１７２２】

実施例７７　オリゴヌクレオチドＮ１０２（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１６Ａｓ１６Ｇｓ１６Ｔ］）の合成

【１７２３】

オリゴヌクレオチドＮ１０２を上記のとおり合成し、精製した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法Ｎ１）：１６．４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：１６１４．６４；実測値［＋Ｈ］：１６１４．９７。

【１７２４】

実施例７８　オリゴヌクレオチドＮ１０３（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１６Ａｓ１６Ｇｓ１６Ｔｓ１６５ｍＣｓ１６Ｔｓ１６Ｇｓ１６５ｍＣｓ１６Ｔｓ１６Ｔｓ１６５ｍＣｓ１６Ｇ］）の合成

【１７２５】

オリゴヌクレオチドＮ１０３を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法Ｎ１）：１８．４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：$C_{197}H_{311}N_{62}O_{62}P_{11}S_{11}$に対する計算値：５２３３．３８；実測値：５２３４．７。

【１７２６】

実施例７９　オリゴヌクレオチドＮ１０４（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１６Ａｓ１６Ｇｓ１６Ｔｓ１６５ｍＣｓ１６Ｔｓ１６Ｇｓ１６５ｍＣｓ１６Ｔｓ１６Ｔｓ１６５ｍＣｓ１６Ｇ］）の合成

【１７２７】

オリゴヌクレオチドＮ１０４を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法Ｎ１）：１８．７分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：５２３３．３８；実測値：５２３２．９。

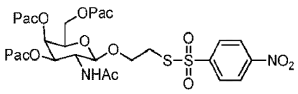
【１７２８】

オリゴヌクレオチドＮ１０５‐Ｎ１０６を、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置における自動化合成を使用して、表Ｅ‐３３にまとめた合成サイクルに従って、１μｍｏ

ｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．７μｍｏｌのｄＧ$^{ＣＥ，Ｐａｃ}$を使用して合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。自動化オリゴヌクレオチド合成の完了後、ＨＣＰ担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、１ｍＬの飽和ＮＨ$_3$／ｉ‐ＰｒＯＨと、５５℃で１６時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣を、ｐＨ７．０の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣにより精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣにより脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

表Ｅ‐３３　オリゴヌクレオチドＮ１０５‐Ｎ１０６の合成に使用されるＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表７８】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 60 + 10	N.A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 1.2 M CMPT in ACN	5 + 4	30 + 600
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	20	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	20	60
5	sulfurization	0.3 M  in ACN/BSTFA	7 + 1.5×4	360 + 3×180 + 900

【１７２９】

実施例８０　Ｎ１０１およびＮ１０２のＨＰＬＣ方法

緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝７．０

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ$_8$、３．５μｍ、４．６×１５０ｍｍ、品番＃１８６００３０３４

緩衝液ヒーター設定温度＝３５℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表７９】

Time	Flow (ml/min)	%A	%B	Curve
Initial		99	1	
2	1	99	1	1
22	1	80	20	6
25	1	5	95	6
25.5	1	5	95	6
30	1	99	1	1

【１７３０】

実施例８１　Ｎ１０１およびＮ１０２の一般的なＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ方法：

緩衝液Ａ：１０ｍＭ　ギ酸アンモニウム、ｐＨ７．０

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　C_{18}　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ

カラム温度＝３５℃

使用した勾配：

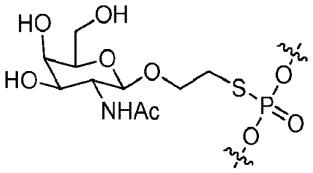
【表８０】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial	0.5	99	1	
2	0.5	99	1	1
12	0.5	70	30	6
13	0.5	5	95	6
13.5	0.5	5	95	6
15	0.5	99	1	1

【１７３１】

実施例８２　オリゴヌクレオチドＮ１０５（Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ９Ａｓ９Ｇｓ９Ｔ］（ｓ９は以下に示すとおり））の合成

【化４５２】



【１７３２】

オリゴヌクレオチドＮ１０５を上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法Ｎ２）：１４．１分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：１９７７．７８；実測値［－Ｈ］：１９７８．８。

【１７３３】

実施例８３　オリゴヌクレオチドＮ１０６（Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ９Ａｓ９Ｇｓ９Ｔ］）の合成

【１７３４】

オリゴヌクレオチドＮ１０６を上記のとおり合成して精製した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法Ｎ２）：１４．７分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：１９７７．７８；実測値［－Ｈ］：１９７７．３７。

【１７３５】

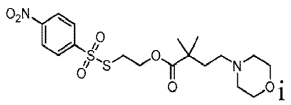
オリゴヌクレオチドｘｘｘを、ＡＢＩ‐３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置における自動化合成を使用して、表Ｅ‐３３にまとめた合成サイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．７μｍｏｌのｄＧ$^{CE,\ Pac}$を使用して合成した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。

自動化オリゴヌクレオチド合成の完了後、ＨＣＰ担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、１ｍＬの飽和$ＮＨ_3$／ｉ‐ＰｒＯＨと、５５℃で１６時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣を、ｐＨ７．０の１０％ＤＭＳＯ含有水溶液で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣにより精製する。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣにより脱塩する。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥する。

【１７３６】

表Ｅ‐３４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表８１】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 60 + 10	N.A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 1.2 M CMPT in ACN	5 + 4	30 + 600
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	20	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	20	60
5	sulfurization	0.3 M  n ACN/BSTFA	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１７３７】

実施例８４　一般的な精製方法：

緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＥＡＡ、ｐＨ＝９．６（ＴＥＡで調節した）

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｐｒｅｐ　$Ｃ_{１８}$、５μｍ、$Ｃ_{１８}$、２５０×１０ｍｍ、品番１８６００３２５６

緩衝液ヒーター設定温度＝室温

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表８２】

Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		99	1	
5	4	99	1	1
10	4	95	5	6
30	4	74	26	6
35	4	5	95	6
36	4	5	95	6
38	4	99	1	6
45	4	99	1	1

ＨＰＬＣ方法５：

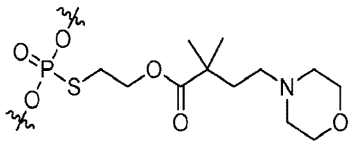
【表８３】

Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		80	20	
2	1	80	20	1
22	1	45	55	6
25	1	5	95	6
25.5	1	5	95	6
26	1	85	20	6
30	1	85	20	1

【１７３８】

ＯＮＴ‐６０：オリゴヌクレオチド１４９　Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ８Ａｓ８Ｇｓ８Ｔｓ８５ｍＣｓ８Ｔｓ８Ｇｓ８５ｍＣｓ８Ｔｓ８Ｔｓ８５ｍＣｓ８Ｇ］（ｓ８は以下に示すとおり））

【化４５３】



【１７３９】

オリゴヌクレオチドを上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法５）：１５．８０分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：６３４５．６；実測値：６３４０．７。

【１７４０】

ＯＮＴ‐６９：Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１６Ａｓ８Ｇｓ８Ｔｓ８５ｍＣｓ８Ｔｓ８Ｇｓ８５ｍＣｓ８Ｔｓ８Ｔｓ８５ｍＣｓ８Ｇ］

【１７４１】

オリゴヌクレオチドを上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法５）：１８．６１分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：６３４５．６；実測値：６３４０．６。

【１７４２】

実施例８５

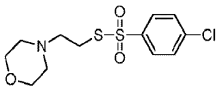
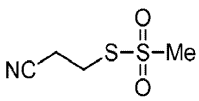
【１７４３】

立体的に規定されたホスホロチオエートジエステルおよび立体的に規定されたモルホリノエチル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有するＰ‐修飾ブロックマー（blockmer）およびアルトマー（altmer）オリゴヌクレオチドを、ＡＢＩ‐３９４

ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ‐４にまとめた合成サイクルに従って、１μｍｏｌ合成カラムと、ＨＣＰにオキサリルで結合した１．７μｍｏｌのｄＧ$^{ＣＥ，Ｐａｃ}$を使用して合成した。立体的に規定されたＰ‐修飾ホスホロチオエート結合をどちらも、硫化ステップ（１）または（２）のいずれかを行うことにより、配列内の所定の位置に導入した。合成サイクルは、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去（ＤＭＴ　Ｏｆｆ）して行った。固体担体を脱水ＡＣＮで洗浄し、アルゴン流下で乾燥した。乾燥したＨＣＰをプラスチックバイアルに入れ、脱水ピリジン中の脱水プロピルアミン（比率１：４）１ｍＬと、室温で１８時間処理した。次に溶媒を蒸発させ、残渣をＤＭＳＯ中で再懸濁させ、ＨＣＰ担体をろ過して除去した。粗製生成物を逆相分取ＨＰＬＣにより精製した。９５％より高い純度を有する分画を集め、濃縮し、逆相ＨＰＬＣ（ＡＣＮの０～８０％の勾配）により脱塩した。最終脱塩生成物を水から凍結乾燥した。

表Ｅ‐４　実施例８５の合成に使用するＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ‐３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表８４】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 60 + 10	N.A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 1.2 M CMPT in ACN	5 + 4	30 + 600
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	20	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	20	60
5	sulfurization 1	0.3 M S-Morpholinoethyl *p*-Chlorophenyl thiosulfonate  in ACN/BSTFA	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600
6	sulfurization 2	0.3 M S-cyanoethyl Methylthiosulfonate  in ACN/BSTFA	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１７４４】

実施例８６　実施例８５の一般的な精製方法

緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ホスファート　ｐＨ＝６．０（リン酸で調節した）

緩衝液Ｂ：ＡＣＮ

カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｐｒｅｐ　$Ｃ_{１８}$、５μｍ、$Ｃ_{１８}$、２５０×１０ｍｍ、品番＃１８６００３２５６

緩衝液ヒーター設定温度＝５０℃
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：
【表８５】

Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		99	1	
5	4	99	1	1
10	4	77	23	6
60	4	70	30	6
65	4	20	80	6
70	4	20	80	6
71	4	99	1	6
80	4	99	1	1

【１７４５】
ＨＰＬＣ方法６
緩衝液Ａ：２０ｍＭ　酢酸アンモニウム、ｐＨ＝６．０
緩衝液Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＢｒｉｄｇｅ　C_8、３．５μｍ、４．６×１５０ｍｍ、品番＃１８６００３０３４
緩衝液ヒーター設定温度＝６０℃
２５４および２８０ｎｍで信号をモニター
使用した勾配：
【表８６】

Time	Flow (ml/min)	% A	% B	Curve
Initial		90	10	
2	1	90	10	1
22	1	75	25	6
25	1	5	95	6
25	1	5	95	6
25.5	1	90	10	6
30	1	90	10	1

【１７４６】
ＯＮＴ‐７１：Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１ＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］
【１７４７】
オリゴヌクレオチドを上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法６）：９．３９分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：４２９７．９；実測値：４２９５．３。
【１７４８】
ＯＮＴ‐７２：Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１Ａｓ１ＧｓＴｓ５ｍＣｓＴｓＧｓ５ｍＣｓＴｓＴｓ１５ｍＣｓ１Ｇ］
【１７４９】
オリゴヌクレオチドを上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法６）：１０．８４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：４２９７．９；実測値：４２９５．７。
【１７５０】

ＯＮＴ‐７３：Ａｌｌ‐（Ｒｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１ＡｓＧｓ１Ｔｓ５ｍＣｓ１ＴｓＧｓ１５ｍＣｓＴｓ１Ｔｓ５ｍＣｓ１Ｇ］

【１７５１】

オリゴヌクレオチドを上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法６）：１３．５４分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：４５２４．２；実測値：４５２２．６。

【１７５２】

ＯＮＴ‐７４：Ａｌｌ‐（Ｓｐ）‐ｄ［５ｍＣｓ１ＡｓＧｓ１Ｔｓ５ｍＣｓ１ＴｓＧｓ１５ｍＣｓＴｓ１Ｔｓ５ｍＣｓ１Ｇ］

【１７５３】

オリゴヌクレオチドを上記のとおり合成した。ＲＰ‐ＨＰＬＣにおけるＲＴ（ＨＰＬＣ方法６）：１５．５２分。ＵＰＬＣ／ＥＳＩ‐ＭＳ：計算値：４５２４．２；実測値：４５２１．２。

【１７５４】

例えばヌクレアーゼ抵抗性、組織蓄積、細胞浸透、エンドソームエスケープ、免疫刺激、作用持続時間、薬物動態等のプロドラッグオリゴヌクレオチド特性は、全てキラルホスホロチオエートバックボーン結合の立体化学により調節され、影響される。

【１７５５】

２’‐ＯＨ、２’‐ＯＭｅ、２’‐Ｆ、２’‐デオキシ、ヌクレオチド間ホスホジエステルまたは立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホロチオエートジエステルまたは立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホロチオエートトリエステル（プロドラッグ）（ヌクレオチド間ホスホジエステル（ＰＯ）または立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホロチオエートジエステル（ＰＳ）のいずれかを放出）結合を含有するＲＮＡオリゴヌクレオチドを、ＡＢＩ３９４　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置で、表Ｅ‐３５、表Ｅ‐３６、表Ｅ‐３７および表Ｅ‐３８にまとめたサイクルに従って、前記のとおり調製した１３０ｍｇ（４．９μｍｏｌ）のオキサリルで結合した５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ‐２’‐デオキシチミジンを充填した１０μｍｏｌ容量の合成カラムを使用して合成する。合成前に、予備キャッピングステップ（キャッピング２）を行い、末端５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去して合成を終了する。酸化ステップは、市販のｔｅｒｔ‐ブチルヒドロペルオキシド（ＴＢＨＰ）の５～６Ｍ　デカン溶液を使用して行い、次にこれを４部のジクロロメタンで希釈する。立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホロチオエートジエステル結合への立体特異的硫化ステップは、０．３Ｍ　メチルチオスルホン酸Ｓ‐シアノエチル試薬を使用して、対応するキラルホスホラミドのカップリングおよび２ステップのキャッピングステップ後に行う（表Ｅ‐３６）。立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホジエステル（ＰＳ）結合を放出する立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホロチオエートトリエステルへの立体特異的硫化ステップは、０．３Ｍ　Ｓ‐（Ｎ‐モルホリノエチルチオエステル‐エチル）‐パラ‐ニトロ‐トルイルチオスルホネート試薬を使用して、対応するキラルホスホラミドのカップリングおよび２ステップのキャッピングステップ後に行う（表Ｅ‐３７）。ヌクレオチド間ホスホジエステル（ＰＯ）結合を放出する立体的に規定されたヌクレオチド間ホスホロチオエートトリエステルへの立体特異的硫化ステップは、０．３Ｍ　トルイルチオスルホン酸Ｓ‐（Ｎ‐モルホリノエチル）試薬を使用して、対応するキラルホスホラミドのカップリングおよび２ステップのキャッピングステップ後に行う（表Ｅ‐３８）。２’‐ＯＨ　ＲＮＡヌクレオチドには、２’‐Ｏ‐ＰｉｖＯＭ（Debartら、Chem. Eur. J., 2008, 14, 9135）、または２’‐Ｏ‐ＴＣ（Dellingerら、J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 11540）等の、２’‐Ｏ‐塩基保護基を使用する。超穏和（Ｃ‐Ａｃ、Ｇ‐Ｐａｃ、Ａ‐Ｐａｃ）保護基を全ての核酸塩基に使用する。

【１７５６】

自動化オリゴヌクレオチド合成サイクルが完了し、最終５’‐Ｏ‐ＤＭＴｒ基を除去したら、合成カラムをＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置から外し、真空下で乾燥する。１０ｍＬ溶液の０．５Ｍ　１，５‐ジアザビシクロ（４．３．０）ノナ‐５‐エン（ＤＢＮ）、ＡＣＮ

中の０．２５Ｍ　Ｎ，Ｏ‐ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセタミド（ＢＳＴＦＡ）を１分間、流れを止めずに、合成カラムの一端に取り付けられたシリンジを使用して、合成カラムを通して連続的に担体に加えた。次に担体を無水ＡＣＮで洗浄し、真空下で乾燥する。次に、乾燥した担体を空のスクリュー蓋プラスチックバイアルへ移し、無水ピリジン（１．５ｍＬ）中の１０％　ｎ－ＰｒＮＨ$_2$溶液（０．５ｍＬ）と室温で１２時間処理する。その後、溶媒を蒸発させて乾燥し、固体担体を含む残渣を２ｍＬの水／ＤＭＳＯ（５０／５０）にｐＨ５で溶解し、担体をろ過により除去し、その後ろ液を回収し、ただちに冷凍し、精製前に－８０℃で保管する。

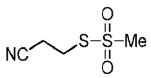
表Ｅ－３５　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表８７】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 120 + 10	N. A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 2 M CMPT in ACN	7 + 6	30 + 600
3	capping	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	10	20
4	oxidation	1.1 M *tert*-butyl hydroperoxide in 4:1 dichloromethane:decane	20	110

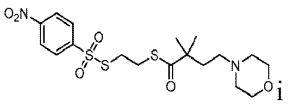
表Ｅ－３６　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表８８】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 120 + 10	N. A.
2	coupling	0.15 M chiral phosphoramidite in ACN + 2 M CMPT in ACN	8 + 6	30 + 900 (2'-OMe RNA) 30 + 600 (DNA)
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	30	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	30	60
5	sulfurization	0.3 M *S*-(2-cyanoethyl) methylthiosulfonate  in ACN/BSTFA	15 + 3×4	120 + 3×60 + 300

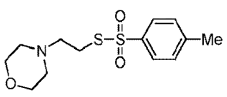
表Ｅ－３７　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

【表８９】

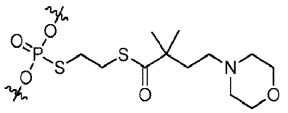
step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 60 + 10	N.A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 1.2 M CMPT in ACN	5 + 4	30 + 600
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	20	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	20	60
5	sulfurization	0.3 M *S*-(*N*-morpholinothioester-ethyl-*p*-nitro-toluylthiosulfonate  n ACN/BSTFA	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

表Ｅ－３８　ＤＮＡ／ＲＮＡ合成装置ＡＢＩ３９４におけるオリゴヌクレオチド合成の概要

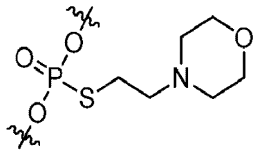
【表９０】

step	reaction	reagent	delivery time (sec)	wait time (sec)
1	detritylation	3% TCA in DCM	3 + 60 + 10	N.A.
2	coupling	0.15 M phosphoramidite in ACN + 1.2 M CMPT in ACN	5 + 4	30 + 600
3	capping 1	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine	20	60
4	capping 2	5% Pac_2O in THF/2,6-lutidine + 16% NMI in THF	20	60
5	sulfurization	0.3 M *S*-Morpholinoethyl Toluylthiosulfonate  in ACN/BSTFA	10 + 4×2	300 + 3×150 + 600

【１７５７】
ｓ１０は以下のとおりである。
【化４５４】



【１７５８】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ｒｐ）‐ｕｕｃｕＡＧＡｃｃｕＧｕｕｕｕＧｃｕｕｄＴｓ１０ｄＴ
【１７５９】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１０７の合成：（Ｓｐ）‐ｕｕｃｕＡＧＡｃｃｕＧｕｕｕｕＧｃｕｕｄＴｓ１０ｄＴ
【１７６０】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１０８の合成：（Ｒｐ）‐ＡＡＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓ１０ｄＴ
【１７６１】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐１０９の合成：（Ｓｐ）‐ＡＡＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓ１０ｄＴ
【１７６２】
ｓ１は以下のとおりである。
【化４５５】



【１７６３】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ｒｐ、Ｒｐ）‐ａｓ１ＡＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓｄＴ
【１７６４】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ｓｐ、Ｒｐ）‐ａｓ１ＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓｄＴ
【１７６５】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ｓｐ、Ｓｐ）‐ａｓ１ＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓｄＴ
【１７６６】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ｒｐ、Ｓｐ）‐ａｓ１ＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧＵＣｕＡＧＡＡｄＴｓｄＴ
【１７６７】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ａｌｌ（Ｓｐ））‐ｕｓ１ｕｃｕｓ１ＡＧＡｃｃｓ１ｕＧｕｓ１ｕｕｓ１ｕＧｃｕｕｄＴｓ１０ｄＴ
【１７６８】
オリゴヌクレオチドの合成：（Ａｌｌ（Ｒｐ））‐Ａｓ１０ＡＧｃＡＡＡＡｃＡＧＧｓ１ＵＣｕＡｓ１ＧＡｓ１ＡｄＴｓ１０ｄＴ
【１７６９】
ＲＮＡ鎖熱アニーリングおよびｓｉＲＮＡ２本鎖の調製。各ＲＮＡ鎖を、１×ＰＢＳ中で、１０μＭの等モル濃度で相補ＲＮＡ鎖と混合する。全量０．５ｍＬの溶液を各２本鎖用に調製し、混合物を９０℃で２分間加熱し、数時間にわたり放冷する。次に、混合物を４℃で保管する。

【１７７０】
熱ＲＮＡ鎖アニーリングステップ後、全ての可能なｓｉＲＮＡ２本鎖の組合せを、アンチセンス鎖の任意の可能な相補鎖と、任意のセンス鎖をアニーリングすることにより調製する。
【１７７１】
ＨｅＬａ細胞またはＨｅｐ３Ｂ細胞におけるトランスフェクション後、調製した全てのｓｉＲＮＡ２本鎖を、そのＰＣＳＫ９遺伝子サイレンシング特性について生体外で評価する。
【１７７２】
Ｈｅｐ３Ｂ細胞、Ｈｕｈ‐７細胞またはヒト初代培養肝細胞における自由取込み後、調製した全てのプロドラッグ基を有するｓｉＲＮＡ２本鎖を、そのＰＣＳＫ９遺伝子サイレンシング特性について生体外で評価する。
【１７７３】
さらなる化学修飾および調査するプロドラッグ基の層と合わせて、キラルホスホロチオエートバックボーン結合の数位置、および立体構造により調節される、異なる有効性を観察する。
【１７７４】
例えばヌクレアーゼ抵抗性、細胞浸透、エンドソームエスケープ、２本鎖熱力学安定性、２本鎖の３次元構造、様々な酵素相互作用の機構ステップに対する親和性、標的ｍＲＮＡに対する親和性、特異的オフターゲット効果、免疫刺激、作用持続時間、薬物動態等の、ｓｉＲＮＡ特性が全て、キラルホスホロチオエートバックボーン結合の立体化学およびプロドラッグ基の存在または非存在により調節され、影響される。
【１７７５】
プロドラッグ基をｓｉＲＮＡ２本鎖に放出するＰＯおよびＰＳの付加により、トランスフェクション試薬または標的リガンド非存在下での、その細胞内輸送および自由取込みが増加する。
【１７７６】
実施例８７：ジアステレオマーとして純粋なオリゴヌクレオチドの安定性調査
【１７７７】
本実施例は、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドの生体外安定性と、「もとの」立体的にランダムな混合物（すなわち、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドと同一の配列であるがキラルとして純粋ではない、例えば立体的にランダムな過程により調製された結果のオリゴヌクレオチドを含有する組成物）で観測される生体外安定性を比較する。特定の標的転写物または関心のあるタンパク質をコードする遺伝子の配列と相補的な配列をそれぞれが有する７つのキラルとして純粋なオリゴヌクレオチドを合成し、調剤し、３つの異なる生物学的マトリクス（ヘビ毒ホスホジエステラーゼ（ｓｖＰＤＥ）、ヌクレアーゼＰ１（Ｐ１）およびラット全肝臓ホモジネート）を使用して代謝安定性を評価した。異なるインキュベーション時間後、全長オリゴヌクレオチドのレベルをＩＥＸ‐ＨＰＬＣにより定量化した。本実施例において示される結果は、例えば、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチド組成物は、適切な参照（例えば、特に立体的にランダムな薬剤を含む、同一配列であるが異なるキラル特異性のオリゴヌクレオチドの薬剤）と比較して、詳細には「もとの」立体的にランダムな薬剤と比較して、有意に異なる代謝安定性を有し得ることを実証する。本実施例においては、ヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）にアンチセンスの配列を有する、（従ってヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）を標的にする）オリゴヌクレオチドを、代謝安定性調査における概念証明に使用した。
【１７７８】
オリゴヌクレオチドＯＮＴ‐７５、ＯＮＴ‐７７、ＯＮＴ‐８０、ＯＮＴ‐８１、ＯＮＴ‐８７、ＯＮＴ‐８８、ＯＮＴ‐８９およびＯＮＴ‐４１のヘビ毒ホスホジエステラーゼ（ｓｖＰＤＥ）消化調査
【１７７９】

Okaらにより報告されたプロトコル（J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 16031-16037）を少し修正して使用した。水（５０μＬ）中の精製したオリゴヌクレオチド（１０ｎｍｏｌ）を、ｓｖＰＤＥ（４×１０$^{-3}$単位）、１００ｍＭトリスＨＣｌおよび１５ｍＭ $MgCl_2$ を含有する水溶液（４５０μＬ、ｐＨ８．６）に加えた。混合物を４００ｒｐｍで振とうしながら、３７℃でインキュベートした。５０μＬの一定分量を各時間ポイント（０ｈ、１２ｈ、１ｄ、２ｄ、３ｄ、４ｄ、５ｄ、６ｄおよび７ｄ）で取り、２５μＬの１５０ｍＭ ＥＤＴＡ、２μＬのプロテイナーゼＫ（２０ｍｇ／ｍＬ）および３０μＬの溶解緩衝液（Ｑｉａｇｅｎ、＃１２９１１５）で失活させ、混合物を６０℃で２０分加熱した。５μＬの内部標準（５′-ＧＣＧＴＴＴＧＣＴＣＴＴＣＴＴＣＴＴＧＣＧＴＴＴＴＴＴ-３′、２７量体オリゴヌクレオチド（下線のヌクレオチドは２’-ＭＯＥ修飾）、（２００μＭ）を上記の一定分量に加えた。定量分析をＩＥＸ-ＨＰＬＣにより行い、代謝産物特定をＵＰＬＣ／ＭＳにより行った。結果を図５９に示した。

【１７８０】

ＩＥＸ-ＨＰＬＣ分析は、ｓｖＰＤＥとのインキュベーション中のホスホロチオエート２０量体の分解を示し、立体異性体間で有意な差は示さなかった。代謝産物のＬＣＭＳ分析は、分解生成物の多数は脱硫の結果として形成されたことを明らかにした。Prakashら（Biochemistry 2002, 41, 11642-11648）、Prhavcら（Org.Lett., 2003, 5, 2017-2020）等により以前に報告されたとおり、５’および３’-末端における２’-ＭＯＥ修飾は、３’から５’方向のエキソヌクレアーゼであるｓｖＰＤＥ代謝からこれらのオリゴマーを保護することを我々も観察した。

【１７８１】

オリゴヌクレオチドＯＮＴ-７５、ＯＮＴ-７７、ＯＮＴ-８０、ＯＮＴ-８１、ＯＮＴ-８７、ＯＮＴ-８８、ＯＮＴ-８９およびＯＮＴ-４１のヌクレアーゼＰ１（Ｐ１）消化調査

【１７８２】

Okaらにより報告されたプロトコル（J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 16031-16037）を少し修正して使用した。水（５０μＬ）中の精製したオリゴヌクレオチド（１０ｎｍｏｌ）を、ｎＰ１（２０単位）、１００ｍＭトリスＨＣｌおよび１ｍＭ $ZnCl_2$ を含有する水溶液（５００μＬ、ｐＨ７．２）に加えた。混合物を４００ｒｐｍで振とうしながら、３７℃でインキュベートした。５０μＬの一定分量を各時間ポイント（０ｈ、１ｈ、２ｈ、４ｈ、８ｈ、１２ｈ、１ｄ、２ｄ）で取り、２５μＬの停止緩衝液（１５０ｍＭ ＥＤＴＡ、２μＬのプロテイナーゼＫ溶液（２０ｍｇ／ｍＬ）および３０μＬの溶解緩衝液（Ｑｉａｇｅｎ、＃１２９１１５））で失活させ、混合物を６０℃で２０分加熱した。５μＬの内部標準（５′-ＧＣＧＴＴＴＧＣＴＣＴＴＣＴＴＣＴＴＧＣＧＴＴＴＴＴＴ-３′）、２７量体オリゴヌクレオチド（下線のヌクレオチドは２’-ＭＯＥ修飾）（２００μＭ）を上記の一定分量に加えた。定量分析をＩＥＸ-ＨＰＬＣにより行い、代謝産物特定をＵＰＬＣ／ＭＳにより行った。結果を図６０～６７に示した。

【１７８３】

ヌクレアーゼｎＰ１は、リン原子で（S_P）絶対配置を有するＤＮＡホスホロチオエート結合を特異的に開裂することが、以前報告されている（Porterら、Biochemistry, 1983, 22, 1369-1377；Okaら、J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 16031-16037）。調査した５-１０-５ ２′-ＭＯＥギャップマーホスホロチオエートオリゴヌクレオチドで類似の開裂パターンを観察し、ｎＰ１が２’-ＭＯＥ翼に影響を及ぼさずに、（S_P）ホスホロチオエート中心でギャップマーオリゴヌクレオチドのＤＮＡ核を効率的に消化することが明らかとなり、２’-ＭＯＥ翼は立体化学に依存せず安定であった。立体的にランダムなジアステレオ混合物オリゴヌクレオチドＯＮＴ-４１、ならびにＤＮＡ核に（S_P）-ホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含有する立体的に純粋なオリゴヌクレオチド（ＯＮＴ-７７、ＯＮＴ-８０、ＯＮＴ-８７、ＯＮＴ-８８およびＯＮＴ-８９）で、１時間以内でのＤＮＡ核の完全な消化を観察した。開裂の全生成物をＵＰＬＣ／ＭＳにより明白に特定した。文献にて以前報告されているとおり、明らかに（R_P）ホスホロチオエー

トＤＮＡはｎＰ１の基質でないことを見出した。（R_P）ホスホロチオエートＤＮＡ核を有する２つのキラルとして純粋なオリゴヌクレオチド（ＯＮＴ‐７５およびＯＮＴ‐８１）は、３７℃で１時間のインキュベーションの間、ｎＰ１に対し完全に安定であった。ＯＮＴ‐７５およびＯＮＴ‐８１は、数日間にわたるインキュベーションの間、約１０～１５％の全長生成物の損失を示した。本実施例において示される結果は、例えば、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチド組成物は、適切な参照（例えば、特に立体的にランダムな薬剤を含む、同一配列であるが異なるキラル特異性のオリゴヌクレオチドの薬剤）と比較して、詳細には「もとの」立体的にランダムな薬剤と比較して、ｎＰ１アッセイにおいて有意に異なる代謝安定性を有し得ることを実証する。

【１７８４】

酵素消化生成物の分析用の一般的なＩＥＸ‐ＨＰＬＣ方法

緩衝液Ａ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、５０％ＡＣＮ、ｐＨ８．０

緩衝液Ｂ：１０ｍＭ　トリスＨＣｌ、８００ｍＭ　$NaClO_4$、５０％ＡＣＮ、ｐＨ＝８．０

カラム：ＤＩＯＮＥＸ、ＤＮＡＰａｃ、ＰＡ‐１００、４．０×２５０ｍｍ、品番＃０６３０００

カラム温度＝６０℃

２５４および２８０ｎｍで信号をモニター

使用した勾配：

【表９１】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial		95	5	
2	1	95	5	1
3	1	75	25	6
10	1	35	65	6
10.1	1	95	5	6
12.5	1	95	5	1

【１７８５】

酵素消化生成物の分析用の一般的なＵＰＬＣ‐ＬＣＭＳ方法

緩衝液Ａ：１５ｍＭ　ＴＥＡ、４００ｍＭ　ＨＦＩＰ、水

緩衝液Ｂ：５０：５０　緩衝液Ａ／メタノール

カラム：ＵＰＬＣ@ＯＳＴ　C_{18}　１．７μｍ、２．１×５００ｍｍ

カラム温度＝６０℃

使用した勾配：

【表９２】

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
Initial	0.2	70	30	
2	0.2	70	30	1
27	0.2	35	65	6
27.5	0.2	5	95	6
28.5	0.2	5	95	6
29	0.2	70	30	6
30	0.2	70	30	1

【１７８６】

プレインキュベートしたラット全肝臓ホモジネートにおけるジアステレオマーとして純粋なヒトオリゴヌクレオチドの生体外代謝安定性

【１７８７】

生体外でのラット全肝臓ホモジネートにおけるキラルとして純粋なオリゴヌクレオチドの代謝安定性を測定した。ここで使用したプロトコルは、以前に報告されており、オリゴヌクレオチド薬剤の安定性を評価するのに使用されている。

【１７８８】
プロトコル：本調査においては、Gearyらにより報告されているプロトコルを少し修正して使用した（Oligonucleotides, 2010, 20, 309）。
【１７８９】
試験系：２匹の雄Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラット（Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ）がＣｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，　Ｉｎｃ.（カリフォルニア州ホリスター（Ｈｏｌｌｉｓｔｅｒ、ＣＡ））により供給された。
【１７９０】
組織採取：組織採取前に２日間、動物を実験室に順化させた。組織採取時、ペントバルビタールナトリウム溶液を腹腔内（ＩＰ）注射して動物を麻酔した。肝門脈から投与した５００ｍＬの冷却した飽和食塩水／動物を使用して、肝かん流を行った。かん流後、肝臓を解剖し、氷上で維持した。肝臓を小片に刻み、秤量した。
【１７９１】
肝臓ホモジネート調製：肝臓組織の刻んだ小片を、風袋を量った５０ｍＬ遠心管に移し、秤量した。冷却した均質化緩衝液（１００ｍＬトリス　ｐＨ８．０、１ｍＭ　酢酸マグネシウム、および抗菌－抗真菌剤）を各管に加え、管が１ｇの組織あたり５ｍＬの緩衝液を含有するようにした。ＱＩＡＧＥＮ　ＴｉｓｓｕｅＲｕｐｔｏｒ組織ホモジナイザを使用して、肝臓／緩衝液混合物をホモジナイズし、その間、管を氷上で維持した。肝臓ホモジネートのタンパク質濃度は、Ｐｉｅｒｃｅ　ＢＣＡタンパク質アッセイを使用して決定した。肝臓ホモジネートを１ｍＬの一定分量に分割し、Ｃｒｙｏｖｉａｌに移し、－６０℃で保管した。
【１７９２】
インキュベーション条件：冷凍した肝臓ホモジネート（タンパク質濃度＝３１．９ｍｇ／ｍＬ）の１ｍＬの一定分量を解凍し、３７℃で２４時間インキュベートした。６個のエッペンドルフ管（２ｍＬ）をとり、４５０μＬのホモジネートを各管に加えた。５０μＬの試験オリゴヌクレオチド（２００μＬ）を各管に加えた。混合後ただちに、１２５μＬの（５×）停止緩衝液（２．５％　ＩＧＥＰＡＬ、０．５Ｍ　ＮａＣｌ、５ｍＭ　ＥＤＴＡ、５０ｍＭ　トリス、ｐＨ＝８．０）および１２．５μＬの２０ｍｇ／ｍＬプロテイナーゼＫ（Ａｍｂｉｏｎ、＃２５４６）を、０ｈの時間ポイントとして、１つの管に加えた。次に混合物を６０℃で１時間加熱した。残る反応混合物を、ＶＷＲインキュベーティングマイクロプレート振とう機で、４００ｒｐｍで振とうしながら、３７℃でインキュベートした。所定の期間（１、２、３、４および５日）のインキュベーション後、各混合物を１２５μＬの（５×）停止緩衝液（２．５％　ＩＧＥＰＡＬ、０．５Ｍ　ＮａＣｌ、５ｍＭ　ＥＤＴＡ、５０ｍＭ　トリス、ｐＨ＝８．０）および１２．５μＬの２０ｍｇ／ｍＬプロテイナーゼＫ（Ａｍｂｉｏｎ、＃２５４６）で処理した。
【１７９３】
後処理および生物分析：（５′－ＧＣＧＴＴＴＧＣＴＣＴＴＣＴＴＣＴＴＧＣＧＴＴＴＴＴ－３′）、２７量体オリゴヌクレオチド（下線のヌクレオチドは２’－ＭＯＥ修飾）を、ジアステレオマーとして純粋なオリゴヌクレオチドの定量に、内部標準として使用した。５０μＬの内部標準（２００μＭ）を各管に加え、その後、２５０μＬの３０％水酸化アンモニウム、８００μＬのフェノール：クロロホルム：イソアミルアルコール（２５:２４：１）を加えた。混合し、６００ｒｐｍで遠心分離後、水層をＳｐｅｅｄＶａｃで蒸発させて１００μＬにし、Ｓｅｐ　Ｐａｋカラム（Ｃ１８、１ｇ、ＷＡＴ０３６９０５）に充填した。Ｓｅｐ　Ｐａｋカラムの全ての水性洗液を急速ＩＥＸ－ＨＰＬＣ法で試験し、そこで生成物が見られないことを確かめた。アセトニトリル溶出物を濃縮して乾燥し、１００μＬの水に溶解し、ＲＰ－ＨＰＬＣを使用して分析した。
溶出剤Ａ：１０ｍＭ　酢酸トリブチルアンモニウム、ｐＨ＝７．０
溶出剤Ｂ：ＡＣＮ
カラム：ＸＴｅｒｒａ　ＭＳ　C_{18}、３．５μｍ、４．６×１５０ｍｍ、品番：１８６０００４３２

カラム温度＝６０℃
ＨＰＬＣ勾配：
【表９３】

	Time	Flow	%A	%B	Curve
1		1.0	65	35	
2	5.0	1.0	65	35	1
3	30.0	1.0	40	60	6
4	35.0	1.0	5	90	6
5	36.0	1.0	65	35	6
6	40.0	1.0	65	35	1

【１７９４】
図６８は、異なるキラルとして純粋なオリゴヌクレオチドが、ラット全肝臓ホモジネートにおいて異なる代謝安定性プロファイルを有することを示す。実験により、同一の配列および化学組成を有するジアステレオマーとして純粋な立体的に規定されたオリゴヌクレオチド（例としてここではＯＮＴ‐７５およびＯＮＴ‐７７を使用するが、当業者にとって理解されるように、この観察はこの分子の他の可能なジアステレオマーとして純粋な立体的に規定されたホスホロチオエートジアステレオ異性体で推測され得る）と比較して、ジアステレオ異性体混合物ＯＮＴ‐４１が異なる代謝安定性プロファイルを有することも実証している。
【１７９５】
全リン原子において全R_p絶対配置を有する立体制御されたホスホロチオエートバックボーンを有するオリゴヌクレオチドＯＮＴ‐７５は、３７℃でプレインキュベートしたラット全肝臓ホモジネートにおいて１日で完全に分解され、本調査において使用された３つのうちで最も低い代謝安定性を示した。
【１７９６】
他のジアステレオマーとして純粋な立体的に規定されたホスホロチオエートオリゴヌクレオチドＯＮＴ‐７７（絶対配置：５Ｒ‐１０Ｓ‐４Ｒを有する）は、立体的にランダムなＯＮＴ‐４１（ミポメルセン）と比較して、２倍よりもより安定であった。５日間のインキュベーション後、ジアステレオマーとして純粋なＯＮＴ‐７７においては４０％の全長オリゴヌクレオチドが残ったが、立体的にランダムなＯＮＴ‐４１（ミポメルセン）では約１５％の全長オリゴヌクレオチドが残った。ＯＮＴ‐７７およびＯＮＴ‐４１を直接比較すると、立体制御された異性体５Ｒ‐１０Ｓ‐４Ｒ（ＯＮＴ‐７７）は全ての分析時間ポイントを通して、有意に高い代謝安定性を明白に示した。ジアステレオマーとして純粋な異性体ＯＮＴ‐７７の立体的に規定された構造は、このオリゴヌクレオチドの分解速度および全体の代謝安定性に影響を及ぼす。理論により束縛されることを意図するものではないが、５‐１０‐５ギャップマーオリゴヌクレオチドのＤＮＡ核に適用したS_p立体化学は、立体的にランダムなジアステレオ混合物と比較して、エンドヌクレアーゼ抵抗性の増加を提供し、ゆえに代謝安定性を増加させるという結論をこれらの観測が導く。この配列の、他のジアステレオマーとして純粋な立体制御ホスホロチオエート異性体のいくつかの他の立体構造が、本実験においてさらにより高い代謝安定性を示すことが予想されるであろう。
【１７９７】
理論により束縛されることを意図するものではないが、本実施例において示される結果は、例えばホスホロチオエート結合でのR_p立体化学（ＯＮＴ‐７５）は、ラット肝臓ホモジネートにおいて、S_pＤＮＡ核を含有するＯＮＴ‐７７よりも代謝安定性が低いことを実証する。本実施例において示される結果は、例えば、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチド組成物は、適切な参照（例えば、特に立体的にランダムな薬剤を含む、同一配列であるが異なるキラル特異性のオリゴヌクレオチドの薬剤）と比較して、詳細には「もとの」立体的にランダムな薬剤と比較して、ラット肝臓ホモジネートにおいて有意に異なる

代謝安定性を有し得ることも実証する。本実施例においては、本実施例においては、ヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）にアンチセンスの配列を有する、（従ってヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）を標的にする）オリゴヌクレオチドを、代謝安定性調査における概念証明に使用した。提供するキラル制御したオリゴヌクレオシドは、内因性酵素に対して、安定性の増加または安定性の減少を有し得る。キラル制御したオリゴヌクレオチドおよび組成物ならびにそれら方法を提供することにより、本発明は、公知のキラル制御されていないオリゴヌクレオチドおよびそれらの組成物よりも薬理学的特性が増加したオリゴヌクレオチドおよび組成物を提供した。

【１７９８】

ヒト血清における立体制御ホスホロチオエートジエステル結合を有するヒトＰＣＳＫ９ｓｉＲＮＡ２本鎖の生体外代謝安定性

【１７９９】

以前に報告された手順（Okaら、Ｊ．Am．Chem．Soc．2008，130，16031-16037）と類似のプロトコルを使用する。水（５０μＬ）中のｓｉＲＮＡ２本鎖（２．５μｍｏｌ）を、ヒト血清（４５０μＬ）に加える。混合物を４００ｒｐｍで振とうしながら、３７℃でインキュベートする。５０μＬの一定分量を各時間ポイント（０ｈ、０．５ｈ、１ｈ、２ｈ、４ｈ、６ｈ、８ｈおよび２４ｈ）で取り、２５μＬの１５０ｍＭ　ＥＤＴＡ、２μＬのプロテイナーゼＫ溶液（２０ｍｇ／ｍＬ）および３０μＬの溶解緩衝液（Ｑｉａｇｅｎ、＃１２９１１５）で失活させ、混合物を６０℃で２０分加熱する。５μＬの内部標準（５′‐ＧＣＧＴＴＴＧＣＴＣＴＴＣＴＴＣＴＴＧＣＧＴＴＴＴＴＴ‐３′、２７量体オリゴヌクレオチド（下線のヌクレオチドは２’‐ＭＯＥ修飾））（２００μＭ）を上記の一定分量に加える。定量分析をＩＥＸ‐ＨＰＬＣにより行い、代謝産物同定をＵＰＬＣ／ＭＳにより行う。

【１８００】

いくつかの実施形態においては、S_p配置を有する３’末端のジアステレオマーとして純粋なホスホロチオエートを有するｓｉＲＮＡ２本鎖は、同じ位置でR_p配置を有するホスホロチオエートまたは立体的にランダムなジアステレオ混合物を有するｓｉＲＮＡと比較して、ヒト血清において高い代謝安定性を示す。他の実施形態においては、S_p配置を有する５’末端のジアステレオマーとして純粋なホスホロチオエートを有するｓｉＲＮＡ２本鎖は、同じ位置でR_p配置を有するホスホロチオエートまたは立体的にランダムなジアステレオ混合物を有するｓｉＲＮＡと比較して、ヒト血清において高い代謝安定性を示す。他の実施形態においては、３’および５’末端の両方でS_p配置を有するジアステレオマーとして純粋なホスホロチオエートを有するｓｉＲＮＡ２本鎖は、同じ位置でR_p配置を有するホスホロチオエートまたは立体的にランダムなジアステレオ混合物を有するｓｉＲＮＡと比較して、ヒト血清において高い代謝安定性を示す。他の実施形態においては、S_p配置を有する複数のジアステレオマーとして純粋なホスホロチオエートを有するｓｉＲＮＡ２本鎖は、R_p配置を有する複数のホスホロチオエートまたは立体的にランダムなジアステレオ混合物を有するｓｉＲＮＡと比較して、ヒト血清において高い代謝安定性を示す。他の実施形態においては、S_p配置を有するジアステレオマーとして純粋なホスホロチオエートの全バックボーンを有するｓｉＲＮＡ２本鎖は、R_p配置を有するホスホロチオエートの全バックボーンまたは立体的にランダムなジアステレオ混合物を有するｓｉＲＮＡと比較して、ヒト血清において高い代謝安定性を示す。

【１８０１】

実施例８８　キラル制御したオリゴヌクレオチド組成物は、同一の配列を有するキラル制御していない組成物と比較して、生体外で異なる有効性を示す

【１８０２】

本実施例は、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドの生体外薬理学活性を、「もとの」立体的にランダムな混合物（すなわち、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドと同一の配列であるがキラルとして純粋ではない、例えば立体的にランダムな過程により調製された結果のオリゴヌクレオチドを含有する組成物）で観察される活性と比較する。特定の

標的転写物または関心のあるタンパク質をコードする遺伝子の配列と相補的な配列をそれぞれが有する４つのキラルとして純粋なオリゴヌクレオチドを合成し、調剤し、初代マウス肝細胞にトランスフェクトした。ｍＲＮＡレベルを定量化して、抑制レベルを評価した。本実施例においては、ヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）にアンチセンスの配列を有する、（従ってヒトアポリポタンパク質‐Ｂ（ＡｐｏＢ）を標的にする）オリゴヌクレオチドを、遺伝子導入マウス発現ヒトＡｐｏＢにおける概念証明に使用した。

【１８０３】

オリゴヌクレオチドを用いたマウス初代肝細胞のトランスフェクション

７週齢のＣ５７ＢＬ６雄マウスを使用して、マウス初代肝細胞を抽出し、９６‐ウェルプレートに蒔いた（重ね合せなし）（Ｃｅｌｓｉｓ／Ｂｉｏｒｅｃｌａｍａｔｉｏｎ ＩＶＴ）。初代肝細胞のトランスフェクションを、リポフェクチン（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、品番１８２９２－０３７）と、製造業者のプロトコルを使用して、９６‐プレートウェルあたり０．５μｌのリポフェクチンを使用して行った。６μＭから開始して１２個の１：３ｓｉＲＮＡ２本鎖希釈液を作成した。次に１０μｌの１０×オリゴを、９．５μｌの生体外Ｇｒｏ ＨＩ Ｍｅｄｉｕｍ（Ｃｅｌｓｉｓ、品番Ｚ９９００９）の血清を含まない培地および１ウェルあたり０．５μｌのリポフェクチンの調製混合物とリポプレックスにした。１０～１５分のインキュベーション後、２０μｌのリポプレックスしたオリゴを、８０μｌの生体外Ｇｒｏ ＨＩ Ｍｅｄｉｕｍ中の初代肝細胞に加え、１ウェルあたり１００μｌの最終体積にした。トランスフェクション後２４時間で、細胞を溶解させた。

【１８０４】

アポリポタンパク質Ｂ ｍＲＮＡアッセイ

ＭａｇＭＡＸ（商標）‐９６全ＲＮＡ単離キット（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ＡＭ１８３０）を使用して、全ｍＲＮＡを細胞可溶化物から精製し；ＲＮａｓｅ阻害剤を有する高容量ｃＤＮＡ逆転写キット（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、４３７４９６７）で１５μｌのｃＤＮＡを合成した。Ｐｒｏｂｅｓ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ（Ｒｏｃｈｅ、０４ ７０７ ４９４ ００１）を使用して製造業者のプロトコルに従って、以下のプライマーを使用して、Ｌｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ４８０（Ｒｏｃｈｅ）で遺伝子発現をリアルタイムＰＣＲにより評価した。

マウスアポリポタンパク質Ｂプライマー：

［テンプレート：（ＧｅｎＢａｎｋ目録番号Ｍ３５１８６）］

・フォワードプライマー：ＣＧＴＧＧＧＣＴＣＣＡＧＣＡＴＴＣＴＡ

・リバースプライマー：ＡＧＴＣＡＴＴＴＣＴＧＣＣＴＴＴＧＣＧＴＣ

・ＰＣＲプローブ：ＦＡＭ‐ＣＣＡＡＴＧＧＴＣＧＧＧＣＡＣＴＧＣＴＣＡＡ‐ＴＡＭＲＡ

マウスＧＡＰＤＨプライマー

・フォワードプライマー：ＧＧＣＡＡＡＴＴＣＡＡＣＧＧＣＡＣＡＧＴ

・リバースプライマー：ＧＧＧＴＣＴＣＧＣＴＣＣＴＧＧＡＡＧＡＴ

・ＰＣＲプローブ：５’ＪＯＥ‐ＡＡＧＧＣＣＧＡＧＡＡＴＧＧＧＡＡＧＣＴＴＧＴＣＡＴＣ‐ＴＡＭＲＡ３’

【１８０５】

データ解析

デルタデルタＣｔ法を使用して、値を計算した。各試料で、平均ＡｐｏＢ信号を平均ＧＡＰＤＨ信号に正規化し、次に偽のトランスフェクトおよび未処理試料の対応する平均比に正規化し、ＡｐｏＢタンパク質発現の相対レベルを得た。「もとの」立体的にランダムな混合物を参照として使用した。Ｇｒａｐｈｐａｄプリズムを使用して相対的なＩＣ５０を計算するため、４パラメータの直線回帰曲線をデータにフィッティングし、最下部および最上部をそれぞれ０および１００の定数に束縛した。

【１８０６】

生体外投与反応（図７１および７２）は、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチドが有

意に異なる有効性を有することを示し、ＯＮＴ‐８３がもっとも有効性があり、ＯＮＴ‐８４およびＯＮＴ‐８５がもっとも有効性が少なく、ＩＣ５０において８．６倍の差があることを示している（表Ｅ‐３９）。

表Ｅ‐３９　初代マウス肝細胞におけるマウスアポリポタンパク質Ｂ／ＧＡＰＤＨ　ｍＲＮＡレベルの抑制に対する立体異性体（ＯＮＴ‐８３、‐８４、‐８５または‐８６）のＩＣ５０値

【表９４】

				Hill Slope	IC50
	Bottom	Top	LogIC50		
ONT-83	0	100	1.6	-0.4	35.8
ONT-82	0	100	1.8	-0.3	64.4
ONT-85	0	100	2.5	-0.3	308.0
ONT-84	0	100	2.5	-0.8	307.8
ONT-86	0	100	1.7	-0.6	51.2

【１８０７】

本実施例において示される結果は、例えば、キラルとして純粋なオリゴヌクレオチド組成物は、適切な参照（例えば、特に立体的にランダムな薬剤を含む、同一配列であるが異なるキラル特異性のオリゴヌクレオチドの薬剤）と比較して、詳細には「もとの」立体的にランダムな薬剤と比較して、生体外で有意に異なる薬理学活性を有し得ることを実証する。当業者は、この実証を考慮すると、本開示により提供するキラル制御したオリゴヌクレオチド組成物が予想外の活性および特性を有することを理解するであろう。

【１８０８】

均等論

【１８０９】

本発明のいくつかの例示的実施形態が記載されているが、前述のものは、単に例示したものであり、制限するものでなく、例としてのみ表されたものであることは、当業者には明白であろう。多くの修正および他の例示的実施形態は、当業者の及び範囲内であり、本発明の範囲内であると意図される。特に、本明細書中に表された多くの実施例は、方法行為の特定の組み合わせまたはシステム要素を含むが、これらの行為およびこれらの要素が、同じ目的を達成するための他の方法で併用され得ることを理解すべきである。１つの実施形態に関してのみ議論される行為、要素、および特徴は、他の実施形態で同様な役割から除外されることを意図されない。さらに、次の請求の範囲中に引用される１つ以上の手段＋機能限定（ｍｅａｎｓ－ｐｌｕｓ－ｆｕｎｃｔｉｏｎ　ｌｉｍｉｔａｔｉｏｎｓ）のため、該手段は、引用された機能を実施するために、本明細書に開示の手段を限定することを意図せず、該引用機能の実施のため、今既知であるまたは後に開発されるいずれの手段も範囲に含むことを意図される。

【１８１０】

本請求範囲の要素を修正するために、本請求の範囲中の「１番目」、「２番目」、「３番目」、他などの通常の語の使用は、それ自体、いずれの優先度も、または１つの請求の範囲の要素の別のものに対する順も含意するものではなく、または方法のその行為の該時間的順序が実施されるが、特定の名前を有する１つの請求の範囲の要素を、該請求の範囲の要素を識別するため、同じ名前（しかし、通常の語の使用のため）を有する別の要素と識別するための標識としてのみ使用される。同様に、ａ）、ｂ）、他、またはｉ）、ｉｉ）、他の使用は、それ自体、本請求の範囲内のいずれの優先度も、先行も、ステップ順も含意しない。同様に、本明細書中のこれらの語の使用は、それ自体、いずれの必要な優先度も、先行も、順も含意しない。

【１８１１】

先に記載された明細書は、当業者が、本発明の実施を可能にするのに十分であるように考慮されている。本実施例が、本発明の１つ態様の１つの例示として意図されているので

、本発明は、提供される実施例による範囲に限定されず、他の機能的に均等な実施形態は、本発明の範囲内である。本明細書中で示され、記載されたものに加えて、本発明の様々な修正は、先の明細書から、当業者に明白であり、本添付の請求の範囲の範囲内であろう。本発明の利益および目的は、本発明の各実施形態により、必ずしも包含されない。

添付資料 (A)

Accession #	Unigene #	Gene Symbol	Name	Sequence
NM_003467	Hs.421986	CXCR4	Chemokine (C-X-C motif) receptor 4	5'-UAAAAUCUUCCUGCCCACCdTdT-3'
NM_003467	Hs.421986	CXCR4	Chemokine (C-X-C motif) receptor 4	5'-GGAAGCUGUUGGCUGAAAAdTdT-3'
NM_006799.2	Hs.72026	PRSS21	Protease, serine, 21 (testisin)	5'-CACAUCCAGCCCAUCUGUC(dTdT)-3'
NM_000117.1	Hs.522823	EMD	Emerin	5'-CCGUGCUCCUGGGGCUGGG(dTdT)-3'
NM_001350.3	Hs.336916	DAXX	Death-associated protein 6	5'-GGAGUUGGAUCUCUCAGAA(dTdT)-3'
NM_003014.2	Hs.105700	SFRP4	Secreted frizzled-related protein 4	5'-AAGTCCCGCTCATTACAAATT-3'
NM_015062.3	Hs.533551	PPRC1	Peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator-related 1	5'-AAGACCAGCCUCUUUGCCCAG-3'
NM_001005360.1	Hs.211463	DNM2	Dynamin 2	5'-GGACCAGGCAGAAAACGAG-3
NM_001904.2	Hs.476018	CTNNB1	Catenin (cadherin-associated protein), beta 1, 88kDa	5'-CUAUCAGGAUGACGCGG-3'
NM_153831.2	Hs.395482	PTK2	PTK2 protein tyrosine kinase 2	5'-AACCACCUGGGCCAGUAUUAU-dTT-3'
NM_001429.2	Hs.517517	EP300	E1A binding protein p300	5'-UGACACAGGCAGGCUUGACUU-3'
NM_005904.2	Hs.465087	SMAD7	SMAD, mothers against DPP homolog 7 (Drosophila)	5' AA GCU CAA UUC GGA CAA CAA G 3'
NM_001904.2	Hs.476018	CTNNB1	Catenin (cadherin-associated protein), beta 1, 88kDa	5' AAG UCC UGU AUG AGU GGG AAC 3'
NM_175847.1	Hs.172550	PTBP1	Polypyrimidine tract binding protein 1	5'-TCG ACG AAC ATC TAC AAC GCC TGC TTC AAG AGA GCA GGC GTT GTA GAT GTT CTT TTT TT-3'
NM_175847.1	Hs.172550	PTBP1	Polypyrimidine tract binding protein 1	5'-TCG ACC AAT GAC AAG AGC CGT GAC TTC AAG AGA GTC ACG GCT CTT GTC ATT GTT TTT TT-3'

NM_002659.2	Hs.466871	PLAUR	Plasminogen activator, urokinase receptor	5'-GGTGAAGAAGGGCGTCCAA-3'
NM_033360.2	Hs.505033	KRAS2	V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog	5'-GATCCGTTGGAGCTGTTGGCGTAG TTCAAGAGACTACGCCA ACAGCTCCAACTTTTTGGAAA-3'
NM_002959.4	Hs.485195	SORT1	Sortilin 1	5'-AGGTGGTGTTAACAGCAGAG-3'
NM_002959.4	Hs.485195	SORT1	Sortilin 1	5'-AATGTTCCAATGCCCCACTC-3'
NM_000743.2	Hs.89605	CHRNA3	Cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 3	5'-AACUGCCAGUGGCCAGGGCCU-3'
NM_004859.2	Hs.491351	CLTC	Clathrin, heavy polypeptide (Hc)	5'-AACCUGCGGUCUGGAGUCAAC-3'
NM_004859.2	Hs.491351	CLTC	Clathrin, heavy polypeptide (Hc)	5'-UAAUCCAAUUCGAAGACCAAU-3'
NM_000038.3	Hs.158932	APC	Adenomatosis polyposis coli	5'-AGGGGCAGCAACTGATGAAAA-3'
NM_004850.3	Hs.58617	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2	5'-AAGGCATCGCAGAAGGTTTAT-3'
NM_001274.2	Hs.24529	CHEK1	CHK1 checkpoint homolog (S. pombe)	5'-UCGAAGUACUCAGCGUAAG-3'
NM_007194.3	Hs.291363	CHEK2	CHK2 checkpoint homolog (S. pombe)	5'-GAACCUGAGGACCAAGAAC-3'
NM_001901.1	Hs.410037	CTGF	Connective tissue growth factor	5'-AATGTTCTCTTCCAGGTCAGCCCTGTCTC-3'
NM_001619.2	Hs.83636	ADRBK1	Adrenergic, beta, receptor kinase 1	5'-AAGAAGUACGAGAAGCUGGAG-3'
NM_005160.2	Hs.517493	ADRBK2	Adrenergic, beta, receptor kinase 2	5'-AAGCAAGCUGUAGAACACGUA-3'
NM_005308.2	Hs.524625	GRK5	G protein-coupled receptor kinase 5	5'-AAGCCGUGCAAAGAACUCUUU-3'
NM_001004106.1	Hs.235116	GRK6	G protein-coupled receptor kinase 6	5-AACAGUAGGUUUGUAGUGAGC-3'
NM_017556.1	Hs.530101	FBLP-1	Filamin-binding LIM protein-1	5'-AAAGGGGCAUCCACAGACAUC-3'

NM_005857.2	Hs.132642	ZMPSTE24	Zinc metallopeptidase (STE24 homolog, yeast)	5'- TTAT TCTTCTCTTT GGAGGA -3'
NM_005572	Hs.491359	LMNA	Lamin A/C	5'- ACTGGACTTC CAGAAGAAC -3'
NM_015878.3	Hs.459106	OAZIN	Ornithine decarboxylase antizyme inhibitor	5'-AATTGCACGTAATCACCCAAA-3'
NM_015878.3	Hs.459106	OAZIN	Ornithine decarboxylase antizyme inhibitor	5'-AAGAAATACAAGGAAGATGAG-3'
NM_001664.2	Hs.247077	RHOA	Ras homolog gene family, member A	5'-GACAUGCUUGCUCAUAGUCTT-3'
NM_175744.3	Hs.502659	RHOC	Ras homolog gene family, member C	5'-GACCUGCCUCCUCAUCGUCTT-3'
NM_000041.2	Hs.515465	APOE	Apolipoprotein E	5'- AAGGTGGAGCAAGCGGTGGAG -3'
NM_000041.2	Hs.515465	APOE	Apolipoprotein E	5'-AAGGAGTTGAAGGCCTACAAA-3'
AF520590.1	Hs.536600	BAK1	BCL2-antagonist/killer 1	5'-UGCCUACGAACUCUUCACCdTdT-3'
NM_138761.2	Hs.159428	BAX	BCL2-associated X protein	5'-UAUGGAGCUGCAGAGGAUGdTdT-3'
NM_005733.1	Hs.73625	KIF20A	Kinesin family member 20A	5'-TTGGCCAAGCCACACACAG-3'
NM_005733.1	Hs.73625	KIF20A	Kinesin family member 20A	5'-GTTCTCAGCCATTGCTAGC-3'
NM_005733.1	Hs.73625	KIF20A	Kinesin family member 20A	5'-GGCAGCATGTATTGCTGAG-3'
NM_014034.1	Hs.292316	ASF1A	ASF1 anti-silencing function 1 homolog A (S. cerevisiae)	5'-AAUC CAGGACUCAUUCCAGAU-3'
NM_014034.1	Hs.292316	ASF1A	ASF1 anti-silencing function 1 homolog A (S. cerevisiae)	5'-AAGUGAAGAAUACGAUCAAGU-3'
NM_018154.1	Hs.26516	ASF1B	ASF1 anti-silencing function 1 homolog B (S. cerevisiae)	5'-AACAACGAGUACCUCAACCCU-3'
NM_022110.3	Hs.520042	WISp39	FK506 binding protein like	5' AACGCUUGAGCUGGAAGUAAG 3'
NM_022110.3	Hs.520042	WISp39	FK506 binding protein like	5'-CCUUCAAGCUUCUGAUCUC-3'
NM_000389.2	Hs.370771	CDKN1A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	5'-AACUUCGACUUUGUCACCGAG-3'
NM_004064.2	Hs.238990	CDKN1B	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	5'-AAGCACUGCAGAGACAUGGAAG-3'

NM_033084.2	Hs.208388	FANCD2	Fanconi anemia, complementation group D2	5'- AACAGCCATGGATACACTTGA -3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-AATGACAAAGAGGCAGCAGG-3-
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-AACCTGCCACACTCAAGATC-3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-AGCTGAACTTCAGGAGCTGCC-3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-AAGCCTTTCGCAAGTTCCTGA-3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-ACGGCATAGGCGATGAGGAG-3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-AGGAAGGCCGGGTGATTGTG-3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-GTCTGGTACGACTGGAGTA-3'
NM_001641.2	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-GACAGCTTTAGGCACCTCTA-3'
NM_015641.2	Hs.533391	TES	Testis derived transcript (3 LIM domains)	5'-GGAUUCGAACUGCACUUCU-3'
NM_015641.2	Hs.533391	TES	Testis derived transcript (3 LIM domains)	5'-ACUGUGGCACCCAGCUUGU-3'
NM_003461.3	Hs.490415	ZYX	Zyxin	5'-GCCCAAAGUGAAUCCCUUC-3'

NM_002880.2	Hs.159130	RAF1	V-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	5'-TTTGAATATCTGTGCTGAGAACACA GTTCTCAGCACAGATATTCTTTTT-3'
NM_002880.2	Hs.159130	RAF1	V-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	5'-TTTGTCAATTAGCTGGAACATCACAG ATGTTCCAGCTAATTGACTTTTT-3'
NM_004506.2	Hs.158195	HSF2	Heat shock transcription factor 2	5'-AATGAGAAAAGCAAAAGGTGCCCTGTCTC-3'
NM_005356.2	Hs.470627	LCK	Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase	5'-CAUCGAUGUGUGUGAGAACUGC-3'
NM_005546.3	Hs.483938	ITK	IL2-inducible T-cell kinase	5'-CUGUUCUCAGCUGGAGAAGCUU-3'
NM_005546.3	Hs.483938	ITK	IL2-inducible T-cell kinase	5'-GGAGCCUUCAUGGUAAGGGAUU-3'
NM_002133.1	Hs.517581	HMOX1	Heme oxygenase (decycling) 1	5'-GGCACCATGAAGGCG-3'
NM_000639.1	Hs.2007	FASLG	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 6	5'-CUGGGCU GUACU UUGUA UATT-3'
NM_018417.2	Hs.320892	SAC	Testicular soluble adenylyl cyclase	5'-AUGUAGCCUGGAGAUCCAUUU-3'
NM_003743.3	Hs.412293	NCOA1	Nuclear receptor coactivator 1	5'-CCUCAGGGCAGAGAACCAUCUdTdT-3'
NM_005572.2	Hs.491359	LMNA	Lamin A/C	5'-CUGGACUUCCAGAAGAACAUCdTdT-3'
NM_176871.2	Hs.521444	PDLIM2	PDZ and LIM domain 2 (mystique)	5'-AAGAUCCGCCAGAGCCCCUCG-3'
NM_014188.2	Hs.30026	HSPC182	HSPC182 protein	5'-AACAGGGACTCACGTGAAGCT-3'
NM_014188.2	Hs.30026	HSPC182	HSPC182 protein	5'-AAGACCTGTTTGATCTGATCC-3'
AF263744.1	Hs.519346	ERBB2IP	Erbb2 interacting protein	5'-UAGACUGACCCAGCUGGAAdTdT-3'
NM_002583.2	Hs.406074	PAWR	PRKC, apoptosis, WT1, regulator	5'-GAUGCAAUUACACAACAGAdTdT-3'
NM_003766.2	Hs.12272	BECN1	Beclin 1 (coiled-coil, myosin-like BCL2 interacting protein)	5'-CUCAGGAGAGGAGCCAUUU-3'
NM_003766.2	Hs.12272	BECN1	Beclin 1 (coiled-coil, myosin-like BCL2 interacting protein)	5'-GAUUGAAGACACAGGAGGC-3'
NM_004849.1	Hs.486063	APG5L	APG5 autophagy 5-like (S.	5'-GCAACUCUGGAUGGGAUUG-3'

			cerevisiae)	
NM_031482.3	Hs.527193	APG10L	APG10 autophagy 10-like (S. cerevisiae)	5'-GGAGUUCAUGAGUGCUAUA-3'
NM_004707.2	Hs.264482	APG12L	APG12 autophagy 12-like (S. cerevisiae)	5'-CAGAGGAACCUGCUGGCGA-3'
NM_002613.2	Hs.459691	PDPK1	3-phosphoinositide dependent protein kinase-1	5'-AACTGGCAACCTCCAGAGAAT-3'
NM_002613.2	Hs.459691	PDPK1	3-phosphoinositide dependent protein kinase-1	5'-AAGAGACCTCGTGGAGAAACT-3'
NM_000314.2	Hs.500466	PTEN	Phosphatase and tensin homolog (mutated in multiple advanced cancers 1)	5'-AACAGTAGAGGAGCCGTCAAA-3'
NM_006092.1	Hs.405153	CARD4	Caspase recruitment domain family, member 4	5'-GGGUGAGACCAUCUUCAUCTT-3'
NM_006092.1	Hs.405153	CARD4	Caspase recruitment domain family, member 4	5'-GGCCAAAGUCUAUGAAGAUTT-3'
NM_000598.3	Hs.450230	IGFBP3	Insulin-like growth factor binding protein 3	5'-AAUCAUCAUCAAGAAAGGGCA-3'
NM_006839.1	Hs.148559	IMMT	Inner membrane protein, mitochondrial (mitofilin)	5'-AAUUGCUGGAGCUGGCCUUTT-3'
NM_016485.3	Hs.431367	C6ORF55	Chromosome 6 open reading frame 55	5'-GAATGAAGATCGATAGTAA-3'
NM_016485.3	Hs.431367	C6ORF55	Chromosome 6 open reading frame 55	5'-GCACAGGTGTAGCAAGTAA-3'
NM_016485.3	Hs.431367	C6ORF55	Chromosome 6 open reading frame 55	5'-GGAGAATTATGCTTTGAAA-3'
NM_016485.3	Hs.431367	C6ORF55	Chromosome 6 open reading frame 55	5'-GCAGTGCTTTGCAGTATGA-3'
NM_016410.2	Hs.415534	SNF7DC2	SNF7 domain containing 2	5'-CAGAAAGCCTTGCGAGTTT-3'
NM_016410.2	Hs.415534	SNF7DC2	SNF7 domain containing 2	5'-GAATTTGGATTGCCACAGA-3'
NM_016410.2	Hs.415534	SNF7DC2	SNF7 domain containing 2	5'-GAAGGTGTTCCCACTGATA-3'

NM_016410.2	Hs.415534	SNF7DC2	SNF7 domain containing 2	5'-GAGAGGGTCCTGCAAAGAA-3'
NM_199185.1	Hs.519452	NPM1	Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin)	5'-UGAUGAAAAUGAGCACCAG-3'
NM_003118.2	Hs.111779	SPARC	Secreted protein, acidic, cysteine-rich	5-AAAATCCCTGCCAGAACCACC-3'
NM_003118.2	Hs.111779	SPARC	Secreted protein, acidic, cysteine-rich	5-AACAAGACCTTCGACTCTTCC-3'
NM_003183.3	Hs.404914	ADAM17	A disintegrin and metalloproteinase domain 17 (tumor necrosis factor, alpha, converting enzyme)	5'-AAACGAAAGCGAGTACACT-3'
NM_012164.2	Hs.494985	FBXW2	F-box and WD-40 domain protein 2	5'-AGATGGACTTCTCTGTACAGG-3'
NM_012164.2	Hs.494985	FBXW2	F-box and WD-40 domain protein 2	5'-GACATTGTCTGTCTCTGAGGA-3'
NM_175940.1	Hs.272813	DUOX1	Dual oxidase 1	5'-GGACUUAUCCUGGCUAGAGtt-3'
NM_004503.2	Hs.820	HOXC6	Homeo box C6	5' CCGGAUCUACUCGACUCCCTT 3'
NM_004503.2	Hs.820	HOXC6	Homeo box C6	5' CCUAAUCACACACUCUGUATT 3'
NM_004503.2	Hs.820	HOXC6	Homeo box C6	5' ACUGCAGACAAAACACCUUTT 3'
NM_004503.2	Hs.820	HOXC6	Homeo box C6	5' UCCAACCUCUGGGUCCGUUTT 3'
NM_004503.2	Hs.820	HOXC6	Homeo box C6	5' ACUGUGACCGUUUCUGUGUTT 3'
NM_004503.2	Hs.820	HOXC6	Homeo box C6	5' CUCAGACUCUACAGAUUGCTT 3'
NM_182965.1	Hs.68061	SPHK1	Sphingosine kinase 1	5'-GGG CAA GGC CUU GCA GCU C-3'
NM_003329.2	Hs.435136	TXN	Thioredoxin	5'-AUGACUGUCAGGAUGUUGCdTT-3'
NM_003329.2	Hs.435136	TXN	Thioredoxin	5'-GCAACAUCCUGACAGUCAUdCC-3'
NM_203500.1	Hs.465870	KEAP1	Kelch-like ECH-associated protein 1	5'-UGAACGGUGCUGUCAUGUAdTdT-3'
NM_005239.4	Hs.517296	ETS2	V-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 2 (avian)	5'-GCAGAGGUUCGGCAUGAAUdTdT-3'

NM_002067.1	Hs.515056	GNA11	Guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha 11 (Gq class)	5'-AAGATGTTCGTGGACCTGAAC-3'
NM_004827.1	Hs.480218	ABCG2	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 2	5'-AAGATGATTGTTCGTCCCTGCTAT AGTGAGTCGTATTA-3'
NM_000610.3	Hs.502328	CD44	CD44 antigen (homing function and Indian blood group system)	5'-GAACGAAUCCUGAAGACAUCU-3'
NM_003489.1	Hs.155017	NRIP1	Nuclear receptor interacting protein 1	5'-GAAGGAAGCUUUGCUAGCU-3'
NM_004995.2	Hs.2399	MMP14	Matrix metalloproteinase 14	5'-AAGCCTGGCTACAGCAATATGCCTGTCTC-3'
NM_022045.2	Hs.546363	MTBP	Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein (mouse) binding protein, 104kDa	5' GGCUCAUUUGCACUCAAUU 3'
NM_002392.2	Hs.369849	MDM2	Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein (mouse)	5' GCCACAAAUCUGAUAGUAU 3'
NM_170707.1	Hs.491359	LMNA	Lamin A/C	5' CUGGACUUCCAGAAGAACA 3'
NM_004759.3	Hs.519276	MAPKAPK2	Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2	5'-UGACCAUCACCGAGUUUAUdTdT-3'
NM_001948.2	Hs.527980	DUT	DUTP pyrophosphatase	5'-GATTATAGGAAATGTTG-3'
NM_016022.1	Hs.108408	APH-1A	Likely ortholog of C. elegans anterior pharynx defective 1A	5'-AAGAAGGCAGATGAGGGGTTA-3'
NM_031301.2	Hs.511703	PSFL	Anterior pharynx defective 1B-like	5'-AACAAAGATGGACCAACACAG-3'
BC007496.1	Hs.36915	SMAD3	SMAD, mothers against DPP homolog 3 (Drosophila)	5'-GGACGAGGUCUGCGUGAAUdTdT-3'
NM_182763.1	Hs.532826	MCL1	Myeloid cell leukemia sequence 1 (BCL2-related)	5'-AAGAAACGCGGUAAUCGGACU-3'

NM_001022.3	Hs.438429	RPS19	Ribosomal protein S19	5'-GCACAAAGAGCTTGCTCCCTtcaagaga GGGAGCAAGCTCTTTGTGC-3'
NM_001022.3	Hs.438429	RPS19	Ribosomal protein S19	5'-GTCCGGGAAGCTGAAAGTCttcaagaga GACTTTCAGCTTCCCGGAC-3'
NM_001022.3	Hs.438429	RPS19	Ribosomal protein S19	5'-GAGATCTGGACAGAATCGCttcaagaga GCGATTCTGTCCAGATCTC-3'
NM_001400.2	Hs.154210	EDG1	Endothelial differentiation, sphingolipid G-protein-coupled receptor, 1	5'-GGAGAACAGCATTAAACTG-3'
NM_001001938.1	Hs.546252	C9orf47	Chromosome 9 open reading frame 47	5'-GGTCAACATTCTGATGTCT-3'
NM_021972.2	Hs.68061	SPHK1	Sphingosine kinase 1	5'-GGGCAAGGCCTTGCAGCTC-3'
NM_016068.1	Hs.423968	TTC11	Tetratricopeptide repeat domain 11	5'-GTACAATGATGACATCCGTAA-3'
NM_016068.1	Hs.423968	TTC11	Tetratricopeptide repeat domain 11	5'-GTACGTCCGCGGGTTGCTGCA-3'
NM_153831.2	Hs.395482	PTK2	PTK2 protein tyrosine kinase 2	5'-AAGCAUGUGGCCUGCUAUGGA-3'
NM_003749.2	Hs.442344	IRS2	Insulin receptor substrate 2	5'- GATCCCGCCTCAACAACAACAACTTCAAG AGAGTTGTTGTTGTTGAGGTTTTTTGGAAA- 3'
NM_000691.3	Hs.531682	ALDH3A1	Aldehyde dehydrogenase 3 family, memberA1	5'-AAG AAG AGC UUC GAG ACU UUC-3'
NM_000689.3	Hs.76392	ALDH1A1	Aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	5'-AAC TGG GAG AGT ACG GTT TCC-3'
NM_000604.2	Hs.549034	FGFR1	Fibroblast growth factor receptor 1 (fms-related tyrosine kinase 2, Pfeiffer syndrome)	5'-AAGTCGGACGCAACAGAGAAA-3'

NM_006006.3	Hs.171299	ZBTB16	Zinc finger and BTB domain containing 16	5'-GGCCAACCAGAUGCGGCUGUU-3'
NM_006006.3	Hs.171299	ZBTB16	Zinc finger and BTB domain containing 16	5'-GAUGUUUGACAUCCUCUUCUU-3'
NM_004348.1	Hs.122116	RUNX2	Runt-related transcription factor 2	5'-GGCUGCAAGCAGUAUUUACUU-3'
NM_004348.1	Hs.122116	RUNX2	Runt-related transcription factor 2	5'-GGACAGAGUCAGAUUACAGUU-3'
NM_014382.2	Hs.546361	ATP2C1	ATPase, Ca++ transporting, type 2C, member 1	5'- AGCCACTGTGGAAGAAGTATATT-3'
NM_002083.2	Hs.2704	GPX2	Glutathione peroxidase 2 (gastrointestinal)	5'- CCCUCUGGUUGGUGAUUCAdTdT-3'
NM_002083.2	Hs.2704	GPX2	Glutathione peroxidase 2 (gastrointestinal)	5'- GGAUGAUGGCACCUUCCUAdTdT-3'
NM_000942.4	Hs.434937	PPIB	Peptidylprolyl isomerase B (cyclophilin B)	5'-AATTGGAGATGAAGATGTAGG-3'
NM_003153.3	Hs.524518	STAT6	Signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 induced	5'-CAGUUCCGCCACUUGCCAAdTdT-3'
NM_003153.3	Hs.524518	STAT6	Signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 inducd	5'-AGCCUGGUGGACAUUUAUUdTdT-3'
NM_003153.3	Hs.524518	STAT6	Signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 induced	5'-GAUGUGUGAAACUCUGAACdTdT-3'
NM_003153.3	Hs.524518	STAT6	Signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 induced	5'-CAGAUGGGUAAGGAUGGCAdTdT-3'
NM_002945.2	Hs.461925	RPA1	Replication protein A1, 70kDa	5'-AAGCACUAUCAUUGCGAAUCC-3'
NM_003169.2	Hs.437056	SUPT5H	Suppressor of Ty 5 homolog	5'-AACTGGGCGAGTATTACATGA-3'
NM_003318.3	Hs.169840	TTK	TTK protein kinase	5'- TGAACAAAGTGAGAGACAT -3'
NM_007194.3	Hs.291363	CHEK2	CHK2 checkpoint homolog (S.	5'- AATGTGTGAATGACAACTACT -3'

			pombe)	
NM_002358.2	Hs.533185	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)	5'- AATACGGACTCACCTTGCTTG -3'
NM_001401.3	Hs.126667	EDG2	Endothelial differentiation, lysophosphatidic acid G-protein-coupled receptor, 2	5'-r(CCGCCGCUUCCAUUUUUCCU)d(TT)-3'
NM_001401.3	Hs.126667	EDG2	Endothelial differentiation, lysophosphatidic acid G-protein-coupled receptor, 2	5'-r(AGGAAAAAUGGAAGCGGCGGG)d(TT)-3')
NM_004448.2	Hs.446352	ERBB2	V-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2	5'-CCUGGAACUCACCUACCUGdTdT-3'
NM_004448.2	Hs.446352	ERBB2	V-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2	5'-CUACCUUUCUACGGACGUGdTdT-3'
NM_004448.2	Hs.446352	ERBB2	V-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2	5'-GAUCCGGAAGUACACGAUGdTdT-3'
NM_014812.1	Hs.533635	KAB	KARP-1-binding protein	5'-GAAGGAAUCCUCCAAGUCA-3'
NM_002737.2	Hs.531704	PRKCA	Protein kinase C, alpha	5'-AAGCTCCATGTCACAGTACGA-3'
NM_212535.1	Hs.460355	PRKCB1	Protein kinase C, beta 1	5'-AAGCGCTGCGTCATGAATGTT-3'
NM_138578.1	Hs.516966	BCL2L1	BCL2-like 1	5'-CTG CCT AAG GCG GAT TTG AAT-3'
NM_138578.1	Hs.516966	BCL2L1	BCL2-like 1	5'-GGC AGG CGA CGA GTT TGA ACT-3'
NM_138578.1	Hs.516966	BCL2L1	BCL2-like 1	5'-GTG CGT GGA AAG CGT AGA CAA-3'
NM_004050.2	Hs.410026	BCL2L2	BCL2-like 2	5'-GGC GGA GTT CAC AGC TCT ATA-3'
NM_004050.2	Hs.410026	BCL2L2	BCL2-like 2	5'-GTG GGC ATA AGT GCT GAT CTA-3'
NM_004050.2	Hs.410026	BCL2L2	BCL2-like 2	5'-CTC GGT CCT GCG ATT ATT AAT-3'
NM_003443.1	Hs.433764	ZBTB17	Zinc finger and BTB domain containing 17	5'- AAGGCCGAGATCAGCAAAGTTCAAGAGACT TTGCTGATCTCGGCCTTTTTTTT -3'
NM_003345.3	Hs.302903	UBE2I	Ubiquitin-conjugating enzyme	5'-GGC CAG CCA UCA CAA UCA ATT-3'

		E2I (UBC9 homolog, yeast)	
NM_003345.3	Hs.302903	UBE2I	Ubiquitin-conjugating enzyme E2I (UBC9 homolog, yeast)	5'-GGA ACU UCU AAA UGA ACC ATT-3'
NM_016166.1	Hs.162458	PIAS1	Protein inhibitor of activated STAT, 1	5'-GGU CCA GUU AAG GUU UUG UTT-3'
NM_016166.1	Hs.162458	PIAS1	Protein inhibitor of activated STAT, 1	5'-GGU UAC CUU CCA CCU ACA ATT-3'
NM_004068.2	Hs.518460	AP2M1	Adaptor-related protein complex 2, mu 1 subunit	5'-AAGUGGAUGCCUUUCGGGUCA-3'
NM_004068.2	Hs.518460	AP2M1	Adaptor-related protein complex 2, mu 1 subunit	5'-AAGGAGAACAGUUCUUGCGGC-3'
NM_004068.2	Hs.518460	AP2M1	Adaptor-related protein complex 2, mu 1 subunit	5'-AAGGUCCAGU-CAUUCCAAAUG-3'
NM_001278.2	Hs.198998	CHUK	Conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase	5'-AGGAAGGACCUGUUGACCUUTT-3'
NM_001556.1	Hs.413513	IKBKB	Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta	5'-UGGUGAGCUUAAUGAAUGATT-3'
NM_021975.2	Hs.502875	RELA	V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A	5'-AGAGGACAUUGAGGUGUAUTT-3'
NM_000963.1	Hs.196384	PTGS2	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2	5'-AACTGCTCAACACCGGAATTTTT-3'
NM_005427.1	Hs.192132	TP73	Tumor protein p73	5'-CCAUCCUGUACAACUUCAUGU G-3'
NM_005157.2	Hs.431048	ABL1	V-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1	5'-CAAUAAGGAAGAAGCCCUUTT-3'
NM_005157.2	Hs.431048	ABL1	V-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1	5'-TTAUUCCUUCUUCGGGAAGUC-3'
NM_001168.1	Hs.514527	BIRC5	Baculoviral IAP repeat-containing 5 (survivin)	5'-GGCUGGCUUCAUCCACUGCTT-3'

NM_002940.1	Hs.12013	ABCE1	ATP-binding cassette, sub-family E (OABP), member 1	5'-CGAAGATGTTGACCTGGTC-3'
NM_002940.1	Hs.12013	ABCE1	ATP-binding cassette, sub-family E (OABP), member 1	5'-AGAGTTGTCCTGTAGTTCG-3'
NM_004208.2	Hs.424932	PDCD8	Programmed cell death 8 (apoptosis-inducing factor)	5'-GGAAAUAUGGGAAAGAUCCdTdT
NM_000115.1	Hs.82002	EDNRB	Endothelin receptor type B	5'-GGAGACUUUCAAAUACAUCTTtt-3'
NM_001712.2	Hs.512682	CEACAM1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1	5'-AACCTTCTGGAACCCGCCCAC-3'
NM_001712.2	Hs.512682	CEACAM1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1	5'-AATGTTGCAGAGGGGAAGGAG-3'
NM_033284.1	Hs.436900	TBL1Y	Transducin (beta)-like 1Y-linked	5'-AAGAGAATGGAGCACATGAAA-3'
NM_033284.1	Hs.436900	TBL1Y	Transducin (beta)-like 1Y-linked	5'-AAGATGAGCATAACCAGTGAC-3'
NM_024665.3	Hs.438970	TBL1XR1	Transducin (beta)-like 1X-linked receptor 1	5'-AAGGCCCTATATTTGCATTAA-3'
NM_173174.1	Hs.491322	PTK2B	PTK2B protein tyrosine kinase 2 beta	5'-GTTGGCTGAGTGCTATGGGCTGA-3'
NM_006311.2	Hs.462323	NCOR1	Nuclear receptor co-repressor 1	5'-GGGCTTATGGAGGACCCTATGA-3'
NM_002211.2	Hs.429052	ITGB1	Integrin, beta 1	5'-GGAACAGCAGAGAAGCTCATTCAAGAG ATGAGCTTCTCTGCTGTTCCTTTTT-3'
NM_139176.2	Hs.351118	NALP7	NACHT, leucine rich repeat and PYD containing 7	5'-CACCGAAGCAGCACGACTTCTCTTCTTCAAG AGAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'
NM_004422.2	Hs.118640	DVL2	Dishevelled, dsh homolog 2 (Drosophila)	5'-AGGUUCAGCAGCUCCCACGGAdTdT-3'
NM_001228.2	Hs.369736	CASP8	Caspase 8, apoptosis-related cysteine protease	5'-gatccccCCTCGGGGATACTGTCTGAttcaagaga TCAGACAGTATCCCCGAGGttttttggaaa-3'

NM_001769.2	Hs.114286	CD9	CD9 antigen (p24)	5'-GAGCATCTTCGAGCAAGAA-3'
NM_004357.3	Hs.512857	CD151	CD151 antigen	5'-CATGTGGCACCGTTTGCCT-3'
NM_003188.2	Hs.485968	MAP3K7	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7	5'-UGGCUUAUCUUACACUGGA-3'
NM_006116.2	Hs.507681	MAP3K7IP1	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 1	5'-GGCUCAAGUUCAGGAGUGAGAACAA-3'
NM_015093.2	Hs.269775	MAP3K7IP2	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 2	5'-GGAACGACUUCAAAGAGAACUUGAG-3'
NM_001315.1	Hs.485233	MAPK14	Mitogen-activated protein kinase 14	5'-GCAUUACAACCAGACAGUUGAUAUU-3'
NM_006502.1	Hs.439153	POLH	Polymerase (DNA directed), eta	5'-GUG GAG CAG CGG CAA AAU CTT-3'
NM_006502.1	Hs.439153	POLH	Polymerase (DNA directed), eta	5'-UCC UCA UUU GAG GAA UAA ATT-3'
NM_006502.1	Hs.439153	POLH	Polymerase (DNA directed), eta	5'-GGA AUA AAC CUU GUG CAG UTT-3'
NM_006502.1	Hs.439153	POLH	Polymerase (DNA directed), eta	5'-UAA ACC UUG UGC AGU UGU ATT-3'
NM_006502.1	Hs.439153	POLH	Polymerase (DNA directed), eta	5'-CCU UGU GCA GUU GUA CAG UTT-3'
NM_015321.1	Hs.371096	MECT1	Mucoepidermoid carcinoma translocated 1	5'- CCGGCAACCUCGCGGCCAAUU -3'
NM_181715.1	Hs.406392	TORC2	Transducer of regulated cAMP response element-binding protein (CREB) 2	5'- CGACUACCAUCUGCACUUAUU -3'
NM_001079.3	Hs.234569	ZAP70	Zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	5'-AACCGGCTCTCCATTGGCATT-3'
NM_004834.3	Hs.431550	MAP4K4	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4	5'-GTGGTTGGAAATGGCACCTTT-3'
NM_006191.1	Hs.524498	PA2G4	Proliferation-associated 2G4,	5'-AAGCGACCAGGAUUAUAUUCU-3'

			38kDa	
NM_006191.1	Hs.524498	PA2G4	Proliferation-associated 2G4, 38kDa	5'-AAGUGAGGUGGAAAGGCGUUU-3'
NM_005940.3	Hs.143751	MMP11	Matrix metalloproteinase 11 (stromelysin 3)	5'-TCCCATGTCCACTTCGACTATGATGTCA AGAGCATCATAGTCGAAGTGGACATTT-3'
NM_005940.3	Hs.143751	MMP11	Matrix metalloproteinase 11 (stromelysin 3)	5'-TCCCAGATCTACTTCTTCCGAGGTCAAG AGCCTCGGAAGAAGTAGATCTTT-3'
NM_005940.3	Hs.143751	MMP11	Matrix metalloproteinase 11 (stromelysin 3)	5'-TCCCAGGATGCTGATGGCTATGCCTTCA AGAGAGGCATAGCCATCAGCATCCTTT-3'
NM_003684.3	Hs.371594	MKNK1	MAP kinase interacting serine/threonine kinase 1	5'-AATGCCCATCTCTATAGGTTT-3'
NM_003668.2	Hs.413901	MAPKAPK5	Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 5	5'- GGAUAUGCGAAGAAAGAUCTT -3'
NM_004604.3	Hs.83734	STX4A	Syntaxin 4A (placental)	5'-AAGGAGGAAGCTGATGAGAAC-3'
NM_004177.3	Hs.530733	STX3A	Syntaxin 3A	5'-AACGTCCGGAACAAACTGAAG-3'
NM_001009567.1	Hs.461247	MRC1L1	Mannose receptor, C type 1-like 1	5'-AAGTGGTACGCAGATTGCACG-3'
NM_002576.3	Hs.435714	PAK1	P21/Cdc42/Rac1-activated kinase 1	5'-AAGGAGAAGAAAAAGAAGGAC-3'
NM_001664.2	Hs.247077	RHOA	Ras homolog gene family, member A	5'-GCAGGTAGAGTTGGCTTTG-3'
NM_175744.3	Hs.502659	RHOC	Ras homolog gene family, member C	5'-GACTATGATCGACTGCGGC-3'
NM_080491.1	Hs.429434	GAB2	GRB2-associated binding protein 2	5'-GTGAGAACGATGAGAAATA-3'
NM_080491.1	Hs.429434	GAB2	GRB2-associated binding protein 2	5'-GTTGGTGCCTAATCACTTA-3'
NM_005225.1	Hs.96055	E2F1	E2F transcription factor 1	5'-GACGTGTCAGGACCTTCGT-3'

NM_005225.1	Hs.96055	E2F1	E2F transcription factor 1	5'-CTTAACTGGTGTACATTAA-3'
NM_006392.2	Hs.376064	NOL5A	Nucleolar protein 5A (56kDa with KKE/D repeat)	5'-CAAUAUGAUCAUCCAGUCCAUUA-3'
NM_015934	Hs.471104	NOP5/NOP58	Nucleolar protein NOP5/NOP58	5'-CAAGCAUGCAGCUUCUACCGUUC-3'
NM_001436	Hs.299002	FBL	Fibrillarin	5'-CAGUCGAGUUCUCCCACCGCUCU-3'
NM_006666	Hs.515846	RUVBL2	RuvB-like 2 (E. coli)	5'-GAGACCAUCUACGACCUGGGCAC-3'
NM_006666	Hs.515846	RUVBL2	RuvB-like 2 (E. coli)	5'-GAGAGUGACAUGGCGCCUGUCCU-3'
NM_003707.1	Hs.272822	RUVBL1	RuvB-like 1 (E. coli)	5'-AAGGAACCAAACAGUUGAAACUG-3'
NM_003707.1	Hs.272822	RUVBL1	RuvB-like 1 (E. coli)	5'-GAGUCUUCUAUCGCUCCCAUCGU-3'
NM_004741	Hs.523238	NOLC1	Nucleolar and coiled-body phosphoprotein 1	5'-AAAUUGAGGUGGAUUCACGAGUU-3'
NM_032177	Hs.546453	PHAX	RNA U, small nuclear RNA export adaptor (phosphorylation regulated)	5'-UAGUAUCAGCGAGGAACAAAUUA-3'
NM_032177	Hs.546453	PHAX	RNA U, small nuclear RNA export adaptor (phosphorylation regulated)	5'-AAGAGUAUAUAGCACAGGAUUUA-3'
NM_024831	Hs.335068	NCOA6IP	Nuclear receptor coactivator 6 interacting protein	5'-AAGAUUGCCCUUGCUCGCAAUAA-3'
NM_024831	Hs.335068	NCOA6IP	Nuclear receptor coactivator 6 interacting protein	5'-UAUCACCGUAUGAAAUGGAAACU-3'
NM_022874.1	Hs.202179	SMN2	Survival of motor neuron 1, telomeric	5'-AAGUGGAAUGGGUAACUCUUCUU-3'
NM_012321.2	Hs.515255	LSM4	LSM4 homolog, U6 small nuclear RNA associated	5'-AACGGCCGUCCCAAAGCUGGCUG-3'
NM_016200.2	Hs.446179	LSM8	LSM8 homolog, U6 small nuclear RNA associated	5'-AAGAAACAGAUUCUGCGCUUUGAU-3'
NM_003142	Hs.546301	SSB	Sjogren syndrome antigen B (autoantigen La)	5'-GAAUUAGGUCCACUUCAAUGUCC-3'
NM_003142	Hs.546301	SSB	Sjogren syndrome antigen B	5'-AAGAUUCUUCCAUUAAAUUGCCU-3'

			(autoantigen La)	
NM_001228	Hs.369736	CASP8	Caspase 8, apoptosis-related cysteine protease	5'-AACTACCAGAAAGGTATACCT-3'
NM_003842.3	Hs.521456	TNFRSF10B	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10b	5'-AAGACCCTTGTGCTCGTTGTC-3'
NM_017672.2	Hs.512894	TRPM7	Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7	5'-AAGCAGAGTGACCTGGTAGAT-3'
NM_007294.1	Hs.194143	BRCA1	Breast cancer 1, early onset	5'-UCACAGUGUCCUUUAUGUAdTdT-3'
NM_033238.1	Hs.526464	PML	Promyelocytic leukemia	5'-AUGGCUUCGACGAGUUCAATT-3'
NM_000546.2	Hs.408312	TP53	Tumor protein p53 (Li-Fraumeni syndrome)	5'-GCAUGAACCGGAGGCCCAUTT-3'
NM_002198.1	Hs.436061	IRF1	Interferon regulatory factor 1	5'-AGACCAGAGCAGGAACAAGTT-3'
NM_024790.3	Hs.370147	FLJ22490	Hypothetical protein FLJ22490	5'-GAAGATTTGCGCAGTGGAC-3'
NM_000546.2	Hs.408312	TP53	Tumor protein p53 (Li-Fraumeni syndrome)	5'-UGGUUCACUGAAGACCCAGUU-3'
NM_002880.2	Hs.159130	RAF1	V-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	5'-AUUCCUGCUCAAUGGAUUUdTdT-3'
NM_198400.1	Hs.1565	NEDD4	Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4	5'-TAGAGCCTGGCTGGGTTGTTTTG-3'
NM_015277.2	Hs.185677	NEDD4L	Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-like	5'-AACCACAACACAAAGTCACAG-3'
NM_016931.2	Hs.371036	NOX4	NADPH oxidase 4	5'-AAACCGGCAGGAGUUUACCCAG-3'
NM_005975.2	Hs.51133	PTK6	PTK6 protein tyrosine kinase 6	5'-AAGGUGGCCAUUAAGGUGAUU-3'
NM_005531.1	Hs.380250	IFI16	Interferon, gamma-inducible protein 16	5'-UCAGAAGACCACAAUCUAC-3'
NM_000633.1	Hs.150749	BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2	5'-GUGAAGUCAACACUGCCUGC-dTdT-3'
NM_182981.1	Hs.528383	OKL38	Pregnancy-induced growth inhibitor	5'-CACCCUACACGAAGCCAGATT-3'

NM_002961.2	Hs.81256	S100A4	S100 calcium binding protein A4	5'-GGA CAG AUG AAG CUG CUU UTT-3'
NM_014585.3	Hs.529285	SLC40A1	Solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	5'-GGTGGACAAGAATGCTAGAC-3'
NM_014585.3	Hs.529285	SLC40A1	Solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	5'-GAAGGATTGACCAGTTAACC-3'
NM_014585.3	Hs.529285	SLC40A1	Solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	5'-GCTTGAACATGAGCAAGAGC-3'
NM_021127.1	Hs.96	PMAIP1	Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1	5'-AACTTCCGGCAGAAACTTCTG-3'
NM_002467.2	Hs.202453	MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	5'-GCCACAGCAUACAUCCUGUdTdT-3'
NM_002187.2	Hs.674	IL12B	Interleukin 12B	5'-CGCACGCUAAUGCUGGCAUdTdT-3'
NM_019887.3	Hs.169611	DIABLO	Diablo homolog (Drosophila)	5'-AAGCGGUGUUUCUCAGAATTGtt-3'
NM_017563	Hs.150725	IL17RD	Interleukin 17 receptor D	5'-GUCGG AGGGA AGACA GUGCT T-3'
NM_017563	Hs.150725	IL17RD	Interleukin 17 receptor D	5'-GCAUG UGAUU GCUGA CGCCT T-3'
NM_003142.2	Hs.546301	SSB	Sjogren syndrome antigen B (autoantigen La)	5Õ-AAGGCTTCCC AACTGATGC AA-3Õ
NM_003142.2	Hs.546301	SSB	Sjogren syndrome antigen B (autoantigen La)	5Õ-AAGCCAAG GAAGCAT TGGGTA-3Õ
NM_003142.2	Hs.546301	SSB	Sjogren syndrome antigen B (autoantigen La)	5Õ-AAGTACTAGAA GGAGAGGTGG-3Õ
NM_006101	Hs.414407	KNTC2	Kinctochorc associatcd 2	5'-GTTCAAAAGCTGGATGATCTT-3'
NM_145697	Hs.234545	CDCA1	Cell division cycle associated 1	5'- AAGATACGGTCCAGAAGCTTA -3'
NM_003550	Hs.209128	MAD1L1	MAD1 mitotic arrest deficient-like 1	5'- CCAGCGGCTCAAGGAGGTTTT -3'
NM_002358	Hs.533185	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1	5'- GAGTCGGGACCACAGTTTATT -3'

NM_004336	Hs.469649	BUB1	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog	5'- TAGGCTAATTGTACTGCTCTT -3'
NM_001211.4	Hs.36708	BUB1B	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog beta	5'- GGAGATCCTCTACAAAGGGTT -3'
NM_016343.3	Hs.497741	CENPF	Centromere protein F, 350/400ka (mitosin)	5'- AAGAGATGCTAATAGCAGTTT -3'
NM_001813	Hs.75573	CENPE	Centromere protein E, 312kDa	5'- ACTCTTACTGCTCTCCAGTTT -3'
NM_004217	Hs.442658	AURKB	Aurora kinase B	5'- CGAGACCTATCGCCGCATCGT -3'
NM_005030	Hs.329989	PLK1	Polo-like kinase 1	5'- GGGCGGCTTTGCCAAGTGCTT -3'
NM_004104	Hs.83190	FASN	Fatty acid synthase	5'-CCCUGAGAUCCCAGCGCUGdTdT-3'
NM_021975.2	Hs.502875	RELA	V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A	5'-GATCAATGGCTACACAGGA-3'
NM_033256	Hs.348037	PPP1R14A	Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 14A	5'-ACCUGUCGAGGACUUCAUCdTdT-3'
NM_177966.3	Hs.151293	2'-PDE	2'-phosphodiesterase	5'-GUACAAGGUGGAGCGCAACdTdT-3'
NM_015355	Hs.462732	SUZ12	Suppressor of zeste 12 homolog	5'-CCCGGAAATTTCCCGTCCC-3'
NM_015355	Hs.462732	SUZ12	Suppressor of zeste 12 homolog	5'-GAGATGACCTGCATTGCCC-3'
NM_016179.1	Hs.262960	TRPC4	Transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 4	5'-ACUCUUGGUUCAGAAAGGATT-3'
NM_000249	Hs.195364	MLH1	MutL homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2	5'-GGTTCACTACTAGTAAACT-3'
NM_000534	Hs.111749	PMS1	PMS1 postmeiotic segregation increased 1	5'-GGAATCTACTCGTTTGTAT-3'
NM_002198	Hs.436061	IRF1	Interferon regulatory factor 1	5'-CCAAGAACCAGAGAAAAGATT-3'
NM_002199.2	Hs.374097	IRF2	Interferon regulatory factor 2	5'-CUCUUUAGAAACUGGGCAATT-3'
NM_000546.2	Hs.408312	TP53	Tumor protein p53 (Li-Fraumeni syndrome)	5'-AAGACTCCAGTGGTAATCTAC-3'

NM_000051	Hs.435561	ATM	Ataxia telangiectasia mutated (includes complementation groups A, C and D)	5'-TAGAGCTACAGAACGAAAG-3'
NM_000051	Hs.435561	ATM	Ataxia telangiectasia mutated (includes complementation groups A, C and D)	5'-GAATGTGAACACCACCAAA-3'
NM_000051	Hs.435561	ATM	Ataxia telangiectasia mutated (includes complementation groups A, C and D)	5'-CTACACAAATATTGAGGAT-3'
NM_000051	Hs.435561	ATM	Ataxia telangiectasia mutated (includes complementation groups A, C and D)	5'-CTGTACTTCCATACTTGAT-3'
NM_001184	Hs.271791	ATR	Ataxia telangiectasia and Rad3 related	5'-AAGCCAAGACAAATTCTGTGT-3'
NM_001184	Hs.271791	ATR	Ataxia telangiectasia and Rad3 related	5'-AACCTCCGTGATGTTGCTTGA-3'
NM_001798.2	Hs.19192	CDK2	Cyclin-dependent kinase 2	5'-CAAAGCCAGAAACAAGTTG-3'
NM_001798.2	Hs.19192	CDK2	Cyclin-dependent kinase 2	5'-AAATAAACTCTACCTGGTT-3'
NM_001798.2	Hs.19192	CDK2	Cyclin-dependent kinase 2	5'-AAACCTCAGAATCTGCTTA-3'
NM_001798.2	Hs.19192	CDK2	Cyclin-dependent kinase 2	5'-GTTACTTCTATGCCTGATT-3'
NM_207003	Hs.469658	BCL2L11	BCL2-like 11 (apoptosis facilitator)	5'-(GACCGAGAAGGUAGACAAUUG)d(TT)-3'
NM_000166	Hs.333303	GJB1	Gap junction protein, beta 1, 32kDa	5'-AAGAGGCACAAGGTCCACATCdTdT-3'
NM_000359	Hs.508950	TGM1	Transglutaminase 1	5'-AUGCAGCUGGAGAUGGCACdTdT-3'
NM_024596	Hs.550532	MCPH1	Microcephaly, primary autosomal recessive 1	5'-AGGAAGUUGGAAGGAUCCAdTdT-3'
NM_024596	Hs.550532	MCPH1	Microcephaly, primary autosomal recessive 1	5'-GAACACUUAUCAAGCCUAAUU-3'
NM_024596	Hs.550532	MCPH1	Microcephaly, primary autosomal recessive 1	5'-GGAGAGAACAAGCAUAUUUUU-3'

NM_024596	Hs.550532	MCPH1	Microcephaly, primary autosomal recessive 1	5'-UGAUGUACCUAUUCUCUUAUU-3'
NM_024596	Hs.550532	MCPH1	Microcephaly, primary autosomal recessive 1	5'-GAUAAGAGAUUUCAGAAGAUU-3'
NM_024596	Hs.550532	MCPH1	Microcephaly, primary autosomal recessive 1	5'-GUCACCACAGCGCAATGGAdTdT-3'
NM_000245	Hs.132966	MET	Met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor)	5'-ACUCUAGAUGCUCAGACUUTT-3'
NM_205860.1	Hs.33446	NR5A2	Nuclear receptor subfamily 5, group A, member 2	5'-AGGATCCATCTTCCTGGTTAC-3'
NM_182763.1	Hs.532826	MCL1	Myeloid cell leukemia sequence 1 (BCL2-related)	5'-UAACACCAGTACGGACGGGdTdT-3'
NM_008765	Hs.444870	ORC2L	Origin recognition complex, subunit 2-like	5'-UGCUCCUCUCAUGUGGGAU-3'
NM_006190	Hs.444870	ORC2L	Origin recognition complex, subunit 2-like	5'-UCAUUGGUCAGUUGUCAUC-3'
NM_181837	Hs.410228	ORC3L	Origin recognition complex, subunit 3-like	5'-GAGACUUGGGCGGUCAAAU-3'
NM_002592.2	Hs.147433	PCNA	Proliferating cell nuclear antigen	5'-CGGUGACACUCAGUAUGUC-3'
NM_016526	Hs.414418	BET1L	Blocked early in transport 1 homolog (S. cerevisiae) like	5'-AAGCAUGACCAGCCUGCUUAC-3'
NM_001569	Hs.522819	IRAK1	Interleukin-1 receptor-associated kinase 1	5'-GGUUGUCCUUGAGUAAUAAtt-3'
NM_080649	Hs.73722	APEX1	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1	5'-GUCUGGUACGACUGGAGUACC-3'
NM_002658	Hs.77274	PLAU	Plasminogen activator, urokinase	5'-AACATTCACTGGTGCAACTGC-3'
NM_001654	Hs.446641	ARAF	V-raf murine sarcoma 3611 viral oncogene homolog	5'-AACAACATCTTCCTACATGAG-3'

NM_004333	Hs.490366	BRAF	V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1	5'-AAAGAATTGGATCTGGATCAT-3'
NM_002880	Hs.159130	RAF1	V-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	5'-AAUAGUUCAGCAGUUUGGCUA-3'
NM_014314	Hs.190622	DDX58	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 58	5'-GAATTTAAAACCAGAATTATC-3'
NM_000927.3	Hs.489033	ABCB1	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1	5'-AAGCGAAGCAGTGGTTCAGGT-3'
NM_001753.3	Hs.74034	CAV1	Caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	5'-AGACGAGCUGAGCGAGAAGCA-3'
NM_001753.3	Hs.74034	CAV1	Caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	5'-CAUCUACAAGCCCAACAACTT-3'
NM_000389.2	Hs.370771	CDKN1A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	5'-CUUCGACUUUGUCACCGAG-3'
NM_007294.1	Hs.194143	BRCA1	Breast cancer 1, early onset	5'-AACCTGTCTCCACAAAGTGTG-3'
NM_002105	Hs.477879	H2AFX	H2A histone family, member X	5'-CAA CAA GAA GAC GCG AAU CdTdT-3'
NM_020382	Hs.443735	SET8	PR/SET domain containing protein 8	5'-AAUCGCCUAGGAAGACUGAUC-3'
NM_012331	Hs.490981	MSRA	Methionine sulfoxide reductase A	5'-CCCCUGUAGCGGCCAAACAUU-3'
NM_012331	Hs.490981	MSRA	Methionine sulfoxide reductase A	5'-CAAAGUACAAAGGAAUUUAUU-3'
NM_012331	Hs.490981	MSRA	Methionine sulfoxide reductase A	5'-CGGGAGGGACAGACUUUCUUU-3'
NM_014554	Hs.371957	SENP1	SUMO1/sentrin specific protease 1	5'-GTGAACCACAACTCCGTATTC-3'
NM_002945	Hs.461925	RPA1	Replication protein A1, 70kDa	5'-AACUGGUUGACGAAAGUGGUG-3'
NM_001184	Hs.271791	ATR	Ataxia telangiectasia and Rad3 related	5'-AACCCGCGUUGGCGUGGUUGA-3'
NM_001430.3	Hs.468410	EPAS1	Endothelial PAS domain	5'-ACCAAUCCAGCACCCAUCCdTdT-3'

			protein 1	
NM_001530.2	Hs.509554	HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit (basic helix-loop-helix transcription factor)	5'-CUGAUGACCAGCAACUUGAdTdT-3'
NM_021972	Hs.68061	SPHK1	Sphingosine kinase 1	5'-GAGCUGCAAGGCCUUGCCCdTdT-3
NM_002502	Hs.73090	NFKB2	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2 (p49/p100)	5'-CTCCTCCATTGTGGAACCCAAGGAGC-3'
NM_016829	Hs.380271	OGG1	8-oxoguanine DNA glycosylase	5'-GUAUGGACACUGACUCAGAUU-3'
NM_016829	Hs.380271	OGG1	8-oxoguanine DNA glycosylase	5'-GUACUUCCAGCUAGAUGUUUU-3'
NM_006142	Hs.523718	SFN	Stratifin	5'-GAGCGAAACCUGCUCUCAG-3'
NM_006142	Hs.523718	SFN	Stratifin	5'-GGGUGACUACUACCGCUAC-3'
NM_006142	Hs.523718	SFN	Stratifin	5'-AGACAGCACCCUCAUCAUG-3'
NM_00615	Hs.477693	NCK1	NCK adaptor protein 1	5'-GUCCUGGUGGCGAGUUCGATT-3'
NM_00615	Hs.477693	NCK1	NCK adaptor protein 1	5'-CGUCUCUAUGACCUCAACATT-3'
NM_002422	Hs.375129	MMP3	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	5'-AUGAAGAGUCUUCCAAUCCUU-3'
NM_000021.2	Hs.3260	PSEN1	Presenilin 1 (Alzheimer disease 3)	5'-AAGGTCCACTTCGTATGCTGG-3'
NM_015331	Hs.517249	NCSTN	Nicastrin	5'-AAGGGCAAGTTTCCCGTGCAG-3'
NM_016022	Hs.108408	APH-1A	Anterior pharynx defective 1 homolog A (C. elegans)	5'-AAGAAGGCAGATGAGGGGTTA-3'
NM_172341	Hs.534465	PEN2	Presenilin enhancer 2 homolog (C. elegans)	5'-AAUCAAAGGCUAUGUCUGGCG-3'
NM_020673	Hs.529044	RAB22A	RAB22A, member RAS oncogene family	5'-AAGGACUACGCCGACUCUAUU-3'
NM_001002814	Hs.191179	RAB11FIP1	RAB11 family interacting protcin 1 (class I)	5'-CGCCTCTTTCCCAGTCCATGT-3'
NM_015470	Hs.24557	RAB11FIP5	RAB11 family interacting	5'-GAGCTGAGTGCTCAGGCTAAA-3'

			protein 5 (class I)	
NM_030791	Hs.24678	SGPP1	Sphingosine-1-phosphate phosphatase 1	5'-AGUGGCCCGUUUCCAGCGGdTT-3'
NM_005406	Hs.306307	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1	5'-AAGGTGATTGGTAGAGGTGCA-3'
NM_198437	Hs.250822	STK6	Serine/threonine kinase 6	5'-AAGCACAAAAGCTTGTCTCCA-3'
NM_006272	Hs.422181	S100B	S100 calcium binding protein, beta (neural)	5'-GGAAUUCAUGGCCUUUGUU-3'
NM_004219	Hs.350966	PTTG1	Pituitary tumor-transforming 1	5'-GAU CUC AAG UUU CAA CAC Ctt-3'
NM_004219	Hs.350966	PTTG1	Pituitary tumor-transforming 1	5'-GUC UGU AA A GAC CAA GG GAtt-3'
NM_001478.2	Hs.159481	GALGT	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:(N-acetylneuraminyl)-galactosylglucosylceramide N-acetylgalactosaminyltransferase	5'-GGAGCAAGUAGUGGGGCUGdTdT-3'
NM_000657	Hs.150749	BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2	5'-GUACAUCCAUUAUAAGCUGTT-3'
NM_032984	Hs.368982	CASP2	Caspase 2, apoptosis-related cysteine protease	5'-AACTTCCAGCTGGCATATAGGdTdT-3'
NM_001228	Hs.369736	CASP8	Caspase 8, apoptosis-related cysteine protease	5'-AAGGGUCAUGCUCUAUCAGAUdTdT-3'
NM_197967	Hs.474150	BID	BH3 interacting domain death agonist	5'-AAGAAGACAUCAUCCGGAAUAdTdT-3'
NM_001167	Hs.356076	BIRC4	Baculoviral IAP repeat-containing 4	5'-AAGGAGAUACCGUGCGGUGCUdTdT-3'
NM_002483	Hs.466814	CEACAM6	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6	5'-CCGGACAGTTCCATGTATA-3'
NM_001008490	Hs.285313	KLF6	Kruppel-like factor 6	5'-GGAGAAAAGCCUUACAGAUTT-3'
NM_024309	Hs.368551	TNIP2	TNFAIP3 interacting protein 2	5'-GUAUUUGGCCGCCGACGCAd(TT)-3'
NM_001621	Hs.171189	AHR	Aryl hydrocarbon receptor	5'-AAGACTGGAGAAAGTGGCATG-3'

NM_001005845	Hs.2442	ADAM9	A disintegrin and metalloproteinase domain 9 (meltrin gamma)	5'-AAUCACUGUGGAGACAUUUGCdTdT-3'
NM_001110	Hs.172028	ADAM10	A disintegrin and metalloproteinase domain 10	5'-AAUGAAGAGGGACACUUCCCUdTdT-3'
NM_021641	Hs.386283	ADAM12	A disintegrin and metalloproteinase domain 12	5'-AACCUCGCUGCAAAGAAUGUGdTdT-3'
NM_207196	Hs.312098	ADAM15	A disintegrin and metalloproteinase domain 15 (metargidin)	5'-AACUCCAUCUGUUCUCCUGACdTdT-3'
NM_021832	Hs.404914	ADAM17	A disintegrin and metalloproteinase domain 17	5'-AAAGUUUGCUUGGCACACCUUdTdT-3'
NM_000927.3	Hs.489033	ABCB1	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1	5'-AAG GCC TAA TGC CGA ACA CA-3'
NM_000927.3	Hs.489033	ABCB1	ATP-binding casscttc, sub-family B (MDR/TAP), member 1	5'-AAC TTT GGC TGC CAT CAT CCA-3'
NM_000572	Hs.193717	IL10	Interleukin 10	5'-UAAGCUCCAAGAGAAAGGCdTdT-3'
NM_021975	Hs.502875	RELA	V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A	5'-GCCCUAUCCCUUUACGUCA-3'
NM_001331	Hs.166011	CTNND1	Catenin (cadherin-associated protein), delta 1	5'-GTGGACCATGCACTGCATGCCTAT AGTGAGTCGTATTAC-3'
NM_001211	Hs.36708	BUB1B	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog beta	5'-AGATCCTGGCTAACTGTTC-3'
NM_002358	Hs.533185	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)	5'-TACGGACTCACCTTGCTTG-3'
NM_001530.2	Hs.509554	HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit	5'-CUGGACACAGUGUGUUUGAdTdT-3'
NM_001530.2	Hs.509554	HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit	5'-CUGAUGACCAGCAACUUGAdTdT-3'

NM_001430	Hs.468410	EPAS1	Endothelial PAS domain protein 1	5'-GCUCUUCGCCAUGGACACAdTdT-3'
NM_001430	Hs.468410	EPAS1	Endothelial PAS domain protein 1	5'-GCGACAGCUGGAGUAUGAAdTdT-3'
NM_001379	Hs.202672	DNMT1	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 1	5'-CCAUGAGCACCGUUCUCCTT-3'
NM_031310	Hs.107125	PLVAP	Plasmalemma vesicle associated protein	5'-CUUGACCAAGGAGCUCAACTT-3'
NM_031310	Hs.107125	PLVAP	Plasmalemma vesicle associated protein	5'-GGAGCUCAACUUCACCACCTT-3'
NM_016734	Hs.126365	PAX5	Paired box gene 5 (B-cell lineage specific activator)	5'-CGGCCACUCGCUUCCGGGCTT-3'
NM_016734	Hs.126365	PAX5	Paired box gene 5 (B-cell lineage specific activator)	5'-GCUCCGUCGACUGCGCGCC-3'
NM_006257	Hs.498570	PRKCQ	Protein kinase C, theta	5'-AAACCACCGTGGAGCTCTACT-3'
NM_006257	Hs.498570	PRKCQ	Protein kinase C, theta	5'-AAGAGCCCGACCTTCTGTGAA-3'
NM_032430	Hs.182081	BRSK1	BR serine/threonine kinase 1	5'-GUU CUU CCG CCA GAU UGU GdTdT-3'
NM_015045	Hs.203099	KIAA0261	KIAA0261	5'-CGGACUACCCUUAGCACAAUU-3'
NM_015045	Hs.203099	KIAA0261	KIAA0261	5'-GAAUAGUCACCAUAUUCACUU-3'
NM_005430	Hs.248164	WNT1	Wingless-type MMTV integration site family, member 1	5'-GGTTCCATCGAATCCTGCA-3'
NM_004421.2	Hs.74375	DVL1	Dishevelled, dsh homolog 1 (Drosophila)	5'-AACAAGATCACCTTCTCCGAG-3'
NM_004422	Hs.118640	DVL2	Dishevelled, dsh homolog 2 (Drosophila)	5'-AACTTTGAGAACATGAGCAAC-3'
NM_139049	Hs.522924	MAPK8	Mitogen-activated protein kinase 8	5'-CGTGGATTTATGGTCTGTG-3'
NM_003376	Hs.73793	VEGF	Vascular endothelial growth factor	5'-UGGAUGUCUAUCAGCGCAGdTdT-3'
NM_003376	Hs.73793	VEGF	Vascular endothelial growth	5'-GCUACUGCCAUCCAAUCGAdTdT-3'

			factor	
NM_003376	Hs.73793	VEGF	Vascular endothelial growth factor	5'-GGAGUACCCUGAUGAGAUCdTdT-3'
NM_003376	Hs.73793	VEGF	Vascular endothelial growth factor	5'-CUGAGGAGUCCAACAUCACdTdT-3'
NM_003376	Hs.73793	VEGF	Vascular endothelial growth factor	5'-CCAAGGCCAGCACAUAGGAdTdT-3'
NM_005123	Hs.282735	NR1H4	Nuclear receptor subfamily 1, group H, member 4	5'-GTCGTGACTTGCGACAAG-3'
NM_004999	Hs.149387	MYO6	Myosin VI	5'-GCUGGCAGUUCAUAGGAAUdTdT-3'
NM_004999	Hs.149387	MYO6	Myosin VI	5'-CGUGCUCCAAAGUCUGUUAdTdT-3'
NM_014865	Hs.5719	CNAP1	Chromosome condensation-related SMC-associated protein 1	5'-UCAGUAUGUUGUGCAAGAGTT-3'
NM_014865	Hs.5719	CNAP1	Chromosome condensation-related SMC-associated protein 1	5'-GAAGAUACUCUGGAAUUCCTT-3'
NM_015261	Hs.438550	KIAA0056	KIAA0056 protein	5'-CUGGAUUUCACAGAGACUGTT-3'
NM_015261	Hs.438550	KIAA0056	KIAA0056 protein	5'-GCAGAGAUCAUAGAGACUGTT-3'
NM_015341	Hs.308045	BRRN1	Barren homolog (Drosophila)	5'-GACUUUCCUCAGAAUGACGTT-3'
NM_015341	Hs.308045	BRRN1	Barren homolog (Drosophila)	5'-CAUUACUCCCACCUGUAUCATT-3'
NM_014551	Hs.180903	384D8-2	Hypothetical protein 384D8_6	5'-GGAUUUCAGGAUGAACACGTT-3'
NM_014551	Hs.180903	384D8-2	Hypothetical protein 384D8_6	5'-GCUGCAGGACUUCCACCAGTT-3'
NM_006031	Hs.474069	PCNT2	Pericentrin 2 (kendrin)	5'-AAUUGGAACAGCUGCAGCAGA-3'
NM_006031	Hs.474069	PCNT2	Pericentrin 2 (kendrin)	5'-AAGCUCUGAUUUAUCAAAAGA-3'
NM_012179.2	Hs.5912	FBXO7	F-box protein 7	5'-CCCACACCAUUCCAUUCUA-3'
NM_002467	Hs.202453	MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogcnc homolog (avian)	5'-AAGAUGAGGAAGAAAUCGAUGUU-3'
NM_002467	Hs.202453	MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	5'-AAAAGGUCAGAGUCUGGAUCACC-3'
NM_002467	Hs.202453	MYC	V-myc myelocytomatosis viral	5'-CACGUCUCCCACACAUCAGCACAA-3'

		oncogene homolog (avian)		
NM_002467	Hs.202453	MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	5'-AAAUGAGAUAAAGGUGGCUAAUU-3'
NM_002392	Hs.369849	MDM2	Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein	5'-UGGUUGCAUUGUCCAUGGC-3'
NM_003121	Hs.437905	SPIB	Spi-B transcription factor (Spi-1/PU.1 related)	5'-GATCGCTGTGTGTCTGTAA-3'
NM_003120.1	Hs.502511	SPI1	Spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene spi1	5'-GTCCGTATGTAAATCAGAT-3'
NM_199002	Hs.278186	ARHGEF1	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 1	5'-CATACCATCTCTACCGACG-3'
NM_014784	Hs.516954	ARHGEF11	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 11	5'-ACTGAAGTCTCGGCCAGCT-3'
NM_015313	Hs.24598	ARHGEF12	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 12	5'-GAAACTCGTCGCATCTTCC-3'
NM_173842	Hs.81134	IL1RN	Interleukin 1 receptor antagonist	5'-AUCUGCAGAGGCCUCCGCAtt-3'
NM_032726	Hs.549218	PLCD4	Phospholipase C, delta 4	5'-GAGCAGAACCTTCAGAATAdTdT-3'
NM_032726	Hs.549218	PLCD4	Phospholipase C, delta 4	5'-GAGCAGGGCTTCACCATTGdTdT-3'
NM_032726	Hs.549218	PLCD4	Phospholipase C, delta 4	5'-GGAAGGAGAAGAATTCGTAdTdT-3'
NM_032726	Hs.549218	PLCD4	Phospholipase C, delta 4	5'-GATATCATCTTTCTCTGAAdTdT-3'
NM_004104	Hs.83190	FASN	Fatty acid synthase	5'-CAACTACGGCTTTGCCAAT-3'
NM_004104	Hs.83190	FASN	Fatty acid synthase	5'-GCAACTCACGCTCCGGAAA-3'
NM_004104	Hs.83190	FASN	Fatty acid synthase	5'-GCCCTGAGCTGGACTACTT-3'
NM_004104	Hs.83190	FASN	Fatty acid synthase	5'-GGTATGCGACGGGAAAGTA-3'
NM_002165.2	Hs.504609	ID1	Inhibitor of DNA binding 1, dominant negative helix-loop-hclix protein	5'-AACTCGGAATCCGAAGTTGGA-3'
NM_003200.1	Hs.371282	TCF3	Transcription factor 3	5'-AAAGACCTGAGGGACCGGGAG-3'

NM_015895	Hs.234896	GMNN	Geminin, DNA replication inhibitor	5'-GAGAAAATGAGCTGTCCGC-3'
NM_015895	Hs.234896	GMNN	Geminin, DNA replication inhibitor	5'-CTGGCAGAAGTAGCAGAAC-3'
NM_006704	Hs.281902	SUGT1	SGT1, suppressor of G2 allele of SKP1 (S. cerevisiae)	5'-AAGGCUUUGGAACAGAAACCA-3'
NM_002358	Hs.533185	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1	5'-AAGAGUCGGGACCACAGUUUA-3'
NM_006472	Hs.533977	TXNIP	Thioredoxin interacting protein	5'-ACAGACUUCGGAGUACCUGdTT-3'
NM_001379	Hs.202672	DNMT1	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 1	5'-CGGUGCUCAUGCUUACAACTT-3'
NM_001379	Hs.202672	DNMT1	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 1	5'-CGAGUUGCUAGACCGCUUCTT-3'
NM_006838	Hs.444986	METAP2	Methionyl aminopeptidase 2	5'-AAUGCCGGUGACACAACAUGA-3'
NM_007862.2	Mm.382	Dlgh1	Discs, large homolog 1 (Drosophila)	5'-TACGGGAGCAGATGATGAAA-3'
NM_007862.2	Mm.382	Dlgh1	Discs, large homolog 1 (Drosophila)	5'-AACCCAAATCCATGGAAAATA-3'
NM_008173.1	Mm.129481	Nr3c1	Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1	5'-GAGGCAGTGGAAGGACAGCATTCAA GAGATGCTGTCCTTCCACTGCTCTTTTTT-3'
NM_008173.1	Mm.129481	Nr3c1	Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1	5'-GATCCCGAGCAGTGGAAGGACAGCATTCAA GAGATGCTGTCCTTCCACTGCTCTTTTTTGGAAA-3'
NM_007871.1	Mm.39292	Dnm2	Dynamin 2	5'-GGACCAGGCAGAGAATGAG-3'
NM_011155.1	Mm.3294	Ppp5c	Protein phosphatase 5, catalytic subunit	5'-AAG ACA CAG GCC AAC GAC UAC-3'
NM_011155.1	Mm.3294	Ppp5c	Protein phosphatase 5, catalytic subunit	5'-AAG AUU GUG AAG CAG AAG GCC-3'
NM_009263.1	Mm.288474	Spp1	Secreted phosphoprotein 1	5'-AATCTCCTTGCGCCACAGAAT-3'

NM_009263.1	Mm.288474	Spp1	Secreted phosphoprotein 1	5'-AAGTCAGCTGGATGAACCAAG-3'
NM_145978.1	Mm.283968	Pdlim2	PDZ and LIM domain 2	5'-AAGAUCCGACAGAGCGCCUCA-3'
NM_146386.1	Mm.32257	Myocd	Myocardin	5'-AATGCAACTGCAGAAGCAGAA-3'
NM_145541.3	Mm.333868	Rap1a	RAS-related protein-1a	5'-AAGCAAGTCGAGGTAGATTGC-3'
NM_010026.1	Mm.277236	Ddef1	RIKEN cDNA 1700010G06 gene	5'-CAGCUAACUGCACUCCGAG-3'
NM_010026.1	Mm.277236	Ddef1	RIKEN cDNA 1700010G06 gene	5'-UGAUAUUAUGGAAGCAAAU-3'
NM_007614.2	Mm.291928	Catnb	Catenin beta	5'-AAGGCTTTTCCCAGTCCTTCA-3'
NM_007614.2	Mm.291928	Catnb	Catenin beta	5'-AAGATGATGGTGTGCCAAGTG-3'
NM_011952.1	Mm.8385	Mapk3	Mitogen activated protein kinase 3	5'-AATGTTATAGGCATCCGAGAC-3'
NM_011952.1	Mm.8385	Mapk3	Mitogen activated protein kinase 3	5'-AACCCAAACAAGCGCATCACA-3'
NM_011949.2	Mm.196581	Mapk1	Mitogen activated protein kinase 1	5'-AAAGTTCGAGTTGCTATCAAG-3'
NM_010591.1	Mm.275071	Jun	Jun oncogene	5'-GCGCATGAGGAACCGCATT-3'
NM_008416.1	Mm.1167	Junb	Jun-B oncogene	5'-GACCAGGAGCGCATCAAAG-3'
NM_010592.3	Mm.1175	Jund1	Jun proto-oncogene related gene d1	5'-AAGCCAGAACACCGAGCTG-3'
NM_010234.2	Mm.246513	Fos	FBJ osteosarcoma related oncogene	5'-GCGGAGACAGATCAACTTG-3'
NM_010235.1	Mm.6215	Fosl1	Fos-like antigen 1	5'-ATTGGAGGATGAGAAATCG-3'
NM_008037.3	Mm.24684	Fosl2	Fos-like antigen 2	5'-TCAACGCCATCACCACCAG-3'
NM_009505.2	Mm.282184	Vegfa	Vascular endothelial growth factor A	5'-AACGAUGAAGCCCUGGAGUGC-3'
NM_015774.2	Mm.264435	Ero1l	ERO1-like (S. cerevisiae)	5'-ACTTCATCAGAATGGCAGGGTTT-3'
NM_021450.1	Mm.244705	Trpm7	Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7	5'-AACCGGAGGTCAGGTCGAAAT-3'
NM_021450.1	Mm.244705	Trpm7	Transient receptor potential	5'-AAGCAGAGTGACCTGGTAGAT-3

			cation channel, subfamily M, member 7	
NM_177407.2	Mm.131530	Camk2a	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alpha	5'-CACCACCAUUGAGGACGAAdTdT-3'
NM_010118.1	Mm.290421	Egr2	Early growth response 2	5'- GUGACCACCUUACUACUCAdTdT -3'
NM_010118.1	Mm.290421	Egr2	Early growth response 2	5'- GUUUGCCAGGAGUGACGAAdTdT -3'
NM_015806.2	Mm.18856	Mapk6	Mitogen-activated protein kinase 6	5'-GGCUUUUCAUGUAUCAGCUTT-3'
NM_015806.2	Mm.18856	Mapk6	Mitogen-activated protein kinase 6	5'- GGCAAUGGCUUGGUUUUUUTT -3'
NM_015806.2	Mm.18856	Mapk6	Mitogen-activated protein kinase 6	5'- GGAGUACAUGGAGACAGACTT -3'
NM_009744.2	Mm.347398	Bcl6	B-cell leukemia/lymphoma 6	5'-GTCGAGACATCTTGACTGA-3'
NM_009744.2	Mm.347398	Bcl6	B-cell leukemia/lymphoma 6	5'-GACACGGATCTGAGAATCT-3'
NM_145533.1	Mm.136586	Smox	Spermine oxidase	5'-GGACGUGGUUGAGGAAUUC-3'
NM_008778.1	Mm.40035	Pak3	P21 (CDKN1A)-activated kinase 3	5'-TAGCAGCACATCAGTCGAATA-3'
NM_008778.1	Mm.40035	Pak3	P21 (CDKN1A)-activated kinase 3	5'-CCCAATATTGTCAATTATTTA-3'
NM_080428.2	Mm.196475	Fbxw7	F-box and WD-40 domain protein 7, archipelago homolog	5'-CACAAAGCTGGTGTGTGCA-3'
NM_021450.1	Mm.244705	Trpm7	Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7	5'-AACCGGAGGTCAGGTCGAAAT-3'
NM_021450.1	Mm.244705	Trpm7	Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7	5'-AAGCAGAGTGACCTGGTAGAT-3'
NM_009505.2	Mm.282184	Vegfa	Vascular endothelial growth factor A	5'-AAGCCGTCCTGTGTGCCGCTG-3'
NM_009505.2	Mm.282184	Vegfa	Vascular endothelial growth	5'-AACGATGAAGCCCTGGAGTGC-3'

			factor A	
NM_010228.2	Mm.3464	Flt1	FMS-like tyrosine kinase 1	5'-AAGTTAAAAGTGCCTGAACTG-3'
NM_010228.2	Mm.3464	Flt1	FMS-like tyrosine kinase 1	5'-AAGCAGGCCAGACTCTCTTTC-3'
NM_010612.2	Mm.285	Kdr	Kinase insert domain protein receptor	5'-AAGCTCAGCACACAGAAAGAC-3'
NM_010612.2	Mm.285	Kdr	Kinase insert domain protein receptor	5'-AATGCGGCGGTGGTGACAGTA-3'
AK019429.1	Mm.3049	Cks1b	CDC28 protein kinase 1b	5'-GGGACATAGCCAAGCTGGTCgagtactg GACCAGCTTGGCTATGTCC-3'
NM_008000.1	Mm.280819	Fert2	Fer (fms/fps related) protein kinase, testis specific 2	5'-AAC TAC GGT TGC TGG AGA CAG-3'
NM_009750.1	Mm.90787	Ngfrap1	Nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1	5'-CAACAACCACACAACCATAAC-3'
NM_009750.1	Mm.90787	Ngfrap1	Nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1	5'-CATAACCACACAACCACCACTdTdT-3'
NM_010431.1	Mm.3879	Hif1a	Hypoxia inducible factor 1, alpha subunit	5'-TGTGAGCTCACATCTTGAT-3'
NM_010838	Mm.1287	Mapt	Microtubule-associated protein tau	5'-CCAGGAGTTTGACACAATG-3'
NM_009045	Mm.249966	Rela	V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A	5'-GATCAATGGCTACACAGGA-3'
NM_009689	Mm.8552	Birc5	Baculoviral IAP repeat-containing 5	5'-GAGCCAAGAACAAAATTGC-3'
NM_009689	Mm.8552	Birc5	Baculoviral IAP repeat-containing 5	5'-GAAAGTGCGCCGTGCCATC-3'
NM_007798.1	Mm.236553	CTSB	Cathepsin B	5'-CCACUGUGGCAUUGAAUCATT-3'
NM_011960	Mm.15962	Parg	Poly (ADP-ribose) glycohydrolase	5'-AACGCCACCTCGTTTGTTTTC-3'

NM_010928.1	Mm.254017	Notch2	Notch gene homolog 2	5'-GAUGUGGACAGUGUCUGUTT-3'
NM_019984	Mm.41964	Tgm1	Transglutaminase 1, K polypeptide	5'-AUGCAGCUGGAGAUGGCACdTdT-3'
NM_009593	Mm.15691	Abcg1	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 1	5'-CGTGGATGAGGTTGAGACA-3'
NM_009593	Mm.15691	Abcg1	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 1	5'-GGTGGACAACAACTTCACA-3'
NM_138955	Mm.101876	Abcg4	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 4	5'-GAAGGTGGAGAACCATATC-3'
NM_138955	Mm.101876	Abcg4	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 4	5'-GCACTTGAACTACTGGTAT-3'
NM_011658	Mm.3280	Twist1	Twist gene homolog 1	5'-AAGCTGAGCAAGATTCAGACC-3'
NM_011658	Mm.3280	Twist1	Twist gene homolog 1	5'-AGGTACATCGACTTCCTGTAC-3'
NM_011658	Mm.3280	Twist1	Twist gene homolog 1	5'-AGCGGGTCATGGCTAACGTGC-3'
NM_009537	Mm.3868	Yy1	YY1 transcription factor	5'-GGGAGCAGAAGCAGGUGCAGAU-3'
NM_172689	Mm.86382	Ddx58	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 58	5'-GCCCATTGAAACCAAGAAATT-3'
NM_008500.1	Mm.12881	Lhx6	LIM homeobox protein 6	5'-AGACGCAGAGGCCTTGGTTCAAGAGAC CAAGGCCTCTGCGTCTGACTTTTTC-3'
NM_009308	Mm.233846	Syt4	Synaptotagmin 4	5'-r(GAAGCACAGAGUGAAGACCA)d(TT)-3'
NM_009308	Mm.233846	Syt4	Synaptotagmin 4	5'-r(CGAGCAGGAGA ACAGCGAG)d(T T)-3'
NM_007615.1	Mm.35738	Catns	Expressed sequence AI225934	5'-GATGGTTATCCAGGTGGCA-3'
NM_007614.2	Mm.291928	Catnb	Catenin beta	5'-CUGUUGUGGUUAAAACUCCUTT-3'
NM_011232	Mm.38376	Rad1	RAD1 homolog (S. pombe)	5'-GCCTTGACAACGTTAGGAATC-3'
NM_011232	Mm.38376	Rad1	RAD1 homolog (S. pombe)	5'-GCAGGAAGTTCCCACCTTGAC-3'
NM_011232	Mm.38376	Rad1	RAD1 homolog (S. pombe)	5'-GCCTGATGAAGAAGTTCC-3'
NM_010423	Mm.29581	Hcy1	Hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif 1	5'-GCTAGAAAAAGCTGAGATC-3'
NM_010133	Mm.2657	En1	Engrailed 1	5'-CAUCCUAAGGCCCGAUUUCTT-3'
NM_010133	Mm.2657	En1	Engrailed 1	5'-GUUCCCGGAACACAACCCUTT-3'

NM_019390	Mm.243014	Lmna	Lamin A	5'-GCAGCUUCAGGAUGAGAUGTT-3'
NM_183355.1	Mm.43358	Pbx1	Pre B-cell leukemia transcription factor 1	5'-CAGUUUUGAGUAUUCGGGGTT-3'
NM_007430	Mm.5180	Nr0b1	Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 1	5'-GAUCACCUGCACUUCGAGdTdT-3'
NM_007430	Mm.5180	Nr0b1	Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 1	5'-CUGAACAGUGCCCUUUUCCdTdT-3'
NM_172203	Mm.233865	Nox1	NADPH oxidase 1	5'-TTATGAGAAGTCTGACAAG-3'
NM_172203	Mm.233865	Nox1	NADPH oxidase 1	5'-GATTCTTGGCTAAATCCCA-3'
NM_172203	Mm.233865	Nox1	NADPH oxidase 1	5'-GGACATTTGAACAACAGCA-3'
NM_080850	Mm.253287	Pask	PAS domain containing serine/threonine kinase	5'-AATTTATGGAGTCAACCACAGCTT-3'
NM_009330	Mm.7226	Tcf2	Transcription factor 2	5'-GCCGGUUUUCCAUACUCUCtt-3'
NM_009330	Mm.7226	Tcf2	Transcription factor 2	5'-CAAGAAGAUGCGCC GCAACtt-3'
NM_009330	Mm.7226	Tcf2	Transcription factor 2	5'-UGGUGGUCACAGA UACCAGtt-3'
NM_024148.1	Rn.5949	Apex1	Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1	5'-GUCUGGUAAGACUGGAGUACC-3'
NM_017059.1	Rn.10668	Bax	Bcl2-associated X protein	5'-UUGGAGAUGAACUGGACAAUU-3'
NM_017059.1	Rn.10668	Bax	Bcl2-associated X protein	5'-CUG GAC AAU AAU AUG GAG CUU-3'
NM_023979.1	Rn.64522	Apaf1	Apoptotic protease activating factor 1	5'-AGA ACU UUG UGC UUU AAU GUU-3'
NM_023979.1	Rn.64522	Apaf1	Apoptotic protease activating factor 1	5'-UAU AGG CAU AUA CUG GAU GUU-3'
NM_021835.2	Rn.93714	Jun	V-jun sarcoma virus 17 oncogene homolog (avian)	5'-AGU GAA AAC CUU GAA AGC GUU-3'
NM_021835.2	Rn.93714	Jun	V-jun sarcoma virus 17 oncogene homolog (avian)	5'-AGU CAU GAA CCA CGU UAA CUU-3'
NM_012655.1	Rn.44609	Sp1	Sp1 transcription factor	AATGAGAACAGCAACAACTCC
XM_230974.2	Rn.102138	Sp3	Sp3 transcription factor	AAGTTCTCAGACAATGACTGC
NM_133551.1	Rn.10162	Pla2g4a	Phospholipase A2, group IVA (cytosolic, calcium-dependent)	5'-TCGAGACAGTAGTGGTTCTACGTGCCgagtactg

				GGCACGTAGAACCACTACTGTTTTTT-3'
NM_001003959.1	Rn.117353	Dnmt3b	DNA methyltransferase 3B	5'-AGAUGACAGGUGCCCAGAGUU-3'
NM_019335.1	Rn.10022	Prkr	Protein kinase, interferon-inducible double stranded RNA dependent	5-GGUAGAUCAAAGCAGGAGGTT-3'
NM_053622.1	Rn.10474	Pom121	Nuclear pore membrane glycoprotein 121 kD	5'-AACGGAGUCCCUGCUGCAUUUdTdT-3'
NM_053622.1	Rn.10474	Pom121	Nuclear pore membrane glycoprotein 121 kD	5'-AACCAUGUCACCAGUCCAGUUdTdT-3'
NM_053622.1	Rn.10474	Pom121	Nuclear pore membrane glycoprotein 121 kD	5'-AAGCCUGUGUUUGGCUUUGGAdTdT-3'
NM_131907.2	Rn.5805	Atp2c1	ATPase, Ca++-sequestering	5'- AACCATTATGGAAGAAGTACATT-3'
NM_031337.1	Rn.22706	Siat9	Sialyltransferase 9	5'-GGGUUAUUCUGAACAUGUUtt-3'
NM_031010.2	Rn.11318	Alox15	Arachidonate 12-lipoxygenase	5'-GCAACTGGATTTCTGTGAAGG-3'
NM_031010.2	Rn.11318	Alox15	Arachidonate 12-lipoxygenase	5'-GAAGCGGATTTCTTCCTTCTG-3'
NM_031556.1	Rn.22518	Cav	Caveolin	5'-AAGGAGATCGACCTGGTCAAC-3'
NM_031556.1	Rn.22518	Cav	Caveolin	5'-AAGGGACACACAGTTTTGACG-3'
XM_232106.2	Rn.117974	Dok-1	Docking protein 1 (predicted)	5'-GAACTACACACAAATTCAGCCAGGCGTA TCATCCGGTGTTTCGTCCTTTCCACAAG-3'
NM_133307.1	Rn.98279	Prkcd	Protein kinase C, delta	5'- AAAAGGCAAATTCACAAACAGCCTGTCTC -3'
NM_133307.1	Rn.98279	Prkcd	Protein kinase C, delta	5'- AAGTTCTCCGAAGTGTGAGAACCTGTCTC -3'
NM_012637.1	Rn.11317	Ptpn1	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	5'-AAGCTGACACTGATCTCTGAA-3'
NM_017212	Rn.2455	Mapt	Microtubule-associated protein tau	5'-CCAGGAGTTTGACACAATG-3'
NM_013156	Rn.1294	CTSL	Cathepsin L	5'-GGACAGAUGUUCCUUAAGATT-3'
NM_012576.1	Rn.90070	Nr3c1	Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1	5'-GGCCAAGGGAGGGGGAGCGTA-3'

NM_013131.1	Rn.9678	Nr3c2	Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2	5'-GGCGCTGGAGTCAAGTGTCTC-3'
NM_031659	Rn.10039	Tgm1	Transglutaminase 1	5'-AUGCAGCUGGAGAUGGCACdTdT-3'
NM_019275	Rn.9774	Madh4	MAD homolog 4	5'-AAUACACCGACAAGCAAUGACdTdT-3'
NM_031132	Rn.9954	Tgfbr2	Transforming growth factor, beta receptor II	5'-AAAGUCGGUUAACAGCGAUCUdTdT-3'
NM_144741	Rn.16746	Retn	Resistin	5'-CCTTTCATTTCTCCTCCTT-3'
NM_144741	Rn.16746	Retn	Resistin	5'-AGCTGCTCCTGTGGCTCTG-3'
NM_144741	Rn.16746	Retn	Resistin	5'-GCCTCCTGCCCAGAAGGCA-3'
NM_012614	Rn.9714	Npy	Neuropeptide Y	5'-UGAGAGAAAGCACAGAAA-3'
NM_021597	Rn.35512	Eif2c2	GERp95	5'-UGGACAUCCCCAAAAUUGA-3'
NM_012547	Rn.87299	Drd2	Dopamine receptor 2	5'-CCCCAUCAUCUACACCACA-3'

添付資料 (B)

TABLE 1

Oligonucleotide Stimulation of Mouse B Cells

	ODN Production	Sequence (5' to 3')†	Stimulation Index* ^{3}H Uridine	IgM
1	(SEQ ID NO:13)	GCTAGACGTTAGCGT	6.1 ± 0.8	17.9 ± 3.6
1a	(SEQ. ID NO:4)	.....T.....	1.2 ± 0.2	1.7 ± 0.5
1b	(SEQ ID NO:14)	.....Z.....	1.2 ± 0.1	1.8 ± 0.0
1c	(SEQ ID NO:15)	.....Z..	10.3 ± 4.4	9.5 ± 1.8
1d	(SEQ ID NO:16)	..AT.....GAGC.	13.0 ± 2.3	18.3 ± 7.5
2	(SEQ ID NO:17)	ATGGAAGGTCCAGCGTTCTC	2.9 ± 0.2	13.6 ± 2.0
2a	(SEQ ID NO:18)	..C..CTC..G.....	7.7 ± 0.8	24.2 ± 3.2
2b	(SEQ ID NO:19)	..Z..CTC.ZG..Z.....	1.6 ± 0.5	2.8 ± 2.2
2c	(SEQ ID NO:20)	..Z..CTC..G.....	3.1 ± 0.6	7.3 ± 1.4
2d	(SEQ ID NO:21)	..C..CTC..G.....Z..	7.4 ± 1.4	27.7 ± 5.4
2e	(SEQ ID NO:22)	.....A.....	5.6 ± 2.0	ND
3D	(SEQ ID NO:23)	GAGAACGCTGGACCTTCCAT	4.9 ± 0.5	19.9 ± 3.6
3Da	(SEQ ID NO:24)	.....C.....	6.6 ± 1.5	33.9 ± 6.8
3Db	(SEQ ID NO:25)	.....C.....G..	10.1 ± 2.8	25.4 ± 0.8
3Dc	(SEQ ID NO:26)	...C.A.....	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.5
3Dd	(SEQ ID NO:27)	.....Z.....	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.4
3De	(SEQ ID NO:28)	.....Z.....	4.4 ± 1.2	18.8 ± 4.4
3Df	(SEQ ID NO:29)	.....A.....	1.6 ± 0.1	7.7 ± 0.4
3Dg	(SEQ ID NO:30)	.....CC.G.ACTG..	6.1 ± 1.5	18.6 ± 1.5
3M	(SEQ ID NO:31)	TCCATGTCGGTCCTGATGCT	4.1 ± 0.2	23.2 ± 4.9
3Ma	(SEQ ID NO:32)	.....CT.....	0.9 ± 0.1	1.8 ± 0.5
3Mb	(SEQ ID NO:33)	.....Z.....	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0.6
3Mc	(SEQ ID NO:34)	.....Z.....	5.4 ± 1.5	8.5 ± 2.6
3Md	(SEQ ID NO:35)	.....A..T.....	17.2 ± 9.4	ND
3Me	(SEQ ID NO:36)	.....C..A.	3.6 ± 0.2	14.2 ± 5.2
4		TCAACGTT	6.1 ± 1.4	19.2 ± 5.2
4a		....GC..	1.1 ± 0.2	1.5 ± 1.1
4b		...GCGC.	4.5.± 0.2	9.6 ± 3.4
4c		...TCGA.	2.7.± 1.0	ND

TABLE 1-continued

Oligonucleotide Stimulation of Mouse B Cells

ODN Production	Sequence (5' to 3')†	Stimulation Index‡ ³H Uridine	IgM
4d	..TT$_{\underline{\underline{m}}}$CAA	1.3 ± 0.2	ND
4e	-...$_{\underline{\underline{m}}}$...	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.5
4f	C...$_{\underline{\underline{m}}}$...	3.9 ± 1.4	ND
4g	--...$_{\underline{\underline{m}}}$...CT	1.4 ± 0.3	ND
4h	...$_{\underline{\underline{m}}}$...C	1.2 ± 0.2	ND
LPS		7.8 ± 2.8	4.8 ± 1.0

‡Stimulation indexes are the means and std. dev. derived from at least 3 separate experiments, and are compared to wells cultured with no added ODN.
ND = not done.
CpG dinucleotides are underlined.
Dots indicate identity; dashes indicate deletions.
$_{\underline{\underline{m}}}$ indicates 5 methyl cytosine.

TABLE 2

Identification of the optimal CpG motif for Murine IL-6 production and B cell activation.

ODN (ng/ml)[a]	SEQUENCE (5'-3')	IL-6 (pg/ml)‡ CH12.LX	SPLENIC B CELL	SI[b]	IgM
512	(SEQ ID No:37) TCCATGTCGGTCCTGATGCT	1300 ± 106	627 ± 43	5.8 ± 0.3	7315 ± 1324
1637	(SEQ ID No:38) ......C$_{\underline{\underline{m}}}$.....	136 ± 27	46 ± 6	1.7 ± 0.2	770 ± 72
1635	(SEQ ID No:39) ......G$_{\underline{\underline{m}}}$.....	1201 ± 155	850 ± 382	3.7 ±0.3	3212 ± 617
1614	(SEQ ID No:40) ......A$_{\underline{\underline{m}}}$.....	1533 ± 321	1812 ± 153	10.8 ± 0.6	7558 ± 414
1636	(SEQ ID No:41) .....$_{\underline{\underline{m}}}$A.....	1181 ± 76	847 ± 132	5.4 ± 0.4	3983 ± 489
1634	(SEQ ID No:42) .....$_{\underline{\underline{m}}}$C.....	1049 ± 223	1671 ± 175	9.2 ± 0.9	6256 ± 261
1613	(SEQ ID No:43) .....$_{\underline{\underline{m}}}$T.....	1535 ± 304	2908 ± 129	12.5 ± 1.0	8243 ± 698
1618	(SEQ ID No:44) ......A$_{\underline{\underline{m}}}$T.....	2109 ± 291	2896 ± 166	12.9 ± 0.7	10425 ± 674
1639	(SEQ ID No:45) .....AA$_{\underline{\underline{m}}}$T.....	1827 ± 83	2012 ± 132	11.5 ± 0.4	9489 ± 103
1707	(SEQ ID No:46) ......A$_{\underline{\underline{m}}}$TC.....	ND	1147 ± 175	4.0 ± 0.2	3534 ± 217
1708	(SEQ ID No:47) .....CA$_{\underline{\underline{m}}}$TG.....	ND	58 ± 3	1.5 ± 0.1	466 ± 109

Dots indicate identity; CpG dinucleotides are underlined; ND = not done
[a]The experiment was done at least three times with similar results. The level of IL-6 of unstimulated control cultures of both CH12.LX and splenic B cells was ≤ 15 pg/ml. The IgM level of unstimulated culture was 547 ± 82 ng/ml. CpG dinucleotides are underlined and dots indicate identity.
[b]³H Uridine uptake was indicated as a fold increase (SI: stimulation index) from unstimulated control (2322.67 ± 211.68 cpm). Cells were stimulated with 20 μM of various CpG S-ODN. Data presents the mean ± SD of triplicates
‡Measured by ELISA.

TABLE 3

Induction of Murine IL-6 secretion by CpG motifs in bacterial DNA or oligonucleotides.

Treatment		IL-6 (pg/ml)
calf thymus DNA		≦10
calf thymus DNA + DNase		≦10
E. coli DNA		1169.5 ± 94.1
E. coli DNA + DNase		≦10
CpG methylated *E. coli* DNA		≦10
LPS		280.1 ± 17.1
Media (no DNA)		≦10
ODN 5a SEQ. ID. No:1	ATGGACTCTCCAGCGTTCTC	1096.4 ± 372.0
5b SEQ. ID. No:2	.....AGG....A_____	1124.5 ± 126.2
5c SEQ. ID. No:3	..C_.....G_____	1783.0 ± 189.5
5d SEQ. ID. No:4	.... AGG..C..T.....	≦10
5e SEQ. ID. No:5	..C_.....G..T.....	651.1 ± 114.4
5f SEQ. ID. No:6	..Z.....ZG..Z.....	≦10
5g SEQ. ID. No:7	..C_.....G_____..Z..	1862.3 ± 87.26

TABLE 5

Induction of human PBMC cytokine secretion by CpG oligos

ODN	Sequence (5'-3')	IL-6[1]	TNF-α[1]	IFN-γ[1]	GM-CSF	IL-12
512 SEQ ID NO:37	TCCATGTCGGTCCTGATGCT	500	140	15.6	70	250
1637 SEQ ID NO:38	......C.....	550	16	7.8	15.6	35
1615 SEQ ID NO:39	......G.....	600	145	7.8	45	250
1614	......A.....	550	31	0	50	250

TABLE 5-continued

Induction of human PBMC cytokine secretion by CpG oligos

ODN	Sequence (5'-3')	IL-6[1]	TNF-α[1]	IFN-γ[1]	GM-CSF	IL-12
SEQ ID NO:40						
1636 SEQ ID NO:41	.....A.....	325	250	35	40	0
1634 SEQ ID NO:42	.....C.....	300	400	40	85	200
1619 SEQ ID NO:43	.....T.....	275	450	200	80	>800
1618 SEQ ID NO:44	......A..T.....	300	60	15.6	15.6	62
1639 SEQ ID NO:45	.....AA..T.....	625	220	15.6	40	60
1707 SEQ ID NO:46	......A..TC.....	300	70	17	0	0
1709 SEQ ID NO:47	.....CA..TG.....	270	10	17	0	0

TABLE 9

Induction of NK Activity by DNA Containing CpG Motifs but not by Non-CpG DNA

	DNA or Cytokine Added		LU/10^6 Mouse Cells	Human cells
Expt. 1	None		0.00	0.00
	IL-2		16.60	15.82
	E.Coli. DNA		7.23	5.05
	Calf thymus DNA		0.00	0.00
Expt. 2	None		0.00	3.26
	1585 ggGGGGTCAACGTTGAGGGGGGgggg	(SEQ ID No.12)	7.38	17.98
	1629 ----------gtc----------	(SEQ ID No.50)	0.00	4.4
Expt. 3	None		0.00	
	1613 GCTAGACGTTAGTGT	(SEQ ID No.51)	5.22	
	1769 --------%------	(SEQ ID No.52)	0.02	ND
	1619 TCCATGTCGTTCCTGATGCT	(SEQ ID No.15)	3.35	
	1765 -------%---------	(SEQ ID No.53)	0.11	

TABLE 10

Different CpG motifs stimulate optimal murine B cell and NK activation

ODN	Sequence		B cell activation[1]	NK activation[2]
1668	TCCATGACGTTCCTGATGCT	(SEQ.ID.NO:54)	42,849	2.52
1758	TCTCCCAGCGTGCGCCAT	(SEQ.ID.NO.55)	1,747	6.66
NONE			367	0.00

CpG dinucleotides are underlined; oligonucleotides were synthesized with phosphorothicate modified backbones to improve their nuclease resistance.
[1]Measured by ^{3}H thymidine incorporation after 48 hr culture with oligodeoxynucleotides at a 200 nM concentration as described in Example 1.
[2]Measured in lytic units.

TABLE 1

ODN Number	cells/ml × 10^4	PMN/ml × 10^5	% PMN
	expt 1, C3H/BFeJ mice		
1908	61.4 ± 35.9	59.2 ± 15.7	95.8 ± 0.95
1760	27.8 ± 3.5*	25.8 ± 3.0*	93.3 ± 2.3
1631	47.6 ± 11.1	46.1 ± 10.7	96.8 ± 1.11
1835	43.8 ± 7.1	44.4 ± 7.1	96.8 ± 0.75
1759	71.0 ± 39.8	67.7 ± 20.4	96.8 ± 2.6
1826	39.8 ± 7.8	38.3 ± 7.9	93.5 ± 1.4
None (saline)	71.0 ± 7.4	69.3 ± 6.9	97.8 ± 1.3
	expt 2, C57 Bl/6 mice		
1908	18.0 ± 2.6	16.6 ± 2.7	93.2 ± 3.7
1760	10.2 ± 2.3*	8.6 ± 2.1*	82.0 ± 3.0
1585	11.0 ± 2.2*	9.5 ± 2.2*	84.6 ± 2.9
2010	14.1 ± 2.1	11.8 ± 1.9	83.4 ± 2.1
None (saline)	17.9 ± 3.4	16.9 ± 2.1	
	expt 3		
1908	19.0 ± 2.5	16.9 ± 2.1	89.4 ± 1.4
1760	9.1 ± 0.8*	7.7 ± 0.7*	84.6 ± 0.5
1972	15.3 ± 1.6	13.5 ± 1.4	84.2 ± 1.2
2001	13.0 ± 1.6*	11.8 ± 1.6	90.4 ± 2.2

*P>0.05, Mann-Whitney U test

TABLE 2

Induction Of NK Activity By CpG Oligodeoxynucleotides (ODN)

	% YAC-1 Specific Lysis* Effector: Target		% 2C11 Specific Lysis Effector: Target	
ODN	50:1	100:1	50:1	100:1
None	−1.1	−1.4	15.3	16.6
1	16.1	24.5	38.7	47.2
3Dd	17.1	27.0	37.0	40.0
non-CpG ODN	−1.6	−1.7	14.8	15.4

TABLE 3

Induction of NK Activity by DNA Containing CpG Motifs but not by Non-CpG DNA

	DNA or Cytokine Added Human Cells		LU/10^6 Cells Mouse	Human
Expt. 1	None		0.00	0.00
	IL-2		16.68	15.82
	E. Coli DNA		7.23	5.05
	Calf thymus DNA		0.00	0.00
Expt. 2	None		0.00	3.28
	1585 ggGGTCAACGTTGACggggg	(SEQ ID NO:21)	7.38	17.98
	1629 ---------gtc---------	(SEQ ID NO:22)	0.00	4.4
Expt. 3	None		0.00	
	1613 GCTAGACGTTAGTGT	(SEQ ID NO:23)	5.22	
	1769 --------X------	(SEQ ID NO:24)	0.02	ND
	1619 TCCATGTCGTTCCTGATGCT	(SEQ ID NO:5)	3.35	
	1765 ---------X----------	(SEQ ID NO:25)	0.11	

CpG dinucleotides in ODN sequences are indicated by underlining; X indicates methylcytosine. Lower case letters indicate nuclease resistant phosphorothioate modified internucleotide linkages which, in titration experiments, were more than 20 times as potent as non-modified ODN, depending on the flanking bases. Poly G ends (g) were used in some ODN, because they significantly increase the level of ODN uptake. Dashes indicate some bases are identical to those in the directly preceding sequence, with the exception of changes noted.

TABLE 4

ODN induction of NK Lytic Activity (LU)

ODN	Sequence (5'-3')		LU
None			0.01
1754	ACCATGGACGATCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:26)	0.02
1759	TCTCCCAGCGTGCGCCAT	(SEQ ID NO:27)	0.05
1761	TACCGCGTGCGACCCTCT	(SEQ ID NO:28)	0.05
1776	ACCATGGACGAACTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:29)	0.03
1777	ACCATGGACGAGCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:30)	0.05
1778	ACCATGGACGACCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:31)	0.01
1779	ACCATGGACGTACTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:32)	0.02
1780	ACCATGGACGGTCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:33)	0.29
1781	ACCATGGACGTTCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO:34)	0.38
1823	GCATGACGTTGAGCT	(SEQ ID NO:35)	0.08
1824	CACGTTGAGGGGCAT	(SEQ ID NO:36)	0.01
1825	CTGCTGAGACTGGAG	(SEQ ID NO:37)	0.01
1828	TCAGCGTGCGCC	(SEQ ID NO:38)	0.01
1829	ATGACGTTCCTGACGTT	(SEQ ID NO:39)	0.42
1830[2]	RANDOM SEQUENCE		0.25
1834	TCTCCCAGCGGGCGCAT	(SEQ ID NO:40)	0.00
1835	TCTCCCAGCGCGCGCCAT	(SEQ ID NO:41)	0.46
1840	TCCATGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:42)	2.70
1841	TCCATAGCGTTCCTAGCGTT	(SEQ ID NO:43)	1.45
1842	TCGTCGCTGTCTCCGCTTCTT	(SEQ ID NO:44)	0.06
1851	TCCTGACGTTCCTGACGTT	(SEQ ID NO:45)	2.32

[1]Lytic units (LU) were measured as described (8). Briefly, PBMC were collected from normal donors and spun over Ficoll, then cultured with or without the indicated ODN (which were added to cultures at 6 μg/ml) for 24 hr. Then their ability to lyse ^{51}Cr-labeled K562 cells was determined. The results shown are typical of those obtained with several different normal human donors.

[2]This oligo mixture contained a random selection of all 4 bases at each position.

TABLE 5

Induction of NK LU by Phosphorothioate CpG ODN with Good Motifs

ODN[1]	sequence (5'-3')		expt. 1	expt. 2	expt. 3
None			0.00	1.26	0.46
1840	TCCATGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:42)	2.33	ND	ND
1960	TCCTGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:46)	ND	0.48	8.99
1961	TCCATGTCGTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:47)	4.03	1.23	5.08
1962	TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	(SEQ ID NO:13)	ND	1.60	5.74
1963	TCCTTGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:48)	3.42	ND	ND
1965	TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:14)	0.46	0.42	3.48
1966	TCGTCGCTGTCTCCGCTTCTT	(SEQ ID NO:44)	2.62	ND	ND
1967	TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	(SEQ ID NO:15)	5.82	1.64	8.32
1968	TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	(SEQ ID NO:16)	3.77	5.26	6.12
1979[2]	TCCATGT&GTTCCTGTZGTT	(SEQ ID NO:42)	1.32	ND	ND
1982	TCCAGGACTTCTCTCAGGTT	(SEQ ID NO:50)	0.05	ND	0.98
1990	TCCATGCGTGCGTGCGTTTT	(SEQ ID NO:51)	2.10	ND	ND
1991	TCCATGCGTTGCGTTGCGTT	(SEQ ID NO:52)	0.89	ND	ND
2002	TCCACGACGTTTTCGACGTT	(SEQ ID NO:53)	4.02	1.31	9.79
2005	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:7)	ND	4.22	12.75
2006	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:6)	ND	6.17	12.82
2007	TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:8)	ND	2.68	9.66
2008	GCGTGCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:9)	ND	1.37	8.15
2010	GCGGCGGGCGGCGCGCGCCC	(SEQ ID NO:58)	ND	0.01	0.05
2012	TGTCGTTTGTCGTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:10)	ND	2.02	11.61
2013	TGTCGTTGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:55)	ND	0.56	5.22
2014	TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:11)	ND	5.74	10.89
2015	TCGTCGTTCGTTCGTT	(SEQ ID NO:12)	ND	4.53	10.13
2016	TGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:56)	ND	6.54	8.06

[1]PBMC essentially as described herein. Results are representative of 6 separate experiments; each experiment represents a different donor.
[2]This is the methylated version of ODN 1840; Z = 5-methyl cytosine LU is lytic units; ND = not done; CpG dinucleotides are underlined for clarity.

TABLE 6

Induction of human B cell proliferation by Phosphorothioate CpG ODN

DN	sequence (5'-3')		Stimulation Index[1] expt. 1	expt. 2	expt. 3	expt. 4	expt. 5	expt. 6
1840	TCCATGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:42)	4	ND	ND	ND	ND	34
1841	TCCATAGCGTTCCTAGCGTT	(SEQ ID NO:43)	3	ND	ND	ND	ND	ND
1960	TCCTGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:46)	ND	2.0	2.8	3.6	ND	ND
1961	TCCATGTCGTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:47)	2	3.9	1.9	3.7	ND	37
1962	TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	(SEQ ID NO:13)	ND	3.8	1.9	3.9	5.4	35
1963	TCCTTGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO:48)	3	ND	ND	ND	ND	ND
1965	TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:14)	4	3.7	2.6	4.7	6.0	43
1967	TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	(SEQ ID NO:15)	ND	4.4	2.0	4.5	5.0	36
1968	TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	(SEQ ID NO:16)	ND	4.0	2.6	4.9	8.7	38
1982	TCCAGGACTTCTCTCAGGTT	(SEQ ID NO:50)	3	1.8	1.3	3.1	3.2	12
2002	TCCACGACGTTTTCGACGTT	(SEQ ID NO:53)	ND	2.7	1.4	4.4	ND	14
2005	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:7)	5	3.2	1.2	3.0	7.9	37
2006	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:6)	4	4.5	2.2	5.8	8.3	40
2007	TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:8)	3	4.0	4.2	4.1	ND	22
2008	GCGTGCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:9)	ND	3.0	2.4	1.6	ND	12
2010	GCGGCGGGCGGCGCGCGCCC	(SEQ ID NO:58)	ND	1.6	1.9	3.2	ND	ND
2012	TGTCGTTTGTCGTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:10)	2	2.8	0	3.2	ND	33
2013	TGTCGTTGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:55)	3	2.3	3.1	2.8	ND	7
2014	TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:11)	3	2.5	4.6	3.2	6.7	14
2015	TCGTCGTTCGTTCGTT	(SEQ ID NO:12)	5	1.8	2.6	4.5	9.4	1
2016	TGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:56)	ND	1.1	1.7	2.7	7.3	1

[1]Cells = human spleen cells stored at -70° C. after surgical harvest or PBMC collected from normal donors and spun over Ficoll. Cells were cultured in 96 well U-bottom microhiter plates with or without the indicated ODN (which were added to cultures at 6 μM). N = 12 experiments. Cells were cultured for 4-7 days, pulsed with 1 μCi of ^{3}H thymidine for 18 hr before harvest and scintillation counting. Stimulation index = the ratio of cpm in wells without ODN to that in wells that had been stimulated throughout the culture period with the indicated ODN (there were no further additions of ODN after the cultures were set up). ND = not done

TABLE 7

Induction of human IL-12 secretion by Phosphorothioate CpG ODN

ODN[1]	sequence (5'-3')		IL-12 (pg/ml) expt. 1	expt. 2
None			0	0
1962	TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	(SEQ ID NO:13)	19	0
1965	TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:14)	36	0
1967	TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	(SEQ ID NO:15)	41	0
1968	TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	(SEQ ID NO:16)	24	0
2003	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:7)	25	0
2004	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO:6)	29	15
2014	TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:11)	28	0
2015	TCGTCGTCGTCGTT	(SEQ ID NO:12)	14	0
2016	TGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO:56)	3	0

[1]PBMC were collected from normal donors and spun over Ficoll, then cultured at 10^6 cells/well in 96 well microtiter plates with or without the indicated ODN which were added to cultures at 6 μg/ml. Supernatants were collected at 24 hr and tested for IL-12 levels by ELISA as described in methods. A standard curve was run in each experiment, which represents a different donor.

TABLE 8

Different CpG motifs stimulate optimal murine B cell and NK activation

ODN	Sequence		B cell activation[1]	NK activation[2]
1668	TCCATGACGTTCCTGATGCT	(SEQ ID NO:56)	42,849	2.52
1758	TCTCCCAGCGTGCGCCAT	(SEQ ID NO:27)	1,747	5.66
NONE			367	0.00

CpG dinucleotides are underlined; oligonucleotides were synthesized with phosphorothioate modified backbones to improve their nuclease resistance.
[1]Measured by ^{3}H thymidine incorporation after 48 hr culture with oligodeoxynucleotides at a 200 nM concentration as described in Example 1.
[2]Measured in lytic units.

US 6,218,371

TABLE 1

sequences	
GCTAGACGTTAGCGT	(SEQ ID NO: 1)
GCTAGATGTTAGCGT	(SEQ ID NO: 2)
GCTAGAZGTTAGCGT	(SEQ ID NO: 3)
GCTAGACGTTAGZGT	(SEQ ID NO: 4)
GCATGACGTTGAGCT	(SEQ ID NO: 5)
ATGGAAGGTCCAGCGTTCTC	(SEQ ID NO: 6)
ATCGACTCTCGAGCGTTCTC	(SEQ ID NO: 7)
ATZGACTCTZGAGZGTTCTC	(SEQ ID NO: 8)
ATZGACTCTCGAGCGTTCTC	(SEQ ID NO: 9)
ATCGACTCTCGAGCGTTZTC	(SEQ ID NO: 10)
ATCGACTCTCGAACGTTCTC	(SEQ ID NO: 11)
GAGAACGCTGGACCTTCCAT	(SEQ ID NO: 12)
GAGAACGCTCGACCTTCCAT	(SEQ ID NO: 13)
GAGAACGCTCGACCTTCGAT	(SEQ ID NO: 14)
GAGCAAGCTGGACCTTCCAT	(SEQ ID NO: 15)
GAGCAAGCTGGACCTTCCAT	(SEQ ID NO: 16)
GAGAACGCTGGCACZTTCCAT	(SEQ ID NO: 17)
GAGAACGATGGACCTTCCAT	(SEQ ID NO: 18)

TABLE 1-continued

sequences	
GAGAACGCTCCAGCACTGAT	(SEQ ID NO: 19)
CCATGTCGGTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 20)
TCCATGCTGGTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 21)
TCCATGTCGGTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 22)
TCCATGTCGGTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 23)
TCCATGAGTTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 24)
TCCATGTCGGTCCTGAGCA	(SEQ ID NO: 25)
TCAACGTT	(SEQ ID NO: 26)
TCAAGCTT	(SEQ ID NO: 27)
TCAGCGCT	(SEQ ID NO: 28)
TCTTCGAT	(SEQ ID NO: 29)
TCTTCGAA	(SEQ ID NO: 30)
CAACGTT	(SEQ ID NO: 31)
CCAACGTT	(SEQ ID NO: 32)
CAACGTTCT	(SEQ ID NO: 33)
TCAACGTC	(SEQ ID NO: 34)
ATGGACTCTCCAGCGTTCTC	(SEQ ID NO: 35)
ATGGAGGTCCAACGTTCTC	(SEQ ID NO: 36)
ATCGACTCTCGAGCGTTCTC	(SEQ ID NO: 37)
ATGGAGGCTCCATCGTTCTC	(SEQ ID NO: 38)
ATZGGACTCTTTGAGZGTTCTC	(SEQ ID NO: 39)
ATNGACTCTCGAGCGTTCTC	(SEQ ID NO: 40)
GCATGACGTTGAGCT3'	(SEQ ID NO: 41)
TCCATGTCGGTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 42
TCCATGCGGGTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 43
TCCATGGCGGTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 44
TCCATGAGGGTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 45
TCCATGTCGATCCTGATGCT	SEQ ID NO: 46
TCCATGTCGCTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 47
TCCATGTCGTTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 48
TCCATAACGTTCCTGATGCT	SEQ ID NO: 49
TCCATGACGTCCCTGATGCT	SEQ ID NO: 50
TCCATCACGTGCCTGATGCT	SEQ ID NO: 51
GGGGTCAACGTTGACGGGG	(SEQ ID NO: 52)
GGGGTCAGTCGTGACGGGG	(SEQ ID NO: 53)
GCTAGAGGTTAGTGT	(SEQ ID NO: 54)
GCTAGAAGTTAGTGT	(SEQ ID NO: 55)
TCCATGTCGTTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 56)

TABLE 1-continued

sequences	
TCCATGTZGTTCCTGATGCT	(SEQ ID NO: 57)
ACCATGGACGATCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 58)
TCTCCCAGCGTGCGCCAT	(SEQ ID NO: 59)
TACCGCGTGCGACCCTCT	(SEQ ID NO: 60)
ACCATGGACGAACTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 61)
ACCATGGACGAGCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 62)
ACCATGGACGACCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 63)
ACCATGGACGTACTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 64)
ACCATGGACGGTCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 65)
ACCATGGACGTTCTGTTTCCCCTC	(SEQ ID NO: 66)
CACGTTCAGCGGCAT	(SEQ ID NO: 67)
CTGCTGAGACTGGAG	(SEQ ID NO: 68)
TCAGCGTGGCGC	(SEQ ID NO: 69)
ATGACGTTCCTGACGTT	(SEQ ID NO: 70)
TCTCCCAGCGGGCGCAT	(SEQ ID NO: 71)
TCTCCCAGCGCGCGCCAT	(SEQ ID NO: 72)
TCCATGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO: 73)
TCCATAGCGTTCCTAGCGTT	(SEQ ID NO: 74)
TCGTCGCTGTTCTCCGCTTCTT	(SEQ ID NO: 75)
TCCTGACGTTCCTGACGTT	(SEQ ID NO: 76)
TCCTGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO: 77)
TCCATGTCGTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 78)
TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 79)
TCCTTGTCGTTCCTGTCGTT	(SEQ ID NO: 80)
TCCTGTCGTTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 81)
TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	(SEQ ID NO: 82)
TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	(SEQ ID NO: 83)
TCCATGTZGTTCCTGTZGTT	(SEQ ID NO: 84)
TCCAGGACTTCTCTCAGGTT	(SEQ ID NO: 85)
TCCATGCGTGCGTCGTTTTT	(SEQ ID NO: 86)

TABLE 1-continued

sequences	
TCCATGCGTTGCGTTGCGTT	(SEQ ID NO: 87)
TCCACGACGTTTTCGACGTT	(SEQ ID NO: 88)
TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 89)
TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 90)
TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 91)
GCGTGCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 92)
GCGGCGGGCGGCGCGCGCCC	(SEQ ID NO: 93)
TGTCGTTTGTCGTTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 94)
TGTCGTTGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 95)
TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 96)
TCGTCGTCGTCGTT	(SEQ ID NO: 97)
TGTCGTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 98)
TCCATAGCGTTCCTAGCGTT	(SEQ ID NO: 99)
TCCATGACGTTCCTGACGTT	(SEQ ID NO: 100)
GTCG(T/C)T	(SEQ ID NO: 101)
TGTCG(T/C)T	(SEQ ID NO: 102)
TCCATGAGCTTCCTGAGTCT	(SEQ ID NO: 103)
TCTCCCAGCGTGCGCCAT	(SEQ ID NO: 104)
TCCATGACGTTCCTGACGTT	(SEQ ID NO: 105)

TABLE 2

Induction of human IL-12 secretion by Phosphorothioate CpG oligonucleotide

ODN[1]	sequence (5'-3')		IL-12 (pg/ml) expt. 1	IL-12 (pg/ml) expt. 2
None			0	0
1962	TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	(SEQ. ID NO:79)	19	0
1965	TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	(SEQ. ID NO:81)	36	0
1967	TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	(SEQ. ID NO:82)	41	0
1968	TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	(SEQ. ID NO:83)	24	0
2005	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ. ID NO:89)	25	0
2006	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	(SEQ ID NO: 90)	29	15
2014	TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	(SEQ. ID NO:96)	28	0
2015	TCGTCGTCGTCGTT	(SEQ ID NO:97)	14	0
2016	TGTCGTTGTCGTT	(SEQ. ID NO:98)	3	0

[1]PBMC were collected from normal donors and spun over Ficoll, then cultured at 10^6 cells/well in 96 well microtiter plates with or without the indicated oligonucleotide which were added to cultures at μg/ml. Supernatants were collected at 24 hr and tested for IL-12 levels by ELISA as described in methods. A standard curve was run in each experiment, which represents a different donor.

TABLE 3

Compound	CD86 (5 Exp)	CD40 (4 Exp.)	T cell proliferation
GM-CSF	1.9	2.5	13.3
CpG	3.9	3.5	19.7
CpG + GM-CSF	7.0	8.5	25.6

US 6,239,116 B1

TABLE 1

Olionucleotide Stimulation of Mouse B Cells

ODN		Sequence (5'to 3')†	Stimulation Index' ^{3}H Uridine	IgM Production
1	(SEQ ID NO:91)	GCTAGACGTTAGCGT	6.1 ± 0.8	17.9 ± 3.6
1a	(SEQ. ID NO:4)	......T.....,,.	1.2 ± 0.2	1.7 ± 0.5
1b	(SEQ ID NO:13)	......Z.....,,.	1.2 ± 0.1	1.8 ± 0.0
1c	(SEQ ID NO:14)	.....,,.....Z..	10.3 ± 4.4	9.5 ± 1.8

TABLE 1-continued

Oligonucleotide Stimulation of Mouse B Cells

ODN	Sequence (5'to 3')†	Stimulation Index' ^{3}H Uridine	Stimulation Index' IgM Production
1d (SEQ ID NO:92)	..AT.....GAGC.	13.0 ± 2.3	18.3 ± 7.5
2 (SEQ ID NO:1)	ATGGAAGGTCCAGCGTTCTC	2.9 ± 0.2	13.6 ± 2.0
2a (SEQ ID NO:15)	..G..CTC..G.....	7.7 ± 0.8	24.2 ± 3.2
2b (SEQ ID NO:16)	..Z..CTC.ZG..Z.....	1.6 ± 0.5	2.8 ± 2.2
2c (SEQ ID NO:17)	..Z..CTC..G.....	3.1 ± 0.6	7.3 ± 1.4
2d (SEQ ID NO:18)	..G..CTC..G.....Z..	7.4 ± 1.4	27.7 ± 5.4
2e (SEQ ID NO:19)	.....A.....	5.6 ± 2.0	ND
3D (SEQ ID NO:20)	GAGAACGCTGGACCTTCCAT	4.9 ± 0.5	19.9 ± 3.6
3Da (SEQ ID NO:21)	.....C.....	6.6 ± 1.5	33.9 ± 6.8
3Db (SEQ ID NO:22)	.....C.....G..	10.1 ± 2.8	25.4 ± 0.8
3Dc (SEQ ID NO:23)	...C.A.....	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.5
3Dd (SEQ ID NO:24)	.....Z.....	1.2 ± 0.2	1.8 ± 0.4
3De (SEQ ID NO:25)	.....Z.....	4.4 ± 1.2	18.8 ± 4.4
3Df (SEQ ID NO:26)	.....A.....	1.6 ± 0.1	7.7 ± 0.4
3Dg (SEQ ID NO:27)	.....CC.G.ACTG..	6.1 ± 1.5	18.6 ± 1.5
3M (SEQ ID NO:28)	TCCATGTCGGTCCTGATGCT	4.1 ± 0.2	23.2 ± 4.9
3Ma (SEQ ID NO:29)	.....CT.....	0.9 ± 0.1	1.8 ± 0.5
3Mb (SEQ ID NO:30)	.....Z.....	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0.6
3Mc (SEQ ID NO:31)	.....Z.....	5.4 ± 1.5	8.5 ± 2.6
3Md (SEQ ID NO:7)	.....A...T.....	17.2 ± 9.4	ND
3Me (SEQ ID NO:93)	.....C..A.	3.6 ± 0.2	14.2 ± 5.2
4 (SEQ ID NO:94)	TCAACGTT	6.1 ± 1.4	19.2 ± 5.2
4a (SEQ ID NO:95)	....GC..	1.1 ± 0.2	1.9 ± 1.1
4b (SEQ ID NO:96)	...GCGC.	4.5 ± 0.2	9.6 ± 3.4
4c (SEQ ID NO:97)	...TCGA.	2.7 ± 1.0	ND
4d (SEQ ID NO:98)	..TT..AA	1.3 ± 0.2	ND
4e (Residue 2-8 of SEQ ID NO:94)	-.....	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.5
4f (SEQ ID NO:99)	C.....	3.9 ± 1.4	ND
4g (Residue 11-18 of SEQ ID NO:19)	--.....CT	1.4 ± 0.3	ND
4h (SEQ ID NO:100)	C	1.2 ± 0.2	ND
LPS		7.8 ± 2.5	4.8 ± 1.0

'Stimulation indexes are the means and std. dev. derived from at least 3 separate experiments, and are compared to wells cultured with no added ODN.
ND = not done.
CpG dinucleotides are underlined.
Dots indicate identity; dashes indicate deletions.
Z indicates 5 methyl cytosine.

TABLE 2

Identification of the optimal CpG motif for Murine IL-6 production and B cell activation

ODN	SEQUENCE (5'→3')	IL-6 (pg/ml)[a] CH12.LX	SPLENIC B CELL SI[b]		IgM (ng/ml)[c]
512	(SEQ ID No:28) TCCATGTCGGTCCTGATGCT	1309 ± 106	627 ± 43	5.8 ± 0.3	7315 ± 1324
1637	(SEQ ID No:29) ......C__..........	136 ± 27	46 ± 6	1.7 ± 0.2	770 ± 72
1635	(SEQ ID No:101) ......G__..........	1201 ± 185	850 ± 202	3.7 ± 0.3	3212 ± 617
1614	(SEQ ID No:102) ......A__..........	1533 ± 321	1812 ± 103	10.8 ± 0.6	7558 ± 414
1636	(SEQ ID No:103) ....A..........	1181 ± 76	947 ± 132	5.4 ± 0.4	3983 ± 485
1634	(SEQ ID NO:104) ....C..........	1049 ± 223	1671 ± 178	9.2 ± 0.9	6286 ± 261
1619	(SEQ ID No:105) ....T..........	1555 ± 304	2908 ± 129	12.5 ± 1.0	8243 ± 698
1618	(SEQ ID No:7) ......A__T..........	2109 ± 291	2596 ± 166	12.9 ± 0.7	10425 ± 674
1639	(SEQ ID No:3) .....AA__T..........	1827 ± 93	2012 ± 132	11.5 ± 0.4	9489 ± 103
1707	(SEQ ID No:88) ......A__TC.........	ND	1147 ± 175	4.0 ± 0.2	3534 ± 217
1708	(SEQ ID No:106) .....CA__TG.........	ND	59 ± 3	1.5 ± 0.1	466 ± 109

Dots indicate identity; CpG dinucleotides are underlined; ND = not done

[a]The experiment was done at least three times with similar results. The level of IL-6 of unstimulated control cultures of both CH12.LX and splenic B cells was ≦ 10 pg/ml. The IgM level of unstimulated culture was 547 ± 82 ng/ml. CpG dinucleotides are underlined and dots indicate identity.

[b][^{3}H] Uridine uptake was indicated as a fold increase (SI: stimulation index) from unstimulated control (2322.67 ± 213.68 cpm). Cells were stimulated with 20 μM of various CpG O-ODN. Data present the mean ± SD of triplicates

[c]Measured by ELISA.

TABLE 3

Induction of Murine IL-6 secretion by CpG motifs in bacterial DNA or oligonucleotides.

Treatment			IL-6 (pg/ml)
calf thymus DNA			≦10
calf thymus DNA + DNase			≦10
E. coli DNA			1169.5 ± 94.1
E. coli DNA + DNase			≦10
CpG methylated *E. coli* DNA			≦10
LPS			280.1 ± 17.1
Media (no DNA)			≦10
ODN			
5a	SEQ. ID. No:1	ATGGACTCTCCAGCGTTCTC	1096.4 ± 372.0
5b	SEQ. ID. No:2	.....AGG....A.....	1124.5 ± 126.2
5c	SEQ. ID. No:3	..C.....G.....	1783.0 ± 189.5
5d	SEQ. ID. No:4	.... AGG..C..T.....	≦10
5e	SEQ. ID. No:5	..C.....G..Z.....	851.1 ± 114.4

TABLE 3-continued

Induction of Murine IL-6 secretion by CpG motifs in bacterial DNA or oligonucleotides.

5f	SEQ. ID. No:6	..Z.....ZG..Z.....	≦10
5g	SEQ. ID. No:7	..C_.....*G..*_..Z..	1862.3 ± 87.26

T cell depleted spleen cells from DBA/2 mice were stimulated with phosphodiester modified oligonucleotides (O-ODN) (20 μM), calf thymus DNA (50 μg/ml) or *E. Coli* DNA (50 μg/ml) with or without enzyme treatment, or LPS (10 μg/ml) for 24 hr. Data represent the mean (pg/ml) ± SD of triplicates. CpG dinucleotides are underlined and dots indicate identity. Z indicates 5-methylcytosine.

TABLE 4

Secretion of Murine IL-6 induced by CpG DNA stimulation in vivo.

Stimulant	IL-6 (pg/ml)
PBS	<50
E. coli DNA	13858 ± 3143
Calf Thymus DNA	<50
CpG S-ODN	20715 ± 606
non-CpG S-ODN	<50

Mice (2 mice/group) were i.v. injected with 100 μl of PBS, 200 μg of *E. coli* DNA or calf thymus DNA, or 500 μg of CpG S-ODN or non-CpG control S-ODN. Mice were bled 2 hr after injection and 1:10 dilution of each serum was analyzed by IL-6 ELISA. Sensitivity limit of IL-6 ELISA was 5 pg/ml. Sequences of the CpG S-ODN is 5'GCATGACGT-TGAGCT3' (SEQ. ID. No: 6) and of the non-stimulatory S-ODN is 5'GCTAGATGTTAGCGT3' (SEQ. ID. No: 49). Note that although there is a CpG in sequence 48, it is too close to the 3' end to effect stimulation, as explained herein. Data represent mean ± SD of duplicates. The experiment was done at least twice with similar results.

TABLE 5

Induction of human PBMC cytokine secretion by CpG oligos

ODN	Sequence (5'–3')	IL-6[1]	TNF-α[1]	IFN-γ[1]	GM-CSF	IL-12
512 SEQ ID NO:28	TCCATGTCGGTCCTGATGCT	500	140	15.6	70	250
1637 SEQ ID NO:29	.....C.....	550	16	7.8	15.6	16
1615 SEQ ID NO:101	.....G.....	600	145	7.8	45	145

TABLE 5-continued

Induction of human PBMC cytokine secretion by CpG oligos

ODN	Sequence (5'–3')	IL-6[1]	TNF-α[1]	IFN-γ[1]	GM-CSF	IL-12
1614 SEQ ID NO:102	.....A.....	550	31	0	50	31
1636 SEQ ID NO:103	.....A.....	325	250	35	40	250
1634 SEQ ID NO:104	.....C.....	300	400	40	85	400
1639 SEQ ID NO:105	.....T.....	275	450	200	80	450
1618 SEQ ID NO:7	.....AT.....	300	60	15.6	15.6	62
1639 SEQ ID NO:3	.....AAT.....	625	220	15.6	40	220
1707 SEQ ID NO:88	.....ATC.....	300	70	17	0	70
1708 SEQ ID NO:106	.....CATG.....	270	10	17	ND	10

dots indicate identity; CpG dinucleotides are underlined

[1]measured by ELISA using Quantikine kits from R&D Systems (pg/ml) Cells were cultured in 10% autologous serum with the indicated oligodeoxynucleotides (12 μg/ml) for 4 hr in the case of TNF-α or 24 hr for the other cytokines before supernatant harvest and assay. Data are presented as the level of cytokine above that in wells with no added oligodeoxynucleotide.

TABLE 6

CpG DNA induces cytokine secretion by human PBMC

DNA	TNF-α(pg/ml)[1]	IL-6 (pg/ml)	IFN-γ (pg/ml)	RANTES (pg/ml)
EC DNA (50 μg/ml)	900	12,000	700	1560
EC DNA (5 μg/ml)	850	11,000	400	750
EC DNA (0.5 μ/ml)	500	ND	200	0
EC DNA (0.05 μg/ml)	62.5	10,000	15.6	0
EC DNA (50 μg/ml) + L-LME[2]	0	ND	ND	ND
EC DNA (50 μg/ml) Methyl.[3]	0	5	ND	ND
CT DNA (50 μg/ml)	0	600	0	0

[1]Levels of all cytokines were determined by ELISA using Quantikine kits from R&D Systems as described in the previous table. Results are representative using PBMC from different donors.
[2]Cells were pretreated for 15 min. with L-leucyl-L-leucine methyl ester (M-LME) to determine whether the cytokine production under these conditions was from monocytes (or other L-LME-sensitive cells).
[3]EC DNA was methylated using 2U/μg DNA of CpG methylase (New England Biolabs) according to the manufacturer's directions, and methylation confirmed by digestion with Hpa-II and Msp-I. As a negative control, samples were included containing twice the maximal amount of LPS contained in the highest concentration of EC DNA which failed to induce detectable cytokine production under these experimental conditions.
ND = not done

TABLE 7

CpG DNA induces cytokine expression in purified human macrophages

	IL-6 (pg/ml)	GM-CSF (pg/ml)	TNF-α(pg/ml)
Cells alone	0	0	0
CT DNA (50 μg/ml)	0	0	0
EC DNA (50 μg/ml)	2000	15.6	1000

TABLE 8

Induction Of NK Activity By CpG Oligodeoxynucleotides (ODN)

	% YAC-1 Specific Lysis* Effector: Target		% 2C11 Specific Lysis Effector: Target	
ODN	50:1	100:1	50:1	100:1
None	−1.1	−1.4	15.3	16.6
1	16.1	24.5	38.7	47.2
3Dd	17.1	27.0	37.0	40.0
non-CpG ODN	−1.6	−1.7	14.8	15.4

TABLE 9

Induction of NK Activity by DNA Containing CpG Motifs but not by Non-CpG DNA

			LU/10^6	
DNA or Cytokine Added			Mouse Cells	Human Cells
Expt. 1	None		0.00	0.00
	IL-2		16.68	15.82
	E.Coli. DNA		7.23	5.05
	Calf thymus DNA		0.00	0.00
Expt. 2	None		0.00	3.28
	1585 ggGGTCAACGTTGACggggg	(SEQ ID No.12)	7.38	17.98
	1629 -------gtc------	(SEQ ID No.50)	0.00	4.4
Expt. 3	None		0.00	
	1613 GCTAGACGTTAGTGT	(SEQ ID No.42)	5.22	
	1769 --------Z------	(SEQ ID No.52)	0.02	ND
	1619 TCCATGTCGTTCCTGATGCT	(SEQ ID No:38)	3.35	
	1765 -------Z---------	(SEQ ID No.53)	0.11	

CpG dinucleotides in ODN sequences are indicated by underlying; Z indicates methylcytosine. Lower case letters indicate nuclease resistant phosphorothioate modified internucleotide linkages which, in titration experiments, were more than 20 times as potent as non-modified ODN, depending on the flanking bases. Poly G ends (g) were used in some ODN, because they significantly increase the level of ODN uptake.

TABLE 10

ODN induction of NK Lytic Activity (LU)

ODN cells alone	Sequence (5'→3')	LU 0.01	
1754	ACCATGGACGATCTGTTTCCCCTC	0.02	SEQ ID NO: 59
1758	TCTCCCAGCGTGCGCCAT	0.05	SEQ ID NO: 45
1761	TACCGCGTGCGACCCTCT	0.05	SEQ ID NO: 60
1776	ACCATGGACGAACTGTTTCCCCTC	0.03	SEQ ID NO: 61
1777	ACCATGGACGAGCTGTTTCCCCTC	0.05	SEQ ID NO: 62
1778	ACCATGGACGACCTGTTTCCCCTC	0.01	SEQ ID NO: 63
1779	ACCATGGACGTACTGTTTCCCCTC	0.02	SEQ ID NO: 64
1780	ACCATGGACGGTCTGTTTCCCCTC	0.29	SEQ ID NO: 65
1781	ACCATGGACGTTCTGTTTCCCCTC	0.38	SEQ ID NO: 66
1823	GCATGACGTTGAGCT	0.08	SEQ ID NO: 6
1824	CACGTTGAGGGGCAT	0.01	SEQ ID NO: 67
1825	CTGCTGAGACTGGAG	0.01	SEQ ID NO: 68
1828	TCAGCGTGCGCC	0.01	SEQ ID NO: 69
1829	ATGACGTTCCTGACGTT	0.42	SEQ ID NO: 70
1930[2]	RANDON SEQUENCE	0.25	
1834	TCTCCCAGCGGGCGCAT	0.00	SEQ ID NO: 71
1836	TCTCCCAGCGCGCGCCAT	0.46	SEQ ID NO: 72
1840	TCCATGTCGTTCCTGTCGTT	2.70	SEQ ID NO: 73
1841	TCCATAGCGTTCCTAGCGTT	1.45	SEQ ID NO: 74
1842	TCGTCGCTGTCTCCGCTTCTT	0.06	SEQ ID NO: 75
1851	TCCTGACGTTCCTGACGTT	2.32	SEQ ID NO: 76

[1]Lytic units (LU) were measured as described (8). Briefly, PBMC were collected from normal donors and spun over Ficoll, then cultured with or without the indicated ODN (which were added to cultures at 6 μg/ml) for 24 hr. Then their ability to lyse ^{51}Cr-labeled K562 cells was determined. The results shown are typical of those obtained with several different normal human donors. [2]This oligo mixture contained a random selection of all 4 bases at each position.

TABLE 11

Induction of NK LU by Phosphorothioate CpG ODN with Good Motifs

ODN[1] cells alone	sequence (5'→3')	SEQ ID NO:	expt. 1 0.00	expt. 2 1.26	expt. 3 0.46
1840	TCCATGTCGTTCCTGTCGTT	73	2.33	ND	ND
1960	TCCTGTCGTTCCTGTCGTT	77	ND	0.48	8.99
1961	TCCATGTCGTTTTTGTCGTT	78	4.03	1.23	5.08
1962	TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	52	ND	1.60	5.74
1963	TCCTTGTCGTTCCTGTCGTT	79	3.42	ND	ND
1965	TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	53	0.46	0.42	3.48
1966	TCGTCGCTGTCTCCGCTTCTT	75	2.62	ND	ND
1967	TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	54	5.82	1.64	8.32
1968	TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	55	3.77	5.26	6.12
1979[2]	TCCATGTZGTTCCTGTZGTT		1.32	ND	ND
1982	TCCAGGACTTCTCTCAAGTT	79	0.05	ND	0.98
1990	TCCATGCGTGCGTGCGTTTT	80	2.10	ND	ND
1991	TCCATGCGTTGCGTTGCGTT	81	0.89	ND	ND
2002	TCCACGACGTTTTCGACGTT	82	4.02	1.31	9.79
2005	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	47	ND	4.22	12.75
2006	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGT	56	ND	6.17	12.82
2007	TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT	49	ND	2.68	9.66
2008	GCGTGCGTTGTCGTTGTCGTT	56	ND	1.37	8.15
2010	GCGGCGGCGGCGCGCGCCC	83	ND	0.01	0.05
2012	TGTCGTTTGTCGTTTGTCGTT	48	ND	2.02	11.61
2013	TGTCGTTGTCGTTGTCGTTGTCGTT	84	ND	0.56	5.22
2014	TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	60	ND	5.74	10.89
2015	TCGTCGTCGTCGTT	51	ND	4.53	10.13
2016	TGTCGTTGTCGTT	85	ND	6.54	8.06

[1]PBMC essentially as described herein. Results are representative of 6 separate experiments; each experiment represents a different donor.
[2]This is the methylated version of ODN 1840 (SEQ ID NO:83); Z = 5-methyl cytosine at residues 8 and 17; LU is lytic units; ND = not done; CpG dinucleotides are underlined for clarity

TABLE 12

Induction of human B cell proliferation by Phosphorothioate CpG ODN

ODN sequence (5' 3')	SEQ ID NO:	Stimulation Index[1] expt. 1	expt. 2	expt. 3	expt. 4	expt. 5	expt. 6
1840 TCCATGTCGTTCCTTGTCGTT	73	4	ND	ND	ND	ND	34
1841 TCCATAGCGTTCCTAGCGTT	74	3	ND	ND	ND	ND	ND

TABLE 12-continued

Induction of human B cell proliferation by Phosphorothioate CpG ODN

ODN sequence (5' 3')	SEQ ID NO:	Stimulation Index[1] expt. 1	expt. 2	expt. 3	expt. 4	expt. 5	expt. 6
1960 TCCTGTCGTTCCTGTCGTT	77	ND	2.0	2.0	3.6	ND	ND
1961 TCCATGTCGTTTTTGTCGTT	78	2	3.9	1.9	3.7	ND	37
1962 TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	52	ND	3.8	1.9	3.9	9.4	35
1963 TCCTTGTCGTTCCTGTCGTT	79	3	ND	ND	ND	ND	ND
1965 TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	53	4	3.7	2.4	4.7	6.0	43
1967 TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	54	ND	4.4	2.0	4.5	5.0	36
1968 TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	55	ND	4.0	2.0	4.9	8.7	38
1982 TCCAGGACTTCTCTCAGGTT	79	3	1.8	1.3	3.1	3.2	12
2002 TCCACGACGTTTTCGACGTT	86	ND	2.7	1.4	4.4	ND	14
2005 TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	47	5	3.2	1.2	3.0	7.5	37
2006 TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	46	4	4.5	2.2	5.8	8.3	40
2007 TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT	49	3	4.0	4.2	4.1	ND	22
2008 GCGTGCGTTGTCGTTGTCGTT	56	ND	3.0	2.4	1.6	ND	12
2010 GCGGCGGGCGGCGCGCGCCC	83	ND	1.6	1.9	3.2	ND	ND
2012 TGTCGTTTGTCGTTTGTCGTT	48	2	2.8	0	3.2	ND	33
2013 TGTCGTTGTCGTTGTCGTTGTCGTT	84	3	2.3	3.1	2.8	ND	7
2014 TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	50	3	2.5	4.0	3.2	6.7	14
2015 TCGTCGTCGTCGTT	51	5	1.8	2.6	4.5	9.4	1
2016 TGTCGTTGTCGTTT	85	ND	1.1	1.7	2.7	7.3	1

[1]Cells = human spleen cells stored at -70° C. after surgical harvest or PBMC collected from normal donors and spun over Ficoll. Cells were cultured in 96 well U-bottom microtiter plates with or without the indicated ODN (which were added to cultures at 6 μml). N = 12 experiments. Cells were cultured for 4–7 days, pulsed with 1 μCi of ^{3}H thymidine for 18 hr before harvest and scintillation counting. Stimulation index = the ratio of cpm in wells without ODN to that in wells that had been stimulated throughout the culture period with the indicated ODN (there were no further additions of ODN after the cultures were set up). ND = not done

TABLE 13

Induction of human IL-12 secretion by Phosphorothioate CpG ODN

ODN[1]	sequence (5'-3')	SEQ ID NO	IL-12 (pg/ml) expt. 1	expt. 2
cells alone			0	0
1962	TCCTGTCGTTCCTTGTCGTT	52	19	0
1965	TCCTGTCGTTTTTTGTCGTT	53	36	0
1967	TCGTCGCTGTCTGCCCTTCTT	54	41	0
1968	TCGTCGCTGTTGTCGTTTCTT	55	24	0
2005	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT	47	25	0
2006	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT	46	29	15

TABLE 13-continued

Induction of human IL-12 secretion by Phosphorothioate CpG ODN

ODN[1]	sequence (5'-3')	SEQ ID NO	IL-12 (pg/ml) expt. 1	expt. 2
2014	TGTCGTTGTCGTTGTCGTT	50	28	0
2015	TCGTCGTCGTCGTT	51	14	0
2016	TGTCGTTGTCGTT	85	3	0

[1]PBMC were collected from normal donors and spun over Ficoll, then cultured at 10^6 cells/well in 96 well microtiter plates with or without the indicated ODN which were added to cultures at 6 μg/ml. Supernatants were collected at 24 hr and tested for IL-12 levels by ELISA as described in methods. A standard curve was run in each experiment, which represents a different donor.

TABLE 14

Different CpG motifs stimulate optimal murine B cell and NK activation

ODN	Sequence		B cell activation[1]	NK activation[2]
1668	TCCATGACGTTCCTGATGCT	(SEQ.ID.NO:7)	42,849	2.52
1758	TCTCCCAGCGTGCGCCAT	(SEQ.ID.NO.45)	1,747	6.66
NONE			367	0.00

CpG dinucleotides are underlined; oligonucleotides were synthesized with phosphorothioate modified backbones to improve their nuclease resistance. [1]Measured by ^{3}H thymidine incorporation after 48 hr culture with oligodeoxynucleotides at a 200 nM concentration as described in Example 1. [2]Measured in lytic units.

TABLE 15

Specific blockade of CpG-induced TNF-α and IL-12 expression by inhibitors of endosomal acidification or NFκB activation

	Medium		Inhibitors: Bafilomycin (350 nM)		Chloroquine (2.5 μg/ml)		Monensin (10 μM)		NAC (50 mM)	TPCK (50 μM)	Gliotoxin (0.1 μg/ml)	Bisgliotoxin (0.1 μg/ml)
activators	TNF-α	IL-12	TNF-α	IL-12	TNF-α	IL-12	TNF-α	IL-12	TNF-α	TNF-α	TNF-α	TNF-α
Medium	37	147	46	102	27	20	22	73	30	24	17	41
CpG ODN	455	17,114	71	316	28	6	49	777	54	23	31	441
LPS	903	22,485	1370	4051	3025	12438	491	4796	437	46	178	3120

TABLE 15 legend IL-12 and TNF-α assays: The murine monocyte cell line 3774 (3×10^5 cells/ml for IL 12 or 1×10^6 cells/ml for TNF-α), were cultured with or without the indicated inhibitors at the concentrations shown for 2 hr and then stimulated with the CpG oligodeoxynucleotide (ODN) 1826 (TCCATGACGTTCCTGACGTT SEQ ID NO:10) at 2 μM or LPS (10 μg/ml) for 4 hr (TNF-α or 24 hr (IL-12) at which time the supernatant was harvested. ELISA for IL-12 or TNF-α (pg/ml) was performed on the supernatants essentially as described (A. K. Krieg, A.-K. Yi, S. Matson, T. J. Waldschmidt, G. A. Bishop, R. Teasdale, G. Koretzky and D. Klinman, Nature 374, 546 (1995); Yi A.-K., D. M. Klinman, T. L. Martin, S. Matson and A. M. Krieg, J Immunol., 157, 5394-5402 (1996); Krieg, A. M, J Lab. Clin. Med., 128, 128-133 (1996). Cells cultured with ODN that lacked CpG motifs did not induce cytokine secretion. Similar specific inhibition of CpG responses was seen with IL-6 assays, and in experiments using primary spleen cells or the B cell lines CH12.LX and WEHI-231. 2.5 μg/ml of chloroquine is equivalent to <5 μM. Other inhibitors of NF-κB activation including PDTC and calpain inhibitors I and II gave similar results to the inhibitors shown. The results shown are representative of those obtained in ten different experiments.

US 6,339,068 B1

TABLE 3

Plasmids containing immunostimulatory CpG motifs

Plasmid	Backbone	No. CpG, Motifs	Species Specificity and ODN Equivalence of CpG-S Insert
pMCG-16	pMAS	16	mouse-specific CpG motif
pMCG-30	pMAS	30	#1826[1]
pMCG-100	pMAS	100	
pMCG-200	pMAS	200	
pHCG-30	pMAS	30	human-specific CpG motif -
pHCG-50	pMAS	50	no ODN equivalent[2]
pECG-100	pMAS	100	
pECG-200	pMAS	200	
pHIS-40	pMAS	40	human-specific CpG motif

TABLE 3-continued

Plasmids containing immunostimulatory CpG motifs

Plasmid	Backbone	No. CpG, Motifs	Species Specificity and ODN Equivalence of CpG-S Insert
pHIS-64	pMAS	64	#2006[3]
pHIS-128	pMAS	128	
pHIS-192	pMAS	192	

[1]sequence of 1826 is TCCATGACGTTCCTGACGTT

[2]sequence used as a source of CpG motifs is GACTT CGTGTCGTTCTTCTGTCGTCTTTAGCGCTTCGCCTGCGTG CGTCCTTG(SEQ ID NO:14)

[3]sequence of 2006 is TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT(SEQ ID NO:3)

TABLE 4

Plasmids encoding hepatitis B surface antigen (derived from ayw or adw subtypes of HBV)

Plasmid	Backbone	Insert
pUK-S	pUK23-A2	HBV-S (ayw)
pUKAX-S	pUK23-AX*	HBV-S (ayw)
pMAS-S	pMAS	HBV-S (ayw)
pMCG16-S	pMCG-16	HBV-S (ayw)
pMCG50-S	pMCG-50	HBV-S (ayw)
pMCG100-S	pMCG-100	HBV-S (ayw)
pMCG200-S	pMCG-200	HBV-S (ayw)

TABLE 4-continued

Plasmids encoding hepatitis B surface antigen (derived from ayw or adw subtypes of HBV)

Plasmid	Backbone	Insert
pHCG30-S	pHCG-30	HBV-S (ayw)
pHCG50-S	pHCG-50	HBV-S (ayw)
pHCG100-S	pHCG-100	HBV-S (ayw)
pHCG200-S	pHCG-200	HBV-S (ayw)
pHS40-S(ad)	pHS-40	HBV-S (adw2)
pHS64-S(ad)	pHS-64	HBV-S (adw2)
pHS128-S(ad)	pHS-128	HBV-S (adw2)
pHS192-S(ad)	pHS-192	HBV-S (adw2)

*pUK23-AX was created by deleting f1 origin from pUK23-A

TABLE 6

	ODN used with plasmid DNA	
Backbone	ODN code number	Sequence
		(SEQ ID NO:51)
S-ODN	1826	TCCATGACGTTCCTGACGTT
		(SEQ ID NO:52)
	1628	GGGGTCAACGTTGAGGGGGG
		(SEQ ID NO:53)
	1911	TCCAGGACTTTCCTCAGGTT
		(SEQ ID NO:54)
	1982	TCCAGGACTTCTCTCAGGTT
		(SEQ ID NO:55)
	2017	CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
		(SEQ ID NO:56)
O-ODN	2061	TCCATGACGTTCCTGACGTT
		(SEQ ID NO:57)
	2001	GGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
		(SEQ ID NO:58)
SOS-ODN	1980	TCCATGACGTTCCTGACGTT
		(SEQ ID NO:59)
	1585	GGGTCAACGTTGAGGGGGG
		(SEQ ID NO:60)
	1844	TCTCCCAGCGTGCGCCATAT
		(SEQ ID NO:61)
	1972	GGGGTCTGTGCTTTTGGGGGG
		(SEQ ID NO:62)
	2042	TCAGGGGTGGGGGGAACCTT
		(SEQ ID NO:63)
	1981	GGGGTTGACGTTTTGGGGGG
		(SEQ ID NO:64)
	2019	TCTAGCGTTTTTAGCGTTCC
		(SEQ ID NO:65)
	2021	TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT
		(SEQ ID NO:66)
	2022	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
		(SEQ ID NO:67)
	2023	TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT

Note: (SEQ ID NO: 51~67, respectively)

TABLE 10

Inhibitory CpG motifs can block B cell proliferation induced by a stimulatory CpG motif

Oligonucleotide added	cpm
medium	194
1668 (TCCATGACGTTCCTGATGCT)(SEQ ID NO:68)	34,669
1668 + 1735 (GCGTTTTTTTTTGCG)(SEQ ID NO:69)	24,452
1720 (TCCATGAGCTTCCTGATGCT)(SEQ ID NO:70)	691
1720 + 1735	1109

TABLE 11

Inhibitory effects of "bad" CpG motifs on the "good" CpG Oligo 1619

Oligonucleotide added	IL-12 in pg/ml
medium	0
1619 alone	6
1619 + 1949 (TCCATGTCGTTCCTGATGCG(SEQ ID NO:72))	16
1619 + 1952 (TCCATGTCGTTCCGCGCGCG(SEQ ID NO:73))	0
1619 + 1953 (TCCATGTCGTTCCTGCCGCT(SEQ ID NO:74))	0
1619 + 1955 (GCGGCGGGCGGCGCGCGCCC(SEQ ID NO:75))	0

Notes:
The sequence of oligo 1619 is TCCATGTCGTTCCTGATGCT (SEQ ID NO:71)
1949 has only 1 GCG at the 3' end, which has essentially no inhibitory activity

TABLE 13

Identification of neutralizing CpG motifs which reduce the induction of cytokine secretion by a CpG-S motif in the same ODN (cis-neutralization)

ODN sequence 5'-3'[1]		ODN-induced cytokine expression[2] IL-6[2]	IL-12	IFN-γ
None		<5	206	898
1619 TCCATGTCGTTCCTGATGCT	(SEQ ID NO:71)	1405	3130	4628
1952 ....GCGCGCG	(SEQ ID NO:73)	559	1615	2135
1953 ....CC...	(SEQ ID NO:74)	557	1854	2000

[1]Dots in the sequence of ODN 1952 and 1953 indicate identity to ODN 1619; CpG dinucleotides are underlined for clarity. ODN without CpG-N or CpG-S motifs had little or no effect on cytokine production. The data shown are representative of 4 experiments.
[2]All cytokines are given in pg/ml; measured by ELISA on supernatants from DBA/2 spleen cells cultured in 96 well plates at 2 × 10^7 cells/ml for 24 hr with the indicated ODN at 30 μg/ml. Std. dev. of the triplicate wells was <7%. None of the ODN induced significant amounts of IL-5.

TABLE 14

Inhibition of CpG-induced cytokine secretion by ODN containing CpG-N motifs

ODN sequence 5'-3'		IL-12 secretion[1]	CpG-S-induced IL-12 secretion[2]
none		268	5453
1895 GCGCGCGCGCGCGCGCGCGC	(SEQ ID NO:76)	123	2719
1896 CGGGCGGGCGGGCGGGCGGG	(SEQ ID NO:77)	292	2740
1955 GCGGCGGGCGGCGCGCGCCC	(SEQ ID NO:75)	270	2939
2037 TCCATGCCGTTCCTGCCGTT	(SEQ ID NO:78)	423	2847

[1]BALB/c spleen cells were cultured in 96 well plates at 2 × 10^7 cells/ml with the indicated ODN for 24 hr and then the supernatants were assayed for IL-12 by ELISA (pg/ml).
[2]Cells were set up the same as in [1] except that IL-12 secretion was induced by the addition of the CpG ODN 1619 (TCCATGTCGTTCCTGATGCT) at 30 μg/ml. The data shown are representative of 5 experiments.

添付資料 (C)

代表的なヒトmiRNA配列

>hsa-let-7a-1 MI0000060UGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUAGGGUCACACCCACCACUGGGAGAUAACUAUACAAUCUACUGUCUUUCCUA>hsa-let-7a-2 MI0000061AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUACAUCAAGGGAGAUAACUGUACAGCCUCCUAGCUUUCCU>hsa-let-7a-3 MI0000062GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUGGGGCUCUGCCCUGCUAUGGGAUAACUAUACAAUCUACUGUCUUUCCU>hsa-let-7b MI0000063CGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGAUGUUGCCCCUCGGAAGAUAACUAUACAACCUACUGCCUUCCCUG>hsa-let-7c MI0000064GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUAGAGUUACACCCUGGGAGUUAACUGUACAACCUUCUAGCUUUCCUUGGAGC>hsa-let-7d MI0000065CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUUAGGGCAGGGAUUUUGCCCACAAGGAGGUAACUAUACGACCUGCUGCCUUUCUUAGG>hsa-let-7e MI0000066CCCGGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGAGGACACCCAAGGAGAUCACUAUACGGCCUCCUAGCUUUCCCCAGG>hsa-let

-7f-1 MI0000067UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUGAUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAACUA
UACAAUCUAUUGCCUUCCCUGA>hsa-let-7f-2 MI0000068UGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUUAGGG
UCAUACCCCAUCUUGGAGAUAACUAUACAGUCUACUGUCUUUCCCACG>hsa-let-7g MI0000433AGGCUGAGGUA
GUAGUUUGUACAGUUUGAGGGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUAACUGUACAGGCCACUGCCUUGCCA>hsa-le
t-7i MI0000434CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACAUUGCCCGCUGUGGAGAUAACUGCG
CAAGCUACUGCCUUGCUA>hsa-mir-1-1 MI0000651UGGGAAACAUACUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACCUGCUA
AGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA>hsa-mir-1-2 MI0000437ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAU
GUACCCAUAUGAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAGGC>hsa-mir-7-1 MI0000263
UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGUUUUUAGAUAACUAAAUCGACAACAAAUCACAGUC
UGCCAUAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG>hsa-mir-7-2 MI0000264CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCC
AUCUGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGUUGUCUUACUGCGCUCAACAACAAAUCCCAGUCUACCUAAUGGUGCCAGCCAUCG
CA>hsa-mir-7-3 MI0000265AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGUUCU
GAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCGGCCUCAUAGCGCAGACUCCCUUCGAC>hsa-mir-9-1 MI0000466CGGG
GUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAACCGAAAGUAAAAAUAA
CCCCA>hsa-mir-9-2 MI0000467GGAAGCGAGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCUUCA
UAAAGCUAGAUAACCGAAAGUAAAAACUCCUUCA>hsa-mir-9-3 MI0000468GGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGUU
AUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAACCGAAAGUAGAAAUGAUUCUCA>hsa-mir-10a M
I0000266GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUUCGUA
UCUAGGGGAAUAUGUAGUUGACAUAAACACUCCGCUCU>hsa-mir-10b MI0000267CCAGAGGUUGUAACGUUGUC
UAUAUAUACCCUGUAGAACCGAAUUUGUGUGGUAUCCGUAUAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGGAAUAUAUGGUCGAUGC
AAAAACUUCA>hsa-mir-15a MI0000069CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGG
UGCAGGCCAUAUUGUGCUGCCUCAAAAAUACAAGG>hsa-mir-15b MI0000438UUGAGGCCUUAAAGUACUGUAGC
AGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUUAUUUGCUGCUCUAGAAAUUUAAGGAAAUUCAU>hsa-
mir-16-1 MI0000070GUCAGCAGUGCCUUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAUUCUAAAAUUAUCUCCAGUAU
UAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGUUGAC>hsa-mir-16-2 MI0000115GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGC
GUAGUGAAAUAUAUAUUAAACACCAAUAUUACUGUGCUGCUUUAGUGUGAC>hsa-mir-17 MI0000071GUCAGAAU
AAUGUCAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUAUGUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGAC>hsa
-mir-18a MI0000072UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUC
CUUCUGGCA>hsa-mir-18b MI0001518UGUGUUAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAGUGAAGCAGCUUAGAAUCUACU
GCCCUAAAUGCCCCUUCUGGCA>hsa-mir-19a MI0000073GCAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAA
GAAGAAUGUAGUUGUGCAAAUCUAUGCAAAACUGAUGGUGGCCUGC>hsa-mir-19b-1 MI0000074CACUGUUCUA
UGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUAUUCUGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGACUGUGGUAGUG>hs
a-mir-19b-2 MI0000075ACAUUGCUACUUACAAUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAUAUAUGUAUAUGUG
GCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGAUUGUGAUAAUGU>hsa-mir-20a MI0000076GUAGCACUAAAGUGCUUAUAG
UGCAGGUAGUGUUUAGUUAUCUACUGCAUUAUGAGCACUUAAAGUACUGC>hsa-mir-20b MI0001519AGUACCAA
AGUGCUCAUAGUGCAGGUAGUUUUGGCAUGACUCUACUGUAGUAUGGGCACUUCCAGUACU>hsa-mir-21 MI00000
77UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA>hsa-m
ir-22 MI0000078GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUAUGUCCUGACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUG
AAGAACUGUUGCCCUCUGCC>hsa-mir-23a MI0000079GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUG
UCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUUCCAACCGACC>hsa-mir-23b MI0000439CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGG
UUCCUGGCAUGCUGAUUUGUGACUUAAGAUUAAAAUCACAUUGCCAGGGAUUACCACGCAACCACGACCUUGGC>hsa-m
ir-23c MI0016010AGUGACUUUCCAGGUGUCACACAGUGAGUGGCAUAAUCAGAGUACAAUUUGAGUCAUGCCCAUA
CAUCACAUUGCCAGUGAUUACCCAAGGAAAGUGACG>hsa-mir-24-1 MI0000080CUCCGGUGCCUACUGAGCUGA
UAUCAGUUCUCAUUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG>hsa-mir-24-2 MI0000081CUCUGCCUCC
CGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG>hsa-mir-25 MI000
0082GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGCUGCCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAG
UGCCGGCC>hsa-mir-26a-1 MI0000083GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCCAAUGGG
CCUAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC>hsa-mir-26a-2 MI0000750GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAG
GAUAGGCUGUUUCCAUCUGUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU>hsa-mir-26b MI0000084C
CGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGUCCAGCCUGUUCUCCAUUACUUGGCUCGGGGACCGG>hsa

-mir-27a MI0000085CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCU
AAGUUCCGCCCCCCAG>hsa-mir-27b MI0000440ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAG
UGAUUGGUUUCCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCUGAAGAGAAGGUG>hsa-mir-28 MI0000086GGUC
CUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACCUUUCUGACUUUCCCACUAGAUUGUGAGCUCCUGGAGGGCAGGCA
CU>hsa-mir-29a MI0000087AUGACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUAUAAUUUUCUAGCACCAUCUGAAA
UCGGUUAU>hsa-mir-29b-1 MI0000105CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAGUGAUUG
UCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG>hsa-mir-29b-2 MI0000107CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUG
GUGGCUUAGAUUUUUCCAUCUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG>hsa-mir-29c MI0000735
AUCUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUGGUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGUUAUGAUG
UAGGGGGA>hsa-mir-30a MI0000088GCGACUGUAAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGAUGGGCUUU
CAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC>hsa-mir-30b MI0000441ACCAAGUUUCAGUUCAUGUAAACAUCCUACACUCAGC
UGUAAUACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACUUGGA>hsa-mir-30c-1 MI0000736ACCAU
GCUGUAGUGUGUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGAGCUCAAGGUGGCUGGGAGAGGGUUGUUUACUCCUUCUGCCA
UGGA>hsa-mir-30c-2 MI0000254AGAUACUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAGAAAGCUGGGA
GAAGGCUGUUUACUCUUUCU>hsa-mir-30d MI0000255GUUGUUGUAAACAUCCCCGACUGGAAGCUGUAAGACAC
AGCUAAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC>hsa-mir-30e MI0000749GGGCAGUCUUUGCUACUGUAAACAUC
CUUGACUGGAAGCUGUAAGGUGUUCAGAGGAGCUUUCAGUCGGAUGUUUACAGCGGCAGGCUGCCA>hsa-mir-31 MI
0000089GGAGAGGAGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAACCUGCUAUGCCAACAUAUUGCCAUCUUUCC>h
sa-mir-32 MI0000090GGAGAUAUUGCACAUUACUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUCAAUGCAAUUUAGUGUGUGU
GAUAUUUUC>hsa-mir-33a MI0000091CUGUGGUGCAUUGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCCAUGCAAU
GUUUCCACAGUGCAUCACAG>hsa-mir-33b MI0003646GCGGGCGGCCCCGCGGUGCAUUGCUGUUGCAUUGCACG
UGUGUGAGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGCAGCCCGGAGCCGGCCCCUGGCACCAC>hsa-mir-34a MI0000268
GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGUUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACU
GCCCUAGAAGUGCUGCACGUUGUGGGGCCC>hsa-mir-34b MI0000742GUGCUCGGUUUGUAGGCAGUGUCAUUAG
CUGAUUGUACUGUGGUGGUUACAAUCACUAACUCCACUGCCAUCAAAACAAGGCAC>hsa-mir-34c MI0000743AG
UCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGCUAAUAGUACCAAUCACUAACCACACGGCCAGGUAAAAAGAUU>hsa-
mir-92a-1 MI0000093CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCUGUGUUUCUGUAUGGUAUUGCACUUGUCC
CGGCCUGUUGAGUUUGG>hsa-mir-92a-2 MI0000094UCAUCCCUGGGUGGGGAUUUGUUGCAUUACUUGUGUUCU
AUAUAAAGUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUGGAAGA>hsa-mir-92b MI0003560CGGGCCCCGGGCGGGCGGGAGG
GACGGGACGCGGUGCAGUGUUGUUUUUUCCCCCGCCAAUAUUGCACUCGUCCCGGCCUCCGGCCCCCCCGGCCC>hsa-m
ir-93 MI0000095CUGGGGGCUCCAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUACCCAACCUACUGCUGAGCUAGCAC
UUCCCGAGCCCCCGG>hsa-mir-95 MI0000097AACACAGUGGGCACUCAAUAAAUGUCUGUUGAAUUGAAAUGCGU
UACAUUCAACGGGUAUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG>hsa-mir-96 MI0000098UGGCCGAUUUUGGCACUAGCAC
AUUUUUGCUUGUGUCUCUCCGCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCAAUAUGGGAAA>hsa-mir-98 MI0000100AGG
AUUCUGCUCAUGCCAGGGUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGGUAGGGAUAUUAGGCCCCAAUUAGAAGAUAACUAU
ACAACUUACUACUUUCCCUGGUGUGUGGCAUAUUCA>hsa-mir-99a MI0000101CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGA
UCCGAUCUUGUGGUGAAGUGGACCGCACAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUGUGUCAGUGUG>hsa-mir-99b MI000074
6GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGGCCUUCGCCGCACACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC>hsa-mir-
100 MI0000102CCUGUUGCCACAAACCCGUAGAUCCGAACUUGUGGUAUUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGUA
UGUGUCUGUUAGG>hsa-mir-101-1 MI0000103UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAUUCUAA
AGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGGAUGGCA>hsa-mir-101-2 MI0000739ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGG
UACCGAUGCUGUAUAUCUGAAAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGUGGU>hsa-mir-103a-1 MI0000109
UACUGCCCUCGGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUGGAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG>h
sa-mir-103a-2 MI0000108UUGUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUCAGGUCAAGCAGCAUUG
UACAGGGCUAUGAAAGAACCA>hsa-mir-103b-1 MI0007261UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCUUGAUCCAUAUG
CAACAAGGCAGCACUGUAAAGAAGCCGA>hsa-mir-103b-2 MI0007262UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCUUGAC
CUGAAUGCUACAAGGCAGCACUGUAAAGAAGCUGA>hsa-mir-105-1 MI0000111UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCU
CAGACUCCUGUGGUGGCUGCUCAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA>hsa-mir-105-2 MI000
0112UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCUUAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGU
GUCUA>hsa-mir-106a MI0000113CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUGAGAUCUACUG

CAAUGUAAGCACUUCUUACAUUACCAUGG>hsa-mir-106b MI0000734CCUGCCGGGGCUAAAGUGCUGACAGUGC
AGAUAGUGGUCCUCUCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG>hsa-mir-107 MI0000114CUCU
CUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUGGAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA>hs
a-mir-122 MI0000442CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUAAACUAUCAAACGCCAUUAU
CACACUAAAUAGCUACUGCUAGGC>hsa-mir-124-1 MI0000443AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUU
GAUUUAAAUGUCCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCUG>hsa-mir-124-2 MI0000444AUC
AAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAA
GAGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAA>hsa-mir-124-3 MI0000445UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGAC
CUUGAUUUAAUGUCUAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGCGCCUCC>hsa-mir-125a MI0000469
UGCCAGUCUCUAGGUCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGAGGACAUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGCGU
CUGGCC>hsa-mir-125b-1 MI0000446UGCGCUCCUCUCAGUCCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUACCGUUUA
AAUCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCGUGCU>hsa-mir-125b-2 MI0000470ACCAGACUUUUCCUAG
UCCCUGAGACCCUAACUUGUGAGGUAUUUUAGUAACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCGGAGGGGA>hsa-mi
r-126 MI0000471CGCUGGCGACGGGACAUUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUUCAAACUCGUACCGUGAGUA
AUAAUGCGCCGUCCACGGCA>hsa-mir-127 MI0000472UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGC
UCUGAUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGC
UGGUCGGAAGUCUCAUCAUC>hsa-mir-128-1 MI0000447UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAG
AGGUUUACAUUUCUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGCUGCUUC>hsa-mir-128-2 MI0000727UGUGCAGUGG
GAAGGGGGGCCGAUACACUGUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGAACCGGUCUCUUUCCCUACUGUGUC>hsa-m
ir-129-1 MI0000252GGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUUCCUCUCAACAGUAGUCAGGAAGCCCUUACCCCA
AAAAGUAUCU>hsa-mir-129-2 MI0000473UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUACAUAACU
CAAUAGCCGGAAGCCCUUACCCCAAAAAGCAUUUGCGGAGGGCG>hsa-mir-130a MI0000448UGCUGCUGGCCAG
AGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGCACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAUUGGCCGUGUAGUG>hsa
-mir-130b MI0000748GGCCUGCCCGACACUCUUUCCCUGUUGCACUACUAUAGGCCGCUGGGAAGCAGUGCAAUGA
UGAAAGGGCAUCGGUCAGGUC>hsa-mir-132 MI0000449CCGCCCCCGCGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAU
UGUUACUGUGGGAACUGGAGGUAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCCCGCAGCACGCCCACGCGC>hsa-mir-133a-1
MI0000450ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAUCGCCUCUUCAAUGGAUUUGGUCCCCUUCAACCAG
CUGUAGCUAUGCAUUGA>hsa-mir-133a-2 MI0000451GGGAGCCAAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAAC
CAAAUCGACUGUCCAAUGGAUUUGGUCCCCUUCAACCAGCUGUAGCUGUGCAUUGAUGGCGCCG>hsa-mir-133b MI
0000822CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUUCCUGAGAGGUUUGGUCC
CCUUCAACCAGCUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA>hsa-mir-134 MI0000474CAGGGUGUGUGA
CUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUUCACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCUC>hsa-mir-135a-1 MI0
000452AGGCCUCGCUGUUCUCUAUGGCUUUUUAUUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUG
GCGCACGGCGGGGACA>hsa-mir-135a-2 MI0000453AGAUAAAUUCACUCUAGUGCUUUAUGGCUUUUUAUUCCU
AUGUGAUAGUAAUAAAGUCUCAUGUAGGGAUGGAAGCCAUGAAAUACAUUGUGAAAAAUCA>hsa-mir-135b MI000
0810CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCUUUUCAUUCCUAUGUGAUUGCUGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGG
CUACAGUGAGGGGCGAGCUCC>hsa-mir-136 MI0000475UGAGCCCUCGGAGGACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA
UUCUUAUGCUCCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU>hsa-mir-137 MI0000454GGUCCUCUGACUC
UCUUCGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUUACGUUGUUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAGUCGAGGAGAGUA
CCAGCGGCA>hsa-mir-138-1 MI0000476CCCUGGCAUGGUGUGGUGGGGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGUU
GCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCCACACCACACUACAGG>hsa-mir-138-2 MI0000455CGUU
GCUGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCUUACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUGCAUCA
>hsa-mir-139 MI0000261GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGCUGGAGACGCGGCCCUG
UUGGAGUAAC>hsa-mir-140 MI0000456UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUA
CGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGAUACCGGGGCACC>hsa-mir-141 MI0000457CGGCCG
GCCCUGGGUCCAUCUUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAAGCUCCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUCCCG
GGUGGGUUC>hsa-mir-142 MI0000458GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAACAGCACUGGAG
GGUGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGAUGAGUGUACUGUG>hsa-mir-143 MI0000459GCGCAGCGCCCUGUCUCCCA
GCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUC
UGCAGC>hsa-mir-144 MI0000460UGGGGCCCUGGCUGGGAUAUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACACU

ACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCCCC>hsa-mir-145 MI0000461CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUU
UCCCAGGAAUCCCUUAGAUGCUAAGAUGGGGAUUCCUGGAAAUACUGUUCUUGAGGUCAUGGUU>hsa-mir-146a MI
0000477CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUUCCAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAAUUCAGUUC
UUCAGCUGGGAUAUCUCUGUCAUCGU>hsa-mir-146b MI0003129CCUGGCACUGAGAACUGAAUUCCAUAGGCUG
UGAGCUCUAGCAAUGCCCUGUGGACUCAGUUCUGGUGCCCGG>hsa-mir-147a MI0000262AAUCUAAAGACAACA
UUUCUGCACACACACCAGACUAUGGAAGCCAGUGUGUGGAAAUGCUUCUGCUAGAUU>hsa-mir-147b MI0005544
UAUAAAUCUAGUGGAAACAUUUCUGCACAAACUAGAUUCUGGACACCAGUGUGCGGAAAUGCUUCUGCUACAUUUUUAGG
>hsa-mir-148a MI0000253GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAAGUCAGUGCACUACAG
AACUUUGUCUC>hsa-mir-148b MI0000811CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCAGGC
UGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGUCUCGAAAGCUUUCUA>hsa-mir-149 MI0000478GCCGG
CGCCCGAGCUCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGGCUGUGCUGGGGCAGC
UGGA>hsa-mir-150 MI0000479CUCCCCAUGGCCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUCAGACCCUGG
UACAGGCCUGGGGGACAGGGACCUGGGGAC>hsa-mir-151a MI0000809UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUC
UAGUAUGUCUCAUCCCCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGGGAUGGUCAUACUCACCUC>hsa-mir-151b MI0
003772ACCUCUGAUGUGUCAGUCUCUCUUCAGGGCUCCCGAGACACAGAAACAGACACCUGCCCUCGAGGAGCUCACAG
UCUAGACAAACAAACCCAGGGU>hsa-mir-152 MI0000462UGUCCCCCCCGGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGA
CUCGGGCUCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCGGAAGGACC>hsa-mir-153-1 MI0000463CUCAC
AGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAUUCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGGU
GUGGC>hsa-mir-153-2 MI0000464AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUAUGAGCCCA
GUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACUGUG>hsa-mir-154 MI0000480GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAU
CCGUGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA>hsa-mir-155 MI000
0681CUGUUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGACUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG>hsa-mir-18
1a-1 MI0000289UGAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGAAUUAAAAUCAAAACC
AUCGACCGUUGAUUGUACCCUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCCA>hsa-mir-181a-2 MI0000269AGAAGGGCUAU
CAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAUUUGAAAAAACCACUGACCGUUGA
CUGUACCUUGGGGUCCUUA>hsa-mir-181b-1 MI0000270CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUUAAAAGGUCACAAUCA
ACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAACAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCGCUU>hsa-m
ir-181b-2 MI0000683CUGAUGGCUGCACUCAACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUUGAGUCUGAAUCAACUCACUGA
UCAAUGAAUGCAAACUGCGGACCAAACA>hsa-mir-181c MI0000271CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGGAAC
AUUCAACCUGUCGGUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGGACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCAUCC
U>hsa-mir-181d MI0003139GUCCCCUCCCCUAGGCCACAGCCGAGGUCACAAUCAACAUUCAUUGUUGUCGGUGG
GUUGUGAGGACUGAGGCCAGACCCACCGGGGGAUGAAUGUCACUGUGGCUGGGCCAGACACGGCUUAAGGGGAAUGGGGA
C>hsa-mir-182 MI0000272GAGCUGCUUGCCUCCCCCCGUUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUGAGGUAAC
AGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC>hsa-mir-183 MI0000273CCGCA
GAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGGUAGAAUUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUGAAUUACCGAAGGGCCAU
AAACAGAGCAGAGACAGAUCCACGA>hsa-mir-184 MI0000481CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUUCCAGCCCA
GCUUUGUGACUGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAGGGUAGGUGAUUGA>hsa-mir-185 MI0000482AGGGGGC
GAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCCUGAUGGUCCCCUCCCCCAGGGGCUGGCUUUCCUCUGGUCCUUCCCUCCCA>hsa-
mir-186 MI0000483UGCUUGUAACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGGUUUUAUUUUAAGCCCAAAGGU
GAAUUUUUUGGGAAGUUUGAGCU>hsa-mir-187 MI0000274GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACCUCGG
GCUACAACACAGGACCCGGGCGCUGCUCUGACCCCUCGUGUCUUGUGUUGCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA>hsa-m
ir-188 MI0000484UGCUCCCUCUCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAACCCCUCCCACAUGC
AGGGUUUGCAGGAUGGCGAGCC>hsa-mir-190a MI0000486UGCAGGCCUCUGUGUGAUAUGUUUGAUAUAUUAGG
UUGUUAUUUAAUCCAACUAUAUAUCAAACAUAUUCCUACAGUGUCUUGCC>hsa-mir-190b MI0005545UGCUUCU
GUGUGAUAUGUUUGAUAUUGGGUUGUUUAAUUAGGAACCAACUAAAUGUCAAACAUAUUCUUACAGCAGCAG>hsa-mir
-191 MI0000465CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGCAUUCCAGCUGCGCUU
GGAUUUCGUCCCCUGCUCUCCUGCCU>hsa-mir-192 MI0000234GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAU
GAAUUGACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCCAUAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUCAAUGCCAGC>h
sa-mir-193a MI0000487CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUG
GCCUACAAAGUCCCAGUUCUCGGCCCCCG>hsa-mir-193b MI0003137GUGGUCUCAGAAUCGGGGUUUUGAGGGC

GAGAUGAGUUUAUGUUUUAUCCAACUGGCCCUCAAAGUCCCGCUUUUGGGGUCAU>hsa-mir-194-1 MI0000488A
UGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUUCCAGUGGAGAUGCUGUUACUUUUGAUGGUUA
CCAA>hsa-mir-194-2 MI0000732UGGUUCCCGCCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUGCCCACUGGUUCC
AGUGGGGCUGCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCAG>hsa-mir-195 MI0000489AGCUUCCCUGGCUCUAGCAGCACAG
AAAUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCCAGGCAGGGUGGUG>hsa-mir-196a-1 MI
0000238GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAACAUUAAACCACCCGAUUCAC>hs
a-mir-196a-2 MI0000279UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGAUUGAGUUUUGA
ACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGUUACAUCAGUCGGUUUUCGUCGAGGGC>hsa-mir-196b MI0001150ACUGG
UCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCACCUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG>
hsa-mir-197 MI0000239GGCUGUGCCGGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCUUCACCCUUCACCACCUUC
UCCACCCAGCAUGGCC>hsa-mir-198 MI0000240UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUUCCUU
CUUCUCUAUAGAAUAAAUGA>hsa-mir-199a-1 MI0000242GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGC
UCUCAAUGUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC>hsa-mir-199a-2 MI0000281AGGAAGCUUCUGGAGAUCC
UGCUCCGUCGCCCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGACAAUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGACUGGGC
AAGGGAGAGCA>hsa-mir-199b MI0000282CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAUCUGU
UCAGGACUCCCAAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG>hsa-mir-200a MI
0000737CCGGGCCCCUGUGAGCAUCUUACCGGACAGUGCUGGAUUUCCCAGCUUGACUCUAACACUGUCUGGUAACGAU
GUUCAAAGGUGACCCGC>hsa-mir-200b MI0000342CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUUACUGGGCAGCAUUG
GAUGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGCGGAGCCCUGCACG>hsa-mir-200c MI0000650CC
CUCGUCUUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCUCUAAUACUGCCGGGUAAUGAUGGAGG>hsa-mir-202 M
I0003130CGCCUCAGAGCCGCCCGCCGUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCUAAAGAGGUAUA
GGGCAUGGGAAAACGGGGCGGUCGGGUCCUCCCCAGCG>hsa-mir-203 MI0000283GUGUUGGGGACUCGCGCGCU
GGGUCCAGUGGUUCUUAACAGUUCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACUAGACCCGGCGGGCGCG
GCGACAGCGA>hsa-mir-204 MI0000284GGCUACAGUCUUUCUUCAUGUGACUCGUGGACUUCCCUUUGUCAUCCU
AUGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAGGCAAAGGGACGUUCAAUUGUCAUCACUGGC>hsa-mir-205 MI000
0285AAAGAUCCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUUCAUUCCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUC
AGUGGAGUGAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA>hsa-mir-206 MI0000490UGCUUCCCGAGGCCACAUGCUUCU
UUAUAUCCCCAUAUGGAUUACUUUGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUCGGCAAGUG>hsa-mir-208a MI00
00251UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGAUGCUCACGUAUAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA>hsa
-mir-208b MI0005570CCUCUCAGGGAAGCUUUUUGCUCGAAUUAUGUUUCUGAUCCGAAUAUAAGACGAACAAAAG
GUUUGUCUGAGGGCAG>hsa-mir-210 MI0000286ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCG
CACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUGACAGCGGCUGAUCUGUGCCUGGGCAGCGCGACCC>hsa-mir-211
MI0000287UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGCUUCCCUUUGUCAUCCUUCGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGAC
AGCAAAGGGGUGCUCAGUUGUCACUUCCCACAGCACGGAG>hsa-mir-212 MI0000288CGGGGCACCCCGCCCGGA
CAGCGCGCCGGCACCUUGGCUCUAGACUGCUUACUGCCCGGGCCGCCCUCAGUAACAGUCUCCAGUCACGGCCACCGACG
CCUGGCCCCGCC>hsa-mir-214 MI0000290GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACACUUGC
UGUGCAGAACAUCCGCUCACCUGUACAGCAGGCACAGACAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU>hsa-mir-215 MI0
000291AUCAUUCAGAAAUGGUAUACAGGAAAAUGACCUAUGAAUUGACAGACAAUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUC
UUUAGGCCAAUAUUCUGUAUGACUGUGCUACUUCAA>hsa-mir-216a MI0000292GAUGGCUGUGAGUUGGCUUAA
UCUCAGCUGGCAACUGUGAGAUGUUCAUACAAUCCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGCUAAACAGAGCAAUUUCCUAG
CCCUCACGA>hsa-mir-216b MI0005569GCAGACUGGAAAAUCUCUGCAGGCAAAU
GUGAUGUCACUGAGGAAAUCACACACUUACCCGUAGAGAUUCUACAGUCUGACA>hsa-mir-217 MI0000293AGUA
UAAUUAUUACAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAUACUGCAUCAGGAACUGAUUGGAUAAGAAUCAGUCACCAUCAGUUCCUAA
UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAAACAAG>hsa-mir-218-1 MI0000294GUGAUAAUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUGC
UUGAUCUAACCAUGUGGUUGCGAGGUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUCAAGCACCAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA
>hsa-mir-218-2 MI0000295GACCAGUCGCUGCGGGGCUUUCCUUUGUGCUUGAUCUAACCAUGUGGUGGAACGAU
GGAAACGGAACAUGGUUCUGUCAAGCACCGCGGAAAGCACCGUGCUCUCCUGCA>hsa-mir-219-1 MI0000296CC
GCCCCGGGCCGCGGCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCGAGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCC
GAGCCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG>hsa-mir-219-2 MI0000740ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCA
AACGCAAUUCUUGUACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAAUUGUGGCUGGACAUCUGUGGCUGAGCUCCGGG>hsa-mir-22

1 MI0000298UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCUGGCAUACAAUGUAGAUUUCUGUGUUCGUUAGGCAACAGCUA
CAUUGUCUGCUGGGUUUCAGGCUACCUGGAAACAUGUUCUC>hsa-mir-222 MI0000299GCUGCUGGAAGGUGUAG
GUACCCUCAAUGGCUCAGUAGCCAGUGUAGAUCCUGUCUUUCGUAAUCAGCAGCUACAUCUGGCUACUGGGUCUCUGAUG
GCAUCUUCUAGCU>hsa-mir-223 MI0000300CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCCGUGUAUUUGACAAGCUGAG
UUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAAUACCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG>hsa-mir-224 MI
0000301GGGCUUUCAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGUGCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUA
CAAAGCCC>hsa-mir-296 MI0000747AGGACCCUUCCAGAGGGCCCCCCCUCAAUCCUGUUGUGCCUAAUUCAGAG
GGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU>hsa-mir-297 MI0005775UGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUAUG
UGUAUAUACAUAUAUAUGUAUUAUGUACUCAUAUAUCA>hsa-mir-298 MI0005523UCAGGUCUUCAGCAGAAGCA
GGGAGGUUCUCCCAGUGGUUUUCCUUGACUGUGAGGAACUAGCCUGCUGCUUUGCUCAGGAGUGAGCU>hsa-mir-299
MI0000744AAGAAAUGGUUUACCGUCCCACAUACAUUUUGAAUAUGUAUGUGGGAUGGUAAACCGCUUCUU>hsa-mi
r-300 MI0005525UGCUACUUGAAGAGAGGUAAUCCUUCACGCAUUUGCUUUACUUGCAAUGAUUAUACAAGGGCAGA
CUCUCUCUGGGGAGCAAA>hsa-mir-301a MI0000745ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUAC
UUUACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGCAUCUGAAAGCAGG>hsa-mir-301b MI0005568GCCGCAGGUG
CUCUGACGAGGUUGCACUACUGUGCUCUGAGAAGCAGUGCAAUGAUAUUGUCAAAGCAUCUGGGACCA>hsa-mir-302
a MI0000738CCACCACUUAAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG
>hsa-mir-302b MI0000772GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUAAAAGUAAGUGCUUCC
AUGUUUUAGUAGGAGU>hsa-mir-302c MI0000773CCUUUGCUUUAACAUGGGGGUACCUGCUGUGUGAAACAAAA
GUAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG>hsa-mir-302d MI0000774CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGU
GACAUGACAAAAAUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG>hsa-mir-302e MI0006417UUGGGUAAGUGCUUCCAUG
CUUCAGUUUCCUUACUGGUAAGAUGGAUGUAGUAAUAGCACCUACCUUAUAGA>hsa-mir-302f MI0006418UCUG
UGUAAACCUGGCAAUUUUCACUUAAUUGCUUCCAUGUUUAUAAAAGA>hsa-mir-320a MI0000542GCUUCGCUCC
CCUCCGCCUUCUCUUCCCGGUUCUUCCCGGAGUCGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGU>hsa-mir
-320b-1 MI0003776AAUUAAUCCCUCUCUUUCUAGUUCUUCCUAGAGUGAGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCAAACA
AAUUAACUAAUUAAUU>hsa-mir-320b-2 MI0003839UGUUAUUUUUUGUCUUCUACCUAAGAAUUCUGUCUCUUA
GGCUUUCUCUUCCCAGAUUUCCCAAAGUUGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCAAAAGGAAAAAAAAAGAAUUCUGUCUCU
GACAUAAUUAGAUAGGGAA>hsa-mir-320c-1 MI0003778UUUGCAUUAAAAAUGAGGCCUUCUCUUCCCAGUUCU
UCCCAGAGUCAGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGUAGAAAAAAAAUGAUGUAGG>hsa-mir-320c-2 MI0008191CUU
CUCUUUCCAGUUCUUCCCAGAAUUGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGU>hsa-mir-320d-1 MI0008190UUCUCGUC
CCAGUUCUUCCCAAAGUUGAGAAAAGCUGGGUUGAGAGGA>hsa-mir-320d-2 MI0008192UUCUCUUCCCAGUUC
UUCUUGGAGUCAGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGA>hsa-mir-320e MI0014234GCCUUCUCUUCCCAGUUCUUCCUG
GAGUCGGGGAAAAGCUGGGUUGAGAAGGU>hsa-mir-323a MI0000807UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGG
CGCGUUCGCUUUAUUUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAAUC>hsa-mir-323b MI001420
6UGGUACUCGGAGGGAGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCAUUAUUUAAUGAUGCCCAAUACACGGUCGACCUCUUUUCGGUA
UCA>hsa-mir-324 MI0000813CUGACUAUGCCUCCCCGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGUAAAGCUGGAGACCCACU
GCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC>hsa-mir-325 MI0000824AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCA
GUAAGUGUUUGUGACAUAAUUUGUUUAUUGAGGACCUCCUAUCAAUCAAGCACUGUGCUAGGCUCUGG>hsa-mir-326
MI0000808CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUUGUGAAGGCGGGUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCC
UUCCUCCAGCCCCGAGGCGGAUUCA>hsa-mir-328 MI0000804UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAA
AGUGCAUACAGCCCCUGGCCCUCUCUGCCCUUCCGUCCCCUG>hsa-mir-329-1 MI0001725GGUACCUGAAGAGA
GGUUUUCUGGGUUUCUGUUUCUUUAAUGAGGACGAAACACACCUGGUUAACCUCUUUUCCAGUAUC>hsa-mir-329-2
MI0001726GUGGUACCUGAAGAGAGGUUUUCUGGGUUUCUGUUUCUUUAUUGAGGACGAAACACACCUGGUUAACCUC
UUUUCCAGUAUCAA>hsa-mir-330 MI0000803CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUCUGC
AAGAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAGCGCUCUGCCC>hsa-mir-331 MI0000812GAGUUUGG
UUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCCAGGGAUCCCAGAUCAAACCAGGCCCCUGGGCCUAUCCUAGAACCAACCU
AAGCUC>hsa-mir-335 MI0000816UGUUUUGAGCGGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGUUUGUCAUAAACCGU
UUUUCAUUAUUGCUCCUGACCUCCUCUCAUUUGCUAUAUUCA>hsa-mir-337 MI0000806GUAGUCAGUAGUUGGG
GGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGUUGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUCAUCCCCUUCAA>hs
a-mir-338 MI0000814UCUCCAACAAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGACUCCAGCAUCAGUGAUUUUGU
UGAAGA>hsa-mir-339 MI0000815CGGGGCGGCCGCUCUCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUGCCUGCCUGUGA

GCGCCUCGACGACAGAGCCGGCGCCUGCCCCAGUGUCUGCGC>hsa-mir-340 MI0000802UUGUACCUGGUGUGAU
UAUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAUAUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUUACUUUAUAGCCAUACCUGGUAUCUUA>
hsa-mir-342 MI0000805GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGGACAUGGUUAAUGGAAUU
GUCUCACACAGAAAUCGCACCCGUCACCUUGGCCUACUUA>hsa-mir-345 MI0000825ACCCAAACCCUAGGUCUG
CUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUGAUGGCUGGUGGGCCCUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGGUUUGAAUAUCGACAGC
>hsa-mir-346 MI0000826GGUCUCUGUGUUGGGCGUCUGUCUGCCCGCAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGGA
GGCAGGGGCUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGG>hsa-mir-361 MI0000760GGAGCUUAUCAGAAUCUCCAG
GGGUACUUUAUAAUUUCAAAAAGUCCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUUGCUUC>hsa-mir-362 MI0000762CUUGAAU
CCUUGGAACCUAGGUGUGAGUGCUAUUUCAGUGCAACACACCUAUUCAAGGAUUCAAA>hsa-mir-363 MI0000764
UGUUGUCGGGUGGAUCACGAUGCAAUUUUGAUGAGUAUCAUAGGAGAAAAAUUGCACGGUAUCCAUCUGUAAACC>hsa-
mir-365a MI0000767ACCGCAGGGAAAAUGAGGGACUUUUGGGGGCAGAUGUGUUUCCAUUCCACUAUCAUAAUGCC
CCUAAAAAUCCUUAUUGCUCUUGCA>hsa-mir-365b MI0000769AGAGUGUUCAAGGACAGCAAGAAAAAUGAGGG
ACUUUCAGGGGCAGCUGUGUUUUCUGACUCAGUCAUAAUGCCCCUAAAAAUCCUUAUUGUUCUUGCAGUGUGCAUCGGG>
hsa-mir-367 MI0000775CCAUUACUGUUGCUAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAAUUGGAAUUGCACUUUAGCAA
UGGUGAUGG>hsa-mir-369 MI0000777UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUAUUCGCUUUAUUGACUUCGAAUAAU
ACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG>hsa-mir-370 MI0000778AGACAGAGAAGCCAGGUCACGUCUCUGCAGUUACACA
GCUCACGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUCU>hsa-mir-371a MI0000779GUGGCACUCAAACUGUGGG
GGCACUUUCUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC>hsa-mir-371b MI0017393GGUAACACU
CAAAAGAUGGCGGCACUUUCACCAGAGAGCAGAAAGUGCCCCCACAGUUUGAGUGCC>hsa-mir-372 MI0000780G
UGGGCCUCAAAUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCAC>hsa-mir-373 M
I0000781GGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUUCCUUUUUGUCUGUACUGGGAAGUGCUUCGAUUUUGGGGUGUCCC>hs
a-mir-374a MI0000782UACAUCGGCCAUUAUAAUACAACCUGAUAAGUGUUAUAGCACUUAUCAGAUUGUAUUGUA
AUUGUCUGUGUA>hsa-mir-374b MI0005566ACUCGGAUGGAUAUAAUACAACCUGCUAAGUGUCCUAGCACUUAG
CAGGUUGUAUUAUCAUUGUCCGUGUCU>hsa-mir-374c MI0016684ACACGGACAAUGAUAAUACAACCUGCUAAG
UGCUAGGACACUUAGCAGGUUGUAUUAUAUCCAUCCGAGU>hsa-mir-375 MI0000783CCCCGCGACGAGCCCCUC
GCACAAACCGGACCUGAGCGUUUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGAGGC>hsa-mir-376a-1 MI0000784UAAAAGGUA
GAUUCUCCUUCUAUGAGUACAUUAUUUAUGAUUAAUCAUAGAGGAAAAUCCACGUUUUC>hsa-mir-376a-2 MI000
3529GGUAUUUAAAAGGUAGAUUUUCCUUCUAUGGUUACGUGUUUGAUGGUUAAUCAUAGAGGAAAAUCCACGUUUUCAG
UAUC>hsa-mir-376b MI0002466CAGUCCUUCUUUGGUAUUUAAAACGUGGAUAUUCCUUCUAUGUUUACGUGAUU
CCUGGUUAAUCAUAGAGGAAAAUCCAUGUUUUCAGUAUCAAAUGCUG>hsa-mir-376c MI0000776AAAAGGUGGA
UAUUCCUUCUAUGUUUAUGUUAUUUAUGGUUAAACAUAGAGGAAAUUCCACGUUUU>hsa-mir-377 MI0000785UU
GAGCAGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUCGCUUUAUUUAUGUUGAAUCACACAAAGGCAACUUUUGUUUG>hsa-mir-378a
MI0000786AGGGCUCCUGACUCCAGGUCCUGUGUGUUACCUAGAAAUAGCACUGGACUUGGAGUCAGAAGGCCU>hsa
-mir-378b MI0014154GGUCAUUGAGUCUUCAAGGCUAGUGGAAAGAGCACUGGACUUGGAGGCAGAAAGACC>hsa
-mir-378c MI0015825GGAGGCCAUCACUGGACUUGGAGUCAGAAGAGUGGAGUCGGGUCAGACUUCAACUCUGACU
UUGAAGGUGGUGAGUGCCUC>hsa-mir-378d-1 MI0016749ACUGUUUCUGUCCUUGUUCUUGUUGUUAUUACUGG
ACUUGGAGUCAGAAACAGG>hsa-mir-378d-2 MI0003840GAAUGGUUACAAGGAGAGAACACUGGACUUGGAGUC
AGAAAACUUUCAUCCAAGUCAUUCCCUGCUCUAAGUCCCAUUUCUGUUCCAUGAGAUUGUUU>hsa-mir-378e MI00
16750CUGACUCCAGUGUCCAGGCCAGGGGCAGACAGUGGACAGAGAACAGUGCCCAAGACCACUGGACUUGGAGUCAGG
ACAU>hsa-mir-378f MI0016756GUCAGGUCCUGGACUCCCAUAGUUUUCAGGCUGCUAAACAACAGAACGAGCAC
UGGACUUGGAGCCAGAAGUCUUGGG>hsa-mir-378g MI0016761CACUGGGCUUGGAGUCAGAAGACCUGGCUCCA
GCCCAGCUC>hsa-mir-378h MI0016808ACAGGAACACUGGACUUGGUGUCAGAUGGGAUGAGCCCUGGCUCUGUU
UCCUAGCAGCAAUCUGAUCUUGAGCUAGUCACUGG>hsa-mir-378i MI0016902GGGAGCACUGGACUAGGAGUCA
GAAGGUGGAGUUCUGGGUGCUGUUUUCCCACUCUUGGGCCCUGGGCAUGUUCUG>hsa-mir-379 MI0000787AGAG
AUGGUAGACUAUGGAACGUAGGCGUUAUGAUUUCUGACCUAUGUAACAUGGUCCACUAACUCU>hsa-mir-380 MI00
00788AAGAUGGUUGACCAUAGAACAUGCGCUAUCUCUGUGUCGUAUGUAAUAUGGUCCACAUCUU>hsa-mir-381 M
I0000789UACUUAAAGCGAGGUUGCCCUUUGUAUAUUCGGUUUAUUGACAUGGAAUAUACAAGGGCAAGCUCUCUGUGA
GUA>hsa-mir-382 MI0000790UACUUGAAGAGAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCGCUUUACUUAUGACGAAUCAUUCA
CGGACAACACUUUUUUCAGUA>hsa-mir-383 MI0000791CUCCUCAGAUCAGAAGGUGAUUGUGGCUUUGGGUGGA
UAUUAAUCAGCCACAGCACUGCCUGGUCAGAAAGAG>hsa-mir-384 MI0001145UGUUAAAUCAGGAAUUUUAAAC

AAUUCCUAGACAAUAUGUAUAAUGUUCAUAAGUCAUUCCUAGAAAUUGUUCAUAAUGCCUGUAACA>hsa-mir-409 M
I0001735UGGUACUCGGGGAGAGGUUACCCGAGCAACUUUGCAUCUGGACGACGAAUGUUGCUCGGUGAACCCCUUUUC
GGUAUCA>hsa-mir-410 MI0002465GGUACCUGAGAAGAGGUUGUCUGUGAUGAGUUCGCUUUUAUUAAUGACGAA
UAUAACACAGAUGGCCUGUUUUCAGUACC>hsa-mir-411 MI0003675UGGUACUUGGAGAGAUAGUAGACCGUAUA
GCGUACGCUUUAUCUGUGACGUAUGUAACACGGUCCACUAACCCUCAGUAUCAAAUCCAUCCCCGAG>hsa-mir-412
MI0002464CUGGGGUACGGGGAUGGAUGGUCGACCAGUUGGAAAGUAAUUGUUUCUAAUGUACUUCACCUGGUCCACUA
GCCGUCCGUAUCCGCUGCAG>hsa-mir-421 MI0003685GCACAUUGUAGGCCUCAUUAAAUGUUUGUUGAAUGAAA
AAAUGAAUCAUCAACAGACAUUAAUUGGGCGCCUGCUCUGUGAUCUC>hsa-mir-422a MI0001444GAGAGAAGCA
CUGGACUUAGGGUCAGAAGGCCUGAGUCUCUCUGCUGCAGAUGGGCUCUCUGUCCCUGAGCCAAGCUUUGUCCUCCCUGG
>hsa-mir-423 MI0001445AUAAAGGAAGUUAGGCUGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUUUCUAUUUUCCAAAAGCUCG
GUCUGAGGCCCCUCAGUCUUGCUUCCUAACCCGCGC>hsa-mir-424 MI0001446CGAGGGGAUACAGCAGCAAUUC
AUGUUUUGAAGUGUUCUAAAUGGUUCAAAACGUGAGGCGCUGCUAUACCCCCUCGUGGGGAAGGUAGAAGGUGGGG>hsa
-mir-425 MI0001448GAAAGCGCUUUGGAAUGACACGAUCACUCCCGUUGAGUGGGCACCCGAGAAGCCAUCGGGAA
UGUCGUGUCCGCCCAGUGCUCUUUC>hsa-mir-429 MI0001641CGCCGGCCGAUGGGCGUCUUACCAGACAUGGUU
AGACCUGGCCCUCUGUCUAAUACUGUCUGGUAAAACCGUCCAUCCGCUGC>hsa-mir-431 MI0001721UCCUGCUU
GUCCUGCGAGGUGUCUUGCAGGCCGUCAUGCAG
GCCACACUGACGGUAACGUUGCAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCUCGCAAGACGACAUCCUCAUCACCAACGACG>hsa-mi
r-432 MI0003133UGACUCCUCCAGGUCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGGAUCCUCUAUUUCCUUACGUGGGCCACUGG
AUGGCUCCUCCAUGUCUUGGAGUAGAUCA>hsa-mir-433 MI0001723CCGGGGAGAAGUACGGUGAGCCUGUCAUU
AUUCAGAGAGGCUAGAUCCUCUGUGUUGAGAAGGAUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGUUCUCCAGG>hsa-mir-448 MI0
001637GCCGGGAGGUUGAACAUCCUGCAUAGUGCUGCCAGGAAAUCCCUAUUUCAUAUAAGAGGGGGCUGGCUGGUUGC
AUAUGUAGGAUGUCCCAUCUCCCAGCCCACUUCGUCA>hsa-mir-449a MI0001648CUGUGUGUGAUGAGCUGGCA
GUGUAUUGUUAGCUGGUUGAAUAUGUGAAUGGCAUCGGCUAACAUGCAACUGCUGUCUUAUUGCAUAUACA>hsa-mir-
449b MI0003673UGACCUGAAUCAGGUAGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGCUGCUUGGGUCAAGUCAGCAGCCACAACUA
CCCUGCCACUUGCUUCUGGAUAAAUUCUUCU>hsa-mir-449c MI0003823GCUGGGAUGUGUCAGGUAGGCAGUGU
AUUGCUAGCGGCUGUUAAUGAUUUUAACAGUUGCUAGUUGCACUCCUCUCUGUUGCAUUCAGAAGC>hsa-mir-450a-
1 MI0001652AAACGAUACUAAACUGUUUUUGCGAUGUGUUCCUAAUAUGCACUAUAAAUAUAUUGGGAACAUUUUGCA
UGUAUAGUUUUGUAUCAAUAUA>hsa-mir-450a-2 MI0003187CCAAAGAAAGAUGCUAAACUAUUUUUGCGAUGU
GUUCCUAAUAUGUAAUAUAAAUGUAUUGGGGACAUUUUGCAUUCAUAGUUUUGUAUCAAUAAUAUGG>hsa-mir-450b
MI0005531GCAGAAUUAUUUUUGCAAUAUGUUCCUGAAUAUGUAAUAUAAGUGUAUUGGGAUCAUUUUGCAUCCAUAG
UUUUGUAU>hsa-mir-451a MI0001729CUUGGGAAUGGCAAGGAAACCGUUACCAUUACUGAGUUUAGUAAUGGUA
AUGGUUCUCUUGCUAUACCCAGA>hsa-mir-451b MI0017360UGGGUAUAGCAAGAGAACCAUUACCAUUACUAAA
CUCAGUAAUGGUAACGGUUUCCUUGCCAUUCCCA>hsa-mir-452 MI0001733GCUAAGCACUUACAACUGUUUGCA
GAGGAAACUGAGACUUUGUAACUAUGUCUCAGUCUCAUCUGCAAAGAAGUAAGUGCUUUGC>hsa-mir-454 MI0003
820UCUGUUUAUCACCAGAUCCUAGAACCCUAUCAAUAUUGUCUCUGCUGUGUAAAUAGUUCUGAGUAGUGCAAUAUUGC
UUAUAGGGUUUUGGUGUUUGGAAAGAACAAUGGGCAGG>hsa-mir-455 MI0003513UCCCUGGCGUGAGGGUAUGU
GCCUUUGGACUACAUCGUGGAAGCCAGCACCAUGCAGUCCAUGGGCAUAUACACUUGCCUCAAGGCCUAUGUCAUC>hsa
-mir-466 MI0014157GUGUGUGUAUAUGUGUGUUGCAUGUGUGUAUAUGUGUGUAUAUAUGUACACAUACACAUACA
CGCAACACACAUAUAUACAUGC>hsa-mir-483 MI0002467GAGGGGGAAGACGGGAGGAAAGAAGGGAGUGGUUCC
AUCACGCCUCCUCACUCCUCUCCUCCCGUCUUCUCCUCUC>hsa-mir-484 MI0002468AGCCUCGUCAGGCUCAGU
CCCCUCCCGAUAAACCCCUAAAUAGGGACUUUCCCGGGGGGUGACCCUGGCUUUUUUGGCG>hsa-mir-485 MI0002
469ACUUGGAGAGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUCGAUUCAUCAAAGCGAGUCAUACACGGCUCUCCUCUCUUUUAGU>hsa
-mir-486 MI0002470GCAUCCUGUACUGAGCUGCCCCGAGGCCCUUCAUGCUGCCCAGCUCGGGGCAGCUCAGUACA
GGAUAC>hsa-mir-487a MI0002471GGUACUUGAAGAGUGGUUAUCCCUGCUGUGUUCGCUUAAUUUAUGACGAAU
CAUACAGGGACAUCCAGUUUUUCAGUAUC>hsa-mir-487b MI0003530UUGGUACUUGGAGAGUGGUUAUCCCUGU
CCUGUUCGUUUUGCUCAUGUCGAAUCGUACAGGGUCAUCCACUUUUUCAGUAUCAA>hsa-mir-488 MI0003123GA
GAAUCAUCUCUCCCAGAUAAUGGCACUCUCAAACAAGUUUCCAAAUUGUUUGAAAGGCUAUUUCUUGGUCAGAUGACUCU
C>hsa-mir-489 MI0003124GUGGCAGCUUGGUGGUCGUAUGUGUGACGCCAUUUACUUGAACCUUUAGGAGUGACA
UCACAUAUACGGCAGCUAAACUGCUAC>hsa-mir-490 MI0003125UGGAGGCCUUGCUGGUUUGGAAAGUUCAUUG
UUCGACACCAUGGAUCUCCAGGUGGGUCAAGUUUAGAGAUGCACCAACCUGGAGGACUCCAUGCUGUUGAGCUGUUCACA

AGCAGCGGACACUUCCA>hsa-mir-491 MI0003126UUGACUUAGCUGGGUAGUGGGGAACCCUUCCAUGAGGAGUA
GAACACUCCUUAUGCAAGAUUCCCUUCUACCUGGCUGGGUUGG>hsa-mir-492 MI0003131CAACUACAGCCACUA
CUACAGGACCAUCGAGGACCUGCGGGACAAGAUUCUUGGUGCCACCAUUGAGAACGCCAGGAUUGUCCUGCAGAUCAACA
AUGCUCAACUGGCUGCAGAUG>hsa-mir-493 MI0003132CUGGCCUCCAGGGCUUUGUACAUGGUAGGCUUUCAUU
CAUUCGUUUGCACAUUCGGUGAAGGUCUACUGUGUGCCAGGCCCUGUGCCAG>hsa-mir-494 MI0003134GAUACU
CGAAGGAGAGGUUGUCCGUGUUGUCUUCUCUUUAUUUAUGAUGAAACAUACACGGGAAACCUCUUUUUUAGUAUC>hsa-
mir-495 MI0003135UGGUACCUGAAAAGAAGUUGCCCAUGUUAUUUUCGCUUUAUAUGUGACGAAACAAACAUGGUG
CACUUCUUUUUCGGUAUCA>hsa-mir-496 MI0003136CCCAAGUCAGGUACUCGAAUGGAGGUUGUCCAUGGUGUG
UUCAUUUUAUUUAUGAUGAGUAUUACAUGGCCAAUCUCCUUUCGGUACUCAAUUCUUCUUGGG>hsa-mir-497 MI00
03138CCACCCCGGUCCUGCUCCCGCCCCAGCAGCACACUGUGGUUUGUACGGCACUGUGGCCACGUCCAAACCACACUG
UGGUGUUAGAGCGAGGGUGGGGGAGGCACCGCCGAGG>hsa-mir-498 MI0003142AACCCUCCUUGGGAAGUGAAG
CUCAGGCUGUGAUUUCAAGCCAGGGGGCGUUUUUCUAUAACUGGAUGAAAAGCACCUCCAGAGCUUGAAGCUCACAGUUU
GAGAGCAAUCGUCUAAGGAAGUU>hsa-mir-499a MI0003183GCCCUGUCCCCUGUGCCUUGGGCGGGCGGCUGUU
AAGACUUGCAGUGAUGUUUAACUCCUCUCCACGUGAACAUCACAGCAAGUCUGUGCUGCUUCCCGUCCCUACGCUGCCUG
GGCAGGGU>hsa-mir-499b MI0017396GGAAGCAGCACAGACUUGCUGUGAUGUUCACGUGGAGAGGAGUUAAACA
UCACUGCAAGUCUUAACAGCCGCC>hsa-mir-500a MI0003184GCUCCCCCUCUCUAAUCCUUGCUACCUGGGUGA
GAGUGCUGUCUGAAUGCAAUGCACCUGGGCAAGGAUUCUGAGAGCGAGAGC>hsa-mir-500b MI0015903CCCCCU
CUCUAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGAGUGCUUUCUGAAUGCAGUGCACCCAGGCAAGGAUUCUGCAAGGGGGA>hsa-mi
r-501 MI0003185GCUCUUCCUCUCUAAUCCUUUGUCCCUGGGUGAGAGUGCUUUCUGAAUGCAAUGCACCCGGGCAA
GGAUUCUGAGAGGGUGAGC>hsa-mir-502 MI0003186UGCUCCCCCUCUCUAAUCCUUGCUAUCUGGGUGCUAGUG
CUGGCUCAAUGCAAUGCACCUGGGCAAGGAUUCAGAGAGGGGGAGCU>hsa-mir-503 MI0003188UGCCCUAGCAG
CGGGAACAGUUCUGCAGUGAGCGAUCGGUGCUCUGGGGUAUUGUUUCCGCUGCCAGGGUA>hsa-mir-504 MI00031
89GCUGCUGUUGGGAGACCCUGGUCUGCACUCUAUCUGUAUUCUUACUGAAGGGAGUGCAGGGCAGGGUUUCCCAUACAG
AGGGC>hsa-mir-505 MI0003190GAUGCACCCAGUGGGGGAGCCAGGAAGUAUUGAUGUUUCUGCCAGUUUAGCGU
CAACACUUGCUGGUUUCCUCUCUGGAGCAUC>hsa-mir-506 MI0003193GCCACCACCAUCAGCCAUACUAUGUGU
AGUGCCUUAUUCAGGAAGGUGUUACUUAAUAGAUUAAUAUUUGUAAGGCACCCUUCUGAGUAGAGUAAUGUGCAACAUGG
ACAACAUUUGUGGUGGC>hsa-mir-507 MI0003194GUGCUGUGUGUAGUGCUUCACUUCAAGAAGUGCCAUGCAUG
UGUCUAGAAAUAUGUUUUGCACCUUUUGGAGUGAAAUAAUGCACAACAGAUAC>hsa-mir-508 MI0003195CCACC
UUCAGCUGAGUGUAGUGCCCUACUCCAGAGGGCGUCACUCAUGUAAACUAAAACAUGAUUGUAGCCUUUUGGAGUAGAGU
AAUACACAUCACGUAACGCAUAUUUGGUGG>hsa-mir-509-1 MI0003196CAUGCUGUGUGUGGUACCCUACUGCA
GACAGUGGCAAUCAUGUAUAAUUAAAAAUGAUUGGUACGUCUGUGGGUAGAGUACUGCAUGACACAUG>hsa-mir-509
-2 MI0005530CAUGCUGUGUGUGGUACCCUACUGCAGACAGUGGCAAUCAUGUAUAAUUAAAAAUGAUUGGUACGUCU
GUGGGUAGAGUACUGCAUGACAC>hsa-mir-509-3 MI0005717GUGGUACCCUACUGCAGACGUGGCAAUCAUGUA
UAAUUAAAAAUGAUUGGUACGUCUGUGGGUAGAGUACUGCAU>hsa-mir-510 MI0003197GUGGUGUCCUACUCAG
GAGAGUGGCAAUCACAUGUAAUUAGGUGUGAUUGAAACCUCUAAGAGUGGAGUAACAC>hsa-mir-511-1 MI00031
27CAAUAGACACCCAUCGUGUCUUUUGCUCUGCAGUCAGUAAAUAUUUUUUUGUGAAUGUGUAGCAAAAGACAGAAUGGU
GGUCCAUUG>hsa-mir-511-2 MI0003128CAAUAGACACCCAUCGUGUCUUUUGCUCUGCAGUCAGUAAAUAUUUU
UUUGUGAAUGUGUAGCAAAAGACAGAAUGGUGGUCCAUUG>hsa-mir-512-1 MI0003140UCUCAGUCUGUGGCAC
UCAGCCUUGAGGGCACUUUCUGGUGCCAGAAUGAAAGUGCUGUCAUAGCUGAGGUCCAAUGACUGAGG>hsa-mir-512
-2 MI0003141GGUACUUCUCAGUCUGUGGCACUCAGCCUUGAGGGCACUUUCUGGUGCCAGAAUGAAAGUGCUGUCAU
AGCUGAGGUCCAAUGACUGAGGCGAGCACC>hsa-mir-513a-1 MI0003191GGGAUGCCACAUUCAGCCAUUCAGC
GUACAGUGCCUUUCACAGGGAGGUGUCAUUUAUGUGAACUAAAAUAUAAAUUUCACCUUUCUGAGAAGGGUAAUGUACAG
CAUGCACUGCAUAUGUGGUGUCCC>hsa-mir-513a-2 MI0003192GGAUGCCACAUUCAGCCAUUCAGUGUGCAGU
GCCUUUCACAGGGAGGUGUCAUUUAUGUGAACUAAAAUAUAAAUUUCACCUUUCUGAGAAGGGUAAUGUACAGCAUGCAC
UGCAUAUGUGGUGUCC>hsa-mir-513b MI0006648GUGUACAGUGCCUUUCACAAGGAGGUGUCAUUUAUGUGAAC
UAAAAUAUAAAUGUCACCUUUUUGAGAGGAGUAAUGUACAGCA>hsa-mir-513c MI0006649GCGUACAGUGCCUU
UCUCAAGGAGGUGUCGUUUAUGUGAACUAAAAUAUAAAUUUCACCUUUCUGAGAAGAGUAAUGUACAGCA>hsa-mir-5
14a-1 MI0003198AACAUGUUGUCUGUGGUACCCUACUCUGGAGAGUGACAAUCAUGUAUAAUUAAAUUUGAUUGACA
CUUCUGUGAGUAGAGUAACGCAUGACACGUACG>hsa-mir-514a-2 MI0003199GUUGUCUGUGGUACCCUACUCU
GGAGAGUGACAAUCAUGUAUAACUAAAUUUGAUUGACACUUCUGUGAGUAGAGUAACGCAUGACAC>hsa-mir-514a-

3 MI0003200GUUGUCUGUGGUACCCUACUCUGGAGAGUGACAAUCAUGUAUAACUAAAUUUGAUUGACACUUCUGUGA
GUAGAGUAACGCAUGACAC>hsa-mir-514b MI0014251CAUGUGGUACUCUUCUCAAGAGGGAGGCAAUCAUGUGU
AAUUAGAUAUGAUUGACACCUCUGUGAGUGGAGUAACACAUG>hsa-mir-515-1 MI0003144UCUCAUGCAGUCAU
UCUCCAAAAGAAAGCACUUUCUGUUGUCUGAAAGCAGAGUGCCUUCUUUUGGAGCGUUACUGUUUGAGA>hsa-mir-51
5-2 MI0003147UCUCAUGCAGUCAUUCUCCAAAAGAAAGCACUUUCUGUUGUCUGAAAGCAGAGUGCCUUCUUUUGGA
GCGUUACUGUUUGAGA>hsa-mir-516a-1 MI0003180UCUCAGGCUGUGACCUUCUCGAGGAAAGAAGCACUUUCU
GUUGUCUGAAAGAAAAGAAAGUGCUUCCUUUCAGAGGGUUACGGUUUGAGA>hsa-mir-516a-2 MI0003181UCUC
AGGUUGUGACCUUCUCGAGGAAAGAAGCACUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAAAGUGCUUCCUUUCAGAGGGUUACGGU
UUGAGA>hsa-mir-516b-1 MI0003172UCUCAGGCUGUGACCAUCUGGAGGUAAGAAGCACUUUCUGUUUUGUGAA
AGAAAAGAAAGUGCUUCCUUUCAGAGGGUUACUCUUUGAGA>hsa-mir-516b-2 MI0003167UCUCAUGAUGUGAC
CAUCUGGAGGUAAGAAGCACUUUGUGUUUUGUGAAAGAAAGUGCUUCCUUUCAGAGGGUUACUCUUUGAGA>hsa-mir-
517a MI0003161UCUCAGGCAGUGACCCUCUAGAUGGAAGCACUGUCUGUUGUAUAAAAGAAAAGAUCGUGCAUCCCU
UUAGAGUGUUACUGUUUGAGA>hsa-mir-517b MI0003165GUGACCCUCUAGAUGGAAGCACUGUCUGUUGUCUAA
GAAAAGAUCGUGCAUCCCUUUAGAGUGUUAC>hsa-mir-517c MI0003174GAAGAUCUCAGGCAGUGACCCUCUAG
AUGGAAGCACUGUCUGUUGUCUAAGAAAAGAUCGUGCAUCCUUUUAGAGUGUUACUGUUUGAGAAAAAUC>hsa-mir-51
8a-1 MI0003170UCUCAAGCUGUGACUGCAAAGGGAAGCCCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAGAGAAAGCGCUUCCCCUUU
GCUGGAUUACGGUUUGAGA>hsa-mir-518a-2 MI0003173UCUCAAGCUGUGGGUCUGCAAAGGGAAGCCCUUUCU
GUUGUCUAAAAGAAGAGAAAGCGCUUCCCUUUGCUGGAUUACGGUUUGAGA>hsa-mir-518b MI0003156UCAUGC
UGUGGCCCUCCAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAACAAAGCGCUCCCCUUUAGAGGUUUACGGUUUGA>hs
a-mir-518c MI0003159GCGAGAAGAUCUCAUGCUGUGACUCUCUGGAGGGAAGCACUUUCUGUUGUCUGAAAGAAA
ACAAAGCGCUUCUCUUUAGAGUGUUACGGUUUGAGAAAAGC>hsa-mir-518d MI0003171UCCCAUGCUGUGACCC
UCUAGAGGGAAGCACUUUCUGUUGUCUGAAAGAAACCAAAGCGCUUCCCUUUGGAGCGUUACGGUUUGAGA>hsa-mir-
518e MI0003169UCUCAGGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGGCUAAAAGAAAAGAAAGCGCUUCCCU
UCAGAGUGUUAACGCUUUGAGA>hsa-mir-518f MI0003154UCUCAUGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAGCACUUUC
UCUUGUCUAAAAGAAAAGAAAGCGCUUCUCUUUAGAGGAUUACUCUUUGAGA>hsa-mir-519a-1 MI0003178CUC
AGGCUGUGACACUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAGGAAAGUGCAUCCUUUUAGAGUGUUACUGUUUG
AG>hsa-mir-519a-2 MI0003182UCUCAGGCUGUGUCCCUCUACAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAGG
AAAGUGCAUCCUUUUAGAGUGUUACUGUUUGAGA>hsa-mir-519b MI0003151CAUGCUGUGACCCUCUAGAGGGA
AGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAAAGUGCAUCCUUUUAGAGGUUUACUGUUUG>hsa-mir-519c MI000314
8UCUCAGCCUGUGACCCUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAAAGUGCAUCUUUUUAGAGGAUUACA
GUUUGAGA>hsa-mir-519d MI0003162UCCCAUGCUGUGACCCUCCAAAGGGAAGCGCUUUCUGUUUGUUUUCUCU
UAAACAAAGUGCCUCCCUUUAGAGUGUUACCGUUUGGGA>hsa-mir-519e MI0003145UCUCAUGCAGUCAUUCUC
CAAAAGGGAGCACUUUCUGUUUGAAAGAAAACAAAGUGCCUCCUUUUAGAGUGUUACUGUUUGAGA>hsa-mir-520a
MI0003149CUCAGGCUGUGACCCUCCAGAGGGAAGUACUUUCUGUUGUCUGAGAGAAAAGAAAGUGCUUCCCUUUGGAC
UGUUUCGGUUUGAG>hsa-mir-520b MI0003155CCCUCUACAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAAA
GUGCUUCCUUUUAGAGGG>hsa-mir-520c MI0003158UCUCAGGCUGUCGUCCUCUAGAGGGAAGCACUUUCUGUU
GUCUGAAAGAAAAGAAAGUGCUUCCUUUUAGAGGGUUACCGUUUGAGA>hsa-mir-520d MI0003164UCUCAAGCU
GUGAGUCUACAAAGGGAAGCCCUUUCUGUUGUCUAAAAGAAAAGAAAGUGCUUCUCUUUGGUGGGGUUACGGUUUGAGA>h
sa-mir-520e MI0003143UCUCCUGCUGUGACCCUCAAGAUGGAAGCAGUUUCUGUUGUCUGAAAGGAAAGAAAGUG
CUUCCUUUUUGAGGGUUACUGUUUGAGA>hsa-mir-520f MI0003146UCUCAGGCUGUGACCCUCUAAAGGGAAGC
GCUUUCUGUGGUCAGAAAGAAAAGCAAGUGCUUCCUUUUAGAGGGUUACCGUUUGGG
A>hsa-mir-520g MI0003166UCCCAUGCUGUGACCCUCUAGAGGAAGCACUUUCUGUUUGUUGUCUGAGAAAAAAC
AAAGUGCUUCCCUUUAGAGUGUUACCGUUUGGGA>hsa-mir-520h MI0003175UCCCAUGCUGUGACCCUCUAGAG
GAAGCACUUUCUGUUUGUUGUCUGAGAAAAAACAAAGUGCUUCCCUUUAGAGUUACUGUUUGGGA>hsa-mir-521-1
MI0003176UCUCAGGCUGUGACCCUCCAAAGGGAAGAACUUUCUGUUGUCUAAAAGAAAAGAACGCACUUCCCUUUAGA
GUGUUACCGUGUGAGA>hsa-mir-521-2 MI0003163UCUCGGGCUGUGACUCUCCAAAGGGAAGAAUUUUCUCUUG
UCUAAAAGAAAAGAACGCACUUCCCUUUAGAGUGUUACCGUGUGAGA>hsa-mir-522 MI0003177UCUCAGGCUGU
GUCCCUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAAAAUGGUUCCCUUUAGAGUGUUACGCUUUGAGA>hsa
-mir-523 MI0003153UCUCAUGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAACGCGCUU
CCCUAUAGAGGGUUACCCUUUGAGA>hsa-mir-524 MI0003160UCUCAUGCUGUGACCCUACAAAGGGAAGCACUU

UCUCUUGUCCAAAGGAAAAGAAGGCGCUUCCCUUUGGAGUGUUACGGUUUGAGA>hsa-mir-525 MI0003152CUCA
AGCUGUGACUCUCCAGAGGGAUGCACUUUCUCUUAUGUGAAAAAAAAGAAGGCGCUUCCCUUUAGAGCGUUACGGUUUGG
G>hsa-mir-526a-1 MI0003157CUCAGGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAGCACUUUCUGUUGCUUGAAAGAAGAGAA
AGCGCUUCCUUUUAGAGGAUUACUCUUUGAG>hsa-mir-526a-2 MI0003168GUGACCCUCUAGAGGGAAGCACUU
UCUGUUGAAAGAAAAGAACAUGCAUCCUUUCAGAGGGUUAC>hsa-mir-526b MI0003150UCAGGCUGUGACCCUC
UUGAGGGAAGCACUUUCUGUUGUCUGAAAGAAGAGAAAGUGCUUCCUUUUAGAGGCUUACUGUCUGA>hsa-mir-527
MI0003179UCUCAAGCUGUGACUGCAAAGGGAAGCCCUUUCUGUUGUCUAAAAGAAAAGAAAGUGCUUCCCUUUGGUGA
AUUACGGUUUGAGA>hsa-mir-532 MI0003205CGACUUGCUUUCUCUCCUCCAUGCCUUGAGUGUAGGACCGUUGG
CAUCUUAAUUACCCUCCCACACCCAAGGCUUGCAAAAAAGCGAGCCU>hsa-mir-539 MI0003514AUACUUGAGGA
GAAAUUAUCCUUGGUGUGUUCGCUUUAUUUAUGAUGAAUCAUACAAGGACAAUUUCUUUUUGAGUAU>hsa-mir-541
MI0005539ACGUCAGGGAAAGGAUUCUGCUGUCGGUCCCACUCCAAAGUUCACAGAAUGGGUGGUGGGCACAGAAUCUG
GACUCUGCUUGUG>hsa-mir-542 MI0003686CAGAUCUCAGACAUCUCGGGGAUCAUCAUGUCACGAGAUACCAGU
GUGCACUUGUGACAGAUUGAUAACUGAAAGGUCUGGGAGCCACUCAUCUUCA>hsa-mir-543 MI0005565UACUUA
AUGAGAAGUUGCCCGUGUUUUUUUCGCUUUAUUUGUGACGAAACAUUCGCGGUGCACUUCUUUUUCAGUAUC>hsa-mir
-544a MI0003515AUUUUCAUCACCUAGGGAUCUUGUUAAAAAGCAGAUUCUGAUUCAGGGACCAAGAUUCUGCAUUU
UUAGCAAGUUCUCAAGUGAUGCUAAU>hsa-mir-544b MI0014159GGAAUUUUGUUAAAAUGCAGAAUCCAUUUCU
GUAGCUCUGAGACUAGACCUGAGGUUGUGCAUUUCUAACAAAGUGCC>hsa-mir-545 MI0003516CCCAGCCUGGC
ACAUUAGUAGGCCUCAGUAAAUGUUUAUUAGAUGAAUAAAUGAAUGACUCAUCAGCAAACAUUUAUUGUGUGCCUGCUAA
AGUGAGCUCCACAGG>hsa-mir-548a-1 MI0003593UGCAGGGAGGUAUUAAGUUGGUGCAAAAGUAAUUGUGAUU
UUUGCCAUUAAAAGUAACGACAAAACUGGCAAUUACUUUUGCACCAAACCUGGUAUU>hsa-mir-548a-2 MI00035
98UGUGAUGUGUAUUAGGUUUGUGCAAAAGUAAUUGGGGUUUUUUGCCGUUAAAAGUAAUGGCAAAACUGGCAAUUACUU
UUGCACCAAACUAAUAUAA>hsa-mir-548a-3 MI0003612CCUAGAAUGUUAUUAGGUCGGUGCAAAAGUAAUUGC
GAGUUUUACCAUUACUUUCAAUGGCAAAACUGGCAAUUACUUUUGCACCAACGUAAUACUU>hsa-mir-548aa-1 MI
0016689CUUUAUUAGUCUGGUGCAAAAGAAACUGUGGUUUUUGCCAUUACUUUUACAGGCAAAAACCACAAUUACUUUU
GCACCAACCUAAUAUAACUUGUUU>hsa-mir-548aa-2 MI0016690UUUUAUUAGGUUGGUGCAAAAGAAACUGUG
GUUUUUGCCAUUACUUUCAAUGGCAAAAACCACAAUUACUUUUGCACCAACCUAAAUCUUCCCCUCUC>hsa-mir-548a
b MI0016752AUGUUGGUGCAAAAGUAAUUGUGGAUUUUGCUAUUACUUGUAUUUAUUUGUAAUGCAAAACCCGCAAUU
AGUUUUGCACCAACC>hsa-mir-548ac MI0016762GUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUUAUUGUGGUUUUUGCUAUUU
UUUUUUAAUGGCAAAAACCGGCAAUUACUUUUGCACUAACCUAGUAG>hsa-mir-548ad MI0016770CUGUUAGGU
UGGUGCAAAAGUAAUUGUGGUUUUUGAAAGUAACUUGGCGAAAACGACAAUGACUUUUGCACCAAUCUAAUAC>hsa-mi
r-548ae-1 MI0016779GCAGUUUUUGCCAUUAAGUUGCGGUUUUUGCCAUUAUAAUGGCAAAAACUGCAAUUACUUU
CACACCUGC>hsa-mir-548ae-2 MI0016780UGUGCAAAAGUAAUUGUGGUUUUUGUCAUUUAAAAGUAAUGGCAA
AAACUGCAAUUACUUUCACACC>hsa-mir-548ag-1 MI0016793GUGCAAAGGUAAUUGUGGUUUCUGCUUUUAAA
GGUAAUGGCAAAUAUUACAUUUACUUUUGCACCA>hsa-mir-548ag-2 MI0016794UGCAAAGGUAAUUGUGGUUU
CUGCCAUUGAAAGUAAAGGCAAGAACCUCAAUUACCUUUGCAGC>hsa-mir-548ah MI0016796AGGUUGGUGCAA
AAGUGAUUGCAGUGUUUGCCAAUAAAAGUAAUGACAAAAACUGCAGUUACUUUUGCACCAGCCC>hsa-mir-548ai M
I0016813GUAUUAGGUUGGUGCAAAGGUAAUUGCAGUUUUUCCCAUUUAAAAUAUGGAAAAAAAAAAUCACAAUUACUUU
UGCAUCAACCUAAUAA>hsa-mir-548aj-1 MI0016814AUUGGUGUAAAAGUAAUUGCAGGUUAUGCCAUUAAAAAG
UAAUGGUAAAAAACUGCAAUUACUUUUACACUAAC>hsa-mir-548aj-2 MI0016815AAGGUAUUAGGUUGGUGCAA
AAGUAAUUGCAGUUUUUGCUAUUACUUUUAAUGGUAAAAACUGCAAUUACUUUUACACCAACCUAAUAUUUA>hsa-mir
-548ak MI0016840GUGCAAAAGUAACUGCGGUUUUUGAGAAGUAAUUGAAAACCGCAAUUACUUUUGCAG>hsa-mi
r-548al MI0016851GGUCGGUGCAAAAGUAAUUGCUGUUUUUGCCAUUAAAAAUAAUGGCAUUAAAAGUAAUGGCAA
AAACGGCAAUGACUUUUGUACCAAUCUAAUAUCU>hsa-mir-548am MI0016904AGUUGGUGCAAAAGUAAUUGCG
GUUUUUGCCGUCGAAAAUAAUGGCAAAAACUGCAGUUACUUUUGUACCAAUG>hsa-mir-548an MI0016907CAUU
AGGUUGGUGCAAAAGGCAUUGUGGUUUUUGCCUAUAAAAGUAAUGGCAAAAACCGCAAUUCCUUUUGCACCAACCUAAU>
hsa-mir-548ao MI0017871AACUAUUCUUAGGUUGAUGCAGAAGUAACUACGGUUUUUGCAGUUGAAAGUAAUGGC
AAAGACCGUGACUACUUUUGCAACAGCCUAAUAGUUUCU>hsa-mir-548ap MI0017875ACCAAUUCCUAGGUUGG
UGCAAAAGUAAUUGCGGUCUUUGUCAUUAAAACCAAUAACAAAAACCACAAUUACUUUUUACUGACCUAAAGAUUAAUU>
hsa-mir-548aq MI0019130GAAAGUAAUUGCUGUUUUUGCCAUUACUUUCAGUGGCAAAAACUGCAAUUACUUUUG
C>hsa-mir-548ar MI0019131AAAAGUAAUUGCAGUUUUUGCUGUUGAACGUAGUGGUAAAACUGCAGUUAUUUUU

GC>hsa-mir-548as MI0019132AAAAGUAAUUGCGGGUUUUGCCGUUGCUUUUAAUGGUAAAACCCACAAUUAUGU
UUGU>hsa-mir-548at MI0019137AAAAGUUAUUGCGGUUUUGGCUGCCAAAAGAAAUGGCCAAAACCGCAGUAAC
UUUUGU>hsa-mir-548au MI0019145AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGCUAUUGGUUUUAAUGGCAGUUACUUUUGCA
CCAG>hsa-mir-548av MI0019152AAAAGUACUUGCGGAUUUGCCAUCACCUUUACCUUUAAUGGCAAAACUGCAG
UUACUUUUGC>hsa-mir-548aw MI0019283UAGGUCGGUGCAAAAGUCAUCACGGUUUUUACCAUUAAAACCGCGA
UGACUUUUGCAUCAACCUA>hsa-mir-548ax MI0019286GAUUGGUGCAGAAGUAAUUGCGGUUUUGCCAUGGAAA
GUAAUGGCAAAAACCGUAAUUACUUUUGUACCAACC>hsa-mir-548b MI0003596CAGACUAUAUAUUUAGGUUGG
CGCAAAAGUAAUUGUGGUUUUGGCCUUUAUUUUCAAUGGCAAGAACCUCAGUUGCUUUUGUGCCAACCUAAUACUU>hsa
-mir-548c MI0003630CAUUGGCAUCUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUUGCGGUUUUUGCCAUUACUUUCAGUAGC
AAAAAUCUCAAUUACUUUUGCACCAACUUAAUACUU>hsa-mir-548d-1 MI0003668AAACAAGUUAUAUUAGGUU
GGUGCAAAAGUAAUUGUGGUUUUUGCCUGUAAAAGUAAUGGCAAAAACCACAGUUUCUUUUGCACCAGACUAAUAAAG>h
sa-mir-548d-2 MI0003671GAGAGGGAAGAUUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUUGUGGUUUUUGCCAUUGAAAGUAA
UGGCAAAAACCACAGUUUCUUUUGCACCAACCUAAUAAAA>hsa-mir-548e MI0006344UUAUUAGGUUGGUACAA
AAGCAAUCGCGGUUUUUGCUAUUACUUUUAAAGGCAAAAACUGAGACUACUUUUGCACCAACCUGAUAGAA>hsa-mir-
548f-1 MI0006374AUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUCACAGUUUUUGACAUUACUUUCAAAGACAAAAACUGUAAUUA
CUUUUGGACCAACCUAAUAG>hsa-mir-548f-2 MI0006375UAAUAACUAUUAGGUUGGUGCGAACAUAAUUGCAG
UUUUUAUCAUUACUUUUAAUGGCAAAAACUGUAAUUACUUUUGCACCAACCUAAUAUUUUAGU>hsa-mir-548f-3 M
I0006376AUUAGGUUGGUGCAAACCUAAUUGCAAUUUUUGCAGUUUUUUUAAGUAAUUGCAAAAACUGUAAUUACUUUU
GCACCAACCUAAUAC>hsa-mir-548f-4 MI0006377GAGUUCUAACGUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUAGUGGU
UUUUGCCAUUAAAAGUAAUGACAAAAACUGUAAUUACUUUUGGAACAAUAUUAAUAGAAUUUCAG>hsa-mir-548f-5
MI0006378UAUUAGGUUGCUGCAAAAGUAAUCAUGUUUUUUUCCAUUGUAAGUAAUGGGAAAAACUGUAAUUACUUUU
GUACCAACCUAAUAGC>hsa-mir-548g MI0006395AGUUAUUAGAUUAGUGCAAAAGUAAUUGCAGUUUUUGCAUU
ACGUUCUAUGGCAAAACUGUAAUUACUUUUGUACCAACAUAAUACUUC>hsa-mir-548h-1 MI0006411UCUGUCC
AUUAGGUGGGUGCAAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUCAUUACUUUUAAUGGUAAAAACUGGAAUUACUUUUGCACUGACCUA
AUAUUAAGCCAGAUA>hsa-mir-548h-2 MI0006412GUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUCAUU
ACUUUCAAUGGCAAACACCACAAUUACUUUUGCACCAACCUAAUAUAA>hsa-mir-548h-3 MI0006413UCUGAUU
CUGCAUGUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUCAUUGAAAGUAAUAGCAAAAACUGCAAUUACUUUUGCA
CCAACCUAAAAGUAGUCACUGUCUUCAGAUA>hsa-mir-548h-4 MI0006414GCUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAA
UCGCGGUUUUUGUCAUUACUUUAAUUACUUUACGUUUCAUUAAUGACAAAAACCGCAAUUACUUUUGCACCAACCUAAUA
CUUGCUA>hsa-mir-548h-5 MI0016751ACAAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUCAUUACUUUUAACUGUAAAAACCAC
GGUUGCUUUUGC>hsa-mir-548i-1 MI0006421CAGAUGGCUCUGAAGUUUGCACCCUAUUAGGUUGGUGCAAAAG
UAAUUGCGGAUUUUGCCAUUAAAAGUAAUGGCAAAAAUAGCAAUUAUUUUUGUACCAGCCUAGUAUCUUUUCUCCUUCUA
CCAAACUUUGUCCCUGAGCCAUCUCA>hsa-mir-548i-2 MI0006422UAGAUGGCUCCGAAGUUUGCAUCCUAUUA
GUUUGGUGCAAAAGUAAUUGCGGAUUUUGCCAUUAAAAGUAAUGGCAAAAAUAGCAAUUAUUUUUGUACCAGCCUAGUAU
CUUUUCUCCUUCUAACAAAGUUCGUCCCUGAUCCAUCUCA>hsa-mir-548i-3 MI0006423CAGAUGGCUCCGAAG
UUUACAUCCUAUUAGGUUUGUGCAAAAGUAAUUGCGGAUUUUGCCAUUAAAAGUAAUGGCAAAAAUAGCAAUUAUUUUUG
UACCAGCCUAGUAUCUUUUCUCCUUCUACCAAACUUUGUCCCUGAGCCAUCUCA>hsa-mir-548i-4 MI0006424A
GGUUGGUGCAAAAGUAAUUGCGGAUUUUGCCAUACUUUUAACGGCAAAAACCACAAAUAUUAUUGCACCAACCUAU>hsa
-mir-548j MI0006345GGGCAGCCAGUGAAUAGUUAGCUGGUGCAAAAGUAAUUGCGGUCUUUGGUAUUACUUUCAG
UGGCAAAAACUGCAUUACUUUUGCACCAGCCUACUAGAACGCUGAGUUCAG>hsa-mir-548k MI0006354CUUUUC
UCAAGUAUUGCUGUUAGGUUGGUGCAAAAGUACUUGCGGAUUUUGCUUUACUUUUAAUGGCAAAAACCGCAAUUAUUUUU
GCUUCAACCUAAUAUGAUGCAAAAUUGGCU>hsa-mir-548l MI0006361UAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAUUUGCG
GGUUUUGUCGUAGAAAGUAAUGGCAAAAACUGCAGUUACUUGUGCACCAACCAAAUGCU>hsa-mir-548m MI00064
00AUAUUAGGUUGGUGCAAAGGUAUUUGUGGUUUUUGUCAUUAAAGUAAUGCAAAAGCCACAAAUACCUUUGCACCAACC
UAAUAUUA>hsa-mir-548n MI0006399AGGUUGGUGCAAAAGUAAUUGUGGAUUUUGUCGUUAAAAAUAGCAAAAC
CCGCAAUUACUUUUGCACCAACCUAA>hsa-mir-548o MI0006402UGGUGAAAAUGUGUUGAUUGUAAUGGUUCCU
AUUCUGAUCAAUAAACAUGGUUUGAGCCUAGUUACAAUGAUCUAAAAUUCACGGUCCAAAACUGCAGUUACUUUUGCACC
AAC>hsa-mir-548o-2 MI0016746UGGUGCAAAAGUAAUUGCGGUUUUUGCCAUUAAAAGUAAUGCGGCCAAAACU
GCAGUUACUUUUGCACCC>hsa-mir-548p MI0006420AUUAGGUUGGUAUAAAAUUAAUUGCAGUUUUUGUCAUUA
CUUUCAAUAGCAAAAACUGCAGUUACUUUUGCACCAAUGUAAUAC>hsa-mir-548q MI0010637AUAUUAGGCUGG

UGCAAAAGUAAUGGCGGUUUUUGCCAUUACUUUUCAUUUUUACCAUUAAAAGUAAUGGCAAAAAGCAUGAUUACUUUUUC
ACCAACCU>hsa-mir-548s MI0014141UUGCUGCAAAAAUAAUUGCAGUUUUUGCCAUUAUUUUUAAUAAUUAUAA
UAAUGGCCAAAACUGCAGUUAUUUUUGCACCAA>hsa-mir-548t MI0014164AGGGUGGUGCAAAAGUGAUCGUGG
UUUUUGCAAUUUUUUAAUGACAAAAACCACAAUUACUUUUGCACCAACCU>hsa-mir-548u MI0014168AUUAGGA
UGGUGCAAAAGUAAUGUGGUUUUUUUCUUUACUUUUAAUGGCAAAGACUGCAAUUACUUUUGCGCCAACCUAAU>hsa-m
ir-548v MI0014174AAUACUAGGUUUGAGCAAAAGUAAUUGCGGUUUUGCCAUCAUGCCAAAAGCUACAGUUACUUU
UGCACCAGCCUAAUAUU>hsa-mir-548w MI0014222GGUUGGUGCAAAAGUAACUGCGGUUUUUGCCUUUCAACAU
AAUGGCAAAACCCACAAUUACUUUUGCACCAAUC>hsa-mir-548x MI0014244AGGUUAGUGCAAAAGUAAUUGCA
GUUUUUGCGUUACUUUCAAUCGUAAAAACUGCAAUUACUUUCACACCAAUCU>hsa-mir-548x-2 MI0016833AUG
CCAAAUAUUAGGUUGGCACAAAAGUAAUUGUGGCUUUUGCCAUUAAAAGUAAUGGUAAAAACUGCAAUUACUUUCGUGCC
AACCUAAUAUUUGUGUG>hsa-mir-548y MI0016595GCCUAAACUAUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUCACUGUUUU
UGCCAUUACUCUCAGUGGCAAAAACCGUGAUUACUUUUGCACCAACCUAGUAACACCUUCACUGUGGGGG>hsa-mir-5
48z MI0016688AAGUAUUAAGUUGGUGCAAAAGUAAUUGAGAUUUUUGCUACUGAAAGUAAUGGCAAAAACCGCAAUU
ACUUUUGCACCAACCUAAUAGAUGCCAAUG>hsa-mir-549 MI0003679AGACAUGCAACUCAAGAAUAUAUUGAGA
GCUCAUCCAUAGUUGUCACUGUCUCAAAUCAGUGACAACUAUGGAUGAGCUCUUAAUAUAUCCCAGGC>hsa-mir-550
a-1 MI0003600UGAUGCUUUGCUGGCUGGUGCAGUGCCUGAGGGAGUAA
GAGCCCUGUUGUUGUAAGAUAGUGUCUUACUCCCUCAGGCACAUCUCCAACAAGUCUCU>hsa-mir-550a-2 MI000
3601UGAUGCUUUGCUGGCUGGUGCAGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCCUGUUGUUGUCAGAUAGUGUCUUACUCCCUCAG
GCACAUCUCCAGCGAGUCUCU>hsa-mir-550a-3 MI0003762GAUGCUUUGCUGGCUGGUGCAGUGCCUGAGGGAG
UAAGAGUCCUGUUGUUGUAAGAUAGUGUCUUACUCCCUCAGGCACAUCUCCAACAAGUCUC>hsa-mir-550b-1 MI0
016686AGAGACUUGUUGGAGAUGUGCCUGAGGGAGUAAGACACUAUCUUACAACAACAGGGCUCUUACUCCCUCAGGCA
CUGCACCAGCCAGCAAAGCAUCA>hsa-mir-550b-2 MI0016687AGAGACUCGCUGGAGAUGUGCCUGAGGGAGUA
AGACACUAUCUGACAACAACAGGGCUCUUACUCCCUCAGGCACUGCACCAGCCAGCAAAGCAUCA>hsa-mir-551a M
I0003556GGGGACUGCCGGGUGACCCUGGAAAUCCAGAGUGGGUGGGGCCAGUCUGACCGUUUCUAGGCGACCCACUCU
UGGUUUCCAGGGUUGCCCUGGAAA>hsa-mir-551b MI0003575AGAUGUGCUCUCCUGGCCCAUGAAAUCAAGCGU
GGGUGAGACCUGGUGCAGAACGGGAAGGCGACCCAUACUUGGUUUCAGAGGCUGUGAGAAUAA>hsa-mir-552 MI00
03557AACCAUUCAAAUAUACCACAGUUUGUUUAACCUUUUGCCUGUUGGUUGAAGAUGCCUUUCAACAGGUGACUGGUU
AGACAAACUGUGGUAUAUACA>hsa-mir-553 MI0003558CUUCAAUUUUAUUUUAAAACGGUGAGAUUUUGUUUUG
UCUGAGAAAAUCUCGCUGUUUUAGACUGAGG>hsa-mir-554 MI0003559ACCUGAGUAACCUUUGCUAGUCCUGAC
UCAGCCAGUACUGGUCUUAGACUGGUGAUGGGUCAGGGUUCAUAUUUUGGCAUCUCUCUCUGGGCAUCU>hsa-mir-55
5 MI0003561GGAGUGAACUCAGAUGUGGAGCACUACCUUUGUGAGCAGUGUGACCCAAGGCCUGUGGACAGGGUAAGC
UGAACCUCUGAUAAAACUCUGAUCUAU>hsa-mir-556 MI0003562GAUAGUAAUAAGAAAGAUGAGCUCAUUGUAA
UAUGAGCUUCAUUUAUACAUUUCAUAUUACCAUUAGCUCAUCUUUUUUAUUACUACCUUCAACA>hsa-mir-557 MI0
003563AGAAUGGGCAAAUGAACAGUAAAUUUGGAGGCCUGGGGCCCUCCCUGCUGCUGGAGAAGUGUUUGCACGGGUGG
GCCUUGUCUUUGAAAGGAGGUGGA>hsa-mir-558 MI0003564GUGUGUGUGUGUGUGUGGUUAUUUUGGUAUAG
UAGCUCUAGACUCUAUUAUAGUUUCCUGAGCUGCUGUACCAAAAUACCACAAACGGGCUG>hsa-mir-559 MI00035
65GCUCCAGUAACAUCUUAAAGUAAAUAUGCACCAAAAUUACUUUUGGUAAAUACAGUUUUGGUGCAUAUUUACUUUAGG
AUGUUACUGGAGCUCCCA>hsa-mir-561 MI0003567CUUCAUCCACCAGUCCUCCAGGAACAUCAAGGAUCUUAAA
CUUUGCCAGAGCUACAAAGGCAAAGUUUAAGAUCCUUGAAGUUCCUGGGGGAACCAU>hsa-mir-562 MI0003568A
GUGAAAUUGCUAGGUCAUAUGGUCAGUCUACUUUUAGAGUAAUUGUGAAACUGUUUUUCAAAGUAGCUGUACCAUUUGCA
CUCCCUGUGGCAAU>hsa-mir-563 MI0003569AGCAAAGAAGUGUGUUGCCCUCUAGGAAAUGUGUGUUGCUCUGA
UGUAAUUAGGUUGACAUACGUUUCCCUGGUAGCCA>hsa-mir-564 MI0003570CGGGCAGCGGGUGCCAGGCACGG
UGUCAGCAGGCAACAUGGCCGAGAGGCCGGGGCCUCCGGGCGGCGCCGUGUCCGCGACCGCGUACCCUGAC>hsa-mir-
566 MI0003572GCUAGGCGUGGUGGCGGGCGCCUGUGAUCCCAACUACUCAGGAGGCUGGGGCAGCAGAAUCGCUUGA
ACCCGGGAGGCGAAGGUUGCAGUGAGC>hsa-mir-567 MI0003573GGAUUCUUAUAGGACAGUAUGUUCUUCCAGG
ACAGAACAUUCUUUGCUAUUUUGUACUGGAAGAACAUGCAAAACUAAAAAAAAAAAAAAGUUAUUGCU>hsa-mir-568
MI0003574GAUAUACACUAUAUUAUGUAUAAAUGUAUACACACUUCCUAUAUGUAUCCACAUAUAUAUAGUGUAUAUAU
UAUACAUGUAUAGGUGUGUAUAUG>hsa-mir-569 MI0003576GGUAUUGUUAGAUUAAUUUUGUGGGACAUUAACA
ACAGCAUCAGAAGCAACAUCAGCUUUAGUUAAUGAAUCCUGGAAAGUUAAGUGACUUUAUUU>hsa-mir-570 MI000
3577CUAGAUAAGUUAUUAGGUGGGUGCAAAGGUAAUUGCAGUUUUUCCCAUUAUUUUAAUUGCGAAAACAGCAAUUACC

UUUGCACCAACCUGAUGGAGU>hsa-mir-571 MI0003578CCUCAGUAAGACCAAGCUCAGUGUGCCAUUUCCUUGU
CUGUAGCCAUGUCUAUGGGCUCUUGAGUUGGCCAUCUGAGUGAGGGCCUGCUUAUUCUA>hsa-mir-572 MI000357
9GUCGAGGCCGUGGCCCGGAAGUGGUCGGGGCCGCUGCGGGCGGAAGGGCGCCUGUGCUUCGUCCGCUCGGCGGUGGCCC
AGCCAGGCCCGCGGGA>hsa-mir-573 MI0003580UUUAGCGGUUUCUCCCUGAAGUGAUGUGUAACUGAUCAGGAU
CUACUCAUGUCGUCUUUGGUAAAGUUAUGUCGCUUGUCAGGGUGAGGAGAGUUUUUG>hsa-mir-574 MI0003581G
GGACCUGCGUGGGUGCGGGCGUGUGAGUGUGUGUGUGUGAGUGUGUGUCGCUCCGGGUCCACGCUCAUGCACACACCCAC
ACGCCCACACUCAGG>hsa-mir-575 MI0003582AAUUCAGCCCUGCCACUGGCUUAUGUCAUGACCUUGGGCUACU
CAGGCUGUCUGCACAAUGAGCCAGUUGGACAGGAGCAGUGCCACUCAACUC>hsa-mir-576 MI0003583UACAAUC
CAACGAGGAUUCUAAUUUCUCCACGUCUUUGGUAAUAAGGUUUGGCAAAGAUGUGGAAAAAUUGGAAUCCUCAUUCGAUU
GGUUAUAACCA>hsa-mir-577 MI0003584UGGGGGAGUGAAGAGUAGAUAAAAUAUUGGUACCUGAUGAAUCUGAG
GCCAGGUUUCAAUACUUUAUCUGCUCUUCAUUUCCCCAUAUCUACUUAC>hsa-mir-578 MI0003585AGAUAAAUC
UAUAGACAAAAUACAAUCCCGGACAACAAGAAGCUCCUAUAGCUCCUGUAGCUUCUUGUGCUCUAGGAUUGUAUUUUGUU
UAUAUAU>hsa-mir-579 MI0003586CAUAUUAGGUUAAUGCAAAAGUAAUCGCGGUUUGUGCCAGAUGACGAUUUG
AAUUAAUAAAUUCAUUUGGUAUAAACCGCGAUUAUUUUUGCAUCAAC>hsa-mir-580 MI0003587AUAAAAUUUCC
AAUUGGAACCUAAUGAUUCAUCAGACUCAGAUAUUUAAGUUAACAGUAUUUGAGAAUGAUGAAUCAUUAGGUUCCGGUCA
GAAAUU>hsa-mir-581 MI0003588GUUAUGUGAAGGUAUUCUUGUGUUCUCUAGAUCAGUGCUUUUAGAAAAUUUG
UGUGAUCUAAAGAACACAAAGAAUACCUACACAGAACCACCUGC>hsa-mir-582 MI0003589AUCUGUGCUCUUUG
AUUACAGUUGUUCAACCAGUUACUAAUCUAACUAAUUGUAACUGGUUGAACAACUGAACCCAAAGGGUGCAAAGUAGAAA
CAUU>hsa-mir-583 MI0003590AACUCACACAUUAACCAAAGAGGAAGGUCCCAUUACUGCAGGGAUCUUAGCAGU
ACUGGGACCUACCUCUUUGGU>hsa-mir-584 MI0003591UAGGGUGACCAGCCAUUAUGGUUUGCCUGGGACUGAG
GAAUUUGCUGGGAUAUGUCAGUUCCAGGCCAACCAGGCUGGUUGGUCUCCCUGAAGCAAC>hsa-mir-585 MI00035
92UGGGGUGUCUGUGCUAUGGCAGCCCUAGCACACAGAUACGCCCAGAGAAAGCCUGAACGUUGGGCGUAUCUGUAUGCU
AGGGCUGCUGUAACAA>hsa-mir-586 MI0003594AUGGGGUAAAACCAUUAUGCAUUGUAUUUUUAGGUCCCAAUA
CAUGUGGGCCCUAAAAAUACAAUGCAUAAUGGUUUUUCACUCUUUAUCUUCUUAU>hsa-mir-587 MI0003595CUC
CUAUGCACCCUCUUUCCAUAGGUGAUGAGUCACAGGGCUCAGGGAAUGUGUCUGCACCUGUGACUCAUCACCAGUGGAAA
GCCCAUCCCAUAU>hsa-mir-588 MI0003597AGCUUAGGUACCAAUUUGGCCACAAUGGGUUAGAACACUAUUCCA
UUGUGUUCUUACCCACCAUGGCCAAAAUUGGGCCUAAG>hsa-mir-589 MI0003599UCCAGCCUGUGCCCAGCAGC
CCCUGAGAACCACGUCUGCUCUGAGCUGGGUACUGCCUGUUCAGAACAAAUGCCGGUUCCCAGACGCUGCCAGCUGGCC>
hsa-mir-590 MI0003602UAGCCAGUCAGAAAUGAGCUUAUUCAUAAAAGUGCAGUAUGGUGAAGUCAAUCUGUAAU
UUUAUGUAUAAGCUAGUCUCUGAUUGAAACAUGCAGCA>hsa-mir-591 MI0003603UCUUAUCAAUGAGGUAGACC
AUGGGUUCUCAUUGUAAUAGUGUAGAAUGUUGGUUAACUGUGGACUCCCUGGCUCUGUCUCAAAUCUACUGAUUC>hsa-
mir-592 MI0003604UAUUAUGCCAUGACAUUGUGUCAAUAUGCGAUGAUGUGUUGUGAUGGCACAGCGUCAUCACGU
GGUGACGCAACAUCAUGACGUAAGACGUCACAAC>hsa-mir-593 MI0003605CCCCCAGAAUCUGUCAGGCACCAG
CCAGGCAUUGCUCAGCCCGUUUCCCUCUGGGGGAGCAAGGAGUGGUGCUGGGUUUGUCUCUGCUGGGGUUUCUCCU>hsa
-mir-595 MI0003607ACGGAAGCCUGCACGCAUUUAACACCAGCACGCUCAAUGUAGUCUUGUAAGGAACAGGUUGA
AGUGUGCCGUGGUGUGUCUGGAGGAAGCGCCUGU>hsa-mir-596 MI0003608AGCACGGCCUCUCCGAAGCCUGCC
CGGCUCCUCGGGAACCUGCCUCCCGCAUGGCAGCUGCUGCCCUUCGGAGGCCG>hsa-mir-597 MI0003609UACUU
ACUCUACGUGUGUGUCACUCGAUGACCACUGUGAAGACAGUAAAAUGUACAGUGGUUCUCUUGUGGCUCAAGCGUAAUGU
AGAGUACUGGUC>hsa-mir-598 MI0003610GCUUGAUGAUGCUGCUGAUGCUGGCGGUGAUCCCGAUGGUGUGAGC
UGGAAAUGGGGUGCUACGUCAUCGUUGUCAUCGUCAUCAUCAUCAUCCGAG>hsa-mir-599 MI0003611AAAGACA
UGCUGUCCACAGUGUGUUUGAUAAGCUGACAUGGGACAGGGAUUCUUUUCACUGUUGUGUCAGUUUAUCAAACCCAUACU
UGGAUGAC>hsa-mir-600 MI0003613AAGUCACGUGCUGUGGCUCCAGCUUCAUAGGAAGGCUCUUGUCUGUCAGG
CAGUGGAGUUACUUACAGACAAGAGCCUUGCUCAGGCCAGCCCUGCCC>hsa-mir-601 MI0003614UGCAUGAGUU
CGUCUUGGUCUAGGAUUGUUGGAGGAGUCAGAAAAACUACCCCAGGGAUCCUGAAGUCCUUUGGGUGGA>hsa-mir-60
2 MI0003615UUCUCACCCCCGCCUGACACGGGCGACAGCUGCGGCCCGCUGUGUUCACUCGGGCCGAGUGCGUCUCCU
GUCAGGCAAGGGAGAGCAGAGCCCCCCUG>hsa-mir-603 MI0003616GAUUGAUGCUGUUGGUUUGGUGCAAAAGU
AAUUGCAGUGCUUCCCAUUUAAAAGUAAUGGCACACACUGCAAUUACUUUUGCUCCAACUUAAUACUU>hsa-mir-604
MI0003617AGAGCAUCGUGCUUGACCUUCCACGCUCUCGUGUCCACUAGCAGGCAGGUUUUCUGACACAGGCUGCGGA
AUUCAGGACAGUGCAUCAUGGAGA>hsa-mir-605 MI0003618GCCCUAGCUUGGUUCUAAAUCCCAUGGUGCCUUC
UCCUUGGGAAAAACAGAGAAGGCACUAUGAGAUUUAGAAUCAAGUUAGG>hsa-mir-606 MI0003619UGUAUCCUU

GGUUUUUAGUAGUUUUACUAUGAUGAGGUGUGCCAUCCACCCCAUCAUAGUAAACUACUGAAAAUCAAAGAUACAAGUGC
CUGACCA>hsa-mir-607 MI0003620UUGCCUAAAGUCACACAGGUUAUAGAUCUGGAUUGGAACCCAGGGAGCCAG
ACUGCCUGGGUUCAAAUCCAGAUCUAUAACUUGUGUGACUUUGGG>hsa-mir-608 MI0003621GGGCCAAGGUGGG
CCAGGGGUGGUGUUGGGACAGCUCCGUUUAAAAAGGCAUCUCCAAGAGCUUCCAUCAAAGGCUGCCUCUUGGUGCAGCAC
AGGUAGA>hsa-mir-609 MI0003622UGCUCGGCUGUUCCUAGGGUGUUUCUCUCAUCUCUGGUCUAUAAUGGGUUA
AAUAGUAGAGAUGAGGGCAACACCCUAGGAACAGCAGAGGAACC>hsa-mir-610 MI0003623UCUAUUUGUCUUAG
GUGAGCUAAAUGUGUGCUGGGACACAUUUGAGCCAAAUGUCCCAGCACACAUUUAGCUCACAUAAGAAAAAUGGACUCUA
GU>hsa-mir-611 MI0003624AAAAUGGUGAGAGCGUUGAGGGGAGUUCCAGACGGAGAUGCGAGGACCCCUCGGGG
UCUGACCCACA>hsa-mir-612 MI0003625UCCCAUCUGGACCCUGCUGGGCAGGGCUUCUGAGCUCCUUAGCACUA
GCAGGAGGGGCUCCAGGGGCCCUCCCUCCAUGGCAGCCAGGACAGGACUCUCA>hsa-mir-613 MI0003626GGUGA
GUGCGUUUCCAAGUGUGAAGGGACCCUUCCUGUAGUGUCUUAUAUACAAUACAGUAGGAAUGUUCCUUCUUUGCCACUCA
UACACCUUUA>hsa-mir-614 MI0003627UCUAAGAAACGCAGUGGUCUCUGAAGCCUGCAGGGGCAGGCCAGCCCU
GCACUGAACGCCUGUUCUUGCCAGGUGGCAGAAGGUUGCUGC>hsa-mir-615 MI0003628CUCGGGAGGGGCGGGA
GGGGGGUCCCCGGUGCUCGGAUCUCGAGGGUGCUUAUUGUUCGGUCCGAGCCUGGGUCUCCCUCUUCCCCCCAACCCCCC
>hsa-mir-616 MI0003629UUAGGUAAUUCCUCCACUCAAAACCCUUCAGUGACUUCCAUGACAUGAAAUAGGAAGU
CAUUGGAGGGUUUGAGCAGAGGAAUGACCUGUUUUAAAA>hsa-mir-617 MI0003631CAUCAUAAGGAGCCUAGAC
UUCCCAUUUGAAGGUGGCCAUUUCCUACCACCUUCAAAUGGUAAGUCCAGGCUCCUUCUGAUUCAAUAAAUGAGGAGC>h
sa-mir-618 MI0003632CUCUUGUUCACAGCCAAACUCUACUUGUCCUUCUGAGUGUAAUUACGUACAUGCAGUAGC
UCAGGAGACAAGCAGGUUUACCCUGUGGAUGAGUCUGA>hsa-mir-619 MI0003633CGCCCACCUCAGCCUCCCAA
AAUGCUGGGAUUACAGGCAUGAGCCACUGCGGUCGACCAUGACCUGGACAUGUUUGUGCCCAGUACUGUCAGUUUGCAG>
hsa-mir-620 MI0003634AUAUAUAUCUAUAUCUAGCUCCGUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAGAUAUCUCCAUAUA
UAUGGAGAUAGAUAUAGAAAUAAAACAAGCAAAGAA>hsa-mir-621 MI0003635UAGAUUGAGGAAGGGGCUGAGU
GGUAGGCGGUGCUGCUGUGCUCUGAUGAAGACCCAUGUGGCUAGCAACAGCGCUUACCUUUUGUCUCUGGGUCC>hsa-m
ir-622 MI0003636AGAGAAGCUGGACAAGUACUGGUCUCAGCAGAUUGAGGAGAGCACCACAGUGGUCAUCACACAG
UCUGCUGAGGUUGGAGCUGCUGAGAUGACACU>hsa-mir-623 MI0003637GUACACAGUAGAAGCAUCCCUUGCAG
GGGCUGUUGGGUUGCAUCCUAAGCUGUGCUGGAGCUUCCCGAUGUACUCUGUAGAUGUCUUUGCACCUUCUG>hsa-mir
-624 MI0003638AAUGCUGUUUCAAGGUAGUACCAGUACCUUGUGUUCAGUGGAACCAAGGUAAACACAAGGUAUUGG
UAUUACCUUGAGAUAGCAUUACACCUAAGUG>hsa-mir-625 MI0003639AGGGUAGAGGGAUGAGGGGGAAAGUUC
UAUAGUCCUGUAAUUAGAUCUCAGGACUAUAGAACUUUCCCCCUCAUCCCUCUGCCCU>hsa-mir-626 MI0003640
ACUGAUAUAUUUGUCUUAUUUGAGAGCUGAGGAGUAUUUUUAUGCAAUCUGAAUGAUCUCAGCUGUCUGAAAAUGUCUUC
AAUUUUAAAGGCUU>hsa-mir-627 MI0003641UACUUAUUACUGGUAGUGAGUCUCUAAGAAAAGAGGAGGUGGUU
GUUUUCCUCCUCUUUUCUUUGAGACUCACUACCAAUAAUAAGAAAUACUACUA>hsa-mir-628 MI0003642AUAGC
UGUUGUGUCACUUCCUCAUGCUGACAUAUUUACUAGAGGGUAAAAUUAAUAACCUUCUAGUAAGAGUGGCAGUCGAAGGG
AAGGGCUCAU>hsa-mir-629 MI0003643UCCCUUUCCCAGGGGAGGGGCUGGGUUUACGUUGGGAGAACUUUUACG
GUGAACCAGGAGGUUCUCCCAACGUAAGCCCAGCCCCUCCCCUCUGCCU>hsa-mir-630 MI0003644AACUUAACA
UCAUGCUACCUCUUUGUAUCAUAUUUUGUUAUUCUGGUCACAGAAUGACCUAGUAUUCUGUACCAGGGAAGGUAGUUCUU
AACUAUAU>hsa-mir-631 MI0003645GUGGGGAGCCUGGUUAGACCUGGCCCAGACCUCAGCUACACAAGCUGAUG
GACUGAGUCAGGGGCCACACUCUCC>hsa-mir-632 MI0003647CGCCUCCUACCGCAGUGCUUGACGGGAGGCGGA
GCGGGGAACGAGGCCGUCGGCCAUUUUGUGUCUGCUUCCUGUGGGACGUGGUGGUAGCCGU>hsa-mir-633 MI0003
648AACCUCUCUUAGCCUCUGUUUCUUUAUUGCGGUAGAUACUAUUAACCUAAAAUGAGAAGGCUAAUAGUAUCUACCAC
AAUAAAAUUGUUGUGAGGAUA>hsa-mir-634 MI0003649AAACCCACACCACUGCAUUU
UGGCCAUCGAGGGUUGGGGCUUGGUGUCAUGCCCCAAGAUAACCAGCACCCCAACUUUGGACAGCAUGGAUUAGUCU>hs
a-mir-635 MI0003650CAGAGAGGAGCUGCCACUUGGGCACUGAAACAAUGUCCAUUAGGCUUUGUUAUGGAAACUU
CUCCUGAUCAUUGUUUUGUGUCCAUUGAGCUUCCAAU>hsa-mir-636 MI0003651UGGCGGCCUGGGCGGGAGCGC
GCGGGCGGGGCCGGCCCCGCUGCCUGGAAUUAACCCCGCUGUGCUUGCUCGUCCCGCCCGCAGCCCUAGGCGGCGUCG>h
sa-mir-637 MI0003652UGGCUAAGGUGUUGGCUCGGGCUCCCCACUGCAGUUACCCUCCCCCUCGGCGUUACUGAGC
ACUGGGGGCUUUCGGGCUCUGCGUCUGCACAGAUACUUC>hsa-mir-638 MI0003653GUGAGCGGGCGCGGCAGGG
AUCGCGGGCGGGUGGCGGCCUAGGGCGCGGAGGGCGGACCGGGAAUGGCGCGCCGUGCGCCGCCGGCGUAACUGCGGCGC
U>hsa-mir-639 MI0003654UGGCCGACGGGGCGCGCGCGGCCUGGAGGGGCGGGGCGGACGCAGAGCCGCGUUUAG
UCUAUCGCUGCGGUUGCGAGCGCUGUAGGGAGCCUGUGCUG>hsa-mir-640 MI0003655GUGACCCUGGGCAAGUU

CCUGAAGAUCAGACACAUCAGAUCCCUUAUCUGUAAAAUGGGCAUGAUCCAGGAACCUGCCUCUACGGUUGCCUUGGGG>
hsa-mir-641 MI0003656UGGGUGAAAGGAAGGAAAGACAUAGGAUAGAGUCACCUCUGUCCUCUGUCCUCUACCUA
UAGAGGUGACUGUCCUAUGUCUUUCCUUCCUCUUACCCCU>hsa-mir-642a MI0003657AUCUGAGUUGGGAGGGU
CCCUCUCCAAAUGUGUCUUGGGGUGGGGGAUCAAGACACAUUUGGAGAGGGAACCUCCCAACUCGGCCUCUGCCAUCAUU
>hsa-mir-642b MI0016685GAGUUGGGAGGUUCCCUCUCCAAAUGUGUCUUGAUCCCCCACCCCAAGACACAUUUG
GAGAGGGACCCUCCCAACUC>hsa-mir-643 MI0003658ACCAAGUGAUAUUCAUUGUCUACCUGAGCUAGAAUACA
AGUAGUUGGCGUCUUCAGAGACACUUGUAUGCUAGCUCAGGUAGAUAUUGAAUGAAAAA>hsa-mir-644a MI00036
59UUUUUUUUUAGUAUUUUUCCAUCAGUGUUCAUAAGGAAUGUUGCUCUGUAGUUUUCUUAUAGUGUGGCUUUCUUAGAG
CAAAGAUGGUUCCCUA>hsa-mir-644b MI0019134UGGGCUAAGGGAGAUGAUUGGGUAGAAAGUAUUAUUCUAUU
CAUUUGCCUCCCAGCCUACA>hsa-mir-645 MI0003660CAGUUCCUAACAGGCCUCAGACCAGUACCGGUCUGUGG
CCUGGGGGUUGAGGACCCCUGCUCUAGGCUGGUACUGCUGAUGCUUAAAAAGAGAG>hsa-mir-646 MI0003661GA
UCAGGAGUCUGCCAGUGGAGUCAGCACACCUGCUUUUCACCUGUGAUCCCAGGAGAGGAAGCAGCUGCCUCUGAGGCCUC
AGGCUCAGUGGC>hsa-mir-647 MI0003662AGGAAGUGUUGGCCUGUGGCUGCACUCACUUCCUUCAGCCCCAGGA
AGCCUUGGUCGGGGGCAGGAGGGAGGGUCAGGCAGGGCUGGGGGCCUGAC>hsa-mir-648 MI0003663AUCACAGA
CACCUCCAAGUGUGCAGGGCACUGGUGGGGGCCGGGGCAGGCCCAGCGAAAGUGCAGGACCUGGCACUUAGUCGGAAGUG
AGGGUG>hsa-mir-649 MI0003664GGCCUAGCCAAAUACUGUAUUUUUGAUCGACAUUUGGUUGAAAAAUAUCUAU
GUAUUAGUAAACCUGUGUUGUUCAAGAGUCCACUGUGUUUUGCUG>hsa-mir-650 MI0003665CAGUGCUGGGGUC
UCAGGAGGCAGCGCUCUCAGGACGUCACCACCAUGGCCUGGGCUCUGCUCCUCCUCACCCUCCUCACUCAGGGCACAGGU
GAU>hsa-mir-651 MI0003666AAUCUAUCACUGCUUUUUAGGAUAAGCUUGACUUUUGUUCAAAUAAAAAUGCAAA
AGGAAAGUGUAUCCUAAAAGGCAAUGACAGUUUAAUGUGUUU>hsa-mir-652 MI0003667ACGAAUGGCUAUGCAC
UGCACAACCCUAGGAGAGGGUGCCAUUCACAUAGACUAUAAUUGAAUGGCGCCACUAGGGUUGUGCAGUGCACAACCUAC
AC>hsa-mir-653 MI0003674UUCAUUCCUUCAGUGUUGAAACAAUCUCUACUGAACCAGCUUCAAACAAGUUCACU
GGAGUUUGUUUCAAUAUUGCAAGAAUGAUAAGAUGGAAGC>hsa-mir-654 MI0003676GGGUAAGUGGAAAGAUGG
UGGGCCGCAGAACAUGUGCUGAGUUCGUGCCAUAUGUCUGCUGACCAUCACCUUUAGAAGCCC>hsa-mir-655 MI00
03677AACUAUGCAAGGAUAUUUGAGGAGAGGUUAUCCGUGUUAUGUUCGCUUCAUUCAUCAUGAAUAAUACAUGGUUAA
CCUCUUUUUGAAUAUCAGACUC>hsa-mir-656 MI0003678CUGAAAUAGGUUGCCUGUGAGGUGUUCACUUUCUAU
AUGAUGAAUAUUAUACAGUCAACCUCUUUCCGAUAUCGAAUC>hsa-mir-657 MI0003681GUGUAGUAGAGCUAGG
AGGAGAGGGUCCUGGAGAAGCGUGGACCGGUCCGGGUGGGUUCCGGCAGGUUCUCACCCUCUCUAGGCCCCAUUCUCCUC
UG>hsa-mir-658 MI0003682GCUCGGUUGCCGUGGUUGCGGGCCCUGCCCGCCCGCCAGCUCGCUGACAGCACGAC
UCAGGGCGGAGGGAAGUAGGUCCGUUGGUCGGUCGGGAACGAGG>hsa-mir-659 MI0003683UACCGACCCUCGAU
UUGGUUCAGGACCUUCCCUGAACCAAGGAAGAGUCACAGUCUCUUCCUUGGUUCAGGGAGGGUCCCCAACAAUGUCCUCA
UGG>hsa-mir-660 MI0003684CUGCUCCUUCUCCCAUACCCAUUGCAUAUCGGAGUUGUGAAUUCUCAAAACACCU
CCUGUGUGCAUGGAUUACAGGAGGGUGAGCCUUGUCAUCGUG>hsa-mir-661 MI0003669GGAGAGGCUGUGCUGU
GGGGCAGGCGCAGGCCUGAGCCCUGGUUUCGGGCUGCCUGGGUCUCUGGCCUGCGCGUGACUUUGGGGUGGCU>hsa-mi
r-662 MI0003670GCUGUUGAGGCUGCGCAGCCAGGCCCUGACGGUGGGGUGGCUGCGGGCCUUCUGAAGGUCUCCCA
CGUUGUGGCCCAGCAGCGCAGUCACGUUGC>hsa-mir-663a MI0003672CCUUCCGGCGUCCCAGGCGGGGCGCCG
CGGGACCGCCCUCGUGUCUGUGGCGGUGGGAUCCCGCGGCCGUGUUUUCCUGGUGGCCCGGCCAUG>hsa-mir-663b
MI0006336GGUGCCGAGGGCCGUCCGGCAUCCUAGGCGGGUCGCUGCGGUACCUCCCUCCUGUCUGUGGCGGUGGGAUC
CCGUGGCCGUGUUUUCCUGGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGGUUUC>hsa-mir-664 MI0006442GAACAUUGAAACUG
GCUAGGGAAAAUGAUUGGAUAGAAACUAUUAUUCUAUUCAUUUAUCCCCAGCCUACAAAAUGAAAAAA>hsa-mir-665
MI0005563UCUCCUCGAGGGGUCUCUGCCUCUACCCAGGACUCUUUCAUGACCAGGAGGCUGAGGCCCCUCACAGGCG
GC>hsa-mir-668 MI0003761GGUAAGUGCGCCUCGGGUGAGCAUGCACUUAAUGUGGGUGUAUGUCACUCGGCUCG
GCCCACUACC>hsa-mir-670 MI0003933GUUUAGGGGUGGACCUGAUGUCCCUGAGUGUAUGUGGUGAACCUGAAU
UUGCCUUGGGUUUCCUCAUAUUCAUUCAGGAGUGUCAGUUGCCCCUUCAC>hsa-mir-671 MI0003760GCAGGUGA
ACUGGCAGGCCAGGAAGAGGAGGAAGCCCUGGAGGGGCUGGAGGUGAUGGAUGUUUUCCUCCGGUUCUCAGGGCUCCACC
UCUUUCGGGCCGUAGAGCCAGGGCUGGUGC>hsa-mir-675 MI0005416CCCAGGGUCUGGUGCGGAGAGGGCCCAC
AGUGGACUUGGUGACGCUGUAUGCCCUCACCGCUCAGCCCCUGGG>hsa-mir-676 MI0016436GCAUGACUCUUCA
ACCUCAGGACUUGCAGAAUUAAUGGAAUGCUGUCCUAAGGUUGUUGAGUUGUGC>hsa-mir-708 MI0005543AACU
GCCCUCAAGGAGCUUACAAUCUAGCUGGGGGUAAAUGACUUGCACAUGAACACAACUAGACUGUGAGCUUCUAGAGGGCA
GGGA>hsa-mir-711 MI0012488ACUGACUUUGAGUCUCUCCUCAGGGUGCUGCAGGCAAAGCUGGGGACCCAGGGA

GAGACGUAAGUGAGGGGAGAUG>hsa-mir-718 MI0012489GGCCGCGGCGCGCAAGAUGGCGGCGGGCCCGGGCAC
CGCCCCUUCCGCCCCGCCGGGCGUCGCACGAGGC>hsa-mir-720 MI0006654CCGGAUCUCACACGGUGGUGUUAA
UAUCUCGCUGGGGCCUCCAAAAUGUUGUGCCCAGGGGUGUUAGAGAAAACACCACACUUUGAGAUGAAUUAAGAGUCCUU
UAUUAG>hsa-mir-744 MI0005559UUGGGCAAGGUGCGGGGCUAGGGCUAACAGCAGUCUUACUGAAGGUUUCCUG
GAAACCACGCACAUGCUGUUGCCACUAACCUCAACCUUACUCGGUC>hsa-mir-758 MI0003757GCCUGGAUACAU
GAGAUGGUUGACCAGAGAGCACACGCUUUAUUUGUGCCGUUUGUGACCUGGUCCACUAACCCUCAGUAUCUAAUGC>hsa
-mir-759 MI0004065UAAUAAAUUAAAUGCCUAAACUGGCAGAGUGCAAACAAUUUUGACUCAGAUCUAAAUGUUUG
CACUGGCUGUUUAAACAUUUAAUUUGUUA>hsa-mir-760 MI0005567GGCGCGUCGCCCCCCUCAGUCCACCAGAG
CCCGGAUACCUCAGAAAUUCGGCUCUGGGUCUGUGGGGAGCGAAAUGCAAC>hsa-mir-761 MI0003941GGAGGAG
CAGCAGGGUGAAACUGACACAGUUCUGGUGAGUUUCACUUUGCUGCUCCUCC>hsa-mir-762 MI0003892GGCCCG
GCUCCGGGUCUCGGCCCGUACAGUCCGGCCGGCCAUGCUGGCGGGGCUGGGGCCGGGGCCGAGCCCGCGGCGGGGCC>hs
a-mir-764 MI0003944AAUCUAGGAGGCAGGUGCUCACUUGUCCUCCUCCAUGCUUGGAAAAUGCAGGGAGGAGGCC
AUAGUGGCAACUGUUACCAUGAUU>hsa-mir-765 MI0005116UUUAGGCGCUGAUGAAAGUGGAGUUCAGUAGACA
GCCCUUUUCAAGCCCUACGAGAAACUGGGGUUUCUGGAGGAGAAGGAAGGUGAUGAAGGAUCUGUUCUCGUGAGCCUGAA
>hsa-mir-766 MI0003836GCAUCCUCAGGACCUGGGCUUGGGUGGUAGGAGGAAUUGGUGCUGGUCUUUCAUUUUG
GAUUUGACUCCAGCCCCACAGCCUCAGCCACCCCAGCCAAUUGUCAUAGGAGC>hsa-mir-767 MI0003763GCUUU
UAUAUUGUAGGUUUUUGCUCAUGCACCAUGGUUGUCUGAGCAUGCAGCAUGCUUGUCUGCUCAUACCCCAUGGUUUCUGA
GCAGGAACCUUCAUUGUCUACUGC>hsa-mir-769 MI0003834GCCUUGGUGCUGAUUCCUGGGCUCUGACCUGAGA
CCUCUGGGUUCUGAGCUGUGAUGUUGCUCUCGAGCUGGGAUCUCCGGGGUCUUGGUUCAGGGCCGGGGCCUCUGGGUUCC
AAGC>hsa-mir-770 MI0005118AGGAGCCACCUUCCGAGCCUCCAGUACCACGUGUCAGGGCCACAUGAGCUGGGC
CUCGUGGGCCUGAUGUGGUGCUGGGGCCUCAGGGGUCUGCUCUU>hsa-mir-802 MI0003906GUUCUGUUAUUUGC
AGUCAGUAACAAAGAUUCAUCCUUGUGUCCAUCAUGCAACAAGGAGAAUCUUUGUCACUUAGUGUAAUUAAUAGCUGGAC
>hsa-mir-873 MI0005564GUGUGCAUUUGCAGGAACUUGUGAGUCUCCUAUUGAAAAUGAACAGGAGACUGAUGAG
UUCCCGGGAACACCCACAA>hsa-mir-874 MI0005532UUAGCCCUGCGGCCCCACGCACCAGGGUAAGAGAGACUC
UCGCUUCCUGCCCUGGCCCGAGGGACCGACUGGCUGGGC>hsa-mir-875 MI0005541UUAGUGGUACUAUACCUCA
GUUUUAUCAGGUGUUCUUAAAAUCACCUGGAAACACUGAGGUUGUGUCUCACUGAAC>hsa-mir-876 MI0005542U
GAAGUGCUGUGGAUUUCUUUGUGAAUCACCAUAUCUAAGCUAAUGUGGUGGUGGUUUACAAAGUAAUUCAUAGUGCUUCA
>hsa-mir-877 MI0005561GUAGAGGAGAUGGCGCAGGGGACACGGGCAAAGACUUGGGGGUUCCUGGGACCCUCAG
ACGUGUGUCCUCUUCUCCCUCCUCCCAG>hsa-mir-885 MI0005560CCGCACUCUCUCCAUUACACUACCCUGCCU
CUUCUCCAUGAGAGGCAGCGGGGUGUAGUGGAUAGAGCACGGGU>hsa-mir-887 MI0005562GUGCAGAUCCUUGG
GAGCCCUGUUAGACUCUGGAUUUUACACUUGGAGUGAACGGGCGCCAUCCCGAGGCUUUGCACAG>hsa-mir-888 MI
0005537GGCAGUGCUCUACUCAAAAAGCUGUCAGUCACUUAGAUUACAUGUGACUGACACCUCUUUGGGUGAAGGAAGG
CUCA>hsa-mir-889 MI0005540GUGCUUAAAGAAUGGCUGUCCGUAGUAUGGUCUCUAUAUUUAUGAUGAUUAAUA
UCGGACAACCAUUGUUUUAGUAUCC>hsa-mir-890 MI0005533GGAAGUGCCCUACUUGGAAAGGCAUCAGUUGCU
UAGAUUACAUGUAACUAUUCCCUUUCUGAGUAGAGUAAGUCUUA>hsa-mir-891a MI0005524CCUUAAUCCUUGC
AACGAACCUGAGCCACUGAUUCAGUAAAAUACUCAGUGGCACAUGUUUGUUGUGAGGGUCAAAAGA>hsa-mir-891b
MI0005534CCUUAAUCCUUGCAACUUACCUGAGUCAUUGAUUCAGUAAAACAUUCAAUGGCACAUGUUUGUUGUUAGGG
UCAAAAGA>hsa-mir-892a MI0005528GCAGUGCCUUACUCAGAAAGGUGCCAGUCACUUACACUACAUGUCACUG
UGUCCUUUCUGCGUAGAGUAAGGCUC>hsa-mir-892b MI0005538UGCAAUGCCCUACUCAGAAAGGUGCCAUUUA
UGUAGAUUUUAUGUCACUGGCUCCUUUCUGGGUAGAGCAAGGCUCA>hsa-mir-920 MI0005712GUAGUUGUUCUA
CAGAAGACCUGGAUGUGUAGGAGCUAAGACACACUCCAGGGGAGCUGUGGAAGCAGUAACACG>hsa-mir-921 MI00
05713ACUAGUGAGGGACAGAACCAGGAUUCAGACUCAGGUCCAUGGGCCUGGAUCACUGG>hsa-mir-922 MI0005
714AUGGCGUUUUCCCUCUCCCUGUCCUGGACUGGGGUCAGACUGUGCCCCGAGGAGAAGCAGCAGAGAAUAGGACUACG
UCAU>hsa-mir-924 MI0005716AAUAGAGUCUUGUGAUGUCUUGCUUAAGGGCCAUCCAACCUAGAGUCUACAAC>
hsa-mir-933 MI0005755ACUUGGGUCAGUUCAGAGGUCCUCGGGGCGCGCGUCGAGUCAGCCGUGUGCGCAGGGAG
ACCUCUCCCACCCACAGU>hsa-mir-934 MI0005756AGAAAUAAGGCUUCUGUCUACUACUGGAGACACUGGUAGU
AUAAAACCCAGAGUCUCCAGUAAUGGACGGGAGCCUUAUUUCU>hsa-mir-935 MI0005757GGCGGGGGCGCGGGC
GGCAGUGGCGGGAGCGGCCCCUCGGCCAUCCUCCGUCUGCCCAGUUACCGCUUCCGCUACCGCCGCCGCUCCCGCU>hsa
-mir-936 MI0005758UCAAGGCCACUGGGACAGUAGAGGGAGGAAUCGCAGAAAUCACUCCAGGAGCAACUGAGAGA
CCUUGCUUCUACUUUACCAGGUCCUGCUGGCCCAGA>hsa-mir-937 MI0005759AGCACUGCCCCCGGUGAGUCAG

GGUGGGGCUGGCCCCCUGCUUCGUGCCCAUCCGCGCUCUGACUCUCUGCCCACCUGCAGGAGCU>hsa-mir-938 MI0
005760GAAGGUGUACCAUGUGCCCUUAAAGGUGAACCCAGUGCACCUUCAUGAACCGUGGUACACCUUUAAGAACUUGG
UAUGCCUUC>hsa-mir-939 MI0005761UGUGGGCAGGGCCCUGGGGAGCUGAGGCUCUGGGGGUGGCCGGGGCUGA
CCCUGGGCCUCUGCUCCCCAGUGUCUGACCGCG>hsa-mir-940 MI0005762GUGAGGUGUGGGCCCGGCCCCAGGA
GCGGGGCCUGGGCAGCCCCGUGUGUUGAGGAAGGAAGGCAGGGCCCCCGCUCCCCGGGCCUGACCCCAC>hsa-mir-94
1-1 MI0005763CACGGAAGAGGACACACCCGGCUGUGUGGACAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGGAAGAGG
ACGCACCCGGCUGUGUGCACAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGG>hsa-mir-941-2 MI0005764CACGGA
AGAGGACGCACCCGGCUGUGUGCACAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGGAAGAGGACGCACCCGGCUGUGUGCA
CAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGG>hsa-mir-941-3 MI0005765CACGGAAGAGGACGCACCCGGCUGU
GUGCACAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGGAAGAGGACGCACCCGGCUGUGUGCACAUGUGCCCAGGGCCCGGG
ACAGCGCCAUGG>hsa-mir-941-4 MI0005766CAUGGAAGAGGACGCACCCGGCUGUGUGCACAUGUGCCCAGGGC
CCGGGACAGCGCCACGGAAGAGGACGCACCCGGCUGUGUGCACAUGUGCCCAGGGCCCGGGACAGCGCCACGG>hsa-mi
r-942 MI0005767AUUAGGAGAGUAUCUUCUCUGUUUUGGCCAUGUGUGUACUCACAGCCCCUCACACAUGGCCGAAA
CAGAGAAGUUACUUUCCUAAU>hsa-mir-943 MI0005768GGGACGUUCUGAGCUCGGGGUGGGGGACGUUUGCCGG
UCACUGCUGCUGGCGCCCUGACUGUUGCCGUCCUCCAGCCCCACUCAAAGGCAUCCC>hsa-mir-944 MI0005769G
UUCCAGACACAUCUCAUCUGAUAUACAAUAUUUUCUUAAAUUGUAUAAAGAGAA
AUUAUUGUACAUCGGAUGAGCUGUGUCUGGGAU>hsa-mir-1178 MI0006271GCGUUGGCUGGCAGAGGAAGGGAA
GGGUCCAGGGUCAGCUGAGCAUGCCCUCAGGUUGCUCACUGUUCUUCCCUAGAAUGUCAGGUGAUGU>hsa-mir-1179
MI0006272GGCUGGAAAGGAAGAAGCAUUCUUUCAUUGGUUGGUGUGUAUUGCCUUGUCAACCAAUAAGAGGAUGCCA
UUUAUCCUUUUCUGACUAGCU>hsa-mir-1180 MI0006273GCUGCUGGACCCACCCGGCCGGGAAUAGUGCUCCUG
GUUGUUUCCGGCUCGCGUGGGUGUGUCGGCGGC>hsa-mir-1181 MI0006274UCCACUGCUGCCGCCGUCGCCGCC
ACCCGAGCCGGAGCGGGCUGGGCCGCCAAGGCAAGAUGGUGGACUACAGCGUGUGGG>hsa-mir-1182 MI0006275
GGGACUUGUCACUGCCUGUCUCCUCCCCUCUCCAGCAGCGACUGGAUUCUGGAGUCCAUCUAGAGGGUCUUGGGAGGGAUG
UGACUGUUGGGAAGCCC>hsa-mir-1183 MI0006276AUUAUUCAAAUGCUCGGAGACACAGAACAUUAGAGAAGAC
AGGAGUUCACUGUAGGUGAUGGUGAGAGUGGGCAUGGAGCAGGAGUGCC>hsa-mir-1184-1 MI0006277CUUGCA
GAACGAGGUGAAGGAGGUGGUUCUGCUCAGCAGUCAACAGUGGCCACAUCUCCACCUGCAGCGACUUGAUGGCUUCCGUG
UCCUUUUCGUGGG>hsa-mir-1184-2 MI0015971CUUGCAGAACGAGGUGAAGGAGGUGGUUCUGCUCAGCAGUCA
ACAGUGGCCACAUCUCCACCUGCAGCGACUUGAUGGCUUCCGUGUCCUUUUCGUGGG>hsa-mir-1184-3 MI00159
72CUUGCAGAACGAGGUGAAGGAGGUGGUUCUGCUCAGCAGUCAACAGUGGCCACAUCUCCACCUGCAGCGACUUGAUGG
CUUCCGUGUCCUUUUCGUGGG>hsa-mir-1185-1 MI0003844UUUGGUACUUGAAGAGAGGAUACCCUUUGUAUGU
UCACUUGAUUAAUGGCGAAUAUACAGGGGGAGACUCUUAUUUGCGUAUCAAA>hsa-mir-1185-2 MI0003821UUU
GGUACUUAAAGAGAGGAUACCCUUUGUAUGUUCACUUGAUUAAUGGCGAAUAUACAGGGGGAGACUCUCAUUUGCGUAUC
AAA>hsa-mir-1193 MI0014205GUAGCUGAGGGGAUGGUAGACCGGUGACGUGCACUUCAUUUACGAUGUAGGUCA
CCCGUUUGACUAUCCACCAGCGCC>hsa-mir-1197 MI0006656ACUUCCUGGUAUUUGAAGAUGCGGUUGACCAUG
GUGUGUACGCUUUAUUUGUGACGUAGGACACAUGGUCUACUUCUUCUCAAUAUCA>hsa-mir-1200 MI0006332UG
CUACUUCUCCUGAGCCAUUCUGAGCCUCAAUCACUUGCCAGAGAGAUUGGUUCAGGAAUUUGUCAGGGAUAGCC>hsa-m
ir-1202 MI0006334CCUGCUGCAGAGGUGCCAGCUGCAGUGGGGGAGGCACUGCCAGGGCUGCCCACUCUGCUUAGC
CAGCAGGUGCCAAGAACAGG>hsa-mir-1203 MI0006335UCCUCCCCGGAGCCAGGAUGCAGCUCAAGCCACAGCA
GGGUGUUUAGCGCUCUUCAGUGGCUCCAGAUUGUGGCGCUGGUGCAGG>hsa-mir-1204 MI0006337ACCUCGUGG
CCUGGUCUCCAUUAUUUGAGAUGAGUUACAUCUUGGAGGUGAGGACGUGCCUCGUGGU>hsa-mir-1205 MI000633
8GAAGGCCUCUGCAGGGUUUGCUUUGAGGUACUUCCUUCCUGUCAACCCUGUUCUGGAGUCUGU>hsa-mir-1206 MI
0006339CAGUGUUCAUGUAGAUGUUUAAGCUCUUGCAGUAGGUUUUUGCAAGCUAGUGAACGCUG>hsa-mir-1207
MI0006340GCAGGGCUGGCAGGGAGGCUGGGAGGGGCUGGCUGGGUCUGGUAGUGGGCAUCAGCUGGCCCUCAUUUCUU
AAGACAGCACUUCUGU>hsa-mir-1208 MI0006341CACCGGCAGAAUCACUGUUCAGACAGGCGGAGACGGGUCUU
UCUCGCCCUCUGAUGAGUCACCACUGUGGUGG>hsa-mir-1224 MI0003764GUGAGGACUCGGGAGGUGGAGGGUG
GUGCCGCCGGGGCCGGGCGCUGUUUCAGCUCGCUUCUCCCCCCACCUCCUCUCUCCUCAG>hsa-mir-1225 MI0006
311GUGGGUACGGCCCAGUGGGGGGGAGAGGGACACGCCCUGGGCUCUGCCCAGGGUGCAGCCGGACUGACUGAGCCCCU
GUGCCGCCCCCAG>hsa-mir-1226 MI0006313GUGAGGGCAUGCAGGCCUGGAUGGGGCAGCUGGGAUGGUCCAAA
AGGGUGGCCUCACCAGCCCUGUGUUCCCUAG>hsa-mir-1227 MI0006316GUGGGGCCAGGCGGUGGUGGGCACUG
CUGGGGUGGGCACAGCAGCCAUGCAGAGCGGGCAUUUGACCCCGUGCCACCCUUUUCCCCAG>hsa-mir-1228 MI00

06318GUGGGCGGGGGCAGGUGUGUGGUGGGUGGUGGCCUGCGGUGAGCAGGGCCCUCACACCUGCCUCGCCCCCCAG>h
sa-mir-1229 MI0006319GUGGGUAGGGUUUGGGGGAGAGCGUGGGCUGGGGUUCAGGGACACCCUCUCACCACUGC
CCUCCCCACAG>hsa-mir-1231 MI0006321GUCAGUGUCUGGGCGGACAGCUGCAGGAAAGGGAAGACCAAGGCUUG
CUGUCUGUCCAGUCUGCCACCCUACCCUGUCUGUUCUUGCCACAG>hsa-mir-1233-1 MI0006323GUGAGUGGGA
GGCCAGGGCACGGCAGGGGGAGCUGCAGGGCUAUGGGAGGGGCCCCAGCGUCUGAGCCCUGUCCUCCCGCAG>hsa-mir
-1233-2 MI0015973GUGAGUGGGAGGCCAGGGCACGGCAGGGGGAGCUGCAGGGCUAUGGGAGGGGCCCCAGCGUCU
GAGCCCUGUCCUCCCGCAG>hsa-mir-1234 MI0006324GUGAGUGUGGGGUGGCUGGGGGGGGGGGGGGGGGGCCG
GGGACGGCUUGGGCCUGCCUAGUCGGCCUGACCACCCACCCCACAG>hsa-mir-1236 MI0006326GUGAGUGACAG
GGGAAAUGGGGAUGGACUGGAAGUGGGCAGCAUGGAGCUGACCUUCAUCAUGGCUUGGCCAACAUAAUGCCUCUUCCCCU
UGUCUCUCCAG>hsa-mir-1237 MI0006327GUGGGAGGGCCCAGGCGCGGGCAGGGGUGGGGGUGGCAGAGCGCUG
UCCCGGGGGCGGGGCCGAAGCGCGGCGACCGUAACUCCUUCUGCUCCGUCCCCCAG>hsa-mir-1238 MI0006328G
UGAGUGGGAGCCCCAGUGUGUGGUUGGGGCCAUGGCGGGUGGGCAGCCCAGCCUCUGAGCCUUCCUCGUCUGUCUGCCCC
AG>hsa-mir-1243 MI0006373CUAAAACUGGAUCAAUUAUAGGAGUGAAAUAAAGGUCCAUCUCCUGCCUAUUUAU
UACUUUGCUUUGGUAAUAAAUCUAUUUUUAAAAGAACC>hsa-mir-1244-1 MI0006379AUCUUAUUCCGAGCAUU
CCAGUAACUUUUUUGUGUAUGUACUUAGCUGUACUAUAAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUUAAAAA>hsa-mir-124
4-2 MI0015974AUCUUAUUCCGAGCAUUCCAGUAACUUUUUUGUGUAUGUACUUAGCUGUACUAUAAGUAGUUGGUUU
GUAUGAGAUGGUUAAAAA>hsa-mir-1244-3 MI0015975AUCUUAUUCCGAGCAUUCCAGUAACUUUUUUGUGUAU
GUACUUAGCUGUACUAUAAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUUAAAAA>hsa-mir-1245a MI0006380AUUUAUGU
AUAGGCCUUUAGAUCAUCUGAUGUUGAAUACUCUUUAAGUGAUCUAAAGGCCUACAUAUAAA>hsa-mir-1245b MI0
017431UUUAUAUGUAGGCCUUUAGAUCACUUAAAGAGUAUUCAACAUCAGAUGAUCUAAAGGCCUAUACAUAAA>hsa-
mir-1246 MI0006381UGUAUCCUUGAAUGGAUUUUUGGAGCAGGAGUGGACACCUGACCCAAAGGAAAUCAAUCCAU
AGGCUAGCAAU>hsa-mir-1247 MI0006382CCGCUUGCCUCGCCCAGCGCAGCCCCGGCCGCUGGGCGCACCCGUC
CCGUUCGUCCCCGGACGUUGCUCUCUACCCCGGGAACGUCGAGACUGGAGCGCCCGAACUGAGCCACCUUCGCGGACCCC
GAGAGCGGCG>hsa-mir-1248 MI0006383UUUACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAAAUUGCAGACACUAGGAC
CAUGUCUUGGUUUUUGCAAUAAUGCUAGCAGAGUACACACAAGAAGAAAAGUAACAGCA>hsa-mir-1249 MI00063
84GGGAGGAGGGAGGAGAUGGGCCAAGUUCCCUCUGGCUGGAACGCCCUUCCCCCCCCUUCUUCACCUG>hsa-mir-125
0 MI0006385CUGUCCCGCUGGCCUGGCAGGUGACGGUGCUGGAUGUGGCCUUUUUGCCUUUUCUAAAGGCCACAUUUU
CCAGCCCAUUCAACCUUCCAGAGCCCUCUGAAGUGGCCACAGGC>hsa-mir-1251 MI0006386GUGGACUCUAGCU
GCCAAAGGCGCUUCUCCUUCUGAACAGAGCGCUUUGCUCAGCCAGUGUAGACAUGGC>hsa-mir-1252 MI0006434
AGAAAGAAGGAAAUUGAAUUCAUUUAGAAAAGAGAAUUCCAAAUGAGCUUAAUUUCCUUUUUUCU>hsa-mir-1253 M
I0006387AGCAGCAAGAGAUAGAAUCCAAAAGAGAAGAAGAUCAGCCUGCAGAUGUGGACUGCUAAAUGCAGGCUGAUC
UUCUCCCCUUUGGGAUUCUCUUAUGAGAAGCCA>hsa-mir-1254-1 MI0006388GGUGGGAGGAUUGCUUGAGCCU
GGAAGCUGGAGCCUGCAGUGAACUAUCAUUGUGCCACUGUACUCCAGCCUAGGCAACAAAAUGAAAUCCUGUCUA>hsa-
mir-1254-2 MI0016747CUGAGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGUGAGCUAUGAUCAUGUCCCUGUACUCUAGCCUGG
GCA>hsa-mir-1255a MI0006389AUUGGAAAUCCUUUGAGUUGCUUCUCAAGGAUGAGCAAAGAAAGUAGAUUUUU
UAGAUUCUAAAGAAACUAUCUUCUUUGCUCAUCCUUGAGAAGCAACUCCUUAUCCAUUAA>hsa-mir-1255b-1 MI0
006435UACGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUUUCUUAAAAUGGAAUCUACUCUUUGUGAAGAUGCUGUGAA>hsa-mir-12
55b-2 MI0006436UCUUACGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUUUGCGCCUCAAGAAACCACUUUCUUUGCUCAUCCAUAAG
GA>hsa-mir-1256 MI0006390AGUCAGCCUGUUGAAGCUUUGAAGCUUUGAUGCCAGGCAUUGACUUCUCACUAGC
UGUGAAAGUCCUAGCUAAAGAGAAGUCAAUGCAUGACAUCUUGUUUCAAUAGAUGGCUGUUUCA>hsa-mir-1257 MI
0006391GCCCUGGGCUUGUGCUUGGGGAGUGAAUGAUGGGUUCUGACCCCCAUGCACCCCUGUGGGCCCCUGGCAUCAC
UGGCCCCAUCCUUCACCCCUGCCAACCACGCUUGCCCUGUGCCU>hsa-mir-1258 MI0006392CUGUGGCUUCCAC
GACCUAAUCCUAACUCCUGCGAGUCCCUGGAGUUAGGAUUAGGUCGUGGAAGCCACAGGA>hsa-mir-1260a MI000
6394ACCUUUCCAGCUCAUCCCACCUCUGCCACCAAAACACUCAUCGCGGGGUCAGAGGGAGUGCCAAAAAAGGUAA>hs
a-mir-1260b MI0014197UCUCCGUUUAUCCCACCACUGCCACCAUUAUUGCUACUGUUCAGCAGGUGCUGCUGGUG
GUGAUGGUGAUAGUCUGGUGGGGGCGGUGG>hsa-mir-1261 MI0006396UGCUAUGGAUAAGGCUUUGGCUUAUGG
GGAUAUUGUGGUUGAUCUGUUCUAUCCAGAUGACUGAAACUUUCUCCAUAGCAGC>hsa-mir-1262 MI0006397AU
CUACAAUGGUGAUGGGUGAAUUUGUAGAAGGAUGAAAGUCAAAGAAUCCUUCUGGGAACUAAUUUUUGGCCUUCAACAAG
AAUUGUGAUAU>hsa-mir-1263 MI0006398CUACCCCAAAAUAUGGUACCCUGGCAUACUGAGUAUUUUAAUACUG
GCAUACUCAGUAUGCCAUGUUGCCAUAUUUUGGGGUAGCA>hsa-mir-1264 MI0003758AGGUCCUCAAUAAGUAU

UUGUUGAAAGAAUAAAUAAACCAACAAGUCUUAUUUGAGCACCUGUUAUGUG>hsa-mir-1265 MI0006401AUGGU
UUGGGACUCAGGAUGUGGUCAAGUGUUGUUAAGGCAUGUUCAGGAACAAUACUUGACCACAUUUUGAAUUCCAAACCAUA
U>hsa-mir-1266 MI0006403ACAGGUAGUGUCCCUCAGGGCUGUAGAACAGGGCUGGGAUUACUAAAGCCCUGUUC
UAUGCCCUGAGGGACACUGAGCAUGUCA>hsa-mir-1267 MI0006404CUCCCAAAUCUCCUGUUGAAGUGUAAUCC
CCACCUCCAGCAUUGGGGAUUACAUUUCAACAUGAGAUUUGGAUGAGGA>hsa-mir-1268a MI0006405UAGCCGG
GCGUGGUGGUGGGGGCCUGUGGUCCCAGCUACUUUGGAGGCUGAG>hsa-mir-1268b MI0016748ACCCGGGCGUG
GUGGUGGGGGUGGGUGCCUGUAAUUCCAGCUAGUUGGGA>hsa-mir-1269a MI0006406UGGAUUGCCUAGACCAG
GGAAGCCAGUUGGCAUGGCUCAGUCCAAGUCUGACCACCUGAGGAAUGCCUGGACUGAGCCGUGCUACUGGCUUCCCUGG
UCUCCAGC>hsa-mir-1269b MI0016888UGAGGUUUCUGGACUGAGCCAUGCUACUGGCUUCUCUGGUUCUCCAGC
UUACAGAUGGCUUAUCAUGGGACCUCU>hsa-mir-1270-1 MI0006407CACAGAGUUAUACUGGAGAUAUGGAAGA
GCUGUGUUGGGUAUAAGUAACAGGCUUUUCUUUAUCUUCUAUGUGGCUCUUUGCA>hsa-mir-1270-2 MI0015976
CACAGAGUUAUACUGGAGAUAUGGAAGAGCUGUGUUGGGUAUAAGUAACAGGCUUUUCUUUAUCUUCUAUGUGGCUCUUU
GCA>hsa-mir-1271 MI0003814CACCCAGAUCAGUGCUUGGCACCUAGCAAGCACUCAGUAAAUAUUUGUUGAGUG
CCUGCUAUGUGCCAGGCAUUGUGCUGAGGGCU>hsa-mir-1272 MI0006408CCAGAUCAGAUCUGGGUGCGAUGAU
GAUGGCAGCAAAUUCUGAAAACGUGCUCAGUGUCUUUAUAACAGGAAAGCCGUAAACUUAGAAAUGUAGGCUGCAGCUCG
UGUGCUCUGUGGUCUGGGCUGGUA>hsa-mir-1273a MI0006409UGAGGCAGGAGAAUUGCUUGAACCCGGGUGGU
GGAGGUUGCAGUGAGCCAAGAUUGCGCCACUGCACUCCAGCCUGGGCGACAAAGCAAGACUCUUUCUUGGA>hsa-mir-
1273c MI0014171UGCAGCCUGGGCGACAAAACGAGACCCUGUCUUUUUUUUUUCUGAGACAGAGUCUCGUUCUGUU
GCCCAAGCUGGA>hsa-mir-1273d MI0014254GAAUCGCUUGAACCCAUGAGGUUGAGGCUGCAGUGAGCCAAGAU
CGUGCCACUGCACUUCAGCCUGGGUGACAAGAGCGAAACUUC>hsa-mir-1273e MI0016059UGAGGCAGGAGAAU
UGCUUGAACCCAGGAAGUGGAGGCUGCAGUGAGCCGAGAUCGAGCCACUGUACUCCAGCCUGGGUGACACAGCGAGACUC
CAGUCUCA>hsa-mir-1273f MI0018002AGGUGGGAGGAUUGCUUGAGCCUGGGAGAUGGAGGUUGCAGUGAGCUG
AGAUCACGCAACUGCACCCCCAGCCUGGGCCAUAGAGUCAGUCCUUGUCUC>hsa-mir-1273g MI0018003GAGGU
GGGAGGAUUGCUUGAGUCAGGGUGGUUGAGGCUGCAGUAAGUUGUGAUCAUACCACUGCACUCCAGCCUGAGUGACAGAG
CAAGACCUUGUCUCA>hsa-mir-1275 MI0006415CCUCUGUGAGAAAGGGUGUGGGGGAGAGGCUGUCUUGUGUCU
GUAAGUAUGCCAAACUUAUUUUCCCCAAGGCAGAGGGA>hsa-mir-1276 MI0006416CCCCAGCUAGGUAAAGAGC
CCUGUGGAGACACCUGGAUUCAGAGAACAUGUCUCCACUGAGCACUUGGGCCUUGAUGGCGGCU>hsa-mir-1277 MI
0006419ACCUCCCAAAUAUAUAUAUAUAUGUACGUAUGUGUAUAUAAAUGUAUACGUAGAUAUAUAUGUAUUUUUGGUG
GGUUU>hsa-mir-1278 MI0006425AUUUGCUCAUAGAUGAUAUGCAUAGUACUCCCAGAACUCAUUAAGUUGGUAG
UACUGUGCAUAUCAUCUAUGAGCGAAUAG>hsa-mir-1279 MI0006426AUAUUCACAAAAAUUCAUAUUGCUUCUU
UCUAAUGCCAAGAAAGAAGAGUAUAAGAACUUCC>hsa-mir-1280 MI0006437UCUGUCCCACCGCUGCCACCCUC
CCCUCUGCCUCAGUGUGCCAGGCAUCAGCACUCACUCACAGAGGCAGGCUGGAUGGCGGGUGGGACAACAG>hsa-mir-
1281 MI0006428AGGGGGCACCGGGAGGAGGUGAGUGUCUCUUGUCGCCUCCUCCUCUCCCCCCUU>hsa-mir-128
2 MI0006429CCUUCUUCUCGUUUGCCUUUUUCUGCUUCUGCUGCAUGAUCUCCGAGUCCCUGGGGGUAGAGAUGAUGG
GGCACUGGGAGGUACCAGAGGGCAAAAAGGAC>hsa-mir-1283-1 MI0003832CUCAAGCUAUGAGUCUACAAAGG
AAAGCGCUUUCUGUUGUCAGAAAGAAGAGAAAGCGCUUCCCUUUUGAGGGUUACGGUUUGAGAA>hsa-mir-1283-2
MI0006430CUCAAGCUGUGAGUCUACAAAGGAAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAAAGAAAUCGCUUCCCUUUGGAG
UGUUACGGUUUGAGAA>hsa-mir-1284 MI0006431AUUUUGAUAUAUAAGCCAGUUUAAUGUUUUCUAUACAGACC
CUGGCUUUUCUUAAAUUUUAUAUAUUGGAAAGCCCAUGUUUGUAUUGGAAACUGCUGGUUUCUUUCAUACUGAAAAUCU>
hsa-mir-1285-1 MI0006346UGUAGAGAUAGGAUCUCACUUUGUUGCCCAGGCUGGUCUCAAACUCCUGGUCUGGG
CAACAAAGUGAGACCUUAUCUCUACAAG>hsa-mir-1285-2 M
I0006347UUUGGGAGGCCGAGGCUGGUGCAUCACUUGAGCCCAGCAAUUUGAGACCAAUCUGGGCAACAAAGUGAGACC
UCCGUCUCUACAAAGA>hsa-mir-1286 MI0006348UGUCCUCUGGGGACUCAGCUUGCUCUGGCUGCUGGAUUGAA
UUAGCUGCAGGACCAAGAUGAGCCCUUGGUGGAGACA>hsa-mir-1287 MI0006349GUUGUGCUGUCCAGGUGCUG
GAUCAGUGGUUCGAGUCUGAGCCUUUAAAAGCCACUCUAGCCACAGAUGCAGUGAUUGGAGCCAUGACAA>hsa-mir-1
288 MI0006432GAGGGUGUUGAUCAGCAGAUCAGGACUGUAACUCACCAUAGUGGUGGACUGCCCUGAUCUGGAGACC
ACUGCCUU>hsa-mir-1289-1 MI0006350UUCUCAAUUUUUAGUAGGAAUUAAAAACAAAACUGGUAAAUGCAGAC
UCUUGGUUUCCACCCCCAGAGAAUCCCUAAACCGGGGGUGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUUUAGAAAGUACCCAGGGUGAU
UCUGAUAAUUGGGAACA>hsa-mir-1289-2 MI0006351CCACGGUCCUAGUUAAAAAGGCACAUUCCUAGACCCUG
CCUCAGAACUACUGAACAGAGUCACUGGGUGUGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUUUUACCCCUAUCGCCCCCGCC>hsa-mi

r-1290 MI0006352GAGCGUCACGUUGACACUCAAAAAGUUUCAGAUUUUGGAACAUUUCGGAUUUUGGAUUUUUGGA
UCAGGGAUGCUCAA>hsa-mir-1291 MI0006353GGUAGAAUUCCAGUGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGUUGUACU
GUGGCUGUUGGUUUCAAGCAGAGGCCUAAAGGACUGUCUUCCUG>hsa-mir-1292 MI0006433CCUGGGAACGGGU
UCCGGCAGACGCUGAGGUUGCGUUGACGCUCGCGCCCCGGCUCCCGUUCCAGG>hsa-mir-1293 MI0006355AGGU
UGUUCUGGGUGGUCUGGAGAUUUGUGCAGCUUGUACCUGCACAAAUCUCCGGACCACUUAGUCUUUA>hsa-mir-1294
MI0006356CACCUAAUGUGUGCCAAGAUCUGUUCAUUUAUGAUCUCACCGAGUCCUGUGAGGUUGGCAUUGUUGUCUG
GCAUUGUCUGAUAUACAACAGUGCCAACCUCACAGGACUCAGUGAGGUGAAACUGAGGAUUAGGAAGGUGUA>hsa-mir
-1295a MI0006357AGGACAUUUUGCCCAGAUCCGUGGCCUAUUCAGAAAUGUGGCCUGUGAUUAGGCCGCAGAUCUG
GGUGAAAUGUCCUCC>hsa-mir-1295b MI0019146CACCCAGAUCUGCGGCCUAAUCACAGGCCACAUUUCUGAAU
AGGCCACGGAUCUGGGCAA>hsa-mir-1296 MI0003780ACCUACCUAACUGGGUUAGGGCCCUGGCUCCAUCUCCU
UUAGGAAAACCUUCUGUGGGGAGUGGGGCUUCGACCCUAACCCAGGUGGGCUGU>hsa-mir-1297 MI0006358UGU
UUAUCUCUAGGGUUGAUCUAUUAGAAUUACUUAUCUGAGCCAAAGUAAUUCAAGUAAUUCAGGUGUAGUGAAAC>hsa-m
ir-1298 MI0003938AGACGAGGAGUUAAGAGUUCAUUCGGCUGUCCAGAUGUAUCCAAGUACCCUGUGUUAUUUGGC
AAUAAAUACAUCUGGGCAACUGACUGAACUUUUCACUUUUCAUGACUCA>hsa-mir-1299 MI0006359CCUCAUGG
CAGUGUUCUGGAAUCCUACGUGAGGGACAAUCAUUCAGACCCACGUAGCAGUGUUCUGGAAUUCUGUGUGAGGGA>hsa-
mir-1301 MI0003815GGAUUGUGGGGGGUCGCUCUAGGCACCGCAGCACUGUGCUGGGGAUGUUGCAGCUGCCUGGG
AGUGACUUCACACAGUCCUC>hsa-mir-1302-1 MI0006362CAGAAAGCCCAGUUAAAUUUGAAUUUCAAGUAAAC
AAUGAAUAAUUGUGUAUGUAAGAAUAUCCCAUACAAUAUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAUUAUUCCUUGCUUAUCUG
AAAUUCAAAUGUAACUAGGAUUCCUGUA>hsa-mir-1302-10 MI0015979GGAUGCCCAGCUAGUUUGAAUUUUAG
AUAAACAACGAAUAAUUUCGUAGCAUAAAUAUGUCCCAAGCUUAGUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAACAUUAUUGGU
UGUUUAUCUGAGAUUCAGAAUUAAGCAUUUUA>hsa-mir-1302-11 MI0015980GGAUGCCCAGCUAGUUUGAAUU
UUAGAUAAACAACGAAUAAUUUCGUAGCAUAAAUAUGUCCCAAGCUUAGUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAACAUUAU
UGGUUGUUUAUCUGAGAUUCAGAAUUAAGCAUUUUA>hsa-mir-1302-2 MI0006363GGAUGCCCAGCUAGUUUGA
AUUUUAGAUAAACAACGAAUAAUUUCGUAGCAUAAAUAUGUCCCAAGCUUAGUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAACAU
UAUUGGUUGUUUAUCUGAGAUUCAGAAUUAAGCAUUUUA>hsa-mir-1302-3 MI0006364GGAUGCCCAGCUAGUU
UGAAUUUUAGAUAAACAACGAAUAAUUUCGUAGCAUAAAUAUUUCCCAAGCUUAGUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAA
CAUUAUUGGUUGUUUAUCUGAGAUUCAAAAUUAAGCAUUUUA>hsa-mir-1302-4 MI0006365AAUGCAGAAGCAC
AGCUAAAAAUUUGAAUUUCAGAUAAACAAAUUUUUCUUAGAAUAAGUAUGUCUCCAUGCAACAUUUGGGACAUACUUAUGC
UAAAAUAUUAUUUGUGUUUCAUCUGAAAUUCAAAUUCAACUGGACAUCCUGUAUUUU>hsa-mir-1302-5 MI00063
66UGCCCGGCCUCCCAUUAAAUUGGUUUUUCAGACAAAUCACAAAUUUGUUUAGGUAUAAGUAUAUCCCAUGUAAUCUUU
GGGACAUACUUAUGCUAAAAUAAUUGUUCCUUGUUGAUUGGAAAUUUUAAUUUUAAUUAGGUGUCCUGUAUU>hsa-mir
-1302-6 MI0006367AACAAAUAAUUUGGUAAUAUAUGUAUGGCCCACACAAUAUUUAGGACAACAAUAUUUGGGACA
UACUUAUGCUAAAAAAGUAUUUGUUGA>hsa-mir-1302-7 MI0006368ACAACAUGUUUUUAGGACAUGUAUGUCU
GGUGCAAUAAUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAAAUUAGUGUUC>hsa-mir-1302-8 MI0006369CCCAUUUAAAC
UUGAAUUUCAUAUAAACACCGUAAUUUUCAGCAUUAGUGUAUCACAUGCAGUAUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAAUU
AGGUGGUGUUGAUCUGAAAUUCCAGUGUAGAUGGGCA>hsa-mir-1302-9 MI0015978GGAUGCCCAGCUAGUUUG
AAUUUUAGAUAAACAACGAAUAAUUUCGUAGCAUAAAUAUGUCCCAAGCUUAGUUUGGGACAUACUUAUGCUAAAAAACA
UUAUUGGUUGUUUAUCUGAGAUUCAGAAUUAAGCAUUUUA>hsa-mir-1303 MI0006370GGCUGGGCAACAUAGCG
AGACCUCAACUCUACAAUUUUUUUUUUUUUAAAUUUUAGAGACGGGGUCUUGCUCUGUUGCCAGGCUUU>hsa-mir-13
04 MI0006371AAACACUUGAGCCCAGCGGUUUGAGGCUACAGUGAGAUGUGAUCCUGCCACAUCUCACUGUAGCCUCG
AACCCCUGGGCUCAAGUGAUUCA>hsa-mir-1305 MI0006372AAGAUCCUGCUGUUUCUACCAUUAGUUUUGAAUG
UUUAUUGUAAAGAUACUUUUCAACUCUAAUGGGAGAGACAGCAGGAUUCUCC>hsa-mir-1306 MI0006443GUGAG
CAGUCUCCACCACCUCCCCUGCAAACGUCCAGUGGUGCAGAGGUAAUGGACGUUGGCUCUGGUGGUGAUGGACAGUCCGA
>hsa-mir-1307 MI0006444CAUCAAGACCCAGCUGAGUCACUGUCACUGCCUACCAAUCUCGACCGGACCUCGACC
GGCUCGUCUGUGUUGCCAAUCGACUCGGCGUGGCGUCGGUCGUGGUAGAUAGGCGGUCAUGCAUACGAAUUUUCAGCUCU
UGUUCUGGUGAC>hsa-mir-1321 MI0006652ACAUUAUGAAGCAAGUAUUAUUAUCCCUGUUUUACAAAUAAGGAA
AUAAACUCAGGGAGGUGAAUGUGAUCAAAGAUAG>hsa-mir-1322 MI0006653AGUAUCAUGAAUUAGAAACCUAC
UUAUUACAUAGUUUACAUAAGAAGCGUGAUGAUGCUGCUGAUGCUGUA>hsa-mir-1323 MI0003786ACUGAGGUC
CUCAAAACUGAGGGGCAUUUUCUGUGGUUUGAAAGGAAAGUGCACCCAGUUUUGGGGAUGUCAA>hsa-mir-1324 MI
0006657CCUGAAGAGGUGCAUGAAGCCUGGUCCUGCCCUCACUGGGAACCCCCUUCCCUCUGGGUACCAGACAGAAUUC

UAUGCACUUUCCUGGAGGCUCCA>hsa-mir-1343 MI0017320GCUGGCGUCGGUGCUGGGGAGCGGCCCCCGGGUG
GGCCUCUGCUCUGGCCCCUCCUGGGGCCCGCACUCUCGCUCUGGGCCCGC>hsa-mir-1468 MI0003782GGUGGGU
GGUUUCUCCGUUUGCCUGUUUCGCUGAUGUGCAUUCAACUCAUUCUCAGCAAAAUAAGCAAAUGGAAAAUUCGUCCAUC>
hsa-mir-1469 MI0007074CUCGGCGCGGGGCGCGGGCUCCGGGUUGGGGCGAGCCAACGCCGGGG>hsa-mir-14
70 MI0007075GCCCUCCGCCCGUGCACCCCGGGGCAGGAGACCCCGCGGGACGCGCCGAGGUAGGGGGGAC>hsa-mi
r-1471 MI0007076GCCCGCGUGUGGAGCCAGGUGUAGAGGCGGAGCACAGCUGGCUCUAAUUUGAGGGGC>hsa-mi
r-1537 MI0007258ACAGCUGUAAUUAGUCAGUUUUCUGUCCUGUCCACACAGAAAACCGUCUAGUUACAGUUGU>hs
a-mir-1538 MI0007259GGGAACAGCAGCAACAUGGGCCUCGCUUCCUGCCGGCGCGGCCCGGGCUGCUGCUGUUCC
U>hsa-mir-1539 MI0007260GGCUCUGCGGCCUGCAGGUAGCGCGAAAGUCCUGCGCGUCCCAGAUGCCC>hsa-m
ir-1587 MI0016905UUUGGGCUGGGCUGGGUUGGGCAGUUCUUCUGCUGGACUCACCUGUGACCAGC>hsa-mir-1
825 MI0008193AGAGACUGGGGUGCUGGGCUCCCCUAGACUAGGACUCCAGUGCCCUCCUCUCC>hsa-mir-1827
MI0008195UCAGCAGCACAGCCUUCAGCCUAAAGCAAUGAGAAGCCUCUGAAAGGCUGAGGCAGUAGAUUGAAU>hsa-
mir-1908 MI0008329CGGGAAUGCCGCGGCGGGGACGGCGAUUGGUCCGUAUGUGUGGUGCCACCGGCCGCCGGCUC
CGCCCCGGCCCCCGCCCC>hsa-mir-1909 MI0008330CAUCCAGGACAAUGGUGAGUGCCGGUGCCUGCCCUGGGG
CCGUCCCUGCGCAGGGGCCGGGUGCUCACCGCAUCUGCCCC>hsa-mir-1910 MI0008331UGUCCCUUCAGCCAGU
CCUGUGCCUGCCGCCUUUGUGCUGUCCUUGGAGGGAGGCAGAAGCAGGAUGACAAUGAGGGCAA>hsa-mir-1911 MI
0008332UCGGCAUCUGCUGAGUACCGCCAUGUCUGUUGGGCAUCCACAGUCUCCCACCAGGCAUUGUGGUCUCCGCUGA
CGCUUUG>hsa-mir-1912 MI0008333CUCUAGGAUGUGCUCAUUGCAUGGGCUGUGUAUAGUAUUAUUCAAUACCC
AGAGCAUGCAGUGUGAACAUAAUAGAGAUU>hsa-mir-1913 MI0008334ACCUCUACCUCCCGGCAGAGGAGGCUG
CAGAGGCUGGCUUUCCAAAACUCUGCCCCCUCCGCUGCUGCCAAGUGGCUGGU>hsa-mir-1914 MI0008335CGUG
UGAGCCCGCCCUGUGCCCGGCCCACUUCUGCUUCCUCUUAGCGCAGGAGGGGUCCCGCACUGGGAGGGGCCCUCAC>hsa
-mir-1915 MI0008336UGAGAGGCCGCACCUUGCCUUGCUGCCCGGGCCGUGCACCCGUGGGCCCCAGGGCGACGCG
GCGGGGGCGGCCCUAGCGA>hsa-mir-1972-1 MI0009982UAUAGGCAUGUGCCACCACACCUGGCUUAAAUGUGU
CAUUUAAAAAUUCAGGCCAGGCACAGUGGCUCAUGCCUGUA>hsa-mir-1972-2 MI0015977UAUAGGCAUGUGCC
ACCACACCUGGCUUAAAUGUGUCAUUUAAAAAUUCAGGCCAGGCACAGUGGCUCAUGCCUGUA>hsa-mir-1973 MI0
009983UAUGUUCAACGGCCAUGGUAUCCUGACCGUGCAAAGGUAGCAUA>hsa-mir-1976 MI0009986GCAGCAA
GGAAGGCAGGGGUCCUAAGGUGUGUCCUCCUGCCCUCCUUGCUGU>hsa-mir-2052 MI0010486CUGUUUUGAUAA
CAGUAAUGUCCCUUUAGUUCAAAGUUACCAGCUAUCAAAACAA>hsa-mir-2053 MI0010487CUUGCCAUGUAAAU
ACAGAUUUAAUUAACAUUUGCAACCUGUGAAGAUGCAAAACUUUAAGUGUUAAUUAAACCUCUAUUUACAUAGCAAG>hs
a-mir-2054 MI0010488CUGUAAUAUAAAUUUAAUUUAUUCUCUAUCAUUAAAAAAUGUAUUACAG>hsa-mir-21
10 MI0010629CAGGGGUUUGGGGAAACGGCCGCUGAGUGAGGCGUCGGCUGUGUUUCUCACCGCGGUCUUUUCCUCCC
ACUCUUG>hsa-mir-2113 MI0003939UUUUCAAAGCAAUGUGUGACAGGUACAGGGACAAAUCCCGUUAAUAAGUA
AGAGGAUUUGUGCUUGGCUCUGUCACAUGCCACUUUGAAAA>hsa-mir-2114 MI0010633CCUCCAUGCUCCUAGU
CCCUUCCUUGAAGCGGUCGGAUAAUCACAUGACGAGCCUCAAGCAAGGGACUUCAAGCUGGUGG>hsa-mir-2115 MI
0010634ACUGUCAUCCCACUGCUUCCAGCUUCCAUGACUCCUGAUGGAGGAAUCACAUGAAUUCAUCAGAAUUCAUGGA
GGCUAGAAGCAGUAUGAGGAUCAUUUA>hsa-mir-2116 MI0010635GACCUAGGCUAGGGGUUCUUAGCAUAGGAG
GUCUUCCCAUGCUAAGAAGUCCUCCCAUGCCAAGAACUCCCAGACUAGGA>hsa-mir-2117 MI0010636GCUCUGA
UUUACUUCUGUCCGGCAUGGUGAACAGCAGGAUUGGCUGUAGCUGUUCUCUUUGCCAAGGACAGAUCUGAUCU>hsa-mi
r-2276 MI0011282GUGUUCUUCCAGUCCGCCCUCUGUCACCUUGCAGACGGCUUUCUCUCCGAAUGUCUGCAAGUGU
CAGAGGCGAGGAGUGGCAGCUGCAU>hsa-mir-2277 MI0011284GUGCUUCCUGCGGGCUGAGCGCGGGCUGAGCG
CUGCCAGUCAGCGCUCACAUUAAGGCUGACAGCGCCCUGCCUGGCUCGGCCGGCGAAGCUC>hsa-mir-2278 MI001
1285GUGCUGCAGGUGUUGGAGAGCAGUGUGUGUUGCCUGGGGACUGUGUGGACUGGUAUCACCCAGACAGCUUGCACUG
ACUCCAGACCCUGCCGUCAU>hsa-mir-2355 MI0015873CAGACGUGUCAUCCCCAGAUACAAUGGACAAUAUGCU
AUUAUAAUCGUAUGGCAUUGUCCUUGCUGUUUGGAGAUAAUACUGCUGAC>hsa-mir-2392 MI0016870AUGGUCC
CUCCCAAUCCAGCCAUUCCUCAGACCAGGUGGCUCCCGAGCCACCCCAGGCUGUAGGAUGGGGGUGAGAGGUGCUAG>hs
a-mir-2467 MI0017432GGACAGGCACCUGAGGCUCUGUUAGCCUUGGCUCUGGGUCCUGCUCCUUAGAGCAGAGGC
AGAGAGGCUCAGGGUCUGUCU>hsa-mir-2681 MI0012062GCCCCCUUUUCACGCAUUUGUGUUUUACCACCUCCA
GGAGACUGCCCAAAGACUCUUCAGUAUCAUGGAGUUGGUAAAGCACAGAUGCAUGAAUAAUUCAACGUG>hsa-mir-26
82 MI0012063ACCUUCCUGAAAGAGGUUGGGGCAGGCAGUGACUGUUCAGACGUCCAAUCUCUUUGGGACGCCUCUUC
AGCGCUGUCUUCCCUGCCUCUGCCUUUAGGACGAGUCUCAAA>hsa-mir-2861 MI0013006GGCGCCUCUGCAGCU

CCGGCUCCCCCUGGCCUCUCGGGAACUACAAGUCCCAGGGGGCCUGGCGGUGGGCGGCGGGCGGAAGAGGCGGGG>hsa-mir-2909 MI0013083GGUGUUAGGGCCAACAUCUCUUGGUCUUUCCCCUGUGGUCCCAAGAUGGCUGUUGCAACUUAACGCCAU>hsa-mir-2964a MI0017299GGAGCUCAGCCACAGAUGUCCAGCCACAAUUCUCGGUUGGCCGCAGACUCGUACAAGAAUUGCGUUUGGACAAUCAGUGGCGAAGCCC>hsa-mir-3064 MI0017375GGUCUGGCUGUUGUGGUGUGCAAAACUCCGUACAUUGCUAUUUUGCCACACUGCAACACCUUACAG>hsa-mir-3065 MI0014228CUGCCCUCUUCAACAAAAUCACUGAUGCUGGAGUCGCCUGAGUCAUCACUCAGCACCAGGAUAUUGUUGGAGAGGACAG>hsa-mir-3074 MI0014181GCUCGACUCCUGUUCCUGCUGAACUGAGCCAGUGUGUAAAAUGAGAACUGAUAUCAGCUCAGUAGGCACCGGAGGGCGGGU>hsa-mir-3115 MI0014127UCUGAAUAUGGGUUUACUAGUUGGUGGUGAAUUCAUGAGUCGCCAACUAUUAGGCCUUUAUGUCCAGA>hsa-mir-3116-1 MI0014128CUUUAUUGAGUCCCUACUAUGUUCCAGGCACUGGGUAUCGUAGGUGCCUGGAACAUAGUAGGGACUCAAUAAAG>hsa-mir-3116-2 MI0014129UAUUGAGUCCCUACUAUGUUCCAGGCACCUACGAUACCCAGUGCCUGGAACAUAGUAGGGACUCAAUA>hsa-mir-3117 MI0014130CCCUAAAGGGCCAGACACUAUACGAGUCAUAUAAGGGAAGGCAUUAUAGGACUCAUAUAGUGCCAGGUGUUUUGUGGG>hsa-mir-3118-1 MI0014131CACACUACAAUAAUUUUCAUAAUGCAAUCACACAUAAUCACUAUGUGACUGCAUUAUGAAAAUUCUUGUAGUGUG>hsa-mir-3118-2 MI0014132ACACUACAAUAAUUUUCAUAAUGCAAUCACACAUAAUCACUAUGUGACUGCAUUAUGAAAAUUCUUGUAGUGU>hsa-mir-3118-3 MI0014133CACACUACAAUAAUUUUCAUAAUGCAAUCACACAUAAUCACUAUGUGACUGCAUUAUGAAAAUUCUUGUAGUGUG>hsa-mir-3118-4 MI0014207CAUACUACAAUAAUUUUCAUAAUGCAAUCACACACAAUCACCGUGUGACUGCAUUAUGAAAAUUCUUCUAGUGUG>hsa-mir-3118-5 MI0014243CACACAUACAAUAAUAUUCAUAAUGCAAUCACACACAAUCACCAUGUGACUGCAUUAUGAAAAUUCUUCUAGUGUG>hsa-mir-3118-6 MI0015981CAUACUACAAUAAUUUUCAUAAUGCAAUCACACACAAUCACCGUGUGACUGCAUUAUGAAAAUUCUUCUAGUGUG>hsa-mir-3119-1 MI0014134AUUAACUCUGGCUUUUAACUUUGAUGGCAAAGGGGUAGCUAAACAAUCUAUGUCUUUGCCAUCAAAGUUAAAAGCCAUAGUUAAU>hsa-mir-3119-2 MI0014135AUUAACUAUGGCUUUUAACUUUGAUGGCAAAGACAUAGAUUGUUUAGCUACCCCUUUGCCAUCAAAGUUAAAAGCCAGAGUUAAU>hsa-mir-3120 MI0014136GUCAUGUGACUGCCUGUCUGUGCCUGCUGUACAGGUGAGCGGAUGUUCUGCACAGCAAGUGUAGACAGGCAGACACAUGAC>hsa-mir-3121 MI0014137AAAUGGUUAUGUCCUUUGCCUAUUCUAUUUAAGACACCCUGUACCUUAAAUAGAGUAGGCAAAGGACAGAAACAUUU>hsa-mir-3122 MI0014138ACCAGCUCUGUUGGGACAAGAGGACGGUCUUCUUUUGGAAGGAAGACCAUCAUCUUGUCCGAAGAGAGCUGGU>hsa-mir-3123 MI0014139AUGGAUUUGAUUGAAUGAUUCUCCCAUUUCCACAUGGAGAGUGGAGCCCAGAGAAUUGUUUAAUCAUGUAUCCAU>hsa-mir-3124 MI0014140GCGGGCUUCGCGGGCGAAGGCAAAGUCGAUUUCCAAAAGUGACUUUCCUCACUCCCGUGAAGUCGGC>hsa-mir-3125 MI0014142GAGAAUGGGUAGAGGAAGCUGUGGAGAGAACUCACGGUGCCUGUGGUUCGAGAUCCCCGCCUUCCUCCUCCUUUCCUC>hsa-mir-3126 MI0014143AUGAUUAUAUGAGGGACAGAUGCCAGAAGCACUGGUUAUGAUUUGCAUCUGGCAUCCGUCACACAGAUAAUUAU>hsa-mir-3127 MI0014144GGCCAGGCCCAUCAGGGCUUGUGGAAUGGGAAGGAGAAGGGACGCUUCCCCUUCUGCAGGCCUGCUGGGUGUGGCU>hsa-mir-3128 MI0014145UUCCUCUGGCAAGUAAAAAACUCUCAUUUUCCUUAAAAAAUGAGAGUUUUUUACUUGCAAUAGGAA>hsa-mir-3129 MI0014146GUACUUGGGCAGUAGUGUAGAGAUUGGUUUGCCUGUUAAUGAAUUCAAACUAAUCUCUACACUGCUGCCCAAGAGC>hsa-mir-3130-1 MI0014147CUUGUCAUGUCUUACCCAGUCUCCGGUGCAGCCUGUUGUCAAGGCUGCACCGGAGACUGGGUAAGACAUGACAAG>hsa-mir-3130-2 MI0014148CUUGUCAUGUCUUACCCAGUCUCCGGUGCAGCCUUGACAACAGGCUGCACCGGAGACUGGGUAAGACAUGACAAG>hsa-mir-3131 MI0014151GAGUCGAGGACUGGUGGAAGGGCCUUUCCCCUCAGACCAAGGCCCUGGCCCCAGCUUCUUCUC>hsa-mir-3132 MI0014152GGUGGGAUGGGUAGAGAAGGAGCUCAGAGGACGGUGCGCCUUGUUUCCCUUGAGCCCUCCCUCUCUCAUCCCACC>hsa-mir-3133 MI0014153CAGAAAUUGUAAAGAACUCUUAAAACCCAAUAGUAAAAAGACAACCUGUUGAGUUUUAAGAGUUCUUUAUAUAUUCUG>hsa-mir-3134 MI0014155UGUAUCCAAUGUGUAGUCUUUUAUCCCUCACAUGGAGUAAAAUAUGAUGGAUAAAAGACUACAUAUUGGGUACA>hsa-mir-3135a MI0014156UCACUUUGGUGCCUAGGCUGAGACUGCAGUGGUGCAAUCUCAGUUCACUGCAGCCUUGACCUCCUGGGCUCAGGUGA>hsa-mir-3135b MI0016809UGCCCAGGCUGGAGCGAGUGCAGUGGUGCAGUCAGUCCUAGCUCACUGCAGCCUCGAACUCCUGGGCU>hsa-mir-3136 MI0014158AAUAUGAAACUGACUGAAUAGGUAGGGUCAUUUUUCUGUGACUGCACAUGGCCCAACCUAUUCAGUUAGUUCCAUAUU>hsa-mir-3137 MI0014160UACAGGUCUGUAGCCUGGGAGCAAUGGGGUGUAUGGUAUAGGGGUAGCCUCGUGCUCCUGGGCUACAAACCUGUA>hsa-mir-3138 MI0014161CCCUCCUCGGCACUUCCCCCACCUCACUGCCCGGGUGCCCACAAGACUGUGGACAGUGAGGUAGAGGGAGUGCCGAGGAGGG>hsa-mir-3139 MI0014162GGCUCAGAGUAGGAGCUCAACAGAUGCCUGUUGACUGAAUAAUAAACAGGUAUCGCAGGAGCUUUUGUUAUGUGCC>hsa-mir-3140 MI0014163CCUCUUGAGGUACCUGAAUU

ACCAAAAGCUUUAUGUAUUCUGAAGUUAUUGAAAAUAAGAGCUUUUGGGAAUUCAGGUAGUUCAGGAGUG>hsa-mir-3
141 MI0014165UCACCCGGUGAGGGCGGGUGGAGGAGGAGGGUCCCCACCAUCAGCCUUCACUGGGACGGGA>hsa-m
ir-3142 MI0014166UUCAGAAAGGCCUUUCUGAACCUUCAGAAAGGCUGCUGAAUCUUCAGAAAGGCCUUUCUGAAC
CUUCAGAAAGGCUGCUGAA>hsa-mir-3143 MI0014167UAGAUAACAUUGUAAAGCGCUUCUUUCGCGGUUGGGCU
GGAGCAACUCUUUACAAUGUUUCUA>hsa-mir-3144 MI0014169AACUACACUUUAAGGGGACCAAAGAGAUAUAU
AGAUAUCAGCUACCUAUAUACCUGUUCGGUCUCUUUAAAGUGUAGUU>hsa-mir-3145 MI0014170UAUAUGAGUU
CAACUCCAAACACUCAAAACUCAUUGUUGAAUGGAAUGAGAUAUUUUGAGUGUUUGGAAUUGAACUCGUAUA>hsa-mir
-3146 MI0014172GCUAAGUCCCUUCUUUCUAUCCUAGUAUAACUUGAAGAAUUCAAAUAGUCAUGCUAGGAUAGAAA
GAAUGGGACUUGGC>hsa-mir-3147 MI0014173GUCCGGGUUGGGCAGUGAGGAGGGUGUGACGCCGCGAAGUGCA
CCUCGCCCUUGUCCAACUCGGAC>hsa-mir-3148 MI0014175GAGUUAAGAUGGAAAAAACUGGUGUGUGCUUAUU
GAUGUAGCCAACAAGCAUACAUCAGUUUUUUCCAACUUAACUC>hsa-mir-3149 MI0014176AUACAUACAUGUAC
ACACACAUGUCAUCCACACACAUACAUAUAUAUAUGUUUGUAUGGAUAUGUGUGUGUAUGUGUGUGUAU>hsa-mir-31
50a MI0014177GGGAAGCAGGCCAACCUCGACGAUCUCCUCAGCACCUGAACGCCAAGGCUGGGGAGAUCCUCGAGGU
UGGCCUGCUUUCC>hsa-mir-3150b MI0016426GAGGGAAAGCAGGCCAACCUCGAGGAUCUCCCCAGCCUUGGCG
UUCAGGUGCUGAGGAGAUCGUCGAGGUUGGCCUGCUUCCCCUC>hsa-mir-3151 MI0014178GGGGUGAUGGGUGG
GGCAAUGGGAUCAGGUGCCUCAAAGGGCAUCCCACCUGAUCCCACAGCCCACCUGUCACCCC>hsa-mir-3152 MI00
14179GUGCAGAGUUAUUGCCUCUGUUCUAACACAAGACUAGGCUUCCCUGUGUUAGAAUAGGGGCAAUAACUCUGCAC>
hsa-mir-3153 MI0014180GACAAAUUUUAAAUGUCCCUGUCCCCUUCCCCCCAAUUAAAGUAGAUUGGGGGAAAGC
GAGUAGGGACAUUUAAAAUUUGUU>hsa-mir-3154 MI0014182GGCCCCUCCUUCUCAGCCCCAGCUCCCGCUCAC
CCCUGCCACGUCAAAGGAGGCAGAAGGGGAGUUGGGAGCAGAGAGGGGACC>hsa-mir-3155a MI0014183UCCGG
GCAUCACCUCCCACUGCAGAGCCUGGGGAGCCGGACAGCUCCCUUCCCAGGCUCUGCAGUGGGAACUGAUGCCUGGA>hs
a-mir-3155b MI0016839CCACUGCAGAGCCUGGGAAGGGAGCUGUCCGGCUCCCCAGGCUCUGCAGUGGGAGU>hs
a-mir-3156-1 MI0014184GCAGAAGAAAGAUCUGGAAGUGGGAGACACUUUUACUAUAUAUAGUGGCUCCCACUUC
CAGAUCUUUCUCUCUGU>hsa-mir-3156-2 MI0014230UGCAGAAGAAAGAUCUGGAAGUGGGAGACACUUUCACU
AUAUAUAGUGGCUCCCACUUCCAGAUCUUUCUCUCUGUA>hsa-mir-3156-3 MI0014242UGCAGAAGAAAGAUCU
GGAAGUGGGAGACACUUUCACUAUAUAUAGUGGCUCCCACUUCCUGAUCUUUCUCUCUGUA>hsa-mir-3157 MI001
4185GGGAAGGGCUUCAGCCAGGCUAGUGCAGUCUGCUUUGUGCCAACACUGGGGUGAUGACUGCCCUAGUCUAGCUGAA
GCUUUUCCC>hsa-mir-3158-1 MI0014186AUUCAGGCCGGUCCUGCAGAGAGGAAGCCCUUCUGCUUACAGGUAU
UGGAAGGGCUUCCUCUCUGCAGGACCGGCCUGAAU>hsa-mir-3158-2 MI0014187AUUCAGGCCGGUCCUGCAGA
GAGGAAGCCCUUCCAAUACCUGUAAGCAGAAGGGCUUCCUCUCUGCAGGACCGGCCUGAAU>hsa-mir-3159 MI001
4188CCAAAGUCCUAGGAUUACAAGUGUCGGCCACGGGCUGGGCACAGUGGCUCACGCCUGUAAUCCCAGCAUUUUGG>h
sa-mir-3160-1 MI0014189GGACCUGCCCUGGGCUUUCUAGUCUCAGCUCUCCUCCAGCUCAGCUGGUCAGGAGAG
CUGAGACUAGAAAGCCCAGGGCAGGUUC>hsa-mir-3160-2 MI0014190ACCUGCCCUGGGCUUUCUAGUCUCAGC
UCUCCUGACCAGCUGAGCUGGAGGAGAGCUGAGACUAGAAAGCCCAGGGCAGGU>hsa-mir-3161 MI0014191CCU
CGAGAGCUGAUAAGAACAGAGGCCCAGAUUGAAGUUGAAUAGUGCUGGGCCUUUGUUUUUACCAAGUUCCCUGG>hsa-m
ir-3162 MI0014192CUGACUUUUUUAGGGAGUAGAAGGGUGGGGAGCAUGAACAAUGUUUCUCACUCCCUACCCCUC
CACUCCCCAAAAAAGUCAG>hsa-mir-3163 MI0014193UUCCUCAUCUAUAAAAUGAGGGCAGUAAGACCUUCCUU
CCUUGUCUUACUACCCCCAUUUUAUAGAUGAGGAA>hsa-mir-3164 MI0014194CUUGGAAACUGUGACUUUAAGG
GAAAUGGCGCACAGCAGACCCUGCAAUCAUGCCGUUUUGCUUGAAGUCGCAGUUUCCCAGG>hsa-mir-3165 MI001
4195CCGGUGGCAAGGUGGAUGCAAUGUGACCUCAACUCUUGGUCCUCUGAGGUCACAUUGUAUCCACCUUACCACUGG>
hsa-mir-3166 MI0014196AAAUUUUUUUGAGGCCAGUAGGCAUUGUCUGCGUUAGGAUUUCUGUAUCAUCCUCCUA
ACGCAGACAAUGCCUACUGGCCUAAGAAAAAUUU>hsa-mir-3167 MI0014198GGCUGUGGAGGCACCAGUAUUUC
UGAAAUUCUUUUUUCUGAAAUUCUUCAGGAAGGAUUUCAGAAAUACUGGUGUCCCGACAGCC>hsa-mir-3168 MI00
14199AAGAUCAUGAGUUCUACAGUCAGACAGCCUGAGUUGGAGGCUCAUCUUCACUUCUUGCUGUGUGACCCUGGGCCA
GUGACUU>hsa-mir-3169 MI0014200AUGUGAAAACAUAGGACUGUGCUUGGCACAUAGCACAAAGUCUUAUGGUA
CUGUGUGCCAAGCAUAGUCCUGUGUUUUUACAU>hsa-mir-3170 MI0014201CUGGUAACACUGGGGUUCUGAGAC
AGACAGUGUUAGCUCCAGAAGCAUUGCCUGUCUUAGAACCCCUAUGUUACCAG>hsa-mir-3171 MI0014202UAUA
UAUAGAGAUGUAUGGAAUCUGUAUAUAUCUAUAUAUAUGUGUAUAUAUAGAUUCCAUAAAUCUAUAUAUG>hsa-mir-3
173 MI0014204UCCCUGCCCUGCCUGUUUUCUCCUUUGUGAUUUUAUGAGAACAAAGGAGGAAAUAGGCAGGCCAGGG
A>hsa-mir-3174 MI0014208GUUACCUGGUAGUGAGUUAGAGAUGCAGAGCCCUGGGCUCCUCAGCAAACCUACUG

GAUCUGCAUUUUAAUUCACAUGCAUGGUAAU>hsa-mir-3175 MI0014209CCUGGGGGGCGGGGAGAGAACGCAGU
GACGUCUGGCCGCGUGCGCAUGUCGGGCGCUUUCUCCUCCCCCUACCCAGG>hsa-mir-3176 MI0014210UGGCCU
CUCCAGUCUGCAGCUCCCGGCAGCCUCGGGCCACACUCCCGGGAUCCCCAGGGACUGGCCUGGGACUACCGGGGGUGGCG
GCCG>hsa-mir-3177 MI0014211CCACGUGCCAUGUGUACACACGUGCCAGGCGCUGUCUUGAGACAUUCGCGCAG
UGCACGGCACUGGGGACACGUGGCACUGG>hsa-mir-3178 MI0014212GAGGCUGGGCGGGGCGCGGCCGGAUCGG
UCGAGAGCGUCCUGGCUGAUGACGGUCUCCCGUGCCCACGCCCCAAACGCAGUCUC>hsa-mir-3179-1 MI001421
3CAGGAUCACAGACGUUUAAAUUACACUCCUUCUGCUGUGCCUUACAGCAGUAGAAGGGGUGAAAUUUAAACGUCUGUGA
UCCUG>hsa-mir-3179-2 MI0014216CAGGAUCACAGACGUUUAAAUUACACUCCUUCUGCUGUGCCUUACAGCAG
UAGAAGGGGUGAAAUUUAAACGUCUGUGAUCCUG>hsa-mir-3179-3 MI0014221CAGGAUCACAGACGUUUAAAU
UACACUCCUUCUGCUGUGCCUUACAGCAGUAGAAGGGGUGAAAUUUAAACGUCUGUGAUCCUG>hsa-mir-3180-1 M
I0014214CAGUGCGACGGGCGGAGCUUCCAGACGCUCCGCCCCACGUCGCAUGCGCCCCGGGAAAGCGUGGGGCGGAGC
UUCCGGAGGCCCCGCCCUGCUG>hsa-mir-3180-2 MI0014215GCGACGGGCGGAGCUUCCAGACGCUCCGCCCCA
CGUCGCAUGCGCCCCGGGAAAGCGUGGGGCGGAGCUUCCGGAGGCCCCGCCCUGC>hsa-mir-3180-3 MI0014217
CAGUGCGACGGGCGGAGCUUCCAGACGCUCCGCCCCACGUCGCAUGCGCCCCGGGAAAGCGUGGGGCGGAGCUUCCGGAG
GCCCCGCCCUGCUG>hsa-mir-3180-4 MI0016408GCUCCGCCCCACGUCGCAUGCGCCCCGGGAACGCGUGGGGC
GGAGCUUCCGGAGGCCCCGCUCUGCUGCCGACCCUGUGGAGCGGAGGGUGAAGCCUCCGGAUGCCAGUCCCUCAUCGCUG
GCCUGGUCGCGCUGUGGCGAAGGGGGCGGAGC>hsa-mir-3180-5 MI0016409GCUCCGCCCCACGUCGCAUGCGC
CCCGGGAACGCGUGGGGCGGAGCUUCCGGAGGCCCCGCCCUGCUGCCGACCCUGUGGAGCGGAGGGUGAAGCCUCCGGAU
GCCAGUCCCUCAUCGCUGGCCCGGUCGCGCUGUGGCGAAGGGGGCGGAGC>hsa-mir-3181 MI0014223CGGCGAC
CAUCGGGCCCUCGGCGCCGGCCCGUUAGUUGCCCGGGCCCGAGCCGGCCGGGCCCGCGGGUUGCCG>hsa-mir-3182
MI0014224GCUGCUUCUGUAGUGUAGUCCGUGCAUCCGCCCUUCGAUGCUUGGGUUGGAUCAUAGAGCAGU>hsa-mir
-3183 MI0014225CUCUGCCCUGCCUCUCUCGGAGUCGCUCGGAGCAGUCACGUUGACGGAAUCCUCCGGCGCCUCCU
CGAGGGAGGAGAGGCAGGG>hsa-mir-3184 MI0014226AAGCAAGACUGAGGGGCCUCAGACCGAGCUUUUGGAAA
AUAGAAAAGUCUCGCUCUCUGCCCCUCAGCCUAACUU>hsa-mir-3185 MI0014227GAAUGGAAGAAGAAGGCGGU
CGGUCUGCGGGAGCCAGGCCGCAGAGCCAUCCGCCUUCUGUCCAUGUC>hsa-mir-3186 MI0014229AGCCUGCGG
UUCCAACAGGCGUCUGUCUACGUGGCUUCAACCAAGUUCAAAGUCACGCGGAGAGAUGGCUUUGGAACCAGGGGCU>hsa
-mir-3187 MI0014231GCUGGCCCUGGGCAGCGUGUGGCUGAAGGUCACCAUGUUCUCCUUGGCCAUGGGGCUGCGC
GGGGCCAGC>hsa-mir-3188 MI0014232GGCGCCUCCUGCUCUGCUGUGCCGCCAGGGCCUCCCCUAGCGCGCCUU
CUGGAGAGGCUUUGUGCGGAUACGGGGCUGGAGGCCU>hsa-mir-3189 MI0014233GCCUCAGUUGCCCCAUCUGU
GCCCUGGGUAGGAAUAUCCUGGAUCCCCUUGGGUCUGAUGGGGUAGCCGAUGC>hsa-mir-3190 MI0014235CUGG
GGUCACCUGUCUGGCCAGCUACGUCCCCACGGCCCUUGUCAGUGUGGAAGGUAGACGGCCAGAGAGGUGACCCCGG>hsa
-mir-3191 MI0014236GGGGUCACCUCUCUGGCCGUCUACCUUCCACACUGACAAGGGCCGUGGGGACGUAGCUGGC
CAGACAGGUGACCCC>hsa-mir-3192 MI0014237GGAAGGGAUUCUGGGAGGUUGUAGCAGUGGAAAAAGUUCUUU
UCUUCCUCUGAUCGCCCUCUCAGCUCUUUCCUUCU>hsa-mir-3193 MI0014238UCCUGCGUAGGAUCUGAGGAGU
GGACGAGUCUCAUUACCCAGCUCCUGAGCAGGA>hsa-mir-3194 MI0014239AGGUGGCAGGGCCAGCCACCAGGA
GGGCUGCGUGCCACCCGGGCAGCUCUGCUGCUCACUGGCAGUGUCACCU>hsa-mir-3195 MI0014240CCGCAGCC
GCCGCGCCGGGCCCGGGUUGGCCGCUGACCCCCGCGGGGCCCCCGGCGGCCGGGGCGGGGGCGGGGGCUGCCCCGG>hsa
-mir-3196 MI0014241GGGUGGGGGCGGGGCGGCAGGGGCCUCCCCCAGUGCCAGGCCCCAUUCUGCUUCUCUCCCA
GCU>hsa-mir-3197 MI0014245GGCGAGGGGAGGCGCAGGCUCGGAAAGGCGCGCGAGGCUCCAGGCUCCUUCCCG
AUCCACCGCUCUCCUCGCU>hsa-mir-3198-1 MI0014246GACUGUGCUCUCACUGUUCACCCAGCACUAGCAGUA
CCAGACGGUUCUGUGGAGUCCUGGGGAAUG
GAGAGAGCACAGUC>hsa-mir-3198-2 MI0017335GACUCUGCUCUCACUGUUCACCCAGCACUAGCAGUACCAGA
UGGUUCUGUGGAGUCCUGGGGAAUGGAGAGAGCACAGUC>hsa-mir-3199-1 MI0014247GGUGACUCCAGGGACU
GCCUUAGGAGAAAGUUUCUGGAAGUUCUGACAUUCCAGAAACUUUCUCCUAAGGCAGUCCCUGGGAGUCACU>hsa-mir
-3199-2 MI0014248GUGACUCCCAGGGACUGCCUUAGGAGAAAGUUUCUGGAAUGUCAGAACUUCCAGAAACUUUCU
CCUAAGGCAGUCCCUGGAGUCAC>hsa-mir-3200 MI0014249GGUGGUCGAGGGAAUCUGAGAAGGCGCACAAGGU
UUGUGUCCAAUACAGUCCACACCUUGCGCUACUCAGGUCUGCUCGUGCCCU>hsa-mir-3201 MI0014250GGGAUA
UGAAGAAAAAUAAGAGGCUAGGAUUGCCUCUUAUUUUUACAUGCCC>hsa-mir-3202-1 MI0014252UAUUAAUAU
GGAAGGGAGAAGAGCUUUAAUGAUUGGAGUCAUUUUCAGAGCAUUAAAGCUCUUCUCCCUUCCAUAUUAAUG>hsa-mir
-3202-2 MI0014253AUUAAUAUGGAAGGGAGAAGAGCUUUAAUGCUCUGAAAAUGACUCCAAUCAUUAAAGCUCUUC

UCCCUUCCAUAUUAAU>hsa-mir-3529 MI0017351GGCACCAUUAGGUAGACUGGGAUUUGUUGUUGAGCGCAGUA
AGACAACAACAAAAUCACUAGUCUUCCAGAUGGGGCC>hsa-mir-3545 MI0017343GCGCCCGCCGGGUCUAGUGG
UCCUAAACAUUUCACAAUUGCGCUACAGAACUGUUGAACUGUUAAGAACCACUGGACCCAGCGCGC>hsa-mir-3591
MI0017383CAGUAGCUAUUUAGUGUGAUAAUGGCGUUUGAUAGUUUAGACACAAACACCAUUGUCACACUCCACAGCUC
UG>hsa-mir-3605 MI0015995ACUUUAUACGUGUAAUUGUGAUGAGGAUGGAUAGCAAGGAAGCCGCUCCCACCUG
ACCCUCACGGCCUCCGUGUUACCUGUCCUCUAGGUGGGACGCUCG>hsa-mir-3606 MI0015996UUGUUGCUAUCU
AGGUUAGUGAAGGCUAUUUUAAUUUUUUUAAAAUUUCUUUCACUACUUAGG>hsa-mir-3607 MI0015997AAGGUU
GCGGUGCAUGUGAUGAAGCAAAUCAGUAUGAAUGAAUUCAUGAUACUGUAAACGCUUUCUGAUGUACUACUCA>hsa-mi
r-3609 MI0015999GUAACAGUAACUUUUAUUCUCAUUUUCCUUUUCUCUACCUUGUAGAGAAGCAAAGUGAUGAGUA
AUACUGGCUGGAGCCC>hsa-mir-3610 MI0016000AAGAGCCGCGGCGUAACGGCAGCCAUCUUGUUUGUUUGAGU
GAAUCGGAAAGGAGGCGCCGGCUGUGGCGGCG>hsa-mir-3611 MI0016001AGCAGGUCUAAUAAGAAUUUCUUUU
UCUUCACAAUUAUGAAAGAAAAGAAAUUGUGAAGAAAGAAAUUCUUACUAGUUUUGCU>hsa-mir-3612 MI001600
2GGGACUGGGGAUGAGGAGGCAUCUUGAGAAAUGGAAGGAAUGGGAUCUACUUCCAGUUCACUAGAGGCGUCCUGACACC
CCUAGCUC>hsa-mir-3613 MI0016003UGGUUGGGUUUGGAUUGUUGUACUUUUUUUUUUGUUCGUUGCAUUUUUA
GGAACAAAAAAAAAAGCCCAACCCUUCACACCACUUCA>hsa-mir-3614 MI0016004GGUUCUGUCUUGGGCCACU
UGGAUCUGAAGGCUGCCCCUUUGCUCUCUGGGGUAGCCUUCAGAUCUUGGUGUUUUGAAUUCUUACU>hsa-mir-3615
MI0016005GACUCUGGGACGCUCAGACGCCGCGCGGGGCGGGGAUUGGUCUGUGGUCCUCUCUCGGCUCCUCGCGGCU
CGCGGCGGCCGACGGUU>hsa-mir-3616 MI0016006UGUCACUCCGCCAGCAUCAUGAAGUGCACUCAUGAUAUGU
UUGCCCCAUCAGCGUGUCACGAGGGCAUUUCAUGAUGCAGGCGGGGUUGGCA>hsa-mir-3617 MI0016007AGGUC
AUAGAAAGACAUAGUUGCAAGAUGGGAUUAGAAACCAUAUGUCUCAUCAGCACCCUAUGUCCUUUCUCUGCCCU>hsa-m
ir-3618 MI0016008UAAGCUGAGUGCAUUGUGAUUUCCAAUAAUUGAGGCAGUGGUUCUAAAAGCUGUCUACAUUAA
UGAAAAGAGCAAUGUGGCCAGCUUG>hsa-mir-3619 MI0016009ACGGCAUCUUUGCACUCAGCAGGCAGGCUGGU
GCAGCCCGUGGUGGGGGACCAUCCUGCCUGCUGUGGGGUAAGGACGGCUGU>hsa-mir-3620 MI0016011GUGAGG
UGGGGGCCAGCAGGGAGUGGGCUGGGCUGGGCUGGGCCAAGGUACAAGGCCUCACCCUGCAUCCCGCACCCAG>hsa-mi
r-3621 MI0016012GUGAGCUGCUGGGGACGCGGGUCGGGGUCUGCAGGGCGGUGCGGCAGCCGCCACCUGACGCCGC
GCCUUUGUCUGUGUCCCACAG>hsa-mir-3622a MI0016013AAUAGAGGGUGCACAGGCACGGGAGCUCAGGUGAG
GCAGGGAGCUGAGCUCACCUGACCUCCCAUGCCUGUGCACCCUCUAUU>hsa-mir-3622b MI0016014AGUGAUAU
AAUAGAGGGUGCACAGGCAUGGGAGGUCAGGUGAGCUCAGCUCCCUGCCUCACCUGAGCUCCCGUGCCUGUGCACCCUCU
AUUGGCU>hsa-mir-3646 MI0016046UUCAGUAGGUUGGGUUCAUUUCAUUUUCAUGACAACCCUAUAUGGGAAAA
UGUUGUGAAAAUGAAAUGAGCCCAGCCCAUUGAA>hsa-mir-3648 MI0016048CGCGACUGCGGCGGCGGUGGUGG
GGGGAGCCGCGGGGAUCGCCGAGGGCCGGUCGGCCGCCCCGGGUGCCGCGCGGUGCCGCCGGCGGCGGUGAGGCCCCGCG
CGUGUGUCCCGGCUGCGGUCGGCCGCGCUCGAGGGGUCCCCGUGGCGUCCCCUUCCCCGCCGGCCGCCUUUCUCGCG>hs
a-mir-3649 MI0016049GCUUGGAACAGGCACCUGUGUGUGCCCAAGUGUUUCUAGCAAACACAGGGACCUGAGUGU
CUAAGC>hsa-mir-3650 MI0016050UCAAGGUGUGUCUGUAGAGUCCUGACUGCGUGCCAGGGGCUCUGUCUGGCA
CAUUUCUGA>hsa-mir-3651 MI0016051GAUUCGAUGGGCCAUAGCAAUCCUGUGAUUUAUGCAUGGAGGCUGCUU
CUCCUCAGCAGCUGCCAUAGCCCGGUCGCUGGUACAUGAUUC>hsa-mir-3652 MI0016052CGGCUGGAGGUGUGA
GGAUCCGAACCCAGGGGUGGGGGGUGGAGGCGGCUCCUGCGAUCGAAGGGGACUUGAGACUCACCGGCCGCACGCCAUGA
GGGCCCUGUGGGUGCUGGGCCUCUGCUGCGUCCUGC>hsa-mir-3653 MI0016053UCCCUGGGGACCCCUGGCAGC
CCCUCCUGAUGAUUCUUCUUCCUGAGCACGCUCAUGAUGAGCAAACUGAGCCUCUAAGAAGUUGACUGAAGGGGCUGCUU
CCCCAAGGA>hsa-mir-3654 MI0016054UUCAUGAGCUGCAAUCUCAUCACUGGAAUGUUCCAGCGACUGGACAAG
CUGAGGAA>hsa-mir-3655 MI0016055GCUUGUCGCUGCGGUGUUGCUGUUGGAGACUCGAUUGUUGGUGACAGCG
AAAGAACGAUAACAAAAUGCCGGAGCGAGAUAGU>hsa-mir-3656 MI0016056CUUUCGGCCAGCGGGACGGCAUC
CGAGGUGGGCUAGGCUCGGGCCCGUGGCGGGUGCGGGGGUGGGAGG>hsa-mir-3657 MI0016057UGUGUCCCAUA
AUUAAAUAAUGAAAUCUGAAAUCACCAAUAAUGGGACACUAAUGUGAUUAAUGUUGUUGUGUCCCAUUAUUGGUGAUUUC
AGAUUUCAUAUAUGAUUAAGGACAUA>hsa-mir-3658 MI0016058UAUUUAAGAAAACACCAUGGAGAUGAAAUGC
CUUUGAUUUUUUUUUUCUUUUUGUA>hsa-mir-3659 MI0016060UCUACAAGCAGAUACAAGGAUGCCCUUGUACA
CAACACACGUGCUGCUUGUAUAGACAUGAGUGUUGUCUACGAGGGCAUCCUUGUGUCUGUGUGUGUG>hsa-mir-3660
MI0016061GAAAGAAGAACUGGACAAAAUUAAAAUGCUCUUCUGUCAUUGUAAUAGUUCAUAUGGGCACUGACAGGAG
AGCAUUUUGACUUUGUCAAGUGUGUCUGCU>hsa-mir-3661 MI0016062CACCUUCUCGCAGAGGCUCUUGACCUG
GGACUCGGACAGCUGCUUGCACUCGUUCAGCUGCUCGAUCCACUGGUCCAGCUCCUUGGUGAACACCUU>hsa-mir-36

62 MI0016063UGUGUUUUCCUCAACGCUCACAGUUACACUUCUUACUCUCAAUCCAUUCAUAUUGAAAAUGAUGAGUA
GUGACUGAUGAAGCACAAAUCAGCCAA>hsa-mir-3663 MI0016064CCCGGGACCUUGGUCCAGGCGCUGGUCUGC
GUGGUGCUCGGGUGGAUAAGUCUGAUCUGAGCACCACACAGGCCGGGCGCCGGGACCAAGGGGGCUC>hsa-mir-3664
MI0016065CUGUAAACUUGAAGGUAGGGAACUCUGUCUUCACUCAUGAGUACCUUCCAACACGAGCUCUCAGGAGUAA
AGACAGAGUUCCCUACCUUCAAUGUGGAU>hsa-mir-3665 MI0016066GCGGGCGGCGGCGGCGGCAGCAGCAGCA
GGUGCGGGGCGGCGGCCGCGCUGGCCGCUCGACUCCGCAGCUGCUCGUUCUGCUUCUCCAGCUUGCGCACCAGCUCC>hs
a-mir-3666 MI0016067AGUAAGGUCCGUCAGUUGUAAUGAGACCCAGUGCAAGUGUAGAUGCCGACUCCGUGGCAG
AGUUCAGCGUUUCACACUGCCUGGUCUCUGUCACUCUAUUGAAUUAGAUUG>hsa-mir-3667 MI0016068UGAGGA
UGAAAGACCCAUUGAGGAGAAGGUUCUGCUGGCUGAGAACCUUCCUCUCCAUGGGUCUUUCAUCCUCA>hsa-mir-366
8 MI0016069AUAUAUGAAAUGUAGAGAUUGAUCAAAAUAGUUUCUAUCAAAAUAGUUUUGAUCAAUCUCUGCAAUUUU
AUAUAU>hsa-mir-3669 MI0016070AUAUAUAUAUACGGAAUAUAUAUACGGAAUAUAUAUAUACGGAAUAUAUAU
AUACGGAAUAUGUAUACGGAAUAUAUAUAU>hsa-mir-3670-1 MI0016071UCUAGACUGGUAUAGCUGCUUUUGG
AGCCUCACCUGCUGAGAGCUCACAGCUGUCCUUCUCUAGA>hsa-mir-3670-2 MI0019112UCUAGACUGGUAUAG
CUGCUUUUGGAGCCUCACCUGCUGAGAGCUCACAGCUGUCCUUCUCUAGA>hsa-mir-3671 MI0016072AUGUUAU
UGCUGCUGCUGUCACAUUUACAUGAAAAUAAAAUGUAAAUUAUUUUAUUUCUAUCAAAUAAGGACUAGUCUGCAGUGAUA
U>hsa-mir-3672 MI0016073UCUUUGUGAUUACCAUGAGACUCAUGUAAAACAUCUUAGACUAUUACAAGAUGUUU
UAUGAGUCUCAUGAUAAUCACAAAGA>hsa-mir-3673 MI0016074AUAUAUAUAUAUGGAAUGUAUAUACGGAAUA
UAUAUAUAUAUGGAAUGUAUAUACGGAAUAUAUAUAUAUAUGGAAUGUAUAUACGGAAUAUAUAUAUAUAU>hsa-mir-
3674 MI0016075ACAUCACUAUUGUAGAACCUAAGAUUGGCCGUUUGAGAUGUCCUUUCAAGUUUUUGCAUUUCUGAU
GU>hsa-mir-3675 MI0016076GGAUGAUAAGUUAUGGGGCUUCUGUAGAGAUUUCUAUGAGAACAUCUCUAAGGAA
CUCCCCCAAACUGAAUUC>hsa-mir-3676 MI0016077UUGGUUAAAGCGCCUGUCUAGUAAACAGGAGAUCCUGGG
UUCGAAUCCCAGCGGUGCCUCCGUGUUUCCCCCACGCUUUUGCCAA>hsa-mir-3677 MI0016078GGCAGUGGCCA
GAGCCCUGCAGUGCUGGGCAUGGGCUUCUCGUGGGCUCUGGCCACGGCC>hsa-mir-3678 MI0016079GAAUCCGG
UCCGUACAAACUCUGCUGUGUUGAAUGAUUGGUGAGUUUGUUUGCUCAUUGAUUGAAUCACUGCAGAGUUUGUACGGACC
GGAUUC>hsa-mir-3679 MI0016080CGUGGUGAGGAUAUGGCAGGGAAGGGGAGUUUCCCUCUAUUCCCUUCCCCC
CAGUAAUCUUCAUCAUG>hsa-mir-3680-1 MI0016081AAAUUUAAGGAGGGACUCACUCACAGGAUUGUGCAAAU
GCAAAGUUGGCUUUUGCAUGACCCUGGGAGUAGGUGCCUCCUUAAAUUU>hsa-mir-3680-2 MI0019113AAAUUU
AAGGAGGGACUCACUCACAGGAUUGUGCAAAUGCAAAGUUGGCUUUUGCAUGACCCUGGGAGUAGGUGCCUCCUUAAAUU
U>hsa-mir-3681 MI0016082ACUUCCAGUAGUGGAUGAUGCACUCUGUGCAGGGCCAACUGUGCACACAGUGCUUC
AUCCACUACUGGAAGU>hsa-mir-3682 MI0016083UAAGUUAUAUAUGUCUACUUCUACCUGUGUUAUCAUAAUAA
AGGUGUCAUGAUGAUACAGGUGGAGGUAGAAAUAUAUAACUUA>hsa-mir-3683 MI0016084GGGUGUACACCCCC
UGCGACAUUGGAAGUAGUAUCAUCUCUCCCUUGGAUGCUACGAACAAUAUCACAGAAGGUGUACACCC>hsa-mir-368
4 MI0016085AAUCUAAAGGACCUGUACUAGGUUUAACAUGUUGAGCAUUACUCAUGUUAGACCUAGUACACGUCCUUU
AGAUU>hsa-mir-3685 MI0016086GUACAUUUCCUACCCUACCUGAAGACUUGAGAUUAUAGUCUUUGGGGGGAUG
GGCAAAGUAC>hsa-mir-3686 MI0016087CUCACCUCAUUCAUUUACCUUCUCUUACAGAUCACUUUUCUGCACUG
GACAGUGAUCUGUAAGAGAAAGUAAAUGAAAGAGGUGAG>hsa-mir-3687 MI0016088CGCGCGUGCGCCCGAGCG
CGGCCCGGUGGUCCCUCCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGUGUG>hsa-mir-3688-1 MI0016089UCUUCACUUUCA
AGAGUGGCAAAGUCUUUCCAUAUGUAUGUAUGUAUGUCUGUUACACAUAUGGAAAGACUUUGCCACUCUUUAAAGUGAAG
A>hsa-mir-3688-2 MI0017447UCACUUUAAAGAGUGGCAAAGUCUUUCCAUAUGUGUAACAGACAUACAUACAUA
CAUAUGGAAAGACUUUGCCACUCUUGAAAGUGA>hsa-mir-3689a MI0016090CCUGGGAGGUGUGAUAUCAUGGU
UCCUGGGAGGUGUGAUCCUGUGCUUCCUGGGAGGUGUGAUAUCGUGGUUCCUGGG>hsa-mir-3689b MI0016411G
AUCCUGUGCUCCCUGGGGGGUCUGAUCCUGUGCUUCCUGGGAGGUGUGAUAUCAUGGUUCCUGGGAGGUGUGAUCCCGUG
CUUCCUGGGAGGUGUGAUAUUGUGGUUCCUGGGAGGUGUGAUCCCGUGCUCCCUGGGAGGUGUGAUC>hsa-mir-3689
c MI0016832GGGAGGUGUGAUAUCGUGGUUCCUGGGAGGUGUGAUAUCGUGGUUCCUGGGAGGUGUGAUAUUGUGGUU
CCU>hsa-mir-3689d-1 MI0016834UGGGAGGUGUGAUCUCACACUCGCUGGGAGGUGUGCUAUCGUCUUCCCCGG
GAGGUGUGAUCCUGUUCUUCCUG>hsa-mir-3689d-2 MI0016835ACUGGGAGGUGUGAUCUCACACUCGCUGGGA
GGUGUGCUAUCGUCUUCCCUGGGAGGUGUGAUCCUGUUCUUCCUGAGCG>hsa-mir-3689e MI0016836GGGAGGU
GUGAUAUCAUGGUUCCUGGGAGGUAUGAUAUCGUGGUUCCUGGGAGGUGUGAUCCCGUGCUCCCU>hsa-mir-3689f
MI0016837AGGUGUGAUAUCGUGCUUCCUGGGACGUGUGAUGCUGUGCUUCCUGGGAGGUGUGAUCCCACACUC>hsa-
mir-3690 MI0016091CCCAUCUCCACCUGGACCCAGCGUAGACAAAGAGGUGUUUCUACUCCAUAUCUACCUGGACC

CAGUGUAGAUGGG>hsa-mir-3691 MI0016092UUGAGGCACUGGGUAGUGGAUGAUGGAGACUCGGUACCCACUGC
UGAGGGUGGGGACCAAGUCUGCGUCAUCCUCUCCUCAGUGCCUCAA>hsa-mir-3692 MI0016093CCAUUCCUGCU
GGUCAGGAGUGGAUACUGGAGCAAUAGAUACAGUUCCACACUGACACUGCAGAAGUGG>hsa-mir-3713 MI001613
4GGUAUCCGUUUGGGGAUGGUUUCACUAUCCCCAGAUGGAUACCAA>hsa-mir-3714 MI0016135GAAGGCAGCAG
UGCUCCCCCUGUGACGUGCUCCAUCACCGGGCAGGGAAGACACCGCUGCCACCUC>hsa-mir-3907 MI0016410GGG
UUGGAAAGCUGUAGGUGUGGAGGGGCAUGGAUACGGGGGCCAUGAGGGUGGGGUCCAGGCUGGACCAGGCCUGCCCUGAG
UCCCCCAGCAGGUGCUCCAGGCUGGCUCACACCCUCUGCCUCUCUCUCUUCCUUCCUGGCCCCAACCC>hsa-mir-390
8 MI0016412GCCUGAGCAAUGUAGGUAGACUGUUUCUAAAAAAAAUAAAAAGUUAAAAAAAUUUAUGUUAACGUGUAAU
GUGUUUACUAAUUUUUUUUUUUUUUUUGGAGACAGAGUCUCCCUCUGUCGCCAGGC>hsa-mir-3909 MI0016413
GGUAUGCUGUUGCGCUGUCCUUCCUCUGGGGAGCAGGCUCCGGGGGGACAGGGAAAAGCACACAAGGAACUUGUCCUCUAG
GGCCUGCAGUCUCAUGGGAGAGUGACAUGCACCAGGACC>hsa-mir-3910-1 MI0016414CUUUUGCUGUCAGUUU
UUCUGUUGCUUGUCUUGGUUUUAUGCCUUUUAUAUCAAGGCACAUAAAAGGCAUAAAACCAAGACAAGCAACAAAAAAAG
GAUUGAUCACAGAAG>hsa-mir-3910-2 MI0016431UUUUUUUGUUGCUUGUCUUGGUUUUAUGCCUUUUAUGUGC
CUUGAUAUAAAAGGCAUAAAACCAAGACAAGCAACAGAAAAA>hsa-mir-3911 MI0016415GGGUGAGGAUGUGUG
UGGAUCCUGGAGGAGGCAGAGAAGACAGUGAGCUUGCCAGUUCUGGUUUCCAACACUUCCUUUCCUGCGCUUCUCGAUUC
CCAGAUCUGCACCC>hsa-mir-3912 MI0016416AGAGAGGA
AUGAACAGUUAAAUUAUAACAUGUCCAUAUUAUGGGUUAGUUGUGGACACAUACUAACGCAUAAUAUGGACAUGUUAUAA
UUUAACUGUUCCUUUCU>hsa-mir-3913-1 MI0016417UUGUUUAUAAUAAACUGAAAUAUUUGGGACUGAUCUUG
AUGUCUGCCAAAACCUUGGCAGACAUCAAGAUCAGUCCCAAAUAUUUCAGUUUAUUAUAGACAG>hsa-mir-3913-2
MI0016418UGUCUAUAAUAAACUGAAAUAUUUGGGACUGAUCUUGAUGUCUGCCAAGGUUUUGGCAGACAUCAAGAUCA
GUCCCAAAUAUUUCAGUUUAUUAUAAACA>hsa-mir-3914-1 MI0016419UGGACUUCAGAUUUAACUUCUCAUUU
UCUGGUUCCUUCUAAUGAGUAUGCUUAACUUGGUAGAAGGAACCAGAAAAUGAGAAGUUGAGUAGGAACUCUA>hsa-mi
r-3914-2 MI0016421GAGUUCCUACUCAACUUCUCAUUUUCUGGUUCCUUCUACCAAGUUAAGCAUACUCAUUAGAA
GGAACCAGAAAAUGAGAAGUUAAAUCUGAAGUC>hsa-mir-3915 MI0016420CAAGUUGGCACUGUAGAAUAUUGA
GGAAAAGAUGGUCUUAUUGCAAAGAUUUUCAAUAAGACCAUCCUUUCCUCAAUAUUCUGUGGUGUCAUCUUUG>hsa-mi
r-3916 MI0016422AUCCCAGAGAAGAAGGAAGAAGAGGAAGAAAUGGCUGGUUCUCAGGUGAAUGUGUCUGGGUUCA
GGGGAUGUGUCUCCUCUUUUCUUCUGGGAU>hsa-mir-3917 MI0016423GGCGCUUUUGUGCGCGCCCGGGUCUGU
UGGUGCUCAGAGUGUGGUCAGGCGGCUCGGACUGAGCAGGUGGGUGCGGGGCUCGGAGGAGGCGGC>hsa-mir-3918
MI0016424AGGCGGUUAAGCCAUGGGACAGGGCCGCAGAUGGAGACUGCUCAAGGUCAAAGGGGUCUCCAGCUGGGACC
CUGCACCUGGUUCGUAGCCCCU>hsa-mir-3919 MI0016425CCUGAGCACCAUUUACUGAGUCCUUUGUUCUCUAC
UAGUUUGUAGUAGUUCGUAGCAGAGAACAAAGGACUCAGUAAAUGGUGCUCAGG>hsa-mir-3920 MI0016427ACU
GAGUGAGGGAGUCAGAGAGUUAAGAGAAUUAGUACAGGUGAGAUUGUACUGAUUAUCUUAACUCUCUGACCCCCUCACUC
AGU>hsa-mir-3921 MI0016428CCUAGCCCAGUACAAGGCAUAUGGUACUCAAGAGACUUAGAAAUCCCUAAGUCU
CUGAGUACCAUAUGCCUUGUACUGGGCUAGG>hsa-mir-3922 MI0016429GGAAGAGUCAAGUCAAGGCCAGAGGU
CCCACAGCAGGGCUGGAAAGCACACCUGUGGGACUUCUGGCCUUGACUUGACUCUUUC>hsa-mir-3923 MI001643
0GGUAGAGUGAGCUCUAAUCCAAUAUUACUAGCUUCUUUAUAAGAAGAGGAAACUAGUAAUGUUGGAUUAGGGCUCACUC
UACU>hsa-mir-3924 MI0016432UAAAUGAAAAAGUAGUAGUCAAAUAUGCAGAUCUAUGUCAUAUAUACAGAUAU
GUAUAUGUGACUGCUACUUUUUUGUUUA>hsa-mir-3925 MI0016433GUGGGAAUAGCAAGAGAACUGAAAGUGGA
GCCUGUCACAUCUCCAGACUCCAGUUUUAGUUCUCUUGCUAUUUCCAC>hsa-mir-3926-1 MI0016434AAAAUGG
AGCUGGCCAAAAAGCAGGCAGAGACUUUAAAAGCGUCUCUGCCUGCUUUUUGGCCAGCUCCGUUUU>hsa-mir-3926-
2 MI0016437GGAGCUGGCCAAAAAGCAGGCAGAGACGCUUUUAAAGUCUCUGCCUGCUUUUUGGCCAGCUCC>hsa-m
ir-3927 MI0016435UGCCAAUGCCUAUCACAUAUCUGCCUGUCCUAUGACAAACAUGGCAGGUAGAUAUUUGAUAGG
CAUUGGCA>hsa-mir-3928 MI0016438GCUGAAGCUCUAAGGUUCCGCCUGCGGGCAGGAAGCGGAGGAACCUUGG
AGCUUCGGC>hsa-mir-3929 MI0016439AGUGGCUCACACCAGUAAUCCCAGCACUUUGGGAGGCUGAUGUGAGUA
GACCACU>hsa-mir-3934 MI0016590CACAGCCCUUCCUGUCCCCAGUUUUCAGGUGUGGAAACUGAGGCAGGAGG
CAGUGAAGUAACUUGCUCAGGUUGCACAGCUGGGAAGUGGAGCAGGGAUUUGAAUCC>hsa-mir-3935 MI0016591
GGAUGUGUUCCUGUCCCAGAAGGAGCUGAUGGUUGUAUCUAUGAAGGUAAGCAUUUUUGUAGAUACGAGCACCAGCCACC
CUAAGCAAAGGCAGAGAAUGCUUA>hsa-mir-3936 MI0016592AUGAUUCAGAGCAUCUGUCCAGUGUCUGCUGUA
GAUCCCUCAAAUCCGUGUUUGGACGCUUCUGGUAAGGGGUGUAUGGCAGAUGCACCCGACAGAUGCACUUGGCAGCA>hs
a-mir-3937 MI0016593AGAAGAAUGCCCAACCAGCCCUCAGUUGCUACAGUUCCCUGUUGUUUCAGCUCGACAACA

ACAGGCGGCUGUAGCAAUGGGGGGCUGGAUGGGCAUCUCAAUGUGC>hsa-mir-3938 MI0016594AGGAAUUUUUA
ACCCGAUCACUAGAUUAUCUACAAGGGAAUUUUUUUUUAAUUUAAAAAAUUCCCUUGUAGAUAACCCGGUGGUCAGGUUG
GAUGGCUCCAUG>hsa-mir-3939 MI0016596CUGGCUUCCAAAGGCCUCUGUGUGUUCCUGUAUGUGGGCGUGCAC
GUACCUGUCACAUGUGUACGCGCAGACCACAGGAUGUCCACACUGGCUUCCAAACACAUCU>hsa-mir-3940 MI001
6597GCUUAUCGAGGAAAAGAUCGAGGUGGGUUGGGGCGGGCUCUGGGGAUUUGGUCUCACAGCCCGGAUCCCAGCCCAC
UUACCUUGGUUACUCUCCUUCCUUCU>hsa-mir-3941 MI0016598GAGUCAGAAUUCUCAUCAGGCUGUGAUGCUC
AGUUGUGUGUAGAUUGAAAGCCCUAAUUUUACACACAACUGAGGAUCAUAGCCUGAUGGUUCCUUUUUGUUU>hsa-mir
-3942 MI0016599UCUUCAGUAUGACACCUCAAAGAAGCAAUACUGUUACCUGAAAUAGGCUGCGAAGAUAACAGUAU
UUCAGAUAACAGUAUUACAUCUUUGAAGUGUCAUAUUCACUGAC>hsa-mir-3943 MI0016600CACACAGACGGCA
GCUGCGGCCUAGCCCCCAGGCUUCACUUGGCGUGGACAACUUGCUAAGUAAAGUGGGGGGUGGGCCACGGCUGGCUCCUA
CCUGGAC>hsa-mir-3944 MI0016601UCCACCCAGCAGGCGCAGGUCCUGUGCAGCAGGCCAACCGAGAAGCGCCU
GCGUCUCCCAUUUUCGGGCUGGCCUGCUGCUCCGGACCUGUGCCUGAUCUUAAUGCUG>hsa-mir-3945 MI001660
2GAUGUUGAUGCACGUGACGGGGAGGGCAUAGGAGAGGGUUGAUAUAAAAUGCAAUUACAGCCUCUUAUGCUUUCCAAAG
UGGGGGAUGAUUCAAUGAU>hsa-mir-3960 MI0016964GGCGCCCCGGCUCCCCGCGCCCCCGAUCGGGGCCGCCG
CUAGUAGUGGCGGCGGCGGAGGCGGGGGCAGCGGCGGCGGCGGCGGAGGCGCC>hsa-mir-3972 MI0016990GCCC
AUUUGCCUUGGCUUGGGGUGGCAGUCCUGUGGGAAUGAGAGAUGCCAAACUGGACCUGCCAGCCCCGUUCCAGGGCACAG
CAU>hsa-mir-3973 MI0016991GCCCAGGGUAGCUCUCUGUAUUGCUUGUUACAUUUUAGGAUUGCUUGCCCCUUG
CUCCAAUGGUGCAGGCAGAAGAAAUGCAAACAAAGUACAGCAUUAGCCUUAGC>hsa-mir-3974 MI0016992GUUC
AGGGAAAAGGUCAUUGUAAGGUUAAUGCACCCAUAUUUUAAUAUCAAACUAUGACAAAUUUGACUACAGCCUUUCCGUAC
CCCUGCCAAAAC>hsa-mir-3975 MI0016993CAUGUAGGUGAGUGAUUGCUAUUUCAAAAGACUAGAGGUAGGAAA
UGAGGCUAAUGCACUACUUCACAUG>hsa-mir-3976 MI0016994UGAGGGAUAUAGAGAGCAGGAAGAUUAAUGUC
AUAUUGGAGUUGGACUGCAGGGCUUCCUUUACACAAUAAAUAUUGUAUGAAGUGCUGAUGUAACCUUUACUGCAGCAUGA
CAUGGGAUUUGGCUGUUUUUAUGGCUC>hsa-mir-3977 MI0016995UUGUGCUUCAUCGUAAUUAACCUUAAGUGG
UUCGGGUAAAUCACUUUAAUUUGUUAUGUGUUGGCAGAAU>hsa-mir-3978 MI0016996UCAGUGGAAAGCAUGCA
UCCAGGGUGUGGAGCCAAAAUUAGAAGGGCCAAAAUUCUACCUGGCCCACUACCACAGCAACCUUGGGCAUCGUUUUCUU
UUGA>hsa-mir-4251 MI0015861CACGUCCUCCAGCUUUUUUCCUUAGUGGCCAAUUCCUGAGAAAAGGGCCAACG
UGCUUCCA>hsa-mir-4252 MI0015864UGGGGGGCUGGCAGCUCAUCAGUCCAGGCCAUCUGGCCACUGAGUCAGC
ACCAGCGCCCAAUC>hsa-mir-4253 MI0015860CCAGCCAUCGCCCUUGAGGGGCCCUAGGACUUACUUGUGCAGG
GCAUGUCCAGGGGGUCCAGGUCUGC>hsa-mir-4254 MI0015862CUUGGGAGGAGGGUGGGGUGGCUCCUCUGCAG
UGAGUAGGUCUGCCUGGAGCUACUCCACCAUCUCCCCCAGCCCC>hsa-mir-4255 MI0015863GAGCAUCCUUCAG
UGUUCAGAGAUGGAGUCAGUAUUGGUCUGGCCAUUUUUAGGGCAAAGAGGCAGCAUCAU>hsa-mir-4256 MI00158
55UGUUCCAUUUAUCUGACCUGAUGAAGGUCUCCUGGCAUUGAUUAGGUCUGAUGAUCCAUUUCUG>hsa-mir-4257
MI0015856GGCUUAGAAACAGUCCCUAGGUAGGAUUUGGGGAGGAGCUAAGAAGCCCCUACAGGGCCCAGAGGUGGGGA
CUGAGCCUUAGUUGG>hsa-mir-4258 MI0015857ACGCCCCCCGCCCCGCCACCGCCUUGGAGGCUGACCUCUUAC
UUUCGGUCGGUCUUCUUCCCUGGGCUUGGUUUGGGGGCGGGGGAGUGUC>hsa-mir-4259 MI0015858GAUGGGCC
CCUUGUGUCCUGAAUUGGGUGGGGGCUCUGAGUGGGGAAAGUGGGGGCCUAGGGGAGGUCACAGUUGGGUCUAGGGGUCA
GGAGGGCCCAGGA>hsa-mir-4260 MI0015859AACAAGGUGACUUGGGGCAUGGAGUCCCACUUCCUGGAGCCCAC
ACCCCAGCUUGUCACACACCAAC>hsa-mir-4261 MI0015868GGUGGAAGUGGGUUCCUCCCAGUUCCUGAGACAG
GAAACAGGGACCCAGGAGACCAGC>hsa-mir-4262 MI0015872GAAAGCUGCAGGUGCUGAUGUUGGGGGGACAUU
CAGACUACCUGCAGCAGAGCC>hsa-mir-4263 MI0015876AUAGUGCUCUUCAGGGUUUUACUUGGGAGAUUGGAG
UGGCCAGUGUUCCUAAACAAUUCUAAGUGCCUUGGCCCACAACAUAC>hsa-mir-4264 MI0015877AAAGCUGGAU
ACUCAGUCAUGGUCAUUGUAACAUGAUAGUGACAGGUACUGGGUAAGACUGCAUAG>hsa-mir-4265 MI0015869U
GCAGUGGGUUGGAGCUUCAGCCUACACCUGUAAAGAAUUGGUCAGCCUGGGGACUGGUGAUCUCUGCAGCUGUGGGCUCA
GCUCUGGGCUGGGCCUGG>hsa-mir-4266 MI0015870CCACUGCUGGCCGGGGCCCCUACUCAAGGCUAGGAGGCC
UUGGCCAAGGACAGUC>hsa-mir-4267 MI0015871CUCAGCAGGCUCCAGCUCGGUGGCACUGGGGGAAGGCUCCA
GACCCCAGCCUCUGUCAUCCCUGCAUGGAGCCCACAUCUCC>hsa-mir-4268 MI0015874AUGCACAUCAGGUUCU
AGAGGUUUUGCCCUAGCGGCUCCUCCUCUCAGGAUGUGAUGUCACCUG>hsa-mir-4269 MI0015875ACAGCGCCC
UGCAGGCACAGACAGCCCUGGCUUCUGCCUCUUUCUUUGUGGAAGCCACUCUGUCAGGCCUGGGAUGGAGGGGCA>hsa-
mir-4270 MI0015878ACAAAUAGCUUCAGGGAGUCAGGGGAGGGCAGAAAUAGAUGGCCUUCCCCUGCUGGGAAGAA
AGUGGGUC>hsa-mir-4271 MI0015879AAAUCUCUCUCCAUAUCUUUCCUGCAGCCCCCAGGUGGGGGGGAAGAAA

AGGUGGGGAAUUAGAUUC>hsa-mir-4272 MI0015880UUUUCUGCACAAAUUAAUCAGUUAAUGCAUAGAAAGCAU
UCAACUAGUGAUUGUGUUAUAAGAG>hsa-mir-4273 MI0015881UCCCCUGUGUGUGUUCUCUGAUGGACAGUAAG
CCUUGACUUAUGGCUAAAUGCUUCUUCACAAUGGUCACAUGCAUAGGGCUUU>hsa-mir-4274 MI0015884GGGGC
AUUUAGGGUAACUGAGCUGCUGCCGGGGCCUGGCGCUCCUCUACCUUGUCAGGUGACCCAGCAGUCCCUCCCCCCUGCAUG
GUGCCC>hsa-mir-4275 MI0015883ACAUUUUUGUCCAAUUACCACUUCUUUUUGCCACCUGAGCACAGUCAGCAG
UCAGCAUAAAAAAGUGAUAAUGGGAAGUUAAUGUCU>hsa-mir-4276 MI0015882CACAGUCUGACUCAGUGACUC
AUGUGCUGGCAGUGGCCACGUAAAUAGAGCUACUGUGUCUGAAAGCAAU>hsa-mir-4277 MI0015886CUGGGUCG
AGGCAGUUCUGAGCACAGUACACUGGGCUGCCCCCACUGCCCAGUGCCCUGCUCAGCUCAAGUCCUUGUGCCCCUC>hsa
-mir-4278 MI0015888AUCUAACACCAGGAGAAUCCCAUAGAACAUUGACAUCAACACUAGGGGGUUUGCCCUUGUG
GGGAAGAA>hsa-mir-4279 MI0015887UGCUCUGUGGAGCUGAGGAGCAGAUUCUCUCUCUCCCUCCCGGCUUCA
CCUCCUGAG>hsa-mir-4280 MI0015889AAUCAGGGUGGAGUGUAGUUCUGAGCAGAGCCUUAAAGGAUGAGGUAU
GUUCAAGACUGAAUGACACCUUUGUGAU>hsa-mir-4281 MI0015885GCUGGGGGUCCCCCGACAGUGUGGAGCUG
GGGCCGGGUCCCGGGGAGGGGGGUUCUGGGCAG>hsa-mir-4282 MI0015890GGUGAAGUUCCAGGGGAAGAUUUU
AGUAUGCCACAUUUCUAAAAUUUGCAUCCAGGAACAUCAUCCU>hsa-mir-4283-1 MI0015892ACUCUGAUCCUG
GGGCUCAGCGAGUUUGCAAGGGGUGUUUCUGUCCAUGGUCAGGCUUGCCAGCCUUGGUCCUUGGGCCC>hsa-mir-428
3-2 MI0015982ACUCUGAUCCUGGGGCUCAGCGAGUUUGCAAGGGGUGUUUCUGUCCAUGGUCAGGCUUGCCAGCCUU
GGUCCUUGGGCCC>hsa-mir-4284 MI0015893GUUCUGUGAGGGGCUCACAUCACCCCAUCAAAGUGGGGACUCAU
GGGGAGAGGGGGUAGUUAGGAGCUUUGAUAGAGGCGG>hsa-mir-4285 MI0015891AUUAGCUGGGGCGGCGAGUC
CGACUCAUCAAUAUUUUAAGGAAUGACCCGGCCUUGGGGUGCGGAAUUGCUGCGCGGGCGGGGGC>hsa-mir-4286 M
I0015894UACUUAUGGCACCCCACUCCUGGUACCAUAGUCAUAAGUUAGGAGAUGUUAGAGCUGUGAGUACCAUGACUU
AAGUGUGGUGGCUUAAACAUG>hsa-mir-4287 MI0015895UAGUUCUUUUUCUCCCUUGAGGGCACUUUUCAGUUC
CUGAGAUCAAUGUGGUCCCUACUGGGGAGACCAUAGGAGCCC>hsa-mir-4288 MI0015896AUGGAGGUGGAGAGU
CAUCAGCAGCACUGAGCAGGCAGUGUUGUCUGCUGAGUUUCCACGUCAUUUG>hsa-mir-4289 MI0015898CCUUG
GGAGGGCAUUGUGCAGGGCUAUCAGGCAGUUUCCUGGGCCCUGUCUGCAGAGCCUAAACAGAUCA>hsa-mir-4290 M
I0015899GCCACCAAGAAGGUGAAGGGAGGGUCAGUCCCAAUCUGAAUCCCACCAAAAUAGGUGGUAGAGGGUUGCCCU
CCUUUCUUCCCUCACCUCUGACC>hsa-mir-4291 MI0015900CGCCGGGGGCUUCAGCAGGAACAGCUGGGUGGAG
GCAGAGCUGUUCUGCUGUGGCUGCAGCCCUG>hsa-mir-4292 MI0015897GAGACACCAGAAGGCCACCUGCUUAG
GAGGCCAGAGGUGCCCCUGGGCCGGCCUUGGUGAGGGGCCC>hsa-mir-4293 MI0015826AGAGACACCUGUUCCU
UGGGAAGCUGGUGACAUUGCUAAUUCAUUUCACACCAGCCUGACAGGAACAGCCUGACUGAA>hsa-mir-4294 MI00
15827CCGAUGCCUCGGGAGUCUACAGCAGGGCCAUGUCUGUGAGGGCCCAAGGGUGCAUGUGUCUCCCAGGUUUCGGUG
C>hsa-mir-4295 MI0015822CUUUGUGGAACAGUGCAAUGUUUUCCUUGCCUGUGGCAAGACCACUUCGGUUCAAG
GCUAAGAAACUAGACUGUUCCUACAGAGA>hsa-mir-4296 MI0015823UUGGGCUUUGAUGUGGGCUCAGGCUCAG
AGGGCUGAAGUGGUUGUGGGGAGGGGCUUCUGGGGACUGUGUCCAUGUCUCUGUCGUUUU>hsa-mir-4297 MI0015
824AGCACGCACGUGCCUUCCUGUCUGUGCCUGCCUUCGAAGUGCACGGCAGGGCCAGGACGGGUCGCUGUGGGUGGGG>
hsa-mir-4298 MI0015830GGGGAGGUACCUGGGACAGGAGGAGGAGGCAGCCUUGCCUCAGAAACCAAACUGUCAA
AAGUGUAGGUUCCAC>hsa-mir-4299 MI0015829GGGUUCUGACCAAUCAUGUUACAGUGUUUUCUCCUUUAGAGA
GAGCUGGUGACAUGAGAGGCAGAAAAAGGA>hsa-mir-4300 MI0015831UGAGUUUAGAAGAGGGCCAGCUAAAUC
AGCAGAGACAUGAGGUGAUCAAAAACCUUUUUUCAAAGCAGUGGGAGCUGGACUACUUCUGAACCAAUA>hsa-mir-43
01 MI0015828ACCAGCCACCUCCCACUACUUCACUUGUGAACAUUGCAUUCGUGGAGGGUGGCAGGUGCAGCUCUG>h
sa-mir-4302 MI0015833UCAGGAGGGACCAGUGUGGCUCAGCGAGGUGGCUGAGUUUACUUAAGGUAUUGGAAUGA
G>hsa-mir-4303 MI0015834AGAAAAUAGCUUCUG
AGCUGAGGACAGCUUGCUCUGCUUUUCUUUAGCUUAGGAGCUAACCAUGGU>hsa-mir-4304 MI0015832AGAGAA
GUGGCCGGCAUGUCCAGGGCAUCCCCAUUGCUCUGUGACUGCUGCCAUCCUUCUCC>hsa-mir-4305 MI0015835C
UGCCUUAGACCUAGACACCUCCAGUUCUGGGUUCUUAGAGGCCUAAUCCUCUACAAACUCAGUUUUCAGACUGUGAGGGA
AAUUCUCUGUCUUAUUGCUUU>hsa-mir-4306 MI0015836AAGCUGCUUAGUGUCCUUAGAGUCUCCAGAGGCAUC
CCUAACCCAGAAUCUUUUGACUGUCCUCUGGAGAGAAAGGCAGUAGGUCUGUACC>hsa-mir-4307 MI0015838UC
AGAAGAAAAAACAGGAGAUAAAGUUUGUGAUAAUGUUUGUCUAUAUAGUUAUGAAUGUUUUUUCCUGUUUCCUUCAGGGC
CA>hsa-mir-4308 MI0015839UAUGGGUUCAGAGGGAACUCCAUUGGACAGAAAUUUCCUUUUGAGGAAAUCUUUC
CCUGGAGUUUCUUCUUACCUUUUUCC>hsa-mir-4309 MI0015837UCUGGGGGUUCUGGAGUCUAGGAUUCCAGGA
UCUGGGUUUUGAGGUCUUGGGUUGUAGGGUCUGCGGUUUGAAGCCCCUCUUG>hsa-mir-4310 MI0015840UGGCG

UCUGGGGCCUGAGGCUGCAGAACAUUGCAGCAUUCAUGUCCCACCCCCACCA>hsa-mir-4311 MI0015841UCAGA
GAGGGGAAAGAGAGCUGAGUGUGACCUGGAGCAGCUCAGGAGGGCUUCCUGGGUGAGGUGGCAGGUUACAGGUUCGAUCU
UUGGCCCUCAGAUUC>hsa-mir-4312 MI0015842GAAAGGUUGGGGGCACAGAGAGCAAGGAGCCUUCCCCAGAGG
AGUCAGGCCUUGUUCCUGUCCCCAUUCCUCAGAG>hsa-mir-4313 MI0015843GAUCAGGCCCAGCCCCCUGGCCC
CAAACCCUGCAGCCCCAGCUGGAGGAUGAGGAGAUGCUGGGCUUGGGUGGGGGAAUCAGGGGUGUAAAGGGGCCUGCU>h
sa-mir-4314 MI0015846GGCCAUUCCUCUCUGGGAAAUGGGACAGGUAGUGGCCACAGUGAGAAAGCUGGCCUGUC
CUUCUGCCCCAGGGCCCAGAGUCUGUGACUGGA>hsa-mir-4315-1 MI0015844UGGGCUUUGCCCGCUUUCUGAG
CUGGACCCUCUCUCUACCUCUGGUGCAGAACUACAGCGGAAGGAAUCUCUG>hsa-mir-4315-2 MI0015983UGGG
CUUUGCCCGCUUUCUGAGCUGGACCCUCUCUCUACCUCUGGUGCAGAACUACAGCGGAAGGAAUCUCUG>hsa-mir-43
16 MI0015845AGUGGCCCAGGGUGAGGCUAGCUGGUGUGGUCACCCACUCUCCAGCCCAGCCCCAAUCCCACCACAAC
CAC>hsa-mir-4317 MI0015850AAAAGGCGAGACAUUGCCAGGGAGUUUAUUUUGUAGCUCUCUUGAUAAAAUGUU
UUAGCAAACAC>hsa-mir-4318 MI0015847GCUUCUUAAUUAUGUCAUAAACCCACUGUGGACAAGGGCCUUGUCU
UAGACAGUCACUGUGGGUACAUGCUAGGUGCUCAA>hsa-mir-4319 MI0015848UUGGCUUGAGUCCCUGAGCAAA
GCCACUGGGAAUGCUCCCUGAGGACGUUAUAUGAGUGCUCAGCUCAUGGGGCUAUGAUGGUCA>hsa-mir-4320 MI0
015849GACAUGUGGGGUUUGCUGUAGACAUUUCAGAUAACUCGGGAUUCUGUAGCUUCCUGGCAACUUUG>hsa-mir-
4321 MI0015852CUGGUCUCCGCAGAGCCUCUGCCCCUCCCGAGACACCCGCUACCUGGUGUUAGCGGUGGACCGCCC
UGCGGGGGCCUGGC>hsa-mir-4322 MI0015851ACCGCGAGUUCCGCGCCUGGCCGUGUCGCCCCACGAGGGGGAC
UGUGGGCUCAGCGCGUGGGGCCCGGAGCAU>hsa-mir-4323 MI0015853CGGGGCCCAGGCGGGCAUGUGGGGUGU
CUGGAGACGCCAGGCAGCCCCACAGCCUCAGACCUCGGGCAC>hsa-mir-4324 MI0015854CGGCCCCUUUGUUAA
GGGUCUCAGCUCCAGGGAACUUUAAAACCCUGAGACCCUAACCUUAAAGGUGCUGCA>hsa-mir-4325 MI0015865
GGGGAAGAUGUUGCACUUGUCUCAGUGAGAGAUGCUUCUAGAUCCAGGAGGCAGACCUCAAGGAUGGAGAGAAGGCAGAU
CCUUUGAGAU>hsa-mir-4326 MI0015866GCUGCUCUGCUGUUCCUCUGUCUCCCAGACUCUGGGUGGAUGGAGCA
GGUCGGGGGCCA>hsa-mir-4327 MI0015867GGCCUGGGUAGGCUUGCAUGGGGGACUGGGAAGAGACCAUGAACA
GGUUAGUCCAGGGAGUUCUCAUCAAGCCUUUACUCAGUAG>hsa-mir-4328 MI0015904AACAGUUGAGUCCUGAG
AACCAUUGAGAACCAGUUUUCCCAGGAUUAACUGUUCCG>hsa-mir-4329 MI0015901UAGAGAGGAAGGUGUACC
AGGGUUUUGGAGUUUUUUUUUCCUCCUGAGACCCUAGUUCCACAUUCUGGAGC>hsa-mir-4330 MI0015902AAUU
GUCAGCAGGCAAUUAUCUGAGGAUGCAGGAGAGGAAGGGGGCUUCUUUUUGACGCCUACUUCAUCAGCUGCUCCUCAGAU
CAGAGCCUUGCAGGUCAGGCC>hsa-mir-4417 MI0016753GAAAACAACCAGGUGGGCUUCCCGGAGGGCGGAACA
CCCAGCCCCAGCAUCCAGGGCUCACCUACCACGUUUG>hsa-mir-4418 MI0016754UGGUUUUUGCUCUGAGUGAC
CGUGGUGGUUGUGGGAGUCACUGCAGGACUCAGCAGGAAUUC>hsa-mir-4419a MI0016755UGGUGGUGUGUGCC
UGUAGUCUUAGCUACUCGGGAGGCUGAGGGAGGAGACUGCAGUGAGUGGAGGUCACGCCACUG>hsa-mir-4419b MI
0016861CUCAGGCUCAGUGGUGCAUGCUUAUAGUCCCAGCCACUCUGGAGGCUGAAGGAAGAUGGCUUGAGCCU>hsa-
mir-4420 MI0016757CUCUUGGUAUGAACAUCUGUGUGUUCAUGUCUCUCUGUGCACAGGGGACGAGAGUCACUGAU
GUCUGUAGCUGAGAC>hsa-mir-4421 MI0016758CUGGGUCUCCUUUCUGCUGAGAGUUGAACACUUGUUGGGACA
ACCUGUCUGUGGAAAGGAGCUACCUAC>hsa-mir-4422 MI0016759AGUUCUUCUGCAGACAAAAGCAUCAGGAAG
UACCCACCAUGUACCAGUGGGCCCUUCUUGAUGCUCUUGAUUGCAGAGGAGCC>hsa-mir-4423 MI0016760AUCA
UGUACUGCAGUUGCCUUUUUGUUCCCAUGCUGUUUAAGCCUAGCAUAGGCACCAAAAAGCAACAACAGUAUGUGAA>hsa
-mir-4424 MI0016763CUUACAUCACACACAGAGUUAACUCAAAAUGGACUAAUUUUUCCACUAGUUAGUCCAUUUC
AAGUUAACUCUGUGUGUGAUGUAGU>hsa-mir-4425 MI0016764GUGCUUUACAUGAAUGGUCCCAUUGAAUCCCA
ACAGCUUUGCGAAGUGUUGUUGGGAUUCAGCAGGACCAUUCGUGUAAAGUAA>hsa-mir-4426 MI0016765AGUUG
GAAGAUGGACGUACUUUGUCUGACUACAAUAUUCAAAAGGAGUCUACUCUUCAUCUUG>hsa-mir-4427 MI001676
6GAAGCCUCUUGGGGCUUAUUUAGACAAUGGUUUCAUCAUUUCGUCUGAAUAGAGUCUGAAGAGUCUUU>hsa-mir-44
28 MI0016767UUGGCAGGUGCCAUGUUGCCUGCUCCUUACUGUACACGUGGCUGGCAAGGAGACGGGAACAUGGAGCC
GCCAU>hsa-mir-4429 MI0016768AGGGAGAAAAGCUGGGCUGAGAGGCGACUGGUGUCUAAUUUGUUUGUCUCUC
CAACUCAGACUGCCUGGCCCA>hsa-mir-4430 MI0016769GUGAGGCUGGAGUGAGCGGAGAUCGUACCACUGCAC
UCCAACCUGGUGA>hsa-mir-4431 MI0016771UGGUUUGCGACUCUGAAAACUAGAAGGUUUAUGACUGGGCAUUU
CUCACCCAAUGCCCAAUAUUGAACUUUCUAGUUGUCAGAGUCAUUAACCC>hsa-mir-4432 MI0016772GCAUCUU
GCAGAGCCGUUCCAAUGCGACACCUCUAGAGUGUCAUCCCCUAGAAUGUCACCUUGGAAAGACUCUGCAAGAUGCCU>hs
a-mir-4433 MI0016773CAUCCUCCUUACGUCCCACCCCCCACUCCUGUUUCUGGUGAAAUAUUCAAACAGGAGUGG
GGGUGGGACAUAAGGAGGAUA>hsa-mir-4434 MI0016774UCACUUUAGGAGAAGUAAAGUAGAACUUUGGUUUUC

AACUUUUCCUACAGUGU>hsa-mir-4435-1 MI0016775AGGCAGCAAAUGGCCAGAGCUCACACAGAGGGAUGAGU
GCACUUCACCUGCAGUGUGACUCAGCAGGCCAACAGAUGCUA>hsa-mir-4435-2 MI0016777GCAAAUGGCCAGA
GCUCACACAGAGGGAUGAGUGCACUUCACCUGCAGUGUGACUCAGCAGGCCAACAGAUGCU>hsa-mir-4436a MI00
16776GCCUCACUUUUCCACUUAUGCCUGCCCUGCCCCUCGAAUCUGCUCCACGAUUUGGGCAGGACAGGCAGAAGUGGA
UAAGUGAGGA>hsa-mir-4436b-1 MI0017425GUGUCCUCACUUGUCCACUUCUGCCUGCCCUGCCCAAAUGGUGG
AGCAGAUUCGAGGGGCAGGGCAGGAAGAAGUGGACAAGUGAGGCCAU>hsa-mir-4436b-2 MI0019110GUGUCCU
CACUUGUCCACUUCUGCCUGCCCUGCCCAAAUGGUGGAGCAGAUUCGAGGGGCAGGGCAGGAAGAAGUGGACAAGUGAGG
CCAU>hsa-mir-4437 MI0016778ACUUUGUGCAUUGGGUCCACAAGGAGGGGAUGACCCUUGUGGGCUCAGGGUAC
AAAGGUU>hsa-mir-4438 MI0016781UAAGUGUAAACUUAAGGACUGUCUUUUCUAAGCCUGUGCCUUGCCUUUCC
UUUGGCACAGGCUUAGAAAAGACAGUCUUUAAGUUUACACUUC>hsa-mir-4439 MI0016782CCAGUGACUGAUAC
CUUGGAGGCAUUUUAUCUAAGAUACACACAAAGCAAAUGCCUCUAAGGUAUCAGUUUACCAGGCCA>hsa-mir-4440
MI0016783CUCUCACCAAGCAAGUGCAGUGGGGCUUGCUGGCUUGCACCGUGACUCCCUCUCACCAAGCAAGUGUCGUG
GGGCUUGCUGGCUUGCACUGUGAAGAU>hsa-mir-4441 MI0016784CAGAGUCUCCUUCGUGUACAGGGAGGAGAC
UGUACGUGAGAGAUAGUCAGAUCCGCAUGUUAGAGCAGAGUCUCCUUCGUGUACAGGGAGGAGAUUGUAC>hsa-mir-4
442 MI0016785GCGCCCUCCCUCUCUCCCCGGUGUGCAAAUGUGUGUGUGCGGUGUUAUGCCGGACAAGAGGGAGGUG
>hsa-mir-4443 MI0016786GGUGGGGGUUGGAGGCGUGGGUUUUAGAACCUAUCCCUUUCUAGCCCUGAGCA>hsa
-mir-4444-1 MI0016787GUGACGACUGGCCCCGCCUCUUCCUCUCGGUCCCAUAUUGAACUCGAGUUGGAAGAGGC
GAGUCCGGUCUCAAA>hsa-mir-4444-2 MI0019111GUGACGACUGGCCCCGCCUCUUCCUCUCGGUCCCAUAUUG
AACUCGAGUUGGAAGAGGCGAGUCCGGUCUCAAA>hsa-mir-4445 MI0016788UUCCUGCAGAUUGUUUCUUUUGC
CGUGCAAGUUUAAGUUUUUGCACGGCAAAAGAAACAAUCCAGAGGGU>hsa-mir-4446 MI0016789CUGGUCCAUU
UCCCUGCCAUUCCCUUGGCUUCAAUUUACUCCCAGGGCUGGCAGUGACAUGGGUCAA>hsa-mir-4447 MI0016790
GUUCUAGAGCAUGGUUUCUCAUCAUUUGCACUACUGAUACUUGGGGUCAGAUAAUUGUUUGUGGUGGGGGCUGUUGUUUG
CAUUGUAGGAU>hsa-mir-4448 MI0016791AGGAGUGACCAAAAGACAAGAGUGCGAGCCUUCUAUUAUGCCCAGA
CAGGGCCACCAGAGGGCUCCUUGGUCUAGGGGUAAUGCCA>hsa-mir-4449 MI0016792AGCAGCCCUCGGCGGCC
CGGGGGGCGGGCGGCGGUGCCCGUCCCGGGGCUGCGCGAGGCACAGGCG>hsa-mir-4450 MI0016795UGUCUGGG
GAUUUGGAGAAGUGGUGAGCGCAGGUCUUUGGCACCAUCUCCCCUGGUCCCUUGGCU>hsa-mir-4451 MI0016797
UCUGUACCUCAGCUUUGCUCCCAACCAACCACUUCCACAUGUUUUGCUGGUAGAGCUGAGGACAGC>hsa-mir-4452
MI0016798UGGAUCACUUGAGGCCAAGAGUGCAAGGCUGUAGUGUGCACAGCCUUGAAUUCUUGGCCUUAAGUGAUCCC
>hsa-mir-4453 MI0016799UGGAGAGCUUGGUCUGUAGCGGUUUCCUUCGGGGCAGGUGGGGACUGCUCCUUUGGG
AGGAAGGAGGAGGCCCAGGCCGCGUCUUCAGG>hsa-mir-4454 MI0016800CCGGAUCCGAGUCACGGCACCAAAU
UUCAUGCGUGUCCGUGUGAAGAGACCACCA>hsa-mir-4455 MI0016801AGAAGGGUGUGUGUGUUUUUCCUGAGA
AUAAGAGAAGGAAGGACAGCCAAAUUCUUCA>hsa-mir-4456 MI0016802AUGAACCUGGUGGCUUCCUUUUCUGG
GAGGAAGUUAGGGUUCA>hsa-mir-4457 MI0016803GGAGUACUCCAGUCAAUACCGUGUGAGUUAGAAAAGCUCA
AUUCACAAGGUAUUGACUGGCGUAUUCA>hsa-mir-4458 MI0016804GAGCGCACAGAGGUAGGUGUGGAAGAAAG
UGAAACACUAUUUUAGGUUUUAGUUACACUCUGCUGUGGUGUGCUG>hsa-mir-4459 MI0016805ACCCAGGAGGC
GGAGGAGGUGGAGGUUGCAGUGAGCCAAGAUCGUGGCACUGACUCCAGCCUGGGG>hsa-mir-4460 MI0016806GU
UUUUUGCCCAUAGUGGUUGUGAAUUUACCUUCUCCUCUUUGCAGUGAUAAAGGAGGUAAAUUCACAACCACUGUGGGCAG
AAAC>hsa-mir-4461 MI0016807GAGUAGGCUUAGGUUAUGUACGUAGUCUAGGCCAUACGUGUUGGAGAUUGAGA
CUAGUAGGGCUAGGCCUACUG>hsa-mir-4462 MI0016810CUUCCCAGCUGCCCUAAGUCAGGAGUGGCUUUCCUG
ACACGGAGGGUGGCUUGGGAAA>hsa-mir-4463 MI0016811AAUAGAUUAUUGGUCACCACCUCCAGUUUCUGAAU
UUGUGAGACUGGGGUGGGGCCUGAGAAUUUGC>hsa-mir-4464 MI0016812GGAACCUUAGUAAGGUUUGGAUAGA
UGCAAUAAAGUAUGUCCACAGCUGAAAGGACAUACUUUAUUGCAUGUAUCCAAACCUUACUAAUUCA>hsa-mir-4465
MI0016816CAUGUGUCCCCUGGCACGCUAUUUGAGGUUUACUAUGGAACCUCAAGUAGUCUGACCAGGGGACACAUGA
>hsa-mir-4466 MI0016817ACGCGGGUGCGGGCCGGCGGGGUAGAAGCCACCCGGCCCGGCCCGGCCCGGCGA>hs
a-mir-4467 MI0016818UGGUGGCGGCGGUAGUUAUGGGCUUCUCUUUCUCACCAGCAGCCCCUGGGCCGCCGCCUC
CCU>hsa-mir-4468 MI0016819AGUCUUCUCCUGGGGCUUUGGUGGCUAUGGUUGACUGGGCCACUCAGAGCAGAA
GGAUGAGAUG>hsa-mir-4469 MI0016820CCGACGCGGAGAGCGGCUCUAGGUGGGUUUGGCGGCGGCGAGGACAC
CGCCGCUCCCUCUAGGGUCGCUCGGAGCGUGA>hsa-mir-4470 MI0016821CGAGCCUCUUUCGGCUUUCCAGUUU
GUCUCGGUCCUUUGGAACGUGGCAAACGUGGAAGCCGAGAGGGCUCU>hsa-mir-4471 MI0016822CCAAAUUUAA
AACUUAAACCUCUACUAAGUUUCCAUGAAAAGAACCCAUGGGAACUUAGUAGAGGUUUAAGUUUUAAAUUUGA>hsa-mi

r-4472-1 MI0016823UGGCAGACCCUUGCUCUCUCACUCUCCCUAAUGGGGCUGAAGACAGCUCAGGGGCAGGGUGG
GGGGUGUUGUUUUUGUUU>hsa-mir-4472-2 MI0016824UGGUGGGGGUGGGGGGUGUUGUUUUUGUUUUUGAGAC
AGAGUCUUGCUCCGUCGCCCAGGCCGGAGU>hsa-mir-4473 MI0016825AAGGAACAGGGGACACUUGUAAUGGAG
AACACUAAGCUAUGGACUGCUAUGGACUGCUAGUGCUCUCCGUUACAAGUAUCCCCUGUUACCU>hsa-mir-4474 MI
0016826UUGCCUACCUUGUUAGUCUCAUGAUCAGACACAAAUAUGGCUCUUUGUGGCUGGUCAUGAGGCUAACAAGGUA
GGCAC>hsa-mir-4475 MI0016827AUCUCAAUGAGUGUGUGGUUCUAAAUGACUCAUAGUCAAGGGACCAAGCAUU
CAUUAUGAA>hsa-mir-4476 MI0016828AAAAGCCUGUCCCUAAGUCCCUCCCAGCCUUCCAGAGUUGGUGCCAGG
AAGGAUUUAGGGACAGGCUUUG>hsa-mir-4477a MI0016829UCCUCCUCCCAUCAAUCACAAAUGUCCUUAAUGG
CAUUUAAGGAUUGCUAUUAAGGACAUUUGUGAUUCACGGGAGGAGGU>hsa-mir-4477b MI0016830ACCUCCUCC
CGUGAAUCACAAAUGUCCUUAAUAGCAAUCCUUAAAUGCCAUUAAGGACAUUUGUGAUUGAUGGGAGGAGGA>hsa-mir
-4478 MI0016831GGCCGAGGCUGAGCUGAGGAGCCUCCAAACCUGUAGACAGGGUCAUGCAGUACUAGGGGCGAGCC
UCAUCCCCUGCAGCCCUGGCC>hsa-mir-4479 MI0016838GAAACCAAGUCCGAGCGUGGCUGGCGCGGGAAAGUU
CGGGAACGCGCGCGGCCGUGCUCGGAGCAGCGCCA>hsa-mir-4480 MI0016841GCAGAGGUGAGUUGACCUCCAC
AGGGCCACCCAGGGAGUAAGUAGCCAAGUGGAAGUUACUUUACCUCUGU>hsa-mir-4481 MI0016842GGAGUGGG
CUGGUGGUUUUUUAAGAGGAAGGGAGACCUAAGCUAGCACAUGAGCACGCUC>hsa-mir-4482-1 MI0016843AGU
GAGCAACCCAGUGGGCUA
UGGAAAUGUGUGGAAGAUGGCAUUUCUAUUUCUCAGUGGGGCUCUUACC>hsa-mir-4482-2 MI0017872AAUAAA
AAUUGAAUAGUGAGCAACCCAGUGGGCUAUGGAAAUGUGUGGAAGAUGGCAUUUCUAUUUCUCAGUGGGGCUCUUACCUA
UUACUCAUCAAC>hsa-mir-4483 MI0016844AAAAAACAACAUACUUAGUGCAUACCCAUAUAAUAUUAGGGGUGG
UCUGUUGUUGUUUUUCU>hsa-mir-4484 MI0016845GGGUUUCCUCUGCCUUUUUUUCCAAUGAAAAUAACGAAAC
CUGUUAUUUCCCAUUGAGGGGGAAAAAGGCGGGAGAAGCCCCA>hsa-mir-4485 MI0016846AGAGGCACCGCCUG
CCCAGUGACAUGCGUUUAACGGCCGCGGUACCCUAACUGUGCA>hsa-mir-4486 MI0016847GCAUGCUGGGCGAG
GCUGGCAUCUAGCACAGGCGGUAGAUGCUUGCUCUUGCCAUUGCAAUGA>hsa-mir-4487 MI0016848ACUGUCCU
UCAGCCAGAGCUGGCUGAAGGGCAGAAGGGAACUGUCCUUCAGCCAGAGCUGGCUGAAGGGCAGA>hsa-mir-4488 M
I0016849GGUAGGGGGCGGGCUCCGGCGCUGGGACCCCACUAGGGUGGCGCCUUGGCCCCGCCCCGCCC>hsa-mir-4
489 MI0016850GGGGGUGGGGCUAGUGAUGCAGGACGCUGGGGACUGGAGAAGUCCUGCCUGACCCUGUCCCA>hsa-
mir-4490 MI0016852AUAGUUUCUGCAAUGCUCAAAUCUCUGGCCAAAGACCAGAACUUAAUGGUCUCUGGUAAGAG
AUUUGGGCAUAUUAGAAACUAA>hsa-mir-4491 MI0016853ACAUUUGGUCACACCAGUCCACAUUAACGUGGACC
AGACAAUAUUAAUGUGGACUGGUGUGACCAAAA>hsa-mir-4492 MI0016854CUGCAGCGUGCUUCUCCAGGCCCC
GCGCGCGGACAGACACACGGACAAGUCCCGCCAGGGGCUGGGCGCGCGCCAGCCGG>hsa-mir-4493 MI0016855C
CAGAGAUGGGAAGGCCUUCCGGUGAUUAUCACAGCCAUGCCUUUACCUCCAGAAGGCCUUUCCAUCUCUGUC>hsa-mir
-4494 MI0016856AGUUUUAGUUACCCUGGUCAUCUGCAGUCUGAAAAUACAAAAUGGAAAAUUCCAGACUGUGGCUG
ACCAGAGGUAACUGAAACC>hsa-mir-4495 MI0016857AAGAAAUGUAAACAGGCUUUUUGCUCAGUGGAGUUAUU
UUGAGCAAAAAGCUUAUUUACAUUUCUG>hsa-mir-4496 MI0016858ACAUCAGCUCAUAUAAUCCUCGAAGCUGC
CUUUAGAAAUGAGGAAACUGAAGCUGAGAGGG>hsa-mir-4497 MI0016859ACCUCCGGGACGGCUGGGCGCCGGC
GGCCGGGAGAUCCGCGCUUCCUGAAUCCCGGCCGGCCCGCCCGGCGCCCGUCCGCCCGCGGGUC>hsa-mir-4498 MI
0016860AGGGCUGGGCUGGCAGGGCAAGUGCUGCAGAUCUUUGUCUAAGCAGCCCCUGCCUUGGAUCUCCCA>hsa-mi
r-4499 MI0016862AAGACUGAGAGGAGGGAACUGGUGAGUUGUACAUAGAAAUGCUUUCUAACUCCUUGUCUCAGUC
UGUUU>hsa-mir-4500 MI0016863CAGGAGAGAAAGUACUGCCCAGAAGCUAAAGUGUAGAUCAAACGCAUAAUGG
CUGAGGUAGUAGUUUCUUGAACUU>hsa-mir-4501 MI0016864UAUGUGACCUCGGAUGAAUCACUGAAAUAUGUC
UGAGCUUCUGUUUCAUCAGAUGUCACAUUUU>hsa-mir-4502 MI0016865AGCCUUUAGCAAGUUGUAAUCUUUUU
GCUGAUGGAGGGUCUUGCCUCCAUGGGGAUGGCUGAUGAUGAUGGUGCUGAAGGC>hsa-mir-4503 MI0016866AC
AAUGUAGAUAUUUAAGCAGGAAAUAGAAUUUACAUAUAAAUUUCUAUUUGUUUCUAUUUCCUGCUUAAAUAUCUACAUUG
C>hsa-mir-4504 MI0016867CUAAGAUAAUGUCCUCCAGGUUCAUCUCUGUUGUCAUUUGUGGCAUGGACCAUUUG
UGACAAUAGAGAUGAACAUGGAGGAUAUUAUCUUAA>hsa-mir-4505 MI0016868GGAGGCUGGGCUGGGACGGAC
ACCCGGCCUCCACUUUCUGUGGCAGGUACCUCCUCCAUGUCGGCCCGCCUUG>hsa-mir-4506 MI0016869UGGCC
UCUGCCAUCAGACCAUCUGGGUUCAAGUUUGGCUCCAUCUUUAUGAAAUGGGUGGUCUGAGGCAAGUGGUCU>hsa-mir
-4507 MI0016871UCUGGGCUGAGCCGAGCUGGGUUAAGCCGAGCUGGGUUGGGCUGGGCUGGGU>hsa-mir-4508
MI0016872AGGACCCAGCGGGGCUGGGCGCGCGGAGCAGCGCUGGGUGCAGCGCCUGCGCCGGCAGCUGCAAGGGCCG
>hsa-mir-4509-1 MI0016873CUUUAAUACUAUCUCAAACUAAAGGAUAUAGAAGGUUUUCCCUUUCUCUUGCCCU

GAAACCUUCUGUAUCCUUUAUUUUGAGAUAGUAUUAGAA>hsa-mir-4509-2 MI0016874CUUUAAUACUAUCUCA
AACUAAAGGAUAUAGAAGGUUUUCCCUUUCUCUUGCCCUGAAACCUUCUGUAUCCUUUAUUUUGAGAUAGUAUUAGAA>h
sa-mir-4509-3 MI0016875CUUUAAUACUAUCUCAAACUAAAGGAUAUAGAAGGUUUUCCCUUUCUCUUGCCCUGA
AACCUUCUGUAUCCUUUAUUUUGAGAUAGUAUUAGAA>hsa-mir-4510 MI0016876GUGUAUGUGAGGGAGUAGGA
UGUAUGGUUGUUAGAUAGACAACUACAAUCUUUUCUCACAACAGACAG>hsa-mir-4511 MI0016877AAAAAAAAG
GGAAAGAAGAACUGUUGCAUUUGCCCUGCACUCAGUUUGCACAGGGUAAAUGCAAUAGUUCUUCUUUCCCUUUUUUUA>h
sa-mir-4512 MI0016878CUCAGCCCGGGCAAUAUAGUGAGACCUCGUCUCUACAAAAAAUUGAGACAGGGCCUCAC
UGUAUCGCCCAGGCUGGA>hsa-mir-4513 MI0016879AUUCUAGGUGGGGAGACUGACGGCUGGAGGCCCAUAAGC
UGUCUAAAACUUCGGCCCCCAGAUUUCUGGUCUCCCCACUUCAGAAC>hsa-mir-4514 MI0016880GUUGAGACAG
GCAGGAUUGGGGAAACAUCUUUUACCUCGUCUCUUGCCUGUUUUAGA>hsa-mir-4515 MI0016881GCGGGAGGUG
UAACAGGACUGGACUCCCGGCAGCCCCAGGGCAGGGGCGUGGGGAGCUGGUCCUAGCUCAGCGCUCCCGGA>hsa-mir-
4516 MI0016882AGGGAGAAGGGUCGGGGCAGGGAGGGCAGGGCAGGCUCUGGGGUGGGGGGUCUGUGAGUCAGCCAC
GGCUCUGCCCACGUCUCCCC>hsa-mir-4517 MI0016883AGGUAAAUAUGAUGAAACUCACAGCUGAGGAGCUUAG
CAAGUAGCUAAGGCCAGAGCUUGUGUUUGGGUGGUGUGGCUG>hsa-mir-4518 MI0016884UGGGGGAAAAGUGCU
GGGAUUGAUUAGUGAUGUCUGCUGGGGAACCGGGGCUCAGGGAUGAUAACUGUGCUGAGAAGCCCCCU>hsa-mir-451
9 MI0016885AACCUCAGCAGUGCGCAGGGCUGCACUGUCUCCGUCUGCGGCCUGCAGUAAGCGGGUA>hsa-mir-45
20a MI0016886GUGUGCCACCUGCGUGUUUUCUGUCCAAAUCAGAAAAGGAUUUGGACAGAAAACACGCAGGAAGAAG
GAA>hsa-mir-4520b MI0017358CCUGCGUGUUUUCUGUCCAAAUCCUUUUCUGAUUUGGACAGAAAACACGCAGG
U>hsa-mir-4521 MI0016887UCGGCUAAGGAAGUCCUGUGCUCAGUUUUGUAGCAUCAAAACUAGGAUUUCUCUUG
UUAC>hsa-mir-4522 MI0016889GCGGGCGUUGCCUGGGGGCCUCGCAGGGGGAGAUCCAGCCCAGGCUGGUUCCG
CUGACUCUGCCUGUAGGCCGGUGGCGUCUUCUGG>hsa-mir-4523 MI0016890GCGGGGGACCGAGAGGGCCUCGG
CUGUGUGAGGACUAGAGGCGGCCGAGGCCCGGGCCGGUUCCCCCGA>hsa-mir-4524a MI0016891GAACGAUAGC
AGCAUGAACCUGUCUCACUGCAGAAUUAUUUUGAGACAGGCUUAUGCUGCUAUCCUUCA>hsa-mir-4524b MI0019
114UAGCUGGGUGGAUGUGUUCUUUUGAAGGAUAGCAGCAUAAGCCUGUCUCAAAAUAAUUCUGCAGUGAGACAGGUUCA
UGCUGCUAUCGUUCCAAAGAGGAAGGGUAAUCACUGUC>hsa-mir-4525 MI0016892GUCAGAGGGGGGAUGUGCA
UGCUGGUUGGGGUGGGCUGCCUGUGGACCAAUCAGCGUGCACUUCCCCACCCUGAA>hsa-mir-4526 MI0016893U
GCGGUGACAUCAGGGCCCAGUCCCUGCUGUCAUGCCCCAGGUGACGUGCUGGGCUGACAGCAGGGCUGGCCGCUAACGUC
ACUGUC>hsa-mir-4527 MI0016894CCAGAAGUGGUCUGCAAAGAGAUGACUGUGAAUCCAAGAUCCACAUCAGCU
CUGUGCUGCCUACAUCUGA>hsa-mir-4528 MI0016895UAUUCUACUGAGAGUACAGAUCUUUAUAUAUAUGAUCA
UUAUAUGUAUGAUGAGAUCAUUAUAUGUAUGAUCUGGACACCCAGUAGAAUC>hsa-mir-4529 MI0016896AUGAC
AGGCCAUCAGCAGUCCAAUGAAGACAUGAAGACCCAAUGUCUUCAUUGGACUGCUGAUGGCCCGUCACUGGGA>hsa-mi
r-4530 MI0016897CGACCGCACCCGCCCGAAGCUGGGUCAAGGAGCCCAGCAGGACGGGAGCGCGGCGC>hsa-mir
-4531 MI0016898GCCUAGGAGUCCUUGGUCAGUGGGGACAUGGAGAAGGCUUCUGAGGA>hsa-mir-4532 MI00
16899ACAGACCCCGGGGAGCCCGGCGGUGAAGCUCCUGGUAUCCUGGGUGUCUGA>hsa-mir-4533 MI0016900U
GAGAAUGUGGAAGGAGGUUGCCGGACGCUGCUGGCUGCCUUCCAGCGUCCACUUCCCUUUCUCUCUCUCC>hsa-mir-4
534 MI0016901UGUGAAUGACCCCCUUCCAGAGCCAAAAUCACCAGGGAUGGAGGAGGGGUCUUGGGUACU>hsa-mi
r-4535 MI0016903AACUGGGUCCCAGUCUUCACAGUUGGUUUCUGACACGUGGACCUGGCUGGGACGAUGUG>hsa-
mir-4536-1 MI0016906AUGUGGUAGAUAUAUGCACGAUAUAUAUACUGCCCUGCUUUUAUACAUACAUACAUACAU
ACCUAUAUCGUGCAUAUAUCUACCACAU>hsa-mir-4536-2 MI0019149AUGUGGUAGAUAUAUGCACGAUAUAGG
UAUGUAUGUAUGUAUGUAUAAAAGCAGGGCAGUAUAUAUAUCGUGCAUAUAUCUACCACAU>hsa-mir-4537 MI001
6908UGAGCCGAGCUGAGCUUAGCUGGGCUGAGCUAACCAGGGCUGGGCUGAGCUGGGCUGAGCUGAGCUGAGC>hsa-m
ir-4538 MI0016909GAGCUUGGAUGAGCUGGGCUGAACUGGGCUGGGUUGAGCUGGGCUGGGCUGAGUUGAGCCAGG
CUGAUCUGGGCUGAG>hsa-mir-4539 MI0016910UGAGCUGGGCUCUGCUGUGCUGUGCUGAGCAGGGCUGAGCUG
AACUGGGCUGAGCUGGGC>hsa-mir-4540 MI0016911AAGCUGCAUGGACCAGGACUUGGCACCUUUGGCCUUAGU
CCUGCCUGUAGGUUUA>hsa-mir-4632 MI0017259GAGGGCAGCGUGGGUGUGGCGGAGGCAGGCGUGACCGUUUG
CCGCCCUCUCGCUGCUCUAG>hsa-mir-4633 MI0017260UGGCAAGUCUCCGCAUAUGCCUGGCUAGCUCCUCCAC
AAAUGCGUGUGGAGGAGCUAGCCAGGCAUAUGCAGAGCGUCA>hsa-mir-4634 MI0017261GGACAAGGGCGGCGC
GACCGGCCCGGGGCUCUUGGGCGGCCGCGUUUCCCCUCC>hsa-mir-4635 MI0017262CCGGGACUUUGUGGGUUC
UGACCCCACUUGGAUCACGCCGACAACACUGGUCUUGAAGUCAGAACCCGCAAAGUCCUGG>hsa-mir-4636 MI001
7263UAGAUUCAGAACUCGUGUUCAAAGCCUUUAGCCCAGCAAUGGGAGAGUGCUAAAGGCUUCAAGCACGAGUUCUGAA

UCUA>hsa-mir-4637 MI0017264CCCUUACUUGGAUCUGCAAUUAGUAUUUUAAUCAUAGAUUGUAUUUAGUUAGU
UUUUAAUACUAACUGCAGAUUCAAGUGAGGG>hsa-mir-4638 MI0017265GACUCGGCUGCGGUGGACAAGUCCGG
CUCCAGAACCUGGACACCGCUCAGCCGGCCGCGGCAGGGGUC>hsa-mir-4639 MI0017266UUGCUAAGUAGGCUG
AGAUUGAUGUCAGGUUAUCCCCAAGCAUAACCUCACUCUCACCUUGCUUUGCAG>hsa-mir-4640 MI0017267CUG
UGGGCUGGGCCAGGGAGCAGCUGGUGGGUGGGAAGUAAGAUCUGACCUGGACUCCAUCCCACCCACCCCCUGUUUCCUGG
CCCACAG>hsa-mir-4641 MI0017268GGGGGGCAGGGGGCAGAGGGCAUCAGAGGACAGCCGCCUGGUGCCCAUGC
CAUACUUUUGCCUCAG>hsa-mir-4642 MI0017269CACAACUGCAUGGCAUCGUCCCCUGGUGGCUGUGGCCUAGG
GCAAGCCACAAAGCCACUCAGUGAUGAUGCCAGCAGUUGUG>hsa-mir-4643 MI0017270GUGUGCCCUAGCAUUU
AUAAUCAUGUGUUCAUUCACAUGAUCAUAAGUGGACACAUGACCAUAAAUGCUAAAGCACAC>hsa-mir-4644 MI00
17271GCGGCGGUGCUCUGCCUCUUUCUCCAUCCACCCUGGUCCAGGUCCACAGCAGUGGAGAGAGAAAAGAGACAGAAG
GAUGGCCGU>hsa-mir-4645 MI0017272UGAUAGGGAAACCAGGCAAGAAAUAUUGUCUCCUCAAGUUGCGACGAG
ACAGUAGUUCUUGCCUGGUUUCUCUAUCA>hsa-mir-4646 MI0017273ACUGGGAAGAGGAGCUGAGGGACAUUGC
GGAGAGGGUCUCACAUUGUCCCUCUCCCCUUCCCAG>hsa-mir-4647 MI0017274CCAGGAGGGUGAAGAUGGUGCU
GUGCUGAGGAAAGGGGAUGCAGAGCCCUGCCCAGCACCACCACCUCCUAUGCUCCUGG>hsa-mir-4648 MI001727
5UGUGGGACUGCAAAUGGGAGCUCAGCACCUGCCUGCCACCCACGCAGACCAGCCCCUGCUCUGUUCCCACAG>hsa-mi
r-4649 MI0017276UCUGGGCGAGGGGUGGGCUCUCAGAGGGGCUGGCAGUACUGCUCUGAGGCCUGCCUCUCCCCAG
>hsa-mir-4650-1 MI0017277UUCUGUAGAGAUUAUCAGGCCUCUUUCUACCUUCCAAGGCUCAGAAGGUAGAAUG
AGGCCUGACAUAUCUGCAGGA>hsa-mir-4650-2 MI0017278UUCUGUAGAGAUUAUCAGGCCUCUUUCUACCUUC
CAAGGCUCAGAAGGUAGAAUGAGGCCUGACAUAUCUGCAGGA>hsa-mir-4651 MI0017279CGGCGACGGCGGGGU
GGGUGAGGUCGGGCCCCAAGACUCGGGGUUUGCCGGGCGCCUCAGUUCACCGCGGCCG>hsa-mir-4652 MI001728
0UAUUGGACGAGGGGACUGGUUAAUAGAACUAACUAACCAGAACUAUUUUGUUCUGUUAACCCAUCCCCUCAUCUAAUA>
hsa-mir-4653 MI0017281UUGUCCAAUUCUCUGAGCAAGGCUUAACACCAAAGGGUUAAGGGUUUGCUCUGGAGUU
AAGGGUUGCUUGGAGAAUUGGAGAA>hsa-mir-4654 MI0017282CUGGCUGGUUGUGGGAUCUGGAGGCAUCUGGG
GUUGGAAUGUGACCCCAGUCUCCUUUUCCCUCAUCAUCUGCCAG>hsa-mir-4655 MI0017283CCAAGGGCACACC
GGGGAUGGCAGAGGGUCGUGGGAAAGUGUUGACCCUCGUCAGGUCCCCGGGGAGCCCCUGG>hsa-mir-4656 MI001
7284AGGCUGGCGUGGGCUGAGGGCAGGAGGCCUGUGGCCGGUCCCAGGCCUCCUGCUUCCUGGGCUCAGGCUCGGUUU>
hsa-mir-4657 MI0017285AAUGUGGAAGUGGUCUGAGGCAUAUAGAGUAUAUGCCAAGAACACUACCAUAU>hsa-
mir-4658 MI0017286GCUGCCCUUCACUCAGAGCAUCUACACCCACUACCGGUGAGUGUGGAUCCUGGAGGAAUCGU
GGC>hsa-mir-4659a MI0017287GAAACUGCUGAAGCUGCCAUGUCUAAGAAGAAAACUUUGGAGAAAAAUUUUCU
UCUUAGACAUGGCAACGUCAACAGUUUC>hsa-mir-4659b MI0017291CUGUUGACGUUGCCAUGUCUAAGAAGAA
AAUUUUUCUCCAAAGUUUUCUUCUUAGACAUGGCAGCUUCAGCAG>hsa-mir-4660 MI0017288ACUCCUUCUGCA
GCUCUGGUGGAAAAUGGAGAAGACUUUUCCUUUCCUCCAUCUCCCCCAGGGCCUGGUGGAGU>hsa-mir-4661 MI00
17289UUUACUCUGAACUAGCUCUGUGGAUCCUGACAGACAGCCUGAUAGACAGGAUCCACAGAGCUAGUCCAGAGUAAA
>hsa-mir-4662a MI0017290UCUAUUUAGCCAAUUGUCCAUCUUUAGCUAUUCUGAAUGCCUAAAGAUAGACAAUU
GGCUAAAUAGA>hsa-mir-4662b MI0017293CACAAUUUCUAUUUAGCCAAUUGUCUAUCUUUAGGCAUUCAGAAU
AGCUAAAGAUGGACAAUUGGCUAAAUAGACACUGUG>hsa-mir-4663 MI0017292CUGUGGUGGAGCUGAGCUCCA
UGGACGUGCAGUGGCAUCUGUCAUUGCUGCCUUCCUGGAGCUCAGGCCCUUGCAG>hsa-mir-4664 MI0017294GU
UGGGGGCUGGGGUGCCCACUCCGCAAGUUAUCACUGAGCGACUUCCGGUCUGUGAGCCCCGUCCUCCGC>hsa-mir-46
65 MI0017295CUCGAGGUGCUGGGGGACGCGUGAGCGCGAGCCGCUUCCUCACGGCUCGGCCGCGGCGCGUAGCCCCC
GCCACAUCGGG>hsa-mir-4666a MI0017296AUCACUUAAAUACAUGUCAGAUUGUAUGCCUACAAAAUCCCUCCA
GACUGGCAUACAAUC
UGACAUGUAUUUAAGAGAU>hsa-mir-4666b MI0019299UGUCUAAAUUGCAUGUCAGAUUGUAAUUCCCAGGCCC
UUCCUCCAAUACUGGGAAUUACAAUUUGACAUGCAAUUUAGACA>hsa-mir-4667 MI0017297UGACUGGGGAGCA
GAAGGAGAACCCAAGAAAAGCUGACUUGGAGGUCCCUCCUUCUGUCCCCACAG>hsa-mir-4668 MI0017298AGGG
AAAAAAAAAAGGAUUUGUCUUGUAGCCAGGAUAUUGUUUUAAAGAAAAUCCUUUUUGUUUUUCCAG>hsa-mir-4669
MI0017300GCCUCCCUUCACUUCCUGGCCAUCCAGGCAUCUGUGUCUGUGUCCGGGAAGUGGAGGAGGGC>hsa-mir-
4670 MI0017301CUCUAGGAAGCGACCAUGAUGUAACUUCACAGACUCUCCAAAAGUCUGAAGUUACAUCAUGGUCGC
UUCCUAGAG>hsa-mir-4671 MI0017302UAUUUUAAGACCGAAGACUGUGCGCUAAUCUCUUAGCACUGAAGAUUA
GUGCAUAGUCUUUGGUCUCAAAAUA>hsa-mir-4672 MI0017303GGCUGCUUCUCGCCUCUGUCCAGCUGUGUGGC
CUUGGACAAGCCUCUUGGUUACACAGCUGGACAGAGGCACGAAACAGCC>hsa-mir-4673 MI0017304GUCCAGGC

AGGAGCCGGACUGGACCUCAGGGAAGAGGCUGACCCGGCCCCUCUUGCGGC>hsa-mir-4674 MI0017305CCCAGG
CGCCCGCUCCCGACCCACGCCGCGCCGCCGGGUCCCUCCUCCCCGGAGAGGCUGGGCUCGGGACGCGCGGCUCAGCUCGG
G>hsa-mir-4675 MI0017306CAUGAGAAAUCCUGCUGGUCAACCAUAGCCCUGGUCAGACUCUCCGGGGCUGUGAU
UGACCAGCAGGACUUCUCAUG>hsa-mir-4676 MI0017307UGAAUGAAAGAGCCAGUGGUGAGACAGUGAGUUGAU
UACUUCUCACUGUUUCACCACUGGCUCUUUGGUUCA>hsa-mir-4677 MI0017308GCAAAGCAGCAAUUGUUCUUU
GGUCUUUCAGCCAUGACCUGACCUUCUGUCUGUGAGACCAAAGAACUACUUUGCUUGGC>hsa-mir-4678 MI00173
09GGAAAAAACAAGGUAUUGUUCAGACUUAUGAUUUUUGGGGUCAAAGAUUCUGAGCAAUAACCUAUUAAAAAACC>hsa
-mir-4679-1 MI0017310GUCUUUUUUCUGUGAUAGAGAUUCUUUGCUUUGUUAGAAACAAAAAGCAAAGAAUCUCU
AUCACAGAAAAAAGAU>hsa-mir-4679-2 MI0017311UAUCUUUUUUCUGUGAUAGAGAUUCUUUGCUUUUUGUUU
CUAACAAAGCAAAGAAUCUCUAUCACAGAAAAAAGACG>hsa-mir-4680 MI0017312UAUAAGAACUCUUGCAGUC
UUAGAUGUUAUAAAAAUAUAUAUCUGAAUUGUAAGAGUUGUUAGCAC>hsa-mir-4681 MI0017313GGCAACGGGA
AUGCAGGCUGUAUCUGCAGGGCAUUGUGCUAACAGGUGCAGGCUGCAGACCUGUCACAGGCC>hsa-mir-4682 MI00
17314UGCCCCUGGUCUGAGUUCCUGGAGCCUGGUCUGUCACUGGGGAAGUCCAGAGCUCCAAGGCUCAGUGCCCAGGGG
ACGCA>hsa-mir-4683 MI0017315GACACGCAAGACGAGGCGGGCCUGGAGGUGCACCAGUUCUGGCCGCUGGUGG
AGAUCCAGUGCUCGCCCGAUCUCAAGUUC>hsa-mir-4684 MI0017316GCACCAGGGGUACCUCUCUACUGACUUG
CAACAUACAUUUGUCUUGGUGUGUUGCAAGUCGGUGGAGACGUACCCUUGGUGC>hsa-mir-4685 MI0017317UAG
CCCAGGGCUUGGAGUGGGGCAAGGUUGUUGGUGAUAUGGCUUCCUCUCCCUUCCUGCCCUGGCUAG>hsa-mir-4686
MI0017318GGCUUCCUGUAUCUGCUGGGCUUUCUGGUGUUGGCAGCCCAAGAUGACACCCUGGGCCCAGCAGGAGCCAG
AAGCC>hsa-mir-4687 MI0017319ACCUGAGGAGCCAGCCCUCCUCCCGCACCCAAACUUGGAGCACUUGACCUUU
GGCUGUUGGAGGGGGCAGGCUCGCGGGU>hsa-mir-4688 MI0017321GUCUACUCCCAGGGUGCCAAGCUGUUUCG
UGUUCCCUCCCUAGGGGAUCCCAGGUAGGGGCAGCAGAGGACCUGGGCCUGGAC>hsa-mir-4689 MI0017322GGU
UUCUCCUUGAGGAGACAUGGUGGGGGCCGGUCAGGCAGCCCAUGCCAUGUGUCCUCAUGGAGAGGCC>hsa-mir-4690
MI0017323GAGCAGGCGAGGCUGGGCUGAACCCGUGGGUGAGGAGUGCAGCCCAGCUGAGGCCUCUGC>hsa-mir-4
691 MI0017324GGAGCACUCCCAGGUCCUCCAGGCCAUGAGCUGCGGCCCUGAUGUCUCUACUCCAGCCACGGACUGA
GAGUGCAUAGGAGUGUCC>hsa-mir-4692 MI0017325GUUUUACUUGAUACCCACACUGCCUGGGUGGGACACUCA
GGCAGUGUGGGUAUCAGAUAAAAC>hsa-mir-4693 MI0017326GUUUAAAGAAUACUGUGAAUUUCACUGUCACAA
AUUCAAAUAAAGUGAGAGUGGAAUUCACAGUAUUUAAGGAAU>hsa-mir-4694 MI0017327CAAAUACAUAGGUGU
UAUCCUAUCCAUUUGCCUCUCUCAGAAAAUAGAGUCAAAUGGACAGGAUAACACCUAUGUAUUUG>hsa-mir-4695 M
I0017328CCUGCAGGAGGCAGUGGGCGAGCAGGCGGGGCAGCCCAAUGCCAUGGGCCUGAUCUCACCGCUGCCUCCUUC
CC>hsa-mir-4696 MI0017329CAAAGCCACUGCAAGACGGAUACUGUCAUCUAUUCCAGAAGAUGACAAUGUCCAU
UUUGCAGUGGCUUUG>hsa-mir-4697 MI0017330GGGCCCAGAAGGGGGCGCAGUCACUGACGUGAAGGGACCACA
UCCCGCUUCAUGUCAGUGACUCCUGCCCCUUGGUCU>hsa-mir-4698 MI0017331UGCUUCUCCUGGGGUCUUCCU
CUACAUUUCCACCUAGACGGGCCUGGGUCAAAAUGUAGAGGAAGACCCCAGAAGGAGCA>hsa-mir-4699 MI00173
32AGCAAUUGGAGAAGAUUGCAGAGUAAGUUCCUGAUUAAGAAAUGGAAUUUACUCUGCAAUCUUCUCCAAUUGCU>hsa
-mir-4700 MI0017333UCAGUGAGGUCUGGGGAUGAGGACAGUGUGUCCUGAAAUUCACAGGACUGACUCCUCACCC
CAGUGCACGAGGA>hsa-mir-4701 MI0017334CCUUGGCCACCACACCUACCCCUUGUGAAUGUCGGGCAAUGGGU
GAUGGGUGUGGUGUCCACA>hsa-mir-4703 MI0017336UUAUGCAUAUUAGCAAUACAGUACAAAUAUAGUGUGUU
UGAUUUGCACUGUAGUUGUAUUGUAUUGCCACUCUGUAUAA>hsa-mir-4704 MI0017337CUUAUCCUAGACACUA
GGCAUGUGAGUGAUUGUCUUCCUCACUCAAUCAGUCACAUAUCUAGUGUCUAGAAUGAG>hsa-mir-4705 MI00173
38CUCACAAGAUCAAUCACUUGGUAAUUGCUGUGAUAACAACUCAGCAAUUACCAAGUGAUUGGUUUUGUGAG>hsa-mi
r-4706 MI0017339GCUACGGGGAGCGGGGAGGAAGUGGGCGCUGCUUCUGCGUUAUCUGGAAGGAGCAGCCCACUCC
UGUCCUGGGCUCUGUGGU>hsa-mir-4707 MI0017340GGUUCCGGAGCCCCGGCGCGGGCGGGUUCUGGGGUGUAG
ACGCUGCUGGCCAGCCCGCCCCAGCCGAGGUUCUCGGCACC>hsa-mir-4708 MI0017341UUUAGGAGAGAGAUGC
CGCCUUGCUCCUUGAACAGGAGGAGCAAGGCGGCAUCUCUCUGAUACUAAA>hsa-mir-4709 MI0017342CUGCUU
CAACAACAGUGACUUGCUCUCCAAUGGUAUCCAGUGAUUCGUUGAAGAGGAGGUGCUCUGUAGCAG>hsa-mir-4710
MI0017344GACCGAGUGGGGUGAGGGCAGGUGGUUCUUCCCGAAGCAGCUCUCGCCUCUUCGUC>hsa-mir-4711 M
I0017345AAAUGUGCAUCAGGCCAGAAGACAUGAGCCCUUUGGAAAGGUCUCGUGUCUUCUGGCUUGAUGCACAUUU>h
sa-mir-4712 MI0017346GACAGGAUUCCAGUACAGGUCUCUCAUUUCCUUCAUGAUUAGGAAUACUACUUUGAAAU
GAGAGACCUGUACUGUAUCUGUU>hsa-mir-4713 MI0017347GUCCCCAUUUUUCUCCCACUACCAGGCUCCCAUA
AGGGUCGAAUGGGAUCCAGACAGUGGGAGAAAAAUGGGGAC>hsa-mir-4714 MI0017348AUUUUGGCCAACUCUG

ACCCCUUAGGUUGAUGUCAGAAUGAGGUGUACCAACCUAGGUGGUCAGAGUUGGCCAAAAU>hsa-mir-4715 MI001
7349GGGGAAUGAAAGUUGGCUGCAGUUAAGGUGGCUAAUCAGCUGAUGGUGCCACCUUAACUGCAGCCAAUUCUAAUUC
CCC>hsa-mir-4716 MI0017350CAUACUUUGUCUCCAUGUUUCCUUCCCCCUUCUGUAUACAUGUAUACAGGAGGA
AGGGGGAAGGAAACAUGGAGACAAAGUGUG>hsa-mir-4717 MI0017352GGCAGUGUUUAGGCCACAGCCACCCAU
GUGUAGGGGUGGCUACACAUGGGUGGCUGUGGCCUAAACACUGCC>hsa-mir-4718 MI0017353AGCUGUACCUGA
AACCAAGCACCUGUUUGUGACUUGGCUUCAGUUACUAGC>hsa-mir-4719 MI0017354ACAAUGAUGACUUGUAUG
UUAUAGAUUUGUGAUUACAUUAAAACUUAAAAUUUCACAAAUCUAUAAUAUGCAGGUCAUCACUGU>hsa-mir-4720
MI0017355AAGCCUGGCAUAUUUGGUAUAACUUAAGCACCAGGUAAAAUCUGGUGCUUAAGUUGUACCAAGUAUAGCCA
AGUUU>hsa-mir-4721 MI0017356GGGCCUGGUCAUGGUCAAGCCAGGUUCCAUCAAGCCCCACCAGAAGGUGGAG
GCCCAGGUGAGGGCUCCAGGUGACGGUGGGCAGGGUU>hsa-mir-4722 MI0017357GGCAGGAGGGCUGUGCCAGG
UUGGCUGGGCCAGGCCUGACCUGCCAGCACCUCCCUGCAG>hsa-mir-4723 MI0017359AGUUGGUGGGGGAGCCA
UGAGAUAAGAGCACCUCCUAGAGAAUGUUGAACUAAAGGUGCCCUCUCUGGCUCCUCCCCAAAG>hsa-mir-4724 MI
0017361ACGCAAAAUGAACUGAACCAGGAGUGAGCUUCGUGUACAUUAUCUAUUAGAAAAUGAAGUACCUUCUGGUUCA
GCUAGUCCCUGUGCGU>hsa-mir-4725 MI0017362GUGUCUCUCUGGAGACCCUGCAGCCUUCCCACCCACCAGGG
AGCUUUCCAUGGGCUGUGGGGAAGGCGUCAGUGUCGGGUGAGGGAACAC>hsa-mir-4726 MI0017363AGGGCCAG
AGGAGCCUGGAGUGGUCGGGUCGACUGAACCCAGGUUCCCUCUGGCCGCA>hsa-mir-4727 MI0017364AAUCUGC
CAGCUUCCACAGUGGCAGAUUUUCCCAUAGUGGGAAGCUGGCAGAUUC>hsa-mir-4728 MI0017365GUGGGAGGG
GAGAGGCAGCAAGCACACAGGGCCUGGGACUAGCAUGCUGACCUCCCUCCUGCCCCAG>hsa-mir-4729 MI001736
6UCUGUUUCCUCAUUUAUCUGUUGGGAAGCUAACUGUGACCUUAGCGUCCCAGCAGAUAAAUGAGGAAACAGA>hsa-mi
r-4730 MI0017367CGCAGGCCUCUGGCGGAGCCCAUUCCAUGCCAGAUGCUGAGCGAUGGCUGGUGUGUGCUGCUCC
ACAGGCCUGGUG>hsa-mir-4731 MI0017368CCCUGCCAGUGCUGGGGGCCACAUGAGUGUGCAGUCAUCCACACA
CAAGUGGCCCCCAACACUGGCAGGG>hsa-mir-4732 MI0017369GAGGGAGCUGUAGAGCAGGGAGCAGGAAGCUG
UGUGUGUCCAGCCCUGACCUGUCCUGUUCUGCCCCCAGCCCCUC>hsa-mir-4733 MI0017370GGUCGCUUAAAUC
CCAAUGCUAGACCCGGUGGCAAUCAAGGUCUAGCCACCAGGUCUAGCAUUGGGAUUUAAGCCC>hsa-mir-4734 MI0
017371CUCGGGCCCGACCGCGCCGGCCCGCACCUCCCGGCCCGGAGCUGCGGGCUGCGGUCAGGGCGAUCCCGGG>hsa
-mir-4735 MI0017372UGCAGUGCCUAAUUUGAACACCUUCGGUAUUCAUCAAAAAUACCAAAGGUGCUCAAAUUAG
ACAUUGCA>hsa-mir-4736 MI0017373AGGCAGGUUAUCUGGGCUGCCAUCUCCCACUGGCUGCUUGCCUGCCU>h
sa-mir-4737 MI0017374CUGCACAGGAUGCGAGGAUGCUGACAGUGCCUCACAGCCGCACAGGACCGAGGAUGCUG
ACGGUGCCUCACAGCCACACAG>hsa-mir-4738 MI0017376GGUCGCAUUUCUCCUUCUUACCAGCGCGUUUUCAG
UUUCAUAGGGAAGCCUUUCCAUGAAACUGGAGCGCCUGGAGGAGAAGGGGCC>hsa-mir-4739 MI0017377GGGAG
GAAGAAGGGAGGAGGAGCGGAGGGGCCCUUGUCUUCCCAGAGCCUCUCCCUUCCUCCCCUCCCCCUCCC>hsa-mir-47
40 MI0017378GCCAAGGACUGAUCCUCUCGGGCAGGGAGUCAGAGGGGACCGCCCGAGAGGAUCCGUCCCUGC>hsa-
mir-4741 MI0017379CGGGCGGGGCGGGUCCGGCCGCCUCCGAGCCCGGCCGGCAGCCCCCGGCCUUAAAGCGCGGG
CUGUCCGGAGGGGUCGGCUUUCCCACCG>hsa-mir-4742 MI0017380UCAGGCAAAGGGAUAUUUACAGAUACUUU
UUAAAAUUUGUUUGAGUUGAGGCAGAUUAAAUAUCUGUAUUCUCCUUUGCCUGCAG>hsa-mir-4743 MI0017381G
CUGGCCGGAUGGGACAGGAGGCAUGAAUGAGCCAUCUUUCCAAUGCCUUUCUGUCUUUUCUGGUCCAG>hsa-mir-474
4 MI0017382GUAAUCACAUCUAAAGACUAGACUUCGCUAUGACCAGGCCAUAGUAAACAUCAUAGUAUGUCUAGUCUU
UAGGUUUGAUUAC>hsa-mir-4745 MI0017384GUGAGUGGGGCUCCCGGGACGGCGCCCGCCCUGGCCCUGGCCCG
GCGACGUCUCACGGUCCC>hsa-mir-4746 MI0017385GUGUCUGUGCCGGUCCCAGGAGAACCUGCAGAGGCAUCG
GGUCAGCGGUGCUCCUGCGGGCCGACACUCAC>hsa-mir-4747 MI0017386AGGGAAGGAGGCUUGGUCUUAGCAC
GGGGUCUAAGGCCCGGGCUUUCCUCCCAG>hsa-mir-4748 MI0017387UGGCUGGCUGAGGUUUGGGGAGGAUUUG
CUGGUGCUAGAGAGGAAAGCAGACCCUACCCAACCCCACGCCCUACUACAGCCA>hsa-mir-4749 MI0017388CCU
GCGGGGACAGGCCAGGGCAUCUAGGCUGUGCACAGUGACGCCCCUCCUGCCCCCACAG>hsa-mir-4750 MI001738
9CGCUCGGGCGGAGGUGGUUGAGUGCCGACUGGCGCCUGACCCACCCCCUCCCGCAG>hsa-mir-4751 MI0017390
CCCGGAGCCAGAGGACCCGUAGCUGCUAGAAGGGCAGGGGUGUGGCUUCUGGGGGCUGGUCUUCAGCUCUGGCG>hsa-m
ir-4752 MI0017391AGUGUCUCCUUGUGGAUCUCAAGGAUGUGCUUCCACAUAGCAGCAUGUUCUUCAGAUGGACAA
GGAGACACU>hsa-mir-4753 MI0017392AUAUCUACACAAGGCCAAAGGAAGAGAACAGAUAUAUCCACAGUACAC
UUGGCUGUUCUCUUUCUUUAGCCUUGUGUAGAUAU>hsa-mir-4754 MI0017394ACGCGCCUGAUGCGGACCUGGG
UUAGCGGAGUGAGGCCCAGUGGUCACCGCCGCCCUCCGCAGGUCCAGGUUGCCGUGCGCAUGUGCCU>hsa-mir-4755
MI0017395AGAUUCAGCUUUCCCUUCAGAGCCUGGCUUUGGCAUCUAUGAAAGCCAGGCUCUGAAGGGAAAGUUGAAU

CU>hsa-mir-4756 MI0017397GGGAUAAAAUGCAGGGAGGCGCUCACUCUCUGCUGCCGAUUCUGCACCAGAGAUG
GUUGCCUUCCUAUAUUUUGUGUC>hsa-mir-4757 MI0017398UUCCAGCCCGAGGCCUCUGUGACGUCACGGUGUC
UGCGGGAGGAGACCAUGACGUCACAGAGGCUUCGCGCUCUGAG>hsa-mir-4758 MI0017399GGUGAGUGGGAGCC
GGUGGGGCUGGAGUAAGGGCACGCCCGGGGCUGCCCCACCUGCUGACCACCCUCCCC>hsa-mir-4759 MI0017400
CAUUUAGGACUAGAUGUUGGAAUUAGACAGAAAAAAGUUAGACACAAAAAAUUGUGUCUAAUUCCAACAUCUAGUCCUAA
AUG>hsa-mir-4760 MI0017401GCCAUGGUGUUUAGAUUGAACAUGAAGUUAGAAUUCUUAAGUAUCAAAACUAAA
UUCAUGUUCAAUCUAAACCCCAUGGC>hsa-mir-4761 MI0017402GGACAAGGUGUGCAUGCCUGACCCGUUGUCA
GACCUGGAAAAAGGGCCGGCUGUGGGCAGGGAGGGCAUGCGCACUUUGUCC>hsa-mir-4762 MI0017403CUGAUA
CCCCAAAUCUUGAUCAGAAGCCUUGAUCAGAAGCUAGGAAGGCUUCUGAUCAAGAUUUGUGGUGUCAAG>hsa-mir-47
63 MI0017404CCUGUCCCUCCUGCCCUGCGCCUGCCCAGCCCUCCUGCUCUGGUGACUGAGGACCGCCAGGCAGGGGC
UGGUGCUGGGCGGGGGGCGGCGGG>hsa-mir-4764 MI0017405UCUUCCCCAUGGAUGUGGAAGGAGUUAUCUGUC
ACCAGUCAGAUAACUGUCACCAGUCAGUUAACUCCUUUCACACCCAUGGGGAAGA>hsa-mir-4765 MI0017406UG
GUGAUUUUGAACGUAGCUAUCCACCACUCAGCCUGGAAAAAGCUGAGUGAUUGAUAGCUAUGUUCAAAAUCACCA>hsa-
mir-4766 MI0017407CUGAAGCUCCUUCUGAAAGAGCAGUUGGUGUUUAUUUUUUACUAAAUAGCAAUUGCUCUUUU
GGAAGGAACUUGAG>hsa-mir-4767 MI0017408ACAUGGGCCCGCGGGCGCUCCUGGCCGCCGCCCGACUUCGGGG
CCAGCCGGGGGCAGA
GCGCGCGGGAGCCCGAGCGU>hsa-mir-4768 MI0017409AAACUUUGAUUCUCUCUGGAUCCCAUGGAUAUGGGAA
CUGUGAUGUCCAGGAGAUCCAGAGAGAAUCAGAGUUU>hsa-mir-4769 MI0017410GAGGAGAGGUGGGAUGGAGA
GAAGGUAUGAGCUAAAAAUCCCCAAGCUCUGCCAUCCUCCCUCCCCUACUUCUCCCC>hsa-mir-4770 MI0017411
GAGUUAUGGGGUCAUCUAUCCUUCCCUUGGAAAAUGAUCUGAGAUGACACUGUAGCUC>hsa-mir-4771-1 MI0017
412GCUCUAGCCUAAUUUUAGAUCUGGUCUGCUUCAGUUUCACUCCAAGCAGACUUGACCUACAAUUAGCCUAGAGC>hs
a-mir-4771-2 MI0017413GCUCUAGCCUAAUUUUAGAUCUGGUCUGCUUCAGUUUCACUCCAAGCAGACUUGACCU
ACAAUUAGCCUAGAGC>hsa-mir-4772 MI0017414GUGAUUGCCUCUGAUCAGGCAAAAUUGCAGACUGUCUUCCC
AAAUAGCCUGCAACUUUGCCUGAUCAGAGGCAGUCAC>hsa-mir-4773-1 MI0017415UGCUCCCCAGCCUUUCUA
UGCUCCUGUUCUGCUUUAUUUCAUCAAAGCAGAACAGGAGCAUAGAAAGGCUGGGGAGCA>hsa-mir-4773-2 MI00
17416UGCUCCCCAGCCUUUCUAUGCUCCUGUUCUGCUUUGAUGAAAUAAAGCAGAACAGGAGCAUAGAAAGGCUGGGGA
GCA>hsa-mir-4774 MI0017417UAUAUUGUUGUCUGGUAUGUAGUAGGUAAUAACUGACAAACAGACAAUUGCCUA
ACAUGUGCCAGAAAACAACAUA>hsa-mir-4775 MI0017418AUUAAGCUUUUAAUUUUUUGUUUCGGUCACUCUUG
AUAGCAGACAUUGACUGAAACAAAAAAUUAAAAGCUUUAU>hsa-mir-4776-1 MI0017419CUAUAUGCAGUGGAC
CAGGAUGGCAAGGGCUCUCCUGAAAGGACAGUAGAGCCCUUGCCAUCCUGGUCCACUGCAUAUAG>hsa-mir-4776-2
MI0017420CUAUAUGCAGUGGACCAGGAUGGCAAGGGCUCUACUGUCCUUUCAGGAGAGCCCUUGCCAUCCUGGUCCA
CUGCAUAUAG>hsa-mir-4777 MI0017421UAGAAUAUUUCGGCAUUCUAGAUGAGAGAUAUAUAUAUACCUCAUAU
GUAUAUGGUAUACCUCAUCUAGAAUGCUGUAAUAUUCUA>hsa-mir-4778 MI0017422UCACAUGUCCAAUUCUGU
AAAGGAAGAAGAGGUAAGAAGAAGUGAAGCCCUCUUCUUCCUUUGCAGAGUUGAAUAUGUGG>hsa-mir-4779 MI00
17423UAAAUGUCUUACUGCUUUUACUGUUCCCUCCUAGAGUCCAUUCUUUACUCUAGGAGGGAAUAGUAAAAGCAGUAA
GACAUUUA>hsa-mir-4780 MI0017424GGCCAGUGCCAGGGGGUCAGGCUCAAGGACCAGCCCAAAGGCCAGGCCU
GACCCUUGAGCCUGAUCCCUAGCACUGAUCCC>hsa-mir-4781 MI0017426AGGUGCACGCUCUAGCGGGGAUUCC
AAUAUUGGGCCAAUUCCCCCAAUGUUGGAAUCCUCGCUAGAGCGUGCACUU>hsa-mir-4782 MI0017427AUUGCC
CAGUUCUGGAUAUGAAGACAAUCAAGAAAAGAUUUGGUGUUCUUGAUUGUCUUCAUAUCUAGAACUGGGCAGU>hsa-mi
r-4783 MI0017428GGGAAAGCGGAGGGCGCGCCCAGCUCCCGGGCUGAUUGCGCUAACAGUGGCCCCGGUGUUGGGG
CGCGUCUGCCGCUGCCCC>hsa-mir-4784 MI0017429UGACUGGGCUGAGGAGAUGCUGGGACUGAGAGUGUCAUG
GUGGAGCCUCCGUCCCUGCUCAUCCUCUCCGCAUGUUG>hsa-mir-4785 MI0017430GUAGGUGGGGACGCGGCGG
CGCUGCUCCUCCGCUGCCGCCGGGAGAGUCGGCGACGCCGCCAGCUCCGCGCGC>hsa-mir-4786 MI0017433GGG
CAUGGCCUGAGACCAGGACUGGAUGCACCACUCUCCCCUGUGAUGAGGUGAAGCCAGCUCUGGUCUGGGCCAUUUCAC>hs
a-mir-4787 MI0017434CGGUCCAGACGUGGCGGGGGUGGCGGCGGCAUCCCGGACGGCCUGUGAGGGAUGCGCCGC
CCACUGCCCCGCGCCGCCUGACCG>hsa-mir-4788 MI0017435AAUGAAGGAUUACGGACCAGCUAAGGGAGGCAU
UAGGAUCCUUAUUCUUGCCUCCCUUAGUUGGUCCCUAAUCCUUCGUU>hsa-mir-4789 MI0017436CAUGCUACGU
AUGUAUACACCUGAUAUGUGUAUGUGUAAAUACAUAUCCACACACAUAGCAGGUGUAUAUAUAGGUAGCCUG>hsa-mir
-4790 MI0017437CAAUGUGACAUCGCUUUACCAUUCAUGUUCACUGAAAGGUAGAUUUUAAAAACAUGAAUGGUAAA
GCGAUGUCACAUUG>hsa-mir-4791 MI0017438UAAGAACUGGAUAUGAUGACUGAAAUAAGCUCCAUAUCAAUGA

GAAUUUCAAUGGGAUUAUGUGCAGUCAAUGUCCAGUAAUUA>hsa-mir-4792 MI0017439GCAGCCCGGUGAGCGC
UCGCUGGCCUGGCAGUGCGUCGGAAGAACAGGGCGGGUGGGGCCGCGCACAUCUCUGC>hsa-mir-4793 MI001744
0UUUCUCCUCGCUGCCCGCACAUCCUGCUCCACAGGGCAGAGGGAGGCCAAGAAGACCUCUGCACUGUGAGUUGGCUGGC
UGGAGGAA>hsa-mir-4794 MI0017441UUUUAACAUCUGGCUAUCUCACGAGACUGUAUGUCCUAACAGUGCUUGU
AGUCUCAUGAGAUAGCCAGAUGUUAAAA>hsa-mir-4795 MI0017442UGAUAUGGAAGAAAUCCAGAAGUGGCUAA
UAAUAUUGACACUAUAACAAUAAUGUCAAUAUUAUUAGCCACUUCUGGAUUUAUGAAUCA>hsa-mir-4796 MI0017
443UAAAUUUGUGUCUAUACUCUGUCACUUUACUUUUGGCCUCAAGUCAUUGCAGUAAAGUGGCAGAGUAUAGACACAAA
UUUA>hsa-mir-4797 MI0017444GACUCAGAAGACAGAGUGCCACUUACUGAAAGGUUUUUUCUCUCAGUAAGUGG
CACUCUGUCUUCUGAGUU>hsa-mir-4798 MI0017445AAGUACAACUUCGGUAUACUUUGUGAAUUGGCUUUUACA
AAAGACCAACUCACGAAGUAUACCGAAGUCAUACUU>hsa-mir-4799 MI0017446ACUGCUAAUAUCUAAAUGCAG
CAUGCCAGUCCUGAGAUGCAGGGACUGGCAUGCUGCAUUUAUAUAUUAGCAGU>hsa-mir-4800 MI0017448GGAG
AAAGGAGUGGACCGAGGAAGGAAGGAAGGCAAGGCUGUCUGUCCAUCCGUCCGUCUGUCCACCUACCUGUCAGUCC>hsa
-mir-4801 MI0017449UUGAGGCUUGGUUUUCUUAUGUGUAAAAUGUAAUAACAUUUCUUAUGUUUAAAACACUUUA
CACAAGAAAACCAAGGCUCAA>hsa-mir-4802 MI0017450CUGACUGGCUUGUAUGGAGGUUCUAGACCAUGUUAG
UGUUCAAGUCUACAUGGAUGGAAACCUUCAAGCAGGCCAAGCAG>hsa-mir-4803 MI0017451AGUGGGAUUUAAC
AUAAUAGUGUGGAUUGAAUCACACACACAUUUCAACCCACACUAUGAUGUUAAAUCCCAUU>hsa-mir-4804 MI001
7452UCAGUGUAUUUGGACGGUAAGGUUAAGCAAGGUGCGUCGUAUCUUGCUUAACCUUGCCCUCGAAAUACACUGA>hs
a-mir-4999 MI0017865AUAGAAAAUAAAACACAUACUGCUGUAUUGUCAGGUAGUGAUAGGAUUUAUCACUACCUG
ACAAUACAGUAUGUGUUUGUUUUAUAUAUUU>hsa-mir-5000 MI0017866CUGAAGAGUAGAGUGUGUGGUCCCAG
UUCAGAAGUGUUCCUGAGUAACUUGUGCUUAUAACUCAGGACACUUCUGAACUUGGACCAUACAGGUCUCCCUGCUU>hs
a-mir-5001 MI0017867AGCUCAGGGCGGCUGCGCAGAGGGCUGGACUCAGCGGCGGAGCUGGCUGCUGGCCUCAGU
UCUGCCUCUGUCCAGGUCCUUGUGACCCGCCCGCUCUCCU>hsa-mir-5002 MI0017868UCUUCCUCUCUGUCCUC
UGGAAUUUGGUUUCUGAGGCACUUAGUAGGUGAUAGCAUGACUGACUGCCUCACUGACCACUUCCAGAUGAGGGUUACUC
>hsa-mir-5003 MI0017869AUGAGUUUGCUUUGUGUCAUCCUCACAACAACCUUGCAGGGUAGAGAUGAUUUUUCC
UACUUUUCUAGGUUGUUGGGGGCUGGGGCAGGGGGAACAGAG>hsa-mir-5004 MI0017870GGCACUUGCUUGGGG
GUUAGUGAGGACAGGGCAAAUUCACGAGAUUGGGUUGUGCAGAGGCUGACACUUGGAUUUUCCUGGGCCUCAGGACUUCC
UUUCAGACAUGG>hsa-mir-5006 MI0017873AACCAUUAGGGGGCUGUGGUUUGCCAGGGCAGGAGGUGGAAGGGA
GCCCCAUUUACAGUGGUAACUUCCUUUCCCUUUCCAUCCUGGCAGGCUUCAGAGAACUUUACCAG>hsa-mir-5007 M
I0017874GGUAAACCUUGGUGACUAAUUAGAGUCUGGCUGAUAUGGUUUGACACAGAGCUAAAUCAUAUGAACCAAACU
CUAAUUAGUCAAUAAUUUCUGUU>hsa-mir-5008 MI0017876GGGCUGACCCCUAGGGUCAGGUGAGGCCCUUGGG
GCACAGUGGUGCCAUCUCCCCUGUGCUCCCAGGGCCUCGCCUGUCCCUUGAGGUCGGCCC>hsa-mir-5009 MI0017
877GACCAGAAGUGUUUUGGAUUUUGGACUUUUUCAGAUUUGGGGAUAUUUGCAUUAUACUUAUCCUAAAUCUGAAAGUC
CAAAACCUGAAAUGACCAAUAAG>hsa-mir-5010 MI0017878GAUCCAGGGAACCCUAGAGCAGGGGGAUGGCAGA
GCAAAAUUCAUGGCCUACAGCUGCCUCUUGCCAAACUGCACUGGAUUUUGUGUCUCCCAUUCCCCAGAGCUGUCUGAGGU
GCUUUG>hsa-mir-5011 MI0017879AGAUGGUAUUGAGUGGAUGCUGUUAUAUAUACAGCCAUGCACUCUGUAGUU
UGGGUACACAGUGCAUGGCUGUAUAUAUAACACUAUCCAUUCAUCUUUCAGC>hsa-mir-5047 MI0017932GAAGC
GCUUGCCUAGACGAGACACAGUGCAUAAAAACAACUUUUGGGGGACAGGUAUGUUUUCUUGCAGCUGCGGUUGUAAGGUC
UUGGCAAGACAAGCA>hsa-mir-5087 MI0017976AGCUUUCUACGGGUUUGUAGCUUUGCUGGCAUGUUAAGUGUU
GUCCUACAGUCGCAAGCAUAAGAAAGAGAAAGUA>hsa-mir-5088 MI0017977UCUCCAGGGUGGCCAGGCGGGGC
CGGGCCUGAGGGAUGGAGGGGAGCCCAUCAGGGCUCAGGGAUUGGAUGGAGGUGAUGGGGG>hsa-mir-5089 MI001
7978AAGGACUUCAGUGGGAUUUCUGAGUAGCAUCCUUGGAAUCUGCACUCAAGGGAUGCUACUCGGAAAUCCCACUGAA
GUCCUUUU>hsa-mir-5090 MI0017979UCUGAGGUACCCGGGGCAGAUUGGUGUAGGGUGCAAAGCCUGCCCGCCC
CCUAAGCCUUCUGCCCCCAACUCCAGCCUGUCAGGA>hsa-mir-5091 MI0017980GACUGUGGCGACGGAGACGAC
AAGACUGUGCUGGUCGCGGGUUGUGGGGUUUAGGUCACCGGCAGGGGUCUGGAGUCCCUGGAGGUUAGGGCU>hsa-mir
-5092 MI0017981AUCCCAGAUCAGAUGCCAAAGCCAGUGGGGACUGGACAACAUGAUGAGCCCAAACCAAUCCACGC
UGAGCUUGGCAUCUGAUUUGGGA>hsa-mir-5093 MI0017982CCCGCCAGGUCCACAUGCCAGAGUGUCAACGUGA
CCCAGCCAGCCUCCUUCCUGAGCUAGGAGGAUUAGGAAAUGAGGCUGGCUAGGAGCACAGCCAGGG>hsa-mir-5094
MI0017983AAAAGAAAAAAAUCAGUGAAUGCCUUGAACCUAACACACUGCCUUUUAUGUGGUAGGUACAGUGGGCUCAC
UGAAACAUUCAACU>hsa-mir-5095 MI0018001CUGGGAUUACAGGCGUGAACCACCGCGCCCGGCCUAACUUUUA
AGAAACGUCGGCCCGGGAGCGGUGGCUCACGCCUGUAAUCCCAGC>hsa-mir-5096 MI0018004AGUAGAGGUGGG

GUUUCACCAUGUUGGUCAGGCUGGUCUCAAACUCCUGACCUCAGGUGAUCCAUCCACC>hsa-mir-5100 MI001911
6CCAUGAGGAGCUGGCAGUGGGAUGGCCUGGGGGUAGGAGCGUGGCUUCUGGAGCUAGACCACAUGGGUUCAGAUCCCAG
CGGUGCCUCUAACUGGCCACAGGACCUUGGGCAGUCAGCU>hsa-mir-5186 MI0018165UCAGCCAGCUUAUGACU
UGACCCUCUCACCUGAUUUCUACCAACCUUUCCUCAGCUGAUUUCUUUCUGGGGAGAGAUUGGUAGAAAUCAGGUGAGAG
GGUCAUGCCAUAAGCUGGCUAAC>hsa-mir-5187 MI0018166GACUAAGGGUGGGAUGAGGGAUUGAAGUGGAGCA
GGAAUGCGCUUUUCUCCACUGAAUCCUCUUUUCCUCAGGUGG>hsa-mir-5188 MI0018167GGGAGGCAUGGAAAU
UUCUCUGGUUUCAAUGGGUACGAUUAUUGUAAGCAGGAUCCAUUCAAUAAUCGGACCCAUUUAAACCGGAGAUUUUAAAA
GACAGGAAUAGAAUCCCA>hsa-mir-5189 MI0018168GGCCCGCCUUUUAGGGGCCUCGCUGUCUGGGCACAGGCG
GAUGGACAGGCUGGCCUCUGGAUGACCUGCCAACCGUCAGAGCCCAGACCCACGUGGCCUCAGUUGGGGACCAGG>hsa-
mir-5190 MI0018169GGUCAUACCCUGGCUCCAGCCCUGUCACAUGGUUAAUGUUCCACAGCCAGUGACUGAGCUGG
AGCCAGGGCCACUGCCCC>hsa-mir-5191 MI0018170AGUUGGCCAGGACCCCAAGCCCCCAGCACUUCAUUCUUG
CUGUCCUCUCCUGGUCUGGGAGGAUAGAAGAGAGGAUAGGAAGAAUGAAGUGCUGGGCGCUUAGGGGGAUCCUGGCCAAC
U>hsa-mir-5192 MI0018171UUAGUUCCAGCCUCCUGGCUCACCUGGAACCAUUUCUCCUGGGAAGCAUGGUAGCC
AGGAGAGUGGAUUCCAGGUGGUGAGGGCUUGGUACU>hsa-mir-5193 MI0018172CCUAGGAAAGGCUGCUGGUAA
CUGGGAUGGGGGUUGGGGGGAGGUAAGAAGUCUCUGACUCCUCCUCUACCUCAUCCCAGUUCCAUCACCUGAAGUGGACC
UCUUGGGA>hsa-mir-5194 MI0018173AUUUCUUUGGGUUAACUUAAACUCAGCCCUUCUAGGCCCAUUCUUUUCA
CUCAGGAAUUGGAUAAGCUUUUCUGAGGGGUUUGGAAUGGGAUGGCAGGGAGAGUCACCAGACACCAUGAA>hsa-mir-
5195 MI0018174GAGCAAAAACCAGAGAACAACAUGGGAGCGUUCCUAACCCCUAAGGCAACUGGAUGGGAGACCUGA
CCCAUCCAGUUCUCUGAGGGGGCUCUUGUGUGUUCUACAAGGUUGUUCA>hsa-mir-5196 MI0018175UCUGAGGA
GACCUGGGCUGUCAGAGGCCAGGGAAGGGGACGAGGGUUGGGGAACAGGUGGUUAGCACUUCAUCCUCGUCUCCCUCCCA
GGUUAGAAGGGCCCCCCUCUCUGAAGG>hsa-mir-5197 MI0018176UAUGGGAUUCCACAGACAAUGAGUAUCAAU
GGCACAAACUCAUUCUUGAAUUUUUGCCAGUUCAAGAAGAGACUGAGUCAUCGAAUGCUCUAAAUGUCACUUCACCUCAU
GU>hsa-mir-5571 MI0019115AUCUGACACAAAAUGUGAACCAAGCAAUUCUCAAAGGAGCCUCCCAGGAAAUUCA
CUUUAGGAAGUCCUAGGAGGCUCCUCUGAGAGUUGCUAAAACAAAACAUUGAGAGUCC>hsa-mir-5572 MI001911
7AGCCAGACAAGAGGGUCAUGGGGAGUCACUGUCAACCCAGAGCAGGCACUGCCCCUGCGACCAGCCUGGGGCAUCGGUU
GGGGUGCAGGGGUCUGCUGGUGAUGCUUUCCAUCUCUUUGCUUUGUCCUGAUUGUAGC>hsa-mir-5579 MI001913
3UAUGGUACUCCUUAAGCUAACAGGCCCCUGUCACCAUUAGCUUAAGGAGUACCAGAUC>hsa-mir-5580 MI00191
35UGCUGGCUCAUUUCAUAUGUGUGCUGAGAAAAUUCACACAUAUGAAGUGAGCCAGCAC>hsa-mir-5581 MI0019
136AGCCUUCCAGGAGAAAUGGAGACCCUAUACAUACCUGUUUCCAUGCCUCCUAGAAGUUCC>hsa-mir-5582 MI0
019138UAGGCACACUUAAAGUUAUAGCUACAUCAGUUAUAACUAUAUCAGUUAAAACUUUAAGUGUGCCUAGG>hsa-m
ir-5583-1 MI0019139AAACUAAUAUACCCAUAUUCUGGCUAGGUGAUCAUCAGAAUAUGGGUAUAUUAGUUUGG>h
sa-mir-5583-2 MI0019140AAACUAAUAUACCCAUAUUCUGAUGAUCACCUAGCCAGAAUAUGGGUAUAUUAGUUU
GG>hsa-mir-5584 MI0019141CAGGGAAAUGGGAAGAACUAGAUUUGAAUCCAGACCUUUAGUUCUUCCCCUUUGCC
CAAUU>hsa-mir-5585 MI0019142UGAAGUACCAGCUACUCGAGAGGUCAGAGGAUUGCUCCUGAAUAGCUGGGAC
UACAGGU>hsa-mir-5586 MI0019143UAUCCAGCUUGUUACUAUAUGCUUUUUAAAUGGGGCACAGAGUGACAAGC
UGGUUAAAG>hsa-mir-5587 MI0019144AUGGUCACCUCCGGGACUCAGCCCUGUGCUGAGCCCCGGGCAGUGUGA
UCAUC>hsa-mir-5588 MI0019147ACUGGCAUUAGUGGGACUUUUUUUUUUUUUUUUUUUAAUGUUAAAAGUCCCA
CUAAUGCCAGC>hsa-mir-5589 MI0019148GGCUGGGUGCUCUUGUGCAGUGAGCAACCUACACAACUGCACAUGG
CAACCUAGCUCCCA>hsa-mir-5590 MI0019150UUGCCAUACAUAGACUUUAUUGUGUUGAUCAACAAUAAAGUUC
AUGUAUGGCAA>hsa-mir-5591 MI0019151UGGGAGCUAAGCUAUGGGUAUACUGAGCUUAUGUAUGCAUCUGCAU
ACCCAUAGCUUAGCUCCCA>hsa-mir-5680 MI0019280
GCAUUGGGUUAGCAGGUUAGCCCAGCAUUUCCCUUCCUGGACACACAGGAGGAGAAAUGCUGGACUAAUCUGCUAAUCCA
AUGC>hsa-mir-5681a MI0019281AGUUUUUGAAGAGUAUUGCCACCCUUUCUAGUCCCUAUUAGACUAGAAAGGG
UGGCAAUACCUCUUCCAAAAACU>hsa-mir-5681b MI0019293GAAGAGGUAUUGCCACCCUUUCUAGUCUAAUAG
GGACUAGAAAGGGUGGCAAUACUCUUC>hsa-mir-5682 MI0019282GGCCCAUGGGUCUUAUCCUGCAAGGUGCUG
CAGAGACGAGGCCUGUAGCACCUUGCAGGAUAAGGUCUACUGGGCC>hsa-mir-5683 MI0019284GGAGCUUGUUA
CAGAUGCAGAUUCUCUGACUUCUUACUGCACCAGUGAAGUCAGGAUCUGCAUUUGAAUAAGACCC>hsa-mir-5684 M
I0019285GCUGAACUCUAGCCUGAGCAACAGAGUGAGAUGGUCUUGUUUUGUUGCCCAGGCUGGAGUCCAGU>hsa-mi
r-5685 MI0019287CUCUACAUCACAGCCCAGCAGUUAUCACGGGCCCCUCCCCUCAAUGGGCCCGUGAUAACUGCAG
GGCUGUGAUGUAGAG>hsa-mir-5686 MI0019290UAUCGUAUCGUAUCGUAUCGUAUUGUAUUGUACUGUAUUGUA

UUGUACUGUAUUGUAUCGUAUCGUAUCGUAUCGUAUCGUA>hsa-mir-5687 MI0019291CCUCACUUAUCUGACUC
UGAAAUCUUCUAAAUGGUACCCACUUUAUUUAGAACGUUUUAGGGUCAAAUAAGUACAGG>hsa-mir-5688 MI0019
292GAAACACUUUGCCUUUUUACAGGAGUUUAUUAUGUUUUGGACAUAGAAACAUAACAAACACCUGUAAAACAGCAAAG
UGUUUC>hsa-mir-5689 MI0019294AGCGUGGUAGCAUACACCUGUAGUCCUAGAUACUCAGGAGGGUGAGUAUCU
AGGACUACAGGUGUGUGCUACCACGCU>hsa-mir-5690 MI0019295CUUUUAAUUUCAGCUACUACCUCUAUUAGG
AUUUGGGAGUUAUACUAAUAGAGGUAAUAGUUGAAAUUAAGAG>hsa-mir-5691 MI0019296GGACAAGCUUGCUC
UGAGCUCCGAGAAAGCUGACAGACAGCUGCUUGGUGUUCAGAGCUUGUCUGUCC>hsa-mir-5692a-1 MI0019297
GACAGUACAAAUAAUACCACAGUGGGUGUACCUCAUGUGUGUACACCCUGUGAUAUUAUUUGUAAUAUC>hsa-mir-56
92a-2 MI0019298UACAAAUAAUACCACAGUGGGUGUACCUCAUGUGUGUACACCCUGUGAUAUUAUUUGUA>hsa-m
ir-5692b MI0019311GAUAUUAUGAAUAAUAUCACAGUAGGUGUUCACACAUAAUGUGUACACCAUGUGUGUACACC
CAUGUGAUAUUUGAAGUAGUAUGUC>hsa-mir-5692c-1 MI0019288UAUAACAUUGUAUAUACCCACUGUGAUAU
UAAGAGUAAUAGCUCUCUAGGUUAUUAUGAAUAAUAUCACAGUAGGUGUACACAAUGUUGUA>hsa-mir-5692c-2 M
I0019289UGUGUACACCAACUGUGAUAUUAGGAGUCCUAUUUAUUUUUAGGAUAUUAGGAAUAAUAUCACAGUAGGUGU
ACACA>hsa-mir-5693 MI0019300CUGGGAAGUUAGUUCAUUUCAGUCUGUGCUGUGAGCUAGCCAGCAGUGGCUC
UGAAAUGAACUCAAACUCUAG>hsa-mir-5694 MI0019301GCCAACUGCAGAUCAUGGGACUGUCUCAGCCCCAUA
UGUAUCUGAAGGCUGAGAAGUCCCAUGAUCCGCACUUGGC>hsa-mir-5695 MI0019302CAAGGCCUAUCUAUCUA
GAUUCUUCUUGGCCUCUCUGAGCAUGCAUUCCUGAGACUCCAAGAAGAAUCUAGACAGAUAGGCCUUG>hsa-mir-569
6 MI0019303GUGCUCAUUUAAGUAGUCUGAUGCCUACUACUGAUGACAUACAAUGUAAGUGCUCAUUUAGGCGUCAGA
CUACCUAAAUGAGCAC>hsa-mir-5697 MI0019304AGCAUAUUCUCAAGUAGUUUCAUGAUAAAGGGUGUAUGAGA
GAUCAACCCUUUAUCAUGAAACGCUUGAGGAUACGCU>hsa-mir-5698 MI0019305CUGUGCACCUGGGGGAGUGC
AGUGAUUGUGGAAUGCAAAGUCCCACAAUCACUGUACUCCCCAGGUGCACAG>hsa-mir-5699 MI0019306CUGUA
CCCCUGCCCCAACAAGGAAGGACAAGAGGUGUGAGCCACACACACGCCUGGCCUCCUGUCUUUCCUUGUUGGAGCAGGGA
UGUAG>hsa-mir-5700 MI0019307UUAAUUAAUGCAUUAAAUUAUUGAAGGCCCUUGGGCACCCCAGGCCUUCAAU
AAUUUAAUGCAUUUAUUGA>hsa-mir-5701-1 MI0019308GAUUGGACUUUAUUGUCACGUUCUGAUUGGUUAGCC
UAAGACUUGUUCUGAUCCAAUCAGAACAUGAAAAUAACGUCCAAUC>hsa-mir-5701-2 MI0019593GAUUGGACU
UUAUUGUCACGUUCUGAUUGGUUAGCCUAAGACUUGUUCUGAUCCAAUCAGAACAUGAAAAUAACGUCCAAUC>hsa-mi
r-5702 MI0019309GCCUCAACUCCUGGGAUAUGUUGCUGAUCCAACCUGAAAUCCUUCUGUAGGUUGAGUCAGCAAC
AUAUCCCAUGACUUUUGGGU>hsa-mir-5703 MI0019310UUGCCGUCCCCUUCCUCGUCUUUUCCCCUCAGGAGAA
GUCGGGAAGGUGGCGGCGG>hsa-mir-5704 MI0019312UGAUCUUGUUUAGGCCAUCAUCCCAUUAUGCUAAGUCC
AUGGGCAAACAUAACAGGAUGAUGGCCUAAACAAGACCA>hsa-mir-5705 MI0019313UCCCCAUUUACACAGGCC
AUGAGCCCCGAAACACCCAUCCCAGGAUUGCUGAUGGGUGUUUCGGGGCUCAUGGCCUGUGUAAAUGGGGA>hsa-mir-
5706 MI0019314AGCUAGGUCUUCUGGAUAACAUGCUGAAGCUUCUACGUCAUUCAGCACUUGCUUCAGCAUGUUUUC
CAGAGGAUCUAGCU>hsa-mir-5707 MI0019315UGUAAGAACACGUUUGAAUGCUGUACAAGGCACAUAUGUGAAC
AUUGUACCACAUGUACAGCUUUCAAACAUGCUCUUAUA>hsa-mir-5708 MI0019316AUUACAGACAUGAGCGACU
GUGCCUGACCAAAAGUCAACAUUAAACAACAAAUCUUGGCCAGGCACAGUGGCUCAUGCCUGUAAU

【図１】

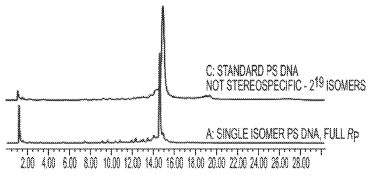


FIG. 1

【図２】

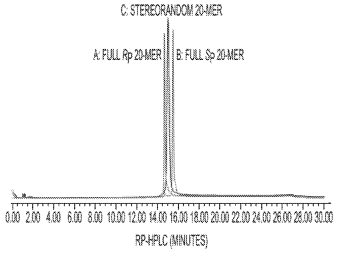


FIG. 2

【図３】

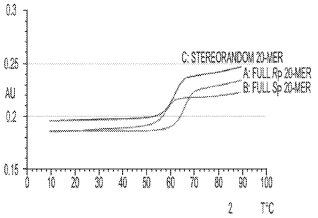


FIG. 3

【図４】

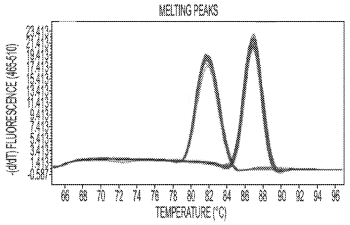


FIG. 4

【図５】

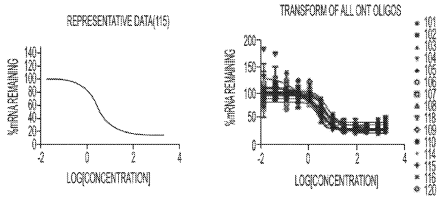


FIG. 5

【図６】

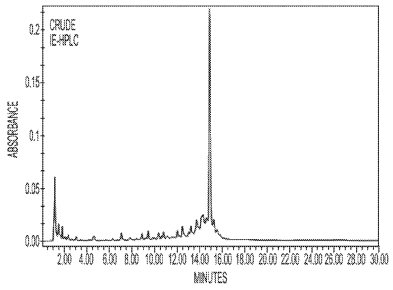


FIG. 6

【図７】

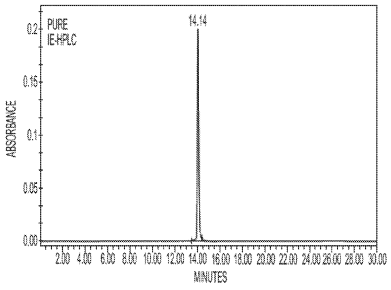


FIG. 7

【図８】

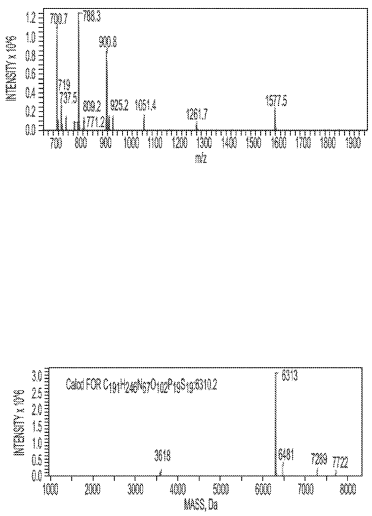


FIG. 8

【図９】

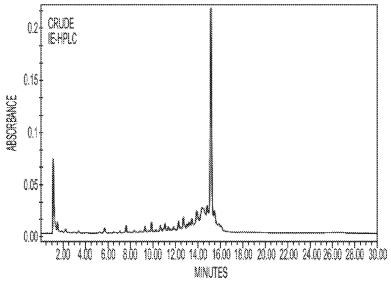


FIG. 9

【図１０】

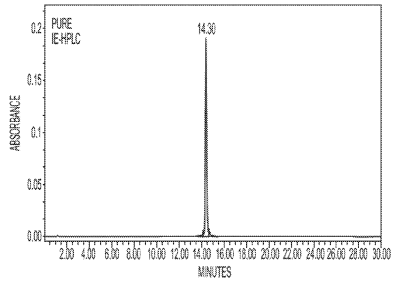
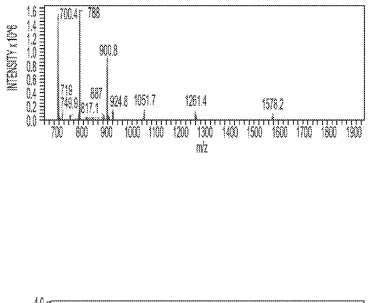


FIG. 10

【図１１】



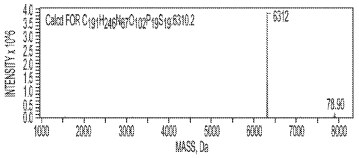


FIG. 11

【図１２】

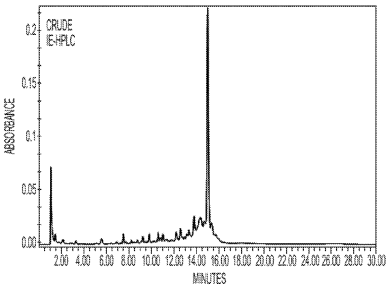


FIG. 12

【図１３】

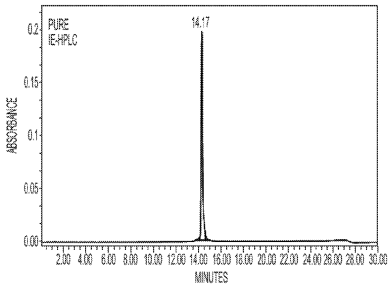
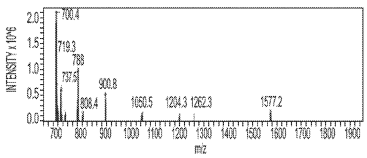


FIG. 13

【図１４】



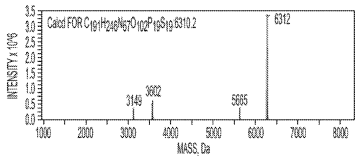


FIG. 14

【図１５】

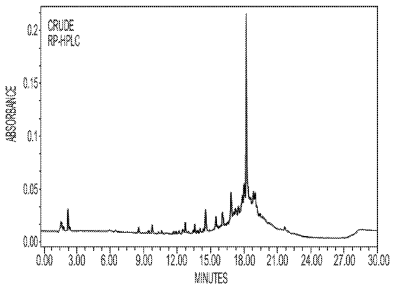


FIG. 15

【図１６】

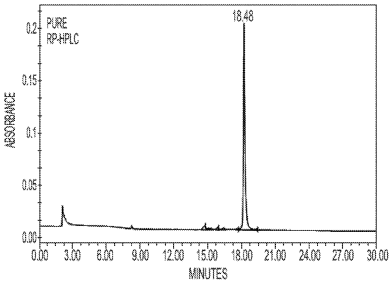


FIG. 16

【図１７】

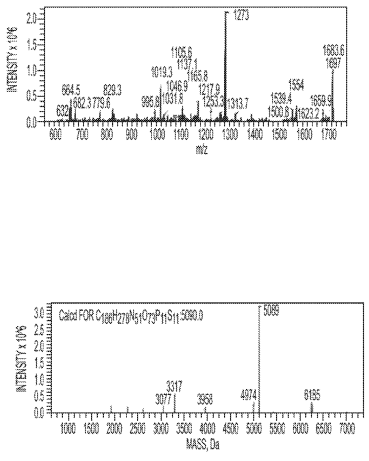


FIG. 17

【図１８】

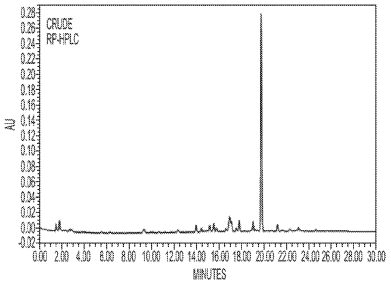


FIG. 18

【図１９】

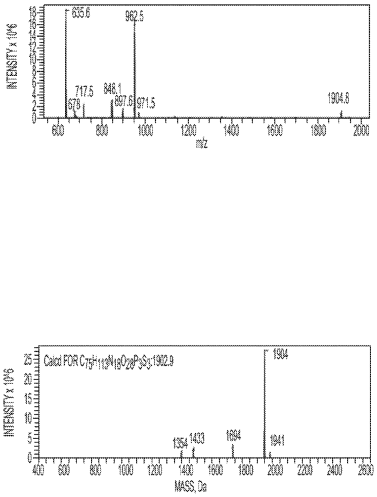


FIG. 19

【図２０】

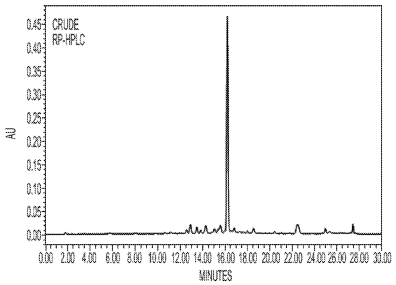


FIG. 20

【図２１】

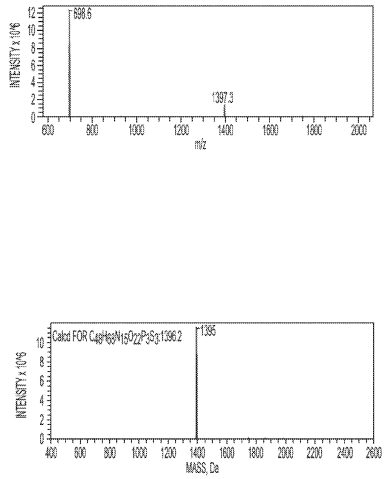


FIG. 21

【図２２】

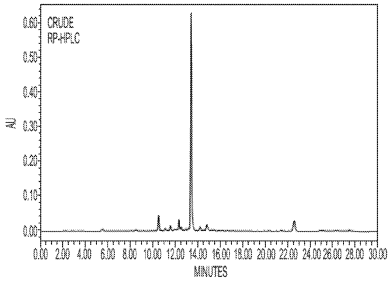


FIG. 22

【図２３】

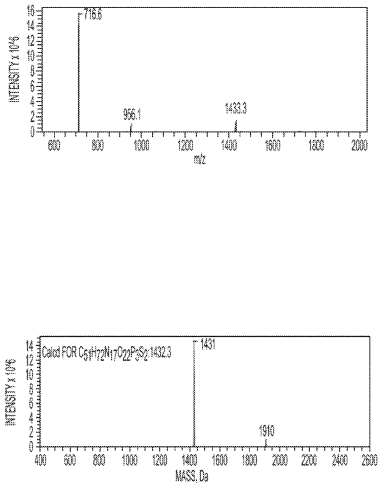


FIG. 23

【図２４】

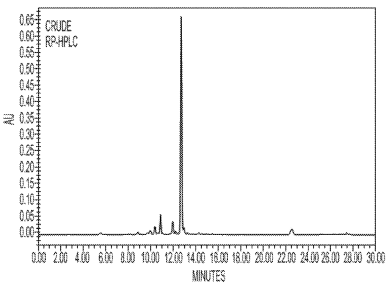


FIG. 24

【図２５】

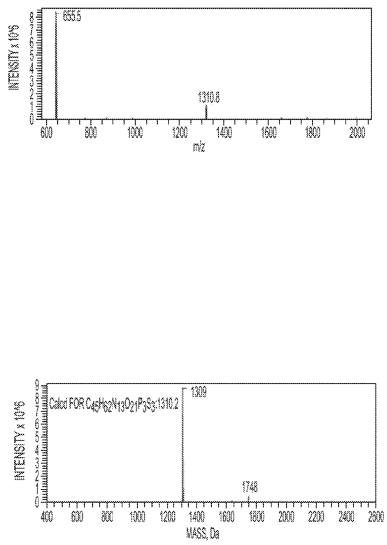


FIG. 25

【図２６】

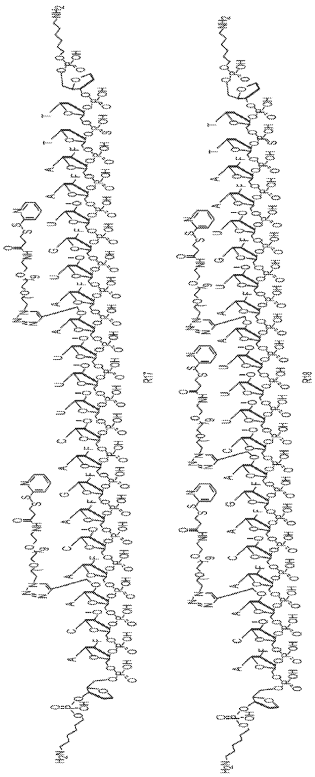


FIG. 26

【図２７】

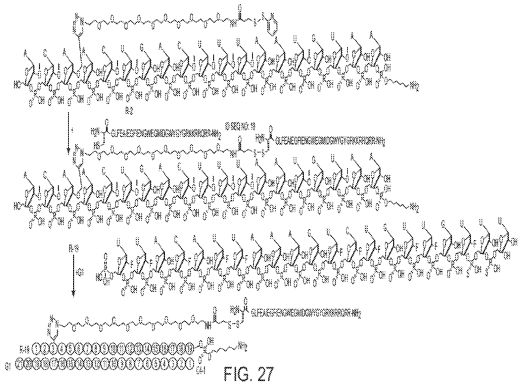


FIG. 27

【図２８】

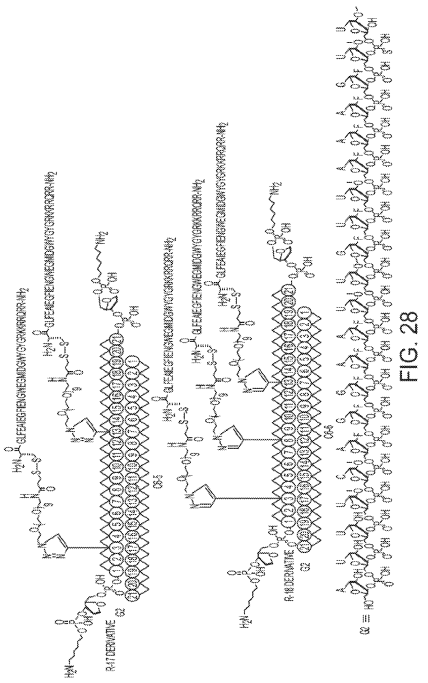


FIG. 28

【図２９】

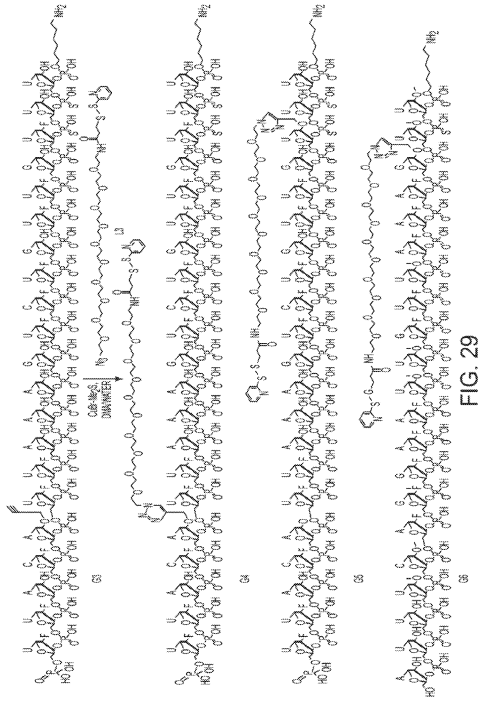


FIG. 29

【図３０】

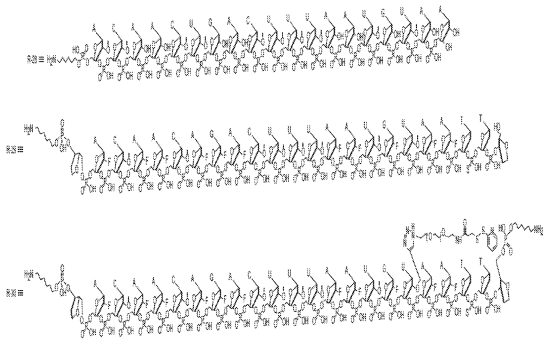


FIG. 30

【図３１】

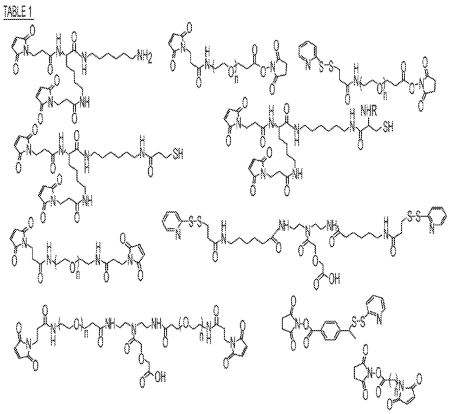


FIG. 31

【図３２】

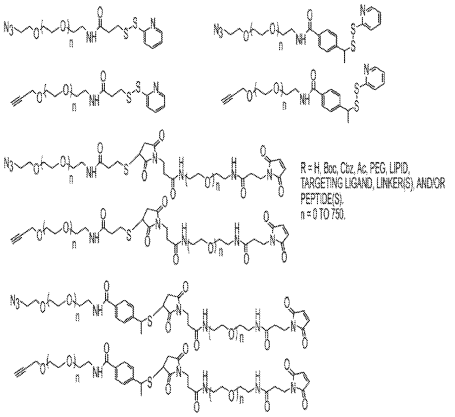


FIG. 32

【図３３】

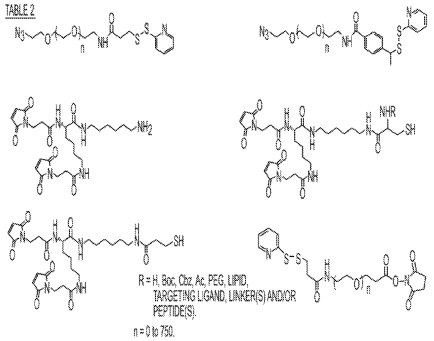


FIG. 33

【図３４】

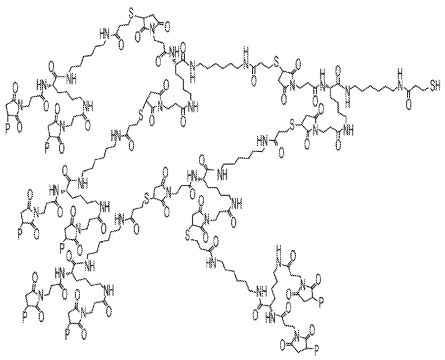
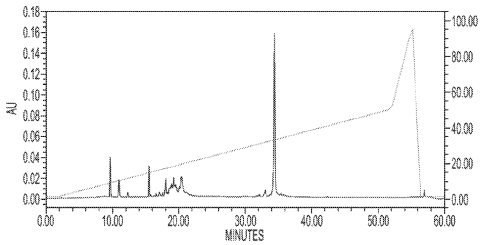
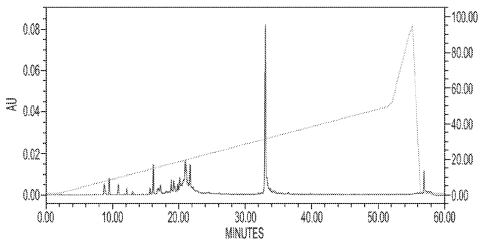


FIG. 34

【図３５】



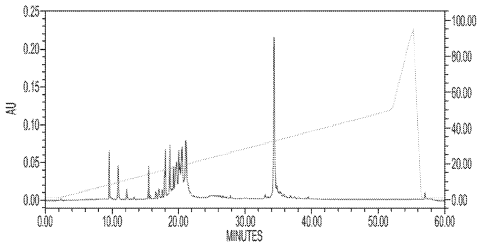
(PANEL A)



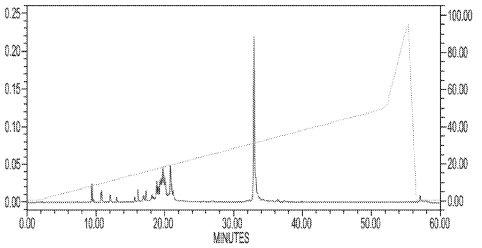
(PANEL B)

FIG. 35

【図３５－２】



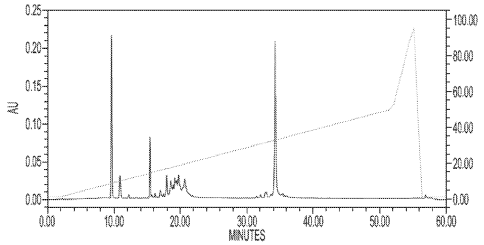
(PANEL C)



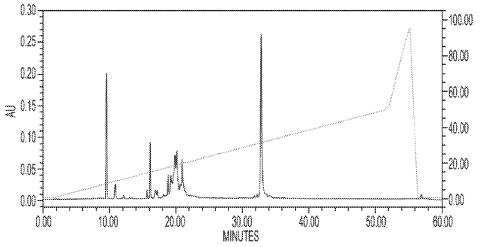
(PANEL D)

FIG. 35 (CONTINUED)

【図３５－３】



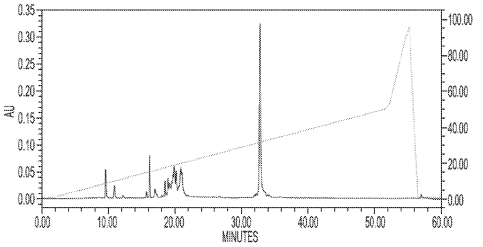
(PANEL E)



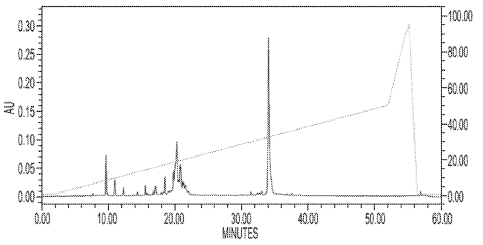
(PANEL F)

FIG. 35 (CONTINUED)

【図３５－４】



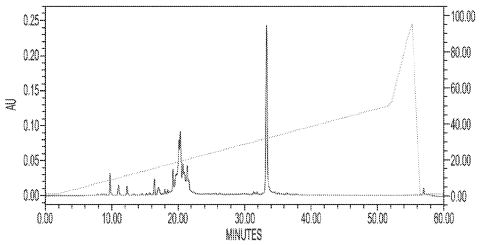
(PANEL G)



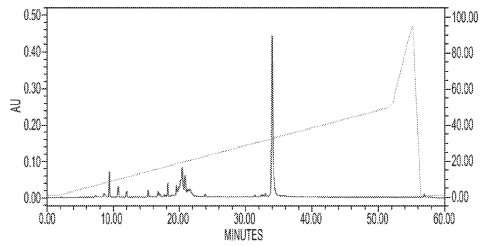
(PANEL H)

FIG. 35 (CONTINUED)

【図３５－５】



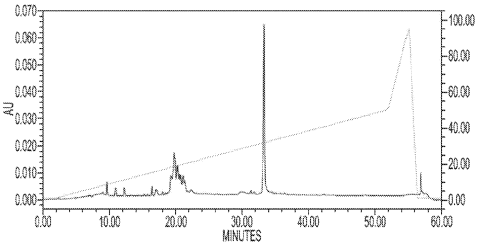
(PANEL I)



(PANEL J)

FIG. 35 (CONTINUED)

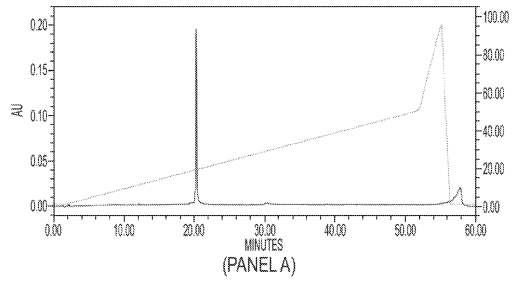
【図３５－６】



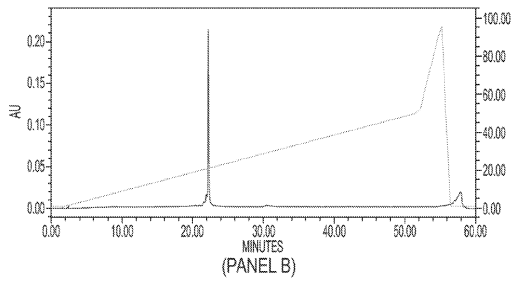
(PANEL K)

FIG. 35 (CONTINUED)

【図３６】



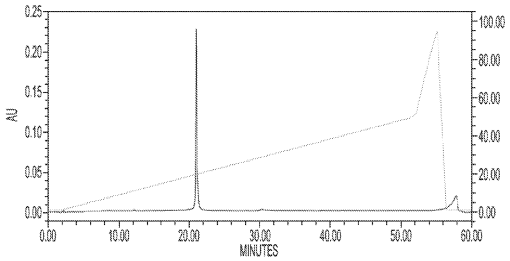
(PANEL A)



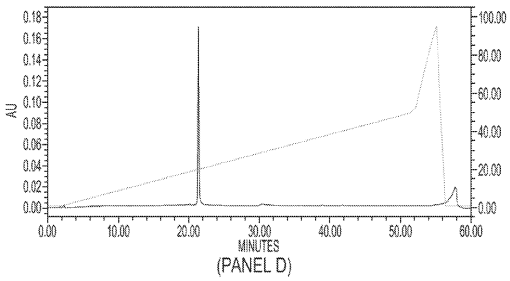
(PANEL B)

FIG. 36

【図３６－２】



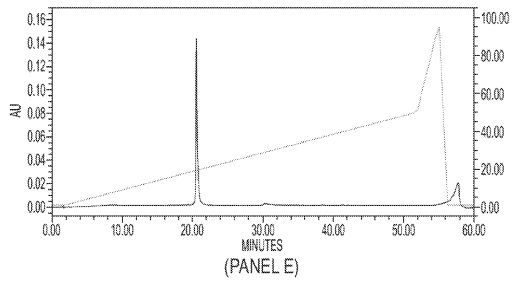
(PANEL C)



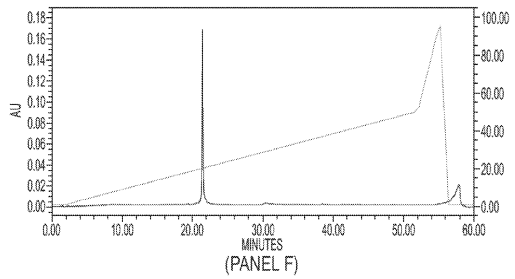
(PANEL D)

FIG. 36 (CONTINUED)

【図３６－３】



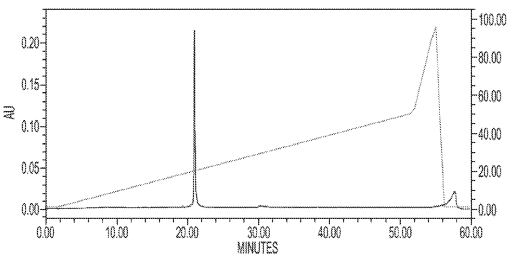
(PANEL E)



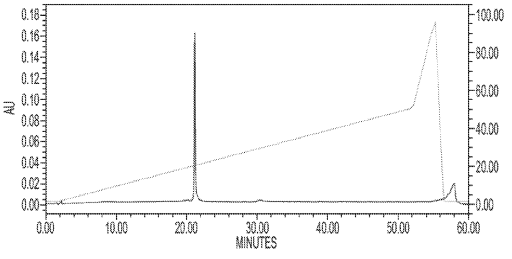
(PANEL F)

FIG. 36 (CONTINUED)

【図３６－４】



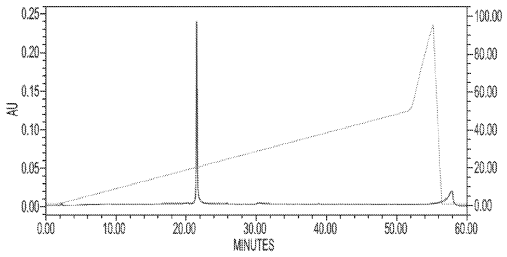
(PANEL G)



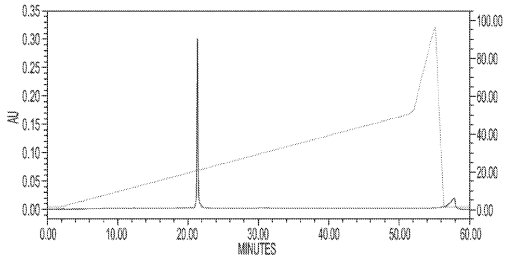
(PANEL H)

FIG. 36 (CONTINUED)

【図３６－５】



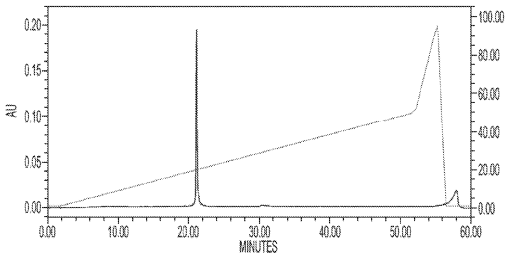
(PANEL I)



(PANEL J)

FIG. 36 (CONTINUED)

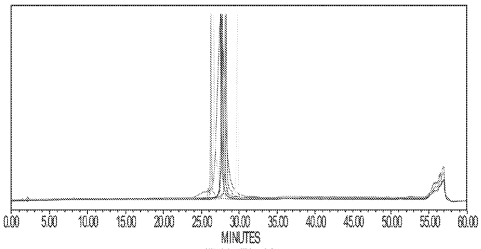
【図３６－６】



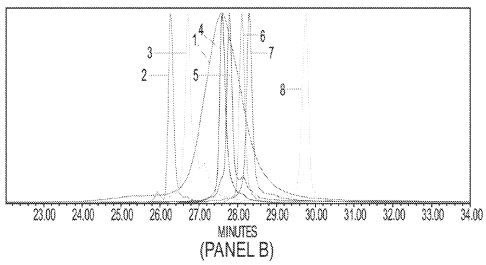
(PANEL K)

FIG. 36 (CONTINUED)

【図３７】



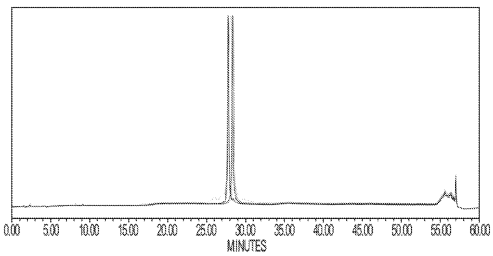
(PANEL A)



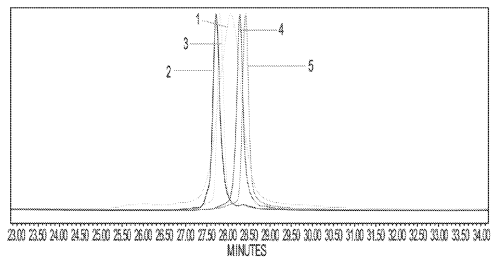
(PANEL B)

FIG. 37

【図３８】



(PANEL A)



(PANEL B)

FIG. 38

【図３９】

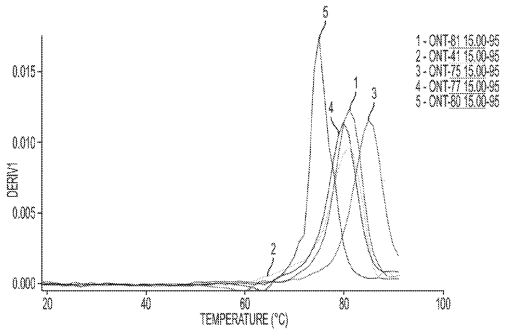


FIG. 39

【図４０】

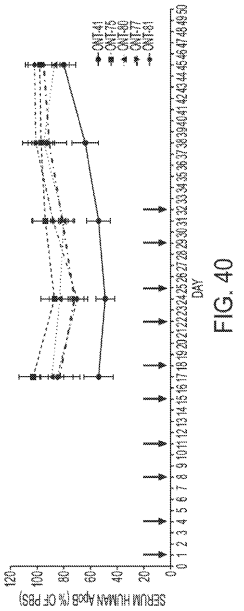


FIG. 40

【図４１】

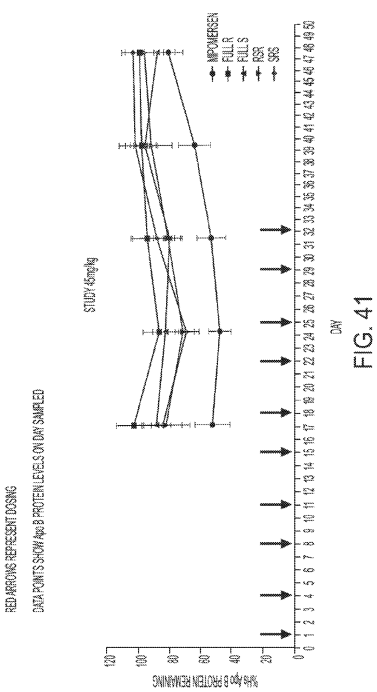


FIG. 41

【図４２】

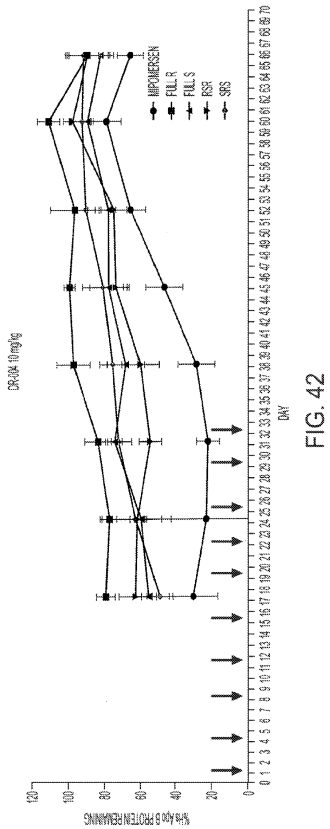


FIG. 42

【図４３】

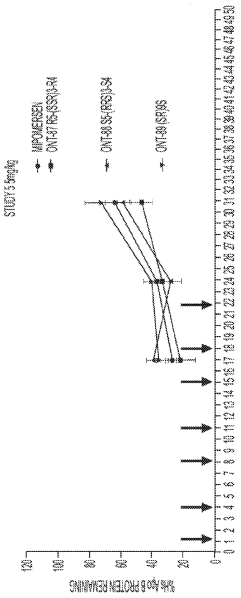


FIG. 43

【図４４】

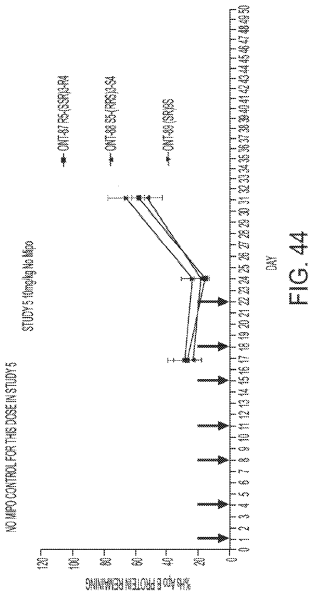


FIG. 44

【図４５】

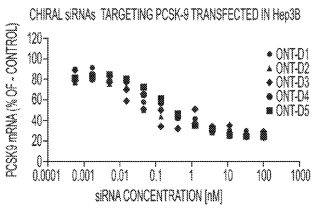


FIG. 45

【図４６】

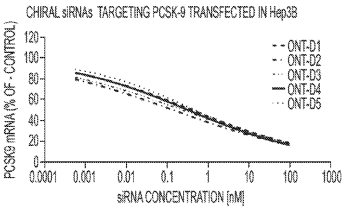


FIG. 46

【図４７】

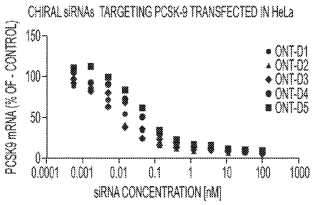


FIG. 47

【図４８】

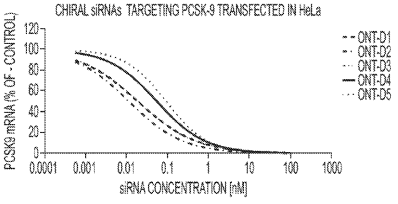


FIG. 48

【図４９】

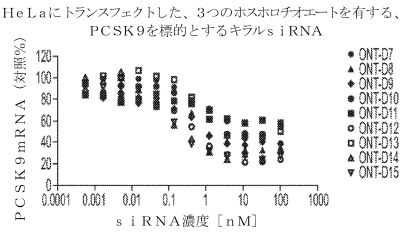


図４９

【図５０】

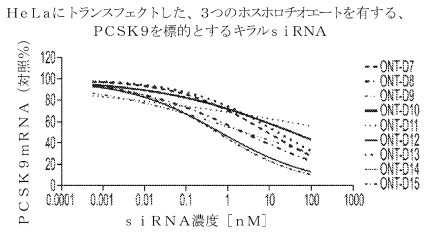


図５０

【図５１】

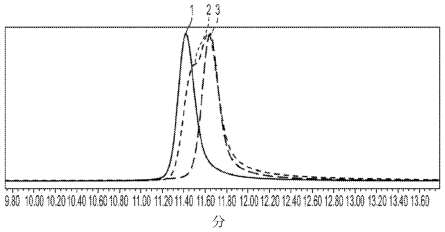


図５１

【図５２】

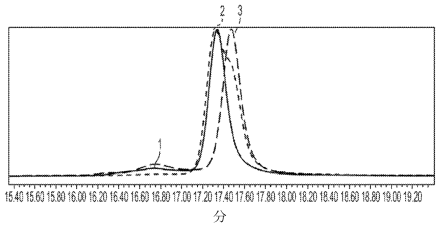


図５２

【図５３】

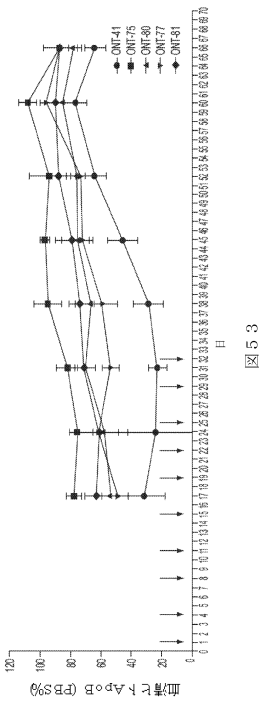


図５３

【図５４】

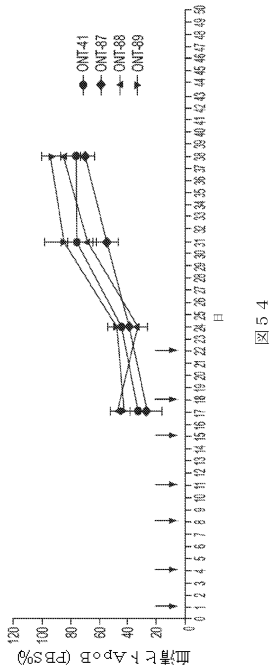


図５４

【図５５】

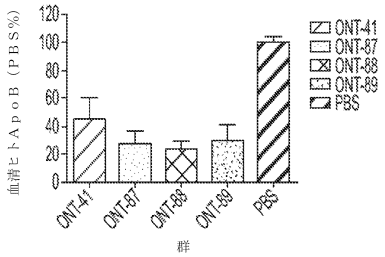


図５５

【図５６】

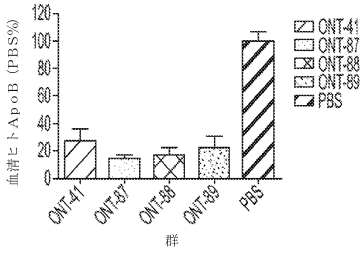


図５６

【図５７】

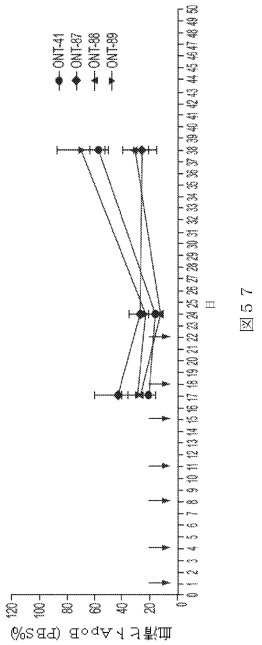


図５７

【図５８】

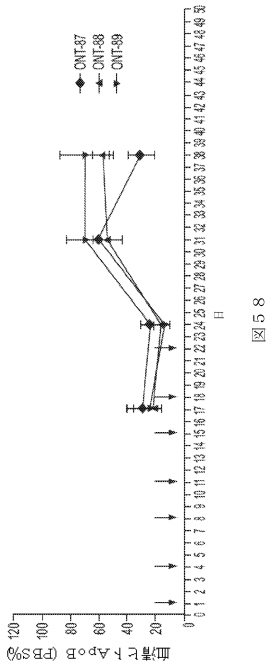


図５８

【図５９】

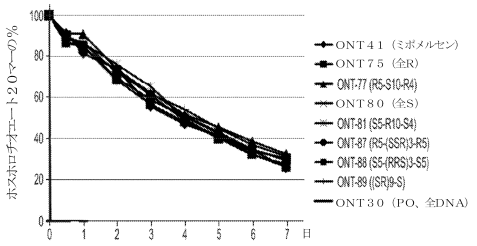


図５９

【図６０】

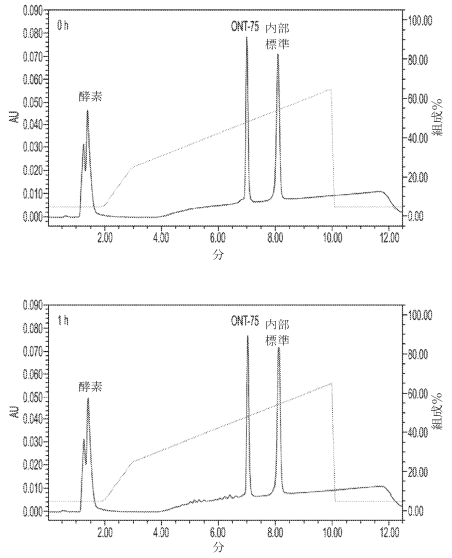
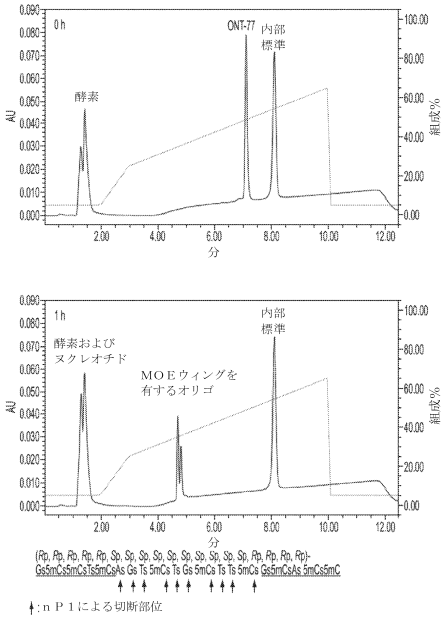


図６０

【図６１】



【図６２】

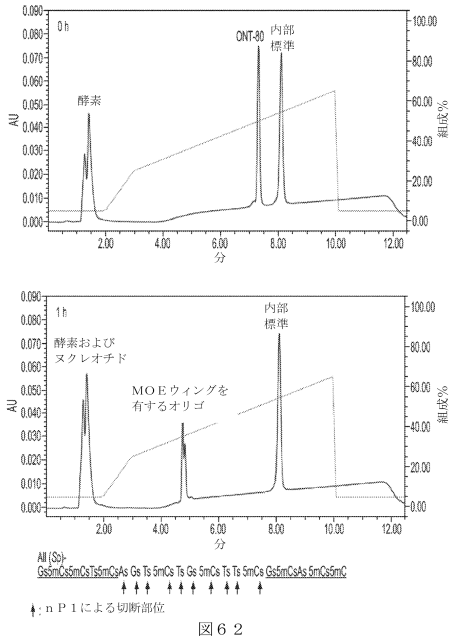


図６２

【図６３】

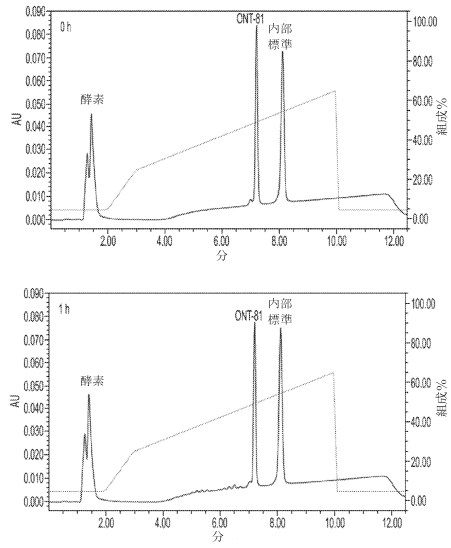


図６３

【図６４】

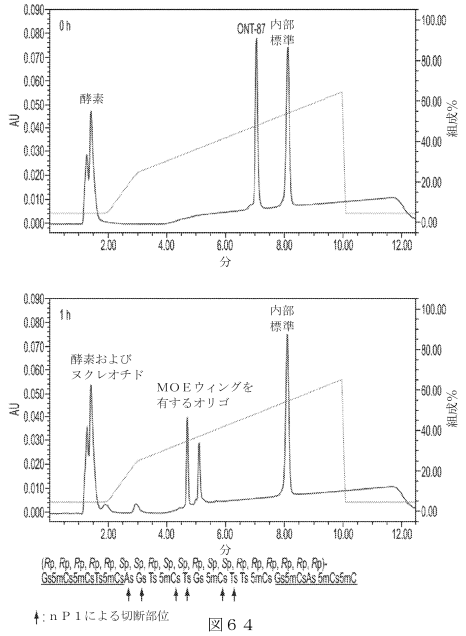


図６４

【図６５】

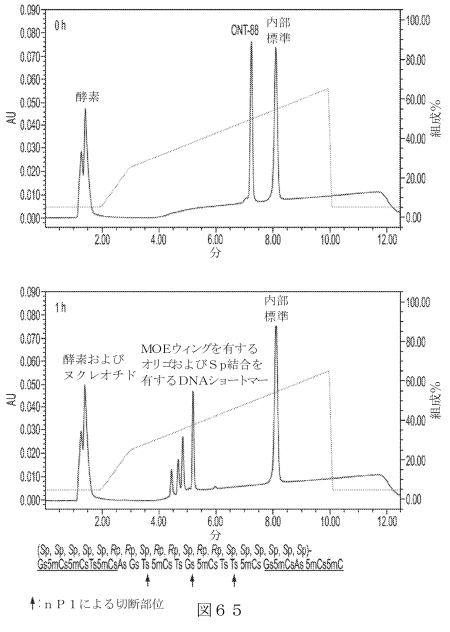


図６５

【図６６】

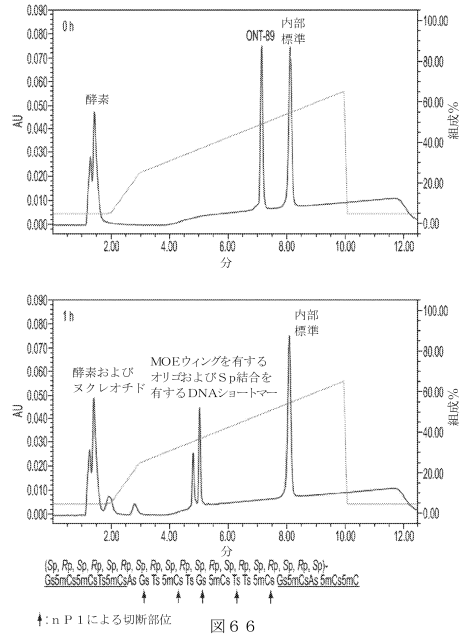


図６６

【図６７】

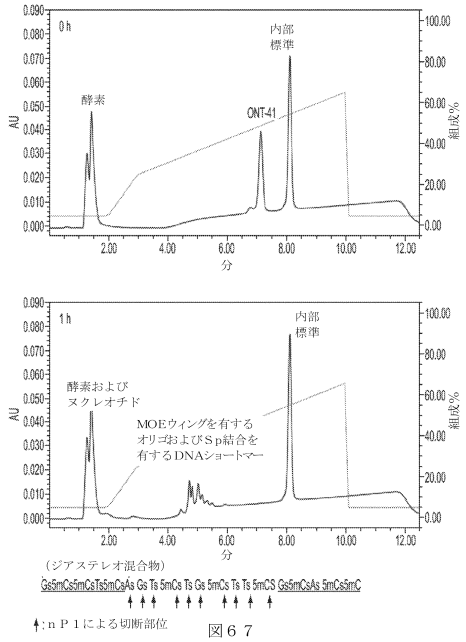


図６７

【図６８】

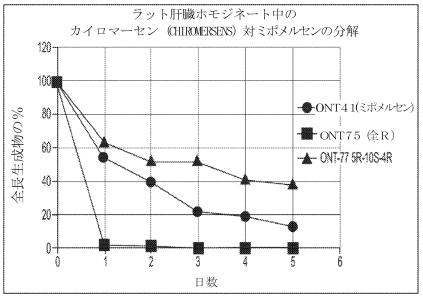


図６８

【図６９】

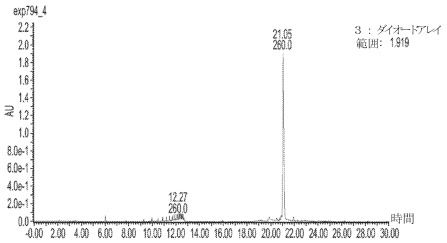


図６９

【図７０】

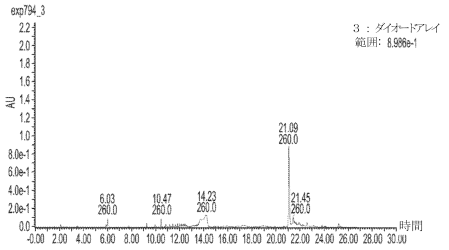


図７０

【図７１】

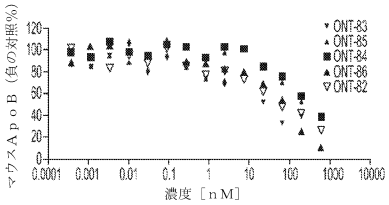


図７１

【図７２】

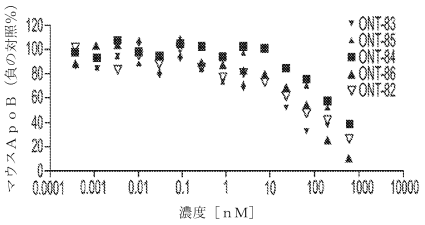


図７２

【配列表】
0006453212000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
Ａ６１Ｋ	***31/7105***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/7088	
Ａ６１Ｋ	***31/711***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/7105	
Ａ６１Ｋ	***31/713***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/711	
Ａ６１Ｐ	***43/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/713	
Ａ６１Ｐ	***35/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５
			Ａ６１Ｐ	35/00	

(31)優先権主張番号 61/671,724
(32)優先日 平成24年7月14日(2012.7.14)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 61/671,722
(32)優先日 平成24年7月14日(2012.7.14)
(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 バトラー，デビッド
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ，ケンブリッジ ７３３ コンコード アベニュー ウェイブ ライフ サイエンシズ リミテッド内
(72)発明者 イワモト，ナオキ
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ，ケンブリッジ ７３３ コンコード アベニュー ウェイブ ライフ サイエンシズ リミテッド内
(72)発明者 ミーナ
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ，ケンブリッジ ７３３ コンコード アベニュー ウェイブ ライフ サイエンシズ リミテッド内
(72)発明者 シビルジカパ，ネナド
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ，ケンブリッジ ７３３ コンコード アベニュー ウェイブ ライフ サイエンシズ リミテッド内
(72)発明者 ヴァーダイン，グレゴリー，エル
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ，ケンブリッジ ７３３ コンコード アベニュー ウェイブ ライフ サイエンシズ リミテッド内
(72)発明者 ズラテフ，イヴァン
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ，ケンブリッジ，２２０ バンクス ストリート

審査官 磯部 洋一郎

(56)参考文献 特表２０１２－５１０４６０（ＪＰ，Ａ）
特表平１０－５０９７４０（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１２／０３９４４８（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ０７Ｈ ２１／００
Ａ６１Ｋ ３１／７０８８
Ａ６１Ｋ ３１／７１０５
Ａ６１Ｋ ３１／７１１
Ａ６１Ｋ ３１／７１３
Ａ６１Ｋ ４８／００
Ａ６１Ｐ ３５／００
Ａ６１Ｐ ４３／００

C07H 1/00
C12N 15/00
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)