

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5731115号  
(P5731115)

(45) 発行日 平成27年6月10日 (2015. 6. 10)

(24) 登録日 平成27年4月17日 (2015. 4. 17)

(51) Int. Cl.		F I	
<b>C 1 2 N</b>	<b>15/09</b>	<b>(2006. 01)</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A
<b>A 6 1 K</b>	<b>31/712</b>	<b>(2006. 01)</b>	A 6 1 K 31/712
<b>A 6 1 P</b>	<b>1/16</b>	<b>(2006. 01)</b>	A 6 1 P 1/16
<b>A 6 1 P</b>	<b>3/00</b>	<b>(2006. 01)</b>	A 6 1 P 3/00
<b>A 6 1 P</b>	<b>3/06</b>	<b>(2006. 01)</b>	A 6 1 P 3/06

請求項の数 14 (全 307 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2009-510130 (P2009-510130)	(73) 特許権者	595104323
(86) (22) 出願日	平成19年5月7日 (2007. 5. 7)		アイシス ファーマシューティカルズ、 インコーポレーテッド
(65) 公表番号	特表2009-536037 (P2009-536037A)		アメリカ合衆国カリフォルニア州9201 0、カールズバッド、ガゼル コート 2 855
(43) 公表日	平成21年10月8日 (2009. 10. 8)	(74) 代理人	100140109
(86) 国際出願番号	PCT/US2007/068401		弁理士 小野 新次郎
(87) 国際公開番号	W02007/146511	(74) 代理人	100075270
(87) 国際公開日	平成19年12月21日 (2007. 12. 21)		弁理士 小林 泰
審査請求日	平成22年3月18日 (2010. 3. 18)	(74) 代理人	100101373
審判番号	不服2013-15593 (P2013-15593/J1)		弁理士 竹内 茂雄
審判請求日	平成25年8月12日 (2013. 8. 12)	(74) 代理人	100118902
(31) 優先権主張番号	60/746, 631		弁理士 山本 修
(32) 優先日	平成18年5月5日 (2006. 5. 5)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/747, 059		
(32) 優先日	平成18年5月11日 (2006. 5. 11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 遺伝子発現を調節するための化合物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

長さ14ヌクレオチドの短鎖アンチセンス化合物を含む、動物における代謝障害を処置するための組成物であって、該短鎖アンチセンス化合物は、両側の末端の各々にウィングが配置された、2'-デオキシリボヌクレオチドギャップ領域からなり、該ウィングの各々は、2の高親和性修飾ヌクレオチドからなり、該高親和性修飾ヌクレオチドが、糖の4'位と2'位との間に架橋を含み、前記架橋が、4'-CH<sub>2</sub>-O-2'または4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'である、糖修飾ヌクレオチドであり、該短鎖アンチセンス化合物は2-10-2モチーフを有し、ここで、1番目の数字は、5'-ウィング内のヌクレオチドの数を表し、2番目の数字は、前記ギャップ内のヌクレオチドの数を表し、そして、3番目の数字は、3'-ウィング内のヌクレオチドの数を表す、そして、該アンチセンス化合物は、グルカゴン受容体(GCGR)をコードする配列番号9または7で定義される核酸に対して100%相補的である、組成物。

【請求項2】

動物における代謝障害を処置するための医薬の製造のための、長さ14ヌクレオチドの短鎖アンチセンス化合物の使用であって、該短鎖アンチセンス化合物は、両側の末端の各々にウィングが配置された、2'-デオキシリボヌクレオチドギャップ領域からなり、該ウィングの各々は、2の高親和性修飾ヌクレオチドからなり、該高親和性修飾ヌクレオチドが、糖の4'位と2'位との間に架橋を含み、前記架橋が、4'-CH<sub>2</sub>-O-2'または4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'である、糖修飾ヌクレオチドであり、該短鎖アンチセン

10

20

ス化合物は 2 - 1 0 - 2 モチーフを有し、ここで、1 番目の数字は、5' - ウィング内のヌクレオチドの数を表し、2 番目の数字は、前記ギャップ内のヌクレオチドの数を表し、そして、3 番目の数字は、3' - ウィング内のヌクレオチドの数を表す、そして、該アンチセンス化合物は、グルカゴン受容体 ( G C G R ) をコードする配列番号 9 または 7 で定義される核酸に対して 1 0 0 % 相補的である、使用。

【請求項 3】

前記糖修飾ヌクレオチドの各々の立体配座が、独立して、 - D または - L である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

少なくとも 1 つのモノマー性結合が、修飾されたモノマー性結合である、請求項 1 に記載の組成物。 10

【請求項 5】

前記修飾されたモノマー性結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記モノマー性結合の各々が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記動物がヒトである、請求項 1 及び 3 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 8】

前記短鎖アンチセンス化合物が、さらにコンジュゲート基を含む、請求項 1 及び 3 ~ 7 のいずれかに記載の組成物。 20

【請求項 9】

前記糖修飾ヌクレオチドの各々の立体配座が、独立して、 - D または - L である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 10】

少なくとも 1 つのモノマー性結合が、修飾されたモノマー性結合である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 11】

前記修飾されたモノマー性結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 10 に記載の使用。 30

【請求項 12】

前記モノマー性結合の各々が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 13】

前記動物がヒトである、請求項 2 及び 9 ~ 12 のいずれかに記載の使用。

【請求項 14】

前記短鎖アンチセンス化合物が、さらにコンジュゲート基を含む、請求項 2 及び 9 ~ 13 のいずれかに記載の使用。

【発明の詳細な説明】 40

【技術分野】

【0001】

(配列表)

本願は、電子化された形式の配列表と共に出願されている。配列表は、2007年5月7日に作成されたCORE0061W07SEQ.txtという名前のファイルとして提供され、このファイルは、700kbのサイズである。配列表の電子化された形式での情報は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【背景技術】

【0002】

(背景)

疾患の原因となる遺伝子配列を標的化することは、40年近く前に初めて示唆されており（非特許文献1）、そして、細胞培養におけるアンチセンスの活性が、その10年後に実証された（非特許文献2）。疾患原因遺伝子から生じる疾患または状態の処置におけるアンチセンス技術の1つの利点は、特定の疾患原因遺伝子の発現を調節する能力を持つ直接的な遺伝学的アプローチであるということである。

#### 【0003】

概して、アンチセンス技術の背後にある原理は、アンチセンス化合物が、標的核酸にハイブリダイズし、そして、遺伝子発現の活性または機能（例えば、転写、翻訳またはスプライシング）の調節をもたらすということである。遺伝子発現の調節は、例えば、標的分解または占有（occupancy）ベースの阻害によって達成され得る。分解によるRNA標的機能の調節の一例は、DNA様アンチセンス化合物とハイブリッド形成した際の標的RNAのRNase Hベースの分解である。標的分解による遺伝子発現の調節の別の例は、RNA干渉（RNAi）である。RNAiは、dsRNAの導入を伴うアンチセンス媒介性の遺伝子サイレンシングの一形態であり、標的化された内因性mRNAの配列特異的な減少をもたらす。配列特異性は、アンチセンス化合物を、標的の確認および遺伝子の機能化のためのツールとして、ならびに、ヌクレアーゼを同定および特徴付けするための研究ツールとして、そして、種々の疾患のうちのいずれか1つの病因に關与する遺伝子の発現を選択的に調節するための治療薬として、非常に魅力的なものにする。

#### 【0004】

アンチセンス技術は、1以上の特定の遺伝子産物の発現を低下させるための有効な手段であり、それゆえに、多数の治療、診断および研究の用途において比類なく有用なものとなり得る。化学的に修飾されたヌクレオチドは、1以上の特性（例えば、ヌクレアーゼ抵抗性、薬物動態、または標的RNAに対する親和性）を高める目的で、アンチセンス化合物内に組み込むために慣用的に使用されている。

#### 【0005】

アンチセンス技術の発見以後、理解が広がっているにもかかわらず、より効率が高く、毒性が低く、そしてコストが低いアンチセンス化合物に対する必要性は、満たされないままである。本開示まで、高親和性修飾は、インビボにおいて標的RNAを減少させるための短鎖アンチセンス化合物（short antisense compound）の設計において使用されてこなかった。これは、生きている系における標的を減少させるために使用される場合に、15ヌクレオチド以下の配列が持つ標的特異性の程度に関する問題に起因する。以前の研究では、より高い特異性、したがってより高い効果を持つ可能性が、長さ16核酸塩基（nucleobase）～20核酸塩基の間のアンチセンス化合物によって達成されたことが記載されている。

【非特許文献1】Belikova et al., Tet. Lett., 1967, 37, 3557-3562

【非特許文献2】Zamecnik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1978, 75, 280-284

#### 【発明の開示】

##### 【課題を解決するための手段】

#### 【0006】

本開示は、アンチセンス化合物に化学的に修飾された高親和性ヌクレオチドを組み込むことで、効果が高まり、そして、治療指数が改善された、動物内の標的RNAの減少において有用な長さ約8～16核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物を与えるということを記載する。したがって、本明細書において、インビボにおいて標的RNAを減少させるために有用な高親和性ヌクレオチド修飾を含む短鎖アンチセンス化合物が提供される。このような短鎖アンチセンス化合物は、以前に記載されたアンチセンス化合物よりも少ない用量で有効であり、処置の毒性およびコストの低下を可能とする。

#### 【0007】

（要旨）

本明細書において、短鎖アンチセンス化合物と、細胞および組織における標的RNA発現を減少させるために上記化合物を使用する方法とが開示される。特定の実施形態では、本明細書において、動物における標的の発現を減少させる方法が提供され、この方法は、この動物にこのような標的の核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、オリゴヌクレオチド化合物である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが約8～16ヌクレオチド、好ましくは9～15ヌクレオチド、より好ましくは9～14ヌクレオチド、より好ましくは10～14ヌクレオチドであり、そして、両側の末端にウィングが配置されたギャップ領域を含み、このウィングの各々は、独立して、1～3のヌクレオチドから構成される。好ましいモチーフとしては、3-10-3、2-10-3、2-10-2、1-10-1、2-8-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1から選択されるウィング-デオキシギャップ-ウィングモチーフが挙げられるがこれらに限定されない。好ましい実施形態では、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの高親和性修飾を含む。さらなる実施形態では、高親和性修飾は、化学的に修飾された高親和性ヌクレオチドを含む。好ましい実施形態では、ウィングの各々は、独立して、1～3の高親和性修飾されたヌクレオチドから構成される。一実施形態では、高親和性修飾されたヌクレオチドは、糖修飾ヌクレオチドである。

#### 【0008】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、より長いアンチセンス化合物と比較して、消化管内でより高い取り込みを示す。したがって、本明細書においてはまた、動物における標的を減少する方法が提供され、この方法は、本発明の短鎖アンチセンス化合物を経口投与する工程を包含する。

#### 【0009】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、ApoB、SGLT2、PCSK9、SOD1、CRP、GCCR、GCGR、DGAT2、PTP1BおよびPTENから選択されるタンパク質をコードする核酸に対して標的化される。

#### 【0010】

さらに、動物における代謝障害を処置する方法が提供され、この方法は、このような処置を必要とする動物に、グルコースの代謝もしくはクリアランス、脂質代謝、コレステロール代謝、または、インシュリンのシグナル伝達の調節に関与する核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含する。

#### 【0011】

また、動物において、インシュリン感受性を増大させるか、血中グルコースを低下させるか、または、HbA<sub>1c</sub>を低下させる方法が提供され、これらの方法は、上記動物に、グルコースの代謝もしくはクリアランス、脂質代謝、コレステロール代謝、または、インシュリンのシグナル伝達の調節に関与する標的をコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含する。

#### 【0012】

さらに、動物において全血清コレステロール、血清LDL、血清VLDL、血清HDL、血清トリグリセリド、血清アポリポタンパク質(a)、または遊離脂肪酸を減少させる方法が提供され、この方法は、上記動物に、グルコースの代謝もしくはクリアランス、脂質代謝、コレステロール代謝、または、インシュリンのシグナル伝達の調節に関与する標的をコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含し、上記短鎖アンチセンス化合物は、長さ8～16ヌクレオチドであり、そして、両側の末端の各々にウィングが配置されたギャップ領域を含み、このウィングの各々は、独立して、1～3の高親和性修飾ヌクレオチドから構成される。

#### 【0013】

グルコースの代謝もしくはクリアランス、脂質代謝、コレステロール代謝、またはインシュリンのシグナル伝達の調節に関与する特定の標的としては、GCGRおよびApoB-100が挙げられるがこれらに限定される。したがって、GCGRおよびApoB-1

10

20

30

40

50

00をコードする核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物、動物における前記標的および/または標的核酸の発現を減少させる方法が提供される。さらに、代謝または心臓血管の疾患または状態の処置のための、GCGRおよびApoB-100をコードする核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物の使用が提供される。

【0014】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物はさらに、共役基 (conjugate group) を含む。共役基としては、 $C_{16}$  およびコレステロール ( $C_{16}$  and cholesterol) が挙げられるがこれらに限定されない。

【0015】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも1つの修飾された核酸塩基、ヌクレオシド間結合または糖部分を含む。特定の実施形態では、このような修飾されたヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。特定の実施形態では、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

10

【0016】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、高親和性修飾は、化学的に修飾された高親和性ヌクレオチドである。特定の実施形態では、化学的に修飾された高親和性ヌクレオチドは、糖修飾ヌクレオチドである。特定の実施形態では、少なくとも1つの糖修飾ヌクレオチドは、糖の4'位と2'位との間に架橋を含む。糖修飾ヌクレオチドの各々は、独立して、  
-Dまたは-Lの糖立体配座をとる。特定の実施形態では、上記高親和性修飾ヌクレオチドの各々は、1ヌクレオチドあたり少なくとも1~4の $T_m$ を与える。特定の実施形態では、上記糖修飾ヌクレオチドの各々は、HまたはOH以外の2'-置換基を含む。このような糖修飾ヌクレオチドとしては、4'から2'へと架橋された二環式糖部分を有するものが挙げられる。特定の実施形態では、2'-置換基の各々は、独立して、アルコキシ、置換アルコキシ、またはハロゲンである。特定の実施形態では、2'-置換基の各々は、 $OCH_2CH_2OCH_3$  (2'-MOE) である。

20

【0017】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、糖の4'位と2'位との間に架橋を含む1以上の糖修飾ヌクレオチドを有し、上記架橋の各々は、独立して、2~4の結合した基を含み、該結合した基は、独立して、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-C(R_1) = C(R_2)-$ 、 $-C(R_1) = N-$ 、 $-C(=NR_1)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_1)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$  および  $-N(R_1)-$  から選択され；

30

ここで

xは0、1または2であり；

nは1、2、3または4であり；

$R_1$  および  $R_2$  の各々は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、置換  $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$  アリール、置換  $C_5 \sim C_{20}$  アリール、複素環式基、置換複素環式基、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $C_5 \sim C_7$  脂環式基、置換  $C_5 \sim C_7$  脂環式基、ハロゲン、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $COOJ_1$ 、アシル ( $C(=O)-H$ )、置換アシル、CN、スルホニル ( $S(=O)_2-J_1$ )、またはスルホキシル ( $S(=O)-J_1$ ) であり；そして

40

$J_1$  および  $J_2$  の各々は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、置換  $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$  アリール、置換  $C_5 \sim C_{20}$  アリール、アシル ( $C(=O)-H$ )、置換アシル、複素環式基、置換複素環式基、 $C_1 \sim C_{12}$  アミノアルキル、置換  $C_1 \sim C_{12}$  アミノアルキル、または保護基である。

【0018】

一局面では、上記架橋の各々が、独立して、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-[C($

50

$R_1$ ) ( $R_2$ ) ]<sub>n</sub> - O -、 - C ( $R_1 R_2$ ) - N ( $R_1$ ) - O - または - C ( $R_1 R_2$ ) - O - N ( $R_1$ ) - である。別の局面では、上記架橋の各々が、独立して、 $4' - (CH_2)_3 - 2'$ 、 $4' - (CH_2)_2 - 2'$ 、 $4' - CH_2 - O - 2'$ 、 $4' - (CH_2)_2 - O - 2'$ 、 $4' - CH_2 - O - N (R_1) - 2'$  および  $4' - CH_2 - N (R_1) - O - 2'$  であり、ここで、 $R_1$  の各々が、独立して、H、保護基、または  $C_1 \sim C_1$  アルキルである。

#### 【0019】

特定の実施形態では、本明細書において、動物における疾患状態に関連する標的および/または標的RNAを減少させるのに有用な短鎖アンチセンス化合物が提供される。特定の実施形態では、動物における標的RNAの発現を減少させるために短鎖アンチセンス化合物を用いる方法が提供される。特定の実施形態では、本明細書において、動物における代謝障害の処置のための医薬の調製における短鎖アンチセンス化合物の使用が提供される。特定の実施形態において、本明細書において、動物において、インシュリン感受性を増大させるか、血中グルコースを低下させるか、または、 $HbA_{1c}$  を低下させるための医薬の調製における短鎖アンチセンス化合物の使用が提供される。また、動物において全血清コレステロール、血清LDL、血清VLDL、血清HDL、血清トリグリセリド、血清アポリタンパク質(a)、または遊離脂肪酸を減少させるための医薬の調製における短鎖アンチセンス化合物の使用が提供される。

#### 【0020】

特定の実施形態では、本明細書中に提供される短鎖アンチセンス化合物は、長さ少なくとも20ヌクレオチドのより長い親アンチセンスオリゴヌクレオチド (parent antisense oligonucleotide) と比較して、標的RNAノックダウンに関して、同等かもしくは増強された効力を示す。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、親アンチセンスオリゴヌクレオチドと比較して、より速い作用 (標的RNAの減少) の開始を示す。特定の実施形態では、効力は腎臓において増強される。特定の実施形態では、標的RNAは、目立って腎臓において発現される。特定の実施形態では、効力は肝臓において増強される。特定の実施形態では、標的RNAは、目立って肝臓において発現される。

本発明はまた、以下の項目も提供する。

#### (項目1)

長さ8~16モノマーの短鎖アンチセンス化合物であって、該短鎖アンチセンス化合物は、両側の末端の各々にウィングが配置された、 $2'$ -デオキシリボヌクレオチドギャップ領域を含み、該ウィングの各々は、独立して、 $1 \sim 3$ の高親和性修飾モノマーを含む、短鎖アンチセンス化合物。

#### (項目2)

上記高親和性修飾モノマーが、糖修飾ヌクレオチドである、項目1に記載の短鎖アンチセンス化合物。

#### (項目3)

上記糖修飾ヌクレオチドのうち少なくとも1つが、該糖の $4'$ 位と $2'$ 位との間に架橋を含む、項目2に記載の短鎖アンチセンス化合物。

#### (項目4)

上記高親和性修飾ヌクレオチドの各々が、1ヌクレオチドあたり $1 \sim 4$ の $T_m$ を与える、項目2に記載の短鎖アンチセンス化合物。

#### (項目5)

上記高親和性ヌクレオチドの各々が、HまたはOH以外の $2'$ 置換基を含む、項目2に記載の短鎖アンチセンス化合物。

#### (項目6)

上記糖修飾ヌクレオチドのうち少なくとも1つが、 $4' - 2'$ 架橋した二環式ヌクレオチドである、項目5に記載の短鎖アンチセンス化合物。

#### (項目7)

10

20

30

40

50

上記 2' 置換基の各々が、独立して、アルコキシ、置換アルコキシまたはハロゲンである、項目 5 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 8)

上記 2' 置換基の各々が、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$  である、項目 7 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 9)

上記糖修飾ヌクレオチドの各々の立体配座が、独立して、- D または - L である、項目 3 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 10)

項目 5 に記載の短鎖アンチセンス化合物であって、上記架橋の各々が、独立して、1 または 2 ~ 4 の結合した基を含み、該結合した基は、独立して、 $-\text{[C(R}_1\text{)(R}_2\text{)]}_n$ 、 $-\text{C(R}_1\text{)=C(R}_2\text{)-}$ 、 $-\text{C(R}_1\text{)=N-}$ 、 $-\text{C(=NR}_1\text{)-}$ 、 $-\text{C(=O)-}$ 、 $-\text{C(=S)-}$ 、 $-\text{O-}$ 、 $-\text{Si(R}_1\text{)}_2$ 、 $-\text{S(=O)}_x$  および  $-\text{N(R}_1\text{)-}$  から選択され；

ここで

x は 0、1 または 2 であり；

n は 1、2、3 または 4 であり；

$\text{R}_1$  および  $\text{R}_2$  の各々は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキル、置換  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルケニル、置換  $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルケニル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルキニル、置換  $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルキニル、 $\text{C}_5 \sim \text{C}_{20}$  アリール、置換  $\text{C}_5 \sim \text{C}_{20}$  アリール、複素環式基、置換複素環式基、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $\text{C}_5 \sim \text{C}_7$  脂環式基、置換  $\text{C}_5 \sim \text{C}_7$  脂環式基、ハロゲン、 $\text{OJ}_1$ 、 $\text{NJ}_1\text{J}_2$ 、 $\text{SJ}_1$ 、 $\text{N}_3$ 、 $\text{COOJ}_1$ 、アシル ( $\text{C(=O)-H}$ )、置換アシル、 $\text{CN}$ 、スルホニル ( $\text{S(=O)}_2\text{-J}_1$ )、またはスルホキシル ( $\text{S(=O)-J}_1$ ) であり；そして

$\text{J}_1$  および  $\text{J}_2$  の各々は、独立して、H、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキル、置換  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルケニル、置換  $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルケニル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルキニル、置換  $\text{C}_2 \sim \text{C}_{12}$  アルキニル、 $\text{C}_5 \sim \text{C}_{20}$  アリール、置換  $\text{C}_5 \sim \text{C}_{20}$  アリール、アシル ( $\text{C(=O)-H}$ )、置換アシル、複素環式基、置換複素環式基、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アミノアルキル、置換  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アミノアルキル、または保護基である、短鎖アンチセンス化合物。

(項目 11)

上記架橋の各々が、独立して、 $4' - \text{CH}_2 - 2'$ 、 $4' - (\text{CH}_2)_2 - 2'$ 、 $4' - \text{CH}_2 - \text{O} - 2'$ 、 $4' - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - 2'$ 、 $4' - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{N(R}_1) - 2'$  および  $4' - \text{CH}_2 - \text{N(R}_1) - \text{O} - 2'$  であり、ここで、 $\text{R}_1$  の各々が、独立して、H、保護基、または  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキルである、項目 10 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 12)

上記高親和性修飾モノマーの各々が、独立して、二環式ヌクレオチドまたは他の 2' - 修飾ヌクレオチドから選択される、項目 1 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 13)

上記 2' - 修飾ヌクレオチドが、ハロゲン、アリル、アミノ、アジド、チオ、 $\text{O-アリル}$ 、 $\text{O-C}_1 \sim \text{C}_{10}$  アルキル、 $-\text{OCF}_3$ 、 $\text{O-(CH}_2\text{)}_2 - \text{O-CH}_3$ 、 $2' - \text{O(CH}_2\text{)}_2\text{SCH}_3$ 、 $\text{O-(CH}_2\text{)}_2 - \text{O-N(R}_m\text{)(R}_n\text{)}$  または  $\text{O-CH}_2 - \text{C(=O)-N(R}_m\text{)(R}_n\text{)}$  から選択され、ここで、 $\text{R}_m$  および  $\text{R}_n$  の各々が、独立して、H、または置換もしくは非置換の  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$  アルキルである、項目 12 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 14)

上記 2' - 修飾ヌクレオチドが、 $2' - \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$  ヌクレオチドである、項目 13 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 15)

10

20

30

40

50

少なくとも1つのモノマー性結合が、修飾されたモノマー性結合である、項目1に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目16)

上記修飾されたモノマー性結合が、ホスホロチオエート結合である、項目15に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目17)

上記モノマー性結合の各々が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、項目1に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目18)

長さ8～15モノマーである、項目1～17のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物

10

(項目19)

長さ9～15モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目20)

長さ10～15モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目21)

長さ9～14モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目22)

長さ10～14モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目23)

長さ9～13モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

20

(項目24)

長さ10～13モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目25)

長さ9～12モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目26)

長さ10～12モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目27)

長さ9～11モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目28)

長さ10～11モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

30

(項目29)

長さ8モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目30)

長さ9モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目31)

長さ10モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目32)

長さ11モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目33)

長さ12モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

40

(項目34)

長さ13モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目35)

長さ14モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目36)

長さ15モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目37)

長さ16モノマーである、項目18に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目38)

50



1 - 1 2 - 1 ; 3 - 1 0 - 3 ; 2 - 1 0 - 3 ; 2 - 1 0 - 2 ; 1 - 1 0 - 1 ; 1 - 1 0 - 2 ; 3 - 8 - 3 ; 2 - 8 - 2 ; 1 - 8 - 1 ; 3 - 6 - 3 ; および 1 - 6 - 1 1 から選択されるモチーフを有する、項目 1 ~ 1 8 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物であって、ここで、1 番目の数字は、上記 5' - ウィング内のモノマーの数を表し、2 番目の数字は、上記ギャップ内のモノマーの数を表し、そして、3 番目の数字は、上記 3' - ウィング内のモノマーの数を表す、短鎖アンチセンス化合物。

(項目 3 9)

上記モチーフが、1 - 1 0 - 1 ; 2 - 1 0 - 2 ; 3 - 1 0 - 3 ; および 1 - 9 - 2 から選択される、項目 3 8 に記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 4 0)

1 - 1 - 1 0 - 2、1 - 1 - 8 - 2、1 - 1 - 6 - 3 および 1 - 2 - 8 - 2 から選択されるモチーフを有する、項目 1 ~ 1 8 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物であって、ここで、1 番目の数字は、第 1 の 5' - ウィング内のモノマーの数を表し、2 番目の数字は、第 2 の 5' - ウィング内のモノマーの数を表し、3 番目の数字は、上記ギャップ内のモノマーの数を表し、そして、4 番目の数字は、上記 3' - ウィング内のモノマーの数を表す、短鎖アンチセンス化合物。

(項目 4 1)

2 - 1 0 - 1 - 1、2 - 8 - 1 - 1、3 - 6 - 1 - 1 および 2 - 8 - 2 - 1 から選択されるモチーフを有する、項目 1 ~ 1 8 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物であって、ここで、1 番目の数字は、上記 5' - ウィング内のモノマーの数を表し、2 番目の数字は、上記ギャップ内のモノマーの数を表し、3 番目の数字は、第 1 の 3' - ウィング内のモノマーの数を表し、そして、4 番目の数字は、第 2 の 3' - ウィング内のモノマーの数を表す、短鎖アンチセンス化合物。

(項目 4 2)

1 - 2 - 1 0 - 1 - 1 ; 1 - 1 - 8 - 1 - 1 ; 2 - 1 - 6 - 1 - 1 ; および 1 - 2 - 8 - 2 - 1 から選択されるモチーフを有する、項目 1 ~ 1 8 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物であって、ここで、1 番目の数字は、第 1 の 5' - ウィング内のモノマーの数を表し、2 番目の数字は、第 2 の 5' - ウィング内のモノマーの数を表し、3 番目の数字は、上記ギャップ内のモノマーの数を表し、4 番目の数字は、第 1 の 3' - ウィング内のモノマーの数を表し、そして、5 番目の数字は、第 2 の 3' - ウィング内のモノマーの数を表す、短鎖アンチセンス化合物。

(項目 4 3)

A p o B、S G L T 2、P C S K 9、S O D 1、C R P、G C C R、G C G R、D G A T 2、P T P 1 B および P T E N から選択される標的タンパク質をコードする核酸に対して標的化される、項目 1 ~ 4 2 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物。

(項目 4 4)

標的核酸を短鎖アンチセンス化合物と接触させることによって、標的の発現を調節する方法。

(項目 4 5)

上記標的核酸が細胞内にある、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 6)

上記標的核酸が動物内にある、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 7)

上記動物がヒトである、項目 4 5 に記載の方法。

(項目 4 8)

上記標的が、A p o B、S G L T 2、P C S K 9、S O D 1、C R P、G C C R、G C G R、D G A T 2、P T P 1 B および P T E N から選択される、項目 4 4 ~ 4 7 のいずれかに記載の方法。

(項目 4 9)

上記短鎖アンチセンス化合物が、項目 1 ~ 3 8 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合

10

20

30

40

50

物である、項目 4 4 ~ 4 8 のいずれかに記載の方法。

(項目 5 0)

動物における上記標的 RNA の発現を低下させるための医薬の調製のための、項目 1 ~ 4 3 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物の使用。

(項目 5 1)

上記医薬が、動物における代謝障害を処置する、項目 5 0 に記載の使用。

(項目 5 2)

上記医薬が、上記動物においてインシュリン感受性を増大させるか、血中グルコースを低下させるか、そして / または、HbA<sub>1c</sub> を低下させる、項目 5 1 に記載の使用。

(項目 5 3)

上記医薬が、動物における総血清コレステロール、血清 LDL、血清 VLDL、血清 HDL、血清トリグリセリド、血清アポリポタンパク質 (a) および / または遊離脂肪酸を減少させる、項目 5 1 に記載の使用。

(項目 5 4)

動物における標的 RNA の発現を阻害する方法であって、項目 1 ~ 4 3 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物を該動物に投与する工程を包含する、方法。

(項目 5 5)

動物における代謝障害を処置する方法であって、該処置を必要とする動物に対して、項目 1 ~ 4 3 のいずれかに記載の短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含する、方法。

【発明を実施するための最良の形態】

【0021】

(詳細な説明)

上述の一般的な説明と以下の詳細な説明とは共に、特許請求される本発明を単に例示および説明するのみであり、本発明を制限するものではないことが理解されるべきである。本明細書において、単数形の使用は、具体的にそうでないと示されない限り、複数形を含む。本明細書中で使用される場合、「または」の使用は、そうでないと示されない限り、「および / または」を意味する。さらに、用語「含んでいる」、ならびに「含む」および「含んだ」のような他の形態の使用は、限定的ではない。また、「要素」または「成分」のような用語は、具体的にそうでないと示されない限り、1つのユニットを含む要素および成分と、1より多いサブユニットを含む要素および成分と、の両方を包含する。

【0022】

本明細書中で使用される節のタイトルは、組織化の目的のためのみのものであり、記載される主題を限定するものとしてみなされるべきでない。本願において引用される全ての文書または文書の一部 (特許、特許出願、論文、書籍および専門書を含むがこれらに限定されない) は、あらゆる目的のために、その全体が本明細書により明白に参考として援用される。米国特許出願第 10 / 712,795 号および同第 10 / 200,710 号は、あらゆる目的のために、その全体が本明細書により明白に参考として援用される。

【0023】

A. 定義

特定の定義が提供されない限り、本明細書中に記載される、分析化学、合成有機化学、ならびに、医薬品化学および薬化学の手順および技術に関連して利用される用語は、当該分野で周知でありかつ一般に使用される用語である。標準的な技術が、化学合成、化学分析、薬の調製、処方および送達、ならびに、被験体の処置のために使用され得る。特定のこのような技術および手順は、例えば、「Carbohydrate Modifications in Antisense Research」(Sangvi および Cook 編、American Chemical Society, Washington D.C., 1994) および「Remington's Pharmaceutical Sciences」(Mack Publishing Co., Easton, Pa., 第 18 版、1990); ならびに、あらゆる目的のために本明細書により参考として援用されるものに見られ得る。可能な場合、本明細書中の開示全体にわたって参照され

10

20

30

40

50

る、全ての特許、出願、出願公開、および他の刊行物、ならびに、GenBankおよび他のデータベースからの配列は、その全体が参考として援用される。

【0024】

そうでないと示されない限り、以下の用語は、以下の意味を有する：

本明細書中で使用される場合、用語「ヌクレオシド」は、核酸塩基および糖を含むグリコシルアミンを意味する。ヌクレオシドとしては、天然に存在するヌクレオシド、無塩基ヌクレオシド、修飾ヌクレオシド、ならびに、擬似塩基および/または糖基を有するヌクレオシドが挙げられるがこれらに限定されない。

【0025】

本明細書中で使用される場合、用語「ヌクレオチド」は、核酸塩基と、糖にリン酸基が共有結合された糖とを含むグリコソミン (glycosamine) を指す。ヌクレオチドは、任意の種々の置換基で修飾され得る。

10

【0026】

本明細書中で使用される場合、用語「核酸塩基」は、ヌクレオシドまたはヌクレオチドの塩基部分を指す。核酸塩基は、別の核酸の塩基に水素結合し得る任意の原子または原子の基を含み得る。

【0027】

本明細書中で使用される場合、用語「複素環式塩基部分」は、複素環を含む核酸塩基を指す。

【0028】

本明細書中で使用される場合、用語「デオキシリボヌクレオチド」は、ヌクレオチドの糖部分の2'位に水素を有するヌクレオチドを意味する。デオキシリボヌクレオチドは任意の種々の置換基で修飾され得る。

20

【0029】

本明細書中で使用される場合、用語「リボヌクレオチド」は、ヌクレオチドの糖部分の2'位にヒドロキシを有するヌクレオチドを意味する。リボヌクレオチドは、任意の種々の置換基で修飾され得る。

【0030】

本明細書中で使用される場合、用語「オリゴマー性化合物」は、2以上の部分構造を含み、核酸分子の一領域に対してハイブリダイズし得るポリマー性構造を指す。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、オリゴヌクレオシドである。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、オリゴヌクレオチドである。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、アンチセンス化合物である。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、短鎖アンチセンス化合物である。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、キメラオリゴヌクレオチドである。

30

【0031】

本明細書中で使用される場合、用語「モノマー」は、オリゴマーの単一のユニットを指す。モノマーとしては、天然に存在するものであれ、修飾されたものであれ、ヌクレオシドおよびヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。

40

【0032】

本明細書中で使用される場合、「オリゴヌクレオシド」は、ヌクレオシド間結合がリン原子を含まないオリゴヌクレオチドを指す。

【0033】

本明細書中で使用される場合、用語「オリゴヌクレオチド」は、複数の結合したヌクレオチドを含むオリゴマー性化合物を指す。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの1以上のヌクレオチドが修飾される。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、リボ核酸 (RNA) およびデオキシリボ核酸 (DNA) を含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、天然に存在する核酸塩基および/または天然に存在しない核酸塩基、糖、

50

ならびに、ヌクレオチド間の共有結合から構成され、そして、さらに、非核酸共役を含み得る。

【0034】

本明細書中で使用される場合、「ヌクレオチド間結合」は、隣接ヌクレオチド間の共有結合を指す。

【0035】

本明細書中で使用される場合、用語「モノマー性結合」は、2つのモノマー間の共有結合を指す。モノマー性結合としては、ヌクレオチド間結合およびヌクレオシド間結合が挙げられるがこれらに限定されない。

【0036】

本明細書中で使用される場合、「天然に存在するヌクレオチド間結合」は、3'から5'のホスホジエステル結合を指す。

【0037】

本明細書中で使用される場合、用語「アンチセンス化合物」は、標的核酸分子に対し少なくとも部分的に相補的なオリゴマー性化合物を指し、この標的核酸分子に、そのアンチセンス化合物がハイブリッド形成する。特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、標的核酸の発現を調節（増加または減少）する。アンチセンス化合物としては、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチドアナログ、オリゴヌクレオチド模倣物およびこれらのキメラ混合物である化合物が挙げられるがこれらに限定されない。論理的に、全てのアンチセンス化合物はオリゴマー性化合物であるが、全てのオリゴマー性化合物がアンチセンス化合物であるわけではない。

【0038】

本明細書中で使用される場合、用語「アンチセンスオリゴヌクレオチド」は、オリゴヌクレオチドであるアンチセンス化合物を指す。

【0039】

本明細書中で使用される場合、用語「親アンチセンスオリゴヌクレオチド (parent antisense oligonucleotide)」は、デオキシギャップ領域を有し、かつ、対応する短鎖アンチセンス化合物（この短鎖アンチセンス化合物の親となる）の配列を含む長さ20ヌクレオチドのオリゴヌクレオチドであって、このデオキシギャップ領域が、両端に第1のウィング領域および第2のウィング領域を配置された10の2'-デオキシリボヌクレオチドを有し、このウィング領域の各々は、5の2'-O-(2-メトキシエチル)リボヌクレオチドを有するもの(5-10-5 MOE ギャップマー)を指す。

【0040】

本明細書中で使用される場合、用語「短鎖アンチセンス化合物」は、長さ約8、9、10、11、12、13、14、15または16モノマーのアンチセンス化合物を指す。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも1つの高親和性修飾を有する。

【0041】

本明細書中で使用される場合、用語「短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド」は、長さ約8、9、10、11、12、13、14、15または16ヌクレオチドのアンチセンスオリゴヌクレオチドを指す。特定の実施形態では、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの高親和性修飾を有する。

【0042】

本明細書中で使用される場合、用語「短鎖ギャップマー (short gapmer)」は、各々が独立して1~3のヌクレオチドである第1のウィング領域および第2のウィング領域と、長さ2~14核酸塩基のギャップ領域とを有する、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドを指す。

【0043】

本明細書中で使用される場合、用語「モチーフ」は、短鎖アンチセンス化合物内の非修

10

20

30

40

50

飾ヌクレオチドおよび修飾ヌクレオチドのパターンを指す。

【0044】

本明細書中で使用される場合、用語「キメラアンチセンスオリゴマー」は、同じアンチセンスオリゴマー性化合物内の少なくとも1つの(at least on)他の糖、核酸塩基またはヌクレオシド間結合におけるものと比べて異なるように修飾された、少なくとも1つの糖、核酸塩基、またはヌクレオシド間結合を有するアンチセンスオリゴマー性化合物を指す。糖、核酸塩基およびヌクレオシド間結合の残りは、独立して、修飾されていても修飾されていなくても、同じであっても異なってもよい。

【0045】

本明細書中で使用される場合、用語「キメラアンチセンスオリゴヌクレオチド」は、同じアンチセンスオリゴヌクレオチド内の少なくとも1つの(at least on)他の糖、核酸塩基またはヌクレオシド間結合におけるものと比べて異なるように修飾された、少なくとも1つの糖、核酸塩基、またはヌクレオシド間結合を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを指す。糖、核酸塩基およびヌクレオシド間結合の残りは、独立して、修飾されていても修飾されていなくても、同じであっても異なってもよい。

10

【0046】

本明細書中で使用される場合、用語「混合型バックボーン(mixed-backbone)アンチセンス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の少なくとも1つのヌクレオシド間結合が、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドの少なくとも1つの他のヌクレオシド間結合と異なっているアンチセンスオリゴヌクレオチドを指す。

20

【0047】

本明細書中で使用される場合、用語「標的」は、その調節が望ましいとされるタンパク質を指す。

【0048】

本明細書中で使用される場合、用語「標的遺伝子」は、標的をコードする遺伝子を指す。

【0049】

本明細書中で使用される場合、用語「標的核酸」および「標的をコードする核酸分子」は、その発現または活性がアンチセンス化合物により調節され得る、任意の核酸分子を指す。標的核酸としては、標的をコードするDNAから転写されたRNA(プレmRNAおよびmRNAまたはその一部分が挙げられるがこれらに限定されない)、そしてまた、このようなRNAから誘導されるcDNAおよびmiRNAが挙げられるがこれらに限定されない。例えば、標的核酸は、その発現が特定の障害または疾患状態と関連している細胞内遺伝子(またはその遺伝子から転写されたmRNA)、または、感染性因子に由来する核酸分子であり得る。

30

【0050】

本明細書中で使用される場合、用語「標的とする」または「~に対して標的化された」は、特定の標的核酸分子、または、標的核酸分子内のヌクレオチドの特定の領域に対する、アンチセンス化合物の会合を指す。

【0051】

本明細書中で使用される場合、用語「5'標的部位」は、特定のアンチセンス化合物の最も5'側のヌクレオチドに対して相補的な標的核酸のヌクレオチドを指す。

40

【0052】

本明細書中で使用される場合、用語「3'標的部位」は、特定のアンチセンス化合物の最も3'側のヌクレオチドに対して相補的な標的核酸のヌクレオチドを指す。

【0053】

本明細書中で使用される場合、用語「標的領域」は、標的核酸分子の一部であって、その部分に対して1以上のアンチセンス化合物が相補的となる部分を指す。

【0054】

本明細書中で使用される場合、用語「標的セグメント」は、標的核酸内の一領域のより

50

小さい部分、または下位区分の部分を指す。

【 0 0 5 5 】

本明細書中で使用される場合、用語「核酸塩基の相補性」は、別の核酸塩基と塩基対形成し得る核酸塩基を指す。例えば、DNAにおいて、アデニン(A)はチミン(T)に対して相補的である。例えば、RNAにおいて、アデニン(A)はウラシル(U)に対して相補的である。特定の実施形態では、相補的な核酸塩基は、その標的核酸の核酸塩基と塩基対形成し得る、アンチセンス化合物の核酸塩基を指す。例えば、アンチセンス化合物の特定の位置における核酸塩基が、標的核酸の特定の位置における核酸塩基と水素結合し得る場合、オリゴヌクレオチドと標的核酸との間の水素結合の位置は、その核酸塩基対において相補的であるとみなされる。

10

【 0 0 5 6 】

本明細書中で使用される場合、用語「非相補性核酸塩基」は、互いに水素結合を形成しないか、または、他の方法でハイブリッド形成を支持する、核酸塩基の対を指す。

【 0 0 5 7 】

本明細書中で使用される場合、用語「相補性」は、核酸塩基の相補性により別のオリゴマー性化合物または核酸とハイブリッド形成するオリゴマー性化合物の能力を指す。特定の実施形態では、アンチセンス化合物およびその標的は、各分子中の十分な数の対応する位置が互いに結合し得る核酸塩基により占有されていて、アンチセンス化合物と標的との間で安定に会合することを可能にする場合に、互いに相補的となる。当業者は、オリゴマー性化合物がその会合に残る能力を排除することなく、ミスマッチを含めることが可能となることを認識する。したがって、本明細書中において、ミスマッチである(すなわち、標的の対応するヌクレオチドに対して相補的な核酸塩基ではない)約20%までのヌクレオチドを含み得るアンチセンス化合物が記載される。好ましくは、アンチセンス化合物は、約15%以下、より好ましくは約10%以下、最も好ましくは5%以下のミスマッチを含むか、または、ミスマッチを含まない。残りのヌクレオチドは、相補的な核酸塩基、または、他の方法でハイブリッド形成を分断しない核酸塩基(例えば、ユニバーサル塩基)である。当業者は、本明細書中に提供される化合物が、標的核酸に対して、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%相補的であることを認識する。

20

30

【 0 0 5 8 】

本明細書中で使用される場合、用語「ミスマッチ」は、相補的なオリゴマー性化合物内の非相補的な核酸塩基を指す。

【 0 0 5 9 】

本明細書中で使用される場合、「ハイブリッド形成(hybridization)」は、相補的なオリゴマー性化合物(例えば、アンチセンス化合物とその標的核酸)の対形成を意味する。特定の機構に制限されないが、対形成の最も一般的な機構は、相補的なヌクレオチドまたはヌクレオチド塩基(核酸塩基)間の水素結合(Watson-Crick、Hoogsteenまたは逆Hoogsteen水素結合であり得る)を伴う。例えば、天然の塩基アデニンは、天然の核酸塩基チミジンおよびウラシルに対して相補的な核酸塩基であり、水素結合の形成により対形成する。天然の塩基グアニンは、天然の塩基シトシンおよび5-メチルシトシンに対して相補的な核酸塩基である。ハイブリッド形成は、種々の状況下で起こり得る。

40

【 0 0 6 0 】

本明細書中で使用される場合、用語「特異的にハイブリッド形成する」は、別の核酸部位にハイブリッド形成するよりも高い親和性で、ある核酸部位に対してハイブリッド形成するオリゴマー性化合物の能力を指す。特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、1より多くの標的部位に対して特異的にハイブリッド形成する。

【 0 0 6 1 】

本明細書中で使用される場合、「設計する」または「設計された」とは、選択された核

50

酸分子と特異的にハイブリッド形成するオリゴマー性化合物を設計するプロセスを指す。

【0062】

本明細書中で使用される場合、用語「調節 (modulation)」は、調節前の機能または活性のレベルと比較した場合の、機能または活性の摂動 (perturbation) を指す。例えば、調節は、遺伝子発現の増加 (刺激または誘導) または低下 (阻害または減少) のいずれかの変化を含む。さらなる例として、発現の調節は、プレmRNAのプロセッシングにおけるスプライシング部位の選択を混乱させることを含み得る。

【0063】

本明細書中で使用される場合、用語「発現」は、遺伝子がコードする情報が細胞中に存在し、そして作動している構造に変換される、あらゆる機能および段階を指す。このような構造としては、転写および翻訳の生成物が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0064】

本明細書中で使用される場合、「改変体」は、DNAの同じゲノム領域から生成され得る、選択的なRNA転写体を指す。改変体としては、同じゲノムDNAから生成された転写体 (その開始位置または終止位置のいずれかにおいて同じゲノムDNAから生成された他の転写物とは異なる) であり、そして、イントロン配列およびエキソン配列の両方を含む、「プレmRNA改変体」が挙げられるがこれらに限定されない。改変体としてはまた、選択的スプライシング接合部、または選択的な開始コドンおよび終止コドンを持つものが挙げられるがこれらに限定されない。

【0065】

本明細書中で使用される場合、「高親和性修飾モノマー」は、修飾により、高親和性修飾モノマーを含むアンチセンス化合物のその標的核酸に対する親和性が增大されるように、天然に存在するモノマーと比較して少なくとも1つの修飾された核酸塩基、ヌクレオシド間結合または糖部分を有するモノマーを指す。高親和性修飾としては、2'-修飾された糖を含むモノマー (例えば、ヌクレオシドおよびヌクレオチド) が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0066】

本明細書中で使用される場合、用語「2'-修飾」または「2'-置換」は、2'位置にHまたはOH以外の置換基を含む糖を意味する。2'-修飾モノマーとしては、2'置換基 (例えば、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)またはO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択され、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々が、独立して、H、または置換もしくは非置換のC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである)を持つBNAおよびモノマー (例えば、ヌクレオシドおよびヌクレオチド) が挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、式2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>H (ここで、nは1~6である) を有さない2'修飾モノマーを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物、式2'-OCH<sub>3</sub>を有さない2'修飾モノマーを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、式または代替として、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>を有さない2'修飾モノマーを含む。

30

40

【0067】

本明細書中で使用される場合、用語「二環式核酸」または「BNA」または「二環式ヌクレオシド」または「二環式ヌクレオチド」は、ヌクレオシドのフラノース部分が、フラノース環上の2個の炭素原子をつなぐ架橋を含み、それにより、二環式環系を形成するヌクレオシドまたはヌクレオチドを指す。

【0068】

本明細書中で使用される場合、そうでないと示されない限り、用語「メチレンオキシBNA」は単独で、-D-メチレンオキシBNAを指す。

【0069】

本明細書中で使用される場合、用語「MOE」は、2'-メトキシエチル置換基を指す

50

## 【0070】

本明細書中で使用される場合、用語「ギャップマー」は、中央領域（「ギャップ」）と、中央領域のいずれかの側にある領域（「ウィング」）とを含むキメラオリゴマー性化合物を指し、ここで、ギャップは、各ウィングの修飾とは異なる少なくとも1つの修飾を含む。このような修飾としては、核酸塩基、モノマー性結合、および糖修飾、ならびに、修飾なし（非修飾）が挙げられる。したがって、特定の実施形態では、ウィングの各々におけるヌクレオチド結合は、ギャップにおけるヌクレオチド結合と異なる。特定の実施形態では、ウィングの各々は、高親和性修飾されたヌクレオチドを含み、そして、ギャップは、その修飾を含まないヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、ギャップ内のヌクレオチドおよびウィング内のヌクレオチドは全て、高親和性修飾を含むが、ギャップ内の高親和性修飾は、ウィング内の高親和性修飾とは異なる。特定の実施形態では、ウィング内の修飾は互いに同じである。特定の実施形態では、ウィング内の修飾は互いに異なる。特定の実施形態では、ギャップ内のヌクレオチドは修飾されず、そして、ウィング内のヌクレオチドは修飾される。特定の実施形態では、各ウィング内の修飾は同じである。特定の実施形態では、一方のウィングにおける修飾は、もう一方のウィングにおける修飾とは異なる。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、ギャップ内に2'-デオキシヌクレオチドを有し、そして、ウィング内に高親和性修飾されたヌクレオチドを有するギャップマーである。

10

## 【0071】

本明細書中で使用される場合、用語「プロドラッグ」は、内因性の酵素または他の化学物質および/もしくは状態の作用により、身体またはその細胞内で活性な形態（すなわち、薬物）へと変換される、不活性な形態で調製された治療剤を指す。

20

## 【0072】

本明細書中で使用される場合、用語「薬学的に受容可能な塩」は、活性な化合物の所望の生物学的活性を保持し、その活性な化合物に対して所望されない毒性学上の影響を与えない、活性な化合物の塩を指す。

## 【0073】

本明細書中で使用される場合、用語「キャップ構造」または「末端キャップ部分」は、アンチセンス化合物のいずれかの末端に組み込まれた化学的修飾を指す。

30

## 【0074】

本明細書中で使用される場合、用語「予防」は、状態または疾患の発病または発症を、数時間から数日、好ましくは、数週間から数ヶ月の期間にわたり遅延または未然に防ぐことを指す。

## 【0075】

本明細書中で使用される場合、用語「改善」は、状態または疾患の重篤度の少なくとも1つの指標を軽減することを指す。指標の重篤度は、当業者に公知の主観的尺度または客観的尺度によって決定され得る。

## 【0076】

本明細書中で使用される場合、用語「処置」は、本発明の組成物を投与して、疾患または状態の変更または改善を達成することを指す。予防、改善および/または処置は、疾患もしくは状態の経過を変更するために、一定間隔で、または、その疾患もしくは状態の発病前に、複数用量の投与を必要とし得る。さらに、単一の薬剤が、状態または疾患の予防、改善および処置の各々のために、連続して、または、同時に、単一の個体において使用され得る。

40

## 【0077】

本明細書中で使用される場合、用語「薬学的因子（pharmaceutical agent）」は、被験体に投与したときに治療上の利益を提供する物質を指す。

## 【0078】

本明細書中で使用される場合、用語「治療上有効な量」は、薬学的因子の、動物に治療

50



上の利益を提供する量を指す。

【0079】

本明細書中で使用される場合、「投与すること」は、動物に薬学的因子を提供することを意味し、医療の専門家による投与および自分での投与が挙げられるがこれらに限定されない。

【0080】

本明細書中で使用される場合、用語「同時投与」は、2以上の薬学的因子を動物に投与することを指す。2以上の薬学的因子は、単一の薬学的組成物中であっても、別々の薬学的組成物中であってもよい。2以上の薬学的因子の各々は、同じ投与経路または異なる投与経路により投与され得る。同時投与は、平行した投与または連続的な投与を包含する。

10

【0081】

本明細書中で使用される場合、用語「薬学的組成物」は、個体への投与に適した物質の混合物を指す。例えば、薬学的組成物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドおよび滅菌水溶液を含有し得る。

【0082】

本明細書中で使用される場合、用語「個体」は、処置または治療のために選択されたヒトまたは非ヒト動物を指す。

【0083】

本明細書中で使用される場合、用語「動物」は、ヒトまたは非ヒト動物を指し、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタおよび非ヒト霊長類（サルおよびチンパンジーを含むがこれらに限定されない）が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0084】

本明細書中で使用される場合、用語「被験体」は、薬学的組成物が投与される動物を指し、ヒトを含むがこれらに限定されない。

【0085】

本明細書中で使用される場合、用語「持続期間」は、活性または事象が継続する期間を指す。特定の実施形態では、処置の持続期間は、薬学的因子の用量が投与される期間である。

【0086】

本明細書中で使用される場合、用語「非経口投与」は、注射または注入による投与を指す。非経口投与としては、皮下投与、静脈内投与または筋肉内投与が挙げられるがこれらに限定されない。

30

【0087】

本明細書中で使用される場合、用語「皮下投与」は、皮膚の直ぐ下への投与を指す。「静脈内投与」は、静脈内への投与を意味する。

【0088】

本明細書中で使用される場合、用語「用量」は、単回の投与において提供される薬学的因子の特定の量を指す。特定の実施形態では、用量は、2以上のボラス、錠剤または注射で投与され得る。例えば、皮下投与が望ましい特定の実施形態では、所望される用量は、単回の注射により容易には供給されない容量を必要とする。このような実施形態では、所望される用量を達成するために2回以上の注射が使用され得る。特定の実施形態では、用量は、個体内での注射部位の反応を最小限にするために、2回以上の注射で投与され得る。

40

【0089】

本明細書中で使用される場合、用語「投薬単位」は、薬学的因子が提供される形態を指す。特定の実施形態では、投薬単位は、凍結乾燥したアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むバイアルである。特定の実施形態では、投薬単位は、再構成されたアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むバイアルである。

【0090】

本明細書中で使用される場合、用語「薬学的因子」は、個体に投与されたときに治療上

50

の利益を提供する物質を指す。例えば、特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは薬学的因子である。

【0091】

本明細書中で使用される場合、用語「活性な薬学的成分」は、所望の作用を提供する薬学的組成物中の物質を指す。

【0092】

本明細書中で使用される場合、用語「治療上有効な量」は、薬学的因子の、個体に治療上の利益を提供する量を指す。特定の実施形態では、アンチセンス化合物の治療上有効な量は、観察可能な利益をもたらすために投与されることを必要とする量である。

【0093】

本明細書中で使用される場合、用語「高コレステロール血症」は、血清コレステロールの上昇により特徴付けられる状態を指す。

【0094】

本明細書中で使用される場合、用語「高脂血症」は、血清脂質の上昇により特徴付けられる状態を指す。

【0095】

本明細書中で使用される場合、用語「高トリグリセリド血症」は、トリグリセリドレベルの上昇により特徴付けられる状態を指す。

【0096】

本明細書中で使用される場合、用語「非家族性高コレステロール血症」は、単一の遺伝子変異の遺伝の結果ではない、コレステロールの上昇により特徴付けられる状態を指す。

【0097】

本明細書中で使用される場合、用語「多遺伝子性高コレステロール血症」は、種々の遺伝的要因の影響から生じるコレステロールの上昇により特徴付けられる状態を指す。特定の実施形態では、多遺伝子性高コレステロール血症は、脂質の食事による摂取によって悪化され得る。

【0098】

本明細書中で使用される場合、用語「家族性高コレステロール血症(FH)」は、LDL-レセプター(LDL-R)遺伝子における変異、LDL-Cの顕著な増加、およびアテローム製動脈硬化症の早まった発病によって特徴付けられる、常染色体優性の代謝障害を指す。家族性高コレステロール血症の診断は、個体が以下の基準のうち1以上を満たす場合になされる：遺伝子検査が2つの変異LDL-レセプター遺伝子を確認する；遺伝子検査が、1つの変異LDL-レセプター遺伝子を確認する；500mg/dLを上回る未処理血清LDL-コレステロールの記録歴；10歳より前の腱および/もしくは皮膚の黄色腫；または、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症と両立する脂質低下治療の前に、両親が血清LDL-コレステロールの上昇を記録されている。

【0099】

本明細書中で使用される場合、用語「ホモ接合性家族性高コレステロール血症」または「HoFH」は、母性および父性の両方のLDL-R遺伝子における変異によって特徴付けられる状態を指す。

【0100】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症」または「HeFH」は、母性または父性のいずれかのLDL-R遺伝子における変異によって特徴付けられる状態を指す。

【0101】

本明細書中で使用される場合、用語「混合型脂質異常症」は、血清コレステロールの上昇および血清トリグリセリドの上昇によって特徴付けられる状態を指す。

【0102】

本明細書中で使用される場合、用語「糖尿病性脂質異常症」または「脂質異常症を伴うII型糖尿病」は、II型糖尿病、HDL-Cの減少、血清トリグリセリドの上昇、およ

10

20

30

40

50

び低密度LDL粒子(small dense LDL particle)の増大によって特徴付けられる状態を指す。

【0103】

本明細書中で使用される場合、用語「CHDのリスク等価物(risk equivalent)」は、冠動脈心疾患の高いリスクを与える、臨床上的アテローム性動脈硬化疾患の指標を指す。例えば、特定の実施形態では、CHDのリスク等価物としては、臨床上的冠動脈心疾患、症候性頸動脈疾患、末梢動脈疾患、および/または、腹部大動脈瘤が挙げられるがこれらに限定されない。

【0104】

本明細書中で使用される場合、用語「非アルコール性脂肪肝病(NAFLD)」は、過度のアルコールの使用（例えば、20g/日を超えるアルコール消費）に起因しない、肝臓の脂肪性炎症により特徴付けられる状態を指す。特定の実施形態では、NAFLDは、インシュリン抵抗性およびメタボリック症候群に関連する。

10

【0105】

本明細書中で使用される場合、用語「非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)」は、過度のアルコールの使用に起因しない、肝臓における脂肪および線維性組織の炎症および蓄積によって特徴付けられる状態を指す。NASHは、NAFLDの最終形態である。

【0106】

本明細書中で使用される場合、用語「主要危険因子」は、特定の疾患または状態に対する高いリスクに寄与する因子を指す。特定の実施形態では、冠動脈心疾患に対する主要危険因子としては、喫煙、高血圧、低HDL-C、冠動脈心疾患の家族歴および年齢が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0107】

本明細書中で使用される場合、用語「CHD危険因子」は、CHDのリスク等価物および主要危険因子を指す。

【0108】

本明細書中で使用される場合、用語「冠動脈心疾患(CHD)」は、心臓に血液および酸素を供給する細い血管の狭窄を指し、これは、しばしば、アテローム性動脈硬化症の結果である。

【0109】

本明細書中で使用される場合、用語「冠動脈心疾患リスクの低下」は、個体が冠動脈心疾患を発症する可能性の低下を指す。特定の実施形態では、冠動脈心疾患リスクの低下は、1以上のCHD危険因子における改善（例えば、LDL-Cレベルの低下）により判定される。

30

【0110】

本明細書中で使用される場合、用語「アテローム性動脈硬化症」は、大きなサイズおよび中程度のサイズの動脈に影響を与える、動脈の硬化を指し、そして、脂肪の沈着の存在によって特徴付けられる。脂肪の沈着は、「アテローム」または「プラーク」と呼ばれ、主に、コレステロール、ならびに他の脂肪、カルシウムおよび瘢痕組織から構成され、動脈の内層に損傷を与える。

40

【0111】

本明細書中で使用される場合、用語「冠動脈心疾患の病歴」は、個体または個体の家族メンバーの病歴における、臨床的に明間冠動脈心疾患の存在を指す。

【0112】

本明細書中で使用される場合、用語「冠動脈心疾患の早期発病」は、50歳より前の冠動脈心疾患の診断を指す。

【0113】

本明細書中で使用される場合、用語「スタチン不耐性の個体」は、スタチン療法の結果として、クレアチンキナーゼの増加、肝機能検査の異常、筋肉痛、または、中枢神経系の副作用のうち1つ以上を経験する個体を指す。

50

## 【0114】

本明細書中で使用される場合、用語「効能 ( e f f i c a c y ) 」は、所望の作用を生み出す能力を指す。例えば、脂質低下治療の効能は、LDL - C、VLDL - C、IDL - C、非HDL - C、ApoB、リポタンパク質 ( a ) またはトリグリセリドのうち1以上の濃度における減少であり得る。

## 【0115】

本明細書中で使用される場合、用語「受容可能な安全性プロファイル」は、臨床上受容可能な限界である、副作用のパターンを指す。

## 【0116】

本明細書中で使用される場合、用語「副作用」は、所望の作用以外の、処置に起因すると考えられる生理学的応答を指す。特定の実施形態では、副作用としては、注射部位の反応、肝機能検査の異常、腎機能の異常、肝毒性、腎毒性、中枢神経系の異常、およびミオパシーが挙げられるがこれらに限定されない。例えば、血清中のアミノトランスフェラーゼレベルの上昇は、肝毒性または肝機能の異常を示し得る。例えば、ビリルビンの上昇は、肝毒性または肝機能の異常を示し得る。

10

## 【0117】

本明細書中で使用される場合、用語「注射部位の反応」は、個体内の注射部位における、皮膚の炎症または異常な赤みを指す。

## 【0118】

本明細書中で使用される場合、用語「個体のコンプライアンス」は、推奨または予測される治療に対する、個体による忠実さを指す。

20

## 【0119】

本明細書中で使用される場合、用語「脂質低下治療 ( l i p i d - l o w e r i n g t h e r a p y ) 」は、個体において1以上の脂質を低下させるために、個体に提供される治療レジメンを指す。特定の実施形態では、脂質低下治療は、個体における、ApoB、総コレステロール、LDL - C、VLDL - C、IDL - C、非HDL - C、トリグリセリド、低密度LDL粒子、およびLp ( a ) のうちの1以上を低下させるために提供される。

## 【0120】

本明細書中で使用される場合、用語「脂質低下因子」は、個体における脂質の低下を達成するために個体に対して提供される薬学的因子を指す。例えば、特定の実施形態では脂質低下因子は、ApoB、LDL - C、総コレステロールおよびトリグリセリドのうち1以上を低下させるために個体に対して提供される。

30

## 【0121】

本明細書中で使用される場合、用語「LDL - Cの目標」は、脂質低下治療の後に所望されるLDL - Cのレベルを指す。

## 【0122】

本明細書中で使用される場合、用語「従う ( c o m p l y ) 」は、推奨される治療に対する、個体による忠実さを指す。

## 【0123】

本明細書中で使用される場合、用語「推奨される治療は」、疾患の処置、改善、または予防のために医療の専門家により推奨される治療レジメンを指す。

40

## 【0124】

本明細書中で使用される場合、用語「低LDL - レセプター活性」は、血流中のLDL - Cの臨床上受容可能なレベルを維持するには十分に高くないLDL - レセプター活性を指す。

## 【0125】

本明細書中で使用される場合、用語「心血管の結果 ( c a r d i o v a s c u l a r o u t c o m e ) 」は、主要な心血管の不都合な事象の存在を指す。

## 【0126】

50

本明細書中で使用される場合、用語「心血管の結果の改善 (improved cardiovascular outcome)」は、主要な心血管の不都合な事象の存在、またはそのリスクの減少を指す。主要な心血管の不都合な事象の例としては、死、再梗塞、脳卒中、心原性ショック、肺浮腫、心停止および心房性不整脈が挙げられるがこれらに限定されない。

## 【0127】

本明細書中で使用される場合、用語「心血管の結果の代理マーカー」は、心血管事象またはそのリスクの間接的な指標を指す。例えば、心血管の結果の代理マーカーとしては、頸動脈内膜中膜の厚み (intimal media thickness) (CIMT) が挙げられる。心血管の結果の代理マーカーの別の例としては、アテロームのサイズが挙げられる。アテロームのサイズは、脈管内超音波 (IVUS) により決定され得る。

10

## 【0128】

本明細書中で使用される場合、用語「HDL-Cの増加」は、個体における血清HDL-Cの経時的な増加を指す。

## 【0129】

本明細書中で使用される場合、用語「脂質低下」は、個体における1以上の血清脂質の経時的な減少を指す。

## 【0130】

本明細書中で使用される場合、用語「代謝障害」は、代謝機能の変更または逸脱によって特徴付けられる状態を指す。「代謝性」および「代謝」は、当該分野で周知の用語であり、一般に、生きている生物内で生じる生化学的プロセスの全範囲を包含する。代謝障害としては、高血糖、糖尿病前症、糖尿病 (I型およびII型)、肥満、インシュリン抵抗性およびメタボリック症候群が挙げられるがこれらに限定されない。

20

## 【0131】

本明細書中で使用される場合、用語「メタボリック症候群」は、代謝起源の脂質および非脂質性の心血管危険因子のクラスターを指す。メタボリック症候群は、インシュリン抵抗性として知られる一般化された代謝障害と密接に関連している。National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III) は、5つ中3以上のリスク決定要素が存在する場合の、メタボリック症候群の診断についての基準を確立した。5つのリスク決定要素は、男性について102cmより大きい胸囲、または、女性について88cmより大きい胸囲として規定される腹部肥満、150mg/dL以上のトリグリセリドレベル、男性について40mg/dL未満そして女性について50mg/dL未満のHDLコレステロールレベル、130/85mmHg以上の血圧、ならびに、110mg/dL以上の空腹時グルコースレベルである。これらの決定要素は、臨床上的実務において容易に測定され得る (JAMA, 2001, 285: 2486-2497)。

30

## 【0132】

用語「アルキル」は、本明細書中で使用される場合、24個までの炭素原子を含む飽和の直鎖または分枝の炭化水素基を指す。アルキル基の例としては、メチル、エチル、プロピル、ブチル、イソプロピル、n-ヘキシル、オクチル、デシル、ドデシルなどが挙げられるがこれらに限定されない。アルキル基は代表的に、1~約24個の炭素原子、より代表的には1~約12個の炭素原子 (C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アルキル) を含むが、1~約6個の炭素原子がより好ましい。用語「低級アルキル」は、本明細書中で使用される場合、1~約6個の炭素原子を含む。アルキル基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて1以上のさらなる置換基を含み得る。

40

## 【0133】

用語「アルケニル」は、本明細書中で使用される場合、24個までの炭素原子を含み、かつ、少なくとも1個の炭素-炭素二重結合を有する、直鎖または分枝の炭化水素鎖基を指す。アルケニル基の例としては、エテニル、プロペニル、ブテニル、1-メチル-2-ブテン-1-イル、ジエン (例えば、1,3-ブタジエン) などが挙げられるがこれらに

50

限定されない。アルケニル基は代表的に、2～約24個の炭素原子、より代表的には、2～約12個の炭素原子を含むが、2～約6個の炭素原子がより好ましい。アルケニル基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて1以上のさらなる置換基を含み得る。

【0134】

用語「アルキニル」は、本明細書中で使用される場合、24個までの炭素原子を含み、かつ、少なくとも1個の炭素-炭素三重結合を有する、直鎖または分枝の炭化水素基を指す。アルキニル基の例としては、エチニル、1-プロピニル、1-ブチニルなどが挙げられるがこれらに限定されない。アルキニル基は代表的に、2～約24個の炭素原子、より代表的には、2～約12個の炭素原子を含むが、2～約6個の炭素原子がより好ましい。アルキニル基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて1以上のさらなる置換基を含み得る。

10

【0135】

用語「アミノアルキル」は、本明細書中で使用される場合、アミノ置換されたアルキル基を指す。この用語は、任意の位置にアミノ置換基を有する $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基を含むことが意味され、アルキル基が、親分子にアミノアルキル基を結合させる。アミノアルキル基のアルキル部分および/またはアミノ部分は、さらに、置換基で置換され得る。

【0136】

用語「脂肪族」は、本明細書中で使用される場合、24個までの炭素原子を含む直鎖または分枝の炭化水素基を指し、ここで、任意の2個の炭素原子間の飽和(saturation)は、一重結合、二重結合または三重結合である。脂肪族基は、好ましくは、1～約24個の炭素原子、より代表的には1～約12個の炭素原子を含むが、1～約6個の炭素原子がより好ましい。脂肪族基の直鎖または分枝鎖は、窒素、酸素、硫黄およびリンを含む1以上のヘテロ原子で中断され得る。ヘテロ原子により中断されるこのような脂肪族基としては、ポリアルキレングリコール、ポリアミンおよびポリイミンのようなポリアルコキシ類が挙げられるがこれらに限定されない。脂肪族基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

20

【0137】

用語「脂環式(alicyclic)」または「脂環式(alicyclic)」は、環が脂肪族である環式環系を指す。この環系は、1以上の環を含み、この環のうち少なくとも1つが脂肪族である。好ましい脂環式としては、環中に約5～約9個の炭素原子を有する環が挙げられる。脂環式は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

30

【0138】

用語「アルコキシ」は、本明細書中で使用される場合、アルキル基と酸素原子との間に形成される基を指し、ここでは、酸素原子が、親分子にアルコキシ基を結合させるために使用される。アルコキシ基の例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、*n*-ブトキシ、*sec*-ブトキシ、*tert*-ブトキシ、*n*-ペントキシ、ネオペントキシ、*n*-ヘキソキシなどが挙げられるがこれらに限定されない。アルコキシ基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

【0139】

用語「ハロ」および「ハロゲン」は、本明細書中で使用される場合、フッ素、塩素、臭素およびヨウ素から選択される原子である。

40

【0140】

用語「アリール」および「芳香族」は、本明細書中で使用される場合、1以上の芳香族環を有する、単環式または多環式の炭素環式環系基を指す。アリール基の例としては、ベンチル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、インダニル、インデニルなどが挙げられるがこれらに限定されない。好ましいアリール環系は、1以上の環中に約5～約20個の炭素原子を有する。アリール基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

【0141】

50

用語「アラルキル」および「アリールアルキル」は、本明細書中で使用される場合、アルキル基とアリール基との間に形成される基であり、ここでは、アルキル基が、親分子にアラルキル基を結合させるために使用される。例としては、ベンジル、フェネチルなどが挙げられるがこれらに限定されない。アラルキル基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、この基を形成するアルキル基、アリール基または両方の基に結合されたさらなる置換基を含み得る。

【0142】

用語「複素環式基」は、本明細書中で使用される場合、少なくとも1個のヘテロ原子を含み、不飽和、部分飽和もしくは完全飽和の、単環式または多環式の環系基を指し、それにより、ヘテロアリール基を含む。複素環式はまた、縮合環のうちの1つ以上が、少なくとも1個のヘテロ原子を含み、かつ、他の環が1以上のヘテロ原子を含んでいても、必要に応じてヘテロ原子を含まなくてもよい、縮合環系を含むことが意味される。複素環式基は代表的に、硫黄、窒素または酸素から選択される少なくとも1個の原子を含む。複素環式基の例としては、[1,3]ジオキサラン、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフリルなどが挙げられる。複素環式基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

【0143】

用語「ヘテロアリール」および「複素環式芳香族」は、本明細書中で使用される場合、環のうち少なくとも1つが芳香族であり、そして、1以上のヘテロ原子を含む、単環式または多環式の、芳香族の環、環系または縮合環系を含む基を指す。ヘテロアリールはまた、縮合環のうち1つ以上がヘテロ原子を含まない縮合環系を含むことが意味される。ヘテロアリール基は代表的に、硫黄、窒素または酸素から選択される1個の環原子を含む。ヘテロアリール基の例としては、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、チオフェニル、フラニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、キノキサリニルなどが挙げられるがこれらに限定されない。ヘテロアリール基は、直接、または、脂肪族基もしくはヘテロ原子のような連結部分を介して親分子に結合され得る。ヘテロアリール基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

【0144】

用語「ヘテロアリールアルキル」は、本明細書中で使用される場合、アルキル基を有する、先に規定されたヘテロアリール基を指し、このアルキル基は、親分子にヘテロアリールアルキル基を結合させ得る。例としては、ピリジニルメチル、ピリミジニルエチル、ナフチリジニルプロピル(naphthyridinylpropyl)などが挙げられるがこれらに限定されない。ヘテロアリールアルキル基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、ヘテロアリール部分またはアルキル部分の一方または両方に、さらなる置換基を含み得る。

【0145】

用語「単環式または多環式の構造」は、本発明において使用される場合、縮合または連結された環を有する単環式または多環式である全ての環系を含み、そして、独立して、脂肪族、脂環式、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、アリールアルキル、複素環式、ヘテロアリール、複素環式芳香族、ヘテロアリールアルキルから選択される単一および混合型の環系を含むことが意味される。このような単環式および多環式の構造は、一様であるか、または、完全飽和、部分飽和もしくは完全不飽和を含む種々の飽和の程度を有する環を含み得る。各環は、C、N、OおよびSから選択される環原子を含んで、複素環式環、および、Cのみの環原子を含む環を形成し得、これらは、例えば、ベンゾイミダゾール(1つの環は炭素のみの環原子を有し、そして、縮合環は2個の窒素原子を有する)のような混合モチーフで存在し得る。単環式または多環式の構造は、さらに、例えば、フタル

10

20

30

40

50

イミド（環のうちの1つに結合された2個の=O基を有する）のような置換基で置換され得る。別の局面では、単環式または多環式の構造は、環原子を介して直接、置換基もしくは二官能性連結部分を介して、親分子に結合され得る。

【0146】

用語「アシル」は、本明細書中で使用される場合、有機酸に由来するヒドロキシル基を除去することにより形成され、そして、一般式  $-C(O)-X$  を有する基を指し、ここで、Xは、代表的には、脂肪族、脂環式または芳香族である。例としては、脂肪族カルボニル、芳香族カルボニル、脂肪族スルホニル、芳香族スルフィニル、脂肪族スルフィニル、芳香族ホスフェート、脂肪族ホスフェートなどが挙げられる。アシル基は、本明細書中で使用される場合、必要に応じて、さらなる置換基を含み得る。

10

【0147】

用語「ヒドロカルビル」は、C、OおよびHを含む基を包含する。あらゆる飽和の程度を有する直鎖、分枝および環式の基が包含される。このようなヒドロカルビル基としては、N、OおよびSから選択される1以上のヘテロ原子を含み得、そしてさらに、1以上の置換基で一置換または多置換され得る。

【0148】

用語「置換基 (substituent)」および「置換基 (substituent group)」は、本明細書中で使用される場合、代表的には、所望の特性を高めるか、または所望の作用を与えるように、他の基または親化合物に結合される基を含む。置換基は、保護または脱保護され得、そして、親化合物中の1つの利用可能な部位または多数の利用可能な部位に結合され得る。置換基はまた、他の置換基でさらに置換され得、そして、直接、または、アルキル基もしくはヒドロカルビル基のような連結基を介して親化合物に結合され得る。このような基としては、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキル、アルケニル、アルキニル、アシル ( $-C(O)R_{aa}$ )、カルボキシル ( $-C(O)O-R_{aa}$ )、脂肪族基、脂環式基、アルコキシ、置換オキソ ( $-O-R_{aa}$ )、アリール、アラルキル、複素環式、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、アミノ ( $-NR_{bb}R_{cc}$ )、イミノ ( $=NR_{bb}$ )、アミド ( $-C(O)NR_{bb}R_{cc}$  または  $-N(R_{bb})C(O)R_{aa}$ )、アジド ( $-N_3$ )、ニトロ ( $-NO_2$ )、シアノ ( $-CN$ )、カルバミド ( $-OC(O)NR_{bb}R_{cc}$  または  $-N(R_{bb})C(O)OR_{aa}$ )、ウレイド ( $-N(R_{bb})C(O)NR_{bb}R_{cc}$ )、チオウレイド ( $-N(R_{bb})C(S)NR_{bb}R_{cc}$ )、グアニジニル ( $-N(R_{bb})C(=NR_{bb})NR_{bb}R_{cc}$ )、アミジニル ( $-C(=NR_{bb})NR_{bb}R_{cc}$  または  $-N(R_{bb})C(NR_{bb})R_{aa}$ )、チオール ( $-SR_{bb}$ )、スルフィニル ( $-S(O)R_{bb}$ )、スルホニル ( $-S(O)_2R_{bb}$ )、スルホンアミジニル ( $-S(O)_2NR_{bb}R_{cc}$  または  $-N(R_{bb})S(O)_2R_{bb}$ ) および共役基が挙げられるがこれらに限定されない。R<sub>aa</sub>、R<sub>bb</sub> および R<sub>cc</sub> の各々は、独立して、H、必要に応じて連結された化学官能基であるか、または、好ましいリスト (H、アルキル、アルケニル、アルキニル、脂肪族、アルコキシ、アシル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、脂環式、複素環式およびヘテロアリールアルキルが挙げられるがこれらに限定されない) でさらに置換され得る。

20

30

【0149】

B. 特定のオリゴマー性化合物

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物を、DNAまたはRNAのような天然に存在するオリゴマーと比べて、化学的に修飾することが望ましい。特定のこのような修飾は、オリゴマー性化合物の活性を変更する。特定のこのような化学修飾は、例えば、以下によって活性を変更し得る：その標的核酸に対するアンチセンス化合物の親和性を高める、1以上のヌクレアーゼに対するその抵抗性を高める、そして/または、オリゴマー性化合物の薬物動態もしくは組織分布を変更する。特定の場合において、その標的に対するオリゴマー性化合物の親和性を高める化学の使用は、より短いオリゴマー性化合物の使用を可能にし得る。

40

【0150】

50



### 1. 特定のモノマー

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、1以上の修飾モノマーを含む。特定のような実施形態では、オリゴマー性化合物は、1以上の高親和性モノマーを含む。特定の実施形態では、このような高親和性モノマーは、2'-修飾糖を含むモノマー（例えば、ヌクレオシドおよびヌクレオチド）から選択され、2'-置換基（例えば、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)またはO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換のC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである）を有するBNAおよびモノマー（例えば、ヌクレオシドおよびヌクレオチド）が挙げられるがこれらに限定されない。

10

#### 【0151】

特定の実施形態では、本発明の短鎖アンチセンス化合物を含むがこれに限定されないオリゴマー性化合物は、オリゴマー性化合物が、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>H（ここで、nは1~6である）を含むヌクレオチドを含まないという条件で、1以上の高親和性部分を含む。

#### 【0152】

特定の実施形態では、本発明の短鎖アンチセンス化合物を含むがこれに限定されないオリゴマー性化合物は、オリゴマー性化合物が、2'-OCH<sub>3</sub>または2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>を含むヌクレオチドを含まないという条件で、1以上の高親和性部分を含む。

20

#### 【0153】

特定の実施形態では、本発明の短鎖アンチセンス化合物を含むがこれに限定されないオリゴマー性化合物は、オリゴマー性化合物が、-L-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAを含まないという条件で、1以上の高親和性部分を含む。

#### 【0154】

特定の実施形態では、本発明の短鎖アンチセンス化合物を含むがこれに限定されないオリゴマー性化合物は、オリゴマー性化合物が、-D-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAを含まないという条件で、1以上の高親和性部分を含む。

#### 【0155】

特定の実施形態では、本発明の短鎖アンチセンス化合物を含むがこれに限定されないオリゴマー性化合物は、オリゴマー性化合物が、-L-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAまたは-D-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAを含まないという条件で、1以上の高親和性部分を含む。

30

#### 【0156】

##### a. 特定の核酸塩基

ヌクレオシドの天然に存在する塩基部分は、代表的には、複素環式塩基である。このような複素環式塩基の2つの最も一般的な分類は、プリンおよびピリミジンである。ペントフラノシル糖を含むこれらのヌクレオシドに関して、リン酸基は、糖の2'、3'または5'のヒドロキシル部分に結合され得る。オリゴヌクレオチドを形成する際、これらのリン酸基は、隣接するヌクレオシドを互いに共有結合し、直鎖状のポリマー化合物を形成する。オリゴヌクレオチド内では、リン酸基は、一般に、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間バックボーンを形成するものとして解釈される。RNAおよびDNAの天然に存在する結合またはバックボーンは、3'から5'へのホスホジエステル結合である。

40

#### 【0157】

プリン核酸塩基である、アデニン(A)およびグアニン(G)、ならびに、ピリミジン核酸塩基であるチミン(T)、シトシン(C)およびウラシル(U)のような、「修飾された」または「天然の」核酸塩基に加え、当業者に公知の修飾された核酸塩基または核酸塩基模倣物の多くが、本明細書中に記載される化合物になじみやすい。特定の実施形態では、修飾された核酸塩基は、例えば、7-デアザプリン、5-メチルシトシンまたはG-クランプのような、親核酸塩基に対して構造がかなり類似する核酸塩基である。特定の実

50

施形態では、核酸塩基模倣物としては、例えば、三環式フェノキサジン核酸塩基模倣物のようにより複雑な構造が挙げられる。上述のような修飾核酸塩基を調製するための方法は、当業者に周知である。

【0158】

b. 特定の糖

本明細書中で提供されるオリゴマー性化合物は、修飾された糖部分を有する1以上のモノマー（ヌクレオシドまたはヌクレオチドを含む）を含み得る。例えば、ヌクレオシドのフラノシル糖環は、多数の方法（置換基の付加、同一の原子に結合した環原子ではない2個の環原子を架橋して、二環式核酸（BNA）を形成すること、が挙げられるがこれらに限定されない）で修飾され得る。

【0159】

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、BNAである1以上のモノマーを含む。特定のこのような実施形態では、BNAとしては、以下の図1に記載されるような、(A) - L - メチレンオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA、(B) - D - メチレンオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA、(C) エチレンオキシ(4' - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - 2') BNA、(D) アミノオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - N(R) - 2') BNA および (E) オキシアミノ(4' - CH<sub>2</sub> - N(R) - O - 2') BNA が挙げられるがこれらに限定されない。

【0160】

【化1】

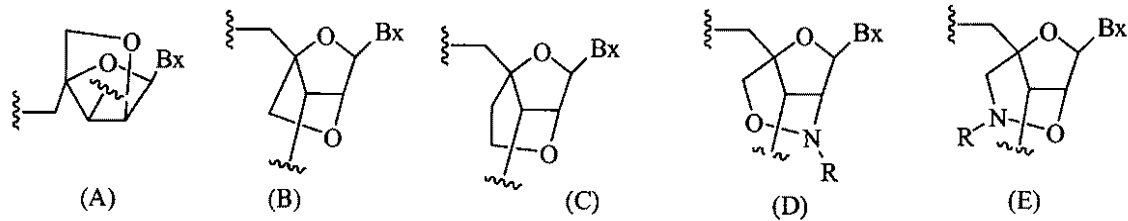


図1. 特定のBNA構造

特定の実施形態では、BNA化合物としては、糖の4'位と2'位との間に少なくとも1つの架橋を有する化合物が挙げられ（これに限定されない）、ここで、架橋の各々は、独立して、1または2~4の結合した基を含み、この結合した基は、独立して、- [ C ( R<sub>1</sub> ) ( R<sub>2</sub> ) ]<sub>n</sub> -、- C ( R<sub>1</sub> ) = C ( R<sub>2</sub> ) -、- C ( R<sub>1</sub> ) = N -、- C ( = N R<sub>1</sub> ) -、- C ( = O ) -、- C ( = S ) -、- O -、- S i ( R<sub>1</sub> )<sub>2</sub> -、- S ( = O )<sub>x</sub> - および - N ( R<sub>1</sub> ) - から選択され；

ここで

xは0、1または2であり；

nは1、2、3または4であり；

R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> の各々は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル、置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル、C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルケニル、置換 C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルケニル、C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキニル、置換 C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキニル、C<sub>5</sub> ~ C<sub>20</sub> アリール、置換 C<sub>5</sub> ~ C<sub>20</sub> アリール、複素環式基、置換複素環式基、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、C<sub>5</sub> ~ C<sub>7</sub> 脂環式基、置換 C<sub>5</sub> ~ C<sub>7</sub> 脂環式基、ハロゲン、OJ<sub>1</sub>、NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>、SJ<sub>1</sub>、N<sub>3</sub>、COOJ<sub>1</sub>、アシル( C ( = O ) - H )、置換アシル、CN、スルホニル( S ( = O )<sub>2</sub> - J<sub>1</sub> )、またはスルホキシル( S ( = O ) - J<sub>1</sub> ) であり；そして

J<sub>1</sub> および J<sub>2</sub> の各々は、独立して、H、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル、置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル、C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルケニル、置換 C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルケニル、C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキニル、置換 C<sub>2</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキニル、C<sub>5</sub> ~ C<sub>20</sub> アリール、置換 C<sub>5</sub> ~ C<sub>20</sub> アリール、アシル( C ( = O ) - H )、置換アシル、複素環式基、置換複素環式基、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アミノアルキル、置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アミノアルキル、または保護基である。

【0161】

一実施形態において、BNA化合物の架橋の各々は、独立して、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$ 、 $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$ または $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$ である。別の実施形態では、上記架橋の各々は、独立して、 $4'-CH_2-2'$ 、 $4'-(CH_2)_2-2'$ 、 $4'-(CH_2)_3-2'$ 、 $4'-CH_2-O-2'$ 、 $4'-(CH_2)_2-O-2'$ 、 $4'-CH_2-O-N(R_1)-2'$ および $4'-CH_2-N(R_1)-O-2'$ であり、ここで、 $R_1$ の各々が、独立して、H、保護基、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである。

#### 【0162】

特許文献ならびに科学技術文献において、特定のBNAが調製および開示されている (Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; WO 94/14226; WO 2005/021570; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039); BNAを開示する、発行された米国特許および公開された出願の例としては、例えば以下が挙げられる: 米国特許第7,053,207号;同第6,268,490号;同第6,770,748号;同第6,794,499号;同第7,034,133号;および同第6,525,191号;ならびに特許査定前の米国特許出願公開第2004-0171570号;同第2004-0219565号;同第2004-0014959号;同第2003-0207841号;同第2004-0143114号;および同第20030082807号。

#### 【0163】

本明細書中にはまた、リボシル糖環の2'-ヒドロキシル基が糖環の4'炭素原子に結合され、それによって、メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')結合を形成し、二環式糖部分を形成しているBNAが提供される (Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; および Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243に総説される; また、米国特許第6,268,490号および同第6,670,461号も参照のこと)。結合は、2'酸素原子および4'炭素原子を架橋するメチレン(-CH<sub>2</sub>-)基であり得、この二環式部分については、用語メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAが使用される; この位置にエチレン基がある場合は、用語エチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-2')BNAが使用される (Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Morita et al., Bioorganic Medicinal Chemistry, 2003, 11, 2211-2226)。メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAおよび他の二環式糖アナログは、相補的なDNAおよびRNAとの非常に高い二重鎖熱安定性( $T_m = +3 \sim +10$ )と、3'-エキソヌクレアーゼ性の分解に対する安定性と、良好な溶解特性とを示す。BNAを含む、強力かつ非毒性のアンチセンスオリゴヌクレオチドが記載されている (Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638)。

#### 【0164】

これもまた考察されているメチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAのアイソマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAであり、これは、3'-エキソヌクレアーゼに対して優れた安定性を有することが示されている。 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAは、強力なアンチセンス活性を示したアンチセンスギャップマーおよびキメラに組み込まれた (Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。

## 【0165】

メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAモノマーである、アデニン、シトシン、グアニン、5-メチル-シトシン、チミンおよびウラシルの合成および調製、ならびに、そのオリゴマー化、および核酸認識特性は記載されている(Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630)。BNAおよびその調製もまた、WO 98/39352およびWO 99/14226に記載されている。

## 【0166】

メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAのアナログであるホスホロチオエート-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAおよび2'-チオ-BNAもまた、調製されている(Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222)。核酸ポリメラーゼに対する基質としてオリゴデオキシリボヌクレオチド二重鎖を含むロックされた(locked)ヌクレオチドアナログもまた記載されている(Wengel et al., WO 99/14226)。さらに、新規な立体配座が制限された高親和性オリゴヌクレオチドアナログである2'-アミノ-BNAの合成が、当該分野で記載されている(Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039)。さらに、2'-アミノ-BNAおよび2'-メチルアミノ-BNAが調製されており、その相補的なRNA鎖およびDNA鎖とのその二重鎖の熱安定性が以前に報告されている。

## 【0167】

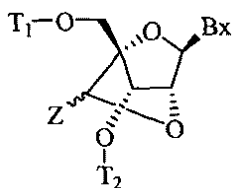
修飾された糖部分は周知であり、そして、その標的に対するアンチセンス化合物の親和性を変更する(代表的には高める)か、そして/または、ヌクレアーゼ抵抗性を高めるために使用され得る。好ましい修飾糖の代表例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない:二環式の修飾糖(BNA)(メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAおよびエチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'架橋)BNAを含む);置換糖(特に、2'-F置換基、2'-OCH<sub>3</sub>置換基または2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>置換基を有する2'-置換糖);および4'-チオ修飾糖。糖はまた、とりわけ、糖模倣基で置き換えられ得る。修飾糖を調製するための方法は当業者に周知である。このような修飾糖の調製を教示するいくつかの代表的な特許および公報としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない:米国特許第4,981,957号;同第5,118,800号;同第5,319,080号;同第5,359,044号;同第5,393,878号;同第5,446,137号;同第5,466,786号;同第5,514,785号;同第5,519,134号;同第5,567,811号;同第5,576,427号;同第5,591,722号;同第5,597,909号;同第5,610,300号;同第5,627,053号;同第5,639,873号;同第5,646,265号;同第5,658,873号;同第5,670,633号;同第5,792,747号;同第5,700,920号;同第6,531,584号;および同第6,600,032号;ならびにWO 2005/121371。

## 【0168】

特定の実施形態では、BNAは、以下の式:

## 【0169】

## 【化2】



を有する二環式ヌクレオチドを含み、上記式において、

Bxは、複素環式塩基部分であり;

10

20

30

40

50

$T_1$  は、Hまたはヒドロキシル保護基であり；

$T_2$  は、H、ヒドロキシル保護基または反応性リン含有基であり；

Zは、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、 $C_2 \sim C_6$  アルケニル、 $C_2 \sim C_6$  アルキニル、置換  $C_1 \sim C_6$  アルキル、置換  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、置換  $C_2 \sim C_6$  アルキニル、アシル、置換アシル、または置換アミドである。

【0170】

一実施形態では、置換基の各々は、独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$  およびCNから独立して選択される必要に応じて保護された置換基で、一置換または多置換され、ここで、 $J_1$ 、 $J_2$  および  $J_3$  の各々は、独立して、Hまたは  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、そして、XはO、Sまたは  $NJ_1$  である。

10

【0171】

特定のこのような実施形態では、置換基の各々は、独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$  および  $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$  から独立して選択される置換基で一置換または多置換され、ここで、 $J_1$ 、 $J_2$  および  $J_3$  の各々は、独立して、H、 $C_1 \sim C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、そして、XはOまたは  $NJ_1$  である。

【0172】

特定の実施形態では、Z基は、1以上の  $X^x$  で置換された  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、ここで、 $X^x$  の各々は、独立して、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$  またはCNであり；ここで、 $J_1$ 、 $J_2$  および  $J_3$  の各々は、独立して、Hまたは  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、そして、XはO、Sまたは  $NJ_1$  である。別の実施形態では、Z基は、1以上の  $X^x$  で置換された  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、ここで、 $X^x$  の各々は、独立して、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、アルコキシ（例えば、 $CH_3O-$ ）、置換アルコキシまたはアジドである。

20

【0173】

特定の実施形態では、Z基は  $-CH_2X^x$  であり、ここで、 $X^x$  は、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$  またはCNであり；ここで、 $J_1$ 、 $J_2$  および  $J_3$  の各々は、独立して、Hまたは  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、そして、XはO、Sまたは  $NJ_1$  である。別の実施形態では、Z基は、 $-CH_2X^x$  であり、ここで、 $X^x$  は、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、アルコキシ（例えば、 $CH_3O-$ ）またはアジドである。

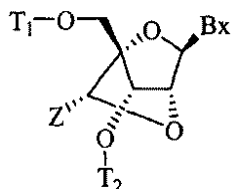
30

【0174】

特定のこのような実施形態では、Z基は、以下の(R) - 配置である。

【0175】

【化3】

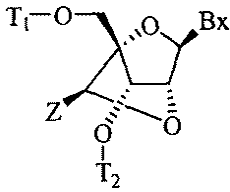


40

特定のこのような実施形態では、Z基は、以下の(S) - 配置である。

【0176】

## 【化4】



特定の実施形態では、 $T_1$  および  $T_2$  の各々は、ヒドロキシル保護基である。ヒドロキシル保護基の好ましいリストとしては、ベンジル、ベンゾイル、2,6-ジクロロベンジル、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、メシレート、トシレート、ジメトキシトリチル (DMT)、9-フェニルキサンチン-9-イル (Pixyl) および 9-(*p*-メトキシフェニル)キサンチン-9-イル (MOX) が挙げられる。特定の実施形態では、 $T_1$  は、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 ジメトキシトリチル から選択されるヒドロキシル保護基であり、ここで、より好ましいヒドロキシル保護基では、 $T_1$  は 4,4'-ジメトキシトリチルである。

10

## 【0177】

特定の実施形態では、 $T_2$  は、反応性のリン含有基であり、好ましい反応性リン含有基としては、ジイソプロピルシアノエトキシホスホロアミデートおよび *H*-ホスホネートが挙げられる。特定の実施形態では、 $T_1$  は、4,4'-ジメトキシトリチルであり、そして、 $T_2$  は、ジイソプロピルシアノエトキシホスホロアミデートである。

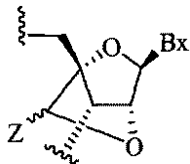
20

## 【0178】

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、以下の式：

## 【0179】

## 【化5】

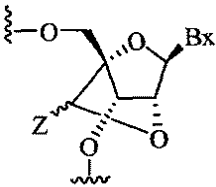


30

または以下の式：

## 【0180】

## 【化6】

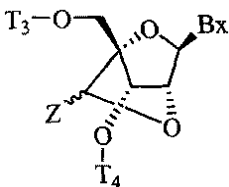


40

または以下の式：

## 【0181】

## 【化7】



の少なくとも1つのモノマーを有し、上記式において、

$Bx$  は、複素環式塩基部分であり；

50

$T_3$  は、H、ヒドロキシル保護基、連結共役基、または、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、モノマー性サブユニットもしくはオリゴマー性化合物に結合されたヌクレオシド間連結基であり；

$T_4$  は、H、ヒドロキシル保護基、連結共役基、または、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、モノマー性サブユニットもしくはオリゴマー性化合物に結合されたヌクレオシド間連結基であり；

ここで、 $T_3$  および  $T_4$  の少なくとも一方は、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、モノマー性サブユニットもしくはオリゴマー性化合物に結合されたヌクレオシド間連結基であり；そして

Z は、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、 $C_2 \sim C_6$  アルケニル、 $C_2 \sim C_6$  アルキニル、置換  $C_1 \sim C_6$  アルキル、置換  $C_2 \sim C_6$  アルケニル、置換  $C_2 \sim C_6$  アルキニル、アシル、置換アシル、または置換アミドである。

10

【0182】

一実施形態では、置換基の各々は独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$  および  $CN$  から独立して選択される必要に応じて保護された置換基で一置換または多置換され、ここで、 $J_1$ 、 $J_2$  および  $J_3$  の各々は、独立して、H または  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、そして、X は O、S または  $NJ_1$  である。

【0183】

一実施形態では、置換基の各々は独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$  および  $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$  から独立して選択される置換基で一置換または多置換され、ここで、 $J_1$ 、 $J_2$  および  $J_3$  の各々は、独立して、H または  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、そして、X は O または  $NJ_1$  である。

20

【0184】

特定のこのような実施形態では、少なくとも1つのZは、 $C_1 \sim C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルである。特定の実施形態では、各Zが、独立して、 $C_1 \sim C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルである。特定の実施形態では、少なくとも1つのZは、 $C_1 \sim C_6$  アルキルである。特定の実施形態では、各Zが、独立して、 $C_1 \sim C_6$  アルキルである。特定の実施形態では、少なくとも1つのZはメチルである。特定の実施形態では、各Zがメチルである。特定の実施形態では、少なくとも1つのZはエチルである。特定の実施形態では、各Zがエチルである。特定の実施形態では、少なくとも1つのZは置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルである。特定の実施形態では、各Zが、独立して、置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルである。特定の実施形態では、少なくとも1つのZは置換メチルである。特定の実施形態では、各Zが置換メチルである。特定の実施形態では、少なくとも1つのZは置換エチルである。特定の実施形態では、各Zが置換エチルである。

30

【0185】

特定の実施形態では、少なくとも1つの置換基は、 $C_1 \sim C_6$  アルコキシである（例えば、少なくとも1つのZは、1以上の  $C_1 \sim C_6$  アルコキシで置換された  $C_1 \sim C_6$  アルキルである）。別の実施形態では、各置換基が、独立して、 $C_1 \sim C_6$  アルコキシである（例えば、各Zが、独立して、1以上の  $C_1 \sim C_6$  アルコキシで置換された  $C_1 \sim C_6$  アルキルである）。

40

【0186】

特定の実施形態では、少なくとも1つの  $C_1 \sim C_6$  アルコキシ置換基は、 $CH_3O-$  である（例えば、少なくとも1つのZは、 $CH_3OCH_2-$  である）。別の実施形態では、各  $C_1 \sim C_6$  アルコキシ置換基が  $CH_3O-$  である（例えば、各Zが  $CH_3OCH_2-$  である）。

【0187】

特定の実施形態では、少なくとも1つの置換基はハロゲンである（例えば、少なくとも1つのZは1以上のハロゲンで置換された  $C_1 \sim C_6$  アルキルである）。特定の実施形態

50

では、各置換基が、独立して、ハロゲンである（例えば、各Zが、独立して、1以上のハロゲンで置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルである）。特定の実施形態では、少なくとも1つのハロゲン置換基はフルオロである（例えば、少なくとも1つのZは、 $CH_2FCH_2-$ 、 $CHF_2CH_2-$ または $CF_3CH_2-$ である）。特定の実施形態では、各ハロゲン置換基がフルオロである（例えば、各Zが、独立して、 $CH_2FCH_2-$ 、 $CHF_2CH_2-$ または $CF_3CH_2-$ である）。

【0188】

特定の実施形態では、少なくとも1つの置換基はヒドロキシルである（例えば、少なくとも1つのZは1以上のヒドロキシルで置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルである）。特定の実施形態では、各置換基が、独立して、ヒドロキシルである（例えば、各Zが、独立して、1以上のヒドロキシルで置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルである）。特定の実施形態では、少なくとも1つのZは、 $HOCH_2-$ である。別の実施形態では、各Zが $HOCH_2-$ である。

10

【0189】

特定の実施形態では、少なくとも1つのZは、 $CH_3-$ 、 $CH_3CH_2-$ 、 $CH_2OCH_3-$ 、 $CH_2F-$ または $HOCH_2-$ である。特定の実施形態では、各Zが、独立して、 $CH_3-$ 、 $CH_3CH_2-$ 、 $CH_2OCH_3-$ 、 $CH_2F-$ または $HOCH_2-$ である。

【0190】

特定の実施形態では、少なくとも1つのZ基は、1以上の $X^x$ で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、ここで、各 $X^x$ は、独立して、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ またはCNであり；ここで、 $J_1$ 、 $J_2$ および $J_3$ の各々は、独立して、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、そして、XはO、Sまたは $NJ_1$ である。別の実施形態では、少なくとも1つのZ基は、1以上の $X^x$ で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、ここで、各 $X^x$ は、独立して、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、アルコキシ（例えば、 $CH_3O-$ ）またはアジドである。

20

【0191】

特定の実施形態では、各Z基が、独立して、1以上の $X^x$ で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、ここで、各 $X^x$ が、独立して、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ またはCNであり；ここで、 $J_1$ 、 $J_2$ および $J_3$ の各々が、独立して、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、そして、XがO、Sまたは $NJ_1$ である。別の実施形態では、各Z基が、独立して、1以上の $X^x$ で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、ここで、各 $X^x$ が、独立して、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、アルコキシ（例えば、 $CH_3O-$ ）またはアジドである。

30

【0192】

特定の実施形態では、少なくとも1つのZ基は、 $-CH_2X^x$ であり、ここで、 $X^x$ は、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ またはCNであり；ここで、 $J_1$ 、 $J_2$ および $J_3$ の各々は、独立して、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、そして、XはO、Sまたは $NJ_1$ である。特定の実施形態では、少なくとも1つのZ基は、 $-CH_2X^x$ であり、ここで、 $X^x$ は、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、アルコキシ（例えば、 $CH_3O-$ ）またはアジドである。

40

【0193】

特定の実施形態では、各Z基が、独立して、 $-CH_2X^x$ であり、ここで、各 $X^x$ が、独立して、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ またはCNであり；ここで、 $J_1$ 、 $J_2$ および $J_3$ の各々が、独立して、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、そしてXはO、Sまたは $NJ_1$ である。別の実施形態では、各Z基が、独立して、 $-CH_2X^x$ であり、ここで、各 $X^x$

50



が、独立して、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、アルコキシ（例えば、 $\text{C H}_3\text{O}-$ ）またはアジドである。

【0194】

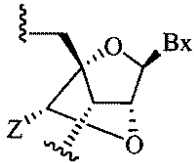
特定の実施形態では、少なくとも1つのZは $\text{C H}_3-$ である。別の実施形態では、各Zが $\text{C H}_3-$ である。

【0195】

特定の実施形態では、少なくとも1つのモノマーのZ基は、以下の式：

【0196】

【化8】

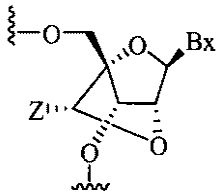


10

または以下の式：

【0197】

【化9】

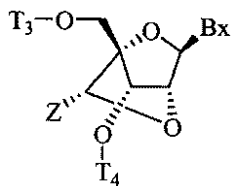


20

または以下の式：

【0198】

【化10】



30

によって表される（R）-配置である。

【0199】

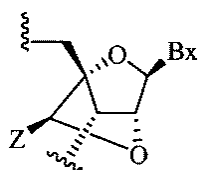
特定の実施形態では、上記式の各モノマーのZ基は、（R）-配置である。

【0200】

特定の実施形態では、少なくとも1つのモノマーのZ基は、以下の式：

【0201】

【化11】

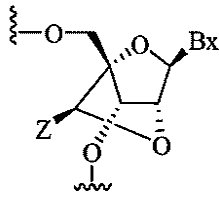


40

または以下の式：

【0202】

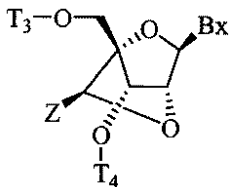
【化 1 2】



または以下の式：

【 0 2 0 3】

【化 1 3】



10

によって表される ( S ) - 配置である。

【 0 2 0 4】

特定の実施形態では、上記式の各モノマーの Z 基は、( S ) - 配置である。

【 0 2 0 5】

20

特定の実施形態では、 $T_3$  は、H またはヒドロキシル保護基である。特定の実施形態では、 $T_4$  は、H またはヒドロキシル保護基である。さらなる実施形態では、 $T_3$  は、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはモノマー性サブユニットに結合されたヌクレオシド間連結基である。特定の実施形態では、 $T_4$  は、ヌクレオシド、ヌクレオチドまたはモノマー性サブユニットに結合されたヌクレオシド間連結基である。特定の実施形態では、 $T_3$  は、オリゴヌクレオシドまたはオリゴヌクレオチドに結合されたヌクレオシド間連結基である。特定の実施形態では、 $T_4$  は、オリゴヌクレオシドまたはオリゴヌクレオチドに結合されたヌクレオシド間連結基である。特定の実施形態では、 $T_3$  は、オリゴマー性化合物に結合されたヌクレオシド間連結基である。特定の実施形態では、 $T_4$  は、オリゴマー性化合物に結合されたヌクレオシド間連結基である。特定の実施形態では、 $T_3$  および  $T_4$  のうち少なくとも1つは、ホスホジエステルまたはホスホロチオエートから選択されるヌクレオシド間連結基を含む。

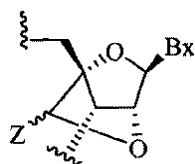
30

【 0 2 0 6】

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、以下の式：

【 0 2 0 7】

【化 1 4】

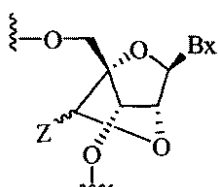


40

または以下の式：

【 0 2 0 8】

【化 1 5】

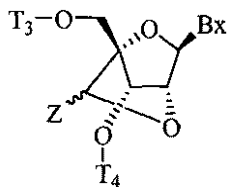


または以下の式：

50

【 0 2 0 9 】

【 化 1 6 】



の少なくとも2つの連続するモノマーの少なくとも1つの領域を有する。

【 0 2 1 0 】

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、上記式の少なくとも2つの連続するモノマーの少なくとも2つの領域を含む。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、ギャップを有するオリゴマー性化合物を含む。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、約8～約14の連続する - D - 2' - デオキシリボフラノシルヌクレオシドの少なくとも1つの領域を含む。

10

【 0 2 1 1 】

特定の実施形態では、オリゴマー性化合物は、約9～約12の連続する - D - 2' - デオキシリボフラノシルヌクレオシドの少なくとも1つの領域を含む。特定の実施形態では、モノマーは、糖模倣物を含む。特定のこのような実施形態では、模倣物は、糖または糖 - ヌクレオシド間結合の組み合わせの代わりに使用され、核酸塩基は、選択された標的に対するハイブリッド形成のために維持される。糖模倣物の代表例としては、シクロヘキセニルまたはモルホリノが挙げられるがこれらに限定されない。糖 - ヌクレオシド間結合の組み合わせについての模倣物の代表例としては、ペプチド核酸 (PNA) および非荷電アキラル結合により連結されるモルホリノ基が挙げられるがこれらに限定されない。いくつかの場合、模倣物は核酸塩基の代わりに使用される。代表的な核酸塩基模倣物は、当該分野で周知であり、そして、三環式フェノキサジンアナログおよびユニバーサル塩基 (Berger et al., Nuc Acid Res. 2000, 28: 2911-14, 本明細書中に参考として援用される) が挙げられるがこれらに限定されない。糖、ヌクレオシドおよび核酸の模倣物の合成方法は当業者に周知である。

20

【 0 2 1 2 】

### 3. モノマー性結合

本明細書中には、モノマー (修飾および非修飾のヌクレオシドおよびヌクレオチド) を一緒に連結し、それによって、オリゴマー性化合物を形成する連結基が記載される。連結基の2つの主な分類は、リン原子の有無によって規定される。代表的なリン含有結合としては、ホスホジエステル (P = O)、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホロアミデートおよびホスホロチオエート (P = S) が挙げられるがこれらに限定されない。代表的な非リン含有連結基としては、メチレンメチルイミノ (-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-CH<sub>2</sub>-)、チオジエステル (-O-C(O)-S-)、チオノカルバメート (thionocarbamate) (-O-C(O)(NH)-S-); シロキサン (-O-Si(H)<sub>2</sub>-O-); およびN, N'-ジメチルヒドラジン (-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)-) が挙げられるがこれらに限定されない。非リン連結基を有するオリゴマー性化合物は、オリゴヌクレオシドと呼ばれる。天然のホスホジエステル結合と比較して、修飾された結合は、オリゴマー性化合物のヌクレアーゼ抵抗性を変更する、代表的には高めるために使用され得る。特定の実施形態では、キラル原子を有する結合は、ラセミ混合物、別々の鏡像異性体 (enantiomer) として調製され得る。代表的なキラル結合としては、アルキルホスホネートおよびホスホロチオエートが挙げられるがこれらに限定されない。リン含有結合および非リン含有結合の調製方法は、当業者に周知である。

30

40

【 0 2 1 3 】

本明細書中に記載されるオリゴマー性化合物は、1以上の非対称中心を含み、従って、絶対的な立体化学 (例えば、糖のアノマーについては (R) もしくは (S)、 もしくは

50

、または、アミノ酸については(D)もしくは(L)などの観点から規定され得る、鏡像異性体、ジアステレオマーおよび他の立体化学配置を生じる。本明細書中で提供されるアンチセンス化合物には、全てのこのような可能なアイソマー、ならびに、そのラセミックおよび光学的に純粋な形態が含まれる。

#### 【0214】

##### 4. オリゴマー性化合物

特定の実施形態では、本明細書中には、結合(例えば、ホスホジエステル結合およびホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む)を形成するために有用な反応性リン含有基を有するオリゴマー性化合物が提供される。前駆体またはオリゴマー性化合物の調製および/または精製の方法は、本明細書中に記載される組成物または方法に制限されない。DNA、RNA、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシドおよびアンチセンス化合物を含む、オリゴマー性化合物の合成および調製のための方法は、当業者に周知である。

10

#### 【0215】

一般に、オリゴマー性化合物は、連結基によって一緒に連結された複数のモノマー性サブユニットを含む。オリゴマー性化合物の非限定的な例としては、プライマー、プローブ、アンチセンス化合物、アンチセンスオリゴヌクレオチド、外部ガイド配列(external guide sequence)(EGS)オリゴヌクレオチド、選択的スプライサー(alternate splicer)およびsiRNAが挙げられる。したがって、これらの化合物は、1本鎖、2本鎖、環状、分枝またはヘアピンの形状で導入され得、そして、内部または末端の突出部またはループのような、構造的要素を含み得る。オリゴマー性の2本鎖化合物は、2本鎖化合物に対してハイブリッド形成した2本鎖、または、ハイブリッド形成および完全もしくは部分的に2本鎖の化合物の形成を可能にするのに十分な自己相補性を有する1本鎖であり得る。

20

#### 【0216】

特定の実施形態では、本発明は、キメラオリゴマー性化合物を提供する。特定のこのような実施形態では、キメラオリゴマー性化合物は、キメラオリゴヌクレオチドである。特定のこのような実施形態では、キメラオリゴヌクレオチドは、異なるように修飾されたヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、キメラオリゴヌクレオチドは、混合型バックボーンアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

#### 【0217】

一般に、キメラオリゴマー性化合物は、修飾ヌクレオシドを有し、この修飾ヌクレオシドは、孤立した位置にあっても、特定のモチーフを規定する領域内で一緒にグループ化されてもよい。修飾および/または模倣基の任意の組み合わせは、本明細書中に記載されるキメラオリゴマー性化合物を含み得る。

30

#### 【0218】

特定の実施形態では、キメラオリゴマー性化合物は、代表的に、ヌクレアーゼ分解に対する増加した抵抗性、増加した細胞内取り込み、および/または、標的核酸に対する増加した結合親和性を与えるように修飾された少なくとも1つの領域を含む。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物のさらなる領域が、RNA:DNAハイブリッドまたはRNA:RNAハイブリッドを切断し得る酵素に対する基質として機能し得る。一例として、RNase Hは、RNA:DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞内エンドヌクレアーゼである。したがって、RNase Hの活性化は、RNA標的の切断をもたらし、それによって、遺伝子発現の阻害効率を大いに高める。結果として、キメラを用いた場合、より短いオリゴマー性化合物を用いても、しばしば、例えば、同じ標的領域に対してハイブリッド形成するホスホロチオエートデオキシオリゴヌクレオチドと比較して、匹敵するような結果が達成され得る。RNA標的の切断は、慣用的に、ゲル電気泳動により検出され得、必要な場合、当該分野で公知の核酸ハイブリッド形成技術と組み合わせられ得る。

40

#### 【0219】

特定の実施形態では、キメラオリゴマー性化合物は、ギャップマーである。特定の実施形態では、キメラ化合物は、短鎖アンチセンス化合物である。特定の実施形態では、短鎖

50

アンチセンス化合物は、ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、混合型バックボーンアンチセンスオリゴマーは、一方または両方のウィング内に1つのタイプのヌクレオチド間結合を有し、ギャップ内に異なるタイプのヌクレオチド間結合を有する。特定のこのような実施形態では、混合型バックボーンアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ウィング内にホスホジエステル結合を、そして、ギャップ内にはホスホロチオエート結合を有する。ウィング内のヌクレオチド間結合がギャップ内のヌクレオチド間結合と異なる特定の実施形態では、ウィングとギャップとをつなぐヌクレオチド間結合は、ウィング内のヌクレオチド間結合と同じである。ウィング内のヌクレオチド間結合とギャップ内のヌクレオチド間結合とが異なる特定の実施形態では、ウィングとギャップとをつなぐヌクレオチド間結合は、ギャップ内のヌクレオチド間結合と同じである。

10

## 【0220】

## C. 特定の短鎖アンチセンス化合物

本明細書中では、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドの短鎖アンチセンス化合物が開示される。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

## 【0221】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、1以上の化学的修飾を含む。特定のこのような実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも2以上の修飾ヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合を含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、キメラオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、一様に修飾される。特定の実施形態では、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、各核酸塩基および各結合において独立して選択された修飾を含む。

20

## 【0222】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、短いギャップマーである。特定のこのような実施形態では、短いギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、各ウィング内に1~3の高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物の高親和性修飾は、より長いアンチセンス化合物の標的親和性と同等、または、これよりもなお高い標的親和性を可能にする。特定の実施形態では、高親和性修飾ヌクレオチドは、糖修飾ヌクレオチドである。このような糖修飾ヌクレオチドとしては、糖の4'位と2'位との間に架橋を含むものが挙げられる。例示的な高親和性糖修飾としては、BNAおよび他の2'-修飾(例えば、T-MOE)が挙げられるがこれらに限定されない。本発明の代替的な実施形態において、高親和性修飾は、2'-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>H(n=1~6)糖-修飾ヌクレオチドではない。さらなる代替的な実施形態において、高親和性修飾ヌクレオチドは、2'-OCH<sub>3</sub>ヌクレオチドでも2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>ヌクレオチドでもない。特定の実施形態では、高親和性修飾ヌクレオチドは、1ヌクレオチドにつき、少なくとも1、少なくとも1.5、少なくとも2、少なくとも2.5、少なくとも3.0、少なくとも3.5、または少なくとも4.0のT<sub>m</sub>を与える。いくつかの高親和性ヌクレオチド修飾は、毒性を増大させることが当該分野で公知である。本明細書中に示されるように、限られた数(一般に、2~6)の高親和性修飾を有する短鎖アンチセンス化合物は、毒性の増大をほとんど示さないか、または全く示さないが、RNA標的の発現を有意に減少させる一方で、標的RNAに対する親和性を保持または増大させる。本発明の短鎖アンチセンス化合物は、必要に応じて、例えば、コレステロールまたはC<sub>16</sub>のような共役基を含み得る。

30

40

50

## 【0223】

## 1. 特定のウィング

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングおよび/または3'ウィングを含む。このような実施形態では、3'ウィングの特徴および5'ウィングの特徴は、別個に選択される。したがって、このような実施形態では、5'ウィング内のモノマー数および3'ウィング内のモノマー数(長さ)は同じであっても異なってもよい; 5'ウィング内の修飾(存在する場合)は、3'ウィング内の修飾(存在する場合)と同じであってもよいが、または、このような修飾は、存在する場合、異なってもよい; そして、5'ウィング内のモノマー性結合および3'ウィング内のモノマー性結合は、同じであっても異なってもよい。

10

## 【0224】

特定の実施形態では、ウィングは、1、2または3のモノマーを含む(すなわち、1、2または3の長さを有する)。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは修飾される。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、その標的核酸に対するアンチセンス化合物の親和性を高めるように修飾される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、ヌクレオシドまたはヌクレオチドである。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオシドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマー(ヌクレオシドまたはヌクレオチド)は、BNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2')BNAおよびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2')BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)およびO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換のC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2' MOEヌクレオチドである。

20

## 【0225】

特定の実施形態では、ウィング内のモノマー性結合は、天然に存在するヌクレオチド間結合である。特定の実施形態では、ウィング内のモノマー性結合は、天然には存在しないヌクレオチド間結合またはヌクレオシド間結合である。特定のこのような実施形態では、ウィング内のモノマー性結合は、天然に存在するヌクレオチド間結合よりも、1以上のヌクレアーゼに対して抵抗性である。特定のこのような実施形態では、ウィング内のモノマー性結合は、ホスホロチオエート結合(P=S)である。ウィングが1以上のモノマー性結合を有する特定の実施形態では、モノマー性結合は、互いに同じである。ウィングが1以上のモノマー性結合を有する特定の実施形態では、モノマー性結合は、互いに異なる。

30

## 【0226】

当業者は、上述の特徴および修飾が、ウィングを調製するために任意の組み合わせで使用され得ることを認識する。以下の表は、特定の数のモノマー、モノマー性修飾(存在する場合)、およびモノマー性結合(ともにウィング内に存在)を選択することによって、いかにウィングを調製し得るかを示す非限定的な例を提供する。

40

## 【0227】

## 【化 17】

長さ	モノマーのタイプ/ 修飾	ウィング内のモノマー性結合
1	2' MOE	なし
1	BNA	なし
1	メチレンオキシ BNA	なし
1	ENA	なし
2	2' MOE	P=S
2	BNA	P=S
2	メチレンオキシ BNA	P=S
2	ENA	P=S
2	2' MOE	P=O
2	BNA	P=O
2	メチレンオキシ BNA	P=O
2	ENA	P=O
3	2' MOE	P=S
3	BNA	P=S
3	メチレンオキシ BNA	P=S
3	ENA	P=S
3	2' MOE	P=O
3	BNA	P=O
3	メチレンオキシ BNA	P=O
3	ENA	P=O

10

20

30

ウィングが 2、3 または 4 のモノマーを含む特定の実施形態では、これらの 2、3 または 4 のモノマーは全て、存在する場合、同じ修飾を含む。ウィングが 2、3 または 4 のモノマーを含む特定の実施形態では、これらの 2、3 または 4 の核酸塩基のうちの 1 つ以上は、残りのモノマーの 1 つ以上の修飾のうち 1 つ以上とは異なる 1 つ以上の修飾を含む。

## 【0228】

## 2. 特定のギャップ

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、5' ウィングと 3' ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、ギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13 または 14 のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾デオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾リボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップの修飾（存在する場合）は、その標的核酸に結合されたときに、RNase (RNase H を含むがこれらに限定されない) による切断を支えるアンチセンス化合物をもたらす。

40

## 【0229】

特定の実施形態では、ギャップ内のモノマー性結合は、天然に存在するヌクレオチド間結合である。特定の実施形態では、ギャップ内のモノマー性結合は、天然に存在しない結合である。特定のこのような実施形態では、ギャップ内のモノマー性結合は、天然に存在するヌクレオチド間結合よりも、1 以上のヌクレアーゼに対して抵抗性である。特定のこのような実施形態では、ギャップ内のモノマー性結合はホスホロチオエート結合 (P=S) である。特定の実施形態では、ギャップ内のモノマー性結合は全て、互いに同じである

50

。特定の実施形態では、ギャップ内のモノマー性結合は全て同じではない。

【0230】

当業者は、上述の特徴および修飾が、ギャップを調製するために任意の組み合わせで使用され得ることを認識する。以下の表は、特定の数のモノマー、モノマー性修飾（存在する場合）、およびモノマー性結合（ともにギャップ領域内に存在）を選択することによって、いかにギャップを調製し得るかを示す非限定的な例を提供する。

【0231】

【化18】

長さ	モノマーのタイプ/ 修飾	ギャップ内のモノマー性結合
5	DNA	P=S
6	DNA	P=S
7	DNA	P=S
8	DNA	P=S
9	DNA	P=S
10	DNA	P=S
11	DNA	P=S
12	DNA	P=S
13	DNA	P=S
14	DNA	P=S
6	DNA	P=O
7	DNA	P=O
8	DNA	P=O
9	DNA	P=O
10	DNA	P=O
11	DNA	P=O
12	DNA	P=O
8	RNA	P=S
9	RNA	P=S
10	RNA	P=S
11	RNA	P=S
12	RNA	P=S

10

20

30

40

【0232】

3. 特定のギャップを有するアンチセンスオリゴマー性化合物

当業者は、上述のウィングおよびギャップが選択され、次いで、ギャップを有するオリゴマー性化合物（ギャップを有するアンチセンスオリゴマー性化合物およびギャップを有するアンチセンス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）を生成するために種々の組み合わせで組み合され得ることを認識する。5'ウィングおよび3'ウィングの特徴（長さ、修飾、結合）は、互いに独立して選択され得る。ギャップの特徴としては、5'ウィングの特徴と比較した際の修飾における少なくとも1つの差、および、3'ウィングの特徴と比較した際の修飾における少なくとも1つの差を含む（すなわち、隣接する領域を互いに区別するために、隣接する領域間で修飾に少なくとも1つの差が存在し

50



なければならない)。ギャップの特徴は、他の方法で、別個に選択され得る。

【 0 2 3 3 】

特定の実施形態では、ウィング内のモノマー性結合およびギャップ内のモノマー性結合は、同じである。特定の実施形態では、ウィング内のモノマー性結合およびギャップ内のモノマー性結合は異なる。特定のこのような実施形態では、ウィングとギャップとをつなぐモノマー性結合は、ウィング内のモノマー性結合と同じである。特定の実施形態では、ウィングとギャップとをつなぐモノマー性結合は、ギャップ内のモノマー性結合と同じである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、化合物全体に一律な結合を有する。特定のこのような実施形態では、結合は全て、ホスホロチオエート ( P = S ) 結合である。

10

【 0 2 3 4 】

当業者は、上述の 3' ウィング、5' ウィングおよび結合が、ギャップマーを調製するために任意の組み合わせで使用され得ることを認識する。以下の表は、特定の 5' ウィング、ギャップ、3' ウィング、および、ギャップと各ウィングとをつなぐ特定の結合を選択することによって、いかにギャップマーを調製し得るかを示す非限定的な例を提供する。

【 0 2 3 5 】

【 化 1 9 】

5' ウィング			5' 架橋	ギャップ			3' 架橋	3' ウィング		
長さ	モノマー	結合	結合	長さ	モノマー	結合	結合	長さ	モノマー	結合
2	MOE	P=S	P=S	6	DNA	P=S	P=S	2	MOE	P=S
2	BNA	P=S	P=O	8	DNA	P=O	P=S	3	BNA	P=S
1	MOE	なし	P=S	10	DNA	P=S	P=S	1	MOE	P=S
2	MOE	P=S	P=S	8	RNA	P=S	P=S	2	MOE	P=S
3	メレンオキ シ BNA	P=S	P=S	8	RNA	P=S	P=S	3	MOE	P=S
3	DNA	P=O	P=O	10	RNA	P=S	P=O	3	2'OH	P=O
2	2-F	P=S	P=S	5	RNA	P=S	P=S	2	2'-F	P=S
1	MOE	P=O	P=S	5	DNA	P=O	P=S	4	MOE	P=S

20

30

特定の実施形態では、本明細書中に開示されるオリゴマー性化合物は、約 8 ~ 約 16 のモノマー、好ましくは 9 ~ 15 のモノマー、より好ましくは 9 ~ 14 のモノマー、より好ましくは 10 ~ 14 のモノマーを含み得る (すなわち、約 8 ~ 約 16 の連結されたモノマー)。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15 または 16 の核酸塩基のアンチセンス化合物を含むことを理解する。特定の実施形態では、オリゴマー性化合物はアンチセンス化合物である。

40

【 0 2 3 6 】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 8 核酸塩基である。

【 0 2 3 7 】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 9 核酸塩基である。

【 0 2 3 8 】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 10 核酸塩基である。

【 0 2 3 9 】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 11 核酸塩基である。

【 0 2 4 0 】

50

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 12 核酸塩基である。

【0241】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 13 核酸塩基である。

【0242】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 14 核酸塩基である。

【0243】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 15 核酸塩基である。

【0244】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 16 核酸塩基である。

【0245】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 8 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 9 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 10 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 11 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 13 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 14 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 15 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、長さ 16 モノマーである。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、9 ~ 15 モノマーを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、10 ~ 15 モノマーを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、12 ~ 14 モノマーを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、12 ~ 14 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

【0246】

当該分野の技術を有し、本明細書中に例示される短鎖アンチセンス化合物の知識を持つ当業者は、過度の実験なしに、さらなる短鎖アンチセンス化合物を同定し得る。

【0247】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、片側または両側に 1 以上のウィングが配置されたギャップを含む。従って、特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、2 以上の 5' ウィングと 2 以上の 3' ウィングとを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、1 つの 5' ウィングと 2 以上の 3' ウィングとを含む。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、1 つの 3' ウィングと 2 以上の 5' ウィングとを含む。特定のこのような実施形態は、例えば、以下の領域を含む：第 1 の 5' ウィング - 架橋 - 第 2 の 5' ウィング - 架橋 - ギャップ - 架橋 - 第 2 の 3' ウィング - 架橋 - 第 1 の 3' ウィング。このような実施形態において、各領域は、その隣接領域と比較して、修飾に少なくとも 1 つの差を有する。したがって、このような実施形態において、第 2 の 5' ウィングおよび第 2 の 3' ウィングとは、各々が、独立して、ギャップと比較して、そして、第 1 の 5' ウィングおよび第 1 の 3' ウィングと比較して、修飾に 1 以上の差を含む。このような実施形態において、第 1 の 3' ウィングの修飾と第 1 の 5' ウィングの修飾とは、いずれかが、または、両方ともに、ギャップの修飾（存在する場合）と同じであっても異なってもよい。

【0248】

#### 4. 特定の共役基

一局面では、オリゴマー性化合物は、1 以上の共役基の共有結合により修飾される。一般に、共役基は、結合されたオリゴマー性化合物の 1 以上の特性（薬力学、薬物動態、結合、吸収、細胞内分布、細胞内取り込み、電荷およびクリアランスが挙げられるがこれらに限定されない）を変更する。共役基は、化学の分野において慣用的に用いられ、そして、直接、または、任意の連結部分もしくは連結基を介して、オリゴマー性化合物のような親化合物へと連結される。共役基の好ましいリストとしては、インターカレーター（intercalator）、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸

10

20

30

40

50

部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン (phenanthridine)、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオロセイン、ローダミン、クマリンおよび色素が挙げられるがこれらに限定されない。

【0249】

本発明になじみやすい好ましい共役基としては、コレステロール部分のような脂質部分 (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553); コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053); チオエーテル (例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール) (Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765); チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533); 脂肪族鎖 (例えば、ドデカンジオール残基またはウンデシル残基) (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 111; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49); リン脂質 (例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールまたはトリエチル-アンモニウム-1,2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート) (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777); ポリアミン鎖もしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969); 酢酸アダマンタン (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651); パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229); または、オクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノカルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923) が挙げられる。

【0250】

当該分野で公知のもののような連結基または二官能性連結部分は、本明細書中に提供される化合物になじみやすい。連結基は、化学的な官能基、共役基、レポーター基および他の基を、例えば、オリゴマー性化合物のような親化合物内の選択的な部位に結合するために有用である。一般に、二官能性の連結部分は、2つの官能基を有するヒドロカルビル部分を含む。官能基のうち的一方は、関心のある親分子または化合物に結合するために選択され、そして、もう一方は、化学的な官能基または共役基のような本質的に任意の選択された基を結合するために選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、エチレングリコールまたはアミノ酸ユニットのような反復ユニットの鎖構造またはオリゴマーを含む。二官能性連結部分において慣用的に使用される官能基の例としては、求核性基と反応させるための求電子性試薬、および求電子性基と反応させるための求核性試薬が挙げられるがこれらに限定されない。いくつかの実施形態では、二官能性の連結部分としては、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、不飽和部分 (例えば、二重結合または三重結合) などが挙げられる。二官能性連結部分のいくつかの非限定的な例としては、8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸 (ADO)、4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸スクシンイミジル (SMCC) および6-アミノヘキサン酸 (AHEXまたはAHA) が挙げられる。他の連結基としては、置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、置換もしくは非置換の $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル、または置換もしくは非置換の $C_2 \sim C_{10}$ アルキニルが挙げられるがこれらに限定されず、好ましい置換基の非限定的なリストとしては、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニルおよびアルキニルが挙げられる。

## 【0251】

## 5. 合成、精製および解析

修飾および非修飾のヌクレオシドおよびヌクレオチドのオリゴマー化は、DNA (Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Ed. Agrawal (1993), Humana Press) および/またはRNA (Scaringe, Methods (2001), 23, 206-217. Gait et al., Applications of Chemically synthesized RNA in RNA: Protein Interactions, Ed. Smith (1998), 1-36. Gallo et al., Tetrahedron (2001), 57, 5707-5713) についての文献の手順に従って慣用的に行われ得る。

10

## 【0252】

本明細書中に提供されるオリゴマー性化合物は、固相合成の周知の技術によって、簡便に、かつ慣用的に作製され得る。このような合成のための設備は、例えば、Applied Biosystems (Forster City, CA) を含むいくつかの売り手によって販売される。当該分野で公知のこのような合成のための任意の手段が、さらに、もしくは代替的に用いられ得る。ホスホロチオエートおよびアルキル化誘導体のようなオリゴヌクレオチドを調製するために類似の技術を用いることは周知である。本発明は、アンチセンス化合物の合成方法によって制限されない。

## 【0253】

オリゴマー性化合物の精製および合成の方法は、当業者に公知である。分析方法としては、キャピラリー電気泳動 (CE) および電気スプレー質量分光法が挙げられる。このような合成および分析の方法は、マルチウェルプレートにて行われ得る。本発明の方法は、オリゴマーの精製方法により制限されない。

20

## 【0254】

## D. アンチセンス

アンチセンスの機構は全て、化合物の標的核酸とのハイブリッド形成を必要とするものであり、ここで、ハイブリッド形成の結果または作用は、標的の分解または標的の占有のいずれかであり、同時に、細胞機構の関与 (例えば、転写またはスプライシング) を回避する。

30

## 【0255】

標的の分解を伴うアンチセンス機構の1つのタイプは、RNase Hを含む。RNase Hは、RNA: DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞内エンドヌクレアーゼである。当該分野では、「DNA様」である短鎖アンチセンス化合物が、哺乳動物細胞におけるRNase H活性を誘導することが知られる。したがって、RNase Hの活性化は、RNA標的の切断をもたらし、それによって、DNA様オリゴヌクレオチド媒介性の遺伝子発現の阻害の効率を大いに高める。

## 【0256】

特定の実施形態では、化学的に修飾されたアンチセンス化合物は、非修飾DNAよりも高い標的RNAに対する親和性を有する。特定のこのような実施形態では、このより高い親和性は、次いで、効力の増加をもたらし、このような化合物の投与用量の低下、潜在的な毒性の低下、ならびに、治療指数の改善および治療の全体的なコストの低下を可能にする。

40

## 【0257】

本開示は、化学的に修飾された高親和性ヌクレオチドおよびヌクレオシドの、アンチセンス化合物内への組み込みが、細胞、組織および動物 (ヒトを含むがこれに限定されない) において標的RNAおよび/または標的タンパク質を減少させるのに有用な、効力が増大しかつ治療指数が改善された、長さ8~16核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の設計を可能にする。したがって、特定の実施形態では、本明細書中に、インビボにおいて標的RNAを減少させるのに有用な高親和性ヌクレオチド修飾を含む短鎖アンチセンス化合物

50

が提供される。特定のこのような短鎖アンチセンス化合物は、先に記載したアンチセンス化合物よりも低い用量で有効であり、毒性および処置のコストの低下を可能にする。さらに、特定の短鎖アンチセンス化合物は、経口投薬についてより高い潜在能力を有する。

#### 【0258】

より強力なアンチセンス化合物に対する需要に対処するために、本明細書中では、より長い化合物に関してインピボでの活性が増加した短鎖アンチセンス化合物（長さ8～16ヌクレオチド、好ましくは9～15ヌクレオチド、より好ましくは9～14ヌクレオチド、より好ましくは10～14ヌクレオチド）が提供される。特定の短鎖アンチセンス化合物は、化合物の3'末端および5'末端（ウィング）上に、高親和性の化学的に修飾されたヌクレオチドを含むギャップマー化合物である。特定の実施形態では、高親和性修飾ヌクレオチドの付加することで、アンチセンス化合物が、その長さがより短いにもかかわらず、インピボでのその意図される標的RNAに対して活性でありかつ特異的であることを可能にする。本明細書中では、ウィングの各々が独立して1～3の高親和性修飾ヌクレオチドを含む短鎖アンチセンス化合物が企図される。特定の実施形態では、高親和性修飾は糖修飾である。高親和性修飾ヌクレオチドとしては、BNAまたは他の2'-修飾ヌクレオチド（例えば、2'-MOEヌクレオチド）が挙げられるがこれらに限定されない。また、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合（例えば、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合）を有する短鎖アンチセンス化合物も企図される。特定の実施形態では、本発明の短鎖アンチセンス化合物は、全てホスホロチオエートヌクレオチド間結合を有し得る。短鎖アンチセンス化合物は、必要に応じて、共役基を含む。本明細書中で示されるように、短鎖アンチセンス化合物は、DNAに対して有するよりも高い標的RNAに対する親和性を有し、そして、標的mRNAの減少によって、ならびに、種々の疾患の徴候の改善によって示されるように、インピボで有意により強力である。

#### 【0259】

本明細書中で使用される場合、グルコースの代謝もしくはクリアランス、脂質代謝、コレステロール代謝、または、インシュリン代謝に関与するRNAは、これらのプロセスを調節する生化学経路に関与するあらゆるRNAである。このようなRNAは当該分野で周知である。標的遺伝子の例としては、ApoB-100（APOB；Ag(x)抗原；apoB-48；アポリポタンパク質B；アポリポタンパク質B-100；アポリポタンパク質B-48としても公知）およびGCGR（グルカゴンレセプター；GRとしても公知）、CRP、DGAT2、GCCR、PCSK9、PTEN、PTP1B、SGLT2およびSOD1が挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0260】

##### 1. 標的発現の調節

特定の実施形態では、標的が同定され、そして、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、その標的またはその発現を調節するように設計される。特定の実施形態では、標的核酸分子に対するオリゴマー性化合物の設計は、多工程プロセスであり得る。代表的には、プロセスは、標的タンパク質の同定から開始され、そして、その標的タンパク質の活性が調節され、次いで、その発現が標的タンパク質をもたらす核酸を同定する。特定の実施形態では、アンチセンス化合物の設計は、標的化された核酸分子に対してハイブリッド形成可能なアンチセンス化合物をもたらす。特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態では、アンチセンス化合物と標的核酸とは、互いに相補的である。特定のこのような実施形態では、アンチセンス化合物は、標的核酸に対して完全に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、1つのミスマッチを含む。特定の実施形態では、アンチセンス化合物は2つのミスマッチを含む。特定の実施形態では、アンチセンス化合物は3以上のミスマッチを含む。

#### 【0261】

標的核酸の発現の調節は、任意の数の核酸の機能を変更することによって達成され得る。特定の実施形態では、調節されるべきRNAの機能としては、転移機能（タンパク質翻

訳の部位へのRNAの転移、RNA合成部位から離れた細胞内の部位へのRNAの転移を含むがこれらに限定されない)、およびRNAからのタンパク質の翻訳が挙げられるがこれらに限定されない。調節され得るRNAのプロセッシング機能としては、1以上のRNA種を得るためのRNAのスプライシング、RNAのキャッピング、RNAの3'成熟、およびRNAを伴う触媒の活性もしくは複合体の形成(RNAが関与し得るか、または、RNAにより促進され得る)が挙げられるがこれらに限定されない。発現の調節は、一過的、または、正味の定常状態レベルのいずれかにより、1以上の核酸種のレベルの上昇、または、1以上の核酸種のレベルの低下をもたらし得る。したがって、一実施形態では、発現の調節は、標的RNAまたはタンパク質レベルの増加または減少を意味し得る。別の実施形態では、発現の調節とは、1以上のRNAのスプライシング産物の増加もしくは減少、または、2以上のスプライシング産物の割合における変化を意味し得る。

10

## 【0262】

特定の実施形態では、標的遺伝子の発現は、約8~約16モノマー、好ましくは9~15モノマー、より好ましくは9~14モノマー、より好ましくは10~14モノマー(すなわち、約8~約16の連結されたモノマー)を含むオリゴマー性化合物を用いて調節される。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15または16の核酸塩基の1以上のアンチセンス化合物を用いて標的遺伝子の発現を調節する方法を包含するものと理解する。

## 【0263】

特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ8核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ9核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ8核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ10核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ10核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ11核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ12核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ13核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ14核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ15核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子を調節する方法は、長さ16核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

20

30

## 【0264】

特定の実施形態では、標的遺伝子の発現を調節する方法は、9~15モノマーを含む短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子の発現を調節する方法は、10~15モノマーを含む短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子の発現を調節する方法は、12~14モノマーを含む短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、標的遺伝子の発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

40

## 【0265】

## 2. ハイブリッド形成

特定の実施形態では、特異的な結合が所望される条件下、すなわち、インビボアッセイもしくは治療的な処置の場合には生理学的条件下、そして、インビトロアッセイの場合にはアッセイが行われる条件下で、アンチセンス化合物の非標的核酸配列に対する非特異的な結合を回避するのに十分な程度の相補性が存在する場合、アンチセンス化合物は特異的にハイブリッド形成する。

## 【0266】

50

本明細書中で使用される場合、「ストリンジェントなハイブリッド形成条件」または「ストリンジェントな条件」は、アンチセンス化合物がその標的配列に対してはハイブリッド形成するが、最小数の他の配列とはハイブリッド形成しない条件を指す。ストリンジェントな条件は、配列依存的であり、異なる状況下では異なる。そして、「ストリンジェントな条件」（この条件下でアンチセンス化合物が標的配列に対してハイブリッド形成する）は、アンチセンス化合物の性質および組成、ならびに、それらが調べられるべきアッセイによって決定される。

#### 【0267】

##### 3. 相補性

ヌクレオチドの親和性修飾の取り込みは、非修飾化合物と比較して、より多い数のミス  
10  
マッチを許容し得ることが当該分野で理解される。同様に、特定のオリゴヌクレオチド配列は、他のオリゴヌクレオチド配列よりもミスマッチに対して耐性であり得る。当業者は、例えば、溶融温度 ( $T_m$ ) を決定することにより、オリゴヌクレオチド間、または、オリゴヌクレオチドと標的核酸との間の、適切なミスマッチの数を決定し得る。 $T_m$  または  $T_m$  は、当業者にはよく知られた技術によって算出され得る。例えば、Freier et al. (Nucleic Acids Research, 1997, 25, 22: 4429-4443) に記載された技術により、当業者は、RNA:DNA二重鎖の溶融温度を上昇させる能力について、ヌクレオチドの修飾を評価することができる。

#### 【0268】

##### 4. 同一性

アンチセンス化合物またはその一部分は、配列番号、または、特定の Isis 番号を有する化合物に対して、規定された同一性の割合を有し得る。本明細書中で使用される場合、配列は、同じ核酸塩基対形成の能力を有する場合、本明細書中に開示される配列と同一である。例えば、本明細書中に記載される化合物の開示される配列中で、チミジンの代わりにウラシルを含む RNA は、これらが共にアデニンと対形成をすることから、同一であるとみなされる。この同一性は、オリゴマー性化合物の全長にわたるものであっても、アンチセンス化合物の一部分におけるものであってもよい（例えば、配列番号に対するオリゴマー性化合物の同一性の割合を決定するために、27マーの核酸塩基の1~20は、20マーに対して比較され得る）。アンチセンス化合物は、本明細書中に記載されるアンチ  
30  
センス化合物と類似するように機能するよう、本明細書中に記載される配列と同一の配列番号を有する必要はないことが当業者により理解される。本明細書中に教示されるアンチセンス化合物の短縮バージョン、または、本明細書中に教示されるアンチセンス化合物の非同バージョンもまた本明細書中に提供される。非同バージョンは、各塩基が、本明細書中に開示されるアンチセンス化合物と同じ対形成活性を有さないバージョンである。塩基は、より短いか、または、少なくとも1つの無塩基部位を有することにより、同じ対形成活性を有さない。あるいは、非同バージョンは、異なる対形成活性を有する異なる塩基で置き換えられた少なくとも1つの塩基を含み得る（例えば、Gは、C、AまたはTで置き換えられ得る）。同一性の割合は、比較先の配列番号またはアンチセンス化合物に対応する同一の塩基対形成を有する塩基の数に従って算出される。同一でない塩基は、互いに隣接し得るか、オリゴヌクレオチド全体に分散し得るか、またはこれらの両方であり  
40  
得る。

#### 【0269】

例えば、20マーの核酸塩基2~17と同じ配列を有する16マーは、その20マーに対し80%同一である。あるいは、20マーに対して同一ではない4つの核酸塩基を含む20マーもまた、その20マーに対して80%同一である。18マーの核酸塩基1~14と同じ配列を有する14マーは、その18マーに対して78%同一である。このような計算は、十分に当業者の技量の範囲内である。

#### 【0270】

同一性の割合は、修飾された配列の一部分に存在する元の配列における核酸塩基の割合に基づく。したがって、20核酸塩基の活性な標的セグメントの相補体の完全配列を含む  
50

30 核酸塩基のアンチセンス化合物は、その20 核酸塩基の活性な標的セグメントの相補体に対して100% 同一である部分を有する一方で、さらに、追加の10 核酸塩基の部分を含む。この本説明の文脈において、活性な標的セグメントの相補体は、単一の部分を構成し得る。好ましい実施形態では、本明細書中に提供されるオリゴヌクレオチドは、本明細書中に提示される活性な標的セグメントの相補体の少なくとも一部分に対して、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96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100% 同一である。

【0271】

E. 標的核酸、領域およびセグメント

10

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、任意の標的核酸を標的とするように設計され得る。特定の実施形態では、標的核酸は、臨床的に問題とされる標的をコードする。このような実施形態では、標的核酸の調節は、臨床上の利益をもたらす。特定の標的核酸としては、表1に示される標的核酸が挙げられるがこれらに限定されない。

【0272】

特定の実施形態では、標的核酸は、ApoBをコードする核酸分子である。ApoBをコードする核酸分子としては、配列番号1および配列番号2が挙げられるがこれらに限定されない。

【0273】

特定の実施形態では、標的核酸は、SGLT2をコードする核酸分子である。SGLT2をコードする核酸分子としては、配列番号3が挙げられるがこれに限定されない。

20

【0274】

特定の実施形態では、PCSK9をコードする核酸分子である。PCSK9をコードする核酸分子としては、配列番号4が挙げられるがこれに限定されない。

【0275】

特定の実施形態では、標的核酸は、SOD1をコードする核酸分子である。SOD1をコードする核酸分子としては、配列番号5が挙げられるがこれに限定されない。

【0276】

特定の実施形態では、標的核酸は、CRPをコードする核酸分子である。CRPをコードする核酸分子としては、配列番号6が挙げられるがこれに限定されない。

30

【0277】

特定の実施形態では、標的核酸は、GCCRをコードする核酸分子である。GCCRをコードする核酸分子としては、配列番号：8が挙げられるがこれに限定されない。

【0278】

特定の実施形態では、標的核酸は、GCGRをコードする核酸分子である。GCGRをコードする核酸分子としては、配列番号：7及び配列番号：9が挙げられるがこれに限定されない。

【0279】

特定の実施形態では、標的核酸は、DGAT2をコードする核酸分子である。DGAT2をコードする核酸分子としては、配列番号10が挙げられるがこれに限定されない。

40

【0280】

特定の実施形態では、標的核酸は、PTP1Bをコードする核酸分子である。PTP1Bをコードする核酸分子としては、配列番号11および配列番号12が挙げられるがこれらに限定されない。

【0281】

特定の実施形態では、標的核酸は、PTENをコードする核酸分子である。PTENをコードする核酸分子としては、配列番号14または配列番号15が挙げられるがこれらに限定されない。

【0282】



【表 1】

表 1: 特定の標的核酸

標的	種	GENBANK®アクセッション番号	配列番号
ApoB	ヒト	NM_000384.1	1
ApoB	マウス	XM_137955.5	2
SGLT2	ヒト	NM_003041.1	3
PCSK9	ヒト	NM_174936.2	4
SOD1	ヒト	X02317.1	5
CRP	ヒト	NM_000567.1	6
GCGR	マウス	BC031885.1	7
GCCR	ヒト	AC012634 のヌクレオチド 1~10600	8
GCGR	ヒト	NM_000160.1	9
DGAT2	ヒト	NM_032564.2	10
PTPIB	ヒト	NM_002827.2	11
PTPIB	ヒト	NT_011362.9 のヌクレオチド 1417800~1425600	12
PTEN	マウス	U92437.1	13
PTEN	ヒト	NM_000314.4	14
PTEN	ヒト	NT_033890.3 のヌクレオチド 8063255~8167140	15

標的化のプロセスは通常、アンチセンスの相互作用が生じ、結果として所望の作用がもたらされるように、標的の領域、セグメントまたは標的核酸内の部位のうち少なくとも 1 つの決定を含む。

## 【 0 2 8 3 】

特定の実施形態では、標的領域の最も 5' 側のヌクレオチドは、短鎖アンチセンス化合物の 5' 標的部位であり、そして、標的領域の最も 3' 側のヌクレオチドは、短鎖アンチセンス化合物の 3' 標的部位である。特定の実施形態では、標的領域の最も 5' 側のヌクレオチドは、短鎖アンチセンス化合物の 5' 標的部位であり、そして、標的領域の最も 3' 側のヌクレオチドは、異なる短鎖アンチセンス化合物の 3' 標的部位である。特定の実施形態では、標的領域は、5' 標的部位または 3' 標的部位の 10、15 または 20 ヌクレオチド内にヌクレオチド配列を含む。

## 【 0 2 8 4 】

特定の実施形態では、標的領域は、核酸の構造的に規定された領域である。例えば、特定のこのような実施形態では、標的領域は、3' UTR、5' UTR、エキソン、イントロン、コード領域、翻訳開始領域、翻訳終了領域、または他の規定される核酸領域を包含し得る。

## 【 0 2 8 5 】

それに対して標的化された 1 以上の活性な短鎖アンチセンス化合物を有することによって規定される標的核酸における位置は、「活性な標的セグメント」と称される。特定の実施形態では、それに対して標的化された 1 以上の活性な短鎖アンチセンス化合物を有する標的核酸は、標的 RNA である。活性な標的セグメントが複数の短鎖アンチセンス化合物によって規定される場合、化合物は、好ましくは、標的配列における約 10 以下のヌクレオチド、より好ましくは、標的配列における約 5 以下のヌクレオチドによって隔てられ、なおより好ましくは、短鎖アンチセンス化合物は連続しており、最も好ましくは、短鎖アンチセンス化合物は重なっている。活性な標的セグメント内の短鎖アンチセンス化合物の活性（例えば、阻害の割合により規定される）には、実質的なバリエーションが存在し得る。活性な短鎖アンチセンス化合物は、その標的核酸（標的 RNA が挙げられるがこれに

限定されない)の発現を調節するものである。活性な短鎖アンチセンス化合物は、その標的RNAの発現を少なくとも10%、好ましくは20%阻害する。好ましい実施形態では、活性な標的セグメントに対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の少なくとも約50%、好ましくは約70%は、その標的RNAの発現を少なくとも40%調節する。より好ましい実施形態では、活性な短鎖アンチセンス化合物を規定するのに必要とされる阻害のレベルは、活性な標的セグメントを規定するために使用される選別からの結果に基づいて規定される。

**【0286】**

適切な標的セグメントは、標的領域(この領域に対して活性な短鎖アンチセンス化合物が標的化される)の少なくとも約8核酸塩基の部分である。標的セグメントは、例示的な標的セグメントのうちの1つの5'末端からの少なくとも8個の連続する核酸塩基を含むDNAまたはRNA配列を含み得る(同じDNAまたはRNAの連続する伸長部である残りの核酸塩基は、標的セグメントの5'末端の直ぐ上流から始まり、そして、そのDNAまたはRNAが約8~約16の核酸塩基を含むようになるまで続く)。標的セグメントはまた、例示的な標的セグメントのうちの1つの3'末端からの少なくとも8個の連続する核酸塩基を含むDNAまたはRNA配列によっても表される(同じDNAまたはRNAの連続する伸長部である残りの核酸塩基は、標的セグメントの3'末端の直ぐ下流から始まり、そして、そのDNAまたはRNAが約8~約16の核酸塩基を含むようになるまで続く)。また、アンチセンス標的セグメントが、例示的な標的セグメントの配列の内部部分からの少なくとも8個の連続する核酸塩基を含むDNAまたはRNA配列によって表され得ること、そして、短鎖アンチセンス化合物が約8~約16の核酸塩基を含むようになるまで、一方または両方の方向に伸長し得ることも理解される。本明細書中に例示される標的セグメントを手にした当業者は、過度の実験を行うことなしに、さらなる標的セグメントを同定することができる。

**【0287】**

一旦、1以上の標的領域、セグメントまたは部位が同定されると、その標的に対して十分に相補的な(すなわち、十分に首尾よくかつ十分な特異性でハイブリッド形成して、所望の作用を与える)短鎖アンチセンス化合物が選択される。

**【0288】**

短鎖アンチセンス化合物はまた、標的核酸分子に沿って、長さ8~16核酸塩基の任意の連続する核酸塩基を含む、標的核酸塩基配列の領域に対して標的化され得る。

**【0289】**

例示される標的セグメント内から選択される少なくとも8個の連続した核酸塩基の伸長部を含む、長さ8~16核酸塩基の標的セグメントもまた、標的とするのに適切であると考えられる。したがって、短鎖アンチセンス化合物はまた、特定の5'標的部位において開始するような、本明細書中で同定されるこれらのセグメント内の8~16の核酸塩基も包含し得る。これらの領域の周囲、50核酸塩基内、好ましくは25核酸塩基内、より好ましくは16核酸塩基内の、8、9、10、11、または、より好ましくは、12、13、14、15もしくは16の連続した核酸塩基の任意のセグメントもまた、標的とするのに適切であると考えられる。

**【0290】**

さらなる実施形態では、本明細書中で同定される「適切な標的セグメント」は、標的核酸の発現を調節するさらなる短鎖アンチセンス化合物についてのスクリーニングにおいて使用され得る。「モジュレーター」は、標的核酸の発現を増大または低下させ、そして、標的セグメントに対して相補的な少なくとも8個の核酸塩基部分を含む化合物である。スクリーニング方法は、核酸の標的セグメントを、1以上の候補モジュレーターと接触させる工程、および、標的核酸の発現を増大または低下させる1以上の候補モジュレーターを選択する工程を包含する。一旦、候補モジュレーターが標的核酸の発現を調節し得る(例えば、低下させるか、または、増大させる)ことが示されると、そのモジュレーターは、次いで、標的の機能のさらなる調査研究において、または、本発明に従う研究用、診断用

10

20

30

40

50

または治療用の因子としての使用のために、使用され得る。

【0291】

本明細書中で考察される全ての短鎖アンチセンス化合物について、配列、モノマー、モノマー性修飾およびモノマー性結合は、各々、独立して選択され得る。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、モチーフにより説明される。このような実施形態では、その配列および/またはモチーフが具体的に本明細書中で開示されていようがいまいが、任意のモチーフが、任意の配列と共に使用され得る。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、モチーフによる説明になじみにくい修飾を含む(例えば、化合物全体にわたって、種々の位置にいくつかの異なる修飾および/または結合を含む短鎖アンチセンス化合物)。このような組み合わせは、本明細書中に開示されていようがいまいが、任意の配列について組み込まれ得る。本願に添付する配列表は、化学的な修飾とは無関係に、特定の核酸配列を提供する。配列表は、必要に応じて、各配列を「RNA」または「DNA」のいずれかとして同定するが、実際には、これらの配列は、化学的な修飾および/またはモチーフの任意の組み合わせで変更され得る。

10

【0292】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、少なくとも1つの高親和性修飾されたモノマーを含む。特定の実施形態では、標的(ApoB-100(また、APOB; Ag(x)抗原; apoB-48; アポリポタンパク質B; アポリポタンパク質B-100; アポリポタンパク質B-48としても公知)、GCCR(また、グルカゴンレセプター; GRとしても公知)、CRP、DGAT2、GCCR、PCSK9、PTEN、PTP1B、SGLT2およびSOD1が挙げられるがこれらに限定されない)をコードする核酸分子に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物が提供される。特定のこのような実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、これらの標的のいずれかをコードする核酸分子に対して標的化される。

20

【0293】

F. 特定の標的

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、任意の標的を調節するように設計され得る。特定の実施形態では、標的は、臨床的に問題とされている。このような実施形態では、標的の調節は、臨床上の利益をもたらす。特定の標的は、腎臓において優先的に発現される。特定の標的は、肝臓において優先的に発現される。特定の標的は、代謝障害と関連している。特定の標的は、心血管障害と関連している。特定の実施形態では、標的は、ApoB、SGLT2、PCSK9、SOD1、CRP、GCCR、GCCR、DGAT2、PTP1BおよびPTENから選択される。特定の実施形態では、標的は、ApoB、SGLT2、PCSK9、SOD1、CRP、GCCR、GCCR、DGAT2およびPTP1Bから選択される。特定の実施形態では、標的は、SGLT2以外の任意のタンパク質である。

30

【0294】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、インビボにおいて、肝臓および腎臓に特異的な標的RNAの減少を示す。このような特性は、これらの短鎖アンチセンス化合物を、代謝障害および心血管疾患に関与する多くの標的RNAの阻害に特に有用なものとする。したがって、本明細書中では、上記腎臓または肝臓の組織を、心血管障害または代謝障害に関連するRNAに対して標的化された短鎖アンチセンス化合物に接触させることによって、心血管障害または代謝障害を処置する方法が提供される。したがって、本発明の短鎖アンチセンス化合物を用いて、種々の代謝疾患または心血管疾患の適応のいずれかを改善するための方法も提供される。

40

【0295】

1. ApoB

ApoB(アポリポタンパク質B-100; ApoB-100; アポリポタンパク質B-48; ApoB-48およびAg(x)抗原としても公知)は、脂質の組み立ておよび分泌、ならびに、別の分類のリポタンパク質の輸送およびレセプター媒介性の取り込みお

50

よび送達において、必須の役割を果たす大きな糖タンパク質である。ApoBは、食べ物の脂質の吸収および処理から、循環中のリポタンパク質レベルの調節まで、種々の活動を行う(DavidsonおよびShelness, Annu. Rev. Nutr., 2000, 20, 169-193)。この後者の特性は、アテローム性動脈硬化症の罹患率の点でのその関連性の根拠を成し、これは、周囲のApoB含有リポタンパク質の濃度と大いに相関している(DavidsonおよびShelness, Annu. Rev. Nutr., 2000, 20, 169-193)。ApoB-100は、LDL-Cの主要なタンパク質成分であり、そして、このリポタンパク質種のLDLレセプターとの相互作用に必要とされるドメインを含む。LDL-Cレベルの上昇は、アテローム性動脈硬化症を含む心血管疾患に対する危険因子である。

10

## 【0296】

## 定義

「ApoB」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質である。

## 【0297】

「ApoB核酸」は、ApoBをコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、ApoB核酸としては、ApoBをコードするDNA配列、ApoBをコードするDNAから転写されたRNA配列、およびApoBをコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

## 【0298】

「ApoB mRNA」は、ApoBをコードするmRNAを意味する。

20

## 【0299】

## ApoBの治療上の適応

特定の実施形態では、本発明は、個体におけるApoBの発現を調節する方法を提供し、この方法は、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、本発明は、個体を処置する方法を提供し、この方法は、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含む1以上の薬学的組成物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、個体は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子、II型糖尿病、脂質異常症を伴うII型糖尿病、脂質異常症、高トリグリセリド血症、高脂血症、過脂肪酸血症(hyperfatty acidemia)、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎、または非アルコール性脂肪肝病を有する。

30

## 【0300】

脂質低下治療のためのガイドラインは、National Cholesterol Education Program(NCEP)のAdult Treatment Panel III(ATP III)によって2001年に確立され、そして、2004年に更新された(Grundy et al., Circulation, 2004, 110, 227-239)。このガイドラインは、LDL-C、総コレステロールおよびHDL-Cのレベルの決定のために、代表的には、食事の9~12時間後に、完全なリポタンパク質プロフィールを得ることを含む。最も最近に確立されたガイドラインによれば、130~159mg/dL、160~189mg/dL、および190mg/dL以上のLDL-Cレベルは、それぞれ、境界線上の高さ、高い、および非常に高い、とみなされる。200~239mg/dLおよび240mg/dL以上の総コレステロールレベルは、それぞれ、境界線上の高さ、および高いとみなされる。40mg/dL未満のHDL-Cレベルは、低いとみなされる。

40

## 【0301】

特定の実施形態では、個体は、脂質低下治療が必要であるとして同定される。特定のこ

50

のような実施形態では、個体は、National Cholesterol Education Program (NCEP) の Adult Treatment Panel III (ATP III) によって2001年に確立され、そして、2004年に更新されたガイドライン (Grundey et al., Circulation, 2004, 110, 227-239) にしたがって、脂質低下治療が必要であるとして同定される。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、190 mg/dL を上回る LDL-C を有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、160 mg/dL を上回る LDL-C を有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、130 mg/dL を上回る LDL-C を有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、100 mg/dL を上回る LDL-C を有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、160 mg/dL を下回る LDL-C を維持すべきである。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、130 mg/dL を下回る LDL-C を維持すべきである。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、100 mg/dL を下回る LDL-C を維持すべきである。特定のこのような実施形態では、個体は、70 mg/dL を下回る LDL-C を維持すべきである。

10

## 【0302】

特定の実施形態では、本発明は、個体における Apo B を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における Apo B 含有リポタンパク質を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における LDL-C を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における VLDL-C を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における IDL-C を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における非HDL-C を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における Lp(a) を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における血清トリグリセリドを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における肝トリグリセリドを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における Ox-LDL-C を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における小型の LDL 粒子を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における小型の VLDL 粒子を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体におけるリン脂質を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における酸化されたリン脂質を減少させるための方法を提供する。

20

30

## 【0303】

特定の実施形態では、本発明は、被験体における Ox-LDL-C 濃度を減少させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、Apo B、LDL-C、VLDL-C、IDL-C、総コレステロール、非HDL-C、Lp(a)、トリグリセリドまたは Ox-LDL-C の減少は、独立して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、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%および少なくとも100%から選択される。特定のこのような実施形態では、Apo B、LDL-C、VLDL-C、IDL-C、総コレステロール、非HDL-C、Lp(a)、トリグリセリドまたは Ox-LDL-C の減少は、独立して、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%および少なくとも70%から選択される。特定のこのような実施形態では、Apo B、LDL-C、VLDL-C、IDL-C、総コレステロール、非HDL-C、Lp(a)、トリグリセリドまたは Ox-LDL-C の減少は、独立して、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%および少なくとも70%から選択される。

40

50

## 【0304】

特定の実施形態では、本発明は、被験体におけるHDL-C濃度を上昇させるための方法を提供する。

## 【0305】

特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、HDL-Cを低下させない。特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、肝臓における脂質の蓄積をもたらさない。特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、肝臓脂肪症を引き起こさない。

## 【0306】

特定の実施形態では、本発明は、処置に伴う副作用を減少させつつ、被験体におけるApoB濃度を低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、副作用は、肝毒性である。特定のこのような実施形態では、副作用は、肝機能の異常である。特定のこのような実施形態では、副作用は、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)の上昇である。特定のこのような実施形態では、副作用は、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)の上昇である。

10

## 【0307】

特定の実施形態では、本発明は、脂質低下治療の結果、目標のLDL-Cレベルに達しなかった被験体においてApoBの濃度を低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、被験体に対して投与される唯一の脂質低下剤である。特定のこのような実施形態では、被験体は、推奨される脂質低下治療に従っていない。特定のこのような実施形態では、本発明の薬学的組成物は、さらに異なる脂質低下治療と同時に施される。特定のこのような実施形態では、さらなる脂質低下治療は、LDL-Aフェレーシスである。特定のこのような実施形態では、さらなる脂質低下治療は、スタチンである。特定のこのような実施形態では、さらなる脂質低下治療は、エゼチミブである。

20

## 【0308】

特定の実施形態では、本発明は、スタチン不耐性の被験体においてApoBの濃度を低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、クレアチンキナーゼ濃度が増加している。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、肝機能の異常を有する。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、筋肉痛を有する。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、中枢神経系の副作用を有する。特定の実施形態では、被験体は、推奨されるスタチン投与に従っていない。

30

## 【0309】

特定の実施形態では、本発明は、被験体における肝トリグリセリドを低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、被験体は、肝トリグリセリドが上昇している。特定のこのような実施形態では、被験体は、脂肪性肝炎を有する。特定のこのような実施形態では、被験体は、脂肪症を有する。特定のこのような実施形態では、肝トリグリセリドレベルは、磁気共鳴画像法により測定される。

## 【0310】

特定の実施形態では、本発明は、被験体における冠動脈心疾患のリスクを低下させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、被験体におけるアテローム性動脈硬化症の進行を遅らせるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、本発明は、被験体におけるアテローム性動脈硬化症の進行を停止させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、本発明は、被験体におけるアテローム性プラークのサイズおよび/または有病率を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、提供される方法は、アテローム性動脈硬化症を発症する被験体のリスクを低下させる。

40

## 【0311】

特定の実施形態では、提供される方法は、被験体における心血管系の結果を改善する。特定のこのような実施形態では、改善された心臓血管系の結果は、冠動脈心疾患を発症す

50

るリスクの低下である。特定のこのような実施形態では、改善された心臓血管系の結果は、1以上の主要な心血管事象（死、心筋梗塞、再梗塞、発作、心原性ショック、肺浮腫、心停止および心房性不整脈が挙げられるがこれらに限定されない）の発生の減少である。特定のこのような実施形態では、改善された心臓血管系の結果は、頸動脈内膜中膜厚の改善により実証される。特定のこのような実施形態では、頸動脈内膜中膜厚の改善は、厚みの減少である。特定のこのような実施形態では、頸動脈内膜中膜厚の改善は、内膜中膜厚の増加の防止である。

#### 【0312】

特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、治療において使用するためのものである。特定の実施形態では、治療は、個体における、LDL-C、ApoB、VLDL-C、IDL-C、非HDL-C、Lp(a)、血清トリグリセリド、肝トリグリセリド、Ox-LDL-C、小型LDL粒子、小型VLDL、リン脂質、または酸化されたリン脂質の減少である。特定の実施形態では、治療は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子、II型糖尿病、脂質異常症を伴うII型糖尿病、脂質異常症、高トリグリセリド血症、高脂血症、過脂肪酸血症、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎、または非アルコール性脂肪肝病の処置である。さらなる実施形態では、治療は、CHDリスクの低下である。特定の実施形態では、治療は、アテローム性動脈硬化症の予防である。特定の実施形態では、治療は、冠動脈心疾患の予防である。

#### 【0313】

特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、医薬の調製のために使用される。個体における、LDL-C、ApoB、VLDL-C、IDL-C、非HDL-C、Lp(a)、血清トリグリセリド、肝トリグリセリド、Ox-LDL-C、小型LDL粒子、小型VLDL、リン脂質、または酸化されたリン脂質を減少させるための特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、冠動脈心疾患のリスクを低下させるための医薬の調製のために使用される。特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子、II型糖尿病、脂質異常症を伴うII型糖尿病、脂質異常症、高トリグリセリド血症、高脂血症、過脂肪酸血症、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎、または非アルコール性脂肪肝病の処置のための医薬の調製のために使用される。

#### 【0314】

##### ApoBの併用治療

特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物は、1以上の他の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と同じ疾患または状態を処置するように設計される。特定のこのような実施形態では、1以上の薬学的因子は、脂質低下剤である。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と異なる疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物の望ましくない作用を処置するように設計される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物は、その他の薬学的因子の望ましくない作用を処置するために、別の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的

10

20

30

40

50

組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、異なる時点で投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、単一の処方物内で一緒に調製される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、別々に調製される。

【0315】

特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、脂質低下剤が挙げられる。特定のような実施形態では、本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、アトルバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチンおよびエゼチミブが挙げられるがこれらに限定されない。特定のような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の前に投与される。特定のような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の後に投与される。特定のような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物と同時に投与される。特定のような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量と同じである。特定のような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも少ない。特定のような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも多い。

10

【0316】

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、HMG-CoAレダクターゼインヒビターである。特定のような実施形態では、HMG-CoAレダクターゼインヒビターは、スタチンである。特定のような実施形態では、スタチンは、アトルバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチンおよびロスバスタチンから選択される。

20

【0317】

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、コレステロール吸収阻害薬である。特定のような実施形態では、コレステロール吸収阻害薬は、エゼチミブである。

【0318】

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、同時に処方されるHMG-CoAレダクターゼインヒビターおよびコレステロール吸収阻害薬である。特定のような実施形態では、同時に処方される脂質低下剤は、エゼチミブ/シンバスタチンである。

30

【0319】

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、ミクロソームトリグリセリド転移タンパク質インヒビター(MTPインヒビター)である。

【0320】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、胆汁酸金属イオン封鎖剤である。特定のような実施形態では、胆汁酸金属イオン封鎖剤は、コレステラミン、コレステポールおよびコレセベラムから選択される。特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、ニコチン酸である。特定のような実施形態では、ニコチン酸は、即時放出性ニコチン酸、延長放出性ニコチン酸および持続放出性ニコチン酸から選択される。

40

【0321】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、フィブリン酸である。特定のような実施形態では、フィブリン酸は、ゲムフィブロジル、フェノフィブラート、クロフィブラート、ベザフィブラートおよびシプロフィブラートから選択される。

【0322】

ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子のさらなる例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：コルチコステロイド(プレドニゾンが挙げられるがこれに限定されない)；免疫グロブリン(静脈内免疫グロブリン(IVIg)が挙げられるがこれに限定されない)

50



；鎮痛剤（例えば、アセトアミノフェン）；抗炎症剤（非ステロイド性抗炎症薬（例えば、イブプロフェン、COX-1インヒビターおよびCOX-2インヒビター）が挙げられるがこれらに限定されない）；サリチル酸；抗生物質；抗ウイルス薬；抗真菌剤；抗糖尿病剤（例えば、ビグアナイド、グルコシダーゼ阻害剤、インシュリン、スルホニル尿素およびチアゾリジンジオン）；アドレナリン作動性修飾物質；利尿薬；ホルモン（例えば、同化性ステロイド、アンドロゲン、エストロゲン、カルシトニン、プロゲステロン、ソマトスタチンおよび甲状腺ホルモン）；免疫調節因子；筋弛緩剤；抗ヒスタミン薬；骨粗しょう症剤（例えば、ビスホスホネート、カルシトニンおよびエストロゲン）；プロスタグランジン、抗新生物剤；精神療法剤；鎮静薬；ウルシ属の非常に有毒な低木（poison oak or poison sumac）の生成物；抗体；およびワクチン。

10

## 【0323】

特定の実施形態では、ApoB核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、脂質低下治療と組み合わせて投与され得る。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療は、治療的なライフスタイルの変化である。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療は、LDLアフェレーシスである。

## 【0324】

一実施形態では、本明細書中に提供されるアンチセンス化合物は、ヒト被験体におけるアポリポタンパク質B含有リポタンパク質のレベルを低下させるために使用され得る。本明細書中で使用される場合、「アポリポタンパク質B含有リポタンパク質」は、そのタンパク質成分としてアポリポタンパク質Bを有し、そして、LDL、VLDL、IDLおよびリポタンパク質(a)を含むと理解されるあらゆるリポタンパク質を指す。LDL、VLDL、IDLおよびリポタンパク質(a)は、各々が、1分子のアポリポタンパク質Bを含み、したがって、血清アポリポタンパク質Bの測定は、これらのリポタンパク質の総数を反映する。当該分野で公知であるように、上述のリポタンパク質の各々は、アテローム発生性である。したがって、血清中の1以上のアポリポタンパク質B含有リポタンパク質の低下は、ヒト被験体に対して、治療上の利益を提供し得る。小型のLDL粒子は、大型のLDL粒子と比較して、特にアテローム発生性であると考えられ、したがって、小型のLDL粒子の低下は、ヒト被験体に治療上の利益を提供し得る。さらなる脂質パラメータもまた、被験体において決定され得る。総コレステロール：HDLの比、または、LDL：HDLの比の低下は、コレステロールの比において、臨床的に望ましい改善である。同様に、脂質レベルの上昇を示すヒトにおいて、血清トリグリセリドを減少させることも臨床上望ましい。

20

30

## 【0325】

被験体において測定され得る心血管疾患の他の指標としては、血清LDL粒子のサイズ；血清LDLコレステリルエステルの濃度；血清LDLコレステリルエステルの組成；血清LDLコレステリルエステルの多価不飽和の程度；および血清LDLコレステロールのレベルが挙げられる。本明細書中で使用される場合、「血清LDL粒子のサイズ」は、血清LDL粒子のサイズの分類（非常に小さい、小さい、中ぐらい、または大きいいずれかであり得、代表的には、 $g/\mu mol$ で表される）を指す。本発明の文脈において、「血清LDLコレステリルエステルの濃度」は、LDL粒子中に存在するコレステリルエステルの量を意味し、そして、代表的には、 $mg/dL$ として測定される。本発明の文脈において、「血清LDLコレステリルエステルの組成」は、血清LDL粒子中に存在する、飽和、一価不飽和および多価不飽和のコレステリルエステル脂肪酸の割合の測定値である。「血清LDLコレステリルエステルの多価不飽和の程度」は、血清LDL粒子中の多価不飽和コレステリルエステル脂肪酸の割合を意味する。

40

## 【0326】

分析のための血清または血漿サンプルを得る方法、および、分析を可能にするように血清サンプルを調製する方法は、当業者に周知である。リポタンパク質、コレステロール、トリグリセリドおよびコレステリルエステルの測定に関して、用語「血清」および「血漿」は、本明細書中で交換可能に使用される。

50

## 【0327】

別の実施形態では、本明細書中に提供されるアンチセンス化合物は、代謝障害を処置するために使用され得る。種々のバイオマーカーは、代謝疾患を評価するために使用され得る。例えば、血中グルコースレベルは、一般に利用可能な検査キットまたはグルコメーター（例えば、Ascensia ELITE<sup>TM</sup>キット、Ascensia (Bayer)、Tarrytown NYまたはAccucheck, Roche Diagnostics)を用いて、医師によって、または、患者によってさえ、決定され得る。グリケート化されたヘモグロビン(HbA<sub>1c</sub>)もまた測定され得る。HbA<sub>1c</sub>は、グルコースによる翻訳後修飾によってインビボで形成される、安定な微量のヘモグロビン改変体であり、主としてNH<sub>2</sub>末端がグリケート化された鎖を含む。HbA<sub>1c</sub>のレベルと、先の3ヶ月にわたる平均血中グルコースレベルとの間には、強い相関が存在する。したがって、HbA<sub>1c</sub>は、しばしば、持続的な血中グルコースの制御を測定するための「ゴールドスタンダード(gold standard)」として見られる(Bunn, H. F. et al., 1978, Science, 200, 21-7)。HbA<sub>1c</sub>は、イオン交換HPLCまたはイムノアッセイによって測定され得る；HbA<sub>1c</sub>測定のための自宅での採血および郵送のキットは、現在広く入手可能である。血清フルクトサミンは、安定なグルコース制御の別の指標であり、そして、比色法(Cobas Integra, Roche Diagnostics)により測定され得る。

10

## 【0328】

ApoB核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

20

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、GENBANK(登録商標)アクセッション番号NM\_000384.1(配列番号1として本明細書中に引用される)の配列を有するApoB核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号1に対して少なくとも90%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号1に対して少なくとも95%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号1に対して100%相補的である。特定の実施形態では、配列番号1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表2および表3に示されるヌクレオチド配列を含む。

30

## 【0329】

表2および3における各配列番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、モノマー性結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾を含み得る。ISIS番号(ISIS NO.)により記載されるアンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾との組み合わせを示す。

## 【0330】

表2および3は、配列番号1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表2は、配列番号1に対して100%相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表3は、配列番号1に関して、1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾された糖を含む。特定の2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2のギャップマーモチーフであって、10個の2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOEヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合

40

50

物は、非修飾シトシンの代わりに5 - メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ5 - mC」は、ギャップセグメントが5 - メチルシトシンを有する一方で、ウイングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【 0 3 3 1 】

【表 2 - 1】

表 2: 配列番号 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS No	5' 標的部位	3' 標的部位	配列 (5' -3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
372816	263	278	CCGGAGGTGCTTGAAT	3-10-3 MOE	16
372894	264	277	CGGAGGTGCTTGAA	2-10-2 MOE	17
372817	428	443	GAAGCCATACACCTCT	3-10-3 MOE	18
372895	429	442	AAGCCATACACCTC	2-10-2 MOE	19
372818	431	446	GTTGAAGCCATACACC	3-10-3 MOE	20
372896	432	445	TTGAAGCCATACAC	2-10-2 MOE	21
372819	438	453	CCTCAGGGTTGAAGCC	3-10-3 MOE	22
372897	439	452	CTCAGGGTTGAAGC	2-10-2 MOE	23
372820	443	458	TTTGCCCTCAGGGTTG	3-10-3 MOE	24
372898	444	457	TTGCCCTCAGGGTT	2-10-2 MOE	25
372821	468	483	AGTTCTTGTTTTCTT	3-10-3 MOE	26
372899	469	482	GTTCTTGTTTTCT	2-10-2 MOE	27
372822	587	602	CCTCTTGATGTTCAGG	3-10-3 MOE	28
372900	588	601	CTCTTGATGTTCAG	2-10-2 MOE	29
372823	592	607	ATGCCCTCTTGATGT	3-10-3 MOE	30
372901	593	606	TGCCCTCTTGATG	2-10-2 MOE	31
346583	715	728	TGCCACATTGCCCT	3-8-3 MOE	32
346584	716	729	TTGCCACATTGCC	3-8-3 MOE	33
346585	717	730	GTTGCCACATTGCC	3-8-3 MOE	34
346586	718	731	TGTTGCCACATTGC	3-8-3 MOE	35
346587	719	732	CTGTTGCCACATTG	3-8-3 MOE	36
346588	720	733	TCTGTTGCCACATT	3-8-3 MOE	37
346589	721	734	TTCTGTTGCCACAT	3-8-3 MOE	38
346590	722	735	TTTCTGTTGCCACA	3-8-3 MOE	39
346591	723	736	ATTTCTGTTGCCAC	3-8-3 MOE	40
372824	929	944	GTAGGAGAAAGGCAGG	3-10-3 MOE	41
372902	930	943	TAGGAGAAAGGCAG	2-10-2 MOE	42
372825	1256	1271	GGCTTGTAAGTGATG	3-10-3 MOE	43
372903	1257	1270	GCTTGTAAGTGAT	2-10-2 MOE	44
372826	1304	1319	CCACTGGAGGATGTGA	3-10-3 MOE	45
372904	1305	1318	CACTGGAGGATGTG	2-10-2 MOE	46
372829	2135	2150	TTTCAGCATGCTTCT	3-10-3 MOE	47
372907	2136	2149	TTCAGCATGCTTTC	2-10-2 MOE	48
372832	2774	2789	CATATTTGTCACAAAC	3-10-3 MOE	49
372910	2775	2788	ATATTTGTCACAAA	2-10-2 MOE	50
372833	2779	2794	ATGCCATATTTGTCA	3-10-3 MOE	51
372911	2780	2793	TGCCATATTTGTC	2-10-2 MOE	52
372835	2961	2976	TTTTGGTGGTAGAGAC	3-10-3 MOE	53
372913	2962	2975	TTTGGTGGTAGAGA	2-10-2 MOE	54
346592	3248	3261	TCTGCTTCGCACCT	3-8-3 MOE	55
346593	3249	3262	GTCTGCTTCGCACC	3-8-3 MOE	56
346594	3250	3263	AGTCTGCTTCGCAC	3-8-3 MOE	57
346595	3251	3264	CAGTCTGCTTCGCA	3-8-3 MOE	58
346596	3252	3265	TCAGTCTGCTTCGC	3-8-3 MOE	59
346597	3253	3266	CTCAGTCTGCTTCG	3-8-3 MOE	60
346598	3254	3267	CCTCAGTCTGCTTC	3-8-3 MOE	61
346599	3255	3268	GCCTCAGTCTGCTT	3-8-3 MOE	62

10

20

30

40

【 0 3 3 2 】

【表 2 - 2】

346600	3256	3269	AGCCTCAGTCTGCT	3-8-3 MOE	63
372836	3350	3365	AACTCTGAGGATTGTT	3-10-3 MOE	64
372914	3351	3364	ACTCTGAGGATTGT	2-10-2 MOE	65
372837	3355	3370	TCATTA ACTCTGAGGA	3-10-3 MOE	66
372915	3356	3369	CATTA ACTCTGAGG	2-10-2 MOE	67
372838	3360	3375	ATTCATCATTA ACTCT	3-10-3 MOE	68
372916	3361	3374	TTCATCATTA ACTC	2-10-2 MOE	69
372839	3409	3424	TTGTTCTGAATGTCCA	3-10-3 MOE	70
387461	3409	3424	TTGTTCTGAATGTCCA	3-10-3 メチレンオキシ BNA キャップ内のシジンは非修飾	70
380147	3409	3424	TTGTTCTGAATGTCCA	3-10-3 メチレンオキシ BNA	70
372917	3410	3423	TGTTCTGAATGTCC	2-10-2 MOE	73
372840	3573	3588	CAGATGAGTCCATTTG	3-10-3 MOE	74
372918	3574	3587	AGATGAGTCCATTT	2-10-2 MOE	75
372841	3701	3716	ATCCACAGGGAAATTG	3-10-3 MOE	76
372919	3702	3715	TCCACAGGGAAATT	2-10-2 MOE	77
372843	4219	4234	CAGTTGTACAAGTTGC	3-10-3 MOE	78
372921	4220	4233	AGTTGTACAAGTTG	2-10-2 MOE	79
372844	4301	4316	CACAGAGTCAGCCTTC	3-10-3 MOE	80
372922	4302	4315	ACAGAGTCAGCCTT	2-10-2 MOE	81
372845	4308	4323	GGTCAACCACAGAGTC	3-10-3 MOE	82
372923	4309	4322	GTCAACCACAGAGT	2-10-2 MOE	83
346601	5588	5601	CAGCCACATGCAGC	3-8-3 MOE	84
346602	5589	5602	CCAGCCACATGCAG	3-8-3 MOE	85
346603	5590	5603	ACCAGCCACATGCA	3-8-3 MOE	86
346604	5591	5604	TACCAGCCACATGC	3-8-3 MOE	87
346605	5592	5605	TTACCAGCCACATG	3-8-3 MOE	88
346606	5593	5606	GTTACCAGCCACAT	3-8-3 MOE	89
346607	5594	5607	GGTTACCAGCCACA	3-8-3 MOE	90
346608	5595	5608	AGGTTACCAGCCAC	3-8-3 MOE	91
346609	5596	5609	TAGGTTACCAGCCA	3-8-3 MOE	92
372851	5924	5939	AGGTTCTGCTTTCAAC	3-10-3 MOE	93
372929	5925	5938	GGTTCTGCTTTCAA	2-10-2 MOE	94
372854	6664	6679	TACTGATCAAATTGTA	3-10-3 MOE	95
372932	6665	6678	ACTGATCAAATTGT	2-10-2 MOE	96
372855	6908	6923	TTTTCTTGTATCTGG	3-10-3 MOE	97
372933	6909	6922	TTTTCTTGTATCTG	2-10-2 MOE	98
372856	7190	7205	ATCCATTA AAAACCTGG	3-10-3 MOE	99
372934	7191	7204	TCCATTA AAAACCTG	2-10-2 MOE	100
372858	7817	7832	ATATTGCTCTGCAAAG	3-10-3 MOE	101
372936	7818	7831	TATTGCTCTGCAAA	2-10-2 MOE	102
346610	7818	7831	TATTGCTCTGCAAA	3-8-3 MOE	102
346611	7819	7832	ATATTGCTCTGCAA	3-8-3 MOE	104
346612	7820	7833	AATATTGCTCTGCA	3-8-3 MOE	105
346613	7821	7834	GAATATTGCTCTGC	3-8-3 MOE	106
346614	7822	7835	AGAATATTGCTCTG	3-8-3 MOE	107
346615	7823	7836	TAGAATATTGCTCT	3-8-3 MOE	108
346616	7824	7837	ATAGAATATTGCTC	3-8-3 MOE	109
346617	7825	7838	GATAGAATATTGCT	3-8-3 MOE	110
346618	7826	7839	GGATAGAATATTGC	3-8-3 MOE	111

10

20

30

40

【 0 3 3 3 】

【表 2 - 3】

372859	7995	8010	ATGGAATCCTCAAATC	3-10-3 MOE	112
372937	7996	8009	TGGAATCCTCAAAT	2-10-2 MOE	113
372861	8336	8351	GAATTCTGGTATGTGA	3-10-3 MOE	114
372939	8337	8350	AATTCTGGTATGTG	2-10-2 MOE	115
372862	8341	8356	AGCTGGAATTCTGGTA	3-10-3 MOE	116
372940	8342	8355	GCTGGAATTCTGGT	2-10-2 MOE	117
372863	8539	8554	TGAAAATCAAAATTGA	3-10-3 MOE	118
372941	8540	8553	GAAAATCAAAATTG	2-10-2 MOE	119
372871	9344	9359	AAACAGTGCATAGTTA	3-10-3 MOE	120
372949	9345	9358	AACAGTGCATAGTT	2-10-2 MOE	121
372872	9515	9530	TTCAGGAATTGTTAAA	3-10-3 MOE	122
372950	9516	9529	TCAGGAATTGTTAA	2-10-2 MOE	123
372875	9794	9809	TTTTGTTTCATTATAG	3-10-3 MOE	124
372953	9795	9808	TTTGTTTCATTATA	2-10-2 MOE	125
372877	10157	10172	GATGACACTTGATTTA	3-10-3 MOE	126
372955	10158	10171	ATGACACTTGATT	2-10-2 MOE	127
372878	10161	10176	GTGTGATGACACTTGA	3-10-3 MOE	128
372956	10162	10175	TGTGATGACACTTG	2-10-2 MOE	129
372879	10167	10182	TATTCAGTGTGATGAC	3-10-3 MOE	130
372957	10168	10181	ATTCAGTGTGATGA	2-10-2 MOE	131
372880	10172	10187	ATTGGTATTCAGTGTG	3-10-3 MOE	132
372958	10173	10186	TTGGTATTCAGTGT	2-10-2 MOE	133
346619	10838	10851	CCTCTAGCTGTAAG	3-8-3 MOE	134
346620	10839	10852	CCCTCTAGCTGTAA	3-8-3 MOE	135
346621	10840	10853	GCCCTCTAGCTGTA	3-8-3 MOE	136
346622	10841	10854	GGCCCTCTAGCTGT	3-8-3 MOE	137
346623	10842	10855	AGGCCCTCTAGCTG	3-8-3 MOE	138
346624	10843	10856	GAGGCCCTCTAGCT	3-8-3 MOE	139
346625	10844	10857	AGAGGCCCTCTAGC	3-8-3 MOE	140
346626	10845	10858	AAGAGGCCCTCTAG	3-8-3 MOE	141
346627	10846	10859	AAAGAGGCCCTCTA	3-8-3 MOE	142
372890	13689	13704	GAATGGACAGGTCAAT	3-10-3 MOE	143
372968	13690	13703	AATGGACAGGTCAA	2-10-2 MOE	144
372891	13694	13709	GTTTTGAATGGACAGG	3-10-3 MOE	145
372969	13695	13708	TTTTGAATGGACAG	2-10-2 MOE	146
372892	13699	13714	TGGTAGTTTTGAATGG	3-10-3 MOE	147
372970	13700	13713	GGTAGTTTTGAATG	2-10-2 MOE	148
346628	13907	13920	TCACTGTATGGTTT	3-8-3 MOE	149
346629	13908	13921	CTCACTGTATGGTT	3-8-3 MOE	150
346630	13909	13922	GCTCACTGTATGGT	3-8-3 MOE	151
346631	13910	13923	GGCTCACTGTATGG	3-8-3 MOE	152
346632	13911	13924	TGGCTCACTGTATG	3-8-3 MOE	153
346633	13912	13925	CTGGCTCACTGTAT	3-8-3 MOE	154
346634	13913	13926	GCTGGCTCACTGTA	3-8-3 MOE	155
346635	13914	13927	GGCTGGCTCACTGT	3-8-3 MOE	156
346636	13915	13928	AGGCTGGCTCACTG	3-8-3 MOE	157
346637	13963	13976	CAGGTCCAGTTCAT	3-8-3 MOE	158
346638	13964	13977	GCAGGTCCAGTTC	3-8-3 MOE	159
346639	13965	13978	TGCAGGTCCAGTTC	3-8-3 MOE	160
346640	13966	13979	GTGCAGGTCCAGTT	3-8-3 MOE	161
346641	13967	13980	GGTGCAGGTCCAGT	3-8-3 MOE	162

【 0 3 3 4 】

10

20

30

40

【表 2 - 4】

346642	13968	13981	TGGTGCAGGTCCAG	3-8-3 MOE	163
346643	13969	13982	TTGGTGCAGGTCCA	3-8-3 MOE	164
346644	13970	13983	TTTGGTGCAGGTCC	3-8-3 MOE	165
346645	13971	13984	CTTTGGTGCAGGTC	3-8-3 MOE	166
346646	14051	14064	TAACTCAGATCCTG	3-8-3 MOE	167
346647	14052	14065	ATAACTCAGATCCT	3-8-3 MOE	168
346648	14053	14066	AATAACTCAGATCC	3-8-3 MOE	169
346649	14054	14067	AAATAACTCAGATC	3-8-3 MOE	170
346650	14055	14068	AAAATAACTCAGAT	3-8-3 MOE	171
346651	14056	14069	CAAAATAACTCAGA	3-8-3 MOE	172
346652	14057	14070	GCAAAATAACTCAG	3-8-3 MOE	173
346653	14058	14071	AGCAAAATAACTCA	3-8-3 MOE	174
346654	14059	14072	TAGCAAAATAACTC	3-8-3 MOE	175

【 0 3 3 5 】

【表 3 - 1】

表 3: 配列番号 1 に対して標的化され、かつ1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

Isis NO.	5' 標的的部位	3' 標的的部位	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
372894	771	784	CGGAGGTGCTTGAA	2-10-2 MOE	17
372905	1111	1124	CAGGGCCTGGAGAG	2-10-2 MOE	176
346628	1493	1506	TCACTGTATGGTTT	3-8-3 MOE	149
372828	2006	2021	TCTGAAGTCCATGATC	3-10-3 MOE	177
372906	2007	2020	CTGAAGTCCATGAT	2-10-2 MOE	178
372830	2382	2397	TGGGCATGATTCCATT	3-10-3 MOE	179
372908	2383	2396	GGGCATGATTCCAT	2-10-2 MOE	180
346616	3162	3175	ATAGAATATTGCTC	3-8-3 MOE	109
346617	3163	3176	GATAGAATATTGCT	3-8-3 MOE	110
372929	3513	3526	GGTTCTGCTTTCAA	2-10-2 MOE	94
372946	3800	3813	TGGAGCCCACGTGC	2-10-2 MOE	181
372904	4040	4053	CACTGGAGGATGTG	2-10-2 MOE	46
372842	4084	4099	TTGAAGTTGAGGGCTG	3-10-3 MOE	182
372920	4085	4098	TGAAGTTGAGGGCT	2-10-2 MOE	183
346586	4778	4791	TGTTGCCACATTGC	3-8-3 MOE	35
372847	5030	5045	ACCAGTATTAATTTTG	3-10-3 MOE	184
372925	5031	5044	CCAGTATTAATTTT	2-10-2 MOE	185
372848	5192	5207	GTGTTCTTTGAAGCGG	3-10-3 MOE	186
372926	5193	5206	TGTTCTTTGAAGCG	2-10-2 MOE	187
372953	5625	5638	TTTGTTTCATTATA	2-10-2 MOE	125
372935	7585	7598	AGTTACTTTGGTGT	2-10-2 MOE	188
372860	8255	8270	TGGTACATGGAAGTCT	3-10-3 MOE	189
372938	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 MOE	190
391260	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 MOE	190
392068	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 MOE	190
387462	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 メチレンオキシ BNA	190
391872	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	1-1-10-2 2'-(フチルア セトアミド)-パルミタミド メチレンオキシ BNA/メチレ ンオキシ BNA ギャップ内のシチンは 非修飾	190
380148	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 メチレンオキシ BNA	190
391871	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	1-1-10-2 2'-(フチルア セトアミド)-パルミタミド /MOE/MOE ギャップ内のシチンは 非修飾	190
391755	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 ENA mC はウイング内のみ	190
398296	8256	8269	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 (6'S)-6'-メチ ル-メチレンオキシ BNA シチンは非修飾	190
372942	8455	8468	TCCATGCCATATGT	2-10-2 MOE	200
372865	8888	8903	CCCTGAAGAAGTCCAT	3-10-3 MOE	201

10

20

30

40



【表 3 - 2】

372943	8889	8902	CCTGAAGAAGTCCA	2-10-2 MOE	202
372866	8908	8923	GCCAGTTCATGACC	3-10-3 MOE	203
372944	8909	8922	CCCAGTTCATGAC	2-10-2 MOE	204
372867	9058	9073	TTGAGGAAGCCAGATT	3-10-3 MOE	205
372945	9059	9072	TGAGGAAGCCAGAT	2-10-2 MOE	206
372870	9261	9276	TGGATGCAGTAATCTC	3-10-3 MOE	207
372948	9262	9275	GGATGCAGTAATCT	2-10-2 MOE	208
372881	10185	10200	TATAAAGTCCAGCATT	3-10-3 MOE	209
372959	10186	10199	ATAAAGTCCAGCAT	2-10-2 MOE	210
372882	10445	10460	AAGTTCCTGCTTGAAG	3-10-3 MOE	211
372960	10446	10459	AGTTCCTGCTTGAA	2-10-2 MOE	212
372964	11451	11464	AATGGTGAAGTACT	2-10-2 MOE	213
346612	13459	13472	AATATTGCTCTGCA	3-8-3 MOE	105
346613	13460	13473	GAATATTGCTCTGC	3-8-3 MOE	106

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 2 6 3 ~ 2 7 8 である。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 2 6 3 ~ 2 7 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 6 または 1 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 2 6 3 ~ 2 7 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 2 8 1 6 または 3 7 2 8 9 4 から選択される。

## 【 0 3 3 7 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 4 2 8 ~ 4 8 3 である。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 4 2 8 ~ 4 8 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6 または 2 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 4 2 8 ~ 4 8 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 2 8 1 7、3 7 2 8 9 5、3 7 2 8 1 8、3 7 2 8 9 6、3 7 2 8 1 9、3 7 2 8 9 7、3 7 2 8 2 0、3 7 2 8 9 8、3 7 2 8 2 1 または 3 7 2 8 9 9 から選択される。

## 【 0 3 3 8 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 4 2 8 ~ 4 5 8 である。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 4 2 8 ~ 4 5 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4 または 2 5 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 4 2 8 ~ 4 5 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 2 8 1 7、3 7 2 8 9 5、3 7 2 8 1 8、3 7 2 8 9 6、3 7 2 8 1 9、3 7 2 8 9 7、3 7 2 8 2 0 または 3 7 2 8 9 8 から選択される。

## 【 0 3 3 9 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 4 6 8 ~ 4 8 3 である。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 4 6 8 ~ 4 8 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 6 または 2 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 4 6 8 ~ 4 8 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 2 8 2 1 または 3 7 2 8 9 9 から選択される。

## 【 0 3 4 0 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 5 8 7 ~ 6 0 7 である。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド 5 8 7 ~ 6 0 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 8、2 9、3 0 または 3 1 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 1 のヌクレオチド

10

20

30

40

50

587～607に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372822、372900、372823または372901から選択される。

【0341】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド715～736である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド715～736に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号32、33、34、35、36、37、38、39または40から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド715～736に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346583、346584、346585、346586、346587、346588、346589、346590または346591から選択される。

10

【0342】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド929～944である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド929～944に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号41または42から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド929～944に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372824または372902から選択される。

【0343】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド1256～1319である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド1256～1319に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号43、44、45または46から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド1256～1319に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372825、372903、372826または372904から選択される。

20

【0344】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド1256～1271である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド1256～1271に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号43または44から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド1256～1271に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372825または372903から選択される。

30

【0345】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド1304～1319である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド1304～1319に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号45または46から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド1304～1319に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372826または372904から選択される。

【0346】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド2135～2150である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド2135～2150に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号47または48から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド2135～2150に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372829または372907から選択される。

40

【0347】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド2774～2794である。特定のような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド2774～2794に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号49、50、51または52から

50

選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド2774～2794に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372832、372910、372833または372911から選択される。

【0348】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド2961～2976である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド2961～2976に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号53または54から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド2961～2976に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372835または372913から選択される。

10

【0349】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド3248～3269である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3248～3269に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号55、56、57、58、59、60、61、62または63から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3248～3269に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346592、346593、346594、346595、346596、346597、346598、346599または346600から選択される。

【0350】

20

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド3350～3375である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3350～3375に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号64、65、66、67、68または69から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3350～3375に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372836、372914、372837、372915、372838または372916から選択される。

【0351】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド3409～3424である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3409～3424に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号70または73から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3409～3424に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372839、387461、380147または372917から選択される。

30

【0352】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド3573～3588である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3573～3588に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号74または75から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3573～3588に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372840または372918から選択される。

40

【0353】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド3701～3716である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3701～3716に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号76または77から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド3701～3716に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372841または372919から選択される。

【0354】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド4219～4234であ

50

る。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド4219～4234に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号78または79から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド4219～4234に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372843または372921から選択される。

**【0355】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド4301～4323である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド4301～4323に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号80、81、82または83から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号1のヌクレオチド4301～4323に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372844、372922、372845または372923から選択される。

10

**【0356】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド5588～5609である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド5588～5609に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号84、85、86、87、88、89、90、91または92から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド5588～5609に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346601、346602、346603、346604、346605、346606、346607、346608または346609から選択される。

20

**【0357】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド5924～5939である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド5924～5939に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号93または94から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド5924～5939に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372851または372929から選択される。

**【0358】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド6664～6679である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド6664～6679に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号95または96から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド6664～6679に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372854または372932から選択される。

30

**【0359】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド6908～6923である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド6908～6923に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号97または98から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド6908～6923に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372855または372933から選択される。

40

**【0360】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド7190～7205である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド7190～7205に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号99または100から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド7190～7205に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372856または372934から選択される。

**【0361】**

50

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド7817~7839である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド7817~7839に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号101、102、104、105、106、107、108、109、110または111から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド7817~7839に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372858、372936、346610、346611、346612、346613、346614、346615、346616、346617または346618から選択される。

**【0362】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド7995~8010である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド7995~8010に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号112または113から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド7995~8010に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372859または372937から選択される。

**【0363】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド8336~8356である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド8336~8356に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号114、115、116または117から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド8336~8356に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372861、372939、372862または372940から選択される。

**【0364】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド8539~8554である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド8539~8554に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号118または119から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド8539~8554に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372863または372941から選択される。

**【0365】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド9344~9359である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド9344~9359に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号120または121から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド9344~9359に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372871または372949から選択される。

**【0366】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド9515~9530である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド9515~9530に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号122または123から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド9515~9530に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372872または372950から選択される。

**【0367】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド9794~9809である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド9794~9809に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号124または125から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド9794~9809に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号37

10

20

30

40

50

2 8 7 5 または 3 7 2 9 5 3 から選択される。

【0368】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド10157～10187である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド10157～10187に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号126、127、128、129、130、131、132または133から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド10157～10187に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372877、372955、372878、372956、372879、372957、372880または372958から選択される。

10

【0369】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド10838～10859である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド10838～10859に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号134、135、136、137、138、139、140、141または142から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド10838～10859に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346619、346620、346621、346622、346623、346624、346625、346626または346627から選択される。

20

【0370】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド13689～13714である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド13689～13714に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号143、144、145、146、147または148から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド13689～13714に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372890、372968、372891、372969、372892または372970から選択される。

【0371】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド13907～13928である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド13907～13928に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号149、150、151、152、153、154、155、156または157から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド13907～13928に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346628、346629、346630、346631、346632、346633、346634、346635または346636から選択される。

30

【0372】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド13963～13984である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド13963～13984に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号158、159、160、161、162、163、164、165または166から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド13963～13984に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346637、346638、346639、346640、346641、346642、346643、346644または346645から選択される。

40

【0373】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号1のヌクレオチド14051～14072である。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド14051～14072に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号167、168、169、170、171、172、173、174または175から選択されるヌクレオチド配

50

列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1のヌクレオチド14051~14072に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号346646、346647、346648、346649、346650、346651、346652、346653または346654から選択される。

【0374】

特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

10

【0375】

特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマー (shortギャップマー) である。特定のこのような実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1~3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオチドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、-L-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、-D-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'- (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2')BNAおよびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2')BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)およびO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換のC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2' MOEヌクレオチドである。

20

30

【0376】

特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合)(gap modifications (if any) gap)は、その標的核酸に結合したときに、RNase (RNase Hが挙げられるがこれに限定されない)による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

40

【0377】

特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

【0378】

特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖ア

50

ンチセンス化合物は、長さ9モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ11モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ13モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ14モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ15モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ16モノマーである。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9~15モノマーを含む。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10~15モノマーを含む。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14モノマーを含む。特定の実施形態では、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

10

## 【0379】

特定の実施形態では、本発明は、A p o B の発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、1以上のA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、A p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約8~約16モノマー、好ましくは9~15モノマー、より好ましくは9~14モノマー、より好ましくは10~14モノマー（すなわち、約8~約16の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15または16のモノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物1つ以上を用いるA p o B の発現を調節する方法を包含することを理解する。

20

## 【0380】

特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ8モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ9モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ10モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ11モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ12モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ13モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ14モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ15モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B を調節する方法は、長さ16モノマーのA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

30

40

## 【0381】

特定の実施形態では、A p o B の発現を調節する方法は、9~15モノマーを含むA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B の発現を調節する方法は、10~15モノマーを含むA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B の発現を調節する方法は、12~14モノマーを含むA p o B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、A p o B の発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含むA p o B 核酸

50



に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

【0382】

特定の実施形態では、ApoB核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の1以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、ApoB核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1-12-1、1-1-10-2、2-10-1-1、3-10-3、2-10-3、2-10-2、1-10-1、1-10-2、3-8-3、2-8-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1、より好ましくは1-10-1、2-10-2、3-10-3および1-9-2から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。

10

【0383】

2. SGLT-2

ナトリウム依存性グルコース輸送体2(SGLT-2)は、腎臓の近位尿細管の上皮細胞において発現され、そして、グルコースを再吸収して、尿中へのグルコースの損逸を防ぐように機能する。ヒトゲノムについて、SGLT-2は、11のメンバーからなるナトリウム基質共輸送体のファミリーのメンバーである。これらのファミリーメンバーの多くは、配列相同性を共有し、例えば、SGLT1は、SGLT-2と約59%の配列同一性を共有し、そして、SGLT-3と約70%の配列同一性を共有する。SGLT-1は、心臓およびCNSにおいて見られるグルコース輸送体である。SGLT-3は、小腸におけるグルコース感知性ナトリウムチャンネルである。これらのSGLTについての個別の局在化パターンは、相同なファミリーメンバー間を区別する1つのポイントである。(Handlon, A. L., Expert Opin. Ther. Patents (2005) 15(11): 1532-1540; Kanai et al., J. Clin. Invest., 1994, 93, 397-404; Wells et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 1992, 263, F459-465)。

20

【0384】

アフリカツメガエルの卵母細胞に注入したヒトSGLT2の研究は、このタンパク質が、D-グルコースおよびα-D-メチル-D-グルコピラノシド(α-MeGlc; グルコースアナログ)のナトリウム依存性の輸送を媒介し、α-MeGlcについてのKm値が1.6mMであり、ナトリウムとグルコースのカップリング比が1:1であることを実証した(Kanai et al., J. Clin. Invest., 1994, 93, 397-404; You et al., J. Biol. Chem., 1995, 270, 29365-29371)。この輸送活性は、フロリジン(SGLTのグルコース部位には結合するが、輸送されず、したがって、SGLTの作用を阻害する植物性グルコシド)によって抑制される(You et al., J. Biol. Chem., 1995, 270, 29365-29371)。

30

【0385】

糖尿病は、インシュリン作用の欠陥に起因する高血糖により特徴付けられる障害である。慢性高血糖は、糖尿病に付随する合併症(心臓病、網膜症、腎症およびニューロパシー)が挙げられるがこれらに限定されない)に対する主要な危険因子である。腎臓は、血漿グルコースレベルの調節において主要な役割を果たすので、腎グルコース輸送体は、魅力的な薬物標的となっている(Wright, Am. J. Physiol. Renal Physiol., 2001, 280, F10-18)。糖尿病性腎症は、糖尿病を有する多くの患者において発症する末期の腎疾患の最も一般的な原因である。長期の高血糖から生じる、糖毒性(glucotoxicity)は、糖尿病患者における組織依存性のインシュリン抵抗性を誘導する(Nawano et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 2000, 278, E535-543)。

40

【0386】

定義

50

「ナトリウム依存性グルコース輸送体 2」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質である。ナトリウム依存性グルコース輸送体 2 は、一般に、SGLT2 と称されるが、SLC5A2；ナトリウム - グルコース輸送体 2；ナトリウム - グルコース共輸送体、腎低親和性；ナトリウム - グルコース共輸送体、腎；溶質キャリアファミリー 5（ナトリウム / グルコース共輸送体）、メンバー 2；SL52 とも称され得る。

【0387】

「SGLT2 核酸」は、SGLT2 をコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、SGLT2 核酸としては、SGLT2 をコードする DNA 配列、SGLT2 をコードする DNA から転写された RNA 配列、および SGLT2 をコードする mRNA 配列が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0388】

「SGLT2 mRNA」は、SGLT2 タンパク質をコードする mRNA を意味する。

【0389】

治療上の適応

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、SGLT-2 および関連のタンパク質の発現を調節するために使用される。特定の実施形態では、このような調節は、SGLT-2 をコードする 1 以上の標的核酸分子（SGLT2、SL52、SLC5A2、ナトリウム - グルコース共輸送体、腎低親和性ナトリウム - グルコース共輸送体、腎ナトリウム - グルコース共輸送体 2 および溶質キャリアファミリー 5 ナトリウム / グルコース共輸送体メンバー 2 が挙げられるがこれらに限定されない）とハイブリッド形成する短鎖アンチセンス化合物を提供することによって達成される。また、本明細書中に記載される代謝および / または心血管の疾患および障害を処置する方法も提供される。特定の実施形態では、SGLT2 の発現を阻害する短鎖アンチセンス化合物が、動物において血中グルコースレベルを低下させる方法、および、2 型糖尿病の発病を遅延または防止する方法において使用される。このような方法は、本発明の 1 以上の化合物の治療上または予防上有効な量を、処置を必要とする可能性のある動物に対して投与する工程を包含する。1 以上の化合物は、SGLT2 をコードする核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物であり得る。本明細書中には、腎細胞または腎組織における SGLT2 の発現の阻害を強化する方法が提供され、この方法は、SGLT2 をコードする核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物のような本発明の 1 以上の化合物に、細胞または組織を接触させる工程を包含する。

20

30

【0390】

特定の実施形態にしたがって、特定の化合物、組成物および方法が具体的に記載されているが、以下の例は、本発明の化合物を例示するようにのみ機能し、本発明の化合物を限定することは意図されない。

【0391】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、混合型のホスホロチオエートおよびホスホジエステルバックボーンを有するキメラオリゴマー性化合物である。特定の混合型バックボーンの短鎖アンチセンス化合物は、両側に 2 つのウィングが配置された、少なくとも 5 個の連続した 2' - デオキシヌクレオチドを含む中央のギャップを有し、この 2 つのウィングの各々は、少なくとも 1 つの 2' - O - メトキシエチルヌクレオシドを含む。特定の実施形態では、この混合型バックボーン化合物のヌクレオシド間結合は、ギャップ内ではホスホロチオエート結合であり、そして、2 つのウィング内ではホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、混合型バックボーン化合物は、オリゴヌクレオチドの最 5' 末端および最 3' 末端の一方または両方にある 1 つのホスホジエステル結合を除いて、ウィング内にホスホロチオエート結合を有する。特定の実施形態では、SGLT2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、3 - 10 - 3、2 - 10 - 3、2 - 10 - 2、1 - 10 - 1、1 - 10 - 2、2 - 8 - 2、1 - 9 - 2、1 - 8 - 1、3 - 6 - 3 または 1 - 6 - 1 から選択されるモチーフ（ウィング - デオキシギャップ - ウィング）を

40

50

有する。特定の実施形態では、SGLT2に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、1-10-1、1-10-2、2-8-2、1-9-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。

【0392】

特定の実施形態では、SGLT2核酸に対して標的化され、かつ、混合型バックボーンを有する短鎖アンチセンス化合物は、腎臓に効率的に送達される。特定の実施形態では、SGLT2核酸に対して標的化され、かつ、混合型バックボーンを有する短鎖アンチセンス化合物の投与は、腎臓における標的遺伝子の発現の調節をもたらす。特定の実施形態では、肝臓または腎臓には、ほとんど毒性がないか、または全く毒性がない。特定の実施形態では、SGLT2核酸に対して標的化され、かつ、混合型バックボーンを有する短鎖アンチセンス化合物は、SGLT-2 mRNAの減少についてより強力であり、そして、混合型バックボーンを有さないが、その他は同一の短鎖アンチセンス化合物と比較して、開始がより早い。特定の実施形態では、このような効能の増大および/または毒性の減少は、マウスおよび/またはラットにおいてである。特定の実施形態では、このような効能の増大および/または毒性の減少は、ヒトにおいてである。

【0393】

一例として、そして、例示のみの目的で、一様にホスホロチオエート結合を含むISIS 145733と、ウィングにホスホジエステル結合を、そして、ギャップにホスホロチオエート結合を含むISIS 257016とは、その他は同一である。両方とも、配列GAAGTAGCCACCAACTGTGC(配列番号1572)を含む。これらのオリゴヌクレオチドは共に、さらに、両側に5個のヌクレオチドの2'-メトキシエチル(2'-MOE)ヌクレオチドが配置された、10個の2'-デオキシヌクレオチドから構成されるギャップを含む。シチジン残基は全て、5-メチルシチジンである。混合型バックボーン化合物であるISIS 257016は、非混合型の親化合物であるISIS 145733と比べて、SGLT-2 mRNAの減少について、約50倍より強力であった(実施例9を参照のこと)。

【0394】

特定の実施形態では、混合型バックボーン化合物ISIS 257016の薬物動態研究は、特定の実施形態では、この化合物が、12核酸塩基のファーマコフォア(pharmacophore)へと代謝されるプロドラッグとして機能することを示す。ISIS 370717(ISIS 257016に対応する12核酸塩基の短鎖アンチセンス化合物)を用いた研究は、この化合物が、ISIS 257016に似た薬理学的プロフィールを有するが、作用の開始はより早いことを示す。ISIS 370717は、配列TAGCCACCAACT(配列番号1554)を含み、さらに、両側に1ヌクレオチドのウィングが配置された10個の2'-デオキシヌクレオチドからなるギャップを含む、SGLT-2に対して標的化された12核酸塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドである。ウィングは、2'-メトキシエチル(2'-MOE)ヌクレオチドから構成される。シチジン残基は全て5-メチルシチジンである。ヌクレオシド間結合は、このオリゴヌクレオチド全体を通して、ホスホロチオエート(P=S)である。ISIS 257016およびISIS 370717の薬理学的活性の類似性は、ISIS 257016が12ヌクレオチドのファーマコフォアを有するプロドラッグであったことを示す薬物動態研究を支持する(実施例10を参照のこと)。さらに、ISIS 257016の安定化された(末端をキャッピングされた)バージョンを用いた研究は、活性の劇的な喪失を示す。

【0395】

特定の実施形態では、ウィングに2'MOEモノマーを含む短鎖アンチセンス化合物は、腎臓に効率的に送達され、そして、このような化合物を用いた処置は、肝毒性も腎毒性もなしに、腎臓における標的遺伝子発現の効率的な調節をもたらす。さらに、本明細書中では、特定の実施形態において、短鎖アンチセンス化合物が、SGLT-2 mRNAの

10

20

30

40

50

減少についてより強力であり、そして、マウスおよびラットにおいて、SGLT-2 mRNAに対して標的化された親オリゴヌクレオチドと比較して、より開始が早いことが示される。2' MOEの短鎖ギャップマー (gap shortmer) は、親化合物を上回って、効能およびバイオアベイラビリティが改善されることが本明細書中で示される。

【0396】

一例として、そして、例示のみの目的で、ISIS 370717を用いた研究は、腎臓組織における短鎖アンチセンス化合物が、より長い親化合物と比較して有意により高く蓄積することを明らかにする(組織1グラムあたり、約500マイクログラム)。さらに、SGLT-2 mRNAは、コントロールを上回って、80%より多く減少された(実施例11を参照のこと)。ISIS 370717の1-10-1ギャップマーは、種々のモチーフを有する配列が関連するオリゴを作製するための鋳型として使用された。ISIS 370717の12マーのオリゴヌクレオチドを取り巻く、ウィング、ギャップおよび全長のバリエーションを評価する研究が、実施例12に見られ得る。評価した特定のモチーフには、1-10-1、2-8-2、1-8-1、3-6-3および1-6-1が含まれた(実施例12の表60を参照のこと)。これらの化合物は、SGLT2 mRNAレベルに対するその作用について分析された。これらのモチーフは全て、用量依存性の様式で、インビボにおいてSGLT2の発現を阻害した。1-10-1、2-8-2および1-8-1のギャップマーは、特に強力であることが分かった。SGLT-2 mRNAは、これらのモチーフを用いると、コントロールを上回って、80%より多く減少された。

【0397】

特定の実施形態では、本発明は、SGLT2核酸に対して標的化され、かつ、1-10-1 MOEギャップマーおよび1-10-2 MOEギャップマーから選択されるモチーフを有する短鎖アンチセンス化合物を提供する(実施例13の表62を参照のこと)。特定のこのような化合物は、ラットのSGLT2 mRNAに対するその作用について分析された。表63の結果は、1-10-1 MOEギャップマーおよび1-10-2 MOEギャップマーの両方が、用量依存性の様式で、インビボでSGLT2の発現を阻害し、そして、SGLT-2 mRNAの80%を超える減少が達成され得ることを示す。

【0398】

特定のさらなる1-10-1 MOEギャップマーおよび2-8-2 MOEギャップマーは、マウスおよびラットの両方のインビボモデルにおいて評価された(例えば、実施例14および15を参照のこと)。SGLT-2 mRNAにおける80%より多い減少が、比較的低い濃度のオリゴで、そして、あらゆる毒性作用なしに、1-10-1 MOEギャップマーおよび2-8-2 MOEギャップマーの多くで達成された。

【0399】

別の非限定的な例では、イヌのSGLT2 mRNAレベルに対するISIS 388625の作用もまた分析された。イヌの研究は、SGLT2の発現の80%より多い阻害が、1mg/kg/wkの用量で達成され得ることを示す。なおより多い阻害が、わずかにより高い用量で達成され得る。イヌにおけるISIS 388625の投与もまた、グルコース耐性を改善したことが示された。ピーク血漿グルコースレベルは、平均して50%より多く減少され、そして、その後のグルコースの低下は、標準的なグルコース耐性試験における生理食塩水のコントロールと比較して、少なくなっていた(実施例17を参照のこと)。また、糖尿病のラットモデルにおいては、短鎖アンチセンス化合物は、PBSおよびコントロールで処置された動物と比較して、経時的に、血漿グルコースレベルおよびHbA<sub>1c</sub>を有意に減少させることが示された(実施例16を参照のこと)。

【0400】

全ての研究における動物は、さらに、毒性について評価された。例えば、総体重、肝臓の重量、脾臓の重量および腎臓の重量が評価された。脾臓の重量、肝臓の重量または体重における有意な差は、特定の化合物が毒性作用を引き起こすことを示し得る。全ての変化は、誤差の限界範囲内であることが分かった。処置の間または研究の終了時点では、体重

10

20

30

40

50

における有意な変化が観察されなかった。肝臓または脾臓の重量における有意な変化が観察されなかった。

【0401】

SGLT2 核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、GENBANK（登録商標）アクセッション番号 NM\_003041.1（本明細書中に配列番号 2 として引用される）の配列を有する SGLT2 核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 に対して少なくとも 90% 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 に対して少なくとも 95% 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 に対して 100% 相補的である。特定の実施形態では、配列番号 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 4 および 5 に示されるヌクレオチド配列を含む。

10

【0402】

表 4 および 5 に示される各配列番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、モノマー性結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾を含み得る。I s i s 番号 ( I s i s N O . ) によって説明されるアンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾との組み合わせを示す。

20

【0403】

表 4 および 5 は、配列番号 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表 4 は、配列番号 3 に対して 100% 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表 5 は、配列番号 3 に関して、1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾糖を含む。特定の 2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2 のギャップマーモチーフであって、10 個の 2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOEヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに 5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内のみ 5-mC」は、ギャップセグメントが 5-メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

30

【0404】

【表 4 - 1】

表 4: 配列番号 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS No	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマーの モチーフ	配列番号
379684	84	95	TGTCAGCAGGAT	1-10-1 MOE	214
405193	113	124	CAGCAGGAAATA	2-8-2 MOE	215
405194	114	125	CCAGCAGGAAAT	2-8-2 MOE	216
405195	115	126	ACCAGCAGGAAA	2-8-2 MOE	217
405196	116	127	GACCAGCAGGAA	2-8-2 MOE	218
405197	117	128	TGACCAGCAGGA	2-8-2 MOE	219
379685	117	128	TGACCAGCAGGA	1-10-1 MOE	219
405198	118	129	ATGACCAGCAGG	2-8-2 MOE	221
405199	119	130	AATGACCAGCAG	2-8-2 MOE	222
405200	120	131	CAATGACCAGCA	2-8-2 MOE	223
405201	121	132	CCAATGACCAGC	2-8-2 MOE	224
379686	135	146	ACCACAAGCCAA	1-10-1 MOE	225
379711	172	183	TAGCCGCCACA	1-10-1 MOE	226
388628	172	183	TAGCCGCCACA	2-8-2 MOE	226
405202	207	218	CCGGCCACCACA	2-8-2 MOE	228
405203	208	219	ACCGCCACCAC	2-8-2 MOE	229
405204	236	247	GATGTTGCTGGC	2-8-2 MOE	230
379687	236	247	GATGTTGCTGGC	1-10-1 MOE	230
405205	237	248	CGATGTTGCTGG	2-8-2 MOE	232
405206	238	249	CCGATGTTGCTG	2-8-2 MOE	233
405207	239	250	GCCGATGTTGCT	2-8-2 MOE	234
405208	240	251	TGCCGATGTTGC	2-8-2 MOE	235
405209	241	252	CTGCCGATGTTG	2-8-2 MOE	236
405210	260	271	CAGGCCACAAA	2-8-2 MOE	237
405211	261	272	CCAGGCCACAAA	2-8-2 MOE	238
405212	262	273	GCCAGGCCACAA	2-8-2 MOE	239
379688	288	299	CCAAGCCACTTG	1-10-1 MOE	240
379689	318	329	AGAGCGCATTCC	1-10-1 MOE	241
379690	435	446	ACAGGTAGAGGC	1-10-1 MOE	242
405248	474	485	AGATCTTGGTGA	2-8-2 MOE	243
379691	474	485	AGATCTTGGTGA	1-10-1 MOE	243
382676	527	539	TGTTCCAGCCCAG	1-10-2 MOE	245
388625	528	539	TGTTCCAGCCCA	2-8-2 MOE	246
389780	528	539	TGTTCCAGCCCA	1-9-2 MOE	246
379692	528	539	TGTTCCAGCCCA	1-10-1 MOE	246
392170	528	539	TGTTCCAGCCCA	1-10-1 メチレンオキ シ BNA	246
392173	528	539	TGTTCCAGCCCA	2-8-2 メチレンオキシ BNA	246
405213	529	540	ATGTTCCAGCCC	2-8-2 MOE	251
405214	564	575	TGGTGATGCCCA	2-8-2 MOE	252
405215	565	576	ATGGTGATGCC	2-8-2 MOE	253
405216	566	577	CATGGTGATGCC	2-8-2 MOE	254
379693	566	577	CATGGTGATGCC	1-10-1 MOE	254
405217	567	578	TCATGGTGATGC	2-8-2 MOE	256
405218	568	579	ATCATGGTGATG	2-8-2 MOE	257
405219	587	598	CCCTCCTGTCAC	2-8-2 MOE	258

10

20

30

40

【表 4 - 2】

405220	588	599	GCCCTCCTGTCA	2-8-2 MOE	259
405221	589	600	AGCCCTCCTGTC	2-8-2 MOE	260
405222	590	601	CAGCCCTCCTGT	2-8-2 MOE	261
405223	591	602	CCAGCCCTCCTG	2-8-2 MOE	262
405224	592	603	GCCAGCCCTCCT	2-8-2 MOE	263
379694	629	640	GACGAAGGTCTG	1-10-1 MOE	264
405225	707	718	GTATTTGTGCGAA	2-8-2 MOE	265
379695	737	748	GGACACCGTCAG	1-10-1 MOE	266
379696	974	985	CAGCTTCAGGTA	1-10-1 MOE	267
405226	998	1009	CATGACCATGAG	2-8-2 MOE	268
405227	999	1010	GCATGACCATGA	2-8-2 MOE	269
405228	1000	1011	GGCATGACCATG	2-8-2 MOE	270
405229	1001	1012	TGGCATGACCAT	2-8-2 MOE	271
405230	1002	1013	CTGGCATGACCA	2-8-2 MOE	272
379697	1002	1013	CTGGCATGACCA	1-10-1 MOE	272
405231	1003	1014	CCTGGCATGACC	2-8-2 MOE	274
379698	1091	1102	GCAGCCCACCTC	1-10-1 MOE	275
405232	1092	1103	AGCAGCCCACCT	2-8-2 MOE	276
405233	1093	1104	GAGCAGCCCACC	2-8-2 MOE	277
405234	1130	1141	CATGAGCTTCAC	2-8-2 MOE	278
405235	1131	1142	GCATGAGCTTCA	2-8-2 MOE	279
382677	1131	1143	GGCATGAGCTTCA	1-10-2 MOE	280
388626	1132	1143	GGCATGAGCTTC	2-8-2 MOE	281
379699	1132	1143	GGCATGAGCTTC	1-10-1 MOE	281
405236	1133	1144	GGGCATGAGCTT	2-8-2 MOE	283
405237	1157	1168	CAGCATGAGTCC	2-8-2 MOE	284
405238	1158	1169	CCAGCATGAGTC	2-8-2 MOE	285
379700	1158	1169	CCAGCATGAGTC	1-10-1 MOE	285
405239	1159	1170	GCCAGCATGAGT	2-8-2 MOE	287
379701	1230	1241	CCATGGTGAAGA	1-10-1 MOE	288
405240	1542	1553	CACAGCTGCCCG	2-8-2 MOE	289
405241	1543	1554	ACACAGCTGCC	2-8-2 MOE	290
405242	1544	1555	CACACAGCTGCC	2-8-2 MOE	291
382678	1544	1556	GCACACAGCTGCC	1-10-2 MOE	292
388627	1545	1556	GCACACAGCTGC	2-8-2 MOE	293
379702	1545	1556	GCACACAGCTGC	1-10-1 MOE	293
379703	1701	1712	GCCGGAGACTGA	1-10-1 MOE	295
405243	1976	1987	ATTGAGGTTGAC	2-8-2 MOE	296
405244	1977	1988	CATTGAGGTTGA	2-8-2 MOE	297
405245	1978	1989	GCATTGAGGTTG	2-8-2 MOE	298
405246	1979	1990	GGCATTGAGGTT	2-8-2 MOE	299
405247	1980	1991	GGGCATTGAGGT	2-8-2 MOE	300

【 0 4 0 6 】

10

20

30

40

【表 5】

表 5: 配列番号 3 に対して標的化され、かつ1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS No	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーの モチーフ	配列番号
405200	96	107	CAATGACCAGCA	2-8-2 MOE	223
405215	382	393	ATGGTGATGCCC	2-8-2 MOE	253
405216	383	394	CATGGTGATGCC	2-8-2 MOE	254
379693	383	394	CATGGTGATGCC	1-10-1 MOE	254
379701	471	482	CCATGGTGAAGA	1-10-1 MOE	288
405218	472	483	ATCATGGTGATG	2-8-2 MOE	257
405246	536	547	GGCATTGAGGTT	2-8-2 MOE	299
405248	570	581	AGATCTTGGTGA	2-8-2 MOE	243
379691	570	581	AGATCTTGGTGA	1-10-1 MOE	243
379698	683	694	GCAGCCCACCTC	1-10-1 MOE	275
405232	684	695	AGCAGCCCACCT	2-8-2 MOE	276
379711	685	696	TAGCCGCCACACA	1-10-1 MOE	226
388628	685	696	TAGCCGCCACACA	2-8-2 MOE	226
379698	950	961	GCAGCCCACCTC	1-10-1 MOE	275
405232	951	962	AGCAGCCCACCT	2-8-2 MOE	276
405235	978	989	GCATGAGCTTCA	2-8-2 MOE	279
382677	978	990	GGCATGAGCTTCA	1-10-2 MOE	280
388626	979	990	GGCATGAGCTTC	2-8-2 MOE	281
379699	979	990	GGCATGAGCTTC	1-10-1 MOE	281
405236	980	991	GGGCATGAGCTT	2-8-2 MOE	283
379698	1043	1054	GCAGCCCACCTC	1-10-1 MOE	275
405239	1171	1182	GCCAGCATGAGT	2-8-2 MOE	287
405209	1213	1224	CTGCCGATGTTG	2-8-2 MOE	236
405233	1364	1375	GAGCAGCCCACC	2-8-2 MOE	277
405240	1366	1377	CACAGCTGCCCG	2-8-2 MOE	289
405211	1500	1511	CCAGGCCACAAA	2-8-2 MOE	238
405212	1501	1512	GCCAGGCCACAAA	2-8-2 MOE	239
379695	1643	1654	GGACACCGTCAG	1-10-1 MOE	266
379698	1875	1886	GCAGCCCACCTC	1-10-1 MOE	275
405239	1993	2004	GCCAGCATGAGT	2-8-2 MOE	287
405211	2210	2221	CCAGGCCACAAA	2-8-2 MOE	238
405212	2211	2222	GCCAGGCCACAAA	2-8-2 MOE	239

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 85 ~ 184 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 85 ~ 184 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 85 ~ 184 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 214、215、216、217、218、219、221、222、223、224、225 または 227 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 のヌクレオチド 85 ~ 184 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ISIS 番号 379684、405193、405194、405195、405196、405197、379685、405198、405199、405200、405201、379686、379711 または 388628 から選択される。

## 【0407】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 113 ~ 132 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 113 ~ 132 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 113 ~ 132 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 215、216、217、218、219、221、222、223 または 224 から選択されるヌクレオチド配列を含む。



特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド113~132に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405193、405194、405195、405196、405197、379685、405198、405199、405200または405201から選択される。

【0408】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド207~329である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド207~329を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド207~329に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号228、229、230、232、233、234、235、236、237、238、239、240または241から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド207~329に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405202、405203、405204、379687、405205、405206、405207、405208、405209、405210、405211、405212、379688または379689から選択される。

10

【0409】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド207~273である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド207~273を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド207~273に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号228、229、230、232、233、234、235、236、237、238または239から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド207~273に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405202、405203、405204、379687、405205、405206、405207、405208、405209、405210、405211または405212から選択される。

20

【0410】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド207~219である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド207~219を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド207~219に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号228または229から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド207~219に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405202または405203から選択される。

30

【0411】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド236~252である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド236~252を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド236~252に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号230、232、233、234、235または236から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド236~252に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405204、379687、405205、405206、405207、405208または405209から選択される。

40

【0412】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド260~273である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド260~273を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド260~273に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号237、238または239から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド260~273に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号4

50

0 5 2 1 0、4 0 5 2 1 1または4 0 5 2 1 2から選択される。

【0 4 1 3】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド4 3 5 ~ 6 4 0である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド4 3 5 ~ 6 4 0を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド4 3 5 ~ 6 4 0に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号2 4 2、2 4 3、2 4 5、2 4 6、2 5 1、2 5 2、2 5 3、2 5 4、2 5 6、2 5 7、2 5 8、2 5 9、2 6 0、2 6 1、2 6 2、2 6 3または2 6 4から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド4 3 5 ~ 6 4 0に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号3 7 9 6 9 0、4 0 5 2 4 8、3 7 9 6 9 1、3 8 9 7 8 0、3 7 9 6 9 2、3 8 2 6 7 6、3 8 8 6 2 5、3 9 2 1 7 0、3 9 2 1 7 3、4 0 5 2 1 3、4 0 5 2 1 4、4 0 5 2 1 5、4 0 5 2 1 6、3 7 9 6 9 3、4 0 5 2 1 7、4 0 5 2 1 8、4 0 5 2 1 9、4 0 5 2 2 0、4 0 5 2 2 1、4 0 5 2 2 2、4 0 5 2 2 3、4 0 5 2 2 4または3 7 9 6 9 4から選択される。

10

【0 4 1 4】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド5 2 7 ~ 5 4 0である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド5 2 7 ~ 5 4 0を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド5 2 7 ~ 5 4 0に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号2 4 5、2 4 6または2 5 1から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド5 2 7 ~ 5 4 0に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号3 8 9 7 8 0、3 7 9 6 9 2、3 8 2 6 7 6、3 8 8 6 2 6、3 9 2 1 7 0、3 9 2 1 7 3または4 0 5 2 1 3から選択される。

20

【0 4 1 5】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド5 6 4 ~ 6 0 3である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド5 6 4 ~ 6 0 3を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド5 6 4 ~ 6 0 3に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号2 5 2、2 5 3、2 5 4、2 5 6、2 5 7、2 5 8、2 5 9、2 6 0、2 6 1、2 6 2または2 6 3から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド5 6 4 ~ 6 0 3に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号4 0 5 2 1 4、4 0 5 2 1 5、4 0 5 2 1 6、3 7 9 6 9 3、4 0 5 2 1 7、4 0 5 2 1 8、4 0 5 2 1 9、4 0 5 2 2 0、4 0 5 2 2 1、4 0 5 2 2 2、4 0 5 2 2 3または4 0 5 2 2 4から選択される。

30

【0 4 1 6】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド5 6 4 ~ 5 7 9である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド5 6 4 ~ 5 7 9を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド5 6 4 ~ 5 7 9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号2 5 2、2 5 3、2 5 4、2 5 6または2 5 7から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド5 6 4 ~ 5 7 9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号4 0 5 2 1 4、4 0 5 2 1 5、4 0 5 2 1 6、3 7 9 6 9 3、4 0 5 2 1 7または4 0 5 2 1 8から選択される。

40

【0 4 1 7】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド5 8 7 ~ 6 0 3である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド5 8 7 ~ 6 0 3を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド5 8 7 ~ 6 0 3に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号2 5 8、2 5 9、2 6 0、2 6 1、2 6 2または2 6 3から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド5 8 7 ~ 6 0 3に対して標的化された短鎖アンチセンス

50

化合物は、I s i s 番号 4 0 5 2 1 9、4 0 5 2 2 0、4 0 5 2 2 1、4 0 5 2 2 2、4 0 5 2 2 3 または 4 0 5 2 2 4 から選択される。

【 0 4 1 8 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 9 7 4 ~ 1 0 1 4 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 9 7 4 ~ 1 0 1 4 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 9 7 4 ~ 1 0 1 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 6 7、2 6 8、2 6 9、2 7 0、2 7 1、2 7 2 または 2 7 4 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 のヌクレオチド 9 7 4 ~ 1 0 1 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 9 6 9 6、4 0 5 2 2 6、4 0 5 2 2 7、4 0 5 2 2 8、4 0 5 2 2 9、4 0 5 2 3 0、3 7 9 6 9 7 または 4 0 5 2 3 1 から選択される。

10

【 0 4 1 9 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 9 9 8 ~ 1 0 1 4 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 9 9 8 ~ 1 0 1 4 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 9 9 8 ~ 1 0 1 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 6 8、2 6 9、2 7 0、2 7 1、2 7 2 または 2 7 4 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 のヌクレオチド 9 9 8 ~ 1 0 1 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 4 0 5 2 2 6、4 0 5 2 2 7、4 0 5 2 2 8、4 0 5 2 2 9、4 0 5 2 3 0、3 7 9 6 9 7 または 4 0 5 2 3 1 から選択される。

20

【 0 4 2 0 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 7 0 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 7 0 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 7 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 7 5、2 7 6、2 7 7、2 7 8、2 7 9、2 8 0、2 8 1、2 8 3、2 8 4、2 8 5、2 8 6 または 2 8 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 のヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 7 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 9 6 9 8、4 0 5 2 3 2、4 0 5 2 3 3、4 0 5 2 3 4、4 0 5 2 3 5、3 8 8 6 2 6、3 7 9 6 9 9、3 8 2 6 7 7、4 0 5 2 3 6、4 0 5 2 3 7、4 0 5 2 3 8、3 7 9 7 0 0 または 4 0 5 2 3 9 から選択される。

30

【 0 4 2 1 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 0 4 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 0 4 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 0 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 7 5、2 7 6 または 2 7 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 のヌクレオチド 1 0 9 1 ~ 1 1 0 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 9 6 9 8、4 0 5 2 3 2 または 4 0 5 2 3 3 から選択される。

40

【 0 4 2 2 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 3 のヌクレオチド 1 1 3 0 ~ 1 1 4 4 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 のヌクレオチド 1 1 3 0 ~ 1 1 4 4 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 1 1 3 0 ~ 1 1 4 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 2 7 8、2 7 9、2 8 0、2 8 1 または 2 8 3 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 3 のヌクレオチド 1 1 3 0 ~ 1 1 4 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 4 0 5 2 3 4、4 0 5 2 3 5、3 8 8 6 2 6、3 7 9 6 9 9、3 8 2 6 7 7 または 4 0 5 2 3 6 から選択される。

【 0 4 2 3 】

50

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド1157～1170である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド1157～1170を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1157～1170に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号284、285または287から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド1157～1170に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405237、405238、379700または405239から選択される。

【0424】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド1542～1556である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド1542～1556を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1542～1556に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号289、290、291、292または293から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド1542～1556に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405240、405241、405242、388629、379702または382678から選択される。

【0425】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号3のヌクレオチド1976～1991である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号3のヌクレオチド1976～1991を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1976～1991に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号296、297、298、299または300から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号3のヌクレオチド1976～1991に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号405243、405244、405245、405246または405247から選択される。

【0426】

特定の実施形態では、S G L T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8～16ヌクレオチド、好ましくは9～15ヌクレオチド、より好ましくは9～14ヌクレオチド、より好ましくは10～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、S G L T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、S G L T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【0427】

特定の実施形態では、S G L T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、S G L T 2 核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、S G L T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1～3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオチドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2')BNAおよびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2')BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)およびO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub>お

10

20

30

40

50

よび  $R_n$  の各々は、独立して、H または置換もしくは非置換の  $C_1 \sim C_{10}$  アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは 2' MOEヌクレオチドである。

【0428】

特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5' ウィングと 3' ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13 または 14 のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾（存在する場合）は、その標的核酸に結合したときに、RNase (RNase H が挙げられるがこれに限定されない) による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

10

【0429】

特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

【0430】

特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 8 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 9 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 10 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 11 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 13 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 14 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 15 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 16 モノマーである。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9 ~ 15 モノマーを含む。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10 ~ 15 モノマーを含む。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12 ~ 14 モノマーを含む。特定の実施形態では、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12 ~ 14 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

20

30

【0431】

特定の実施形態では、本発明は、SGLT2 の発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、SGLT2 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約 8 ~ 約 16 モノマー、好ましくは 9 ~ 15 モノマー、より好ましくは 9 ~ 14 モノマー、より好ましくは 10 ~ 14 モノマー（すなわち、約 8 ~ 約 16 の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15 または 16 のモノマーの、SGLT2 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物を用いて SGLT2 の発現を調節する方法を包含することを理解する。

40

【0432】

特定の実施形態では、SGLT2 を調節する方法は、長さ 8 モノマーの SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2 を調節する方法は、長さ 9 モノマーの SGLT2 核酸に対して標的化された短

50

鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ10モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ11モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ12モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ13モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ14モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ15モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2を調節する方法は、長さ16モノマーのSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

10

## 【0433】

特定の実施形態では、SGLT2の発現を調節する方法は、9~15モノマーを含むSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2の発現を調節する方法は、10~15モノマーを含むSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2の発現を調節する方法は、12~14モノマーを含むSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SGLT2の発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含むSGLT2核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

20

## 【0434】

## 3. PCSK9

常染色体優性の高コレステロール血症(ADH)を有する個体において、LDL-Cレベルの上昇は、LDL-レセプター(LDL-R)、アポリタンパク質B(apoB)またはプロタンパク質コンバーターゼサブチリシン/ケキシン9型(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)(PCSK9)をコードする遺伝子における変異と関連付けられている(Abifadel et al., Nat. Genet., 2003, 34:154-156)。PCSK9は、LDL-Cレベルの上昇と関連していることが分かったときに、ADHに関連する第3の遺伝子座として同定された。apoBは、トリグリセリドリッチなりタンパク質の細胞内アセンブリおよび分泌に関与し、そして、LDL-Rに対するリガンドである。PCSK9は、肝臓におけるLDL-Rの発現レベルを低下させることが提案されている。LDL-Rの発現の減少は、循環中のapoB含有リタンパク質の肝臓取り込みの減少をもたらし、次いで、コレステロールの上昇につながる。

30

## 【0435】

## 定義

「PCSK9」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質である。

40

## 【0436】

「PCSK9核酸」は、PCSK9をコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、PCSK9核酸としては、PCSK9をコードするDNA配列、PCSK9をコードするDNAから転写されたRNA配列、およびPCSK9をコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

## 【0437】

「PCSK9 mRNA」は、PCSK9をコードするmRNAを意味する。

## 【0438】

PCSK9の治療上の適応

50

特定の実施形態では、本発明は、個体におけるPCSK9の発現を調節する方法を提供し、この方法は、PCSK9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、本発明は、個体を処置する方法を提供し、この方法は、1以上の本発明の薬学的組成物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、個体は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子、II型糖尿病、脂質異常症を伴うII型糖尿病、脂質異常症、高トリグリセリド血症、高脂血症、過脂肪酸血症、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎、または非アルコール性脂肪肝病を有する。

10

## 【0439】

脂質低下治療に対するガイドラインは、2001年にNational Cholesterol Education Program (NCEP)のAdult Treatment Panel III (ATP III)によって確立され、そして、2004年に更新された(Grundy et al., Circulation, 2004, 110, 227-239)。このガイドラインは、LDL-C、総コレステロールおよびHDL-Cのレベルの決定のために、代表的には、食事の9~12時間後に、完全なりポタンパク質プロフィールを得ることを含む。最も最近に確立されたガイドラインによれば、130~159mg/dL、160~189mg/dL、および190mg/dL以上のLDL-Cレベルは、それぞれ、境界線上の高さ、高い、および非常に高い、とみなされる。200~239mg/dLおよび240mg/dL以上の総コレステロールレベルは、それぞれ、境界線上の高さ、および高いとみなされる。40mg/dL未満のHDL-Cレベルは、低いとみなされる。

20

## 【0440】

特定の実施形態では、個体は、脂質低下治療を必要としているとして同定される。特定のこのような実施形態では、個体は、2001年にNational Cholesterol Education Program (NCEP)のAdult Treatment Panel III (ATP III)によって確立され、2004年に更新されたガイドライン(Grundy et al., Circulation, 2004, 110, 227-239)にしたがって、脂質低下治療が必要であるとして同定されている。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、190mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、160mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、130mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、100mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、160mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、130mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、100mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。特定のこのような実施形態では、個体は、70mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。

30

40

## 【0441】

特定の実施形態では、本発明は、個体におけるApoBを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体におけるApoB含有リポタンパク質を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体におけるLDL-Cを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体におけるVLDL-Cを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体におけるIDL-Cを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における非HDL-Cを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発

50

明は、個体における  $Lp(a)$  を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における血清トリグリセリドを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における肝トリグリセリドを減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における  $Ox-LDL-C$  を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における小型の  $LDL$  粒子を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における小型の  $VLDL$  粒子を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体におけるリン脂質を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、個体における酸化されたリン脂質を減少させるための方法を提供する。

【0442】

特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、 $HDL-C$  を低下させない。特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、肝臓における脂質の蓄積をもたらさない。

【0443】

特定の実施形態では、 $PCSK9$  核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、治療において使用するためのものである。特定の実施形態では、治療は、個体における、 $LDL-C$ 、 $ApoB$ 、 $VLDL-C$ 、 $IDL-C$ 、非 $HDL-C$ 、 $Lp(a)$ 、血清トリグリセリド、肝トリグリセリド、 $Ox-LDL-C$ 、小型 $LDL$  粒子、小型 $VLDL$ 、リン脂質、または酸化されたリン脂質の低下である。特定の実施形態では、治療は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子、 $II$ 型糖尿病、脂質異常症を伴う $II$ 型糖尿病、脂質異常症、高トリグリセリド血症、高脂血症、過脂肪酸血症、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎、または非アルコール性脂肪肝病の処置である。さらなる実施形態では、治療は、 $CHD$  リスクの低下である。特定の実施形態では、治療は、アテローム性動脈硬化症の予防である。特定の実施形態では、治療は、冠動脈心疾患の予防である。

【0444】

特定の実施形態では、 $PCSK9$  核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、医薬の調製のために使用される。個体における、 $LDL-C$ 、 $ApoB$ 、 $VLDL-C$ 、 $IDL-C$ 、非 $HDL-C$ 、 $Lp(a)$ 、血清トリグリセリド、肝トリグリセリド、 $Ox-LDL-C$ 、小型 $LDL$  粒子、小型 $VLDL$ 、リン脂質、または酸化されたリン脂質を減少させるための特定の実施形態では、 $PCSK9$  に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、冠動脈心疾患のリスクを低下するための医薬の調製のために使用される。特定の実施形態では、 $PCSK9$  核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子、 $II$ 型糖尿病、脂質異常症を伴う $II$ 型糖尿病、脂質異常症、高トリグリセリド血症、高脂血症、過脂肪酸血症、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎、または非アルコール性脂肪肝病の処置のための医薬の調製のために使用される。

【0445】

$PCSK9$  の併用治療

特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物は、1以上の他の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と同じ疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と異なる

10

20

30

40

50



疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物の望ましくない作用を処置するように設計される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物は、その他の薬学的因子の望ましくない作用を処置するために、別の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、異なる時点で投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、単一の処方物内で一緒に調製される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、別々に調製される。

10

**【0446】**

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、脂質低下剤が挙げられる。特定のこのような実施形態では、本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、アトルバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチンおよびエゼチミブが挙げられるがこれらに限定されない。特定のこのような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の前に投与される。特定のこのような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の後に投与される。特定のこのような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物と同時に投与される。特定のこのような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与された場合に投与される用量と同じである。特定のこのような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも少ない。特定のこのような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも多い。

20

**【0447】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、HMG-CoAレダクターゼインヒビターである。特定のこのような実施形態では、HMG-CoAレダクターゼインヒビターは、スタチンである。特定のこのような実施形態では、スタチンは、アトルバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチンおよびロスバスタチンから選択される。

30

**【0448】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、コレステロール吸収阻害薬である。特定のこのような実施形態では、コレステロール吸収阻害薬は、エゼチミブである。

**【0449】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、同時に処方されるHMG-CoAレダクターゼインヒビターおよびコレステロール吸収阻害薬である。特定のこのような実施形態では、同時に処方される脂質低下剤は、エゼチミブ/シンバスタチンである。

**【0450】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、ミクロソームトリグリセリド転移タンパク質インヒビター(MTPインヒビター)である。

**【0451】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、ApoB核酸に対して標的化されたオリゴヌクレオチドである。

40

**【0452】**

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、胆汁酸金属イオン封鎖剤である。特定のこのような実施形態では、胆汁酸金属イオン封鎖剤は、コレステラミン、コレステチポールおよびコレセベラムから選択される。

**【0453】**

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、ニコチン酸である。特定のこのような実施形態では、ニコチン酸は、即時放出性ニコチン酸、延長放出性ニコチン酸および持続放出性ニコチン酸から選択される。

50

## 【 0 4 5 4 】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、フィブリン酸である。特定のような実施形態では、フィブリン酸、フェムフィブロジル、フェノフィブラート、クロフィブラート、ベザフィブラートおよびシプロフィブラートから選択される。

## 【 0 4 5 5 】

本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子のさらなる例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：コルチコステロイド（プレドニゾンが挙げられるがこれに限定されない）；免疫グロブリン（静脈内免疫グロブリン（IVIg）が挙げられるがこれに限定されない）；鎮痛剤（アセトアミノフェン）；抗炎症剤（非ステロイド性抗炎症薬（例えば、イブプロフェン、COX-1インヒビターおよびCOX-2インヒビター）を含むがこれらに限定されない）；サリチル酸；抗生物質；抗ウイルス剤；抗真菌剤；抗糖尿病剤（例えば、ピグアナイド、グルコシダーゼ阻害剤、インシュリン、スルホニル尿素およびチアゾリジンジオン）；アドレナリン作動性修飾物質；利尿薬；ホルモン（例えば、同化作用ホルモン、アンドロゲン、エストロゲン、カルシトニン、プロゲステロン、ソマトスタチンおよび甲状腺ホルモン）；免疫調節因子；筋弛緩剤；抗ヒスタミン薬；骨粗しょう症剤（例えば、ビホスホネート、カルシトニンおよびエストロゲン）；プロスタグランジン、抗新生物剤；精神療法剤；鎮静薬；トキシコデンドロン属の生成物；抗体；およびワクチン。

10

## 【 0 4 5 6 】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、脂質低下治療と組み合わせて施され得る。特定のような実施形態では、脂質低下治療は、治療的なライフスタイルの変化である。特定のような実施形態では、脂質低下治療は、LDLアフェレーシスである。

20

## 【 0 4 5 7 】

PCSK9 核酸に対して標的化される特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、GENBANK（登録商標）アクセッション番号NM\_174936.2（本明細書中に配列番号4として引用される）の配列を有するPCSK9 核酸に対して標的化される。特定のような実施形態では、配列番号4に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号4に対して少なくとも90%相補的である。特定のような実施形態では、配列番号4に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号4に対して少なくとも95%相補的である。特定のような実施形態では、配列番号4に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号4に対して100%相補的である。特定の実施形態では、配列番号4に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表6または表7に示されるヌクレオチド配列を含む。

30

## 【 0 4 5 8 】

表6および7における各配列番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾を含み得る。Iss番号（Iss NO.）により説明される短鎖アンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾との組み合わせを示す。

40

## 【 0 4 5 9 】

表6および7は、配列番号4に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表6は、配列番号4に対して100%相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表7は、配列番号4に関して、1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾糖を含む。特定の2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2のギャップマーモチーフであって、10個の2'-デオキシヌク

50

レオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOEヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ5-mC」は、ギャップセグメントが5-メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【0460】

【表 6 - 1】

表 6: 配列番号 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的的部位	3' 標的的部位	配列 (5' -3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
400297	695	708	ATGGGGCAACTTCA	2-10-2 MOE	329
400298	696	709	CATGGGGCAACTTC	2-10-2 MOE	330
400299	697	710	ACATGGGGCAACTT	2-10-2 MOE	331
400300	742	755	GGGATGCTCTGGGC	2-10-2 MOE	332
400301	757	770	CGCTCCAGGTTCCA	2-10-2 MOE	333
400302	828	841	GATACACCTCCACC	2-10-2 MOE	334
400303	829	842	AGATACACCTCCAC	2-10-2 MOE	335
400304	830	843	GAGATACACCTCCA	2-10-2 MOE	336
400305	937	950	GCCTGTCTGTGGAA	2-10-2 MOE	337
400306	952	965	CTGTCACACTTGCT	2-10-2 MOE	338
400307	988	1001	CGGCCGCTGACCAC	2-10-2 MOE	339
400308	989	1002	CCGGCCGCTGACCA	2-10-2 MOE	340
400309	990	1003	CCCGGCCGCTGACC	2-10-2 MOE	341
400310	991	1004	TCCCGGCCGCTGAC	2-10-2 MOE	342
400311	992	1005	ATCCCGGCCGCTGA	2-10-2 MOE	343
400312	993	1006	CATCCCGGCCGCTG	2-10-2 MOE	344
400313	994	1007	GCATCCCGGCCGCT	2-10-2 MOE	345
400314	1057	1070	GTGCCCTTCCCTTG	2-10-2 MOE	346
400315	1075	1088	ATGAGGGTGCCGCT	2-10-2 MOE	347
400316	1076	1089	TATGAGGGTGCCGC	2-10-2 MOE	348
400317	1077	1090	CTATGAGGGTGCCG	2-10-2 MOE	349
400318	1078	1091	CCTATGAGGGTGCC	2-10-2 MOE	350
400319	1093	1106	CGAATAAACTCCAG	2-10-2 MOE	351
400320	1094	1107	CCGAATAAACTCCA	2-10-2 MOE	352
400321	1095	1108	TCCGAATAAACTCC	2-10-2 MOE	353
400322	1096	1109	TTCCGAATAAACTC	2-10-2 MOE	354
400323	1147	1160	GCCAGGGGCAGCAG	2-10-2 MOE	355
400324	1255	1268	GAGTAGAGGCAGGC	2-10-2 MOE	356
400325	1334	1347	CCCCAAAGTCCCCA	2-10-2 MOE	357
400326	1335	1348	TCCCCAAAGTCCCC	2-10-2 MOE	358
400327	1336	1349	GTCCCCAAAGTCCC	2-10-2 MOE	359
400328	1453	1466	ACGTGGGCAGCAGC	2-10-2 MOE	360
400329	1454	1467	CACGTGGGCAGCAG	2-10-2 MOE	361
400330	1455	1468	CCACGTGGGCAGCA	2-10-2 MOE	362
400331	1456	1469	GCCACGTGGGCAGC	2-10-2 MOE	363
400332	1569	1582	CAGGGAACCAGGCC	2-10-2 MOE	364
400333	1570	1583	TCAGGGAACCAGGC	2-10-2 MOE	365
400334	1571	1584	CTCAGGGAACCAGG	2-10-2 MOE	366
400335	1572	1585	CCTCAGGGAACCAG	2-10-2 MOE	367
400336	1573	1586	TCCTCAGGGAACCA	2-10-2 MOE	368
400337	1574	1587	GTCCTCAGGGAACC	2-10-2 MOE	369
400338	1575	1588	GGTCCTCAGGGAAC	2-10-2 MOE	370
400339	1576	1589	TGGTCCTCAGGGAA	2-10-2 MOE	371
400340	1577	1590	CTGGTCCTCAGGGA	2-10-2 MOE	372
400341	1578	1591	GCTGGTCCTCAGGG	2-10-2 MOE	373
400342	1621	1634	GTGCTGGGGGGCAG	2-10-2 MOE	374
400343	1622	1635	GGTGCTGGGGGGCA	2-10-2 MOE	375

10

20

30

40

【 0 4 6 1 】

【表 6 - 2】

400344	1623	1636	GGGTGCTGGGGGGC	2-10-2 MOE	376
400345	1624	1637	TGGGTGCTGGGGGG	2-10-2 MOE	377
400346	1738	1751	GAGCAGCTCAGCAG	2-10-2 MOE	378
400347	1739	1752	GGAGCAGCTCAGCA	2-10-2 MOE	379
400348	1740	1753	TGGAGCAGCTCAGC	2-10-2 MOE	380
400349	1741	1754	CTGGAGCAGCTCAG	2-10-2 MOE	381
400350	1834	1847	CCCTCACCCCAAA	2-10-2 MOE	382
400351	1835	1848	ACCCTCACCCCAA	2-10-2 MOE	383
400352	1836	1849	CACCCTCACCCCA	2-10-2 MOE	384
400353	1837	1850	ACACCCTCACCCC	2-10-2 MOE	385
400354	1838	1851	GACACCCTCACCCC	2-10-2 MOE	386
400355	1839	1852	AGACACCCTCACCC	2-10-2 MOE	387
400356	1840	1853	TAGACACCCTCACC	2-10-2 MOE	388
400357	2083	2096	TGGCAGCAGGAAGC	2-10-2 MOE	389
400358	2084	2097	ATGGCAGCAGGAAG	2-10-2 MOE	390
400359	2085	2098	CATGGCAGCAGGAA	2-10-2 MOE	391
400360	2086	2099	GCATGGCAGCAGGA	2-10-2 MOE	392
400361	2316	2329	GGCAGCAGATGGCA	2-10-2 MOE	393
400362	2317	2330	CGGCAGCAGATGGC	2-10-2 MOE	394
400363	2318	2331	CCGGCAGCAGATGG	2-10-2 MOE	395
400364	2319	2332	TCCGGCAGCAGATG	2-10-2 MOE	396
400365	2320	2333	CTCCGGCAGCAGAT	2-10-2 MOE	397
400366	2321	2334	GCTCCGGCAGCAGA	2-10-2 MOE	398
400367	2322	2335	GGCTCCGGCAGCAG	2-10-2 MOE	399
400368	2323	2336	CGGCTCCGGCAGCA	2-10-2 MOE	400
400369	2324	2337	CCGGCTCCGGCAGC	2-10-2 MOE	401
400370	2325	2338	GCCGGCTCCGGCAG	2-10-2 MOE	402
400371	3543	3556	AGTTACAAAAGCAA	2-10-2 MOE	403
403739	988	1001	CGGCCGCTGACCAC	2-10-2 (6'S)-6'-メチル-メチレンオ キシBNA	339
403740	1455	1468	CCACGTGGGCAGCA	2-10-2 (6'S)-6'-メチル-メチレンオ キシBNA	362

10

20

30

【 0 4 6 2 】

## 【表 7】

表 7: 配列番号 4 に対して標的化され、かつ1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的的部位	3' 標的的部位	配列 (5' -3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
400323	349	362	GCCAGGGGCAGCAG	2-10-2 MOE	355
400370	679	692	GCCGGCTCCGGCAG	2-10-2 MOE	402
400361	1860	1873	GGCAGCAGATGGCA	2-10-2 MOE	393
400323	1873	1886	GCCAGGGGCAGCAG	2-10-2 MOE	355
400310	2257	2270	TCCCGGCCGCTGAC	2-10-2 MOE	342
400361	2653	2666	GGCAGCAGATGGCA	2-10-2 MOE	393
400350	2811	2824	CCCTCACCCCAA	2-10-2 MOE	382
400351	2812	2825	ACCCTCACCCCAA	2-10-2 MOE	383
400352	2813	2826	CACCCTCACCCCA	2-10-2 MOE	384
400353	2814	2827	ACACCCTCACCCC	2-10-2 MOE	385
400334	2966	2979	CTCAGGGAACCAGG	2-10-2 MOE	366
400332	3379	3392	CAGGGAACCAGGCC	2-10-2 MOE	364
400340	3448	3461	CTGGTCCTCAGGGA	2-10-2 MOE	372
400341	3449	3462	GCTGGTCCTCAGGG	2-10-2 MOE	373

10

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 4 のヌクレオチド 6 9 5 ~ 7 1 0 である。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 6 9 5 ~ 7 1 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 2 9、3 3 0 または 3 3 1 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 6 9 5 ~ 7 1 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 4 0 0 2 9 7、4 0 0 2 9 8 または 4 0 0 2 9 9 から選択される。

20

## 【 0 4 6 3 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 4 のヌクレオチド 7 4 2 ~ 7 7 0 である。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 7 4 2 ~ 7 7 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 3 2 または 3 3 3 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 7 4 2 ~ 7 7 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 4 0 0 3 0 0 または 4 0 0 3 0 1 から選択される。

30

## 【 0 4 6 4 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 4 のヌクレオチド 8 2 8 ~ 8 4 3 である。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 8 2 8 ~ 8 4 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 3 4、3 3 5 または 3 3 6 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 8 2 8 ~ 8 4 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 4 0 0 3 0 2、4 0 0 3 0 3 または 4 0 0 3 0 4 から選択される。

## 【 0 4 6 5 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 4 のヌクレオチド 9 3 7 ~ 1 0 0 7 である。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 9 3 7 ~ 1 0 0 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 3 3 7、3 3 8、3 3 9、3 4 0、3 4 1、3 4 2、3 4 3、3 4 4 または 3 4 5 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 9 3 7 ~ 1 0 0 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 4 0 0 3 0 5、4 0 0 3 0 6、4 0 0 3 0 7、4 0 0 3 0 8、4 0 0 3 0 9、4 0 0 3 1 0、4 0 0 3 1 1、4 0 0 3 1 2、4 0 0 3 1 3 または 4 0 3 7 3 9 から選択される。

40

## 【 0 4 6 6 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 4 のヌクレオチド 9 3 7 ~ 9 6 5 である。特定のような実施形態では、配列番号 4 のヌクレオチド 9 3 7 ~ 9 6 5 に対して標的

50

化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号337または338から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド937～965に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400305または400306から選択される。

**【0467】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド988～1007である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド988～1007に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号339、340、341、342、343、344または345から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド988～1007に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400307、400308、400309、400310、400311、400312、4003313または403739から選択される。

10

**【0468】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1057～1160である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1057～1160に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号346、347、348、349、350、351、352、353、354または355から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1057～1160に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400314、400315、400316、400317、400318、400319、400320、400321、400322または400323から選択される。

20

**【0469】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1057～1109である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1057～1109に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号346、347、348、349、350、351、352、353または354から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1057～1109に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400314、400315、400316、400317、400318、400319、400320、400321または400322から選択される。

30

**【0470】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1057～1091である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1057～1091に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号346、347、348、349または350から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1057～1091に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400314、400315、400316、400317または400318から選択される。

**【0471】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1093～1109である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1093～1109に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号351、352、353または354から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1093～1109に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400319、400320、400321または400322から選択される。

40

**【0472】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1334～1349である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1334～1349に対

50

して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号357、358または359から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1334～1349に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400325、400326または400327から選択される。

**【0473】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1453～1469である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1453～1469に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号360、361、362または363から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1453～1469に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400328、400329、400330、400331または403470から選択される。

10

**【0474】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1569～1591である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1569～1591に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号364、365、366、367、368、369、370、371、372または373から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1569～1591に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400332、400333、400334、400335、400336、400337、400338、400339、400340または400341から選択される。

20

**【0475】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1621～1637である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1621～1637に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号374、375、376または377から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1621～1637に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400342、400343、400344または400345から選択される。

**【0476】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1738～1754である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1738～1754に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号378、379、380または381から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1738～1754に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400346、400347、400348または400349から選択される。

30

**【0477】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド1834～1853である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1834～1853に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号382、383、384、385、386、387または388から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号4のヌクレオチド1834～1853に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400350、400351、400352、400353、400354、400355または400356から選択される。

40

**【0478】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド2083～2099である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド2083～2099に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号389、390、391または392から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号

50



4のヌクレオチド2083~2099に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400357、400358、400359または400360から選択される。

【0479】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号4のヌクレオチド2316~2338である。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド2316~2338に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号393、394、395、396、397、398、399、400、401または402から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号4のヌクレオチド2316~2338に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号400361、400362、400363、400364、400365、400366、400367、400368、400369または400370から選択される。

10

【0480】

特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

20

【0481】

特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1~3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオチドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2')BNAおよびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2')BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)およびO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換のC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2'MOEヌクレオチドである。

30

【0482】

特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合は、その標的核酸に結合したときに、RNase(RNase Hが挙げられるがこれに限定されない)による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

40

【0483】

特定の実施形態では、P C S K 9 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の1以上の特性または特徴を有

50

し得る。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1 - 1 2 - 1、1 - 1 - 1 0 - 2、2 - 1 0 - 1 - 1、3 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 2、1 - 1 0 - 1、1 - 1 0 - 2、3 - 8 - 3、2 - 8 - 2、1 - 8 - 1、3 - 6 - 3 または 1 - 6 - 1、より好ましくは 1 - 1 0 - 1、2 - 1 0 - 2、3 - 1 0 - 3 および 1 - 9 - 2 から選択されるモチーフ（ウィング - デオキシギャップ - ウィング）を有する。

#### 【 0 4 8 4 】

特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

10

#### 【 0 4 8 5 】

特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 8 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 9 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 1 0 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 1 1 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 1 3 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 1 4 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 1 5 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 1 6 モノマーである。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9 ~ 1 5 モノマーを含む。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、1 0 ~ 1 5 モノマーを含む。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、1 2 ~ 1 4 モノマーを含む。特定の実施形態では、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、1 2 ~ 1 4 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

20

30

#### 【 0 4 8 6 】

特定の実施形態では、本発明は、P C S K 9 の発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、P C S K 9 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約 8 ~ 約 1 6 モノマー、好ましくは 9 ~ 1 5 モノマー、より好ましくは 9 ~ 1 4 モノマー、より好ましくは 1 0 ~ 1 4 モノマー（すなわち、約 8 ~ 約 1 6 の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15 または 1 6 のモノマーの P C S K 9 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物を用いて P C S K 9 の発現を調節する方法を包含することを理解する。

40

#### 【 0 4 8 7 】

特定の実施形態では、P C S K 9 を調節する方法は、長さ 8 モノマーの P S C K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9 を調節する方法は、長さ 9 モノマーの P S C K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9 を調節する方法は、長さ 1 0 モノマーの P S C K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9 を調節する方法は、長さ 1 1 モノマーの P S C K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9 を調節する方法は、長さ 1 2 モノマーの P S C K 9 核酸に

50

対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9を調節する方法は、長さ13モノマーのP S C K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9を調節する方法は、長さ14モノマーのP S C K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9を調節する方法は、長さ15モノマーのP S C K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9を調節する方法は、長さ16モノマーのP S C K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

【0488】

特定の実施形態では、P C S K 9の発現を調節する方法は、9～15モノマーを含むP C S K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9の発現を調節する方法は、10～15モノマーを含むP C S K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9の発現を調節する方法は、12～14モノマーを含むP C S K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P C S K 9の発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含むP C S K 9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

【0489】

4. スーパーオキシドジスムターゼ1酵素 (SOD1)

スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) として知られる酵素は、過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) へのスーパーオキシドの相互変換 (dismutation) を触媒することによって、生体分子の酸化的損傷に対する防御を提供する (Fridovich, Annu. Rev. Biochem., 1995, 64, 97-112)。スーパーオキシドジスムターゼには2つの主要な分類が存在する。一方は、銅および亜鉛を含む活性部位を持つ酵素の群であり、もう一方の分類は、活性部位にマンガンまたは鉄のいずれかを有する (Fridovich, Annu. Rev. Biochem., 1995, 64, 97-112)。

【0490】

スーパーオキシドジスムターゼ1遺伝子における変異は、上向性および下向性の運動ニューロンの選択的な変性によって特徴付けられる障害である、筋萎縮性側索硬化症 (ALS、ルー・ゲーリグ病としても公知) の優性遺伝される形態に関連している (ClevelandおよびLiu, Nat. Med., 2000, 6, 1320-1321)。スーパーオキシドジスムターゼ1における種々の変異の有害な作用の多くは、スーパーオキシドジスムターゼ1活性の喪失ではなく毒性機能の獲得により媒介されるようである。というのも、マウスにおいてスーパーオキシドジスムターゼ1を完全に欠失させても、寿命を減らしたり、明白な疾患を引き起こしたりしないからである (Al-ChalabiおよびLeigh, Curr. Opin. Neurol., 2000, 13, 397-405; AliskyおよびDavidson, Hum. Gene Ther., 2000, 11, 2315-2329)。

【0491】

ヒトSOD1遺伝子の100を超える変異が同定されており、全部合わせると、家族性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 症例の約20%を占める。米国において最も一般的に見出されるA4V変異のようないくつかの変異は、高度に致死性であり、疾患症状の発病からわずか9ヶ月の保命生存をもたらす。SOD1の他の変異は、減速した疾患の経過で明らかとなる。

【0492】

定義

「SOD1」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質を意味する。

【0493】

10

20

30

40

50

「SOD1核酸」は、SOD1をコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、SOD1核酸としては、SOD1をコードするDNA配列、SOD1をコードするDNAから転写されたRNA配列、およびSOD1をコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

【0494】

「SOD1 mRNA」は、SOD1をコードするmRNAを意味する。

【0495】

SOD1の治療上の適応

家族性ALSの動物モデルにおけるスーパーオキシドジスムターゼ1(SOD1)のアンチセンス性阻害は、SOD1のmRNAおよびタンパク質の両方を減少させ、さらに、疾患の進行の減速、そして、重要なことには、生存時間の増加をもたらすことが発見された。したがって、特定の実施形態では、本発明は、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、家族性ALSを罹患する個体に対して投与することによって、このような個体における疾患の進行を減速させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、SOD1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、個体の脳脊髄液に直接送達される。特定のこのような実施形態では、この方法はさらに、家族性ALSを罹患する個体の生存時間の増加を含む。疾患の進行の減速は、ALS疾患の進行の1以上の徴候における改善(ALSの機能的な評定尺度、肺機能検査および筋力強度測定の修正が挙げられるがこれらに限定されない)によって示される。

【0496】

SOD1の併用治療

特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物は、1以上の他の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と同じ疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と異なる疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物の望ましくない作用を処置するように設計される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物は、その他の薬学的因子の望ましくない作用を処置するために、別の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、異なる時点で投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、単一の処方物内で一緒に調製される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、別々に調製される。

【0497】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、ニコチン酸である。特定のこのような実施形態では、ニコチン酸は、即時放出性ニコチン酸、延長放出性ニコチン酸および持続放出性ニコチン酸から選択される。

【0498】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、フィブリン酸である。特定のこのような実施形態では、フィブリン酸は、ゲムフィブロジル、フェノフィブラート、クロフィブラート、ベザフィブラートおよびシプロフィブラートから選択される。

【0499】

SOD1に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子のさらなる例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：コルチコステロイド(プレドニゾンが挙げられるがこれに限定されない)；免疫グロブリン(静脈内免疫グロブリン(IVIg)が挙げられるがこれに限定されない)；鎮痛剤(例えば、アセトアミノフェン)；抗炎症剤(非ステロイド性抗炎症薬(例えば、イブプロフェン、COX-1インヒビターおよびCOX-2インヒビター)が挙げられるが

10

20

30

40

50

これらに限定されない) ; サリチル酸 ; 抗生物質 ; 抗ウイルス薬 ; 抗真菌剤 ; 抗糖尿病剤 (例えば、ピグアナイド、グルコシダーゼ阻害剤、インシュリン、スルホニル尿素およびチアゾリジンジオン) ; アドレナリン作動性修飾物質 ; 利尿薬 ; ホルモン (例えば、同化性ステロイド、アンドロゲン、エストロゲン、カルシトニン、プロゲステロン、ソマトスタチンおよび甲状腺ホルモン) ; 免疫調節因子 ; 筋弛緩剤 ; 抗ヒスタミン薬 ; 骨粗しょう症剤 (例えば、ピホスホネート、カルシトニンおよびエストロゲン) ; プロスタグランジン、抗新生物剤 ; 精神療法剤 ; 鎮静薬 ; トキシコデンドロン属の生成物 ; 抗体 ; およびワクチン。

#### 【0500】

SOD1 核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、GENBANK (登録商標) アクセション番号 NM\_023171 (本明細書中に配列番号 5 として引用される) の配列を有する SOD1 核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 5 に対して少なくとも 90% 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 5 に対して少なくとも 95% 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 5 に対して 100% 相補的である。特定の実施形態では、配列番号 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 8 または 9 に示されるヌクレオチド配列を含む。

#### 【0501】

表 8 および 9 における各配列番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾を含み得る。I s i s 番号 (I s i s N O . ) により説明される短鎖アンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾との組み合わせを示す。

#### 【0502】

表 8 は、配列番号 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表 8 は、配列番号 5 に対して 100% 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、そして、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾された糖を含む。特定の 2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2 のギャップマーモチーフであって、10 個の 2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOE ヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに 5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ 5-mC」は、ギャップセグメントが 5-メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

#### 【0503】

特定の実施形態では、SOD1 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の 1 以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、SOD1 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1-12-1、1-1-10-2、2-10-1-1、3-10-3、2-10-3、2-10-2、1-10-1、1-10-2、3-8-3、2-8-2、1-8-1、3-6-3 または 1-6-1、より好ましくは 1-10-1、2-10-2、3-10-3 および 1-9-2 から選択されるモチーフ (ウィング-デオキシギャップ-ウィング) を有する

。【0504】

【表8】

表8: 配列番号5に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマー のモチーフ	配列番号
387541	85	100	GTCGCCCTTCAGCACG	3-10-3 MOE	406
387540	86	99	TCGCCCTTCAGCAC	2-10-2 MOE	407
387539	87	98	CGCCCTTCAGCA	1-10-1 MOE	408

10

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号5のヌクレオチド85～100である。特定のこのような実施形態では、配列番号5のヌクレオチド85～100に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号406、407または408から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号5のヌクレオチド85～100に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ISIS番号387541、387540または387539から選択される。

【0505】

特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8～16ヌクレオチド、好ましくは9～15ヌクレオチド、より好ましくは9～14ヌクレオチド、より好ましくは10～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

20

【0506】

特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーSOD1は、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1～3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオシドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2')BNAおよびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2')BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、 $O$ -アリル、 $O-C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $-OCF_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-CH_3$ 、 $2'-O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$ および $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$ から選択される置換基を含み、ここで、 $R_m$ および $R_n$ の各々は、独立して、 $H$ または置換もしくは非置換の $C_1 \sim C_{10}$ アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2'MOEヌクレオチドである。

30

40

【0507】

特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合)は、その標的核酸に結合したと

50

きに、RNase (RNase Hが挙げられるがこれに限定されない) による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

【0508】

特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

【0509】

特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ11モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ13モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ14モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ15モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ16モノマーである。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9~15モノマーを含む。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10~15モノマーを含む。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14モノマーを含む。特定の実施形態では、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

【0510】

特定の実施形態では、本発明は、SOD1の発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、SOD1核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、SOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約8~約16モノマー、好ましくは9~15モノマー、より好ましくは9~14モノマー、より好ましくは10~14モノマー(すなわち、約8~約16の連結されたモノマー)である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15または16のモノマーのSOD1核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物を用いてSOD1の発現を調節する方法を包含することを理解する。

【0511】

特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ8モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ9モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ10モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ11モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ12モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ13モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ14モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ15モノマーのSOD1核酸に対して標的化

10

20

30

40

50

された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1を調節する方法は、長さ16モノマーのSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

#### 【0512】

特定の実施形態では、SOD1の発現を調節する方法は、9~15モノマーを含むSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1の発現を調節する方法は、10~15モノマーを含むSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1の発現を調節する方法は、12~14モノマーを含むSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、SOD1の発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含むSOD1核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

10

#### 【0513】

##### 5. CRP

CRP (C反応性タンパク質およびPTX1としても公知)は、種々の炎症性サイトカインに応答して肝臓で生成される必須のヒト急性期反応物質である。このタンパク質は、最初に1930年に同定され、そして、高度に保存されており、感染または炎症の状態の早期の指標であると考えられている。血漿CRPレベルは、感染、虚血、外傷、火傷および炎症性状態に応答して、1000倍増加する。患者が脂質低下治療を受けている臨床試験において、LDL-CおよびCRPの両方が減少している患者は、LDL-Cの減少のみを経験する患者と比較して、将来的に心臓に関する事象を生じるリスクが低下していたことが実証されている。

20

#### 【0514】

##### 定義

「CRP」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質を意味する。

#### 【0515】

「CRP核酸」は、CRPをコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、CRP核酸としては、CRPをコードするDNA配列、CRPをコードするDNAから転写されたRNA配列、およびCRPをコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

30

#### 【0516】

「CRP mRNA」は、CRPをコードするmRNAを意味する。

#### 【0517】

##### CRPの治療上の適応

特定の実施形態では、本発明は、個体におけるCRPの発現を調節する方法を提供し、この方法は、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物をこの個体に対して投与する工程を包含する。特定の実施形態では、本発明は、個体を処置する方法を提供し、この方法は、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、個体は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、冠動脈心疾患についての1以上の危険因子を有する。特定の実施形態では、個体は、急性冠動脈症候群、脈管損傷、動脈閉塞、不安定狭心症、後末梢 (post peripheral) 血管疾患、心筋梗塞症候群 (post myocardial infarction) (MI)、血栓症、深部静脈血栓、末期の腎疾患 (ESRD)、慢性腎不全、補体活性化、うっ血性心不全または全身性脈管炎を有する。特定の実施形態では、個体は、発作を有する。

40

#### 【0518】

50



特定の実施形態では、個体は、選択的なステントの配置、血管形成術、経皮的冠動脈形成術（PTCA）、心臓移植、腎臓透析または心肺バイパスから選択される手順を受けている。

【0519】

特定の実施形態では、個体は、炎症性疾患を有する。特定のこのような実施形態では、炎症性疾患は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、慢性関節リウマチまたは変形性関節症から選択される。

【0520】

脂質低下治療に対するガイドラインは、2001年にNational Cholesterol Education Program (NCEP)のAdult Treatment Panel III (ATP III)によって確立され、そして、2004年に更新された(Grundy et al., Circulation, 2004, 110, 227-239)。このガイドラインは、LDL-C、総コレステロールおよびHDL-Cのレベルの決定のために、代表的には、食事の9~12時間後に、完全なりボタンパク質プロフィールを得ることを含む。最も最近に確立されたガイドラインによれば、130~159 mg/dL、160~189 mg/dL、および190 mg/dL以上のLDL-Cレベルは、それぞれ、境界線上の高さ、高い、および非常に高い、とみなされる。200~239 mg/dLおよび240 mg/dL以上の総コレステロールレベルは、それぞれ、境界線上の高さ、および高いとみなされる。40 mg/dL未満のHDL-Cレベルは、低いとみなされる。

【0521】

特定の実施形態では、個体は、脂質低下治療を必要としているとして同定される。特定のこのような実施形態では、個体は、2001年にNational Cholesterol Education Program (NCEP)のAdult Treatment Panel III (ATP III)によって確立され、2004年に更新されたガイドライン(Grundy et al., Circulation, 2004, 110, 227-239)にしたがって、脂質低下治療が必要であるとして同定されている。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、190 mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、160 mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、130 mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、100 mg/dLを上回るLDL-Cを有する。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、160 mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、130 mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療を必要とする個体は、100 mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。特定のこのような実施形態では、個体は、70 mg/dLを下回るLDL-Cを維持すべきである。

【0522】

特定の実施形態では、本発明は、個体におけるCRPを減少させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、CRPの減少は、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、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%および少なくとも100%である。

【0523】

特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、HDL-Cを低下させない。特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、肝臓における脂質の蓄積をもたらさない。特定の実施形態では、本発明により提供される方法は、肝臓脂肪症を引き起こさな

10

20

30

40

50

い。

【 0 5 2 4 】

特定の実施形態では、本発明は、処置に関連する副作用を減少させつつ、被験体におけるCRPの濃度を低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、副作用は、肝毒性である。特定のこのような実施形態では、副作用は、肝機能の異常である。特定のこのような実施形態では、副作用は、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の上昇である。特定のこのような実施形態では、副作用は、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の上昇である。

【 0 5 2 5 】

特定の実施形態では、本発明は、被験体におけるCRPを低下させるための方法を提供する。脂質低下治療の結果、目標のLDL-Cレベルに達しなかった被験体においてCRPの濃度を低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、被験体に投与される唯一の薬学的因子である。特定のこのような実施形態では、被験体は、推奨される脂質低下治療に従っていない。特定のこのような実施形態では、本発明の薬学的組成物は、さらなる異なる脂質低下治療と同時に施される。特定のこのような実施形態では、さらなる脂質低下治療は、LDL-アフェレーシスである。特定のこのような実施形態では、さらなる脂質低下治療は、スタチンである。特定のこのような実施形態では、さらなる脂質低下治療は、エゼチミブである。

【 0 5 2 6 】

特定の実施形態では、本発明は、スタチン不耐性の被験体においてCRPの濃度を低下させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、クレアチンキナーゼ濃度が増加している。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、肝機能の異常を有する。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、筋肉痛を有する。特定のこのような実施形態では、被験体は、スタチン投与の結果として、中枢神経系の副作用を有する。特定の実施形態では、被験体は、推奨されるスタチン投与に従っていない。

【 0 5 2 7 】

特定の実施形態では、本発明は、被験体における冠動脈心疾患のリスクを低下させるための方法を提供する。特定の実施形態では、本発明は、被験体におけるアテローム性動脈硬化症の進行を遅らせるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、本発明は、被験体におけるアテローム性動脈硬化症の進行を停止させるための方法を提供する。特定のこのような実施形態では、本発明は、被験体におけるアテローム性プラークのサイズおよび/または有病率を減少させるための方法を提供する。特定の実施形態では、提供される方法は、アテローム性動脈硬化症を発症する被験体のリスクを低下させる。

【 0 5 2 8 】

特定の実施形態では、提供される方法は、被験体における心血管系の結果を改善する。特定のこのような実施形態では、改善された心臓血管系の結果は、冠動脈心疾患を発症するリスクの低下である。特定のこのような実施形態では、改善された心臓血管系の結果は、1以上の主要な心臓血管系の事象（死、心筋梗塞、再梗塞、発作、心原性ショック、肺浮腫、心停止および心房性不整脈が挙げられるがこれらに限定されない）の発生の減少である。特定のこのような実施形態では、改善された心血管系の結果は、頸動脈内膜中膜厚の改善により実証される。特定のこのような実施形態では、頸動脈内膜中膜厚の改善は、厚みの減少である。特定のこのような実施形態では、頸動脈内膜中膜厚の改善は、内膜中膜厚の増加の防止である。

【 0 5 2 9 】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、治療において使用するためのものである。特定の実施形態では、治療は、個体におけるCRPの減少である。特定の実施形態では、治療は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家

10

20

30

40

50

族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症するリスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、または早期発症した冠動脈心疾患の処置である。さらなる実施形態では、治療は、C H D リスクの低下である。特定の実施形態では、治療は、アテローム性動脈硬化症の予防である。特定の実施形態では、治療は、冠動脈心疾患の予防である。特定の実施形態では、治療は、急性冠動脈症候群、慢性腎不全、脈管損傷、動脈閉塞、アテローム性血栓症、不安定狭心症、後末梢血管疾患、心筋梗塞症候群（M I）、血栓症、深部静脈血栓、末期の腎疾患（E S R D）、補体活性化、うっ血性心不全または全身性脈管炎の処置である。特定の実施形態では、治療は、選択的なステントの配置、血管形成術、経皮的冠動脈形成術（P T C A）、心臓移植、腎臓透析または心肺バイパスから選択される手順を受けている個体の処置である。治療は、炎症性障害の処置である。

10

## 【0530】

特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、個体においてC R P を減少させるための医薬の調製のために使用される。特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、冠動脈心疾患のリスクを低下させるための医薬の調製のために使用される。特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、高コレステロール血症、非家族性高コレステロール血症、家族性高コレステロール血症、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症、ホモ接合性家族性高コレステロール血症、混合型脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症を発症する

20

リスク、冠動脈心疾患、冠動脈心疾患の病歴、早期発症した冠動脈心疾患、または冠動脈心疾患の1以上の危険因子の処置のための医薬の調製のために使用される。

## 【0531】

特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、急性冠動脈症候群、慢性腎不全、脈管損傷、動脈閉塞、アテローム性血栓症、不安定狭心症、後末梢血管疾患、心筋梗塞症候群（M I）、血栓症、深部静脈血栓、末期の腎疾患（E S R D）、補体活性化、うっ血性心不全または全身性脈管炎の処置のための医薬の調製のために使用される。特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、発作を有する個体の処置のための医薬の調製のために使用される。

30

## 【0532】

特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、選択的なステントの配置、血管形成術、経皮的冠動脈形成術（P T C A）、心臓移植、腎臓透析または心肺バイパスから選択される手順を受けている個体における処置のための医薬の調製のために使用される。

## 【0533】

特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、炎症性疾患の処置のための医薬の調製のために使用される。特定のこのような実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、慢性関節リウマチまたは変形性関節症の処置のための医薬の調製のために使用される。

40

## 【0534】

## C R P の併用治療

特定の実施形態では、C R P 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物は、1以上の他の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の他の薬学的因子は、脂質低下剤である。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と同じ疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と異なる疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物の望ましくない作用を処置するように設計される。特定の実施形態では、1以上の本

50

発明の薬学的組成物は、その他の薬学的因子の望ましくない作用を処置するために、別の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、異なる時点で投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、単一の処方物内で一緒に調製される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、別々に調製される。

**【0535】**

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、脂質低下剤が挙げられる。特定のような実施形態では、本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、アトルバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチンおよびエゼチミブが挙げられるがこれらに限定されない。特定のような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の前に投与される。特定のような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の後に投与される。特定のような実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物と同時に投与される。特定のような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量と同じである。特定のような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも少ない。特定のような実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも多い。

10

20

**【0536】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、HMG-CoAレダクターゼインヒビターである。特定のような実施形態では、HMG-CoAレダクターゼインヒビターは、スタチンである。特定のような実施形態では、スタチンは、アトルバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチンおよびロスバスタチンから選択される。

**【0537】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、ISIS 301012である。

30

**【0538】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、コレステロール吸収阻害薬である。特定のような実施形態では、コレステロール吸収阻害薬は、エゼチミブである。

**【0539】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、同時に処方されるHMG-CoAレダクターゼインヒビターおよびコレステロール吸収阻害薬である。特定のような実施形態では、同時に処方される脂質低下剤は、エゼチミブ/シンバスタチンである。

**【0540】**

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、ミクロソームトリグリセリド転移タンパク質インヒビター(MTPインヒビター)である。

40

**【0541】**

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、胆汁酸金属イオン封鎖剤である。特定のような実施形態では、胆汁酸金属イオン封鎖剤は、コレステラミン、コレステポールおよびコレセペラムから選択される。

**【0542】**

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、ニコチン酸である。特定のような実施形態では、ニコチン酸は、即時放出性ニコチン酸、延長放出性ニコチン酸および持続放出性ニコチン酸から選択される。

**【0543】**

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、フィブリン酸である。特定のご

50

のような実施形態では、フィブリン酸は、ゲムフィブロジル、フェノフィブラート、クロフィブラート、ベザフィブラートおよびシプロフィブラートから選択される。

【0544】

CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子のさらなる例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：コルチコステロイド（プレドニゾンが挙げられるがこれに限定されない）；免疫グロブリン（静脈内免疫グロブリン（IVIg）が挙げられるがこれに限定されない）；鎮痛剤（例えば、アセトアミノフェン）；抗炎症剤（非ステロイド性抗炎症薬（例えば、イブプロフェン、COX-1インヒビターおよびCOX-2インヒビター）が挙げられるがこれらに限定されない）；サリチル酸；抗生物質；抗ウイルス薬；抗真菌剤；抗糖尿病剤（例えば、ピグアナイド、グルコシダーゼ阻害剤、インシュリン、スルホニル尿素およびチアゾリジンジオン）；アドレナリン作動性修飾物質；利尿薬；ホルモン（例えば、同化性ステロイド、アンドロゲン、エストロゲン、カルシトニン、プロゲステロン、ソマトスタチンおよび甲状腺ホルモン）；免疫調節因子；筋弛緩剤；抗ヒスタミン薬；骨粗しょう症剤（例えば、ビホスホネート、カルシトニンおよびエストロゲン）；プロスタグランジン、抗新生物剤；精神療法剤；鎮静薬；トキシコデンドロン属の生成物；抗体；およびワクチン。

10

【0545】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物は、脂質低下治療と組み合わせて施され得る。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療は、治療的なライフスタイルの変化である。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療は、LDLアフェレーシスである。

20

【0546】

CRP核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、GENBANK（登録商標）アクセッション番号NM\_000567.1（本明細書中に配列番号6として引用される）の配列を有するCRP核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号6に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号6に対して少なくとも90%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号6に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号6に対して少なくとも95%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号6に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号6に対して100%相補的である。特定の実施形態では、配列番号6に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表9に示されるヌクレオチド配列を含む。

30

【0547】

表9の各配列番号番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾を含み得る。ISIS番号（ISIS NO.）により説明される短鎖アンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾との組み合わせを示す。

40

【0548】

表9は、配列番号6に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表9は、配列番号6に対して100%相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾糖を含む。特定の2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2のギャップマーモチーフであって、10個の2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOEヌクレオチドであることを意味

50

する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内のみ5-mC」は、ギャップセグメントが5-メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【0549】

特定の実施形態では、CRP核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の1以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、CRP核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1-12-1、1-1-10-2、2-10-1-1、3-10-3、2-10-3、2-10-2、1-10-1、1-10-2、3-8-3、2-8-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1、より好ましくは1-10-1、2-10-2、3-10-3および1-9-2から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。

【0550】

【表9】

表9: 配列番号6に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーの モチーフ	配列番号
353506	1257	1272	ACTCTGGACCCAAACC	3-10-3 MOE	409
353507	1258	1271	CTCTGGACCCAAAC	2-10-2 MOE	410
353484	1305	1320	CCATTTTCAGGAGACCT	3-10-3 MOE	411
353485	1306	1319	CATTTTCAGGAGACC	2-10-2 MOE	412

特定の実施形態では、標的領域は、NM\_\_000567.1のヌクレオチド1305~1320である。特定のこのような実施形態では、NM\_\_000567.1のヌクレオチド1305~1320に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号1305または1306から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、NM\_\_000567.1のヌクレオチド263~278に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ISIS番号353484または353485である。

【0551】

特定の実施形態では、標的領域は、NM\_\_000567.1のヌクレオチド1257~1272である。特定のこのような実施形態では、NM\_\_000567.1のヌクレオチド1257~1272に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号1257または1258から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、NM\_\_000567.1のヌクレオチド428~483に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ISIS番号353506または353507である。

【0552】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【0553】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は

、各ウィングに、1～3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオシドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'- $CH_2-O-2'$ )BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'- $CH_2-O-2'$ )BNA、エチレンオキシ(4'- $(CH_2)_2-O-2'$ )BNA、アミノオキシ(4'- $CH_2-O-N(R)-2'$ )BNAおよびオキシアミノ(4'- $CH_2-N(R)-O-2'$ )BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、 $O-C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $-OCF_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-CH_3$ 、 $2'-O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$ および $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$ から選択される置換基を含み、ここで、 $R_m$ および $R_n$ の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換の $C_1 \sim C_{10}$ アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2'MOEヌクレオチドである。

10

## 【0554】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合)は、その標的核酸に結合したときに、RNase(RNase Hが挙げられるがこれに限定されない)による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

20

## 【0555】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性の結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

## 【0556】

特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ11モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ12モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ13モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ14モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ15モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ16モノマーである。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9～15モノマーを含む。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10～15モノマーを含む。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12～14モノマーを含む。特定の実施形態では、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12～14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

30

40

## 【0557】

特定の実施形態では、本発明は、CRPの発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、1以上のCRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、CRP核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化

50

合物は、約 8 ~ 約 16 モノマー、好ましくは 9 ~ 15 モノマー、より好ましくは 9 ~ 14 モノマー、より好ましくは 10 ~ 14 モノマー（すなわち、約 8 ~ 約 16 の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15 または 16 のモノマーの CRP 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物を用いて CRP の発現を調節する方法を包含することを理解する。

#### 【0558】

特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 8 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 9 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 10 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 11 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 12 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 13 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 14 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 15 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP を調節する方法は、長さ 16 モノマーの CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

#### 【0559】

特定の実施形態では、CRP の発現を調節する方法は、9 ~ 15 モノマーを含む CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP の発現を調節する方法は、10 ~ 15 モノマーを含む CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP の発現を調節する方法は、12 ~ 14 モノマーを含む CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、CRP の発現を調節する方法は、12 または 14 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む CRP 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

#### 【0560】

##### 6. 糖質コルチコイドレセプター (GCCR)

糖質コルチコイドは、とりわけ最初に同定されたステロイドホルモンであり、そして、多数の生理学的機能（糖新生の刺激、末梢組織におけるグルコース取り込みおよび利用の低下、グリコーゲン蓄積の増加、免疫および炎症応答の抑制、サイトカイン合成の阻害、ならびに、種々の発生事象の加速を含む）を担っている。糖質コルチコイドはまた、ストレスとの闘いに特に重要である。糖質コルチコイドの合成および放出のストレス誘導性の上昇は、他の応答の中でもとりわけ、心室負荷の増加、炎症性メディエータの阻害、サイトカイン合成の阻害、およびグルコース生成の増加をもたらす (Karim, Cell, 1998, 93, 487-490)。

#### 【0561】

天然の糖質コルチコイドおよびその合成誘導体の両方が、レセプターの核ホルモンスーパーファミリーの遍在性に発現される細胞質メンバーである糖質コルチコイドレセプターを介してその作用を発揮する。ヒト糖質コルチコイドレセプターはまた、核レセプターサブファミリー 3、グループ C、メンバー 1; NR3C1; GCCR; GCR; GRL; 糖質コルチコイドレセプター、リンパ球としても知られる。この遺伝子は、ヒトの染色体 5q11-q13 に位置し、そして、9つのエキソンから構成される (Encio および Detera-Wadleigh, J Biol Chem, 1991, 266, 7182-7188; Gehring et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82, 3751-3755)。ヒト糖質コルチコイドレセプター



-mRNAには多数の形態が存在する；5.5 kbのヒト糖質コルチコイドレセプター cDNA（エキソン1～8およびエキソン9を含む）；4.3 kbのヒト糖質コルチコイドレセプター cDNA（エキソン1～8およびエキソン9を含む）；および7.0 kbのヒト糖質コルチコイドレセプター cDNA（エキソン1～8およびエキソン9全体（エキソン9、エキソン9、および両側にエキソン9とエキソン9とが配置された「J領域」を含む）を含む）（Hollenberg et al., Nature, 1985, 318, 635-641; Oakley et al., J Biol Chem, 1996, 271, 9550-9559）。ヒト糖質コルチコイドレセプターは、レセプターの優性なアイソフォームであり、ステロイド結合活性を示すレセプターである（Hollenberg et al., Nature, 1985, 318, 635-641）。さらに、3つの異なるプロモーターの使用により、2つの異なるエキソン1改変体が転写され、そして、1つのエキソン1改変体の選択的スプライシングにより、このエキソンの3つの異なるバージョンが生じ得る。したがって、ヒト糖質コルチコイドレセプターmRNAは、5つの異なるバージョンのエキソン1を含み得る（Breslin et al., Mol Endocrinol, 2001, 15, 1381-1395）。

#### 【0562】

ヒト糖質コルチコイドレセプターmRNAのアイソフォームおよびアイソフォームの発現パターンの検査は、アイソフォームがより豊富に発現されることを明らかにする。両方のアイソフォームが、同じような組織および細胞のタイプ（肺、腎臓、心臓、肝臓、骨格筋、マクロファージ、好中球および末梢血単核細胞が挙げられる）において発現される。結腸においては、ヒト糖質コルチコイドレセプターのみが発現される。タンパク質レベルでは、アイソフォームは検査した全ての組織において検出されたが、アイソフォームは検出できず、生理学的条件下では、デフォルトのスプライシング経路は、アイソフォームを生じる経路であることが示唆される（Pujols et al., Am J Physiol Cell Physiol, 2002, 283, C1324-1331）。糖質コルチコイドレセプターのアイソフォームは、糖質コルチコイドのアゴニストにもアンタゴニストにも結合しない。さらに、アイソフォームは、主として、ホルモンの刺激とは無関係に、トランスフェクトされた細胞において核に局在化する。両方のアイソフォームが同じ細胞において発現されるとき、糖質コルチコイドレセプターは、ホルモンにより誘導された、遺伝子発現の糖質コルチコイドレセプター媒介性の刺激を阻害し、アイソフォームが、糖質コルチコイドレセプターの活性のインヒビターとして機能することが示唆される（Oakley et al., J Biol Chem, 1996, 271, 9550-9559）。特にそうでないと述べられない限り、本明細書中に記載されるヒト糖質コルチコイドレセプターは、染色体5q11～q13に位置する遍在性の遺伝子産物として規定される。

#### 【0563】

相補的な糖質コルチコイドレセプターアンチセンスRNA鎖でトランスフェクトした細胞株は、糖質コルチコイドレセプターmRNAレベルの減少と、糖質コルチコイドレセプターアゴニストであるデキサメタゾンに対する応答の低下とを示した（PepinおよびBarden, Mol Cell Biol, 1991, 11, 1647-1653）。視床下部-脳下垂体-副腎軸に対する糖質コルチコイドのフィードバック作用を研究するために、アンチセンス糖質コルチコイドレセプター遺伝子構築物を担持するトランスジェニックマウスが用いられた（Pepin et al., Nature, 1992, 355, 725-728）。同様の遺伝子操作されたマウスの別の研究では、エネルギーの摂取および消費、心臓および中間広筋リポタンパク質リパーゼの活性、ならびに、心臓および褐色脂肪組織のノルエピネフリンが、コントロール動物よりも低かった。逆に、脂肪含量および総身体エネルギーは、コントロール動物よりも有意に高かった。これらの結果は、糖質コルチコイドレセプター系の欠損が、エネルギー効率を高めることによってエネルギーバランスに影響を与え得、そして、視床下部-脳下垂体-副腎軸の調節作用が、筋肉

10

20

30

40

50

のリポタンパク質リパーゼ活性を変化させることを強調するものである (Richard et al., Am J Physiol, 1993, 265, R146-150)。

#### 【0564】

糖質コルチコイドレセプターアンタゴニストの反応性の作用 (behavioral effect) が、不安、学習および記憶を評価するように設計された動物モデルにおいて測定された。糖質コルチコイドレセプターmRNAを標的とするアンチセンスオリゴデオキシヌクレオチドを長期にわたり脳室内注入されたラットにおける糖質コルチコイドレセプターの発現の減少は、Morrisの水迷路試験 (water maze test) における空間的操縦とは干渉しなかった (Engelmann et al., Eur J Pharmacol, 1998, 361, 17-26)。糖質コルチコイドレセプターmRNAを標的とするアンチセンスオリゴデオキシヌクレオチドのラットの海馬の歯状回への両側注入は、Porsoltの強制水泳試験 (forced swim test) におけるラットの不動性を低下させた (Korte et al., Eur J Pharmacol, 1996, 301, 19-25)。

10

#### 【0565】

糖質コルチコイドは、しばしば、アレルギー、喘息、慢性関節リウマチ、AIDS、全身性エリテマトーデスおよび変性変形性関節症のような疾患の処置において、その免疫抑制性の抗炎症作用のために使用される。NF- $\kappa$ Bとの糖質コルチコイドレセプターとの相互作用によりもたらされるような遺伝子発現の負の調節は、少なくとも部分的に、インビボでの糖質コルチコイドの抗炎症作用を担うことが提唱されている。インターロイキン-6、腫瘍壊死因子 およびインターロイキン-1は、炎症ストレスの間の、視床下部-脳下垂体-副腎 (HPA) 軸の刺激の多くを説明する3つのサイトカインである。HPA軸ならびに全身の交感神経系および副腎髄質系は、基礎の、そしてストレスに関連するホメオスタシスの維持を担う、ストレス系の周辺構成要素である。HPA軸の最終産物である糖質コルチコイドは、3つ全ての炎症性サイトカインの産生を阻害し、そしてまた、インターロイキン-6を除いて、標的組織に対するその作用も阻害する。インターロイキン-6は、糖質コルチコイドと相乗的に作用して、急性期の反応物質の産生を刺激する。糖質コルチコイドでの処置は、HPA軸の活性を低下させる (Chrousos, N Engl J Med, 1995, 332, 1351-1362)。

20

30

#### 【0566】

いくつかの場合において、患者は、糖質コルチコイドでの処置に対して不応性である。このステロイドに対する抵抗性の1つの理由は、糖質コルチコイドレセプター遺伝子中に存在する変異または多型にある。合計15のミスセンス変異、3つのナンセンス変異、3つのフレームシフト変異、1つのスプライシング部位および2つの選択的スプライシング変異と、16の多型とが、糖質コルチコイドの抵抗性に関連するNR3C1遺伝子において報告されている (BrayおよびCotton, Hum Mutat, 2003, 21, 557-568)。ヒトにおけるさらなる研究により、メタボリック症候群の発生および進行と、糖質コルチコイドレセプター (GR) 遺伝子における対立遺伝子との間の正の関連が示唆されている (Rosmond, Obes Res, 2002, 10, 1078-1086)。

40

#### 【0567】

糖質コルチコイド非感受性の他の分類は、糖質コルチコイドレセプターアイソフォームの発現の変更と関連する。糖質コルチコイド抵抗性の潰瘍性大腸炎の患者におけるヒト糖質コルチコイドレセプター アイソフォームmRNA発現の研究は、このmRNAの存在が、糖質コルチコイド感受性の患者において有意により高かったことを明らかにし、末梢血単核細胞におけるヒト糖質コルチコイドレセプター mRNAの発現が、潰瘍性大腸炎における糖質コルチコイド応答の予測因子として働き得ることを示唆した (Honda et al., Gastroenterology, 2000, 118, 859-866)。糖質コルチコイドレセプター の発現の増加もまた、かなり多い数の糖質コルチコ

50

イド非感受性の喘息において観察される。さらに、糖質コルチコイドレセプターのDNA結合能におけるサイトカイン誘導性の異常が、糖質コルチコイド非感受性の患者のトランスフェクションに由来する末梢血単核細胞において見られ、そして、糖質コルチコイドレセプター遺伝子を持つHepG2細胞は、糖質コルチコイドレセプターのDNA結合能の有意な減少をもたらした(Leung et al., J Exp Med, 1997, 186, 1567-1574)。デキサメタゾンの結合研究は、ヒト糖質コルチコイドレセプターが、ホルモンリガンドに対する糖質コルチコイドレセプターの親和性は変えないが、GREに対するその結合能を変えることを実証する(Bamberger et al., J Clin Invest, 1995, 95, 2435-2441)。まとめると、これらの結果は、GRE標的的部位についての糖質コルチコイドレセプターとの競合により、糖質コルチコイドレセプターが、糖質コルチコイドの作用の生理学的および病態生理学的に関連する内因性インヒビターとして機能し得ることを示す。

10

## 【0568】

肝臓において、糖質コルチコイドアゴニストは、糖質コルチコイドレセプターを活性化することによって肝グルコース産生を増加させ、これは続いて、糖新生酵素であるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ(PEPCK)およびグルコース-6-リン酸の発現の増加をもたらす。糖新生により、グルコースは、乳酸、ピルビン酸およびアラニンのような非六炭糖の前駆体から形成される(Link, Curr Opin Investig Drugs, 2003, 4, 421-429)。RU 486のようなステロイド性糖質コルチコイドレセプターアンタゴニストは、糖尿病のげっ歯類モデルにおいて試験されている。レプチンレセプター遺伝子を欠失するマウス(db/dbマウスと呼ばれる)は、遺伝的に、肥満、糖尿病および高インシュリン血症である。高血糖のdb/dbマウスのRU 486での処置は、血漿インシュリンレベルに影響を及ぼすことなく、血中グルコースレベルを約49%低下させた。さらに、RU 486での処置は、未処置の動物と比較して、db/dbマウスにおける糖質コルチコイドレセプター応答性遺伝子PEPCK、グルコース-6-リン酸、グルコース輸送体2型およびチロシナミトランスフェラーゼの発現を減少させた(Friedman et al., J Biol Chem, 1997, 272, 31475-31481)。RU 486はまた、血清インシュリンおよび血中グルコースレベルの低下により、糖尿病、肥満および高インシュリン血症のob/obマウスモデルにおいて、糖尿病を改善する(Gettys et al., Int J Obes Relat Metab Disord, 1997, 21, 865-873)。

20

30

## 【0569】

糖新生の増加は、糖尿病における糖産生の増加の主要な原因であると考えられるので、肝グルコース産生の阻害のための多数の治療標的が調べられている。糖質コルチコイドレセプターのアンタゴニストの、動物モデルにおける糖尿病を改善する能力に起因して、このような化合物は、探索される中でもとりわけ、強力な治療因子である。しかし、糖質コルチコイドレセプターアンタゴニストには、有害な全身性の作用(HPA軸の活性化を含む)が存在する(Link, Curr Opin Investig Drugs, 2003, 4, 421-429)。HPA軸活性の増加は、免疫に関連する炎症作用の抑制と関連しており、これは、感染因子および新生物に対する感受性を増加させ得る。HPA軸またはその標的組織における欠損による免疫媒介性の炎症の抑制に関連する状態としては、クッシング症候群、慢性的なストレス、慢性アルコール依存症およびメラニコリックな抑うつ症が挙げられる(Chrousos, N Engl J Med, 1995, 332, 1351-1362)。したがって、肝臓特異的な糖質コルチコイドレセプターアンタゴニストを開発することは、非常に価値がある。ステロイド性の糖質コルチコイドレセプターアンタゴニストが、これらを肝臓に標的化する目的で、胆汁酸に結合されている(Apelqvist et al., 2000)。現在、所望されない末梢作用を伴わずに、糖質コルチコイドレセプターを標的化する治療因子は知られていない(Link, Curr Opin Investig Drugs, 2003, 4, 421-429)。

40

50

したがって、肝糖質コルチコイドレセプターを効率的に阻害し得る因子に対する長く感じられてきた必要性が存在したままである。

【0570】

定義

「糖質コルチコイドレセプター」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質である。糖質コルチコイドレセプターは、一般に、GCCRと称される。

【0571】

「GCCR核酸」は、GCCRをコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、GCCR核酸としては、GCCRをコードするDNA配列、GCCRをコードするDNAから転写されたRNA配列、およびGCCRをコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0572】

「GCCR mRNA」は、GCCRをコードするmRNAを意味する。

【0573】

治療上の適応

アンチセンス技術は、特定の遺伝子産物の発現を減少させるための有効な手段であり、したがって、糖質コルチコイドレセプターの発現を調節するための多数の治療、診断および研究の用途において有用である。さらに、特定の実施形態では、肝臓は、投与後にアンチセンスオリゴヌクレオチドの最も高い濃度が見られる組織の1つである(Geary et al., Curr. Opin. Investig. Drugs, 2001, 2, 562-573)。したがって、このような実施形態では、アンチセンス技術は、糖質コルチコイドレセプターの肝特異的な阻害のための魅力的な方法に相当する。

20

【0574】

特定の実施形態では、糖質コルチコイドレセプターをコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、肝臓に優先的に分配される。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、より長い親化合物と比べて、肝臓において増大した効力を有する。特定の実施形態では、標的RNAは、肝臓において優先的に発現される。

【0575】

治療のために、GCCRの発現を調節することにより処置され得る疾患または障害を有する疑いのある被験体は、1以上の短鎖アンチセンス化合物を投与することによって処置される。非限定的な例において、この方法は、治療上有効な量の短鎖アンチセンス化合物を動物に投与する工程を包含する。特定の短鎖アンチセンス化合物は、GCCRの活性を阻害するか、そして/または、GCCRの発現を阻害する。特定の実施形態では、被験体におけるGCCRの活性または発現は、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、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98%、少なくとも99%または100%阻害される。特定の実施形態では、被験体におけるGCCRの活性または発現は、少なくとも30%阻害される。特定の実施形態では、被験体におけるGCCRの活性または発現は、

30

40

【0576】

GCCRの発現の低下は、例えば、動物の血中、血漿中、血清中、脂肪組織中、肝臓または任意の他の体液、組織もしくは器官中で測定され得る。特定の実施形態では、このような解析される体液、組織もしくは器官内に含まれる細胞は、GCCRをコードする核酸分子を含むか、そして/または、これらは、GCCRタンパク質自体を含む。

【0577】

短鎖アンチセンス化合物を含有する特定の薬学的組成物およびその他の組成物もまた提供される。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、有効な量の化合物を適切な薬学的に需要可能な希釈剤またはキャリアに加えることによって、薬学的組成物において

50

利用される。

【0578】

特定の実施形態では、GCCR核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の1以上の特性または特徴を有する。特定の実施形態では、GCCR核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1-12-1、1-1-10-2、2-10-1-1、3-10-3、2-10-3、2-10-2、1-10-1、1-10-2、3-8-3、2-8-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。特定の実施形態では、GCCR核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1-10-1、2-10-2、3-10-3および1-9-2から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。特定の実施形態では、GCCR核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、3-10-3、2-10-3、2-10-2、1-10-1、1-10-2、2-8-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1から、より好ましくは、2-10-2および2-8-2から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。

10

【0579】

特定の実施形態では、本明細書中には、GCCR核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物またはこのような化合物を含有する薬学的組成物を投与することによって、個体を処置する方法が提供される。さらに、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与することによって、GCCR活性に関連する疾患または状態を有する被験体を処置する方法が提供される。糖尿病、特に、2型糖尿病に加え、GCCRに関連する疾患および状態としては以下が挙げられるがこれらに限定されない：肥満、メタボリックシンドロームX、クッシング症候群、アジソン病、炎症性疾患(例えば、喘息、鼻炎および関節炎)、アレルギー、自己免疫疾患、免疫不全、食欲不振、悪液質、骨の減損または骨の脆弱化、および創傷治癒。メタボリック症候群、メタボリックシンドロームXまたは単純なシンドロームXとは、肥満、脂質異常症、特に、高血中トリグリセリド、グルコース不耐性、高血糖および高血圧を含む危険因子のクラスターを指す。特定の実施形態では、GCCRに対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、全身性のステロイド治療によって誘導される高血糖の改善のために使用される。さらに、アンチセンス技術は、糖質コルチコイド処置に対して不応性の患者において過剰発現することが実証されている、糖質コルチコイドレセプター アイソフォームの発現を阻害するための手段を提供する。

20

30

【0580】

特定の実施形態では、本発明は、GCCRをコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を提供し、この化合物は、糖質コルチコイドレセプターの発現を調節する。本発明の化合物を含有する薬学的組成物および他の組成物もまた提供される。さらに、糖質コルチコイドレセプターのモジュレーターをスクリーニングする方法、および、細胞、組織もしくは動物における糖質コルチコイドレセプターの発現を調節する方法(上記細胞、組織もしくは動物を、1以上本発明の化合物または組成物に接触させる工程を包含する)が提供される。糖質コルチコイドレセプターの発現に関連する疾患または状態を有するか、またはその傾向にあると疑われる動物、特にヒトを処置する方法もまた、本明細書中に示される。このような方法は、1以上本発明の化合物または組成物の治療上または予防上有効な量を、処置を必要とする人に投与する工程を包含する。

40

【0581】

GCCR核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、GENBANK(登録商標)アクセッション番号AC012634(本明細書中に配列番号8として引用される)のヌクレオチド1~106000の配列を有するGCCR核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号8に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号8に対して少なくとも90%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号

50

8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 に対して少なくとも 95 % 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 に対して 100 % 相補的である。特定の実施形態では、配列番号 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 10 および 11 に示されるヌクレオチド配列から選択されるヌクレオチド配列を含む。

【0582】

表 10 および 11 における各配列番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾を含み得る。ISIS 番号 (ISIS NO.) により説明される短鎖アンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾との組み合わせを示す。

【0583】

特定の実施形態では、GCCR 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ギャップマーモチーフを含む。特定の実施形態では、GCCR 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、2-10-2 のギャップマーモチーフを含む。

【0584】

表 10 および 11 は、配列番号 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表 10 は、配列番号 8 に対して 100 % 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表 11 は、配列番号 8 に関して、1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾された糖を含む。特定の 2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2 のギャップマーモチーフであって、10 個の 2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOE ヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに 5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内のみ 5-mC」は、ギャップセグメントが 5-メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【0585】

【表 10】

表 10: 配列番号 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーの モチーフ	配列 番号
371644	88142	88155	TTTGGGAGGTGGTC	2-10-2 MOE	413
371645	88156	88169	CACACCAGGCAGAG	2-10-2 MOE	414
371649	88212	88225	CTTTACAGCTTCCA	2-10-2 MOE	415
371651	88242	88255	CACTACCTTCCACT	2-10-2 MOE	416
371652	88248	88261	AACACACACTACCT	2-10-2 MOE	417
371653	88256	88269	CTCTTCAAAACACA	2-10-2 MOE	418
371665	92037	92050	GTAATTGTGCTGTC	2-10-2 MOE	419
371669	92086	92099	TTTTTCTTCGAATT	2-10-2 MOE	420
371671	92114	92127	CATTTTCGATAGCG	2-10-2 MOE	421
371673	92142	92155	ACCTTCCAGGTTC	2-10-2 MOE	422

【0586】

10

20

30

40

【表 1 1 - 1】

表 11: 配列番号 8 に対して標的化され、かつ 1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーの モチーフ	配列 番号
371638	2039	2052	ATAGGAAGCATAAA	2-10-2 MOE	423
371650	4949	4962	TCTTTTAAAGAAGA	2-10-2 MOE	424
371673	10187	10200	ACCTTCCAGGTTCA	2-10-2 MOE	422
371660	13465	13478	AAGGATATTTTAAA	2-10-2 MOE	425
371660	14428	14441	AAGGATATTTTAAA	2-10-2 MOE	425
371654	15486	15499	GAACAAAATTAAA	2-10-2 MOE	427
371661	16638	16651	TTCCACAGATCTGT	2-10-2 MOE	428
371653	17892	17905	CTCTTCAAAACACA	2-10-2 MOE	418
371679	18444	18457	TTTATAAAGTAAAG	2-10-2 MOE	429
371645	19816	19829	CACACCAGGCAGAG	2-10-2 MOE	414
371638	21555	21568	ATAGGAAGCATAAA	2-10-2 MOE	423
371650	21775	21788	TCTTTTAAAGAAGA	2-10-2 MOE	424
371679	21902	21915	TTTATAAAGTAAAG	2-10-2 MOE	429
371655	22507	22520	TACTGTGAGAAATA	2-10-2 MOE	433
371655	22722	22735	TACTGTGAGAAATA	2-10-2 MOE	433
371672	25662	25675	TTCCAGCTTGAAGA	2-10-2 MOE	435
371678	25926	25939	GATCAGTTCTCATG	2-10-2 MOE	436
371655	26041	26054	TACTGTGAGAAATA	2-10-2 MOE	433
371638	29770	29783	ATAGGAAGCATAAA	2-10-2 MOE	423
371668	30551	30564	TTATCAATGATGCA	2-10-2 MOE	439
371670	40584	40597	GCATGCTGGACAGT	2-10-2 MOE	440
371654	43331	43344	GAACAAAATTAAA	2-10-2 MOE	427
371650	46024	46037	TCTTTTAAAGAAGA	2-10-2 MOE	424
371659	50372	50385	TTGCACCTGAACTA	2-10-2 MOE	443
371634	50565	50578	CAGAATATATTTCT	2-10-2 MOE	444
371673	56942	56955	ACCTTCCAGGTTCA	2-10-2 MOE	422
371654	62372	62385	GAACAAAATTAAA	2-10-2 MOE	427
371679	63537	63550	TTTATAAAGTAAAG	2-10-2 MOE	429
371654	64908	64921	GAACAAAATTAAA	2-10-2 MOE	427
371661	65795	65808	TTCCACAGATCTGT	2-10-2 MOE	428
371645	70997	71010	CACACCAGGCAGAG	2-10-2 MOE	414
371661	77400	77413	TTCCACAGATCTGT	2-10-2 MOE	428
371663	82329	82342	ATAAGAGATTA AAA	2-10-2 MOE	450
371633	83426	83439	TCCCCCTTCTCATT	2-10-2 MOE	451
371662	85873	85886	GGGCATTGT TAAA	2-10-2 MOE	452
371654	86476	86489	GAACAAAATTAAA	2-10-2 MOE	427
371679	86516	86529	TTTATAAAGTAAAG	2-10-2 MOE	429
371641	88097	88110	AGAACTCACATCTG	2-10-2 MOE	455
371642	88111	88124	GAGCTGGACGGAGG	2-10-2 MOE	456
371646	88170	88183	AAGCTTCATCGGAG	2-10-2 MOE	457
371647	88184	88197	ATAATGGCATCCCG	2-10-2 MOE	458
371650	88226	88239	TCTTTTAAAGAAGA	2-10-2 MOE	424
371673	91493	91506	ACCTTCCAGGTTCA	2-10-2 MOE	422
371664	92030	92043	TGCTGTCCTATAAG	2-10-2 MOE	460
371666	92044	92057	CACAAAGGTAATTG	2-10-2 MOE	461
371667	92058	92071	ATCATTTCTTCCAG	2-10-2 MOE	462
371668	92072	92085	TTATCAATGATGCA	2-10-2 MOE	463

10

20

30

40

【表 1 1 - 2】

371670	92100	92113	GCATGCTGGACAGT	2-10-2 MOE	440
371672	92128	92141	TTCCAGCTTGAAGA	2-10-2 MOE	435
371674	92147	92160	CCATTACCTTCCAG	2-10-2 MOE	466
371637	92983	92996	GCATAAACAGGGTT	2-10-2 MOE	467
371654	93928	93941	GAACAAAAATTTAAA	2-10-2 MOE	427
371641	99772	99785	AGAACTCACATCTG	2-10-2 MOE	455
371679	99883	99896	TTTATAAAGTAAAG	2-10-2 MOE	429
371660	99933	99946	AAGGATATTTTAAA	2-10-2 MOE	425
371635	105004	105017	TATGAAAGGAATGT	2-10-2 MOE	472
371654	105028	105041	GAACAAAAATTTAAA	2-10-2 MOE	427
371676	106482	106495	TTCCTTAAGCTTCC	2-10-2 MOE	474
371650	107838	107851	TCTTTTAAAGAAGA	2-10-2 MOE	424
371673	110922	110935	ACCTTCCAGGTTCA	2-10-2 MOE	422
371673	111580	111593	ACCTTCCAGGTTCA	2-10-2 MOE	422
371634	114608	114621	CAGAATATATTTCT	2-10-2 MOE	444
371638	115040	115053	ATAGGAAGCATAAA	2-10-2 MOE	423
371660	116244	116257	AAGGATATTTTAAA	2-10-2 MOE	425
371663	116657	116670	ATAAGAGATTTAAA	2-10-2 MOE	450
371673	118068	118081	ACCTTCCAGGTTCA	2-10-2 MOE	422
371666	118834	118847	CACAAAGGTAATTG	2-10-2 MOE	461
371660	119858	119871	AAGGATATTTTAAA	2-10-2 MOE	425
371660	120210	120223	AAGGATATTTTAAA	2-10-2 MOE	425
371662	120876	120889	GGGCATTGTTTAAA	2-10-2 MOE	452
371655	124004	124017	TACTGTGAGAAATA	2-10-2 MOE	433
371656	124170	124183	GAACAGTTAAACAT	2-10-2 MOE	485

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 2 6 9 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 2 6 9 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 2 6 9 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 4 1 3、4 1 4、4 1 5、4 1 6、4 1 7 または 4 1 8 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 2 6 9 に対して標的化されたアンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 1 6 4 4、3 7 1 6 4 5、3 7 1 6 4 9、3 7 1 6 5 1、3 7 1 6 5 2 または 3 7 1 6 5 3 から選択される。

## 【 0 5 8 8 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 1 6 9 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 1 6 9 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 1 6 9 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 4 1 3 または 4 1 4 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 1 4 2 ~ 8 8 1 6 9 に対して標的化されたアンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 1 6 4 4 または 3 7 1 6 4 5 から選択される。

## 【 0 5 8 9 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 2 4 2 ~ 8 8 2 6 9 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 2 4 2 ~ 8 8 2 6 9 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 8 8 2 4 2 ~ 8 8 2 6 9 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 4 1 6、4 1 7 または 4 1 8 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号 8 のヌクレオチド 8 8 2 4 2 ~ 8 8 2 6 9 に対して標的化されたアンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 7 1 6 5 1、3 7 1 6 5 2 または 3 7 1 6 5 3 から選択される。

## 【 0 5 9 0 】

10

20

30

40

50



特定の実施形態では、標的領域は、配列番号8のヌクレオチド92037~92155である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号8のヌクレオチド92037~92155を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド92037~92155に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号419、420、421または422から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号8のヌクレオチド92037~92155に対して標的化されたアンチセンス化合物は、I s i s 番号371665、371669、371671または171673から選択される。

【0591】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号8のヌクレオチド92114~92155である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号8のヌクレオチド92114~92155を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド92114~92155に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号421または422から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号8のヌクレオチド92114~92155に対して標的化されたアンチセンス化合物は、I s i s 番号371671または171673から選択される。

【0592】

特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【0593】

特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1~3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオシドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2')BNAおよびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2')BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)およびO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換のC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2'MOEヌクレオチドである。

【0594】

特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合)は、その標的核酸に結合したときに、RNase(RNase Hが挙げられるがこれに限定されない)による切断を支

10

20

30

40

50

持するアンチセンス化合物をもたらす。

【0595】

特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

【0596】

特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ11モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ13モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ14モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ15モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ16モノマーである。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9～15モノマーを含む。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10～15モノマーを含む。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12～14モノマーを含む。特定の実施形態では、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12～14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

【0597】

特定の実施形態では、本発明は、GCCRの発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、GCCR核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、GCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約8～約16モノマー、好ましくは9～15モノマー、より好ましくは9～14モノマー、より好ましくは10～14モノマー（すなわち、約8～約16の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15または16のモノマーの、GCCR核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物を用いてGCCRの発現を調節する方法を包含することを理解する。

【0598】

特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ8モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ9モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ10モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ11モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ12モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ13モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ14モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節する方法は、長さ15モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRを調節

10

20

30

40

50

する方法は、長さ16モノマーのGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

【0599】

特定の実施形態では、GCCRの発現を調節する方法は、9~15モノマーを含むGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRの発現を調節する方法は、10~15モノマーを含むGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRの発現を調節する方法は、12~14モノマーを含むGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、GCCRの発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含むGCCR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

10

【0600】

7. グルカゴンレセプター (GCGR)

正常血糖の維持は、注意深く調節される代謝の事象である。吸収可能となった後の状態で血中グルコースレベルの維持を担う29アミノ酸ペプチドであるグルカゴンは、肝のグリコーゲン分解、糖新生を活性化し、脂肪組織における脂肪分解を刺激し、そして、インシュリン分泌を刺激することによって、肝臓からのグルコース放出を増加させる。血中グルコースレベルが高い間、インシュリンは、グリコーゲン分解および糖新生のグルカゴン媒介性の亢進を逆転する。糖尿病患者において、インシュリンは、利用可能でないか、完全には有効でないかのいずれかである。糖尿病の処置は、従来、インシュリンレベルの増加に焦点を当てているが、グルカゴン機能の拮抗は、代替的な治療と考えられている。グルカゴンは、グルカゴンレセプターを介したシグナル伝達によってその生理学的作用を発揮しているので、グルカゴンレセプターは、糖尿病のための潜在的な治療標的として提唱されている (Madsen et al., Curr. Pharm. Des., 1999, 5, 683-691)。

20

【0601】

グルカゴンレセプターは、7回膜貫通ドメインを有するGタンパク質共役型レセプターのスーパーファミリーに属する。グルカゴンレセプターはまた、構造的にグルカゴンに類似するペプチドに結合する、相同なレセプターのより小さなサブファミリーのメンバーでもある。ヒトグルカゴンレセプターをコードする遺伝子は、1994年にクローニングされ、そのゲノム配列の解析により、複数のイントロンと、ラットグルカゴンレセプター遺伝子に対する82%の同一性とが明らかになった (Lok et al., Gene, 1994, 140, 203-209.; MacNeil et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 1994, 198, 328-334)。ラットグルカゴンレセプター遺伝子のクローニングはまた、複数の選択的スプライシング変体の説明をもたらした (Maget et al., FEBS Lett., 1994, 351, 271-275)。ヒトグルカゴンレセプター遺伝子は、染色体17q25に局在化する (Menzel et al., Genomics, 1994, 20, 327-328)。グルカゴンレセプター遺伝子の40番目のコドンにおけるGlyからSerへのミスセンス変異は、グルカゴンに対し3倍より低い親和性をもたらした (Fujisawa et al., Diabetologia, 1995, 38, 983-985)、そしてこの変異は、非インシュリン依存性糖尿病 (Fujisawa et al., Diabetologia, 1995, 38, 983-985)、高血圧 (Chambers et al., Nat. Genet., 1996, 12, 122) および中心性肥満症 (Siani et al., Obes. Res., 2001, 9, 722-726) を含む、いくつかの疾患状態と関連付けられている。

30

40

【0602】

定義

「グルカゴンレセプター」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質である。グルカゴンレセプターは、一般に、G

50

CGRと称されるが、また、GR、GGR、MGC138246、MGC93090とも称され得る。

【0603】

「GCGR核酸」は、GCGRをコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、GCGR核酸としては、GCGRをコードするGCGR配列、GCGRをコードするDNAから転写されたRNA配列およびGCGRをコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

【0604】

「GCGR mRNA」は、GCGRタンパク質をコードするmRNAを意味する。

【0605】

治療上の適応

アンチセンス技術は、グルカゴンレセプター(GCGR)の発現を減少させるための有効な手段であり、そして、多数の治療上、診断上および研究上の用途において比類なく有用であることが分かっている。したがって、特定の実施形態では、本発明は、グルカゴンレセプターをコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を提供し、この化合物は、グルカゴンレセプターの発現を調節する。さらに、GCGRの発現を阻害し得る短鎖アンチセンス化合物が本明細書中に提供される。また、個体を処置する方法も本明細書中に提供され、この方法は、GCGR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物を投与する工程を包含する。特定の実施形態では、GCGR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物がGCGRの発現を阻害するので、GCGR核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物を投与することによって、GCGRの活性に関連する疾患または状態を有する被験体を処置する方法が本明細書中に提供される。例えば、高血中グルコース、高血糖、糖尿病前症、糖尿病、2型糖尿病、メタボリック症候群、肥満および/またはインシュリン抵抗性を有する被験体を処置する方法が本明細書中に提供される。

【0606】

また、GCGRに対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物と、必要に応じて、薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、増強剤もしくは賦形剤とを含有する薬学的組成物が、本明細書中で企図される。本発明の特定の化合物はまた、GCGRにより媒介されるグルカゴン作用に関連する疾患および障害の処置のための医薬の製造において使用され得る。

【0607】

本発明の特定の実施形態は、組織または細胞中のGCGRの発現を減少させる方法を含み、この方法は、上記細胞または組織に対して、GCGRをコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物、または、このような短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物を接触させる工程を包含する。特定のこのような実施形態では、本発明は、被験体における血中グルコースレベル、血中トリグリセリドレベル、または血中コレステロールレベルを低下させる方法を提供し、この方法は、短鎖アンチセンス化合物または薬学的組成物を被験体に対して投与する工程を包含する。血中レベルは、血漿レベルまたは血清レベルであり得る。また、動物における、インシュリン感受性を改善する方法、GLP-1レベルを増加させる方法、および、肝グルコース生産を阻害する方法もまた企図され、これらの方法は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは薬学的組成物を上記動物に投与する工程を包含する。インシュリン感受性における改善は、循環中のインシュリンレベルの減少によって示され得る。

【0608】

特定の実施形態では、本発明は、GCGRを介してグルカゴン活性に関連する疾患または状態を有する被験体を処置する方法を提供し、この方法は、短鎖アンチセンス化合物または薬学的組成物の治療上または予防上有効な量を上記被験体に投与する工程を包含する。特定の実施形態では、このような疾患または状態は、代謝性の疾患または状態であり得る。特定の実施形態では、代謝性の疾患または状態は、糖尿病、高血糖、高脂血症、メタ

10

20

30

40

50

ポリックシンドロームX、肥満、原発性高グルカゴン血症、インシュリン欠損症またはインシュリン抵抗性である。いくつかの実施形態では、糖尿病は2型糖尿病である。いくつかの実施形態では、肥満は食事誘発性である。いくつかの実施形態では、高脂血症は、血中脂質レベルの上昇と関連している。脂質は、コレステロールおよびトリグリセリドを含む。一実施形態では、状態は、肝臓脂肪症である。いくつかの実施形態では、脂肪症は、脂肪性肝炎または非アルコール性脂肪性肝炎である。

#### 【0609】

特定の実施形態では、本発明は、本明細書中に説明されるオリゴマー性化合物を用いて、動物における血中グルコースレベルの上昇の発病を予防または遅延する方法、ならびに、動物における細胞の機能を防止する方法を提供する。

10

#### 【0610】

G C G R に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物は、G C G R 発現の調節を必要とする被験体（例えば、ヒトを含むがこれに限定されない動物）におけるG C G R の発現を調節するために使用され得る。特定の実施形態では、このような方法は、G C G R R N A の発現を減少させる短鎖アンチセンス化合物の有効量を上記動物に投与する工程を包含する。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、G C G R R N A のレベルまたは機能を効率的に低下させる。G C G R m R N A レベルの低下は、発現のG C G R タンパク質産物における変化ももたらし得るので、このような結果としての変化もまた測定され得る。G C G R R N A または発現のタンパク質産物のレベルまたは機能を効率的に低下させる特定のアンチセンス化合物は、活性なアンチセンス化合物とみなされる。

20

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、G C G R の発現を減少させ、R N A の少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、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98%、少なくとも99%または100%の低下を引き起こす。

#### 【0611】

さらに、グルカゴンレセプターのモジュレーターをスクリーニングする方法、および、細胞、組織または動物におけるグルカゴンレセプターの発現を調節する方法が提供され、これらの方法は、G C G R に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物、または、このような化合物を含有する組成物と、上記細胞、組織または動物とを接触させる工程を包含する。グルカゴンレセプターの発現に関連する疾患または状態を有するか、またはその傾向があると疑われる動物、特にヒトを処置する方法もまた、本明細書中に示される。このような特定の方法は、本発明の1以上の化合物または組成物の治療上または予防上有効な量を、処置を必要とする人に投与する工程を包含する。

30

#### 【0612】

グルカゴンレセプターの発現の低下は、例えば、動物の血中、血漿中、血清中、脂肪組織中、肝臓または任意の他の体液、組織もしくは器官中で測定され得る。好ましくは、解析される上記体液、組織もしくは器官内に含まれる細胞は、グルカゴンレセプタータンパク質をコードする核酸分子を含むか、そして/または、これらは、グルカゴンレセプタータンパク質自体を含む。

40

#### 【0613】

短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物および他の組成物もまた提供される。特定の実施形態では、G C G R をコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、化合物の有効量を、適切な薬学的に受容可能な希釈剤またはキャリアに加えることによって、薬学的組成物において利用される。

#### 【0614】

G C G R 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の1以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、G C G R 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1 - 1 2 - 1、1 - 1 - 1 0 - 2、2 - 1 0 - 1 - 1、3 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 2、1 - 1 0 - 1

50

、1-10-2、3-8-3、2-8-2、1-8-1、3-6-3または1-6-1から選択されるモチーフ（ウィング-デオキシギャップ-ウィング）を有する特定の実施形態では、G C G R 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1-12-1、2-10-2、3-10-3、3-8-3、1-1-10-2から選択されるモチーフ（ウィング-デオキシギャップ-ウィング）を有する。

#### 【0615】

G C G R 核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、G E N B A N K（登録商標）アクセッション番号 NM\_000160.1（本明細書中に配列番号9として引用される）の配列を有する G C G R 核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9に対して少なくとも90%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9に対して少なくとも95%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9に対して100%相補的である。特定の実施形態では、配列番号9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表12および13に示されるヌクレオチド配列から選択されるヌクレオチド配列を含む。

#### 【0616】

表12および13における各配列番号に示されるヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、配列番号により規定される短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾を含み得る。I s i s 番号 ( I s i s N O . ) により説明される短鎖アンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾との組み合わせを示す。

#### 【0617】

特定の実施形態では、G C C R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ギャップマーモチーフを含む。特定の実施形態では、G C C R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、3-10-3のギャップマーモチーフを含む。特定の実施形態では、G C C R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ギャップマーモチーフを含む。特定の実施形態では、G C C R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、3-8-3のギャップマーモチーフを含む。特定の実施形態では、G C C R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、ギャップマーモチーフを含む。特定の実施形態では、G C C R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、2-10-2のギャップマーモチーフを含む。

#### 【0618】

表12および13は、配列番号9に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表12は、配列番号9に対して100%相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表13は、配列番号9に関して、1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾された糖を含む。特定の2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2のギャップマーモチーフであって、10個の2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOEヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ5-mC」は、ギャップセグメントが5-メチルシ

10

20

30

40

50

トシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【 0 6 1 9 】

【表 1 2 - 1】

表 12: 配列番号 9 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマーの モチーフ	配列 番号
338463	378	393	TAGAGCTTCCACTTCT	3-10-3 MOE	486
338534	378	391	GAGCTTCCACTTCT	3-8-3 MOE	487
327130	499	512	TGTTGGCCGTGGTA	3-8-3 MOE	488
327131	500	513	ATGTTGGCCGTGGT	3-8-3 MOE	489
327132	501	514	GATGTTGGCCGTGG	3-8-3 MOE	490
327133	502	515	AGATGTTGGCCGTG	3-8-3 MOE	491
327134	503	516	GAGATGTTGGCCGT	3-8-3 MOE	492
327135	504	517	GGAGATGTTGGCCG	3-8-3 MOE	493
327136	505	518	AGGAGATGTTGGCC	3-8-3 MOE	494
327137	506	519	CAGGAGATGTTGGC	3-8-3 MOE	495
327138	507	520	GCAGGAGATGTTGG	3-8-3 MOE	496
327139	508	521	GGCAGGAGATGTTG	3-8-3 MOE	497
327140	531	544	GTGGTGCCAAGGCA	3-8-3 MOE	498
327141	532	545	TGTGGTGCCAAGGC	3-8-3 MOE	499
327142	533	546	TTGTGGTGCCAAGG	3-8-3 MOE	500
327143	534	547	TTGTGGTGCCAAG	3-8-3 MOE	501
327144	535	548	CTTTGTGGTGCCAA	3-8-3 MOE	502
327145	536	549	ACTTTGTGGTGCCA	3-8-3 MOE	503
327146	537	550	CACTTTGTGGTGCC	3-8-3 MOE	504
327147	538	551	GCACTTTGTGGTGC	3-8-3 MOE	505
327148	539	552	TGCACTTTGTGGTG	3-8-3 MOE	506
327149	540	553	TTGCACTTTGTGGT	3-8-3 MOE	507
327150	545	558	CGGTGTTGCACTTT	3-8-3 MOE	508
327151	546	559	GCGGTGTTGCACTT	3-8-3 MOE	509
327152	547	560	AGCGGTGTTGCACT	3-8-3 MOE	510
327153	548	561	AAGCGGTGTTGCAC	3-8-3 MOE	511
327154	549	562	GAAGCGGTGTTGCA	3-8-3 MOE	512
327155	550	563	CGAAGCGGTGTTGC	3-8-3 MOE	513
327156	551	564	ACGAAGCGGTGTTG	3-8-3 MOE	514
327157	552	565	CACGAAGCGGTGTT	3-8-3 MOE	515
327158	553	566	ACACGAAGCGGTGT	3-8-3 MOE	516
327159	554	567	AACACGAAGCGGTG	3-8-3 MOE	517
345897	684	697	GCTGCTGTACATCT	2-10-2 MOE	518
327160	684	697	GCTGCTGTACATCT	3-8-3 MOE	518
327161	685	698	AGCTGCTGTACATC	3-8-3 MOE	520
327162	686	699	AAGCTGCTGTACAT	3-8-3 MOE	521
327163	687	700	GAAGCTGCTGTACA	3-8-3 MOE	522
327164	688	701	GGAAGCTGCTGTAC	3-8-3 MOE	523
327165	689	702	TGGAAGCTGCTGTA	3-8-3 MOE	524
327166	690	703	CTGGAAGCTGCTGT	3-8-3 MOE	525
327167	691	704	CCTGGAAGCTGCTG	3-8-3 MOE	526
327168	692	705	ACCTGGAAGCTGCT	3-8-3 MOE	527
327169	693	706	CACCTGGAAGCTGC	3-8-3 MOE	528
327170	694	707	TCACCTGGAAGCTG	3-8-3 MOE	529
327171	695	708	ATCACCTGGAAGCT	3-8-3 MOE	530
327172	696	709	CATCACCTGGAAGC	3-8-3 MOE	531
327173	697	710	ACATCACCTGGAAG	3-8-3 MOE	532

【 0 6 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

327174	698	711	TACATCACCTGGAA	3-8-3 MOE	533
327175	699	712	GTACATCACCTGGA	3-8-3 MOE	534
327176	700	713	TGTACATCACCTGG	3-8-3 MOE	535
327177	701	714	GTGTACATCACCTG	3-8-3 MOE	536
327178	869	882	TAGCGGGTCCTGAG	3-8-3 MOE	537
327179	870	883	GTAGCGGGTCCTGA	3-8-3 MOE	538
327180	871	884	TGTAGCGGGTCCTG	3-8-3 MOE	539
327181	872	885	CTGTAGCGGGTCCT	3-8-3 MOE	540
327182	873	886	GCTGTAGCGGGTCC	3-8-3 MOE	541
327183	874	887	GGCTGTAGCGGGTC	3-8-3 MOE	542
327184	875	888	TGGCTGTAGCGGGT	3-8-3 MOE	543
327185	876	889	CTGGCTGTAGCGGG	3-8-3 MOE	544
327186	877	890	TCTGGCTGTAGCGG	3-8-3 MOE	545
327187	878	891	TTCTGGCTGTAGCG	3-8-3 MOE	546
327188	955	968	TGAACACCGCGGCC	3-8-3 MOE	547
327189	956	969	ATGAACACCGCGGC	3-8-3 MOE	548
327190	957	970	CATGAACACCGCGG	3-8-3 MOE	549
327191	958	971	GCATGAACACCGCG	3-8-3 MOE	550
327192	959	972	TGCATGAACACCGC	3-8-3 MOE	551
327193	960	973	TTGCATGAACACCG	3-8-3 MOE	552
327194	961	974	ATTGCATGAACACC	3-8-3 MOE	553
327195	962	975	TATTGCATGAACAC	3-8-3 MOE	554
327196	963	976	ATATTGCATGAACA	3-8-3 MOE	555
327197	964	977	CATATTGCATGAAC	3-8-3 MOE	556
327198	1019	1032	AGGTTGTGCAGGTA	3-8-3 MOE	557
327199	1020	1033	CAGGTTGTGCAGGT	3-8-3 MOE	558
327200	1021	1034	GCAGGTTGTGCAGG	3-8-3 MOE	559
327201	1022	1035	AGCAGGTTGTGCAG	3-8-3 MOE	560
327202	1023	1036	CAGCAGGTTGTGCA	3-8-3 MOE	561
327203	1024	1037	CCAGCAGGTTGTGC	3-8-3 MOE	562
327204	1025	1038	CCCAGCAGGTTGTG	3-8-3 MOE	563
327205	1026	1039	GCCCAGCAGGTTGT	3-8-3 MOE	564
327206	1027	1040	GGCCCAGCAGGTTG	3-8-3 MOE	565
327207	1028	1041	AGGCCAGCAGGTT	3-8-3 MOE	566
338491	1160	1175	TGTCATTGCTGGTCCA	3-10-3 MOE	567
338562	1160	1173	TCATTGCTGGTCCA	3-8-3 MOE	568
338498	1307	1322	TGGCCAGCCGGA ACTT	3-10-3 MOE	569
338569	1307	1320	GCCAGCCGGA ACTT	3-8-3 MOE	570
338499	1329	1344	GGGATGAGGGTCAGCG	3-10-3 MOE	571
338570	1329	1342	GATGAGGGTCAGCG	3-8-3 MOE	572
385067	1364	1377	AAGGCAAAGACCAC	3-8-3 MOE	573
338573	1401	1414	GGAGCGCAGGGTGC	3-8-3 MOE	574
338580	1487	1500	TGCACCTCCTTGTT	3-8-3 MOE	575

10

20

30

40

【 0 6 2 1 】



【表 13 - 1】

表 13: 配列番号 1 に対して標的化され、かつ 1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマーの モチーフ	配列 番号
338577	158	171	CAGCAGACCCTGGA	3-8-3 MOE	576
338458	237	252	ACATCTGGCAGAGGTT	3-10-3 MOE	577
338529	237	250	ATCTGGCAGAGGTT	3-8-3 MOE	578
338466	318	333	CAGGCCAGCAGGAGTA	3-10-3 MOE	579
338537	318	331	GGCCAGCAGGAGTA	3-8-3 MOE	580
338533	364	377	CAAACAAAAAGTCC	3-8-3 MOE	582
338462	364	379	CTCAAACAAAAAGTCC	3-10-3 MOE	581
338535	397	410	GGTGACATTGGTCA	3-8-3 MOE	584
338464	397	412	GTGGTGACATTGGTCA	3-10-3 MOE	583
338466	470	485	CAGGCCAGCAGGAGTA	3-10-3 MOE	579
338537	470	483	GGCCAGCAGGAGTA	3-8-3 MOE	580
385048	497	510	TTGGCAGTGGTGT	3-8-3 MOE	587
385049	500	513	ATGTTGGCAGTGGT	3-8-3 MOE	588
338467	503	518	AGGAAATGTTGGCAGT	3-10-3 MOE	589
338538	503	516	GAAATGTTGGCAGT	3-8-3 MOE	590
385050	506	519	CAGGAAATGTTGGC	3-8-3 MOE	591
385051	509	522	GGGCAGGAAATGTT	3-8-3 MOE	592
385052	523	536	AAGGTAGGTACCAG	3-8-3 MOE	593
385053	526	539	ACCAAGGTAGGTAC	3-8-3 MOE	594
385056	535	548	CTTTGTGGCACCAA	3-8-3 MOE	595
385057	538	551	GCACTTTGTGGCAC	3-8-3 MOE	596
338539	539	552	TGCACTTTGTGGCA	3-8-3 MOE	597
385058	541	554	GCTGCACTTTGTGG	3-8-3 MOE	598
385059	544	557	GGTGCTGCACTTTG	3-8-3 MOE	599
385060	547	560	GGCGGTGCTGCACT	3-8-3 MOE	600
385063	556	569	TGAACACTAGGCGG	3-8-3 MOE	601
385064	559	572	TCTTGAACACTAGG	3-8-3 MOE	602
338469	561	576	CACCTCTTGAACACTA	3-10-3 MOE	603
338540	561	574	CCTCTTGAACACTA	3-8-3 MOE	604
385065	562	575	ACCTCTTGAACACT	3-8-3 MOE	605
385066	565	578	CACACCTCTTGAAC	3-8-3 MOE	606
338541	590	603	CCTCGAACCCTG	3-8-3 MOE	607
338473	658	673	CTTCTGGACCTCGATC	3-10-3 MOE	608
338544	658	671	TCTGGACCTCGATC	3-8-3 MOE	609
338474	681	696	CTGCTATACATCTTGG	3-10-3 MOE	610
338545	681	694	GCTATACATCTTGG	3-8-3 MOE	611
338475	703	718	CACGGTGTACATCACC	3-10-3 MOE	612
338546	703	716	CGGTGTACATCACC	3-8-3 MOE	613
338547	718	731	ACAGACTGTAGCCC	3-8-3 MOE	615
338476	718	733	GGACAGACTGTAGCCC	3-10-3 MOE	614
338550	889	902	CATCGCCAATCTTC	3-8-3 MOE	617
338479	889	904	GTCATCGCCAATCTTC	3-10-3 MOE	616
338551	899	912	ACACTGAGGTCATC	3-8-3 MOE	619
338480	899	914	TCACACTGAGGTCATC	3-10-3 MOE	618
338552	924	937	CGCCCCGTCACTGA	3-8-3 MOE	620
338555	992	1005	AGCAACCAGCAATA	3-8-3 MOE	622
338484	992	1007	CCAGCAACCAGCAATA	3-10-3 MOE	621

10

20

30

40

【表 1 3 - 2】

338485	1018	1033	CAGGCTGTACAGGTAC	3-10-3 MOE	623
338556	1018	1031	GGCTGTACAGGTAC	3-8-3 MOE	624
338558	1051	1064	AGCTCCTCTCAGAG	3-8-3 MOE	626
338487	1051	1066	GAAGCTCCTCTCAGAG	3-10-3 MOE	625
338559	1079	1092	CAGCCAATGCCAG	3-8-3 MOE	628
338488	1079	1094	CCCAGCCAATGCCAG	3-10-3 MOE	627
338560	1131	1144	AAACAGACACTTGA	3-8-3 MOE	630
338489	1131	1146	TCAAACAGACACTTGA	3-10-3 MOE	629
338490	1145	1160	AGCACTGAACATTCTC	3-10-3 MOE	631
338561	1145	1158	CACTGAACATTCTC	3-8-3 MOE	632
338563	1181	1194	ATCCACCAGAATCC	3-8-3 MOE	634
338492	1181	1196	GGATCCACCAGAATCC	3-10-3 MOE	633
338564	1216	1229	TGATCAGTAAGGCC	3-8-3 MOE	635
338565	1232	1245	ACAAAGATGAAAAA	3-8-3 MOE	637
338494	1232	1247	GGACAAAGATGAAAAA	3-10-3 MOE	636
338566	1267	1280	CACGCAGCTTGGCC	3-8-3 MOE	639
338495	1267	1282	GGCACGCAGCTTGGCC	3-10-3 MOE	638
338571	1344	1357	GACCCCCAGCAGAG	3-8-3 MOE	641
338500	1344	1359	TGGACCCCCAGCAGAG	3-10-3 MOE	640
385068	1366	1379	CAAAGGCAAAGACC	3-8-3 MOE	642
385069	1369	1382	TCACAAAGGCAAAG	3-8-3 MOE	643
385070	1372	1385	CAGTCACAAAGGCA	3-8-3 MOE	644
385071	1375	1388	CGTCAGTCACAAAG	3-8-3 MOE	645
385072	1378	1391	GCTCGTCAGTCACA	3-8-3 MOE	646
385073	1381	1394	CATGCTCGTCAGTC	3-8-3 MOE	647
386608	1384	1397	GGGCATGCTCGTCA	1-12-1 MOE	648
386593	1384	1397	GGGCATGCTCGTCA	2-10-2 MOE	648
396146	1384	1397	GGGCATGCTCGTCA	2-10-2 MOE	648
338572	1384	1397	GGGCATGCTCGTCA	3-8-3 MOE	648
396149	1384	1397	GGGCATGCTCGTCA	1-1-10-2 2'- <sup>2</sup> -(ブチルアセトアミド)- <sup>2</sup> ハルミタミド /OMe/OMe	648
386627	1384	1397	GGGCATGCTCGTCA	2-10-2 メチレンオキシ BNA	648
386610	1387	1400	CTTGGGCATGCTCG	1-12-1 MOE	654
386595	1387	1400	CTTGGGCATGCTCG	2-10-2 MOE	654
385074	1387	1400	CTTGGGCATGCTCG	3-8-3 MOE	654
385075	1390	1403	TGCC TTGGGCATGC	3-8-3 MOE	657
385076	1393	1406	GGGTGCCTTGGGCA	3-8-3 MOE	648
385077	1396	1409	GCAGGGTGCCTTGG	3-8-3 MOE	659
385078	1399	1412	AGCGCAGGGTGCCT	3-8-3 MOE	660
338502	1401	1416	GTGGAGCGCAGGGTGC	3-10-3 MOE	661
385079	1402	1415	TGGAGCGCAGGGTG	3-8-3 MOE	662
385080	1405	1418	TGGTGGAGCGCAGG	3-8-3 MOE	663
385081	1408	1421	GCTTGGTGGAGCGC	3-8-3 MOE	664
385082	1411	1424	AGAGCTTGGTGGAG	3-8-3 MOE	665
338503	1412	1427	AAAAGAGCTTGGTGGA	3-10-3 MOE	666
338574	1412	1425	AAGAGCTTGGTGGA	3-8-3 MOE	667
385083	1414	1427	AAAAGAGCTTGGTG	3-8-3 MOE	668
385084	1417	1430	CAAAAAAGAGCTTG	3-8-3 MOE	669
338504	1434	1449	AAGGAGCTGAGGAACA	3-10-3 MOE	670

10

20

30

40

【表 1 3 - 3】

338575	1434	1447	GGAGCTGAGGAACA	3-8-3 MOE	671
327167	1441	1454	CCTGGAAGCTGCTG	3-8-3 MOE	526
338576	1445	1458	AGACCCTGGAAGGA	3-8-3 MOE	673
338505	1445	1460	GCAGACCCTGGAAGGA	3-10-3 MOE	672
338506	1449	1464	ACCAGCAGACCCTGGA	3-10-3 MOE	674
338577	1449	1462	CAGCAGACCCTGGA	3-8-3 MOE	576
338507	1464	1479	CAGTAGAGAACAGCCA	3-10-3 MOE	676
338578	1464	1477	GTAGAGAACAGCCA	3-8-3 MOE	677
338508	1475	1490	TGTTGAGGAAACAGTA	3-10-3 MOE	678
338579	1475	1488	TTGAGGAAACAGTA	3-8-3 MOE	679
338509	1487	1502	CCTGCACCTCCTTGTT	3-10-3 MOE	680
338580	1610	1623	TGCACCTCCTTGTT	3-8-3 MOE	575

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 9 のヌクレオチド 3 7 8 ~ 3 9 1 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 9 のヌクレオチド 3 7 8 ~ 3 9 1 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 3 7 8 ~ 3 9 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 4 8 6 または 4 8 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 9 のヌクレオチド 3 7 8 ~ 3 9 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 3 8 4 6 3 または 3 3 8 5 3 4 から選択される。

## 【 0 6 2 4 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 9 のヌクレオチド 4 9 9 ~ 5 2 1 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 9 のヌクレオチド 4 9 9 ~ 5 2 1 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 4 9 9 ~ 5 2 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 4 8 8、4 8 9、4 9 0、4 9 1、4 9 2、4 9 3、4 9 4、4 9 5、4 9 6 または 4 9 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 9 のヌクレオチド 4 9 9 ~ 5 2 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 2 7 1 3 0、3 2 7 1 3 1、3 2 7 1 3 2、3 2 7 1 3 3、3 2 7 1 3 4、3 2 7 1 3 5、3 2 7 1 3 6、3 2 7 1 3 7、3 2 7 1 3 8 または 3 2 7 1 3 9 から選択される。

## 【 0 6 2 5 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 9 のヌクレオチド 5 3 1 ~ 5 5 3 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 9 のヌクレオチド 5 3 1 ~ 5 5 3 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 5 3 1 ~ 5 5 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 4 9 8、4 9 9、5 0 0、5 0 1、5 0 2、5 0 3、5 0 4、5 0 5、5 0 6 または 5 0 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 9 のヌクレオチド 5 3 1 ~ 5 5 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 2 7 1 4 0、3 2 7 1 4 1、3 2 7 1 4 2、3 2 7 1 4 3、3 2 7 1 4 4、3 2 7 1 4 5、3 2 7 1 4 6、3 2 7 1 4 7、3 2 7 1 4 8 または 3 2 7 1 4 9 から選択される。

## 【 0 6 2 6 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 9 のヌクレオチド 5 4 5 ~ 5 6 7 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 9 のヌクレオチド 5 4 5 ~ 5 6 7 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 5 4 5 ~ 5 6 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 5 0 8、5 0 9、5 1 0、5 1 1、5 1 2、5 1 3、5 1 4、5 1 5、5 1 6 または 5 1 7 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 9 のヌクレオチド 5 4 5 ~ 5 6 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 3 2 7 1 5 0、3 2 7 1 5 1、3 2 7 1 5 2、3 2 7 1 5 3、3 2 7 1 5 4、3 2 7 1 5 5、3 2 7 1 5 6、3 2 7 1 5 7、3 2 7 1 5 8 または 3 2 7 1 5 9 から選択される。

## 【0627】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド531～567である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド531～567を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド531～567に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号498、499、500、501、502、503、504、505、506、507、508、509、510、511、512、513、514、515、516または517から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド531～567に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号327140、327141、327142、327143、327144、327145、327146、327147、327148、327149、327150、327151、327152、327153、327154、327155、327156、327157、327158または327159から選択される。

10

## 【0628】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド684～714である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド684～714を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド684～714に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号518、520、521、522、523、524、525、526、527、528、529、530、531、532、533、534、535または536から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド684～714に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号345897、327160、327161、327162、327163、327164、327165、327166、327167、327168、327169、327170、327171、327172、327173、327174、327175、327176または327177から選択される。

20

## 【0629】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド869～891である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド869～891を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド869～891に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号537、538、539、540、541、542、543、544、545または546から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド869～891に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号327178、327179、327180、327181、327182、327183、327184、327185、327186または327187から選択される。

30

## 【0630】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド955～977である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド955～977を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド955～977に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号547、548、549、550、551、552、553、554、555または556から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド955～977に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号327188、327189、327190、327191、327192、327193、327194、327195、327196または327197から選択される。

40

## 【0631】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド1019～1041である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド1019～1041を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1019～1

50

041に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号557、558、559、560、561、562、563、564、565または566から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド1019~1041に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号327198、327199、327200、327201、327202、327203、327204、327205、327206または327207から選択される。

【0632】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド1160~1175である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド1160~1175を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1160~1175に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号567または568から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド1160~1175に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号338491または338562から選択される。

10

【0633】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド1307~1377である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド1307~1377を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1307~1377に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号569、570、571、572または573から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド1307~1377に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号338498、338569、338499、338570または385067から選択される。

20

【0634】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号9のヌクレオチド1307~1414である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号9のヌクレオチド1307~1414を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1307~1414に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号569、570、571、572、573または574から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号9のヌクレオチド1307~1414に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号338498、338569、338499、338570、385067または338573から選択される。

30

【0635】

特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

40

【0636】

特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に、少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1~3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオチドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、 $-L-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、 $-D-$ メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH<sub>2</sub>

50

)<sub>2</sub>-O-2') BNA、アミノオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2') BNA およびオキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2') BNA から選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2' 位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub> アルキル、-OCF<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>) および O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>) から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub> および R<sub>n</sub> の各々は、独立して、H または置換もしくは非置換の C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub> アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは 2' MOE ヌクレオチドである。

【0637】

特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5' ウィングと 3' ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13 または 14 のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合)は、その標的核酸に結合したときに、RNase (RNase H が挙げられるがこれに限定されない)による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

【0638】

特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

【0639】

特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 8 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 9 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 10 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 11 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 12 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 13 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 14 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 15 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ 16 モノマーである。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9~15 モノマーを含む。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10~15 モノマーを含む。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14 モノマーを含む。特定の実施形態では、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

【0640】

特定の実施形態では、本発明は、G C G R の発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、G C G R 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約 8 ~ 約 16 モノマー、好ましくは 9 ~ 15 モノマー、より好ましくは 9 ~ 14 モノマー、より好ましくは 10 ~ 14 モノマー(すなわち、約 8 ~ 約 16 の連結されたモノマー)である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15 または 16 のモノマーの、G C G R 核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチ

10

20

30

40

50

センス化合物を用いて G C G R の発現を調節する方法を包含することを理解する。

【 0 6 4 1 】

特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 8 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 9 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 10 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 11 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 12 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 13 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 14 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 15 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R を調節する方法は、長さ 16 モノマーの G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

10

【 0 6 4 2 】

特定の実施形態では、G C G R の発現を調節する方法は、9 ~ 15 モノマーを含む G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R の発現を調節する方法は、10 ~ 15 モノマーを含む G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R の発現を調節する方法は、12 ~ 14 モノマーを含む G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、G C G R の発現を調節する方法は、12 または 14 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

20

【 0 6 4 3 】

8 . D G A T 2

ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ 2 ( D G A T 2 、 ジアシルグリセロール O - トランスフェラーゼ 2 、 アシル - C o A : ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ 2 としても公知) 、 ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ 2 は、食事からのトリグリセリド ( トリアシルグリセロールとも呼ばれる ) の吸収プロセスに参与していることが示されている。

30

【 0 6 4 4 】

食事からのトリグリセリドの吸収は、食事性のトリアシルグリセロールが腸の管腔内で加水分解され、次いで、腸の細胞内で再合成される一連の工程によって生じる、非常に効率的なプロセスである。トリアシルグリセロールの再合成は、モノアシルグリセロール経路を介して生じ得、この経路は、モノアシルグリセロールおよび脂肪性アシル - C o A からのジアシルグリセロールの合成を触媒するモノアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ ( M G A T ) から始まる。ジアシルグリセロールの代替的な合成は、グリセロール - リン酸経路により提供され、この経路は、2 分子の脂肪性アシル - C o A のグリセロール - 3 - リン酸への結合を説明する。いずれの場合においても、ジアシルグリセロールは、次いで、2 つのジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ酵素のうち的一方により触媒される反応において、脂肪性アシル - C o A の別の分子でアシル化され、トリグリセリドを形成する ( F a r e s e e t a l . , C u r r . O p i n . L i p i d o l , 2 0 0 0 , 1 1 , 2 2 9 - 2 3 4 ) 。

40

【 0 6 4 5 】

ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼにより触媒される反応は、トリグリセリドの合成において最終的な工程でありかつ、唯一の約束された ( c o m m i t t e d )

50

工程である。したがって、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼは、腸の脂肪吸収、リポタンパク質の組み立て、血漿トリグリセリド濃度の調節、および脂肪細胞における脂肪の貯蔵に参与している。第1のジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼであるジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1は、1960年に同定され、そして、このタンパク質をコードするヒトおよびマウスの遺伝子が、1998年に単離された (Cases et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1998, 95, 13018-13023; Oelkers et al., J. Biol. Chem., 1998, 273, 26765-26771)。ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ1を欠失するマウスは生存能力があり、そして、なお、他の生物学的経路を介してトリグリセリドを合成し得、トリグリセリド合成のための複数の機構の存在が示唆された (Smith et al., Nat. Genet., 2000, 25, 87-90)。

10

**【0646】**

その後、第2のジアシルグリセロールトランスフェラーゼであるジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2 (DGAT2、ジアシルグリセロールO-トランスフェラーゼ2、アシル-CoA:ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ2としても公知)が、真菌 *Mortierella*、ヒトおよびマウスにおいて同定された (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870-38876; Lardizabal et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38862-38869)。酵素アッセイは、この近年同定されたタンパク質が、広範囲の長鎖脂肪性アシル-CoA基質を利用するジアシルグリセロールトランスフェラーゼ活性を有することを示す (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870-38876)。

20

**【0647】**

ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2は、その配列がジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1と無関係である遺伝子ファミリーのメンバーである。ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1と比較した際の配列における相違に加え、インビトロアッセイは、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2が、より低い濃度の塩化マグネシウムおよびオレオイル-CoAで、より高い活性を有することを示す (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870-38876)。ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の推測されるタンパク質配列は、少なくとも1つの推定膜貫通ドメイン、2つの潜在的なN結合グリコシル化部位、6つの潜在的なプロテインキナーゼCリン酸化のコンセンサス部位、ならびに、アシルトランスフェラーゼ酵素に見られる推定グリセロールリン酸化部位と共通する配列を含む (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870-38876)。International Radiation Hybrid Mapping Consortiumは、ヒトジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2を、染色体11q13.3にマッピングした。

30

**【0648】**

ヒト組織において、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の最も高いレベルは、肝臓および白色の脂肪組織において検出され、乳腺、精巣および末梢血白血球においてもより低いレベルで見出される (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870-38876)。2.4キロベースおよび1.8キロベースの2つのmRNA種が、ヒト組織において検出されているのに対して、マウス組織における主要なジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2 mRNAは、2.4キロベースである。肝臓および白色脂肪組織に加え、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2は、マウスの小腸の全セグメントにおいて発現され、近位小腸では発現がより高く、そして、遠位小腸では発現がより低い (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870-38876)。

40

**【0649】**

50



ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ活性は、ラット肝臓の生後の発生の間、異なるパターンを示す。mRNAの発現と活性のパターンとの間には相関がないので、ラットの発生の間、翻訳後修飾が、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の活性の調節に関与し得る (Waterman et al., J. Lipid. Res., 2002, 43, 1555 - 1562)。

【0650】

ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2 mRNAは、培養マウス脂肪細胞の膜画分からジアシルグリセロール活性を測定するインビトロアッセイによって示されるように、インシュリンでの処置により優先的にアップレギュレートされる (Meegalla et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 2002, 298, 317 - 323)。絶食中のマウスにおいて、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の発現は大いに減少しており、そして、食餌を再開すると、劇的に増加する。脂肪酸合成に関与する2つの酵素、アセチル-CoAカルボキシラーゼおよび脂肪酸シターゼの発現パターンは、類似する様式で、絶食および食餌の再開に応答する。これらの結果は、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2が肝臓において豊富に発現されるという観察と併せて、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2が内因性の脂肪酸合成経路と密接に関連していることを示唆する (Meegalla et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 2002, 298, 317 - 323)。

【0651】

ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ1遺伝子に破壊部位を有するマウスの研究は、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ2がトリグリセリド合成に寄与するという証拠を提供する。ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2 mRNAの発現レベルは、野生型マウスおよびジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1欠損マウスの両方からの腸セグメントにおいて同様である (Buhman et al., J. Biol. Chem., 2002, 277, 25474 - 25479)。ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1の活性とジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の活性との間を区別するために塩化マグネシウムを用いることで、Buhmanらは、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1欠損マウスにおいて、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ活性が、腸の近位において50%、そして、腸の遠位において10~15%まで減少される (Buhman et al., J. Biol. Chem., 2002, 277, 25474 - 25479)。

【0652】

さらに、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2 mRNAレベルは、数週間高脂肪の食餌を与えた後でさえ、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1欠損マウスの肝臓または脂肪組織においてアップレギュレートされない (Cases et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 38870 - 38876; Chen et al., J. Clin. Invest., 2002, 109, 1049 - 1055)。しかし、レプチン遺伝子に肥満をもたらす変異を有するob/obマウスにおいて、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2は、野生型マウスよりも多く発現されており、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2が、これらのマウスにおいて見られる大いに蓄積された脂肪塊の責任の一部を負う可能性があることが示唆される。さらに、レプチンおよびジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1の変異を組み合わせると、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1欠損マウスからの白色脂肪組織におけるレベルと比較して、白色脂肪組織におけるジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の発現の3倍の上昇をもたらす (Chen et al., J. Clin. Invest., 2002, 109, 1049 - 1055)。ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2 mRNAはまた、これらのマウスの皮膚においてもアップレギュレートされる (Chen et al., J. Clin. Invest., 2002, 109, 175 - 181)。これらのデータは、レプチンが通常、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2の発現をダウンレ

10

20

30

40

50

ギユレートすること、そして、これらのマウスにおける白色脂肪組織中のジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2のアップレギュレーションが、レプチン欠損/ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ1欠損マウスにおいてなお生じているトリグリセリド合成のための代替的な経路を提供し得ることを示唆する(Chen et al., J. Clin. Invest., 2002, 109, 1049-1055)。

【0653】

ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ1ノックアウトマウスは、痩せており、食事により誘発される肥満に対して抵抗性で、組織トリグリセリドのレベルが低下しており、そして、インシュリンおよびレプチンに対する感受性が増加しているという興味深い表現型を示す(Chen et al., J. Clin. Invest., 2002, 109, 1049-1055; Smith et al., Nat. Genet., 2000, 25, 87-90)。ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2はまた、トリグリセリド合成にも関与しているので、ジアシルグリセロールトランスフェラーゼ2との干渉は、同様に、身体の脂肪含量の低下をもたらし得る。

10

【0654】

定義

「DGAT2」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質を意味する。

【0655】

「DGAT2核酸」は、DGAT2をコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、DGAT2核酸としては、DGAT2をコードするDNA配列、DGAT2をコードするDNAから転写されたRNA配列およびDGAT2をコードするmRNA配列が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0656】

「DGAT2 mRNA」は、DGAT2をコードするmRNAを意味する。

【0657】

治療上の適応

アンチセンス技術は、DGAT2の発現を減少させるための有効な手段であり、そして、多数の治療上、診断上および研究上の用途において比類なく有用であることが分かっている。したがって、特定の実施形態では、本発明は、DGAT2をコードする核酸に対して標的化された化合物を提供し、この化合物は、DGAT2の発現を調節する。さらに、DGAT2の発現を効率的に阻害し得る短鎖アンチセンス化合物が本明細書中に提供される。

30

【0658】

特定の実施形態では、DGAT2に関連する疾患または障害を有すると疑われる被験体は、DGAT2をコードする核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物を投与することによって処置される。例えば、非限定的な実施形態では、このような方法は、治療上有効な量の短鎖アンチセンス化合物を動物に対して投与する工程を包含する。特定のこのような実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、効率的にDGAT2の活性を阻害するか、または、DGAT2の発現を阻害する。一実施形態では、被験体におけるDGAT2の活性または発現は、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、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98%、少なくとも99%または100%阻害される。特定の実施形態では、被験体におけるDGAT2の活性または発現は、約30%阻害される。より好ましくは、被験体におけるDGAT2の活性または発現は、50%以上阻害される。

40

【0659】

DGAT2の発現の低下は、例えば、動物の血中、血漿中、血清中、脂肪組織中、肝臓または任意の他の体液、組織もしくは器官中で測定され得る。好ましくは、解析される上

50

記体液、組織もしくは器官内に含まれる細胞は、D G A T 2 タンパク質をコードする核酸分子を含むか、そして/または、これらは、D G A T 2 タンパク質自体を含む。

【0660】

特定の実施形態では、本発明の化合物を含有する薬学的組成物および他の組成物もまた提供される。例えば、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、化合物は、適切な薬学的に受容可能な希釈剤またはキャリアにこの化合物の有効量を加えることによって、薬学的組成物において利用され得る。

【0661】

D G A T 2 を標的とする特定の短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の1以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1 - 1 2 - 1、1 - 1 - 1 0 - 2、2 - 1 0 - 1 - 1、3 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 2、1 - 1 0 - 1、1 - 1 0 - 2、3 - 8 - 3、2 - 8 - 2、1 - 8 - 1、3 - 6 - 3または1 - 6 - 1から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する特定の実施形態では、D G A T 2 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1 - 1 0 - 1、2 - 1 0 - 2および3 - 1 0 - 3から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。

【0662】

D G A T 2 核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物、またはこのような化合物を含有する薬学的組成物を投与することによって、個体を処置する方法が本明細書中に提供される。さらに、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与することによって、D G A T 2 活性に関連する疾患または状態を有する被験体を処置する方法が提供される。D G A T 2 に関連する疾患および状態としては、心臓血管障害、肥満、糖尿病、コレステロール血症、および肝臓脂肪症が挙げられるがこれらに限定されない。

【0663】

D G A T 2 核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、G E N B A N K (登録商標)アクセッション番号N M \_ 0 3 2 5 6 4 . 2 (本明細書中に配列番号10として引用される)の配列を有するD G A T 2 核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号10に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10に対して少なくとも90%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号10に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10に対して少なくとも95%相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号10に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10に対して100%相補的である。特定の実施形態では、配列番号10に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表14および15に示されるヌクレオチド配列から選択されるヌクレオチド配列を含む。

【0664】

表14および15の各々に示される各ヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、表14および15に示されるヌクレオチド配列を含む短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾を含み得る。I s i s 番号(I s i s N o .)によって記載されるアンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する1以上の修飾との組み合わせを示す。

【0665】

表14および15は、配列番号10に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表14は、配列番号10に対して100%相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表15は、配列番号10に関して、1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオ

10

20

30

40

50

キシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2' - 修飾された糖を含む。特定の2' - 修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2 - 10 - 2 MOE」は、2 - 10 - 2のギャップマーモチーフであって、10個の2' - デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2' - MOEヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに5 - メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ5 - mC」は、ギャップセグメントが5 - メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【0666】

【表 14 - 1】

表 14: 配列番号 10 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマー のモチーフ	配列 番号
372556	231	244	ATGAGGGTCTTCAT	2-10-2 MOE	681
372557	249	262	ACCCCGGAGTAGGC	2-10-2 MOE	682
382601	249	260	CCCGGAGTAGGC	1-10-1 MOE	683
372480	251	266	CAGGACCCCGGAGTAG	3-10-3 MOE	684
372481	252	267	GCAGGACCCCGGAGTA	3-10-3 MOE	685
372558	252	265	AGGACCCCGGAGTA	2-10-2 MOE	686
372559	253	266	CAGGACCCCGGAGT	2-10-2 MOE	687
382603	331	342	CAGACCCCTCGC	1-10-1 MOE	688
382604	361	372	AGAGGATGCTGG	1-10-1 MOE	689
372485	392	407	GAGCCAGGTGACAGAG	3-10-3 MOE	690
372563	393	406	AGCCAGGTGACAGA	2-10-2 MOE	691
382605	397	408	TGAGCCAGGTGA	1-10-1 MOE	692
372565	414	427	TTTTCCACCTTGGA	2-10-2 MOE	693
382606	482	493	CTGCAGGCCACT	1-10-1 MOE	694
372497	651	666	TCACCAGCTGGATGGG	3-10-3 MOE	695
372498	652	667	TTCACCAGCTGGATGG	3-10-3 MOE	696
372575	652	665	CACCAGCTGGATGG	2-10-2 MOE	697
372576	653	666	TCACCAGCTGGATG	2-10-2 MOE	698
382607	655	666	TCACCAGCTGGA	1-10-1 MOE	699
372499	656	671	TGCTTCACCAGCTGG	3-10-3 MOE	700
372577	657	670	GTCTTCACCAGCTG	2-10-2 MOE	701
372500	659	674	GTGTGTCTTCACCAGC	3-10-3 MOE	702
372578	660	673	TGTGTCTTCACCAG	2-10-2 MOE	703
372501	661	676	TTGTGTGTCTTCACCA	3-10-3 MOE	704
372579	662	675	TGTGTGTCTTCACC	2-10-2 MOE	705
372502	664	679	AGGTTGTGTGTCTTCA	3-10-3 MOE	706
372580	665	678	GGTTGTGTGTCTTC	2-10-2 MOE	707
372503	666	681	GCAGGTTGTGTGTCTT	3-10-3 MOE	708
372581	667	680	CAGGTTGTGTGTCT	2-10-2 MOE	709
372504	669	684	TCAGCAGGTTGTGTGT	3-10-3 MOE	710
372582	670	683	CAGCAGGTTGTGTG	2-10-2 MOE	711
372505	671	686	GGTCAGCAGGTTGTGT	3-10-3 MOE	712
372506	672	687	TGGTCAGCAGGTTGTG	3-10-3 MOE	713
372583	672	685	GTCAGCAGGTTGTG	2-10-2 MOE	714
372584	673	686	GGTCAGCAGGTTGT	2-10-2 MOE	715
372507	676	691	CTGGTGGTCAGCAGGT	3-10-3 MOE	716
372585	677	690	TGGTGGTCAGCAGG	2-10-2 MOE	717
382608	680	691	CTGGTGGTCAGC	1-10-1 MOE	718
372508	681	696	AGTTCCTGGTGGTCAG	3-10-3 MOE	719
372586	682	695	GTTTCCTGGTGGTCA	2-10-2 MOE	720
372509	684	699	TATAGTTCCTGGTGGT	3-10-3 MOE	721
372587	685	698	ATAGTTCCTGGTGG	2-10-2 MOE	722
372510	686	701	GATATAGTTCCTGGTG	3-10-3 MOE	723
372588	687	700	ATATAGTTCCTGGT	2-10-2 MOE	724
372511	691	706	CCAAAGATATAGTTCC	3-10-3 MOE	725
372512	692	707	TCCAAAGATATAGTTC	3-10-3 MOE	726
372589	692	705	CAAAGATATAGTTC	2-10-2 MOE	727

10

20

30

40

【表 1 4 - 2】

372590	693	706	CCAAAGATATAGTT	2-10-2 MOE	728
382609	724	735	CCAGGCCCATGA	1-10-1 MOE	729
372514	725	740	GGCACCCAGGCCCATG	3-10-3 MOE	730
372592	726	739	GCACCCAGGCCCAT	2-10-2 MOE	731
372515	730	745	CAGAAGGCACCCAGGC	3-10-3 MOE	732
372593	731	744	AGAAGGCACCCAGG	2-10-2 MOE	733
382610	851	862	CCAGACATCAGG	1-10-1 MOE	734
382611	867	878	GACAGGGCAGAT	1-10-1 MOE	735
382602	868	879	TGACAGGGCAGA	1-10-1 MOE	736
382612	911	922	CCACTCCCATTTC	1-10-1 MOE	737
372524	965	980	GCCAGGCATGGAGCTC	3-10-3 MOE	738
372602	966	979	CCAGGCATGGAGCT	2-10-2 MOE	739
382613	968	979	CCAGGCATGGAG	1-10-1 MOE	740
382614	987	998	CAGGGTGACTGC	1-10-1 MOE	741
372525	989	1004	GTTCCGCAGGGTGACT	3-10-3 MOE	742
372603	990	1003	TTCCGCAGGGTGAC	2-10-2 MOE	743
372526	992	1007	GCGGTTCCGCAGGGTG	3-10-3 MOE	744
372604	993	1006	CGGTTCCGCAGGGT	2-10-2 MOE	745
372530	1106	1121	TCGGCCCCAGGAGCCC	3-10-3 MOE	746
372608	1107	1120	CGGCCCCAGGAGCC	2-10-2 MOE	747
372531	1109	1124	CCATCGGCCCCAGGAG	3-10-3 MOE	748
372609	1110	1123	CATCGGCCCCAGGA	2-10-2 MOE	749
372532	1112	1127	GACCCATCGGCCCCAG	3-10-3 MOE	750
372610	1113	1126	ACCCATCGGCCCCA	2-10-2 MOE	751
372533	1117	1132	TTCTGGACCCATCGGC	3-10-3 MOE	752
382615	1117	1128	GGACCCATCGGC	1-10-1 MOE	753
372611	1118	1131	TCTGGACCCATCGG	2-10-2 MOE	754
372536	1199	1214	CACCAGCCCCCAGGTG	3-10-3 MOE	755
372614	1200	1213	ACCAGCCCCCAGGT	2-10-2 MOE	756
372537	1204	1219	TAGGGCACCAGCCCC	3-10-3 MOE	757
372615	1205	1218	AGGGCACCAGCCCC	2-10-2 MOE	758
372538	1209	1224	TGGAGTAGGGCACCAG	3-10-3 MOE	759
372616	1210	1223	GGAGTAGGGCACCA	2-10-2 MOE	760
382616	1215	1226	CTTGGAGTAGGG	1-10-1 MOE	761
372539	1218	1233	TGATGGGCTTGGAGTA	3-10-3 MOE	762
372617	1219	1232	GATGGGCTTGGAGT	2-10-2 MOE	763
372540	1293	1308	TGTGGTACAGGTCGAT	3-10-3 MOE	764
372618	1294	1307	GTGGTACAGGTCGA	2-10-2 MOE	765
382617	1294	1305	GGTACAGGTCGA	1-10-1 MOE	766
372541	1295	1310	GGTGTGGTACAGGTCG	3-10-3 MOE	767
372619	1296	1309	GTGTGGTACAGGTC	2-10-2 MOE	768
372542	1298	1313	CATGGTGTGGTACAGG	3-10-3 MOE	769
372620	1299	1312	ATGGTGTGGTACAG	2-10-2 MOE	770
372543	1300	1315	TACATGGTGTGGTACA	3-10-3 MOE	771
372621	1301	1314	ACATGGTGTGGTAC	2-10-2 MOE	772
372544	1303	1318	ATGTACATGGTGTGGT	3-10-3 MOE	773
372622	1304	1317	TGTACATGGTGTGG	2-10-2 MOE	774
382618	1313	1324	GCCTCCATGTAC	1-10-1 MOE	775
382619	1325	1336	AGCTTCACCAGG	1-10-1 MOE	776
382620	1383	1394	GTTCACCTCCAG	1-10-1 MOE	777

【 0 6 6 8 】

10

20

30

40

【表 15 - 1】

表 15: 配列番号 10 に対して標的化され、かつ1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマー のモチーフ	配列 番号
372608	151	164	CGGCCCCAGGAGCC	2-10-2 MOE	747
372474	156	171	CATGCCCCAGCCGCCG	3-10-3 MOE	778
372552	157	170	ATGCCCCAGCCGCC	2-10-2 MOE	779
382609	167	178	CCAGGCCCATGA	1-10-1 MOE	729
372478	230	245	GATGAGGGTCTTCATG	3-10-3 MOE	780
372479	248	263	GACCCCGGAGTAGGCA	3-10-3 MOE	781
382611	317	328	GACAGGGCAGAT	1-10-1 MOE	735
372483	352	367	ATGCTGGAGCCAGTGC	3-10-3 MOE	782
372561	353	366	TGCTGGAGCCAGTG	2-10-2 MOE	783
372562	373	386	GTCTTGAGGGCCG	2-10-2 MOE	784
382602	388	399	TGACAGGGCAGA	1-10-1 MOE	736
372613	392	405	CCCAGGTGTCAGAG	2-10-2 MOE	785
372486	412	427	TTTTCCACCTTGGATC	3-10-3 MOE	786
372564	413	426	TTTCCACCTTGGAT	2-10-2 MOE	787
372487	413	428	TTTTTCCACCTTGGAT	3-10-3 MOE	788
372488	418	433	AGGTGTTTTTCCACCT	3-10-3 MOE	789
372566	419	432	GGTGTTTTTCCACC	2-10-2 MOE	790
372489	459	474	CCAGGAAGGATAGGAC	3-10-3 MOE	791
372567	460	473	CAGGAAGGATAGGA	2-10-2 MOE	792
382612	475	486	CCACTCCCATTC	1-10-1 MOE	737
372490	483	498	TGACACTGCAGGCCAC	3-10-3 MOE	793
372568	484	497	GACACTGCAGGCCA	2-10-2 MOE	794
372491	492	507	ACATGAGGATGACACT	3-10-3 MOE	795
372569	493	506	CATGAGGATGACAC	2-10-2 MOE	796
372492	503	518	GCAGAAGGTGTACATG	3-10-3 MOE	797
372570	504	517	CAGAAGGTGTACAT	2-10-2 MOE	798
372493	512	527	GCAGTCAGTGCAGAAG	3-10-3 MOE	799
372571	513	526	CAGTCAGTGCAGAA	2-10-2 MOE	800
372496	612	627	ACACGGCCCAGTTTCG	3-10-3 MOE	801
372574	613	626	CACGGCCCAGTTTC	2-10-2 MOE	802
372513	717	732	GGCCATGATGCCATG	3-10-3 MOE	803
372591	718	731	GCCCATGATGCCAT	2-10-2 MOE	804
372516	732	747	TACAGAAGGCACCCAG	3-10-3 MOE	805
372594	733	746	ACAGAAGGCACCCA	2-10-2 MOE	806
372518	812	827	GAAGTTGCCAGCCAAT	3-10-3 MOE	807
372596	813	826	AAGTTGCCAGCCAA	2-10-2 MOE	808
372560	863	876	CAGGGCAGATCCTT	2-10-2 MOE	809
372519	887	902	CAAGTAGTCTATGGTG	3-10-3 MOE	810
372597	888	901	AAGTAGTCTATGGT	2-10-2 MOE	811
372520	894	909	TGGAAAGCAAGTAGTC	3-10-3 MOE	812
372598	895	908	GGAAAGCAAGTAGT	2-10-2 MOE	813
372527	1013	1028	GGCCAGCTTTACAAAG	3-10-3 MOE	814
372605	1014	1027	GCCAGCTTTACAAA	2-10-2 MOE	815
372606	1020	1033	CGCAGGGCCAGCTT	2-10-2 MOE	816
372529	1052	1067	AAAGGAATAGGTGGGA	3-10-3 MOE	817
372607	1053	1066	AAGGAATAGGTGGG	2-10-2 MOE	818
372534	1144	1159	GCGAAACCAATATACT	3-10-3 MOE	819

10

20

30

40

【表 15 - 2】

372612	1145	1158	CGAAACCAATATAC	2-10-2 MOE	820
372535	1192	1207	CCCCAGGTGTCAGAGG	3-10-3 MOE	821
372613	1193	1206	CCCAGGTGTCAGAG	2-10-2 MOE	822
372545	1332	1347	GATTGTCAAAGAGCTT	3-10-3 MOE	823
372623	1333	1346	ATTGTCAAAGAGCT	2-10-2 MOE	824
372546	1342	1357	TTGGTCTTGTGATTGT	3-10-3 MOE	825
372624	1343	1356	TGGTCTTGTGATTG	2-10-2 MOE	826
372547	1352	1367	AAGGCCGAATTTGGTC	3-10-3 MOE	827
372625	1353	1366	AGGCCGAATTTGGT	2-10-2 MOE	828
382601	1617	1628	CCCGGAGTAGGC	1-10-1 MOE	683
382606	1971	1982	CTGCAGGCCACT	1-10-1 MOE	694
382612	1988	1999	CCACTCCCATTC	1-10-1 MOE	737

10

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 10 のヌクレオチド 231 ~ 267 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 10 のヌクレオチド 231 ~ 267 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 231 ~ 267 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 681、682、683、684、685、686 または 687 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 10 のヌクレオチド 231 ~ 267 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 372556、372557、382601、372480、372481、372558 または 372559 から選択される。

20

## 【0670】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 10 のヌクレオチド 249 ~ 267 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 10 のヌクレオチド 249 ~ 267 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 249 ~ 267 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 683、684、685、686 または 687 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 10 のヌクレオチド 249 ~ 267 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 382601、372480、372481、372558 または 372559 から選択される。

30

## 【0671】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 10 のヌクレオチド 331 ~ 493 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 10 のヌクレオチド 331 ~ 493 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 331 ~ 493 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 688、689、690、691、692、693 または 694 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 10 のヌクレオチド 331 ~ 493 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 382603、382604、372485、372563、382605、372565 または 382606 から選択される。

## 【0672】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 10 のヌクレオチド 331 ~ 427 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 10 のヌクレオチド 331 ~ 427 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 331 ~ 427 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 688、689、690、691、692 または 693 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 10 のヌクレオチド 331 ~ 427 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 382603、382604、372485、372563、382605 または 372565 から選択される。

40

## 【0673】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 10 のヌクレオチド 392 ~ 408 である

50



。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド392～408を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド392～408に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号690、691または692から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド392～408に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372485、372563または382605から選択される。

【0674】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド651～707である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド651～707を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド651～707に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号695、696、697、698、699、700、701、702、703、704、705、706、707、708、709、710、711、712、713、714、715、716、717、718、719、720、721、722、723、724、725、726、727または728から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド651～707に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372497、372498、372575、372576、382607、372499、372577、372500、372578、372501、372579、372502、372580、372503、372581、372504、372582、372505、372506、372583、372584、372507、372585、382608、372508、372586、372509、372587、372510、372588、372511、372512、372589または372590から選択される。

【0675】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド724～745である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド724～745を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド724～745に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号729、730、731、732または733から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド724～745に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号382609、372514、372592、372515または372593から選択される。

【0676】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド651～745である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド651～745を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド651～745に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号695、696、697、698、699、700、701、702、703、704、705、706、707、708、709、710、711、712、713、714、715、716、717、718、719、720、721、722、723、724、725、726、727、728、729、730、731、732または733から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド651～745に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372497、372498、372575、372576、382607、372499、372577、372500、372578、372501、372579、372502、372580、372503、372581、372504、372582、372505、372506、372583、372584、372507、372585、382608、372508、372586、372509、372587、372510、372588、372511、372512、372589、372590、382609、372514、372592、372515または372593から選択される。

10

20

30

40

50

## 【0677】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド851～922である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド851～922を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド851～922に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号734、735、736または737から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド851～922に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号382610、382611、382602または382612から選択される。

## 【0678】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド851～879である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド851～879を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド851～879に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号734、735または736から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド851～879に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号382610、382611または382602から選択される。

## 【0679】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド965～1007である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド965～1007を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド965～1007に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号738、739、740、741、742、743、744または745から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号10のヌクレオチド965～1007に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号372524、372602、382613、382614、372525、372603、372526または372604から選択される。

## 【0680】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド965～979である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド965～979を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド965～979に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号738、739または740から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号10のヌクレオチド965～979に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号372524、372602または382613から選択される。

## 【0681】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド987～1007である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド987～1007を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド987～1007に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号741、742、743、744または745から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号10のヌクレオチド987～1007に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号382614、372525、372603、372526または372604から選択される。

## 【0682】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド1106～1132である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド1106～1132を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1106～1132に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号746、747、748、749、750、751、752、753または754から選択されるヌクレオ

10

20

30

40

50

チド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド1106～1132に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372530、372608、372531、372609、372532、372610、372533、382615または372611から選択される。

**【0683】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド1199～1233である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド1199～1233を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1199～1233に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号755、756、757、758、759、760、761、762または763から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド1199～1233に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372536、372614、372537、372615、372538、372616、382616、372539または372617から選択される。

10

**【0684】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド1293～1394である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド1293～1394を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1293～1394に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号764、765、766、767、768、769、770、771、772、773、774、775、776または777から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド1293～1394に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372540、372618、382617、372541、372619、372542、372620、372543、372621、372544、372622、382618、382619または382620から選択される。

20

**【0685】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド1293～1336である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド1293～1336を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1293～1336に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号764、765、766、767、768、769、770、771、772、773、774、775または776から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド1293～1336に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372540、372618、382617、372541、372619、372542、372620、372543、372621、372544、372622、382618または382619から選択される。

30

**【0686】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号10のヌクレオチド1293～1324である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号10のヌクレオチド1293～1324を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1293～1324に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号764、765、766、767、768、769、770、771、772、773、774または775から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号10のヌクレオチド1293～1324に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号372540、372618、382617、372541、372619、372542、372620、372543、372621、372544、372622または382618から選択される。

40

**【0687】**

特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は

50

、長さ8～16ヌクレオチド、好ましくは9～15ヌクレオチド、より好ましくは9～14ヌクレオチド、より好ましくは10～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10～14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

#### 【0688】

特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1～3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオチドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、  
 - L - メチレンオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA、  
 - D - メチレンオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA、エチレンオキシ(4' - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - 2') BNA、アミノオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - N(R) - 2') BNA およびオキシアミノ(4' - CH<sub>2</sub> - N(R) - O - 2') BNA から選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O - アリル、O - C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、- OCF<sub>3</sub>、O - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - CH<sub>3</sub>、  
 T - O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>) および O - C  
 H<sub>2</sub> - C(=O) - N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>) から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub> および R<sub>n</sub> の各々は、独立して、H または置換もしくは非置換の C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2' MOEヌクレオチドである。

#### 【0689】

特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾(存在する場合)は、その標的核酸に結合したときに、RNase(RNase Hが挙げられるがこれに限定されない)による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

#### 【0690】

特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化される短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

#### 【0691】

特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ11モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ13モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ14モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセ

10

20

30

40

50

ンス化合物は、長さ15モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ16モノマーである。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9~15モノマーを含む。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10~15モノマーを含む。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14モノマーを含む。特定の実施形態では、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12~14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

#### 【0692】

特定の実施形態では、本発明は、D G A T 2 の発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、D G A T 2 核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、D G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約8~約16モノマー、好ましくは9~15モノマー、より好ましくは9~14モノマー、より好ましくは10~14モノマー（すなわち、約8~約16の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15または16のモノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物を用いてD G A T 2 の発現を調節する方法を包含することを理解する。

10

#### 【0693】

特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ8モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ9モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ10モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ11モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ12モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ13モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ14モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ15モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 を調節する方法は、長さ16モノマーのD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

20

30

#### 【0694】

特定の実施形態では、D G A T 2 の発現を調節する方法は、9~15モノマーを含むD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 の発現を調節する方法は、10~15モノマーを含むD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 の発現を調節する方法は、12~14モノマーを含むD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、D G A T 2 の発現を調節する方法は、12または14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含むD G A T 2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

40

#### 【0695】

##### 9. P T P 1 B

P T P 1 B（タンパク質ホスファターゼ1BおよびP T P N 1としても公知）は、元々、ヒト胎盤の主要なタンパク質チロシンホスファターゼとして単離された、小胞体（E R）に関連する酵素である（Tonks et al, J. Biol. Chem., 1988, 263, 6731-6737; Tonks et al, J. Biol. Chem.

50

, 1988, 263, 6722 - 6730)。

【0696】

インシュリンレセプターにより媒介されるシグナル伝達における本質的な調節の役割が、PTP1Bについて確立されている。特定の状況において、PTP1Bは、インビトロおよびインタクトな細胞の両方において活性化されたインシュリンレセプターと相互作用して、このレセプターを脱リン酸化し、シグナル伝達経路のダウンレギュレーションをもたらす (Goldstein et al., Mol. Cell. Biochem., 1998, 182, 91-99; Seely et al., Diabetes, 1996, 45, 1379-1385)。さらに、PTP1Bは、インシュリンのミトジェン作用を調節する (Goldstein et al., Mol. Cell. Biochem., 1998, 182, 91-99)。PTP1Bを過剰発現するラットの脂肪細胞において、GLUT4グルコース輸送体のトランスロケーションが阻害され、PTP1Bがグルコース輸送の負の調節因子としてもはたらくことが示された (Chen et al., J. Biol. Chem., 1997, 272, 8026-8031)。

10

【0697】

PTP1B遺伝子を欠失するマウスノックアウトモデルもまた、PTP1Bによるインシュリンシグナル伝達の負の調節の証拠となる。破壊されたPTP1B遺伝子を有するマウスは、インシュリン感受性の増加と、インシュリンレセプターのリン酸化の増加とを示した。高脂肪の食事を与えたとき、PTP1B<sup>-/-</sup>マウスは、体重の増加に対して抵抗性であり、そして、インシュリン感受性が復活した (remained) (Elchebly et al., Science, 1999, 283, 1544-1548)。これらの研究は、明らかに、PTP1Bを糖尿病および肥満の処置における治療標的として確立するものである。

20

【0698】

糖尿病および肥満 (現在ではときどき、まとめて、「ディアベシティ (diabesity)」と呼ばれる) は、相互に関係がある。ヒトの肥満の多くは、インシュリン抵抗性およびレプチン抵抗性に関連している。実際、肥満は、糖尿病自体よりも、インシュリンの作用に対してより大きな影響を有し得る (Sindelka et al., Physiol Res., 2002, 51, 85-91)。シンドロームXまたはメタボリック症候群は、一緒に生じたときに、糖尿病および心臓血管疾患に対する素因を示し得る状態のクラスターに対する新しい用語である。これらの症状 (高血圧、高トリグリセリド、HDLの低下および肥満を含む) は、いくつかの個体において一緒に出現する傾向がある。糖尿病および肥満の両方におけるその役割に起因して、PTP1Bは、糖尿病、肥満およびメタボリック症候群を含む、ある範囲の代謝性状態に対する治療標的であると考えられる。血中グルコースの制御を改善することによって、PTP1Bのインヒビターはまた、糖尿病の続発症 (網膜症、ニューロパシー、心臓血管系の合併症および腎症を含む) の減速、予防、遅延または改善において有用であり得る。

30

【0699】

細胞周期の間に差示的に調節される (Schievella et al., Cell Growth Differ., 1993, 4, 239-246) PTP1Bは、プレmRNAの選択的スプライシングから生じる2つの異なるアイソフォームとして、インシュリン感受性の組織において発現される (ShifrinおよびNeel, J. Biol. Chem., 1993, 268, 25376-25384)。選択的スプライシングを受けた生成物の割合は、インシュリンのような増殖因子により影響され、そして、調べられる種々の組織で異なっている (SellおよびReese, Mol. Genet. Metab., 1999, 66, 189-192)。これらの研究において、改変体のレベルは、血漿インシュリン濃度および体脂肪率と相関していた。したがって、これらの改変体は、慢性の高インシュリン血症または2型糖尿病を有する患者についてのバイオマーカーとして使用され得る。

40

【0700】

50

## 定義

「タンパク質チロシンホスファターゼ 1 B」は、その発現が短鎖アンチセンス化合物の投与によって調節されるべき、遺伝子産物またはタンパク質である。タンパク質チロシンホスファターゼ 1 B は、一般に、PTP1B と称されるが、また、タンパク質チロシンホスファターゼ；PTPN1；RKPTP；タンパク質チロシンホスファターゼ、非レセプター 1 型とも称され得る。

### 【0701】

「PTP1B 核酸」は、PTP1B をコードするあらゆる核酸を意味する。例えば、特定の実施形態では、PTP1B 核酸としては、PTP1B をコードする DNA 配列、PTP1B をコードする DNA から転写された RNA 配列、および PTP1B をコードする mRNA 配列が挙げられるがこれらに限定されない。

10

### 【0702】

「PTP1B mRNA」は、PTP1B タンパク質をコードする mRNA を意味する。

### 【0703】

#### 治療上の適応

アンチセンス技術は、PTP1B の発現を減少させるための有効な手段であり、そして、多数の治療上、診断上および研究上の用途において比類なく有用であることが分かっている。したがって、特定の実施形態では、本発明は、PTP1B をコードする核酸に対して標的化された化合物を提供し、この化合物は、PTP1B の発現を調節する。さらに、PTP1B の発現を効率的に阻害し得る短鎖アンチセンス化合物が本明細書中に提供される。

20

### 【0704】

特定の治療では、PTP1B の発現を調節することによって処置され得る疾患または障害を有すると疑われる被験体は、PTP1B をコードする核酸に対して標的化された 1 以上の短鎖アンチセンス化合物を投与することによって処置される。例えば、非限定的な一実施形態では、このような方法は、治療上有効な量の短鎖アンチセンス化合物を動物に対して投与する工程を包含する。本発明の短鎖アンチセンス化合物は、効率的に PTP1B の活性を阻害するか、または、PTP1B の発現を阻害する。一実施形態では、被験体における PTP1B の活性または発現は、少なくとも 10%、少なくとも 20%、少なくとも 25%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、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 98%、少なくとも 99% または 100% 阻害される。特定の実施形態では、被験体における PTP1B の活性または発現は、約 30% 阻害される。より好ましくは、被験体における PTP1B の活性または発現は、50% 以上阻害される。

30

### 【0705】

PTP1B の発現の低下は、例えば、動物の血中、血漿中、血清中、脂肪組織中、肝臓または任意の他の体液、組織もしくは器官中で測定され得る。好ましくは、解析される上記体液、組織もしくは器官内に含まれる細胞は、PTP1B をコードする核酸分子を含むか、そして/または、これらは、PTP1B タンパク質自体を含む。

40

### 【0706】

本発明の化合物を含有する薬学的組成物および他の組成物もまた提供される。特定の実施形態では、PTP1B をコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、化合物の有効量を、適切な薬学的に受容可能な希釈剤またはキャリアに加えることによって、薬学的組成物において利用される。

### 【0707】

PTP1B を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の 1 以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、PTP1B 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1 - 12 - 1、1 - 1 - 1

50

0 - 2、2 - 10 - 1 - 1、3 - 10 - 3、2 - 10 - 3、2 - 10 - 2、1 - 10 - 1、1 - 10 - 2、3 - 8 - 3、2 - 8 - 2、1 - 8 - 1、3 - 6 - 3または1 - 6 - 1、より好ましくは1 - 10 - 1、2 - 10 - 2、3 - 10 - 3および1 - 9 - 2から選択されるモチーフ(ウィング-デオキシギャップ-ウィング)を有する。

#### 【0708】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物、またはこのような化合物を含有する薬学的組成物を投与することによって個体を処置する方法が本明細書中に提供される。さらに、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与することによって、PTP1Bに関連する疾患または状態を有する被験体を処置する方法が提供される。PTP1Bに関連する疾患および状態としては、高い血中グルコースまたは高血糖、糖尿病前症、糖尿病、2型糖尿病、メタボリック症候群、肥満およびインシュリン抵抗性が挙げられるがこれらに限定されない。したがって、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与することによって、高い血中グルコースまたは高血糖、糖尿病前症、糖尿病、2型糖尿病、メタボリック症候群、肥満およびインシュリン抵抗性を処置する方法が本明細書中に提供される。

10

#### 【0709】

特定の実施形態では、本発明は、PTP1B発現の短鎖アンチセンスインヒビターを被験体に投与することによって、被験体における血中グルコースレベルを低下させるための、または、被験体における血中グルコースレベルの上昇の開始を予防もしくは遅延するための、組成物および方法を提供する。

20

#### 【0710】

特定の実施形態では、本発明は、PTP1B発現の短鎖アンチセンスインヒビターを被験体に投与することによって、被験体におけるインシュリン感受性を改善するため、または、被験体におけるインシュリン抵抗性の発病を予防もしくは遅延するための、組成物および方法を提供する。

#### 【0711】

特定の実施形態では、本発明は、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することによって、被験体における代謝性の状態を処置するための、または、被験体における代謝性の状態の発病を予防もしくは遅延するための、組成物および方法を提供する。このような代謝性の状態は、PTP1B発現に関連するあらゆる代謝性の状態であり得、これには、糖尿病および肥満が含まれるがこれらに限定されない。また、肥満症を減少させる方法が提供される。また、代謝速度が増大している肥満を処置する方法が提供される。

30

#### 【0712】

特定の実施形態では、被験体は2型糖尿病を有する。特定の実施形態では、被験体は、HbA<sub>1c</sub>レベルの上昇を示す。特定の実施形態では、HbA<sub>1c</sub>レベルは、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%または少なくとも約11%である。好ましい実施形態では、HbA<sub>1c</sub>レベルは、約7%以下まで低下される。特定の実施形態では、被験体は、ボディマス指数の上昇を示す。特定の実施形態では、ボディマス指数の上昇は、25kg/m<sup>2</sup>より大きい。特定の実施形態では、被験体は、高血糖または血中グルコースレベルの上昇を示す。特定の実施形態では、血中グルコースレベルは、空腹時の血中グルコースレベルである。特定の実施形態では、空腹時の血中グルコースレベルの上昇は、少なくとも約130mg/dLである。特定の実施形態では、被験体は、処置の開始前に高血糖を示すか、あるいは、約130mg/dLを上回る空腹時の血中グルコースレベル、少なくとも約7%の基線HbA<sub>1c</sub>レベル、もしくは、25kg/m<sup>2</sup>より大きいボディマス指数、またはこれらの任意の組み合わせを示す。

40

#### 【0713】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与することによって、1以上のこのようなレベルを低下させる方法が提供される。例え

50



ば、PTP1Bを標的とする短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することによって、被験体において、空腹時のグルコースレベル、HbA<sub>1c</sub>レベルもしくはボディマス指数のレベル、またはこれらの任意の組み合わせを低下させる方法が提供される。空腹時のグルコースは、空腹時の血中グルコース、空腹時の血清グルコース、または空腹時の血漿グルコースであり得る。いくつかの実施形態では、空腹時の血漿グルコースレベルは、少なくとも約25mg/dLまたは少なくとも約10mg/dL低下される。特定の実施形態では、上記被験体は、インシュリン、スルホニル尿素またはメトホルミンのようなグルコース低下剤の治療レジメンにおいて、正常なグルコースレベルを達成しない。

#### 【0714】

特定の実施形態では、本発明は、脂質レベルを変化させる方法を提供する。特定のこのような方法は、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することによって、被験体において、コレステロール、LDLおよび/もしくはVLDLのレベル、またはこれらの任意の組み合わせを低下させる。特定の実施形態では、被験体におけるHDLレベルは、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することによって、増加させられる。特定の実施形態では、被験体におけるLDL:HDLの比および/または総コレステロール:HDLの比は、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することによって、低下される。特定の実施形態では、被験体におけるHDL:LDLの比および/またはHDL:総コレステロールの比は、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することによって、増加させられる。特定の実施形態では、被験体における脂質のプロフィールは、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を被験体に投与することにより、HDLを増加させるか、LDLを低下するか、VLDLを低下させるか、トリグリセリドを低下させるか、アポリポタンパク質Bのレベルを低下させるか、または、総コレステロールレベルを低下させるか、あるいは、これらの組み合わせによって改善される。このような実施形態では、被験体はヒトを含む動物である。

#### 【0715】

##### 併用治療

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する1以上の薬学的組成物は、1以上の他の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と同じ疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と異なる疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物の望ましくない作用を処置するように設計される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物は、その他の薬学的因子の望ましくない作用を処置するために、別の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、異なる時点で投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、単一の処方物内で一緒に調製される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、別々に調製される。

#### 【0716】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、グルコース低下剤およびグルコース低下治療が挙げられる。いくつかの実施形態では、グルコース低下剤は、PPARアゴニスト(、デュアル(dual)または汎用(pan))、ジペプチジルペプチダーゼ(IV)インヒビター、GLP-1アナログ、インシュリンもしくはインシュリンアナログ、インシュリン分泌促進物質、SGLT2インヒビター、ヒトアミリンアナログ、ピグアナイド、 $\alpha$ -グルコシダーゼインヒビター、メグリチニド、チアゾリジンジ

10

20

30

40

50

オンまたはスルホニル尿素である。

【0717】

いくつかの実施形態では、グルコース低下治療は、GLP-1アナログである。いくつかの実施形態では、GLP-1アナログは、エキセンジン(exendin)-4またはリラグルチド(liraglutide)である。

【0718】

他の実施形態では、グルコース低下治療は、スルホニル尿素である。いくつかの実施形態では、スルホニル尿素は、アセトヘキサミド、クロロプロパミド、トルブタミド、トラザミド、グリメピリド、グリピジド、グリブリドまたはグリクラジドである。

【0719】

いくつかの実施形態では、グルコース低下薬はピグアナイドである。いくつかの実施形態では、ピグアナイドは、メトホルミンであり、そして、いくつかの実施形態では、血中グルコースレベルは、メトホルミン単独での処置後に乳酸アシドーシスが観察されるのと比較して、乳酸アシドーシスの増加なしで低下させられる。

【0720】

いくつかの実施形態では、グルコース低下薬は、メグリチニドである。いくつかの実施形態では、メグリチニドは、ナテグリニドおよびレパグリニドである。

【0721】

いくつかの実施形態では、グルコース低下薬は、チアゾリジンジオンである。いくつかの実施形態では、チアゾリジンジオンは、ピオグリタゾン、ロシグリタゾンまたはトログリタゾンである。いくつかの実施形態では、血中グルコースレベルは、ロシグリタゾン単独での処置で観察されるよりも大きい体重の増加なしに低下させられる。

【0722】

いくつかの実施形態では、グルコース低下薬は、 $\alpha$ -グルコシダーゼインヒビターである。いくつかの実施形態では、 $\alpha$ -グルコシダーゼインヒビターは、アカルボ-またはミグリトールである。

【0723】

特定の実施形態では、同時に投与されるグルコース低下剤は、ISIS 113715である。

【0724】

特定の実施形態では、グルコース低下治療は、治療的なライフスタイルの変化である。

【0725】

特定のこのような実施形態では、グルコース低下剤は、本発明の薬学的組成物を投与する前に投与される。特定のこのような実施形態では、グルコース低下剤は、本発明の薬学的組成物を投与した後に投与される。特定のこのような実施形態では、グルコース低下剤は、本発明の薬学的組成物と同時に投与される。特定のこのような実施形態では、同時に投与されるグルコース低下剤の用量は、グルコース低下剤が単独で投与される場合に投与される用量と同じである。特定のこのような実施形態では、同時に投与されるグルコース低下剤の用量は、グルコース低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも少ない。特定のこのような実施形態では、同時に投与されるグルコース低下剤の用量は、グルコース低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも多い。

【0726】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、脂質低下剤が挙げられる。このような脂質低下剤は、本願の他の場所で考察され、そして、PTP1Bに関して、ここに含まれる。このような脂質低下剤は、グルコース低下剤について上述されたようにして投与され得る。

【0727】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を含有する薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、抗肥満剤治療が挙げら

10

20

30

40

50

れる。このような抗肥満剤治療は、グルコース低下剤について上述されたようにして投与され得る。

【0728】

さらに、注射により P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を投与し、さらに、注射部位に局所用ステロイドを投与する工程を包含する方法が提供される。

【0729】

医薬

また、血中グルコースレベル（空腹時グルコースレベルおよび H b A<sub>1c</sub> レベル、ボディマス指数のレベルまたは任意のこれらの組み合わせを含む）を低下させるための医薬の調製のための、P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用が本明細書中に提供される。医薬は、負荷期間および維持期間の間に投与され得る。いくつかの実施形態では、医薬は、経皮または静脈内で投与される。他の実施形態では、上記医薬の投与は、少なくとも1日1回、少なくとも1週間に1回、または、少なくとも1ヶ月に1回行われる。特定の実施形態では、医薬中に存在する短鎖アンチセンス化合物は、より長い配列、特に、20以上の核酸塩基の配列を有する短鎖アンチセンス化合物よりも低い用量で投与される。医薬は、高い血中グルコースまたは高血糖、糖尿病前症、糖尿病、2型糖尿病、メタボリック症候群、肥満およびインシュリン抵抗性を示す被験体に投与され得る。

【0730】

短鎖アンチセンス化合物の他の局面および利点が本明細書中に提供される。本明細書中に開示され、特に、他の標的に関して開示される、あらゆる局面および利点は、P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス核酸を含む組成物およびその使用方法に関する適用可能である。

【0731】

核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物 G E N B A N K（登録商標）アクセッション番号 N M \_ 0 0 2 8 2 7 . 2（本明細書中に配列番号 1 1 として引用される）の配列または G E N B A N K（登録商標）アクセッション番号 N T \_ 0 1 1 3 6 2 . 9（本明細書中に配列番号 1 2 として引用される）の配列のヌクレオチド 1 4 1 7 8 0 0 0 ~ 1 4 2 5 6 0 0 を有する P T P 1 B 核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 に対して少なくとも 9 0 % 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 に対して少なくとも 9 5 % 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 2 に対して 1 0 0 % 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 2 に対して少なくとも 9 0 % 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 2 に対して少なくとも 9 5 % 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 2 に対して 1 0 0 % 相補的である。

【0732】

特定の実施形態では、配列番号 1 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 1 6 および 1 7 に示されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号 1 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 1 8 および 1 9 に示されるヌクレオチド配列を含む。

【0733】

表 1 6、1 7、1 8 および 1 9 の各々に示される各ヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、表 1 6、1 7、1 8 および 1 9 に示されるヌクレオチド配列を含む短鎖アンチセンス化合物は

、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾を含み得る。I s i s 番号 ( I s i s N O . ) によって説明されるアンチセンス化合物は、核酸塩基配列と、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾との組み合わせを示す。

【 0 7 3 4 】

表 1 6 および 1 7 は、配列番号 1 1 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の例を示す。表 1 6 は、配列番号 1 1 に対して 1 0 0 % 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表 1 7 は、配列番号 1 1 に関して、1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。表 1 8 は、配列番号 1 2 に対して 1 0 0 % 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表 1 9 は、配列番号 1 2 に対して 1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング - ギャップ - ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2' - デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2' - 修飾糖を含む。特定の 2' - 修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2 - 1 0 - 2 M O E」は、2 - 1 0 - 2 のギャップマーモチーフであって、1 0 個の 2' - デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2 つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2' - M O E ヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに 5 - メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ 5 - m C」は、ギャップセグメントが 5 - メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

10

20

【 0 7 3 5 】

【表 16 - 1】

表 16: 配列番号 11 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマー のモチーフ	配列 番号
147022	177	188	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	178	189	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147024	179	190	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147019	195	206	TCGATCTCCTCG	1-10-1 MOE	877
147020	196	207	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147021	197	208	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147022	198	209	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	199	210	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147024	200	211	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147025	201	212	GCCTTGTCGATC	1-10-1 MOE	865
147026	202	213	AGCCTTGTCGAT	1-10-1 MOE	835
147027	203	214	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	204	215	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147073	204	215	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147029	205	216	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147030	206	217	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147036	212	223	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	213	224	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147038	214	225	CGCCCAGTCCC	1-10-1 MOE	855
147039	215	226	CCGCCAGTCC	1-10-1 MOE	850
147040	216	227	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147041	217	228	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147073	311	322	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147042	323	334	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147043	324	335	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	325	336	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147045	326	337	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	327	338	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147047	328	339	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147051	332	343	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147052	333	344	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147053	334	345	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147054	335	346	TAATCCGACTGT	1-10-1 MOE	871
147055	336	347	TTAATCCGACTG	1-10-1 MOE	884
147056	337	348	TTAATCCGACT	1-10-1 MOE	887
147057	338	349	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147058	339	350	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147059	340	351	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147060	341	352	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147061	342	353	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147045	679	690	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	680	691	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147045	787	798	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	788	799	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147066	816	827	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
404131	992	1005	ACCTTCGATCACAG	2-10-2 MOE	831
147062	1024	1035	CACTGACGAGTC	1-10-1 MOE	841

10

20

30

40

【表 1 6 - 2】

147063	1025	1036	GCACTGACGAGT	1-10-1 MOE	862
147064	1026	1037	TGCACTGACGAG	1-10-1 MOE	880
147065	1027	1038	CTGCACTGACGA	1-10-1 MOE	857
147066	1028	1039	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147067	1029	1040	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147068	1030	1041	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147069	1031	1042	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147070	1032	1043	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147071	1033	1044	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147072	1034	1045	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	1035	1046	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147067	1199	1210	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147040	1288	1299	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147040	1396	1407	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147022	1868	1879	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	1869	1880	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147024	1870	1881	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147019	1886	1897	TCGATCTCCTCG	1-10-1 MOE	877
147020	1887	1898	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147021	1888	1899	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147022	1889	1900	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	1890	1901	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147025	1892	1903	GCCTTGTCGATC	1-10-1 MOE	865
147027	1894	1905	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	1895	1906	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147030	1897	1908	TCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147037	1904	1915	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147038	1905	1916	CGCCCAGTCCC	1-10-1 MOE	855
147040	1907	1918	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147041	1908	1919	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147022	1976	1987	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	1977	1988	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147024	1978	1989	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147020	1995	2006	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147021	1996	2007	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147022	1997	2008	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	1998	2009	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147024	1999	2010	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147025	2000	2011	GCCTTGTCGATC	1-10-1 MOE	865
147026	2001	2012	AGCCTTGTCGAT	1-10-1 MOE	835
147027	2002	2013	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	2003	2014	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147029	2004	2015	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147030	2005	2016	TCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147036	2011	2022	CCCAGTCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	2012	2023	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147038	2013	2024	CGCCCAGTCCC	1-10-1 MOE	855
147039	2014	2025	CCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	850
147040	2015	2026	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147041	2016	2027	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
404199	2366	2379	GGTCATGCACAGGC	2-10-2 MOE	867

10

20

30

40

【 0 7 3 7 】

【表 1 6 - 3】

404134	2369	2382	TCAGGTCATGCACA	2-10-2 MOE	873
404132	2548	2561	CCTTGGAAATGTCTG	2-10-2 MOE	852
147020	2613	2624	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147020	2721	2732	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
404133	3289	3302	TATTCCATGGCCAT	2-10-2 MOE	872
147032	6220	6231	GTTCCCAGCCTT	1-10-1 MOE	870
147033	6221	6232	AGTTCCCAGCCT	1-10-1 MOE	836
147034	6222	6233	CAGTTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147044	6288	6299	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147045	6289	6300	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147032	6329	6340	GTTCCCAGCCTT	1-10-1 MOE	870
147033	6330	6341	AGTTCCCAGCCT	1-10-1 MOE	836
147034	6331	6342	CAGTTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147044	6397	6408	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147045	6398	6409	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147058	7057	7068	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147059	7058	7069	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147060	7059	7070	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147058	7166	7177	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147059	7167	7178	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147041	8084	8095	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147041	8192	8203	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147027	8630	8641	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	8631	8642	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147027	8738	8749	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	8739	8750	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147043	10957	10968	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	10958	10969	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147043	11065	11076	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	11066	11077	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147071	11605	11616	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147070	11611	11622	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147071	11612	11623	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147072	12294	12305	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147072	12299	12310	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147030	12805	12816	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147031	12806	12817	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147053	12939	12950	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147030	12986	12997	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147031	12987	12998	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147053	13120	13131	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147051	13162	13173	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147061	13316	13327	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147047	13339	13350	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147029	14058	14069	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147029	14239	14250	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147067	15560	15571	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147068	15561	15572	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147067	15742	15753	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147069	15744	15755	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147042	16561	16572	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866

10

20

30

40

【 0 7 3 8 】

【表 1 6 - 4】

147042	16727	16738	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147030	17619	17630	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147064	17762	17773	TGCACTGACGAG	1-10-1 MOE	880
147030	17787	17798	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147064	17930	17941	TGCACTGACGAG	1-10-1 MOE	880
147042	19201	19212	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147042	19369	19380	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147027	21190	21201	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	21191	21202	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147027	21358	21369	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	21359	21370	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147070	22021	22032	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147070	22189	22200	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147047	22606	22617	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147043	24318	24329	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	24319	24330	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147045	24320	24331	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	24321	24332	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147043	24486	24497	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	24487	24498	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147046	24489	24500	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147047	24490	24501	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147040	25065	25076	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147041	25066	25077	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147046	25160	25171	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147039	25232	25243	CCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	850
147040	25233	25244	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147041	25234	25245	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147046	25328	25339	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147057	25508	25519	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147061	25512	25523	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147057	25676	25687	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147069	28878	28889	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147070	28879	28890	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147053	30133	30144	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147053	30278	30289	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147054	30864	30875	TAATCCGACTGT	1-10-1 MOE	871
147043	30985	30996	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147054	31011	31022	TAATCCGACTGT	1-10-1 MOE	871
147043	31133	31144	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147036	32233	32244	CCCAGTCCAG	1-10-1 MOE	849
147072	32372	32383	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147072	32520	32531	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147069	33056	33067	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147070	33057	33068	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147071	33058	33069	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147051	33126	33137	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147070	33205	33216	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147071	33206	33217	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147051	33274	33285	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147046	33318	33329	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858

10

20

30

40

【 0 7 3 9 】



【表 1 6 - 5】

147049	33321	33332	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147051	33323	33334	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147046	33466	33477	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147047	33467	33478	ACTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	833
147051	33471	33482	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147046	33640	33651	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147051	33645	33656	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147046	33788	33799	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147051	33793	33804	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147059	35437	35448	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147060	35438	35449	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147060	35586	35597	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147021	36093	36104	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147061	36250	36261	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147061	36398	36409	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147073	37485	37496	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147073	37633	37644	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147043	40214	40225	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147061	40353	40364	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147043	40362	40373	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147061	40501	40512	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147031	42527	42538	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147032	42528	42539	GTTCCCAGCCTT	1-10-1 MOE	870
147034	42530	42541	CAGTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147031	42675	42686	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147032	42676	42687	GTTCCCAGCCTT	1-10-1 MOE	870
147033	42677	42688	AGTCCCAGCCT	1-10-1 MOE	836
147034	42678	42689	CAGTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147074	43848	43859	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147074	43996	44007	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147051	45402	45413	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147051	45550	45561	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147074	46125	46136	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147057	46313	46324	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147058	46314	46325	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147059	46315	46326	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147061	46317	46328	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147057	46461	46472	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147059	46463	46474	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147061	46465	46476	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147058	47413	47424	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147073	48221	48232	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147073	48369	48380	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147074	48370	48381	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147027	48566	48577	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147027	48714	48725	CAGCCTTGTCGA	1-10-1 MOE	843
147028	48715	48726	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147067	49050	49061	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147068	49051	49062	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147067	49198	49209	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147073	49524	49535	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842

10

20

30

40

【 0 7 4 0 】

【表 1 6 - 6】

147073	49672	49683	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147074	49673	49684	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147036	50421	50432	CCCAGTTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147036	52292	52303	CCCAGTTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	52293	52304	GCCCAGTTCCCA	1-10-1 MOE	863
147036	52438	52449	CCCAGTTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	52439	52450	GCCCAGTTCCCA	1-10-1 MOE	863
147034	53148	53159	CAGTTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147034	53294	53305	CAGTTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147042	53445	53456	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147043	53446	53457	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	53447	53458	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147042	53591	53602	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147030	53592	53603	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147043	53592	53603	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147031	53593	53604	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147044	53593	53604	GTGGTCAAAAGG	1-10-1 MOE	869
147030	53738	53749	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147031	53739	53750	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147040	53783	53794	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147041	53784	53795	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147041	53930	53941	AGCCGCCAGTT	1-10-1 MOE	834
147042	55008	55019	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147043	55009	55020	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147042	55154	55165	GGTCAAAAGGGC	1-10-1 MOE	866
147043	55155	55166	TGGTCAAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147058	55281	55292	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147058	55427	55438	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147019	55682	55693	TCGATCTCCTCG	1-10-1 MOE	877
147021	55684	55695	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147021	55830	55841	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147054	56275	56286	TAATCCGACTGT	1-10-1 MOE	871
147055	56276	56287	TTAATCCGACTG	1-10-1 MOE	884
147056	56277	56288	TTTAATCCGACT	1-10-1 MOE	887
147058	56279	56290	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147059	56280	56291	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147060	56281	56292	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147061	56282	56293	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147051	56418	56429	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147053	56420	56431	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147054	56421	56432	TAATCCGACTGT	1-10-1 MOE	871
147055	56422	56433	TTAATCCGACTG	1-10-1 MOE	884
147056	56423	56434	TTTAATCCGACT	1-10-1 MOE	887
147057	56424	56435	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147058	56425	56436	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147061	56428	56439	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147045	57118	57129	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147045	57264	57275	TGTGGTCAAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	57265	57276	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147071	58028	58039	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147071	58174	58185	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856

10

20

30

40

【 0 7 4 1 】

【表 1 6 - 7】

147043	61111	61122	TGGTCAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147071	61130	61141	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147020	61226	61237	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147043	61257	61268	TGGTCAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147071	61276	61287	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147035	61277	61288	CCAGTCCCAGC	1-10-1 MOE	847
147036	61278	61289	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	61279	61290	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147038	61280	61291	CGCCCAGTCCC	1-10-1 MOE	855
147039	61281	61292	CCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	850
147040	61282	61293	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147071	61309	61320	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147020	61372	61383	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147034	61422	61433	CAGTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147035	61423	61434	CCAGTCCCAGC	1-10-1 MOE	847
147036	61424	61435	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	61425	61436	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147038	61426	61437	CGCCCAGTCCC	1-10-1 MOE	855
147040	61428	61439	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147071	61455	61466	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147073	62003	62014	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147073	62149	62160	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147066	63065	63076	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147068	63067	63078	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147069	63146	63157	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147062	63207	63218	CACTGACGAGTC	1-10-1 MOE	841
147066	63211	63222	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147057	64054	64065	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147036	64538	64549	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147037	64539	64550	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147037	64685	64696	GCCCAGTCCCA	1-10-1 MOE	863
147066	64864	64875	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147067	64865	64876	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147066	65010	65021	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147067	65011	65022	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147045	65017	65028	TGTGGTCAAAG	1-10-1 MOE	883
147045	65163	65174	TGTGGTCAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	65164	65175	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147068	65408	65419	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147071	65411	65422	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147069	65549	65560	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147068	65554	65565	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147071	65557	65568	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147029	67741	67752	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147030	67742	67753	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147031	67743	67754	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147028	67886	67897	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147029	67887	67898	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147030	67888	67899	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147031	67889	67900	TTCCCAGCCTTG	1-10-1 MOE	885
147043	68867	68878	TGGTCAAAGGG	1-10-1 MOE	881

10

20

30

40

【 0 7 4 2 】

【表 1 6 - 8】

147044	68868	68879	GTGGTCAAAGG	1-10-1 MOE	869
147045	68869	68880	TGTGGTCAAAG	1-10-1 MOE	883
147043	69013	69024	TGGTCAAAGGG	1-10-1 MOE	881
147044	69014	69025	GTGGTCAAAGG	1-10-1 MOE	869
147045	69015	69026	TGTGGTCAAAG	1-10-1 MOE	883
147046	69016	69027	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147071	69519	69530	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147072	69520	69531	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	69521	69532	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147071	69665	69676	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147072	69666	69677	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	69667	69678	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147074	69668	69679	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147066	69869	69880	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147066	70015	70026	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147023	70465	70476	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147023	70611	70622	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147062	70615	70626	CACTGACGAGTC	1-10-1 MOE	841
147063	70616	70627	GCACTGACGAGT	1-10-1 MOE	862
147064	70617	70628	TGCACTGACGAG	1-10-1 MOE	880
147065	70618	70629	CTGCACTGACGA	1-10-1 MOE	857
147066	70619	70630	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147063	70762	70773	GCACTGACGAGT	1-10-1 MOE	862
147064	70763	70774	TGCACTGACGAG	1-10-1 MOE	880
147065	70764	70775	CTGCACTGACGA	1-10-1 MOE	857
147066	70765	70776	CCTGCACTGACG	1-10-1 MOE	851
147072	70998	71009	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	70999	71010	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147072	71144	71155	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	71145	71156	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147074	71146	71157	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147037	71351	71362	GCCCAGTTCCA	1-10-1 MOE	863
147038	71352	71363	CGCCCAGTTCCC	1-10-1 MOE	855
147039	71353	71364	CCGCCAGTTCC	1-10-1 MOE	850
147037	71497	71508	GCCCAGTTCCA	1-10-1 MOE	863
147038	71498	71509	CGCCCAGTTCCC	1-10-1 MOE	855
147039	71499	71510	CCGCCAGTTCC	1-10-1 MOE	850
147061	71641	71652	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147061	71787	71798	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879

10

20

30

【 0 7 4 3 】

【表 17 - 1】

表 17: 配列番号 11 に対して標的化され、かつ1または2のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマー のモチーフ	配列 番号
147022	177	188	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147023	178	189	CTTGTCGATCTC	1-10-1 MOE	859
147020	196	207	GTCGATCTCCTC	1-10-1 MOE	868
147022	198	209	TTGTCGATCTCC	1-10-1 MOE	886
147024	200	211	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147026	202	213	AGCCTTGTCGAT	1-10-1 MOE	835
147028	204	215	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147029	205	216	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147030	206	217	TCCCAGCCTTGT	1-10-1 MOE	874
147036	212	223	CCCAGTTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147073	311	322	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147046	327	338	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147047	328	339	ACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	833
147048	329	340	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	330	341	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147050	331	342	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147051	332	343	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147052	333	344	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147053	334	345	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147054	335	346	TAATCCGACTGT	1-10-1 MOE	871
147055	336	347	TTAATCCGACTG	1-10-1 MOE	884
147056	337	348	TTTAATCCGACT	1-10-1 MOE	887
147057	338	349	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147058	339	350	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147060	341	352	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147061	342	353	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147062	1024	1035	CACTGACGAGTC	1-10-1 MOE	841
147063	1025	1036	GCACTGACGAGT	1-10-1 MOE	862
147068	1030	1041	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147071	1033	1044	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147073	1035	1046	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147074	1036	1047	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147067	1091	1102	TCCTGCACTGAC	1-10-1 MOE	876
147024	1891	1902	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147026	1893	1904	AGCCTTGTCGAT	1-10-1 MOE	835
147029	1896	1907	CCCAGCCTTGTC	1-10-1 MOE	848
147036	1903	1914	CCCAGTTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147039	1906	1917	CCGCCAGTTCC	1-10-1 MOE	850
147019	1994	2005	TCGATCTCCTCG	1-10-1 MOE	877
401385	2815	2828	CCCAGTGGGTTTGA	2-10-2 MOE	890
147033	5265	5276	AGTCCCAGCCT	1-10-1 MOE	836
147033	5373	5384	AGTCCCAGCCT	1-10-1 MOE	836
147060	7168	7179	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147053	10527	10538	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147053	10635	10646	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147070	11604	11615	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147071	11612	11623	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856

10

20

30

40

【表 17 - 2】

147072	12294	12305	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147072	12299	12310	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147052	12938	12949	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147052	13119	13130	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147047	13158	13169	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147048	13159	13170	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	13160	13171	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147048	13340	13351	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	13341	13352	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147051	13343	13354	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147061	13497	13508	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147069	15562	15573	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147068	15743	15754	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147049	17181	17192	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147049	17349	17360	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147047	22438	22449	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147047	24322	24333	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147045	24488	24499	TGTGGTCAAAG	1-10-1 MOE	883
147039	25064	25075	CCGCCAGTTCC	1-10-1 MOE	850
147057	25508	25519	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147057	25676	25687	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147061	25680	25691	TGCAATTTAATC	1-10-1 MOE	879
147069	28731	28742	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147052	30132	30143	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147052	30277	30288	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147036	32085	32096	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147072	32520	32531	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147071	33058	33069	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147050	33125	33136	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147069	33204	33215	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147050	33273	33284	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147047	33319	33330	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147050	33322	33333	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147052	33324	33335	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147049	33469	33480	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147050	33470	33481	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147052	33472	33483	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147047	33641	33652	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147047	33789	33800	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147059	35585	35596	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147021	36241	36252	TGTCGATCTCCT	1-10-1 MOE	882
147073	37633	37644	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147033	42529	42540	AGTTCCCAGCCT	1-10-1 MOE	836
147050	45401	45412	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147050	45549	45560	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147074	46125	46136	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147057	46313	46324	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147058	46462	46473	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147058	47413	47424	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147058	47561	47572	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147073	48221	48232	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842

10

20

30

40

【 0 7 4 5 】

【表 17 - 3】

147073	48369	48380	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147028	48567	48578	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147068	49199	49210	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147036	50273	50284	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147040	53929	53940	GCCGCCAGTTC	1-10-1 MOE	864
147047	54769	54780	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147048	54770	54781	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147047	54915	54926	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147048	54916	54927	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147019	55828	55839	TCGATCTCCTCG	1-10-1 MOE	877
147047	56268	56279	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147048	56269	56280	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	56270	56281	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147050	56271	56282	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147051	56272	56283	TCCGACTGTGGT	1-10-1 MOE	875
147052	56273	56284	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147053	56274	56285	AATCCGACTGTG	1-10-1 MOE	829
147056	56277	56288	TTTAATCCGACT	1-10-1 MOE	887
147057	56278	56289	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147047	56414	56425	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147048	56415	56426	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	56416	56427	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147050	56417	56428	CCGACTGTGGTC	1-10-1 MOE	889
147052	56419	56430	ATCCGACTGTGG	1-10-1 MOE	837
147057	56424	56435	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147058	56425	56436	AATTTAATCCGA	1-10-1 MOE	830
147059	56426	56437	CAATTTAATCCG	1-10-1 MOE	840
147060	56427	56438	GCAATTTAATCC	1-10-1 MOE	861
147046	57119	57130	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147071	58174	58185	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147071	61130	61141	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147034	61276	61287	CAGTCCCAGCC	1-10-1 MOE	844
147071	61309	61320	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147039	61427	61438	CCGCCAGTTCC	1-10-1 MOE	850
147071	61455	61466	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147073	62003	62014	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147062	63061	63072	CACTGACGAGTC	1-10-1 MOE	841
147068	63213	63224	ATCCTGCACTGA	1-10-1 MOE	838
147069	63292	63303	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147057	64054	64065	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147057	64200	64211	ATTTAATCCGAC	1-10-1 MOE	839
147070	64427	64438	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147070	64573	64584	TGATCCTGCACT	1-10-1 MOE	878
147036	64684	64695	CCCAGTCCCAG	1-10-1 MOE	849
147046	65018	65029	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858
147071	65557	65568	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147069	65695	65706	GATCCTGCACTG	1-10-1 MOE	860
147047	66163	66174	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147047	66309	66320	ACTGTGGTCAAA	1-10-1 MOE	833
147028	67740	67751	CCAGCCTTGTCG	1-10-1 MOE	846
147046	68870	68881	CTGTGGTCAAAA	1-10-1 MOE	858

10

20

30

40

【 0 7 4 6 】

【表 1 7 - 4】

147047	68871	68882	ACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	833
147048	68872	68883	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	68873	68884	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147047	69017	69028	ACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	833
147048	69018	69029	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147049	69019	69030	CGACTGTGGTCA	1-10-1 MOE	854
147071	69519	69530	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147073	69521	69532	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147071	69665	69676	CTGATCCTGCAC	1-10-1 MOE	856
147072	69666	69677	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147024	70466	70477	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147024	70612	70623	CCTTGTCGATCT	1-10-1 MOE	853
147062	70761	70772	CACTGACGAGTC	1-10-1 MOE	841
147072	70998	71009	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	70999	71010	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147072	71144	71155	ACTGATCCTGCA	1-10-1 MOE	832
147073	71145	71156	CACTGATCCTGC	1-10-1 MOE	842
147048	71366	71377	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888
147048	71512	71523	GACTGTGGTCAA	1-10-1 MOE	888

10

【 0 7 4 7 】

20



【表 18 - 1】

表 18: 配列番号 12 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5' -3')	ギャップマーの モチーフ	配 列 番号
398163	20	31	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
384545	23	34	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147705	159	170	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147703	245	256	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398090	283	296	TTGTTCTTAGGAAG	2-10-2 MOE	972
147704	285	296	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	291	302	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147709	311	322	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147733	349	360	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147707	360	371	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147708	366	377	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
390030	381	392	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147709	386	397	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147081	393	404	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
398091	393	406	GGGCTTCTTCCATT	2-10-2 MOE	979
398166	395	406	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147709	418	429	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147711	425	436	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147712	461	472	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147713	466	477	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
147714	471	482	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147715	496	507	GTTGAGCATGAC	1-10-1 MOE	1077
147716	521	532	TTAACGAGCCTT	1-10-1 MOE	949
147717	574	585	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	607	618	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147708	612	623	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147718	621	632	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147746	625	636	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398167	704	715	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	705	718	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
147723	715	726	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
398093	758	771	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	760	771	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147738	780	791	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398094	848	861	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
398169	849	860	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
398164	873	884	TTGTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147735	973	984	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147737	984	995	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
368369	1025	1040	TCCTGCACTGACGAGT	3-10-3 MOE	893
368372	1031	1046	CACTGATCCTGCACTG	3-10-3 MOE	894
368353	1033	1046	CACTGATCCTGCAC	2-10-2 MOE	1007
368354	1035	1048	TCCACTGATCCTGC	2-10-2 MOE	1024
368388	1035	1050	CTTCCACTGATCCTTA	3-10-3 MOE	895
368355	1036	1049	TTCCACTGATCCTG	2-10-2 MOE	1025
368356	1037	1050	CTTCCACTGATCCT	2-10-2 MOE	1027
368376	1037	1052	TCCTTCCACTGATCCT	3-10-3 MOE	1028
147076	1038	1049	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	1038	1051	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046

【 0 7 4 8 】

10

20

30

40

【表 18 - 2】

147077	1039	1050	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	1039	1052	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
368378	1039	1054	GCTCCTTCCACTGATC	3-10-3 MOE	1032
368359	1041	1054	GCTCCTTCCACTGA	2-10-2 MOE	1033
147080	1042	1053	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	1043	1054	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	1043	1056	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
368380	1043	1058	GAAAGCTCCTTCCACT	3-10-3 MOE	896
147082	1044	1055	AGTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368381	1045	1060	GGGAAAGCTCCTTCCA	3-10-3 MOE	1037
147739	1107	1118	CGTTTGGGTGGC	1-10-1 MOE	1023
147741	1165	1176	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398097	1194	1207	GGCAGTCTTATCC	2-10-2 MOE	897
147742	1273	1284	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147743	1388	1399	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147744	1392	1403	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
147745	1398	1409	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398157	1455	1468	GGAAACATACCCTG	2-10-2 MOE	1045
398167	1475	1486	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	1476	1489	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
368357	1596	1609	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
398160	1691	1704	GAATAGGTTAAGGC	2-10-2 MOE	1048
398163	1711	1722	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
147746	1750	1761	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
389949	1777	1788	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
398161	1790	1803	AACAATGTGTTGTA	2-10-2 MOE	1049
147746	1799	1810	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398163	1819	1830	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
389950	1848	1859	CCCTGAAGGTTT	1-10-1 MOE	1063
398164	1889	1900	TTGTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147702	1917	1928	CTGGTAAATAGC	1-10-1 MOE	898
147088	1971	1982	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
398102	2003	2016	CTACCTGAGGATTT	2-10-2 MOE	899
398103	2010	2023	CCCAGTACTACCTG	2-10-2 MOE	900
147737	2386	2397	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398095	2407	2420	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398106	2441	2454	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
147745	2497	2508	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147712	2499	2510	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147712	2607	2618	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147745	2689	2700	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398167	2706	2717	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	2707	2720	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
398166	2966	2977	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147091	2992	3003	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147092	2993	3004	TGTTCCCTCTAC	1-10-1 MOE	901
389949	3008	3019	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147087	3149	3160	CCTCTACACCAG	1-10-1 MOE	982
147088	3150	3161	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
398113	3160	3173	AGGAGGTTAAACCA	2-10-2 MOE	905
147087	3257	3268	CCTCTACACCAG	1-10-1 MOE	982
147088	3258	3269	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147737	3591	3602	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067

10

20

30

40

【表 18 - 3】

147737	3617	3628	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147079	3637	3648	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	3638	3649	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
398095	3638	3651	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398106	3672	3685	TGGAAAACTGCACC	2-10-2 MOE	1068
398107	3678	3691	TATTCCTGGAAAAC	2-10-2 MOE	902
147691	3806	3817	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147683	3848	3859	GCTTACGATTGT	1-10-1 MOE	922
147738	3853	3864	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398167	3926	3937	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398109	3945	3958	CAAGAAGTGTGGTT	2-10-2 MOE	903
398167	4034	4045	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398110	4083	4096	GTTCCCTTTCGAGG	2-10-2 MOE	952
398111	4168	4181	GTGAAAATGCTGGC	2-10-2 MOE	904
147706	4238	4249	GCTGACATCTCG	1-10-1 MOE	1071
398112	4282	4295	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
147746	4315	4326	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398113	4391	4404	AGGAGGTTAAACCA	2-10-2 MOE	905
398115	4484	4497	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076
390030	4491	4502	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	4537	4548	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147703	5034	5045	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
147684	5035	5046	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
398125	5075	5088	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
147696	5083	5094	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147684	5143	5154	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147712	5366	5377	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147714	5416	5427	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
398128	5443	5456	CTAAATTTAGTICA	2-10-2 MOE	911
147712	5474	5485	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147746	5498	5509	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147714	5524	5535	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147736	5600	5611	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147085	5762	5773	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147679	5825	5836	CAAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
390030	6803	6814	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398142	6885	6898	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
398142	6994	7007	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
398166	7306	7317	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147684	7551	7562	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147085	8308	8319	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147085	8416	8427	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
398163	8473	8484	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
147718	8523	8534	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147718	8631	8642	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147691	8806	8817	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147728	8835	8846	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147728	8943	8954	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398169	8946	8957	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
147742	9060	9071	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
404136	9162	9175	TAAGTGTCCCTTTG	2-10-2 MOE	910
147746	9963	9974	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	9966	9977	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073

10

20

30

40

【表 18 - 4】

147746	9969	9980	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	9991	10002	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10071	10082	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10074	10085	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10077	10088	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
390030	10170	10181	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147084	10220	10231	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
390030	10278	10289	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147085	10329	10340	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147711	10684	10695	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147711	10792	10803	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
398128	11333	11346	CTAAATTTAGTTCA	2-10-2 MOE	911
147707	11960	11971	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147707	11965	11976	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147090	12013	12024	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
398096	12146	12159	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
398166	12214	12225	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
398135	12308	12321	GACTACATTTTACA	2-10-2 MOE	912
147741	12389	12400	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398125	12431	12444	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
147714	12585	12596	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147718	12594	12605	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
398125	12612	12625	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
147737	12803	12814	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147746	12876	12887	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147691	12900	12911	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398137	13111	13124	TGTGTCCCTCAGTC	2-10-2 MOE	914
398138	13254	13267	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
398137	13292	13305	TGTGTCCCTCAGTC	2-10-2 MOE	914
398138	13435	13448	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
389764	14020	14031	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389948	14067	14078	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
389948	14248	14259	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
147738	14279	14290	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147698	14572	14583	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147717	14750	14761	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	14932	14943	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
398167	15374	15385	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147736	16444	16455	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147746	16510	16521	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147738	16590	16601	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147746	16676	16687	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398167	16797	16808	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398144	16911	16924	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
389764	17096	17107	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147709	17238	17249	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147709	17406	17417	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147695	17466	17477	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
147746	17497	17508	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147088	17539	17550	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147711	17808	17819	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147711	17976	17987	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
398139	18049	18062	AGTGACTGACCACA	2-10-2 MOE	917

10

20

30

40

【表 18 - 5】

398139	18217	18230	AGTGACTGACCACA	2-10-2 MOE	917
398140	18596	18609	GTAGCATAGAGCCT	2-10-2 MOE	918
398140	18764	18777	GTAGCATAGAGCCT	2-10-2 MOE	918
398167	18927	18938	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398141	18947	18960	CAGATCTTGTCAAG	2-10-2 MOE	919
398167	19095	19106	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398141	19115	19128	CAGATCTTGTCAAG	2-10-2 MOE	919
147746	19207	19218	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147711	19508	19519	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147729	19554	19565	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147718	19617	19628	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
390030	19618	19629	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147701	19671	19682	CCATGGCGGGAC	1-10-1 MOE	921
147711	19676	19687	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147718	19785	19796	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147079	20515	20526	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
389764	20620	20631	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
398142	20653	20666	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147078	20682	20693	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	20683	20694	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	20704	20715	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	20705	20716	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
389965	20788	20799	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
147746	20870	20881	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	21038	21049	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147717	21080	21091	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147076	21222	21233	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
398094	21441	21454	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
147746	21633	21644	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147738	21884	21895	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147683	21939	21950	GCTTACGATTGT	1-10-1 MOE	922
147743	22213	22224	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147736	22759	22770	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147736	22927	22938	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398142	23008	23021	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
398147	23784	23797	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957
398147	23952	23965	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957
147713	24434	24445	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
389965	24543	24554	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
147713	24602	24613	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
389965	24711	24722	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
147746	25384	25395	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398143	25505	25518	GTCAGTCCCAGCTA	2-10-2 MOE	924
147691	25610	25621	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398130	25672	25685	TTAGTATGACAGCT	2-10-2 MOE	925
147746	25810	25821	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	25978	25989	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	26172	26183	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398151	26718	26731	TCAGTGTAGGAAGA	2-10-2 MOE	926
147728	26917	26928	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398152	27708	27721	TGAATATACAGATG	2-10-2 MOE	927
147698	28629	28640	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
389965	28714	28725	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018

【 0 7 5 2 】

10

20

30

40

【表 18 - 6】

389764	28714	28725	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389764	28861	28872	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
390030	29945	29956	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147744	30654	30665	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
147093	30836	30847	TTGTTCCCTCTA	1-10-1 MOE	929
147746	30957	30968	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	31105	31116	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
390030	31477	31488	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
384545	31829	31840	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
384545	31977	31988	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
401382	32094	32107	TCTACCTGAGTCCA	2-10-2 MOE	930
147089	32387	32398	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
389950	32949	32960	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
398165	33002	33013	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147081	33073	33084	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	33074	33085	AGTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
389950	33097	33108	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
147736	33160	33171	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147081	33221	33232	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	33221	33234	AAGTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	33222	33233	AGTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
398138	33244	33257	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
147746	33250	33261	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398138	33392	33405	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
401383	33588	33601	GATCACCTTCAGAG	2-10-2 MOE	932
147746	33886	33897	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	34606	34617	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398165	34704	34715	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147717	34745	34756	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147746	34754	34765	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398165	34852	34863	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147717	34893	34904	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
401384	34905	34918	TGAACACATCACTA	2-10-2 MOE	933
147738	35391	35402	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147736	35396	35407	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147738	35539	35550	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147691	35554	35565	GAGGTGGGAAA	1-10-1 MOE	966
147691	35702	35713	GAGGTGGGAAA	1-10-1 MOE	966
147746	35814	35825	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
401385	36109	36122	CCCAGTGGGTTTGA	2-10-2 MOE	890
147691	36360	36371	GAGGTGGGAAA	1-10-1 MOE	966
147746	36416	36427	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147731	36620	36631	TTTCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147714	37881	37892	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147714	38029	38040	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147681	38512	38523	ATGTCATTAAAC	1-10-1 MOE	965
401386	38516	38529	TAATTGATGTCAAT	2-10-2 MOE	935
401387	38518	38531	AGTAATTGATGTCA	2-10-2 MOE	936
401388	38520	38533	ACAGTAATTGATGT	2-10-2 MOE	937
401389	38522	38535	TTACAGTAATTGAT	2-10-2 MOE	938
401390	38524	38537	ACTTACAGTAATTG	2-10-2 MOE	939
401391	38526	38539	AGACTTACAGTAAT	2-10-2 MOE	940
401392	38528	38541	TCAGACTTACAGTA	2-10-2 MOE	941

10

20

30

40

【 0 7 5 3 】

【表 18 - 7】

401393	38530	38543	AATCAGACTTACAG	2-10-2 MOE	942
401394	38532	38545	TGAATCAGACTTAC	2-10-2 MOE	943
401395	38534	38547	AATGAATCAGACTT	2-10-2 MOE	944
147738	38909	38920	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147738	39057	39068	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
390030	39249	39260	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	39397	39408	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
401396	39488	39501	TGCAGGATGTTGAG	2-10-2 MOE	945
147717	39545	39556	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147746	39641	39652	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147717	39693	39704	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147746	39729	39740	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	39877	39888	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	40185	40196	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	40478	40489	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398166	40589	40600	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147735	40662	40673	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147746	40706	40717	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398166	40737	40748	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147746	40854	40865	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
401397	41012	41025	CTGGTCAGCATTGA	2-10-2 MOE	946
147718	41070	41081	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147718	41218	41229	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147717	41221	41232	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	41369	41380	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	41599	41610	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	41747	41758	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
401398	41768	41781	CAAAGTCCCTTAGC	2-10-2 MOE	947
390030	42056	42067	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398153	42157	42170	ATTTCTCTTACAGG	2-10-2 MOE	948
398153	42305	42318	ATTTCTCTTACAGG	2-10-2 MOE	948
147710	42691	42702	TATAGCTCCTCT	1-10-1 MOE	994
147079	43322	43333	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	43323	43334	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147716	43477	43488	TTAACGAGCCTT	1-10-1 MOE	949
147746	43992	44003	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147736	44137	44148	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
384545	44242	44253	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147687	44354	44365	CGACACGGGAAC	1-10-1 MOE	950
384545	44390	44401	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
398110	44713	44726	GTTCCCTTTGCAGG	2-10-2 MOE	952
147705	45092	45103	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147705	45240	45251	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147074	45977	45988	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147075	45978	45989	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
147076	45979	45990	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
147076	46127	46138	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
401399	46247	46260	ATTAGCCATATCTC	2-10-2 MOE	953
147705	46555	46566	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147714	46685	46696	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147705	46703	46714	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
390030	46859	46870	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	46933	46944	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074

【 0 7 5 4 】

10

20

30

40

【表 18 - 8】

147681	46984	46995	ATGTCATTA AAC	1-10-1 MOE	965
390030	47007	47018	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147746	47023	47034	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
390030	47081	47092	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147681	47132	47143	ATGTCATTA AAC	1-10-1 MOE	965
147746	47171	47182	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
401400	47411	47424	AGCATTCAGCAGTG	2-10-2 MOE	954
147746	47461	47472	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147086	47608	47619	CTCTACACCAGG	1-10-1 MOE	969
147087	47609	47620	CCTCTACACCAG	1-10-1 MOE	982
147088	47610	47621	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147090	47612	47623	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147691	47729	47740	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147086	47756	47767	CTCTACACCAGG	1-10-1 MOE	969
147088	47758	47769	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147089	47759	47770	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
390030	47847	47858	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	47995	48006	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147691	48393	48404	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398147	48887	48900	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957
147706	49133	49144	GCTGACATCTCG	1-10-1 MOE	1071
147706	49281	49292	GCTGACATCTCG	1-10-1 MOE	1071
398168	49742	49753	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
401401	49791	49804	AACTGGGTAAAGTA	2-10-2 MOE	958
147689	49936	49947	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
401402	50192	50205	TGAACACGCTATCC	2-10-2 MOE	959
398117	50241	50254	TTTCCACTTGGGTG	2-10-2 MOE	960
147736	50582	50593	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398168	50703	50714	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
398168	50849	50860	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147746	51019	51030	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147708	51101	51112	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147746	51178	51189	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147708	51247	51258	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147083	51281	51292	TACACCAGGTCA	1-10-1 MOE	973
147081	51287	51298	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	51288	51299	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147746	51331	51342	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147085	51416	51427	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147083	51427	51438	TACACCAGGTCA	1-10-1 MOE	973
147081	51433	51444	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	51434	51445	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147728	51522	51533	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147085	51562	51573	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147081	51633	51644	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	51633	51646	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	51634	51645	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368361	51635	51648	GAAAGCTCCTTCCA	2-10-2 MOE	962
368360	51779	51792	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	51780	51791	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147736	51859	51870	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147684	51867	51878	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147746	51918	51929	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073

10

20

30

40



【表 18 - 9】

147077	51988	51999	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147746	52064	52075	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147084	52125	52136	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147079	52136	52147	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147681	52231	52242	ATGTCATTA AAC	1-10-1 MOE	965
147084	52271	52282	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147691	52312	52323	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
401403	52318	52331	TTTCTTAGGAGGTG	2-10-2 MOE	967
398167	52527	52538	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147703	52670	52681	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398167	52673	52684	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398165	52708	52719	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
398090	52708	52721	TTGTTCTTAGGAAG	2-10-2 MOE	972
147705	52716	52727	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147682	52717	52728	CGGGTACTATGG	1-10-1 MOE	992
398167	52762	52773	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147703	52816	52827	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398090	52854	52867	TTGTTCTTAGGAAG	2-10-2 MOE	972
147704	52856	52867	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	52862	52873	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
398167	52908	52919	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147084	53704	53715	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147088	53708	53719	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147083	53849	53860	TACACCAGGTCA	1-10-1 MOE	973
147084	53850	53861	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147086	53852	53863	CTCTACACCAGG	1-10-1 MOE	969
147088	53854	53865	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
398167	53870	53881	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147703	54137	54148	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398155	54172	54185	TGTTTTTACACAGA	2-10-2 MOE	970
390030	54263	54274	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147705	54275	54286	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147703	54283	54294	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
390030	54409	54420	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147704	54965	54976	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	54971	54982	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
398090	55109	55122	TTGTTCTTAGGAAG	2-10-2 MOE	972
147705	55117	55128	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147083	55206	55217	TACACCAGGTCA	1-10-1 MOE	973
147084	55207	55218	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147084	55353	55364	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147705	55524	55535	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147685	55602	55613	GGCTGACATTCA	1-10-1 MOE	975
401404	55638	55651	TGAGCTACAGTAGG	2-10-2 MOE	974
147685	55748	55759	GGCTGACATTCA	1-10-1 MOE	975
147712	55819	55830	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147712	55965	55976	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147707	56300	56311	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147708	56306	56317	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
390030	56321	56332	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147709	56326	56337	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
398091	56333	56346	GGGCTTCTTCCATT	2-10-2 MOE	979
401405	56408	56421	TGGTCAACTGAAAG	2-10-2 MOE	976

10

20

30

40

【表 18 - 10】

147707	56446	56457	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147708	56452	56463	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147709	56472	56483	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
398091	56479	56492	GGGCTTCTCCATT	2-10-2 MOE	979
401406	56570	56583	GGTGTGGATAACAG	2-10-2 MOE	980
368366	56664	56677	CTGATCCTTAGAAG	2-10-2 MOE	1019
398148	57157	57170	TCATAACTATTAAG	2-10-2 MOE	981
147082	57220	57231	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
398148	57303	57316	TCATAACTATTAAG	2-10-2 MOE	981
147082	57366	57377	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147743	57758	57769	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
398093	57963	57976	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398093	58109	58122	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
147735	58279	58290	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147087	58821	58832	CCTCTACACCAG	1-10-1 MOE	982
147087	58967	58978	CCTCTACACCAG	1-10-1 MOE	982
390030	59180	59191	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	59326	59337	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147711	59357	59368	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147743	59382	59393	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147711	59503	59514	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147711	59675	59686	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
401407	59710	59723	CAGCTTAGGCAGAG	2-10-2 MOE	983
147712	59711	59722	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147713	59716	59727	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
147714	59721	59732	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147695	59722	59733	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
147715	59746	59757	GTTGAGCATGAC	1-10-1 MOE	1077
147711	59821	59832	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
390030	59847	59858	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147712	59857	59868	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147713	59862	59873	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
147714	59867	59878	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
390030	59993	60004	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
389949	60471	60482	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147746	60619	60630	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147689	61113	61124	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
398105	61267	61280	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147680	61473	61484	GTATGCACTGCT	1-10-1 MOE	988
147080	61757	61768	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147078	61901	61912	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	61902	61913	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147088	62215	62226	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
401408	62600	62613	CAATGAAGCACAGG	2-10-2 MOE	989
147688	62843	62854	TCCCAAACAAAT	1-10-1 MOE	990
147746	63102	63113	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	63248	63259	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
401409	63430	63443	ATTCTTAACACAGA	2-10-2 MOE	991
147682	63483	63494	CGGGTACTATGG	1-10-1 MOE	992
147084	63677	63688	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147710	64847	64858	TATAGCTCCTCT	1-10-1 MOE	994
147710	64993	65004	TATAGCTCCTCT	1-10-1 MOE	994
147746	65151	65162	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073

10

20

30

40

【表 18 - 11】

401410	65263	65276	CATTTAGGGTCTAA	2-10-2 MOE	995
147717	65862	65873	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	65895	65906	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147708	65900	65911	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147718	65909	65920	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147717	66008	66019	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	66041	66052	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147708	66046	66057	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147718	66055	66066	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
401411	66123	66136	AGCCGCCTGAAGTG	2-10-2 MOE	999
147697	66497	66508	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000
368377	66562	66577	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	66563	66574	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	66563	66576	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
147078	66564	66575	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	66565	66576	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	66566	66577	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147697	66643	66654	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000
368358	66709	66722	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
147078	66710	66721	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	66711	66722	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147075	66999	67010	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
147705	67067	67078	CGGTTTTTGITC	1-10-1 MOE	1002
147088	67409	67420	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147080	67430	67441	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147082	67432	67443	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147737	67455	67466	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147088	67555	67566	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147082	67578	67589	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
401412	67637	67650	TAAATCCTCTAGCA	2-10-2 MOE	1003
147091	67729	67740	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147742	67737	67748	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147712	68527	68538	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147712	68673	68684	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147711	68760	68771	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147711	68906	68917	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
389965	69271	69282	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389965	69417	69428	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
368353	69519	69532	CACTGATCCTGCAC	2-10-2 MOE	1007
147080	69630	69641	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	69631	69642	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368353	69665	69678	CACTGATCCTGCAC	2-10-2 MOE	1007
398167	69757	69768	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	69758	69771	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
398093	69811	69824	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	69813	69824	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
398167	69903	69914	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398093	69957	69970	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398094	70047	70060	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
398095	70065	70078	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
147704	70137	70148	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147728	70450	70461	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398164	70464	70475	TTGTGATCTGC	1-10-1 MOE	1014

10

20

30

40

【表 18 - 12】

398096	70562	70575	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
147735	70564	70575	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147737	70575	70586	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147735	70710	70721	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147737	70721	70732	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
404131	70729	70742	ACCTTCGATCACAG	2-10-2 MOE	831
368349	70762	70775	CTGCACTGACGAGT	2-10-2 MOE	1017
389965	70930	70941	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
368366	70995	71008	CTGATCCTTAGAAG	2-10-2 MOE	1019
368354	70999	71012	TCCACTGATCCTGC	2-10-2 MOE	1024
368375	71000	71015	CCTTCCACTGATCCTG	3-10-3 MOE	1020
368356	71001	71014	CTTCCACTGATCCT	2-10-2 MOE	1027
368376	71001	71016	TCCTTCCACTGATCCT	3-10-3 MOE	1028
368357	71002	71015	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
368377	71002	71017	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	71003	71014	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	71003	71016	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
368378	71003	71018	GTCCTTCCACTGATC	3-10-3 MOE	1032
147078	71004	71015	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
368359	71005	71018	GTCCTTCCACTGA	2-10-2 MOE	1033
368379	71005	71020	AAGCTCCTTCCACTGA	3-10-3 MOE	1034
147080	71006	71017	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147082	71008	71019	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
401413	71019	71032	TGCAGCCATGTACT	2-10-2 MOE	1022
147738	71067	71078	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147739	71071	71082	CGTTTGGGTGGC	1-10-1 MOE	1023
147741	71129	71140	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
368354	71145	71158	TCCACTGATCCTGC	2-10-2 MOE	1024
368355	71146	71159	TTCCACTGATCCTG	2-10-2 MOE	1025
147075	71147	71158	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
368356	71147	71160	CTTCCACTGATCCT	2-10-2 MOE	1027
368376	71147	71162	TCCTTCCACTGATCCT	3-10-3 MOE	1028
147076	71148	71159	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	71148	71161	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
368377	71148	71163	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	71149	71160	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	71149	71162	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
368378	71149	71164	GTCCTTCCACTGATC	3-10-3 MOE	1032
147078	71150	71161	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
368359	71151	71164	GTCCTTCCACTGA	2-10-2 MOE	1033
368379	71151	71166	AAGCTCCTTCCACTGA	3-10-3 MOE	1034
368360	71153	71166	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	71154	71165	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368381	71155	71170	GGGAAAGCTCCTTCCA	3-10-3 MOE	1037
390030	71986	71997	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	72132	72143	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147711	72300	72311	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
401414	72347	72360	TTGCAATGTCTGGC	2-10-2 MOE	1038
147741	72400	72411	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
401415	72415	72428	GATTTATCTGGCTG	2-10-2 MOE	1039
147711	72446	72457	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147742	72575	72586	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147743	72690	72701	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042

【 0 7 5 9 】

10

20

30

40

【表 18 - 13】

147744	72694	72705	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
147745	72700	72711	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147742	72721	72732	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147743	72836	72847	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147744	72840	72851	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
368357	72898	72911	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147078	72900	72911	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
398157	72903	72916	GGAAACATACCCTG	2-10-2 MOE	1045
368357	73044	73057	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147077	73045	73056	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147746	73052	73063	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	73101	73112	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398160	73139	73152	GAATAGGTTAAGGC	2-10-2 MOE	1048
147746	73198	73209	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398161	73238	73251	AACAATGTGTTGTA	2-10-2 MOE	1049
147088	73419	73430	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
404140	73457	73470	GCACACAGCTGAGG	2-10-2 MOE	1051
404139	73459	73472	GTGCACACAGCTGA	2-10-2 MOE	1052
399301	73461	73474	GTGTGCACACAGCT	2-10-2 MOE	1542
404137	73463	73476	CAGTGTGCACACAG	2-10-2 MOE	1053
404138	73465	73478	CTCAGTGTGCACAC	2-10-2 MOE	1054
147741	73705	73716	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
404135	73858	73871	CATTTCCATGGCCA	2-10-2 MOE	1056
398167	74008	74019	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	74009	74022	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
398162	74114	74127	ACCAAACAGTTCAG	2-10-2 MOE	1057
147745	74137	74148	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398167	74154	74165	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	74155	74168	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
389949	74310	74321	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147740	74485	74496	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
389950	74527	74538	CCCTGAAGGTTT	1-10-1 MOE	1063
398101	74656	74669	TTTGATAAAGCCCT	2-10-2 MOE	1064
398104	74805	74818	CAAGAAGACCTTAC	2-10-2 MOE	1065
147737	74893	74904	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398105	74894	74907	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147737	74919	74930	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398106	74974	74987	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
404199	75045	75058	GGTCATGCACAGGC	2-10-2 MOE	867
404134	75048	75061	TCAGGTCATGCACA	2-10-2 MOE	873
398106	75120	75133	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
147738	75155	75166	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
404132	75227	75240	CCTTGGAATGTCTG	2-10-2 MOE	852
147738	75301	75312	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398166	75499	75510	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147746	75617	75628	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147706	75686	75697	GCTGACATCTCG	1-10-1 MOE	1071
398112	75730	75743	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
147746	75763	75774	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398115	75786	75799	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076
390030	75839	75850	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398114	75916	75929	AGGCATATAGCAGA	2-10-2 MOE	1075
398115	75932	75945	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076

10

20

30

40

【表 1 8 - 1 4】

404133	75968	75981	TATTCCATGGCCAT	2-10-2 MOE	872
147715	77045	77056	GTTGAGCATGAC	1-10-1 MOE	1077
147715	77190	77201	GTTGAGCATGAC	1-10-1 MOE	1077
147693	77385	77396	GTGCGCTCCCAT	1-10-1 MOE	1078
398173	40201	40212	CAGCCTGGGCAC	1-10-1 MOE	1543
398173	72764	72775	CAGCCTGGGCAC	1-10-1 MOE	1543
399096	1986	1999	TGCTCGAACTCCTT	2-10-2 MOE	1544
399102	52822	52835	GAAGTCACTGGCTT	2-10-2 MOE	1545
399103	52824	52837	GGGAAGTCACTGGC	2-10-2 MOE	1546
399113	59827	59840	GTTAGGCAAAGGGC	2-10-2 MOE	1547
399132	69977	69990	GGGCTGAGTGACCC	2-10-2 MOE	1548
399173	74592	74605	ATGCTAGTGCACTA	2-10-2 MOE	1549
399208	75900	75913	AGCTCGCTACCTCT	2-10-2 MOE	1550
399276	27559	27572	GAGGTATCCCATCT	2-10-2 MOE	1551
399315	74039	74052	GGCAACTTCAACCT	2-10-2 MOE	1552

【 0 7 6 1】

【表 19 - 1】

表 19: 配列番号 12 に対して標的化され、かつ 1 または 2 のミスマッチを有する短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマー のモチーフ	配列 番号
398163	20	31	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
384545	23	34	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147733	26	37	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147721	59	70	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147700	110	121	GCGCTAGGCCGC	1-10-1 MOE	1110
384545	130	141	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147705	159	170	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147701	167	178	CCATGGCGGGAC	1-10-1 MOE	921
398164	198	209	TTGTTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147730	199	210	CTTGTCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147702	226	237	CTGGTAAATAGC	1-10-1 MOE	898
147703	245	256	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
147705	266	277	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
398165	283	294	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147704	285	296	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	291	302	CGGTTTTTGTTTC	1-10-1 MOE	1002
147709	311	322	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147733	349	360	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147707	360	371	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147708	366	377	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
390030	381	392	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147709	386	397	CCATTTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147081	393	404	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
398091	393	406	GGGCTTCTTCCATT	2-10-2 MOE	979
398166	395	406	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147712	461	472	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147713	466	477	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
147714	471	482	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147710	502	513	TATAGCTCCTCT	1-10-1 MOE	994
147736	551	562	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147717	574	585	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	607	618	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147710	609	620	TATAGCTCCTCT	1-10-1 MOE	994
147708	612	623	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147718	621	632	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147746	625	636	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147736	658	669	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147720	676	687	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147721	683	694	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
398167	704	715	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	705	718	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
147722	709	720	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147723	715	726	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147746	733	744	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398093	758	771	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	760	771	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147725	761	772	CTCGGACTTTGA	1-10-1 MOE	1119
147726	766	777	TGACTCTCGGAC	1-10-1 MOE	1120
147738	780	791	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147727	807	818	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128

【表 19 - 2】

147728	846	857	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398094	848	861	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
398169	849	860	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
147729	863	874	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
398095	866	879	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398164	873	884	TTGTCTGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147730	874	885	CTTGTCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147731	880	891	TTTCCTTTGTC	1-10-1 MOE	934
147732	885	896	GGGTCTTTCCTC	1-10-1 MOE	1122
147738	888	899	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147733	906	917	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
398096	971	984	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
147735	973	984	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147736	978	989	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147729	979	990	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147737	984	995	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
368349	1025	1038	CTGCACTGACGAGT	2-10-2 MOE	1017
368369	1025	1040	TCCTGCACTGACGAGT	3-10-3 MOE	893
368350	1027	1040	TCCTGCACTGACGA	2-10-2 MOE	1079
368370	1027	1042	GATCCTGCACTGACGA	3-10-3 MOE	1080
368351	1029	1042	GATCCTGCACTGAC	2-10-2 MOE	1081
368371	1029	1044	CTGATCCTGCACTGAC	3-10-3 MOE	1082
368352	1031	1044	CTGATCCTGCACTG	2-10-2 MOE	1105
368372	1031	1046	CACTGATCCTGCACTG	3-10-3 MOE	894
368353	1033	1046	CACTGATCCTGCAC	2-10-2 MOE	1007
368373	1033	1048	TCCACTGATCCTGCAC	3-10-3 MOE	1083
368354	1035	1048	TCCACTGATCCTGC	2-10-2 MOE	1024
368368	1035	1048	TCCACTGATCCTTA	2-10-2 MOE	1127
368374	1035	1050	CTTCCACTGATCCTGC	3-10-3 MOE	1126
368388	1035	1050	CTTCCACTGATCCTTA	3-10-3 MOE	895
147074	1036	1047	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
368355	1036	1049	TTCCACTGATCCTG	2-10-2 MOE	1025
368375	1036	1051	CCTTCCACTGATCCTG	3-10-3 MOE	1020
147075	1037	1048	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
368356	1037	1050	CTTCCACTGATCCT	2-10-2 MOE	1027
368376	1037	1052	TCCTTCCACTGATCCT	3-10-3 MOE	1028
147076	1038	1049	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	1038	1051	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
368377	1038	1053	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	1039	1050	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	1039	1052	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
368378	1039	1054	GCTCCTTCCACTGATC	3-10-3 MOE	1032
147078	1040	1051	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	1041	1052	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
368359	1041	1054	GCTCCTTCCACTGA	2-10-2 MOE	1033
368379	1041	1056	AAGCTCCTTCCACTGA	3-10-3 MOE	1034
147080	1042	1053	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	1043	1054	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	1043	1056	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
368380	1043	1058	GAAAGCTCCTTCCACT	3-10-3 MOE	896
147082	1044	1055	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368361	1045	1058	GAAAGCTCCTTCCA	2-10-2 MOE	962
368381	1045	1060	GGGAAAGCTCCTTCCA	3-10-3 MOE	1037

10

20

30

40



【表 19 - 3】

147729	1087	1098	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147738	1103	1114	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147739	1107	1118	CGTTTGGGTGGC	1-10-1 MOE	1023
147740	1124	1135	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
398117	1164	1177	TTTCCACTTGGGTG	2-10-2 MOE	960
147741	1165	1176	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398097	1194	1207	GGCAGTCTTTATCC	2-10-2 MOE	897
398098	1272	1285	TAACCTCAGTGTCT	2-10-2 MOE	1131
398117	1272	1285	TTTCCACTTGGGTG	2-10-2 MOE	960
147742	1273	1284	AACTTCAGTGTCT	1-10-1 MOE	1041
147698	1293	1304	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147743	1388	1399	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
398099	1388	1401	GAAGGGCTTCCAGT	2-10-2 MOE	1132
147744	1392	1403	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
398100	1395	1408	TGACCAGGAAGGGC	2-10-2 MOE	1133
147745	1398	1409	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398157	1455	1468	GGAAACATACCCTG	2-10-2 MOE	1045
147745	1458	1469	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398167	1475	1486	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398118	1564	1577	CGCGAGATATCTAA	2-10-2 MOE	1084
147697	1575	1586	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000
147076	1596	1607	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	1596	1609	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147077	1597	1608	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147078	1598	1609	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
398118	1672	1685	CGCGAGATATCTAA	2-10-2 MOE	1084
398158	1681	1694	AGGCCCTGAGATTA	2-10-2 MOE	1134
147697	1683	1694	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000
398159	1686	1699	GGTTAAGGCCCTGA	2-10-2 MOE	1135
398160	1691	1704	GAATAGGTTAAGGC	2-10-2 MOE	1048
398163	1711	1722	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
147733	1717	1728	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147089	1747	1758	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147090	1748	1759	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147746	1750	1761	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
389949	1777	1788	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
398161	1790	1803	AACAATGTGTTGTA	2-10-2 MOE	1049
147746	1799	1810	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147700	1801	1812	GCGCTAGGCCGC	1-10-1 MOE	1110
147740	1806	1817	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
398163	1819	1830	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
147733	1825	1836	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
389950	1848	1859	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
147701	1858	1869	CCATGGCGGGAC	1-10-1 MOE	921
398164	1889	1900	TTGTTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147730	1890	1901	CTTGTCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147700	1909	1920	GCGCTAGGCCGC	1-10-1 MOE	1110
398119	1920	1933	CGCACCTGGTAAAT	2-10-2 MOE	1085
147685	1957	1968	GGCTGACATTCA	1-10-1 MOE	975
147701	1966	1977	CCATGGCGGGAC	1-10-1 MOE	921
398120	1966	1979	GTTCAAGCGGCCTA	2-10-2 MOE	1086
398101	1977	1990	TTTGATAAAGCCCT	2-10-2 MOE	1064
398164	1997	2008	TTGTTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014

【 0 7 6 4 】

10

20

30

40

【表 19 - 4】

147730	1998	2009	CTTGTCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147702	2025	2036	CTGGTAAATAGC	1-10-1 MOE	898
398119	2028	2041	CGCACCTGGTAAAT	2-10-2 MOE	1085
398120	2074	2087	GTTCAAGCGGCCTA	2-10-2 MOE	1086
398105	2099	2112	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147736	2204	2215	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147741	2257	2268	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398104	2272	2285	CAAGAAGACCTTAC	2-10-2 MOE	1065
147737	2360	2371	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398105	2361	2374	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147737	2386	2397	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398095	2407	2420	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398106	2441	2454	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
398107	2447	2460	TATTCCTGGAAAAC	2-10-2 MOE	902
398121	2474	2487	GTGCCTAGCACAGA	2-10-2 MOE	1097
147745	2497	2508	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147712	2499	2510	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
398108	2544	2557	GGAATGTCTGAGTT	2-10-2 MOE	1136
147691	2575	2586	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398121	2582	2595	GTGCCTAGCACAGA	2-10-2 MOE	1097
147738	2622	2633	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398162	2666	2679	ACCAAACAGTTCAG	2-10-2 MOE	1057
147745	2689	2700	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398167	2706	2717	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	2707	2720	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
398109	2714	2727	CAAGAAGTGTGGTT	2-10-2 MOE	903
398110	2852	2865	GTTCCCTTTGCAGG	2-10-2 MOE	952
147091	2854	2865	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147723	2924	2935	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
398111	2937	2950	GTGAAAATGCTGGC	2-10-2 MOE	904
398166	2966	2977	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147089	2978	2989	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147090	2979	2990	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147706	3007	3018	GCTGACATCTCG	1-10-1 MOE	1071
389949	3008	3019	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147723	3032	3043	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147740	3037	3048	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
398112	3051	3064	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
389950	3079	3090	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
147746	3084	3095	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398122	3148	3161	CCCTTTACACAAGT	2-10-2 MOE	1087
147089	3151	3162	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147090	3152	3163	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
398113	3160	3173	AGGAGGTTAAACCA	2-10-2 MOE	905
147685	3188	3199	GGCTGACATTCA	1-10-1 MOE	975
398101	3208	3221	TTTGATAAAGCCCT	2-10-2 MOE	1064
398102	3234	3247	CTACCTGAGGATTT	2-10-2 MOE	899
398123	3235	3248	CTCAAATAGATTT	2-10-2 MOE	1088
398114	3237	3250	AGGCATATAGCAGA	2-10-2 MOE	1075
398103	3241	3254	CCCAGTACTACCTG	2-10-2 MOE	900
398115	3253	3266	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076
398122	3256	3269	CCCTTTACACAAGT	2-10-2 MOE	1087
147089	3259	3270	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956

【 0 7 6 5 】

10

20

30

40

【表 19 - 5】

147090	3260	3271	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
398116	3266	3279	TAATGACCTGATGA	2-10-2 MOE	1137
390030	3306	3317	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398123	3343	3356	CTCAAAATAGATTT	2-10-2 MOE	1088
147736	3435	3446	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398104	3503	3516	CAAGAAGACCTTAC	2-10-2 MOE	1065
147737	3591	3602	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398105	3592	3605	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147719	3608	3619	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147737	3617	3628	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
401398	3621	3634	CAAAGTCCCTTAGC	2-10-2 MOE	947
147079	3637	3648	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	3638	3649	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
398095	3638	3651	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398106	3672	3685	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
147733	3687	3698	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147731	3688	3699	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147719	3716	3727	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147745	3728	3739	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147683	3740	3751	GCTTACGATTGT	1-10-1 MOE	922
147079	3745	3756	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	3746	3757	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
398108	3775	3788	GGAATGTCTGAGTT	2-10-2 MOE	1136
147733	3795	3806	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147731	3796	3807	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147691	3806	3817	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147738	3853	3864	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398167	3926	3937	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147691	3978	3989	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398167	4034	4045	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147091	4085	4096	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147691	4086	4097	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398111	4168	4181	GTGAAAATGCTGGC	2-10-2 MOE	904
398166	4197	4208	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147091	4223	4234	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147092	4224	4235	TGTTCCCTCTAC	1-10-1 MOE	901
398112	4282	4295	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
147746	4315	4326	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398113	4391	4404	AGGAGGTTAAACCA	2-10-2 MOE	905
147723	4422	4433	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
398114	4468	4481	AGGCATATAGCAGA	2-10-2 MOE	1075
398115	4484	4497	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076
390030	4491	4502	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398116	4497	4510	TAATGACCTGATGA	2-10-2 MOE	1137
147723	4530	4541	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
390030	4599	4610	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398124	4761	4774	CACATGAGCTATTC	2-10-2 MOE	1089
398124	4869	4882	CACATGAGCTATTC	2-10-2 MOE	1089
147703	4926	4937	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
147692	4928	4939	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147696	4975	4986	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147703	5034	5045	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
147692	5036	5047	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113

【 0 7 6 6 】

10

20

30

40

【表 19 - 6】

147098	5173	5184	AGTTGTTGTTCC	1-10-1 MOE	1112
398125	5183	5196	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
398126	5216	5229	GTGAAGTGAGTCAT	2-10-2 MOE	1090
147098	5281	5292	AGTTGTTGTTCC	1-10-1 MOE	1112
398127	5283	5296	GGTCACTCAAGATG	2-10-2 MOE	1091
398126	5324	5337	GTGAAGTGAGTCAT	2-10-2 MOE	1090
398128	5335	5348	CTAAATTTAGTTCA	2-10-2 MOE	911
398127	5391	5404	GGTCACTCAAGATG	2-10-2 MOE	1091
398128	5443	5456	CTAAATTTAGTTCA	2-10-2 MOE	911
147712	5474	5485	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147736	5600	5611	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147746	5606	5617	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398129	5628	5641	TTTGAGGAGCTATT	2-10-2 MOE	1106
147085	5654	5665	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147736	5708	5719	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398129	5736	5749	TTTGAGGAGCTATT	2-10-2 MOE	1106
147679	5934	5945	CAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147723	6229	6240	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147723	6338	6349	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
390030	6803	6814	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398142	6885	6898	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
390030	6912	6923	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398142	6994	7007	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147695	7054	7065	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
147695	7163	7174	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
398166	7197	7208	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
398166	7306	7317	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147684	7442	7453	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
398130	7694	7707	TTAGTATGACAGCT	2-10-2 MOE	925
398131	7711	7724	GGACTCACTCAGCA	2-10-2 MOE	1092
398130	7802	7815	TTAGTATGACAGCT	2-10-2 MOE	925
398125	7804	7817	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
398131	7819	7832	GGACTCACTCAGCA	2-10-2 MOE	1092
390030	7877	7888	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398125	7912	7925	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
390030	7985	7996	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398132	8031	8044	TCAGGGCTACTCAT	2-10-2 MOE	1093
398132	8139	8152	TCAGGGCTACTCAT	2-10-2 MOE	1093
147684	8148	8159	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147684	8256	8267	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
398163	8365	8376	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
398166	8447	8458	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
398163	8473	8484	ATGTCAACCGGC	1-10-1 MOE	908
398166	8555	8566	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147718	8631	8642	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147691	8698	8709	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147691	8806	8817	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147728	8835	8846	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147727	8876	8887	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147728	8943	8954	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398169	8946	8957	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
147727	8984	8995	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147742	9060	9071	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041

10

20

30

40

【表 19 - 7】

398133	9112	9125	CAGCACTAGATTCA	2-10-2 MOE	1094
384545	9135	9146	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147742	9168	9179	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
398133	9220	9233	CAGCACTAGATTCA	2-10-2 MOE	1094
384545	9243	9254	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
398125	9368	9381	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
398125	9476	9489	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
401409	9516	9529	ATTCTTAACACAGA	2-10-2 MOE	991
147096	9594	9605	TTGTTGTTCCCT	1-10-1 MOE	1107
147733	9597	9608	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147720	9689	9700	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147096	9702	9713	TTGTTGTTCCCT	1-10-1 MOE	1107
147733	9705	9716	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147720	9797	9808	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147746	9963	9974	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	9966	9977	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	9969	9980	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	9991	10002	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10071	10082	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10074	10085	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10077	10088	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	10099	10110	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398134	10153	10166	TAGCTTAATGTAAC	2-10-2 MOE	1095
147085	10221	10232	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
398134	10261	10274	TAGCTTAATGTAAC	2-10-2 MOE	1095
390030	10278	10289	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147084	10328	10339	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147711	10684	10695	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
398128	11333	11346	CTAAATTTAGTTCA	2-10-2 MOE	911
398128	11340	11353	CTAAATTTAGTTCA	2-10-2 MOE	911
147730	11783	11794	CTTGTTCCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147731	11789	11800	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147730	11790	11801	CTTGTTCCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147731	11796	11807	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147707	11960	11971	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147090	12008	12019	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147091	12009	12020	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147091	12014	12025	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
398096	12141	12154	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
147735	12143	12154	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
398096	12146	12159	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
147735	12148	12159	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
398166	12209	12220	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
398166	12214	12225	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
398135	12303	12316	GACTACATTTTACA	2-10-2 MOE	912
147741	12389	12400	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
147741	12394	12405	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398125	12431	12444	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
147714	12585	12596	TTCTGCTCCAC	1-10-1 MOE	986
147718	12594	12605	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
398125	12612	12625	CAGTAAGGAATTTT	2-10-2 MOE	913
147737	12803	12814	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147746	12876	12887	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073

10

20

30

40

【表 19 - 8】

147691	12900	12911	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398136	12915	12928	TTGTGACATCTAGG	2-10-2 MOE	1096
147737	12984	12995	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147746	13057	13068	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147691	13081	13092	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398136	13096	13109	TTGTGACATCTAGG	2-10-2 MOE	1096
398138	13254	13267	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
398138	13435	13448	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
147691	13488	13499	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147681	13659	13670	ATGTCATTAAAC	1-10-1 MOE	965
147691	13669	13680	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
389965	13839	13850	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	13839	13850	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147681	13840	13851	ATGTCATTAAAC	1-10-1 MOE	965
389965	14020	14031	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	14020	14031	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389948	14067	14078	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
147736	14123	14134	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
389948	14248	14259	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
147738	14279	14290	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147736	14304	14315	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147731	14411	14422	TTTCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147738	14461	14472	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147692	14475	14486	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147731	14593	14604	TTTCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
389950	14614	14625	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
147692	14657	14668	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147717	14750	14761	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147698	14754	14765	CCC GCCACCACC	1-10-1 MOE	928
389950	14796	14807	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
398112	14863	14876	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
398121	14875	14888	GTGCCTAGCACAGA	2-10-2 MOE	1097
147717	14932	14943	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
398112	15045	15058	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
398121	15057	15070	GTGCCTAGCACAGA	2-10-2 MOE	1097
147730	15117	15128	CTTGTCCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147730	15299	15310	CTTGTCCATCAG	1-10-1 MOE	1121
401407	15339	15352	CAGCTTAGGCAGAG	2-10-2 MOE	983
398167	15556	15567	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147736	16444	16455	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147746	16510	16521	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147738	16590	16601	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147736	16610	16621	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398167	16631	16642	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
401411	16657	16670	AGCCGCCTGAAGTG	2-10-2 MOE	999
147746	16676	16687	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398144	16745	16758	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
147738	16756	16767	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398167	16797	16808	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398144	16911	16924	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
389965	17096	17107	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	17096	17107	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389965	17264	17275	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018

【 0 7 6 9 】

10

20

30

40

【表 19 - 9】

389764	17264	17275	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147709	17406	17417	CCATTTTATCA	1-10-1 MOE	978
147745	17443	17454	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147746	17497	17508	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147720	17589	17600	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147745	17611	17622	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147695	17634	17645	TCATTCCTCCACT	1-10-1 MOE	984
147746	17665	17676	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147088	17707	17718	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
147720	17757	17768	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147711	17808	17819	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147711	17976	17987	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
398139	18049	18062	AGTGACTGACCACA	2-10-2 MOE	917
398139	18217	18230	AGTGACTGACCACA	2-10-2 MOE	917
398140	18596	18609	GTAGCATAGAGCCT	2-10-2 MOE	918
398140	18764	18777	GTAGCATAGAGCCT	2-10-2 MOE	918
398167	18927	18938	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398167	19095	19106	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147724	19147	19158	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147746	19207	19218	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147724	19315	19326	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147740	19348	19359	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
147746	19375	19386	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147729	19386	19397	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147701	19503	19514	CCATGGCGGGAC	1-10-1 MOE	921
147711	19508	19519	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147740	19516	19527	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
147718	19617	19628	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
390030	19618	19629	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147679	19635	19646	CAAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147711	19676	19687	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147694	19747	19758	CAGCCTACCAGT	1-10-1 MOE	1098
147718	19785	19796	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
390030	19786	19797	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147679	19803	19814	CAAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147698	19852	19863	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147694	19915	19926	CAGCCTACCAGT	1-10-1 MOE	1098
147704	20011	20022	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147698	20020	20031	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
398142	20485	20498	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147078	20514	20525	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	20515	20526	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	20516	20527	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
398143	20561	20574	GTCAGTCCCAGCTA	2-10-2 MOE	924
389965	20620	20631	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	20620	20631	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
398142	20653	20666	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147078	20682	20693	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	20683	20694	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	20684	20695	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147080	20704	20715	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	20705	20716	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
398143	20729	20742	GTCAGTCCCAGCTA	2-10-2 MOE	924

【 0 7 7 0 】

10

20

30

40

【表 19 - 10】

389965	20788	20799	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	20788	20799	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147746	20870	20881	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147080	20872	20883	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	20873	20884	GTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147746	21038	21049	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147717	21080	21091	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147076	21222	21233	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
147076	21390	21401	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
398094	21441	21454	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
147746	21465	21476	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398094	21609	21622	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
398169	21610	21621	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
147746	21633	21644	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147738	21884	21895	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147743	22045	22056	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147738	22052	22063	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147683	22107	22118	GCTTACGATTGT	1-10-1 MOE	922
147743	22213	22224	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147681	22566	22577	ATGTCATTA AAC	1-10-1 MOE	965
389950	22619	22630	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
147681	22734	22745	ATGTCATTA AAC	1-10-1 MOE	965
147736	22759	22770	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
389950	22787	22798	CCCTGAAGGTTC	1-10-1 MOE	1063
389949	22794	22805	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147736	22927	22938	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
389949	22962	22973	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
398144	22962	22975	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
398142	23008	23021	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147727	23019	23030	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
398169	23064	23075	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
398144	23130	23143	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
398145	23154	23167	ACATGTCAGTAATT	2-10-2 MOE	1099
398142	23176	23189	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147727	23187	23198	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147735	23243	23254	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
398145	23322	23335	ACATGTCAGTAATT	2-10-2 MOE	1099
147735	23411	23422	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
398146	23478	23491	CTCATGGACACAAA	2-10-2 MOE	1100
398146	23646	23659	CTCATGGACACAAA	2-10-2 MOE	1100
398147	23784	23797	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957
398114	23853	23866	AGGCATATAGCAGA	2-10-2 MOE	1075
398147	23952	23965	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957
398114	24021	24034	AGGCATATAGCAGA	2-10-2 MOE	1075
147702	24319	24330	CTGGTAAATAGC	1-10-1 MOE	898
147702	24487	24498	CTGGTAAATAGC	1-10-1 MOE	898
389965	24543	24554	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	24543	24554	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147713	24602	24613	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
389965	24711	24722	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	24711	24722	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147684	24918	24929	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147684	25086	25097	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964

【 0 7 7 1 】

10

20

30

40



【表 19 - 11】

398148	25152	25165	TCATAACTATTAAG	2-10-2 MOE	981
398144	25192	25205	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
147746	25216	25227	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147736	25313	25324	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398148	25320	25333	TCATAACTATTAAG	2-10-2 MOE	981
398143	25337	25350	GTCAGTCCCAGCTA	2-10-2 MOE	924
398144	25360	25373	GACAGCTTCTATAA	2-10-2 MOE	916
147746	25384	25395	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147691	25442	25453	GAGGTGGGAAA	1-10-1 MOE	966
147736	25481	25492	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398130	25504	25517	TTAGTATGACAGCT	2-10-2 MOE	925
147691	25610	25621	GAGGTGGGAAA	1-10-1 MOE	966
147721	25662	25673	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
398130	25672	25685	TTAGTATGACAGCT	2-10-2 MOE	925
147688	25750	25761	TCCCAAACAAT	1-10-1 MOE	990
147746	25810	25821	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147721	25830	25841	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147688	25918	25929	TCCCAAACAAT	1-10-1 MOE	990
147746	25978	25989	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	26172	26183	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	26340	26351	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398149	26492	26505	GGAAGTTTCAAGT	2-10-2 MOE	1101
398150	26526	26539	GAATCTGGAGGTAA	2-10-2 MOE	1102
398149	26641	26654	GGAAGTTTCAAGT	2-10-2 MOE	1101
398150	26675	26688	GAATCTGGAGGTAA	2-10-2 MOE	1102
147729	26712	26723	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
398151	26718	26731	TCAGTGTAGGAAGA	2-10-2 MOE	926
147729	26861	26872	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
398151	26867	26880	TCAGTGTAGGAAGA	2-10-2 MOE	926
147728	26917	26928	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147728	27066	27077	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147076	27258	27269	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
147731	27267	27278	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147076	27407	27418	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
147731	27416	27427	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
398152	27559	27572	TGAATATACAGATG	2-10-2 MOE	927
398152	27708	27721	TGAATATACAGATG	2-10-2 MOE	927
147696	28265	28276	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147696	28414	28425	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147698	28481	28492	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147720	28662	28673	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
389965	28714	28725	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	28714	28725	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389965	28861	28872	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	28861	28872	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
398153	28980	28993	ATTTCTCTTACAGG	2-10-2 MOE	948
398153	29126	29139	ATTTCTCTTACAGG	2-10-2 MOE	948
147719	29570	29581	CCAACCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
398154	29692	29705	AGCCCCTTGCCGT	2-10-2 MOE	1103
147719	29715	29726	CCAACCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
398155	29785	29798	TGTTTTTACACAGA	2-10-2 MOE	970
398154	29837	29850	AGCCCCTTGCCGT	2-10-2 MOE	1103
401384	29905	29918	TGAACACATCACTA	2-10-2 MOE	933

【 0 7 7 2 】

10

20

30

40

【表 19 - 12】

398155	29930	29943	TGTTTTTACACAGA	2-10-2 MOE	970
390030	29945	29956	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	30090	30101	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398156	30141	30154	GAATACTTCAAATC	2-10-2 MOE	1104
398156	30286	30299	GAATACTTCAAATC	2-10-2 MOE	1104
389948	30384	30395	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
389948	30530	30541	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
398142	30591	30604	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147744	30654	30665	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
147093	30689	30700	TTGTTCCCTCTA	1-10-1 MOE	929
398142	30738	30751	CCAGCACACTGGAA	2-10-2 MOE	923
147744	30801	30812	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
398168	31082	31093	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147746	31105	31116	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398168	31230	31241	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
390030	31329	31340	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147736	31458	31469	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
390030	31477	31488	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147736	31606	31617	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147698	31713	31724	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
384545	31829	31840	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147698	31861	31872	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147723	31941	31952	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
384545	31977	31988	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147692	32061	32072	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147723	32089	32100	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147692	32209	32220	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147089	32535	32546	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
401396	32569	32582	TGCAGGATGTTGAG	2-10-2 MOE	945
147730	32714	32725	CTTGTCCATCAG	1-10-1 MOE	1121
398165	32854	32865	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147730	32862	32873	CTTGTCCATCAG	1-10-1 MOE	1121
389950	32949	32960	CCCTGAAGGTTTC	1-10-1 MOE	1063
398165	33002	33013	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147736	33012	33023	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
368352	33056	33069	CTGATCCTGCACTG	2-10-2 MOE	1105
147081	33073	33084	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	33073	33086	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	33074	33085	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
389950	33097	33108	CCCTGAAGGTTTC	1-10-1 MOE	1063
147736	33160	33171	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
368352	33204	33217	CTGATCCTGCACTG	2-10-2 MOE	1105
147081	33221	33232	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	33222	33233	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
398138	33244	33257	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
147746	33250	33261	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398138	33392	33405	AACATCAAGCTTGA	2-10-2 MOE	931
147746	33398	33409	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147732	33652	33663	GGGTCTTTCCTC	1-10-1 MOE	1122
147724	33733	33744	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147732	33800	33811	GGGTCTTTCCTC	1-10-1 MOE	1122
147724	33881	33892	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147719	33976	33987	CCAACCTCAACT	1-10-1 MOE	1116

10

20

30

40

【 0 7 7 3 】

【表 19 - 13】

147746	34034	34045	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398129	34045	34058	TTTGAGGAGCTATT	2-10-2 MOE	1106
147719	34124	34135	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147721	34156	34167	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
398129	34193	34206	TTTGAGGAGCTATT	2-10-2 MOE	1106
147721	34304	34315	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147746	34606	34617	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398165	34704	34715	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147746	34754	34765	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398165	34852	34863	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147717	34893	34904	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147719	34976	34987	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147092	34987	34998	TGTTCCCTCTAC	1-10-1 MOE	901
147719	35124	35135	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147092	35135	35146	TGTTCCCTCTAC	1-10-1 MOE	901
147736	35248	35259	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147738	35391	35402	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147736	35396	35407	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147738	35539	35550	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147691	35554	35565	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147691	35702	35713	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147746	35814	35825	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147733	35889	35900	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147733	35923	35934	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147746	35962	35973	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147726	35978	35989	TGACTCTCGGAC	1-10-1 MOE	1120
147733	36037	36048	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147733	36071	36082	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147726	36126	36137	TGACTCTCGGAC	1-10-1 MOE	1120
147736	36359	36370	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147691	36360	36371	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147736	36507	36518	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147691	36508	36519	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147746	36564	36575	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147723	36575	36586	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147731	36620	36631	TTTCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147723	36723	36734	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147731	36768	36779	TTTCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
398169	37174	37185	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
147688	37380	37391	TCCCAAACAAT	1-10-1 MOE	990
147688	37528	37539	TCCCAAACAAT	1-10-1 MOE	990
147714	37881	37892	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147714	38029	38040	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147681	38364	38375	ATGTCATTAAAC	1-10-1 MOE	965
147736	38766	38777	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147738	38909	38920	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147736	38914	38925	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147738	39057	39068	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
390030	39249	39260	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	39397	39408	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147717	39545	39556	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	39693	39704	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147746	39729	39740	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073

10

20

30

40

【表 19 - 14】

147746	39789	39800	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147691	39829	39840	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147746	39877	39888	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147691	39977	39988	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147727	39983	39994	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147727	40131	40142	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147746	40333	40344	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147719	40457	40468	CCAACTCCAACT	1-10-1 MOE	1116
147679	40467	40478	CAAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147746	40478	40489	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147741	40565	40576	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398166	40589	40600	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147719	40605	40616	CCAACTCCAACT	1-10-1 MOE	1116
147679	40615	40626	CAAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147746	40626	40637	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147735	40662	40673	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147746	40706	40717	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147741	40713	40724	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398166	40737	40748	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147735	40810	40821	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147746	40854	40865	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147718	41218	41229	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147717	41221	41232	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	41369	41380	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147723	41627	41638	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147717	41747	41758	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147723	41775	41786	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
390030	41908	41919	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
390030	42056	42067	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398153	42157	42170	ATTTCTCTTACAGG	2-10-2 MOE	948
398153	42305	42318	ATTTCTCTTACAGG	2-10-2 MOE	948
147690	42423	42434	TGAAGTTAATTC	1-10-1 MOE	1138
147695	42521	42532	TCATTCCTTACT	1-10-1 MOE	984
147710	42543	42554	TATAGCTCCTCT	1-10-1 MOE	994
147690	42571	42582	TGAAGTTAATTC	1-10-1 MOE	1138
147695	42669	42680	TCATTCCTTACT	1-10-1 MOE	984
147078	43321	43332	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	43322	43333	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147716	43329	43340	TTAACGAGCCTT	1-10-1 MOE	949
147078	43469	43480	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	43470	43481	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	43471	43482	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
398102	43837	43850	CTACCTGAGGATTT	2-10-2 MOE	899
147074	43848	43859	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
401408	43871	43884	CAATGAAGCACAGG	2-10-2 MOE	989
398102	43985	43998	CTACCTGAGGATTT	2-10-2 MOE	899
147736	44137	44148	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147746	44140	44151	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147687	44206	44217	CGACACGGGAAC	1-10-1 MOE	950
147743	44223	44234	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
384545	44242	44253	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147736	44285	44296	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147743	44371	44382	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042

10

20

30

40

【表 19 - 15】

384545	44390	44401	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147728	44589	44600	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
389948	44628	44639	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
147720	44703	44714	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147728	44729	44740	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147728	44737	44748	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
389948	44776	44787	CCGTTGGACCCC	1-10-1 MOE	915
147720	44851	44862	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
398110	44861	44874	GTCCCTTTGCAGG	2-10-2 MOE	952
147728	44877	44888	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147705	45092	45103	CGGTTTTTGTC	1-10-1 MOE	1002
147705	45240	45251	CGGTTTTTGTC	1-10-1 MOE	1002
147681	45337	45348	ATGTCATTAAC	1-10-1 MOE	965
147681	45485	45496	ATGTCATTAAC	1-10-1 MOE	965
147096	45660	45671	TTGTTGTTCCCT	1-10-1 MOE	1107
147096	45808	45819	TTGTTGTTCCCT	1-10-1 MOE	1107
368368	45976	45989	TCCACTGATCCTTA	2-10-2 MOE	1127
147074	45977	45988	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147075	45978	45989	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
147076	45979	45990	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368368	46124	46137	TCCACTGATCCTTA	2-10-2 MOE	1127
147075	46126	46137	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
147076	46127	46138	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
147705	46555	46566	CGGTTTTTGTC	1-10-1 MOE	1002
147714	46685	46696	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147705	46703	46714	CGGTTTTTGTC	1-10-1 MOE	1002
147714	46833	46844	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
390030	47007	47018	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147746	47023	47034	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	47171	47182	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147085	47607	47618	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147746	47609	47620	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147089	47611	47622	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147091	47613	47624	GTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
401384	47689	47702	TGAACACATCACTA	2-10-2 MOE	933
147691	47729	47740	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147085	47755	47766	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147087	47757	47768	CCTCTACACCAG	1-10-1 MOE	982
147090	47760	47771	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147091	47761	47772	GTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147099	47770	47781	GAGTTGTTGTTC	1-10-1 MOE	1108
147100	47771	47782	CGAGTTGTTGTT	1-10-1 MOE	1109
390030	47847	47858	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147691	47877	47888	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147099	47918	47929	GAGTTGTTGTTC	1-10-1 MOE	1108
147100	47919	47930	CGAGTTGTTGTT	1-10-1 MOE	1109
390030	47995	48006	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147074	48222	48233	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147731	48340	48351	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147691	48393	48404	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147731	48488	48499	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147691	48541	48552	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398147	48887	48900	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957

10

20

30

40

【表 19 - 16】

398147	49035	49048	CTACAGGACAATAC	2-10-2 MOE	957
147074	49525	49536	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
398168	49742	49753	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
384545	49858	49869	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
398168	49890	49901	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147724	49974	49985	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
384545	50006	50017	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147689	50084	50095	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147687	50102	50113	CGACACGGGAAC	1-10-1 MOE	950
147724	50122	50133	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147687	50250	50261	CGACACGGGAAC	1-10-1 MOE	950
398117	50389	50402	TTTCCACTTGGGTG	2-10-2 MOE	960
147736	50436	50447	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147736	50582	50593	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398168	50703	50714	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
401397	50822	50835	CTGGTCAGCATTGA	2-10-2 MOE	946
147746	51019	51030	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147708	51101	51112	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147746	51165	51176	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	51185	51196	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147708	51247	51258	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147081	51287	51298	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	51288	51299	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147746	51324	51335	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	51331	51342	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147728	51376	51387	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147729	51406	51417	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147081	51433	51444	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	51434	51445	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147728	51492	51503	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147728	51522	51533	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147729	51552	51563	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
368360	51633	51646	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	51634	51645	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368361	51635	51648	GAAAGCTCCTTCCA	2-10-2 MOE	962
147728	51638	51649	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147695	51644	51655	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
147736	51713	51724	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147684	51721	51732	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147081	51779	51790	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	51779	51792	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	51780	51791	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368361	51781	51794	GAAAGCTCCTTCCA	2-10-2 MOE	962
147695	51790	51801	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
147736	51859	51870	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147077	51988	51999	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147079	51990	52001	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147746	52064	52075	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147681	52085	52096	ATGTCATTAAAC	1-10-1 MOE	965
147077	52134	52145	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147079	52136	52147	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147691	52166	52177	GAGGTGGGAAA	1-10-1 MOE	966
147719	52252	52263	CCAACCTCAACT	1-10-1 MOE	1116

10

20

30

40

【表 19 - 17】

147691	52312	52323	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147719	52398	52409	CCAACTCCAAC	1-10-1 MOE	1116
147728	52428	52439	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147729	52483	52494	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
398167	52527	52538	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147682	52571	52582	CGGGTACTATGG	1-10-1 MOE	992
147728	52574	52585	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
147724	52615	52626	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147729	52629	52640	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147703	52670	52681	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398167	52673	52684	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398165	52708	52719	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147704	52710	52721	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	52716	52727	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147724	52761	52772	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
398167	52762	52773	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147703	52816	52827	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398165	52854	52865	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147704	52856	52867	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	52862	52873	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
398167	52908	52919	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147689	53063	53074	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147727	53111	53122	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147727	53158	53169	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147689	53209	53220	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147727	53257	53268	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147727	53304	53315	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147680	53638	53649	GTATGCACTGCT	1-10-1 MOE	988
147722	53650	53661	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147083	53703	53714	TACACCAGGTCA	1-10-1 MOE	973
147085	53705	53716	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
147086	53706	53717	CTCTACACCAGG	1-10-1 MOE	969
398167	53724	53735	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147684	53747	53758	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
147680	53784	53795	GTATGCACTGCT	1-10-1 MOE	988
147722	53796	53807	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147085	53851	53862	TCTACACCAGGT	1-10-1 MOE	961
398167	53870	53881	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147684	53893	53904	ACCCAGTCAGGG	1-10-1 MOE	964
398155	54026	54039	TGTTTTTACACAGA	2-10-2 MOE	970
147703	54137	54148	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
398155	54172	54185	TGTTTTTACACAGA	2-10-2 MOE	970
147705	54275	54286	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147703	54283	54294	TGGCTTCATGTC	1-10-1 MOE	971
147705	54421	54432	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147727	54853	54864	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
398165	54963	54974	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
398090	54963	54976	TTGTTCTTAGGAAG	2-10-2 MOE	972
147704	54965	54976	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147705	54971	54982	CGGTTTTTGTTT	1-10-1 MOE	1002
147727	54999	55010	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
398165	55109	55120	GTTCTTAGGAAG	1-10-1 MOE	968
147704	55111	55122	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012

【 0 7 7 8 】

10

20

30

40

【表 19 - 18】

147705	55117	55128	CGGTTTTTG TTC	1-10-1 MOE	1002
147083	55352	55363	TACACCAGGTCA	1-10-1 MOE	973
147705	55378	55389	CGGTTTTTG TTC	1-10-1 MOE	1002
147705	55524	55535	CGGTTTTTG TTC	1-10-1 MOE	1002
147712	55819	55830	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147712	55965	55976	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147733	56289	56300	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147707	56300	56311	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147708	56306	56317	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
390030	56321	56332	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147081	56333	56344	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
398166	56335	56346	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147733	56435	56446	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
147707	56446	56457	TAGTCATTATCT	1-10-1 MOE	977
147708	56452	56463	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
390030	56467	56478	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147081	56479	56490	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
398091	56479	56492	GGGCTTCTTCCATT	2-10-2 MOE	979
398166	56481	56492	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
368366	56518	56531	CTGATCCTTAGAAG	2-10-2 MOE	1019
147743	57612	57623	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147700	57709	57720	GCGCTAGGCCGC	1-10-1 MOE	1110
147743	57758	57769	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147700	57855	57866	GCGCTAGGCCGC	1-10-1 MOE	1110
398093	57963	57976	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	57965	57976	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147698	58105	58116	CCC GCC ACC ACC	1-10-1 MOE	928
398093	58109	58122	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	58111	58122	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147698	58251	58262	CCC GCC ACC ACC	1-10-1 MOE	928
147735	58279	58290	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147735	58425	58436	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
404135	58946	58959	CATTTCCATGGCCA	2-10-2 MOE	1056
390030	59326	59337	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147711	59357	59368	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147743	59382	59393	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147711	59503	59514	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147743	59528	59539	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
147695	59576	59587	TCATTCCCCACT	1-10-1 MOE	984
147713	59716	59727	CTCCCACACCAT	1-10-1 MOE	985
147714	59721	59732	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147715	59746	59757	GTTGAGCATGAC	1-10-1 MOE	1077
147716	59771	59782	TTAACGAGCCTT	1-10-1 MOE	949
147712	59857	59868	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147714	59867	59878	TTCTGCTCCCAC	1-10-1 MOE	986
147715	59892	59903	GTTGAGCATGAC	1-10-1 MOE	1077
147716	59917	59928	TTAACGAGCCTT	1-10-1 MOE	949
390030	59993	60004	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147690	60270	60281	TGAAGTTAATTC	1-10-1 MOE	1138
389949	60325	60336	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147690	60416	60427	TGAAGTTAATTC	1-10-1 MOE	1138
389949	60471	60482	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147746	60619	60630	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073

10

20

30

40



【表 19 - 19】

384545	60676	60687	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147746	60765	60776	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
384545	60822	60833	CAAGTAGGATGT	1-10-1 MOE	951
147689	60967	60978	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147689	61008	61019	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147689	61049	61060	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
398105	61121	61134	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147689	61154	61165	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147689	61195	61206	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
398105	61267	61280	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147692	61365	61376	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147692	61511	61522	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147680	61619	61630	GTATGCACTGCT	1-10-1 MOE	988
147078	61755	61766	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	61756	61767	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	61757	61768	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147078	61901	61912	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	61902	61913	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	61903	61914	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147088	62361	62372	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
401384	62573	62586	TGAACACATCACTA	2-10-2 MOE	933
147688	62697	62708	TCCCAAACAAAT	1-10-1 MOE	990
147746	63102	63113	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147721	63225	63236	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147742	63226	63237	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147746	63248	63259	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147682	63337	63348	CGGGTACTATGG	1-10-1 MOE	992
147721	63371	63382	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147742	63372	63383	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147688	63401	63412	TCCCAAACAAAT	1-10-1 MOE	990
147097	63449	63460	GTTGTTGTTCCC	1-10-1 MOE	1111
147098	63450	63461	AGTTGTTGTTCC	1-10-1 MOE	1112
401409	63458	63471	ATTCTTAACACAGA	2-10-2 MOE	991
147084	63531	63542	CTACACCAGGTC	1-10-1 MOE	993
147688	63547	63558	TCCCAAACAAAT	1-10-1 MOE	990
147097	63595	63606	GTTGTTGTTCCC	1-10-1 MOE	1111
147098	63596	63607	AGTTGTTGTTCC	1-10-1 MOE	1112
147721	64086	64097	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147721	64232	64243	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147692	64233	64244	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147692	64379	64390	CTCACCTTCATG	1-10-1 MOE	1113
147729	64633	64644	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
401403	64746	64759	TTTCTTAGGAGGTG	2-10-2 MOE	967
147729	64779	64790	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147746	65151	65162	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147746	65297	65308	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147689	65302	65313	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147689	65448	65459	CAGAGAAGGTCT	1-10-1 MOE	987
147717	65862	65873	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	65895	65906	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147729	66000	66011	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147717	66008	66019	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996
147717	66041	66052	ATCTTCAGAGAT	1-10-1 MOE	996

10

20

30

40

【表 19 - 20】

147708	66046	66057	TTGATATAGTCA	1-10-1 MOE	997
147718	66055	66066	TAATATGACTTG	1-10-1 MOE	998
147729	66146	66157	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
147089	66236	66247	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
368363	66281	66294	CTTAGAAGGCAGCA	2-10-2 MOE	1114
147727	66293	66304	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147093	66319	66330	TTGTTCCCTCTA	1-10-1 MOE	929
147094	66320	66331	GTTGTTCCCTCT	1-10-1 MOE	1115
147089	66382	66393	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
368363	66427	66440	CTTAGAAGGCAGCA	2-10-2 MOE	1114
147727	66439	66450	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147719	66441	66452	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147093	66465	66476	TTGTTCCCTCTA	1-10-1 MOE	929
147094	66466	66477	GTTGTTCCCTCT	1-10-1 MOE	1115
147075	66561	66572	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
368357	66562	66575	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147076	66562	66573	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368377	66562	66577	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	66563	66574	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	66563	66576	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
147078	66564	66575	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	66565	66576	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	66566	66577	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	66567	66578	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147719	66587	66598	CCAACTCCAACCT	1-10-1 MOE	1116
147075	66707	66718	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
368377	66708	66723	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147076	66708	66719	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	66708	66721	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147077	66709	66720	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147078	66710	66721	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147079	66711	66722	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	66712	66723	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	66713	66724	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147089	66842	66853	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147089	66988	66999	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147075	66999	67010	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
147075	67145	67156	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
147705	67213	67224	CGGTTTTTGTTIC	1-10-1 MOE	1002
401413	67301	67314	TGCAGCCATGTACT	2-10-2 MOE	1022
147737	67309	67320	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147080	67430	67441	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147737	67455	67466	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147080	67576	67587	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147082	67578	67589	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
147090	67582	67593	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147091	67583	67594	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147742	67591	67602	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147090	67728	67739	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
147698	68036	68047	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147698	68182	68193	CCCGCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147681	68267	68278	ATGTCATIAAAC	1-10-1 MOE	965
147721	68386	68397	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118

10

20

30

40

【表 19 - 21】

147681	68413	68424	ATGTCATTAAC	1-10-1 MOE	965
147712	68527	68538	ACACCATCTCCC	1-10-1 MOE	1005
147721	68532	68543	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147711	68760	68771	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147711	68906	68917	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
147696	69045	69056	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147696	69191	69202	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147723	69194	69205	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147723	69210	69221	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
389965	69271	69282	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	69271	69282	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
147723	69340	69351	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147723	69356	69367	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
398101	69357	69370	TTTGATAAAGCCCT	2-10-2 MOE	1064
389965	69417	69428	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	69417	69428	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
398101	69503	69516	TTTGATAAAGCCCT	2-10-2 MOE	1064
368353	69519	69532	CACTGATCCTGCAC	2-10-2 MOE	1007
147074	69522	69533	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
147081	69631	69642	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368353	69665	69678	CACTGATCCTGCAC	2-10-2 MOE	1007
147720	69729	69740	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147721	69736	69747	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
398167	69757	69768	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147722	69762	69773	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147723	69768	69779	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147080	69776	69787	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
147081	69777	69788	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
398093	69811	69824	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	69813	69824	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147725	69814	69825	CTCGGACTTTGA	1-10-1 MOE	1119
147726	69819	69830	TGACTCTCGGAC	1-10-1 MOE	1120
147727	69860	69871	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147720	69875	69886	GATCTCTCGAGT	1-10-1 MOE	1117
147721	69882	69893	AATGCAGGATCT	1-10-1 MOE	1118
147728	69899	69910	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398094	69901	69914	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
398167	69903	69914	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	69904	69917	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
147722	69908	69919	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147723	69914	69925	GACTCCAAAGTC	1-10-1 MOE	892
147729	69916	69927	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920
398095	69919	69932	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398093	69957	69970	TCGGACTTTGAAAA	2-10-2 MOE	1009
398168	69959	69970	TCGGACTTTGAA	1-10-1 MOE	1008
147725	69960	69971	CTCGGACTTTGA	1-10-1 MOE	1119
147726	69965	69976	TGACTCTCGGAC	1-10-1 MOE	1120
147704	69991	70002	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147727	70006	70017	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147728	70045	70056	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398094	70047	70060	ATCAGCCAGACAGA	2-10-2 MOE	1010
398169	70048	70059	TCAGCCAGACAG	1-10-1 MOE	909
147729	70062	70073	GTAAGAGGCAGG	1-10-1 MOE	920

【 0 7 8 2 】

10

20

30

40

【表 19 - 22】

398095	70065	70078	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
147704	70137	70148	TTGTTCTTAGGA	1-10-1 MOE	1012
147697	70161	70172	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000
147697	70307	70318	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000
147728	70450	70461	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398164	70464	70475	TTGTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147730	70465	70476	CTTGTCATCAG	1-10-1 MOE	1121
147731	70471	70482	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147732	70476	70487	GGGTCTTTCCTC	1-10-1 MOE	1122
147733	70497	70508	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
398096	70562	70575	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
147735	70564	70575	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147736	70569	70580	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147737	70575	70586	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
147728	70596	70607	GCCAGACAGAAG	1-10-1 MOE	1013
398164	70610	70621	TTGTCGATCTGC	1-10-1 MOE	1014
147730	70611	70622	CTTGTCATCAG	1-10-1 MOE	1121
368349	70616	70629	CTGCAACATGAT	2-10-2 MOE	1017
147731	70617	70628	TTTCCTCTTGTC	1-10-1 MOE	934
147732	70622	70633	GGGTCTTTCCTC	1-10-1 MOE	1122
147733	70643	70654	TTCTTGATGTCC	1-10-1 MOE	891
398096	70708	70721	GGAGAAGCGCAGCT	2-10-2 MOE	1015
147735	70710	70721	GGAGAAGCGCAG	1-10-1 MOE	1016
147736	70715	70726	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147737	70721	70732	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
389764	70784	70795	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389965	70784	70795	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389965	70930	70941	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	70930	70941	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
368386	70995	71010	CACTGATCCTTAGAAG	3-10-3 MOE	1123
368367	70997	71010	CACTGATCCTTAGA	2-10-2 MOE	1124
368387	70997	71012	TCCACTGATCCTTAGA	3-10-3 MOE	1125
368354	70999	71012	TCCACTGATCCTGC	2-10-2 MOE	1024
368374	70999	71014	CTTCCACTGATCCTGC	3-10-3 MOE	1126
368368	70999	71012	TCCACTGATCCTTA	2-10-2 MOE	1127
368388	70999	71014	CTTCCACTGATCCTTA	3-10-3 MOE	895
368355	71000	71013	TTCCACTGATCCTG	2-10-2 MOE	1025
147074	71000	71011	CCACTGATCCTG	1-10-1 MOE	845
368375	71000	71015	CCTTCCACTGATCCTG	3-10-3 MOE	1020
147075	71001	71012	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
368376	71001	71016	TCCTTCCACTGATCCT	3-10-3 MOE	1028
147076	71002	71013	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	71002	71015	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
368377	71002	71017	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	71003	71014	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368378	71003	71018	GCTCCTTCCACTGATC	3-10-3 MOE	1032
147078	71004	71015	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
368359	71005	71018	GCTCCTTCCACTGA	2-10-2 MOE	1033
368379	71005	71020	AAGCTCCTTCCACTGA	3-10-3 MOE	1034
147079	71005	71016	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
147080	71006	71017	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
368360	71007	71020	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
368380	71007	71022	GAAAGCTCCTTCCACT	3-10-3 MOE	896

【 0 7 8 3 】

10

20

30

40

【表 19 - 23】

147081	71007	71018	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
147082	71008	71019	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368361	71009	71022	GAAAGCTCCTTCCA	2-10-2 MOE	962
368381	71009	71024	GGGAAAGCTCCTTCCA	3-10-3 MOE	1037
147738	71067	71078	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147739	71071	71082	CGTTTGGGTGGC	1-10-1 MOE	1023
147740	71088	71099	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
147741	71129	71140	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
368366	71141	71154	CTGATCCTTAGAAG	2-10-2 MOE	1019
368386	71141	71156	CACTGATCCTTAGAAG	3-10-3 MOE	1123
368367	71143	71156	CACTGATCCTTAGA	2-10-2 MOE	1124
368387	71143	71158	TCCACTGATCCTTAGA	3-10-3 MOE	1125
368374	71145	71160	CTTCCACTGATCCTGC	3-10-3 MOE	1126
368354	71145	71158	TCCACTGATCCTGC	2-10-2 MOE	1024
368368	71145	71158	TCCACTGATCCTTA	2-10-2 MOE	1127
368388	71145	71160	CTTCCACTGATCCTTA	3-10-3 MOE	895
368355	71146	71159	TTCCACTGATCCTG	2-10-2 MOE	1025
368375	71146	71161	CCTTCCACTGATCCTG	3-10-3 MOE	1020
147075	71147	71158	TCCACTGATCCT	1-10-1 MOE	1026
368356	71147	71160	CTTCCACTGATCCT	2-10-2 MOE	1027
368376	71147	71162	TCCTTCCACTGATCCT	3-10-3 MOE	1028
147076	71148	71159	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	71148	71161	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
368377	71148	71163	CTCCTTCCACTGATCC	3-10-3 MOE	1030
147077	71149	71160	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
368358	71149	71162	TCCTTCCACTGATC	2-10-2 MOE	1031
368378	71149	71164	GCTCCTTCCACTGATC	3-10-3 MOE	1032
147078	71150	71161	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
368359	71151	71164	GCTCCTTCCACTGA	2-10-2 MOE	1033
147079	71151	71162	TCCTTCCACTGA	1-10-1 MOE	1001
368379	71151	71166	AAGCTCCTTCCACTGA	3-10-3 MOE	1034
147080	71152	71163	CTCCTTCCACTG	1-10-1 MOE	1021
368380	71153	71168	GAAAGCTCCTTCCACT	3-10-3 MOE	896
147081	71153	71164	GCTCCTTCCACT	1-10-1 MOE	1006
368360	71153	71166	AAGCTCCTTCCACT	2-10-2 MOE	1035
147082	71154	71165	AGCTCCTTCCAC	1-10-1 MOE	1036
368381	71155	71170	GGGAAAGCTCCTTCCA	3-10-3 MOE	1037
368361	71155	71168	GAAAGCTCCTTCCA	2-10-2 MOE	962
398097	71158	71171	GGCAGTCTTTATCC	2-10-2 MOE	897
147738	71213	71224	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147739	71217	71228	CGTTTGGGTGGC	1-10-1 MOE	1023
147740	71234	71245	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
147741	71275	71286	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398097	71304	71317	GGCAGTCTTTATCC	2-10-2 MOE	897
147727	71702	71713	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
147727	71848	71859	CAGTGGACCACA	1-10-1 MOE	1128
390030	71986	71997	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147102	72015	72026	TGCGAGTTGTTG	1-10-1 MOE	1129
390030	72132	72143	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
147102	72161	72172	TGCGAGTTGTTG	1-10-1 MOE	1129
147722	72199	72210	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147696	72232	72243	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147741	72254	72265	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055

10

20

30

40

【表 19 - 24】

147722	72345	72356	AAAGTCAGGCCA	1-10-1 MOE	1130
147696	72378	72389	TGGATGATTGGC	1-10-1 MOE	906
147741	72400	72411	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
147711	72446	72457	AAGGGCCCTGGG	1-10-1 MOE	1040
398098	72574	72587	TAACCTCAGTGTCT	2-10-2 MOE	1131
147742	72575	72586	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147698	72595	72606	CCC GCCACCACC	1-10-1 MOE	928
147743	72690	72701	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
398099	72690	72703	GAAGGGCTTCCAGT	2-10-2 MOE	1132
147744	72694	72705	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
398100	72697	72710	TGACCAGGAAGGGC	2-10-2 MOE	1133
147745	72700	72711	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398098	72720	72733	TAACCTCAGTGTCT	2-10-2 MOE	1131
147742	72721	72732	AACTTCAGTGTC	1-10-1 MOE	1041
147698	72741	72752	CCC GCCACCACC	1-10-1 MOE	928
398157	72757	72770	GGAAACATACCCTG	2-10-2 MOE	1045
147743	72836	72847	AGGGCTTCCAGT	1-10-1 MOE	1042
398099	72836	72849	GAAGGGCTTCCAGT	2-10-2 MOE	1132
147744	72840	72851	AGGAAGGGCTTC	1-10-1 MOE	1043
398100	72843	72856	TGACCAGGAAGGGC	2-10-2 MOE	1133
147745	72846	72857	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147076	72898	72909	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	72898	72911	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147077	72899	72910	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147078	72900	72911	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
398157	72903	72916	GGAAACATACCCTG	2-10-2 MOE	1045
398158	72983	72996	AGGCCCTGAGATTA	2-10-2 MOE	1134
398159	72988	73001	GGTTAAGGCCCTGA	2-10-2 MOE	1135
398160	72993	73006	GAATAGGTTAAGGC	2-10-2 MOE	1048
147076	73044	73055	TTCCACTGATCC	1-10-1 MOE	1029
368357	73044	73057	CCTTCCACTGATCC	2-10-2 MOE	1046
147077	73045	73056	CTTCCACTGATC	1-10-1 MOE	1047
147078	73046	73057	CCTTCCACTGAT	1-10-1 MOE	1044
147746	73052	73063	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398161	73092	73105	AACAATGTGTTGTA	2-10-2 MOE	1049
147746	73101	73112	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398158	73129	73142	AGGCCCTGAGATTA	2-10-2 MOE	1134
398159	73134	73147	GGTTAAGGCCCTGA	2-10-2 MOE	1135
398160	73139	73152	GAATAGGTTAAGGC	2-10-2 MOE	1048
147746	73198	73209	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398161	73238	73251	AACAATGTGTTGTA	2-10-2 MOE	1049
147746	73247	73258	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
147088	73273	73284	CCCTCTACACCA	1-10-1 MOE	1050
398105	73401	73414	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
398105	73547	73560	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147741	73559	73570	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
147741	73705	73716	CACCCACTGGTG	1-10-1 MOE	1055
398162	73968	73981	ACCAAACAGTTCAG	2-10-2 MOE	1057
147745	73991	74002	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398167	74008	74019	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
398092	74009	74022	AGTCAGGCCATGTG	2-10-2 MOE	1060
398162	74114	74127	ACCAAACAGTTCAG	2-10-2 MOE	1057
147745	74137	74148	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058

【 0 7 8 5 】

10

20

30

40

【表 19 - 25】

398167	74154	74165	CAGGCCATGTGG	1-10-1 MOE	1059
147089	74280	74291	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147090	74281	74292	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
389949	74310	74321	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147740	74339	74350	TGTGAGGCTCCA	1-10-1 MOE	1062
389950	74381	74392	CCCTGAAGGTTT	1-10-1 MOE	1063
147089	74426	74437	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147090	74427	74438	TTCCCTCTACAC	1-10-1 MOE	955
389949	74456	74467	GCGCGAGCCCGA	1-10-1 MOE	1061
147685	74490	74501	GGCTGACATTCA	1-10-1 MOE	975
398101	74510	74523	TTTGATAAAGCCCT	2-10-2 MOE	1064
398102	74536	74549	CTACCTGAGGATTT	2-10-2 MOE	899
398103	74543	74556	CCCAGTACTACCTG	2-10-2 MOE	900
147685	74636	74647	GGCTGACATTCA	1-10-1 MOE	975
398102	74682	74695	CTACCTGAGGATTT	2-10-2 MOE	899
398103	74689	74702	CCCAGTACTACCTG	2-10-2 MOE	900
147736	74737	74748	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
398104	74805	74818	CAAGAAGACCTTAC	2-10-2 MOE	1065
147736	74883	74894	AGGTAGGAGAAG	1-10-1 MOE	963
147737	74893	74904	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398105	74894	74907	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147737	74919	74930	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398095	74940	74953	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
398104	74951	74964	CAAGAAGACCTTAC	2-10-2 MOE	1065
398106	74974	74987	TGGAAACTGCACC	2-10-2 MOE	1068
398107	74980	74993	TATTCCTGGAAAAC	2-10-2 MOE	902
147745	75030	75041	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
147737	75039	75050	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398105	75040	75053	TGCACAGGCAGGTT	2-10-2 MOE	1066
147737	75065	75076	ACAGCCAGGTAG	1-10-1 MOE	1067
398108	75077	75090	GGAATGTCTGAGTT	2-10-2 MOE	1136
398095	75086	75099	CATCAGCAAGAGGC	2-10-2 MOE	1011
147691	75108	75119	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
398106	75120	75133	TGGAAACTGCACC	2-10-2 MOE	1068
398107	75126	75139	TATTCCTGGAAAAC	2-10-2 MOE	902
147738	75155	75166	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
147745	75176	75187	TTGACCAGGAAG	1-10-1 MOE	1058
398108	75223	75236	GGAATGTCTGAGTT	2-10-2 MOE	1136
398109	75247	75260	CAAGAAGTGTGGTT	2-10-2 MOE	903
147691	75254	75265	GAGGTGGGAAAA	1-10-1 MOE	966
147738	75301	75312	TGGGTGGCCGGG	1-10-1 MOE	1069
398110	75385	75398	GTTCCCTTTCAGG	2-10-2 MOE	952
147091	75387	75398	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
398109	75393	75406	CAAGAAGTGTGGTT	2-10-2 MOE	903
398111	75470	75483	GTGAAAATGCTGGC	2-10-2 MOE	904
401385	75494	75507	CCCAGTGGGTTTGA	2-10-2 MOE	890
398166	75499	75510	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147091	75525	75536	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147092	75526	75537	TGTTCCCTCTAC	1-10-1 MOE	901
398110	75531	75544	GTTCCCTTTCAGG	2-10-2 MOE	952
147091	75533	75544	GTTCCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147706	75540	75551	GCTGACATCTCG	1-10-1 MOE	1071
398112	75584	75597	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072

【 0 7 8 6 】

10

20

30

40

【表 19 - 26】

398111	75616	75629	GTGAAAATGCTGGC	2-10-2 MOE	904
147746	75617	75628	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398166	75645	75656	GGGCTTCTTCCA	1-10-1 MOE	1070
147091	75671	75682	GTTCCTCTACA	1-10-1 MOE	1004
147092	75672	75683	TGTTCCCTCTAC	1-10-1 MOE	901
398113	75693	75706	AGGAGGTTAAACCA	2-10-2 MOE	905
398112	75730	75743	CAGCCTGGCACCTA	2-10-2 MOE	1072
147746	75763	75774	TAAAAACAACAA	1-10-1 MOE	1073
398114	75770	75783	AGGCATATAGCAGA	2-10-2 MOE	1075
398115	75786	75799	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076
398116	75799	75812	TAATGACCTGATGA	2-10-2 MOE	1137
398113	75839	75852	AGGAGGTTAAACCA	2-10-2 MOE	905
390030	75839	75850	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398115	75932	75945	AGTAAATATTGGCT	2-10-2 MOE	1076
398116	75945	75958	TAATGACCTGATGA	2-10-2 MOE	1137
398106	75982	75995	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
390030	75985	75996	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398106	76127	76140	TGGAAAACCTGCACC	2-10-2 MOE	1068
147690	76196	76207	TGAAGTTAATTC	1-10-1 MOE	1138
147690	76341	76352	TGAAGTTAATTC	1-10-1 MOE	1138
147724	76740	76751	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147089	76873	76884	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147679	76881	76892	CAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147724	76885	76896	GAAATTGAGGAA	1-10-1 MOE	1139
147089	77018	77029	TCCCTCTACACC	1-10-1 MOE	956
147679	77026	77037	CAAAGGATCCC	1-10-1 MOE	907
147693	77240	77251	GTGCGCTCCCAT	1-10-1 MOE	1078
147697	77759	77770	CCCCAGCAGCGG	1-10-1 MOE	1000

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 177 ~ 190 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 177 ~ 190 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 177 ~ 190 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 886、859 または 853 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 177 ~ 190 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147022、147023 または 147024 から選択される。

## 【0787】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 195 ~ 228 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 195 ~ 228 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 195 ~ 228 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 877、868、882、886、859、853、865、835、843、846、842、848、874、849、863、855、850、864 または 834 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 195 ~ 228 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147019、147020、147021、147022、147023、147024、147025、147026、147027、147028、147073、147029、147030、147036、147037、147038、147039、147040 または 147041 から選択される。

## 【0788】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 323 ~ 353 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 323 ~ 353 を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 323 ~ 353 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 866、881、869、88

10

20

30

40

50



3、858、833、875、837、829、871、884、887、839、830、840、861または879から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド323~353に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147042、147043、147044、147045、147046、147047、147051、147052、147053、147054、147055、147056、147057、147058、147059、147060または147061から選択される。

**【0789】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド322~353である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド322~353を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド322~353に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号842、866、881、869、883、858、833、875、837、829、871、884、887、839、830、840、861または879から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド322~353に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147073、147042、147043、147044、147045、147046、147047、147051、147052、147053、147054、147055、147056、147057、147058、147059、147060または147061から選択される。

**【0790】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド679~799である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド679~799を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド679~799に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号883、858、883または858から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド679~799に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147045、147046、147045または147046から選択される。

**【0791】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド679~827である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド679~827を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド679~827に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号883、858、883、858または851から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド679~827に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147045、147046、147045、147046または147066から選択される。

**【0792】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド1024~1046である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド1024~1046を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1024~1046に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号841、862、880、857、851、876、838、860、878、856、832または842から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド1024~1046に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147062、147063、147064、147065、147066、147067、147068、147069、147070、147071、147072または147073から選択される。

**【0793】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド992~1046であ

10

20

30

40

50

る。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド992~1046を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド992~1046に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号831、841、862、880、857、851、876、838、860、878、856、832または842から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド992~1046に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号404131、147062、147063、147064、147065、147066、147067、147068、147069、147070、147071、147072または147073から選択される。

**【0794】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド1868~1881である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド1868~1881を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1868~1881に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号886、859または853から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド1868~1881に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147022、147023または147024から選択される。

**【0795】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド1886~1919である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド1886~1919を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1886~1919に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号877、868、882、886、859、865、843、846、874、863、855、864または834から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド1886~1919に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147019、147020、147021、147022、147023、147025、147027、147028、147030、147037、147038、147040または147041から選択される。

**【0796】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド1869~1919である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド1869~1919を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1869~1919に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号859、853、877、868、882、886、859、865、843、846、874、863、855、864または834から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド1869~1919に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147023、147024、147019、147020、147021、147022、147023、147025、147027、147028、147030、147037、147038、147040または147041から選択される。

**【0797】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド1976~1989である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド1976~1989を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1976~1989に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号886、859または853から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド1976~1989に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147022、147023または147024から選択される。

**【0798】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド1995~2027で

10

20

30

40

50

ある。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド1995~2027を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド1995~2027に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号868、882、886、859、853、865、835、843、846、848、874、849、863、855、850、864または834から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号11のヌクレオチド1995~2027に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147020、147021、147022、147023、147024、147025、147026、147027、147028、147029、147030、147036、147037、147038、147039、147040または147041から選択される。

10

**【0799】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド2366~2382である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド2366~2382を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド2366~2382に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号867または873から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号11のヌクレオチド2366~2382に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号404199または404134から選択される。

**【0800】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド6220~6233である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド6220~6233を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド6220~6233に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号870、836または844から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号11のヌクレオチド6220~6233に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147032、147033または147034から選択される。

20

**【0801】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド6288~6300である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド6288~6300を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド6288~6300に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号869または883から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号11のヌクレオチド6288~6300に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147044または147045から選択される。

30

**【0802】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド6329~6342である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド6329~6342を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド6329~6342に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号870、836または844から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号11のヌクレオチド6329~6342に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147032、147033または147034から選択される。

40

**【0803】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド6397~6409である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド6397~6409を標的とする。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド6397~6409に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号869または883から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号11のヌクレオチド6397~6409に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147044または147045から選択される。

50

## 【0804】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド7057～7178である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド7057～7178を標的とする。特定のこのような実施形態では、7057～7178に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号830、840、861、830または840から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド7057～7178に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147058、147059、147060、147058または147059から選択される。

## 【0805】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド8630～8750である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド8630～8750を標的とする。特定のこのような実施形態では、8630～8750に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号843、846、843または846から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド8630～8750に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147027、147028、147027または147028から選択される。

## 【0806】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド10957～11077である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド10957～11077を標的とする。特定のこのような実施形態では、10957～11077に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号881、869、881または869から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド10957～11077に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147043、147044、147043または147044から選択される。

## 【0807】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド11605～11623である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド11605～11623を標的とする。特定のこのような実施形態では、11605～11623に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号856、878または856から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド11605～11623に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147071、147070または147071から選択される。

## 【0808】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド12805～12817である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド12805～12817を標的とする。特定のこのような実施形態では、12805～12817に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号874または885から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド12805～12817に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147030または147031から選択される。

## 【0809】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド12986～12998である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド12986～12998を標的とする。特定のこのような実施形態では、12986～12998に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号874または885から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号1

10

20

30

40

50

1のヌクレオチド12986～12998に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147030または147031から選択される。

【0810】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド15560～15572である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド15560～15572を標的とする。特定のこのような実施形態では、15560～15572に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号876または838から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド15560～15572に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147067または147068から選択される。

10

【0811】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド17787～17941である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド17787～17941を標的とする。特定のこのような実施形態では、17787～17941に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号874または880から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド17787～17941に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147030または147064から選択される。

【0812】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド21190～21202である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド21190～21202を標的とする。特定のこのような実施形態では、21190～21202に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号843または846から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド21190～21202に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147027または147028から選択される。

20

【0813】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド21358～21370である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド21358～21370を標的とする。特定のこのような実施形態では、21358～21370に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号843または846から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド21358～21370に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号017027または147028から選択される。

30

【0814】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド24318～24332である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド24318～24332を標的とする。特定のこのような実施形態では、24318～24332に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号881、869、883または858から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド24318～24332に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147043、147044、147045または147046から選択される。

40

【0815】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド24486～24501である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド24486～24501を標的とする。特定のこのような実施形態では、24486～24501に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号881、869、858または833から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド24486～24501に対して標的化された短鎖ア

50

ンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 4 3、1 4 7 0 4 4、1 4 7 0 4 6 または 1 4 7 0 4 7 から選択される。

【 0 8 1 6 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 0 6 5 ~ 2 5 0 7 7 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 0 6 5 ~ 2 5 0 7 7 を標的とする。特定のこのような実施形態では、2 5 0 6 5 ~ 2 5 0 7 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 6 4 または 8 3 4 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 0 6 5 ~ 2 5 0 7 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 4 0 または 1 4 7 0 4 1 から選択される。

10

【 0 8 1 7 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 2 3 2 ~ 2 5 2 4 5 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 2 3 2 ~ 2 5 2 4 5 を標的とする。特定のこのような実施形態では、2 5 2 3 2 ~ 2 5 2 4 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 5 0、8 6 4 または 8 3 4 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 2 3 2 ~ 2 5 2 4 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 3 9、1 4 7 0 4 0 または 1 4 7 0 4 1 から選択される。

【 0 8 1 8 】

20

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 5 0 8 ~ 2 5 5 2 3 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 5 0 8 ~ 2 5 5 2 3 を標的とする。特定のこのような実施形態では、2 5 5 0 8 ~ 2 5 5 2 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 3 9 または 8 7 9 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 5 0 8 ~ 2 5 5 2 3 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 5 7 または 1 4 7 0 6 1 から選択される。

【 0 8 1 9 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 6 7 6 ~ 2 8 8 9 0 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 6 7 6 ~ 2 8 8 9 0 を標的とする。特定のこのような実施形態では、2 5 6 7 6 ~ 2 8 8 9 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 3 9、8 6 0 または 8 7 8 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 2 5 6 7 6 ~ 2 8 8 9 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 5 7、1 4 7 0 6 9 または 1 4 7 0 7 0 から選択される。

30

【 0 8 2 0 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 3 3 0 5 6 ~ 3 3 0 6 9 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 3 3 0 5 6 ~ 3 3 0 6 9 を標的とする。特定のこのような実施形態では、3 3 0 5 6 ~ 3 3 0 6 9 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 6 0、8 7 8 または 8 5 6 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 3 3 0 5 6 ~ 3 3 0 6 9 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 6 9、1 4 7 0 7 0 または 1 4 7 0 7 1 から選択される。

40

【 0 8 2 1 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 3 3 2 0 5 ~ 3 3 2 1 7 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 3 3 2 0 5 ~ 3 3 2 1 7 を標的とする。特定のこのような実施形態では、3 3 2 0 5 ~ 3 3 2 1 7 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 7 8 または 8 5

50

6 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 33205 ~ 33217 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 14707 または 147071 から選択される。

【0822】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 33318 ~ 33334 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 33318 ~ 33334 を標的とする。特定のこのような実施形態では、33318 ~ 33334 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 858、854 または 875 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 33318 ~ 33334 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147046、147049 または 147051 から選択される。

10

【0823】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 33466 ~ 33482 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 33466 ~ 33482 を標的とする。特定のこのような実施形態では、33466 ~ 33482 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 858、833 または 875 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 33466 ~ 33482 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147046、147047 または 147051 から選択される。

20

【0824】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 33640 ~ 33656 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 33640 ~ 33656 を標的とする。特定のこのような実施形態では、33640 ~ 33656 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 858 または 875 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 33640 ~ 33656 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147046 または 147051 から選択される。

【0825】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 33788 ~ 33804 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 33788 ~ 33804 を標的とする。特定のこのような実施形態では、33788 ~ 33804 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 858 または 875 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 33788 ~ 33804 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147046 または 147051 から選択される。

30

【0826】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 35437 ~ 35449 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 35437 ~ 35449 を標的とする。特定のこのような実施形態では、35437 ~ 35449 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 840 または 861 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 35437 ~ 35449 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147059 または 147060 から選択される。

40

【0827】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 40353 ~ 40373 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 40353 ~ 40373 を標的とする。特定のこのような実施形態では、40353 ~ 40373 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 879 または 88

50

1 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 40353 ~ 40373 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147061 または 147043 から選択される。

【0828】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 42527 ~ 42541 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 42527 ~ 42541 を標的とする。特定のこのような実施形態では、42527 ~ 42541 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 885、870 または 844 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 42527 ~ 42541 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147031、147032 または 147034 から選択される。

10

【0829】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 42675 ~ 42689 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 42675 ~ 42689 を標的とする。特定のこのような実施形態では、42675 ~ 42689 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 885、870、836 または 844 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、ヌクレオチド 42675 ~ 42689 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147031、147032、147033 または 147034 から

20

【0830】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 46313 ~ 46328 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 46313 ~ 46328 を標的とする。特定のこのような実施形態では、46313 ~ 46328 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 839、830、840 または 879 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 46313 ~ 46328 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147057、147058、147059 または 147061 から

30

【0831】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 46461 ~ 46476 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 46461 ~ 46476 を標的とする。特定のこのような実施形態では、46461 ~ 46476 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 839、840 または 879 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 46461 ~ 46476 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147057、147059 または 147061 から

【0832】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 48369 ~ 48381 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 48369 ~ 48381 を標的とする。特定のこのような実施形態では、48369 ~ 48381 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 842 または 845 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 48369 ~ 48381 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147073 または 147074 から

40

【0833】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 48714 ~ 48726 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチ

50



ド48714～48726を標的とする。特定のこのような実施形態では、48714～48726に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号843または846から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド48714～48726に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147027または147028から選択される。

**【0834】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド49050～49062である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド49050～49062を標的とする。特定のこのような実施形態では、49050～49062に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号876または838から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド49050～49062に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147067または147068から選択される。

10

**【0835】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド49672～49684である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド49672～49684を標的とする。特定のこのような実施形態では、49672～49684に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号842または845から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド49672～49684に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147073または147074から選択される。

20

**【0836】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド52292～52304である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド52292～52304を標的とする。特定のこのような実施形態では、52292～52304に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号849または863から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド52292～52304に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147036または147037から選択される。

**【0837】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド52438～52450である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド52438～52450を標的とする。特定のこのような実施形態では、52438～52450に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号849または863から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド52438～52450に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147036または147037から選択される。

30

**【0838】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド53445～53458である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド53445～53458を標的とする。特定のこのような実施形態では、53445～53458に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号866、881または869から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド53445～53458に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147042、147043または147044から選択される。

40

**【0839】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド53591～53604である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド53591～53604を標的とする。特定のこのような実施形態では、53591～

50

53604に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号866、874、881、885または869から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド53591~53604に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号147042、147030、147043、147031または147044から選択される。

【0840】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド53738~53750である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド53738~53750を標的とする。特定のこのような実施形態では、53738~53750に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号874または885から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド53738~53750に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号147030または147031から選択される。

10

【0841】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド53783~53795である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド53783~53795を標的とする。特定のこのような実施形態では、53783~53795に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号864または834から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド53783~53795に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号147040または147041から選択される。

20

【0842】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド55008~55020である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド55008~55020を標的とする。特定のこのような実施形態では、55008~55020に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号866または881から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド55008~55020に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号147042または147043から選択される。

【0843】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド55154~55166である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド55154~55166を標的とする。特定のこのような実施形態では、55154~55166に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号866または881から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド55154~55166に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号147042または147043から選択される。

30

【0844】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド55682~55695である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド55682~55695を標的とする。特定のこのような実施形態では、55682~55695に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号877または882から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド55682~55695に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s番号147019または147021から選択される。

40

【0845】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド56275~56293である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド56275~56293を標的とする。特定のこのような実施形態では、56275~56293に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号871、884、

50

887、830、840、861または879から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド56275～56293に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147054、147055、147056、147058、147059、147060または147061から選択される。

**【0846】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド56418～56439である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド56418～56439を標的とする。特定のこのような実施形態では、56418～56439に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号875、829、871、884、887、839、830または879から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド56418～56439に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147051、147053、147054、147055、147056、147057、147058または147061から選択される。

10

**【0847】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド57264～57276である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド57264～57276を標的とする。特定のこのような実施形態では、57264～57276に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号883または858から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド57264～57276に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147045または147046から選択される。

20

**【0848】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド61276～61293である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド61276～61293を標的とする。特定のこのような実施形態では、61276～61293に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号856、847、849、863、855、850または864から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド61276～61293に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147071、147035、147036、147037、147038、147039または147040から選択される。

30

**【0849】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド61257～61320である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド61257～61320を標的とする。特定のこのような実施形態では、61257～61320に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号881、856、847、849、863、855、850、864または886から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド61257～61320に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147043、147071、147035、147036、147037、147038、147039、147040または147071から選択される。

40

**【0850】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド61422～61439である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド61422～61439を標的とする。特定のこのような実施形態では、61422～61439に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号844、847、849、863、855または864から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド61422～61439に対して標

50

的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 3 4、1 4 7 0 3 5、1 4 7 0 3 6、1 4 7 0 3 7、1 4 7 0 3 8 または 1 4 7 0 4 0 から選択される。

【 0 8 5 1 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 1 4 2 2 ~ 6 1 4 6 6 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 1 4 2 2 ~ 6 1 4 6 6 を標的とする。特定のこのような実施形態では、6 1 4 2 2 ~ 6 1 4 6 6 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 4 4、8 4 7、8 4 9、8 6 3、8 5 5、8 6 4 または 8 5 6 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定 of このような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 1 4 2 2 ~ 6 1 4 6 6 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 3 4、1 4 7 0 3 5、1 4 7 0 3 6、1 4 7 0 3 7、1 4 7 0 3 8、1 4 7 0 4 0 または 1 4 7 0 7 1 から選択される。

10

【 0 8 5 2 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 3 0 6 5 ~ 6 3 0 7 8 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 3 0 6 5 ~ 6 3 0 7 8 を標的とする。特定のこのような実施形態では、6 3 0 6 5 ~ 6 3 0 7 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 5 1 または 8 3 8 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定 of このような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 3 0 6 5 ~ 6 3 0 7 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 6 6 または 1 4 7 0 6 8 から選択される。

20

【 0 8 5 3 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 3 2 0 7 ~ 6 3 2 2 2 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 3 2 0 7 ~ 6 3 2 2 2 を標的とする。特定のこのような実施形態では、6 3 2 0 7 ~ 6 3 2 2 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 4 1 または 8 5 1 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定 of このような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 3 2 0 7 ~ 6 3 2 2 2 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 6 2 または 1 4 7 0 6 6 から選択される。

【 0 8 5 4 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 4 5 3 8 ~ 6 4 5 5 0 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 4 5 3 8 ~ 6 4 5 5 0 を標的とする。特定のこのような実施形態では、6 4 5 3 8 ~ 6 4 5 5 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 4 9 または 8 6 3 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定 of このような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 4 5 3 8 ~ 6 4 5 5 0 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 3 6 または 1 4 7 0 3 7 から選択される。

30

【 0 8 5 5 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 4 8 6 4 ~ 6 4 8 7 6 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 4 8 6 4 ~ 6 4 8 7 6 を標的とする。特定のこのような実施形態では、6 4 8 6 4 ~ 6 4 8 7 6 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 5 1 または 8 7 6 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定 of このような実施形態では、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 4 8 6 4 ~ 6 4 8 7 6 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 1 4 7 0 6 6 または 1 4 7 0 6 7 から選択される。

40

【 0 8 5 6 】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 5 0 1 0 ~ 6 5 0 2 8 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 1 のヌクレオチド 6 5 0 1 0 ~ 6 5 0 2 8 を標的とする。特定のこのような実施形態では、6 5 0 1 0 ~ 6 5 0 2 8 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 8 5 1、8 7 6 または 8 8 3 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定 of このような実施形態では、配

50

列番号 11 のヌクレオチド 65010 ~ 65028 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147066、147067 または 147045 から選択される。

【0857】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 65163 ~ 65175 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 65163 ~ 65175 を標的とする。特定のこのような実施形態では、65163 ~ 65175 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 883 または 858 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 65163 ~ 65175 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147045 または 147046 から選択される。

10

【0858】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 65408 ~ 65422 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 65408 ~ 65422 を標的とする。特定のこのような実施形態では、65408 ~ 65422 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 883 または 856 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 65408 ~ 65422 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147068 または 147071 から選択される。

【0859】

20

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 65549 ~ 65568 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 65549 ~ 65568 を標的とする。特定のこのような実施形態では、65549 ~ 65568 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 860、838 または 856 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 65549 ~ 65568 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147069、147068 または 147071 から選択される。

【0860】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 67741 ~ 67754 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 67741 ~ 67754 を標的とする。特定のこのような実施形態では、67741 ~ 67754 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 848、874 または 885 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 67741 ~ 67754 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147029、147030 または 147031 から選択される。

30

【0861】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 67886 ~ 67900 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 67886 ~ 67900 を標的とする。特定のこのような実施形態では、67886 ~ 67900 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 846、848、874 または 885 から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号 11 のヌクレオチド 67886 ~ 67900 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号 147028、147029、147030 または 147031 から選択される。

40

【0862】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号 11 のヌクレオチド 68867 ~ 68880 である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 11 のヌクレオチド 68867 ~ 68880 を標的とする。特定のこのような実施形態では、68867 ~

50

68880に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号881、869または883から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド68867~68880に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147043、147044または147045から選択される。

**【0863】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド69013~69532である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド69013~69532を標的とする。特定のこのような実施形態では、69013~69532に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号881、869、883、858、856、832または842から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド69013~69532に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147043、147044、147045、147046、147071、147072または147073から選択される。

10

**【0864】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド69665~69880である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド69665~69880を標的とする。特定のこのような実施形態では、69665~69880に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号856、832、842、845または851から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド69665~69880に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147071、147072、147073、147074または147066から選択される。

20

**【0865】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド70611~70630である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド70611~70630を標的とする。特定のこのような実施形態では、70611~70630に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号859、841、862、880、857または851から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド70611~70630に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147023、147062、147063、147064、147065または147066から選択される。

30

**【0866】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド70762~70776である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド70762~70776を標的とする。特定のこのような実施形態では、70762~70776に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号862、880、857または851から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド70762~70776に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147063、147064、147065または147066から選択される。

40

**【0867】**

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド70998~71010である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド70998~71010を標的とする。特定のこのような実施形態では、70998~71010に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号832または842から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド70998~71010に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147072または147073から選択される。

50

## 【0868】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド71144~714364である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド71144~714364を標的とする。特定のこのような実施形態では、71144~714364に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号832、842、845、863、855または850から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド71144~714364に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147072、147073、147074、147037、147038または147039から選択される。

## 【0869】

特定の実施形態では、標的領域は、配列番号11のヌクレオチド71497~71652である。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、配列番号11のヌクレオチド71497~71652を標的とする。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド71497~71652に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号863、855、850または879から選択されるヌクレオチド配列を含む。特定のこのような実施形態では、配列番号11のヌクレオチド71497~71652に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、I s i s 番号147037、147038、147039または147061から選択される。

## 【0870】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8~16ヌクレオチド、好ましくは9~15ヌクレオチド、より好ましくは9~14ヌクレオチド、より好ましくは10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10~14ヌクレオチドである。特定の実施形態では、このような短鎖アンチセンス化合物は、短鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

## 【0871】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、短鎖ギャップマーである。特定のこのような実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖ギャップマーは、化合物の1以上のウィング内に少なくとも1つの高親和性修飾を含む。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、各ウィングに、1~3の高親和性修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのヌクレオチドまたはヌクレオチドは、2'修飾を含む。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーはBNAである。特定のこのような実施形態では、ウィングのモノマーは、  
 - L - メチレンオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA、  
 - D - メチレンオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA、エチレンオキシ(4' - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - 2') BNA、アミノオキシ(4' - CH<sub>2</sub> - O - N(R) - 2') BNAおよびオキシアミノ(4' - CH<sub>2</sub> - N(R) - O - 2') BNAから選択される。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは、2'位に、アリル、アミノ、アジド、チオ、O - アリル、O - C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>アルキル、- OCF<sub>3</sub>、O - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - CH<sub>3</sub>、  
 2' - O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)およびO - CH<sub>2</sub> - C(=O) - N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択される置換基を含み、ここで、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>の各々は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換のC<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>アルキルである。特定の実施形態では、ウィングのモノマーは2' MOEヌクレオチドである。

## 【0872】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、5'ウィングと3'ウィングとの間にギャップを含む。特定の実施形態では、このギャップは、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14のモノマーを含む。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のデオキシリボヌクレオチドである。特定の実施形態では、ギャップのモノマーは、非修飾のリボヌクレオチドである。特定の

10

20

30

40

50

実施形態では、ギャップ内のギャップ修飾（存在する場合）は、その標的核酸に結合したときに、RNase（RNase Hが挙げられるがこれに限定されない）による切断を支持するアンチセンス化合物をもたらす。

【0873】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、一様なモノマー性結合を有する。特定のこのような実施形態では、これらの結合は全て、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、これらの結合は全て、ホスホジエステル結合である。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、混合型バックボーンを有する。

【0874】

特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ8モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ9モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ10モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ11モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、いくつかのモノマーの長さである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ13モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ14モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ15モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、長さ16モノマーである。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、9～15モノマーを含む。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、10～15モノマーを含む。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12～14モノマーを含む。特定の実施形態では、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、12～14のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む。

【0875】

特定の実施形態では、本発明は、PTP1Bの発現を調節する方法を提供する。特定の実施形態では、このような方法は、PTP1B核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物の使用を包含し、ここで、PTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、約8～約16モノマー、好ましくは9～15モノマー、より好ましくは9～14モノマー、より好ましくは10～14モノマー（すなわち、約8～約16の連結されたモノマー）である。当業者は、このことが、8、9、10、11、12、13、14、15または16のモノマーのPTP1B核酸に対して標的化された1以上の短鎖アンチセンス化合物を用いてPTP1Bの発現を調節する方法を包含することを理解する。

【0876】

特定の実施形態では、PTP1Bを調節する方法は、長さ8モノマーを含むPTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、PTP1Bを調節する方法は、長さ9モノマーを含むPTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、PTP1Bを調節する方法は、長さ10モノマーを含むPTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、PTP1Bを調節する方法は、長さ11モノマーを含むPTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、PTP1Bを調節する方法は、長さ12モノマーを含むPTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、PTP1Bを調節する方法は、長さ13モノマーを含むPTP1B核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では

10

20

30

40

50



、 P T P 1 B を調節する方法は、長さ 1 4 モノマーを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P T P 1 B を調節する方法は、長さ 1 5 モノマーを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P T P 1 B を調節する方法は、長さ 1 6 モノマーを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

【 0 8 7 7 】

特定の実施形態では、P T P 1 B の発現を調節する方法は、9 ~ 1 5 モノマーを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P T P 1 B の発現を調節する方法は、1 0 ~ 1 5 モノマーを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P T P 1 B の発現を調節する方法は、1 2 ~ 1 4 モノマーを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。特定の実施形態では、P T P 1 B の発現を調節する方法は、1 2 または 1 4 のヌクレオチドまたはヌクレオシドを含む P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の使用を包含する。

【 0 8 7 8 】

1 0 . P T E N

特定の実施形態では、本発明は、P T E N をコードする核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を提供する。特定の実施形態では、このような化合物は、細胞における P T E N の発現を調節するために使用される。特定のこのような実施形態では、P T E N 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、動物に投与される。特定の実施形態では、P T E N 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、P T E N の研究のため、特定のヌクレアーゼの研究のため、そして / または、アンチセンス活性の評価のために有用である。特定のこのような実施形態では、P T E N 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、特定のモチーフおよび / または化学的修飾を評価するために有用である。特定の実施形態では、P T E N 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物の動物への投与は、測定可能な表現型の変化をもたらす。

【 0 8 7 9 】

P T E N を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、本明細書中に一般的に記載される短鎖アンチセンス化合物の任意の 1 以上の特性または特徴を有し得る。特定の実施形態では、P T P 1 B 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物は、1 - 1 2 - 1、1 - 1 - 1 0 - 2、2 - 1 0 - 1 - 1、3 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 3、2 - 1 0 - 2、1 - 1 0 - 1、1 - 1 0 - 2、3 - 8 - 3、2 - 8 - 2、1 - 8 - 1、3 - 6 - 3 または 1 - 6 - 1、より好ましくは 1 - 1 0 - 1、2 - 1 0 - 2、3 - 1 0 - 3 および 1 - 9 - 2 から選択されるモチーフ (ウィング - デオキシギャップ - ウィング) を有する。

【 0 8 8 0 】

P T E N 核酸に対して標的化された特定の短鎖アンチセンス化合物

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、G E N B A N K (登録商標) アクセション番号 N M \_ 0 0 0 3 1 4 . 4 (本明細書中に配列番号 1 4 として引用される) の配列を有する P T E N 核酸に対して標的化される。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、G E N B A N K (登録商標) アクセション番号 N T \_ 0 3 3 8 9 0 . 3 (本明細書中に配列番号 1 5 として引用される) の配列のヌクレオチド 8 0 6 3 2 5 5 ~ 8 1 6 7 1 4 0 の配列を有する P T E N 核酸に対して標的化される。特定のこのような実施形態では、配列番号 1 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 4 に対して少なくとも 9 0 % 相補的である。特定の実施形態では、配列番号 1 4 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 4 に対して少なくとも 9 5 % 相補的である。特定の実施形態では、配列番号 1 5 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 1 5 に対して 1 0 0 % 相補的である。特定の実施形態では、配列番号 1 5 に対して少なくとも 9 0 % 相補的である。特定の実施形態では、配列番

10

20

30

40

50

号 15 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 15 に対して少なくとも 95% 相補的である。特定のこのような実施形態では、配列番号 15 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、配列番号 15 に対して 100% 相補的である。

【0881】

特定の実施形態では、配列番号 14 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 20 および 21 に示されるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態では、配列番号 15 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物は、表 22 および 23 に示されるヌクレオチド配列を含む。

【0882】

表 20、21、22 および 23 に示される各ヌクレオチド配列は、糖部分、ヌクレオチド間結合または核酸塩基に対する任意の修飾とは無関係である。したがって、表 20、21、22 および 23 に示されるヌクレオチド配列を含む短鎖アンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオチド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾を含み得る。I s i s 番号 (I s i s N O . ) により説明されるアンチセンス化合物は、核酸塩基配列と糖部分、ヌクレオチド間結合または核酸塩基に対する 1 以上の修飾との組み合わせを示す。

【0883】

表 20 は、配列番号 14 に対して 100% 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。表 22 は、配列番号 15 に対して 100% 相補的な短鎖アンチセンス化合物を示す。「ギャップマーのモチーフ」と題された欄は、各短鎖アンチセンス化合物のウィング-ギャップ-ウィングモチーフを示す。ギャップセグメントは、2'-デオキシヌクレオチドを含み、各ウィングセグメントの各ヌクレオチドは、2'-修飾糖を含む。特定の 2'-修飾糖もまた、ギャップマーのモチーフの欄に示される。例えば、「2-10-2 MOE」は、2-10-2 のギャップマーモチーフであって、10 個の 2'-デオキシヌクレオチドのギャップセグメントの両側に、2つのヌクレオチドのウィングセグメントが配置され、ここで、このウィングセグメントのヌクレオチドは、2'-MOEヌクレオチドであることを意味する。ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。「非修飾シトシン」がギャップマーのモチーフの欄に列挙されない限り、短鎖アンチセンス化合物は、非修飾シトシンの代わりに 5-メチルシチジンを含み、ギャップマーのモチーフの欄に「非修飾シトシン」が列挙される場合、示されるシトシンは非修飾シトシンである。例えば、「ギャップ内にのみ 5-mC」は、ギャップセグメントが 5-メチルシトシンを有する一方で、ウィングセグメントは非修飾シトシンを有することを示す。

【0884】

2'-修飾ヌクレオチドおよびその省略形としては、以下が挙げられる：2'-O-メトキシエチル (MOE)；2'-O-メチル (OMe)；2'-O-(2,2,3,3,3-ペンタフルオロプロピル) (PentaF)；2'-O-[(2-メトキシ)エチル]-4'-チオ(2'-MOE-4'-チオ)；(R)-CMOE-BNA。表 20 および 22 に示すように、ウィングは、2'置換のタイプより多くを含むモノマーを含み得る。例えば、1-2-10-2 MOE/PentaF/MOE は、1つの MOE-修飾ヌクレオチド、それに続く 2つの PentaF-修飾ヌクレオチド、それに続く 10 デオキシヌクレオチドのギャップ、それに続く 2つの PentaF-修飾ヌクレオチドを示す。例えば、1-1-10-2 2'-(ブチルアセトアミド (butylacetomido))-パルミタミドメチレンオキシBNA/メチレンオキシBNA は、最も 5'側のヌクレオチドが 2'-(ブチルアセトアミド)-パルミタミドであり、2番目のヌクレオチドがメチレンオキシBNAヌクレオチドであり、そして、3'ウィングがメチレンオキシBNAであることを示す。他に示されない限り、シトシンは 5-メチルシトシンであり、そして、ヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。

【0885】

10

20

30

40

【表 20 - 1】

表 20: 配列番号 14 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS No	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列 番号
390092	5530	5541	AGAATGAGACTT	1-10-1 MOE	1514
390091	5435	5446	TGAGGCATTATC	1-10-1 MOE	1522
390090	5346	5357	AGAGTATCTGAA	1-10-1 MOE	1227
390088	5162	5173	CACATTAACAGT	1-10-1 MOE	1511
390087	5126	5137	GTGGCAACCACA	1-10-1 MOE	1501
390085	5031	5042	ATTTGATGCTGC	1-10-1 MOE	1505
390084	4982	4993	CAAAGAATGGTG	1-10-1 MOE	1215
390082	4910	4921	AGGACTTGGGAT	1-10-1 MOE	1503
390080	4833	4844	TGCTGCACATCC	1-10-1 MOE	1150
392067	4832	4845	CTGCTGCACATCCA	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内のトシンは非修飾	1510
390078	4714	4725	CTTTCAGTCATA	1-10-1 MOE	1520
390077	4693	4704	GTCAAATTCTAT	1-10-1 MOE	1252
390076	4599	4610	TTCCAATGACTA	1-10-1 MOE	1506
390075	4576	4587	GTAAGCAAGGCT	1-10-1 MOE	#N/A
390074	4533	4544	ACCCTCATTGAG	1-10-1 MOE	1513
390068	4191	4202	GTAAATCCTAAG	1-10-1 MOE	1515
390064	4001	4012	ACCACAGCTAGT	1-10-1 MOE	1498
390063	3977	3988	CACCAATAAGTT	1-10-1 MOE	1219
390058	3828	3839	AGTAGTTGTACT	1-10-1 MOE	1192
390056	3793	3804	GGGCATATCAAA	1-10-1 MOE	1521
390054	3705	3716	AACACTGCACAT	1-10-1 MOE	1493
390052	3623	3634	GACAATTTCTAC	1-10-1 MOE	1492
390050	3503	3514	GTATTCAAGTAA	1-10-1 MOE	1140
390049	3479	3490	GTTAATGACATT	1-10-1 MOE	1491
390047	3428	3439	TGTGTAAGGTCA	1-10-1 MOE	1490
390041	3175	3186	TTAGCACTGGCC	1-10-1 MOE	1489
398076	3171	3182	CACTGGCCTTGA	1-10-1 MOE	1488
398009	3170	3183	GCACTGGCCTTGAT	2-10-2 MOE	1487
398075	3111	3122	AAATCATTGTCA	1-10-1 MOE	1233
398008	3110	3123	TAAATCATTGTCAA	2-10-2 MOE	1486
398074	2913	2924	GCACCAATATGC	1-10-1 MOE	1248
398007	2912	2925	AGCACCAATATGCT	2-10-2 MOE	1247
398073	2681	2692	TTAGCCAACCTGC	1-10-1 MOE	1485
398006	2680	2693	CTTAGCCAACCTGCA	2-10-2 MOE	1484
390033	2679	2690	AGCCAACCTGCAA	1-10-1 MOE	1483
398072	2671	2682	GCAAACCTTATCT	1-10-1 MOE	1482
398005	2670	2683	TGCAAACCTTATCTG	2-10-2 MOE	1481
390030	2534	2545	TTTATAAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398071	2533	2544	TTATAAAACTGG	1-10-1 MOE	1480
398004	2532	2545	TTTATAAAACTGGA	2-10-2 MOE	1479
390029	2510	2521	AAAGTGCCATCT	1-10-1 MOE	1478
390028	2491	2502	TCCTAATTGAAT	1-10-1 MOE	1477
398070	2481	2492	ATTTTAAATGTC	1-10-1 MOE	1476
398003	2480	2493	AATTTTAAATGTCC	2-10-2 MOE	1475
390027	2455	2466	AGGTATATACAT	1-10-1 MOE	1206
398069	2451	2462	ATATACATGACA	1-10-1 MOE	1474
398002	2450	2463	TATATACATGACAC	2-10-2 MOE	1473
398068	2440	2451	ACAGCTACACAA	1-10-1 MOE	1472

【 0 8 8 6 】

【表 20 - 2】

398001	2439	2452	CACAGCTACACAAC	2-10-2 MOE	1471
390026	2438	2449	AGCTACACAACC	1-10-1 MOE	1470
390025	2406	2417	GTGTCAAACCC	1-10-1 MOE	1211
398067	2405	2416	TGTCAAACCCCT	1-10-1 MOE	1210
398000	2404	2417	GTGTCAAACCCCTG	2-10-2 MOE	1469
398066	2372	2383	AGATTGGTCAGG	1-10-1 MOE	1468
397999	2371	2384	AAGATTGGTCAGGA	2-10-2 MOE	1467
398065	2349	2360	GTTCCCTATAACT	1-10-1 MOE	1466
397998	2348	2361	TGTTCCCTATAACTG	2-10-2 MOE	1465
398064	2331	2342	CTGACACAATGT	1-10-1 MOE	1464
397997	2330	2343	TCTGACACAATGTC	2-10-2 MOE	1463
398063	2321	2332	GTCCTATTGCCA	1-10-1 MOE	1205
397996	2320	2333	TGTCCTATTGCCAT	2-10-2 MOE	1462
390022	2286	2297	CAGTTTATTCAA	1-10-1 MOE	1142
336221	2230	2243	TCAGACTTTTGTAA	3-8-3 MOE	1461
336220	2224	2237	TTTTGTAATTTGTG	3-8-3 MOE	1460
336219	2209	2222	ATGCTGATCTTCAT	3-8-3 MOE	1459
390021	2203	2214	CTTCATCAAAG	1-10-1 MOE	1458
336218	2201	2214	CTTCATCAAAGGT	3-8-3 MOE	1457
389779	2201	2212	TCATCAAAGGT	1-9-2 MOE	1176
389979	2201	2212	TCATCAAAGGT	1-10-1 MOE	1176
397995	2200	2213	TTCATCAAAGGTT	2-10-2 MOE	1456
336217	2192	2205	AAGGTTCACTCTCT	3-8-3 MOE	1455
390020	2183	2194	TCTGGATCAGAG	1-10-1 MOE	1149
336216	2182	2195	CTCTGGATCAGAGT	3-8-3 MOE	1454
336215	2169	2182	TCAGTGGTGCAGAG	3-8-3 MOE	1453
398062	2166	2177	GGTGTGAGAATA	1-10-1 MOE	1255
397994	2165	2178	TGGTGTGAGAATAT	2-10-2 MOE	1452
390019	2163	2174	GTCAGAATATCT	1-10-1 MOE	1173
336214	2157	2170	GAATATCTATAATG	3-8-3 MOE	1573
398061	2151	2162	ATAATGATCAGG	1-10-1 MOE	1451
397993	2150	2163	TATAATGATCAGGT	2-10-2 MOE	1450
336213	2146	2159	ATGATCAGGTTTCAT	3-8-3 MOE	1449
389778	2144	2155	TCAGGTTCAATTG	1-9-2 MOE	1448
389978	2144	2155	TCAGGTTCAATTG	1-10-1 MOE	1448
398060	2137	2148	CATTGTCACTAA	1-10-1 MOE	1447
336212	2136	2149	TCATTGTCACTAAC	3-8-3 MOE	1446
397992	2136	2149	TCATTGTCACTAAC	2-10-2 MOE	1446
336211	2112	2125	ACAGAAGTTGAACT	3-8-3 MOE	1445
390017	2111	2122	GAAGTTGAACTG	1-10-1 MOE	1444
398059	2108	2119	GTTGAACTGCTA	1-10-1 MOE	1443
397991	2107	2120	AGTTGAACTGCTAG	2-10-2 MOE	1442
336210	2104	2117	TGAACTGCTAGCCT	3-8-3 MOE	1441
335340	2104	2118	TTGAACTGCTAGCCT	1-10-4 MOE	1440
335339	2103	2117	TGAACTGCTAGCCTC	1-10-4 MOE	1439
335338	2102	2116	GAAGTCTAGCCTCT	1-10-4 MOE	1438
335337	2101	2115	AACTGCTAGCCTCTG	1-10-4 MOE	1437
335336	2100	2114	ACTGCTAGCCTCTGG	1-10-4 MOE	1436
390430	2099	2111	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シジンは非修飾	1163
390431	2099	2111	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シジンは非修飾 ウイング内の C は、9-(アミノイソキノリン)キサンチン	1163

【 0 8 8 7 】

【表 20 - 3】

				ジンである	
390432	2099	2111	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE	1163
390433	2099	2111	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シトシンは非修飾 Nt 6 は、9-(アミノイトキシ)フェノキサジンである	1163
390434	2099	2111	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シトシンは非修飾 Nt 7 は、9-(アミノイトキシ)フェノキサジンである	1163
390435	2099	2111	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シトシンは非修飾 Nt 9 は、9-(アミノイトキシ)フェノキサジンである	1163
335335	2099	2113	CTGCTAGCCTCTGGA	1-10-4 MOE	1435
389777	2098	2109	TAGCCTCTGGAT	1-9-2 MOE	1434
389954	2098	2109	TAGCCTCTGGAT	1-10-1 MOE	1434
335334	2098	2112	TGCTAGCCTCTGGAT	1-10-4 MOE	1433
331429	2097	2110	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 MOE	1431
335349	2097	2110	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 MOE	1431
335367	2097	2110	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1431
335378	2097	2110	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1431
392061	2097	2110	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内のシトシンは非修飾	1431
383991	2097	2109	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 2'-(アセチルアミノ-β-チル-アセトアミド)-コレステロール/MOE	1432
383992	2097	2109	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 2'-(アセチルアミノ-β-チル-アセトアミド)-コール酸/MOE	1432
386970	2097	2109	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 MOE	1432
390578	2097	2109	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 MOE シトシンは非修飾 ウイング内の T は、2-チオチミンである	1432
390614	2097	2109	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 PentaF	1432
335333	2097	2111	GCTAGCCTCTGGATT	1-10-4 MOE	1430
386683	2097	2109	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 2'-(β-チルアセトアミド)-パルミタミド/MOE	1432
371975	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	3-10-2 MOE	1429
335341	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
335350	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
335368	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA ウイング内はホスホジエステル結合	1428
335379	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA	1428
383739	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE ギャップ内は 5-メチルシトシン	1428
384071	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 OMe ギャップ内は 5-メチルシトシン	1428
384073	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA ギャップ内は 5-メチルシトシン	1428
390576	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE ギャップ内は 5-メチルシトシン ウイング内の T は 2-チオチミンである	1428
390580	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428

【 0 8 8 8 】

10

20

30

40

【表 20 - 4】

				ウイング内のピリミジンは 5-チアゾールである ギャップ内のシリンは非修飾	
390581	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE ギャップ内のシリンは非修飾	1428
391863	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE シリンは非修飾	1428
391864	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA ギャップ内のシリンは非修飾	1428
391865	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1428
375560	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 MOE	1429
391172	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-2 メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1429
391175	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 メチレンオキシ BNA	1429
391449	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 MOE シリンは非修飾	1429
392054	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 メチレンオキシ BNA ギャップ内のシリンは非修飾	1429
392055	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 MOE ギャップ内のシリンは非修飾	1429
362977	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	2-12-2 MOE	1428
386770	2096	2109	TAGCCTCTGGATTT	1-11-2 MOE	1427
390577	2096	2109	TAGCCTCTGGATTT	1-10-3 MOE シリンは非修飾 ウイング内の T は 2-チオチミンである	1427
335332	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	1-10-4 MOE	1429
390579	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-1-1-10-3 MOE/4'-チオ/2'-O-[(2-メキシ) エチル]-4'-チオ/2'-O-[(2-メキシ)エチル]-4'-チオ ウイング内のシリンは非修飾 ウイング内はホスホジエステル結合	1428
391173	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 (5'R)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1429
391174	2096	2110	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 (5'S)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1429
390607	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
390609	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-2-1 MOE/MOE/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
384072	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/pentaF/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
390606	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/pentaF/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
390608	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/pentaF/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
391869	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 メチレンオキシ BNA /(5'S)-5'-メ チル-メチレンオキシ BNA /(5'S)-5'-メチル-メチ レンオキシ BNA シリンは非修飾	1428
385036	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 OMe/2'-O-メチル-4'-チオ/2'-O-メ チル-4'-チオ	1428

【 0 8 8 9 】

10

20

30

40

【表 20 - 5】

				ウイング内のシシンは非修飾	
385871	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 OMe/ 2'-O-[(2-メキシ)エチル]-4'-チオ / 2'-O-[(2-メキシ)エチル]-4'-チオ ウイング内のシシンは非修飾	1428
386682	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 2'-(ブチルアセトアミド)-ハルミタミト /MOE /MOE	1428
390582	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/2'-O-[(2-メキシ)エチル]-4'-チオ / 2'-O-[(2-メキシ)エチル]-4'-チオ ウイング内のシシンは非修飾 ウイング内はホスホジエステル結合	1428
391868	2096	2111	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 (5'R)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA / メチレンオキシ BNA / (5'R)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シシンは非修飾	1428
336209	2095	2108	AGCCTCTGGATTTG	3-8-3 MOE	1425
335331	2095	2109	TAGCCTCTGGATTTG	1-10-4 MOE	1426
335376	2095	2109	TAGCCTCTGGATTTG	1-10-4 メチレンオキシ BNA	1426
335377	2095	2109	TAGCCTCTGGATTTG	1-10-4 メチレンオキシ BNA 3' ウイング内はホスホジエステル	1426
335330	2094	2108	AGCCTCTGGATTTGA	1-10-4 MOE	1424
336208	2079	2092	GGCTCCTCTACTGT	3-8-3 MOE	1423
336207	2073	2086	TCTACTGTTTTTGT	3-8-3 MOE	1422
336206	2047	2060	CACCTTAAAATTTG	3-8-3 MOE	1518
389776	2046	2057	CTTAAAATTTGG	1-9-2 MOE	1421
389977	2046	2057	CTTAAAATTTGG	1-10-1 MOE	1421
397990	2045	2058	CCTTAAAATTTGGA	2-10-2 MOE	1420
336205	2043	2056	TTAAAATTTGGAGA	3-8-3 MOE	1419
398058	2029	2040	AGTATCGGTTGG	1-10-1 MOE	1418
336204	2028	2041	AAGTATCGGTTGGC	3-8-3 MOE	1417
397989	2028	2041	AAGTATCGGTTGGC	2-10-2 MOE	1417
336203	2002	2015	TGCTTTGTCAAGAT	3-8-3 MOE	1416
389775	2002	2013	CTTTGTCAAGAT	1-9-2 MOE	1177
389976	2002	2013	CTTTGTCAAGAT	1-10-1 MOE	1177
397988	2001	2014	GCTTTGTCAAGATC	2-10-2 MOE	1415
336202	1959	1972	TCCTTGTCATTATC	3-8-3 MOE	1414
389774	1945	1956	CACGCTCTATAC	1-9-2 MOE	1413
389975	1945	1956	CACGCTCTATAC	1-10-1 MOE	1413
336201	1944	1957	GCACGCTCTATACT	3-8-3 MOE	1412
336200	1929	1942	CAAATGCTATCGAT	3-8-3 MOE	1411
389773	1904	1915	AGACTTCCATTT	1-9-2 MOE	1410
389974	1904	1915	AGACTTCCATTT	1-10-1 MOE	1410
336199	1902	1915	AGACTTCCATTTTC	3-8-3 MOE	1409
336198	1884	1897	TTTTCTGAGGTTTC	3-8-3 MOE	1408
398057	1878	1889	GGTTTCCTCTGG	1-10-1 MOE	1407
397987	1877	1890	AGGTTTCCTCTGGT	2-10-2 MOE	1406
336197	1873	1886	TTCTCTGGTCCTG	3-8-3 MOE	1405
390015	1868	1879	GGTCCTGGTATG	1-10-1 MOE	1404
398056	1865	1876	CCTGGTATGAAG	1-10-1 MOE	1403
336196	1864	1877	TCCTGGTATGAAGA	3-8-3 MOE	1402
397986	1864	1877	TCCTGGTATGAAGA	2-10-2 MOE	1402
398055	1849	1860	TATTTACCCAAA	1-10-1 MOE	1401
397985	1848	1861	GTATTTACCCAAA	2-10-2 MOE	1400

【 0 8 9 0 】

10

20

30

40

【表 20 - 6】

336195	1847	1860	TATTTACCCAAAAG	3-8-3 MOE	1399
389772	1846	1857	TTACCCAAAAGT	1-9-2 MOE	1398
389973	1846	1857	TTACCCAAAAGT	1-10-1 MOE	1398
336194	1838	1851	AAAAGTGAAACATT	3-8-3 MOE	1145
398054	1836	1847	GTGAAACATTTT	1-10-1 MOE	1144
397984	1835	1848	AGTGAAACATTTTG	2-10-2 MOE	1397
336193	1828	1841	CATTTTGTCTTTT	3-8-3 MOE	1182
336192	1810	1823	CATCTTGTCTGTT	3-8-3 MOE	1396
336191	1800	1813	TGTTTGTGGAAGAA	3-8-3 MOE	1395
398053	1796	1807	TGGAAGAACTCT	1-10-1 MOE	1394
397983	1795	1808	GTGGAAGAACTCTA	2-10-2 MOE	1393
389771	1794	1805	GAAGAACTCTAC	1-9-2 MOE	1392
389972	1794	1805	GAAGAACTCTAC	1-10-1 MOE	1392
336190	1789	1802	GAACTCTACTTTGA	3-8-3 MOE	1391
336189	1773	1786	TCACCACACACAGG	3-8-3 MOE	1390
336188	1754	1767	GCTGAGGGAACTCA	3-8-3 MOE	1389
398052	1751	1762	GGGAACTCAAAG	1-10-1 MOE	1388
389770	1750	1761	GGAACTCAAAGT	1-9-2 MOE	1386
389971	1750	1761	GGAACTCAAAGT	1-10-1 MOE	1386
397982	1750	1763	AGGGAACTCAAAGT	2-10-2 MOE	1387
336187	1747	1760	GAACTCAAAGTACA	3-8-3 MOE	1385
390012	1745	1756	TCAAAGTACATG	1-10-1 MOE	1384
336186	1688	1701	TCTTCACCTTTAGC	3-8-3 MOE	1383
398051	1684	1695	CCTTTAGCTGGC	1-10-1 MOE	1220
397981	1683	1696	ACCTTTAGCTGGCA	2-10-2 MOE	1382
336185	1677	1690	AGCTGGCAGACCAC	3-8-3 MOE	1381
389769	1676	1687	TGGCAGACCACA	1-9-2 MOE	1249
389970	1676	1687	TGGCAGACCACA	1-10-1 MOE	1249
392060	1675	1688	CTGGCAGACCACAA	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内のシジンは非修飾	1380
398050	1672	1683	AGACCACAAACT	1-10-1 MOE	1379
397980	1671	1684	CAGACCACAAACTG	2-10-2 MOE	1378
390011	1658	1669	GGATTGCAAGTT	1-10-1 MOE	1238
336184	1655	1668	GATTGCAAGTTCCG	3-8-3 MOE	1508
336183	1644	1657	CCGCCACTGAACAT	3-8-3 MOE	1377
390010	1643	1654	CCACTGAACATT	1-10-1 MOE	1240
398049	1641	1652	ACTGAACATTGG	1-10-1 MOE	1376
397979	1640	1653	CACTGAACATTGGA	2-10-2 MOE	1375
336182	1633	1646	CATTGGAATAGTTT	3-8-3 MOE	1374
389768	1630	1641	GAATAGTTTCAA	1-9-2 MOE	1373
389969	1630	1641	GAATAGTTTCAA	1-10-1 MOE	1373
398048	1626	1637	AGTTTCAAACAT	1-10-1 MOE	1372
397978	1625	1638	TAGTTTCAAACATC	2-10-2 MOE	1371
336181	1623	1636	GTTTCAAACATCAT	3-8-3 MOE	1370
398047	1614	1625	CATCTTGTGAAA	1-10-1 MOE	1369
336180	1613	1626	TCATCTTGTGAAAC	3-8-3 MOE	1368
390009	1613	1624	ATCTTGTGAAAC	1-10-1 MOE	1175
397977	1613	1626	TCATCTTGTGAAAC	2-10-2 MOE	1368
390007	1563	1574	CAGGTAGCTATA	1-10-1 MOE	1367
336179	1561	1574	CAGGTAGCTATAAT	3-8-3 MOE	1366
336178	1541	1554	CATAGCGCCTCTGA	3-8-3 MOE	1365
336177	1534	1547	CCTCTGACTGGGAA	3-8-3 MOE	1364
389767	1534	1545	TCTGACTGGGAA	1-9-2 MOE	1151

【 0 8 9 1 】

10

20

30

40



【表 20 - 7】

389968	1534	1545	TCTGACTGGGAA	1-10-1 MOE	1151
335344	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE	1363
335355	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE ウイング内はホスホジエステル結合	1363
335370	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内はホスホジエステル結合	1363
335381	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1363
335411	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE 3'の C は、9-(アミノトキシ)フェノキサジンである	1363
335412	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE 5'ウイング内の C は、9-(アミノトキシ)フェノキサジンである	1363
335413	1503	1516	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE ウイング内の C は、9-(アミノトキシ)フェノキサジンである	1363
336176	1502	1515	CTCTGGTCCTTACT	3-8-3 MOE	1361
335345	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE	1362
335356	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE ウイング内はホスホジエステル結合	1362
335371	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 メチレンオキシ BNA ウイング内はホスホジエステル結合	1362
335382	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 メチレンオキシ BNA	1362
335414	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE 3'ウイング内の C は、9-(アミノトキシ)フェノキサジンである	1362
335415	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE 5'ウイング内の C は、9-(アミノトキシ)フェノキサジンである	1362
335416	1502	1517	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE ウイング内の C は、9-(アミノトキシ)フェノキサジンである	1362
336175	1495	1508	CCTTACTTCCCCAT	3-8-3 MOE	1360
336174	1472	1485	GGGCCTCTTGCGCC	3-8-3 MOE	1359
336173	1465	1478	TTGTGCCTTTAAAA	3-8-3 MOE	1358
398046	1465	1476	GTGCCTTTAAAA	1-10-1 MOE	1199
389766	1464	1475	TGCCTTTAAAA	1-9-2 MOE	1217
389967	1464	1475	TGCCTTTAAAA	1-10-1 MOE	1217
397976	1464	1477	TGTGCCTTTAAAA	2-10-2 MOE	1357
336172	1437	1450	AATAAATATGCACA	3-8-3 MOE	1356
398045	1423	1434	TCATTACACCAG	1-10-1 MOE	1355
336171	1422	1435	ATCATTACACCAGT	3-8-3 MOE	1354
389765	1422	1433	CATTACACCAGT	1-9-2 MOE	1353
389966	1422	1433	CATTACACCAGT	1-10-1 MOE	1353
397975	1422	1435	ATCATTACACCAGT	2-10-2 MOE	1354
390005	1400	1411	CCAGCTTTACAG	1-10-1 MOE	1352
336170	1392	1405	TTACAGTGAATTGC	3-8-3 MOE	1351
398044	1382	1393	GCTGCAACATGA	1-10-1 MOE	1350
336169	1381	1394	TGCTGCAACATGAT	3-8-3 MOE	1349
389764	1381	1392	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
389965	1381	1392	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
397974	1381	1394	TGCTGCAACATGAT	2-10-2 MOE	1349

【 0 8 9 2 】

10

20

30

40

【表 20 - 8】

336168	1362	1375	TCTTCACTTAGCCA	3-8-3 MOE	1348
390004	1362	1373	TTCACCTTAGCCA	1-10-1 MOE	1208
336167	1353	1366	AGCCATTGGTCAAG	3-8-3 MOE	1347
398043	1345	1356	CAAGATCTTCAC	1-10-1 MOE	1244
336166	1344	1357	TCAAGATCTTCACA	3-8-3 MOE	1346
390003	1344	1355	AAGATCTTCACA	1-10-1 MOE	1243
397973	1344	1357	TCAAGATCTTCACA	2-10-2 MOE	1346
336165	1329	1342	AAGGGTTTGATAAG	3-8-3 MOE	1345
390002	1322	1333	ATAAGTTCTAGC	1-10-1 MOE	1344
336164	1318	1331	AAGTTCTAGCTGTG	3-8-3 MOE	1343
398042	1305	1316	TGGGTTATGGTC	1-10-1 MOE	1214
336163	1304	1317	GTGGGTTATGGTCT	3-8-3 MOE	1342
397972	1304	1317	GTGGGTTATGGTCT	2-10-2 MOE	1342
398089	1298	1309	TGGTCTTCAAAA	1-10-1 MOE	1341
389763	1296	1307	GTCTTCAAAAGG	1-9-2 MOE	1197
389964	1296	1307	GTCTTCAAAAGG	1-10-1 MOE	1197
398041	1294	1305	CTTCAAAAGGAT	1-10-1 MOE	1196
336162	1293	1306	TCTTCAAAAGGATA	3-8-3 MOE	1340
397971	1293	1306	TCTTCAAAAGGATA	2-10-2 MOE	1340
398040	1279	1290	GTGCAACTCTGC	1-10-1 MOE	1236
336161	1278	1291	TGTGCAACTCTGCA	3-8-3 MOE	1235
397970	1278	1291	TGTGCAACTCTGCA	2-10-2 MOE	1235
398039	1264	1275	TAAATTTGGCGG	1-10-1 MOE	1339
397969	1263	1276	TTAAATTTGGCGGT	2-10-2 MOE	1338
336160	1261	1274	AAATTTGGCGGTGT	3-8-3 MOE	1337
336159	1253	1266	CGGTGTCATAATGT	3-8-3 MOE	1336
398038	1252	1263	TGTCATAATGTC	1-10-1 MOE	1200
390000	1251	1262	GTCATAATGTCT	1-10-1 MOE	1194
397968	1251	1264	GTGTCATAATGTCT	2-10-2 MOE	1195
336158	1227	1240	AGATTGTATATCTT	3-8-3 MOE	1335
389762	1220	1231	ATCTTGTAATGG	1-9-2 MOE	1334
389963	1220	1231	ATCTTGTAATGG	1-10-1 MOE	1334
336157	1215	1228	TTGTAATGGTTTTT	3-8-3 MOE	1333
336156	1202	1215	TATGCTTTGAATCC	3-8-3 MOE	1332
389998	1199	1210	TTTGAATCCAAA	1-10-1 MOE	1331
397967	1198	1211	CTTTGAATCCAAA	2-10-2 MOE	1330
336155	1190	1203	CCAAAAACCTTACT	3-8-3 MOE	1500
336154	1176	1189	ACATCATCAATATT	3-8-3 MOE	1329
389761	1171	1182	CAATATTGTTCC	1-9-2 MOE	1328
389962	1171	1182	CAATATTGTTCC	1-10-1 MOE	1328
398037	1170	1181	AATATTGTTCCCT	1-10-1 MOE	1202
397966	1169	1182	CAATATTGTTCCCTG	2-10-2 MOE	1327
336153	1164	1177	TTGTTCCCTGTATAC	3-8-3 MOE	1326
336152	1149	1162	CCTTCAAGTCTTTC	3-8-3 MOE	1325
389996	1141	1152	TTTCTGCAGGAA	1-10-1 MOE	1165
336151	1138	1151	TTCTGCAGGAAATC	3-8-3 MOE	1324
398036	1138	1149	CTGCAGGAAATC	1-10-1 MOE	1323
397965	1137	1150	TCTGCAGGAAATCC	2-10-2 MOE	1322
389760	1129	1140	ATCCCATAGCAA	1-9-2 MOE	1321
389961	1129	1140	ATCCCATAGCAA	1-10-1 MOE	1321
398035	1126	1137	CCATAGCAATAA	1-10-1 MOE	1320
336150	1125	1138	CCCATAGCAATAAT	3-8-3 MOE	1319
397964	1125	1138	CCCATAGCAATAAT	2-10-2 MOE	1319

【 0 8 9 3 】

10

20

30

40

【表 20 - 9】

336149	1110	1123	TTTGGATAAAATATA	3-8-3 MOE	1496
389995	1106	1117	TAAATATAGGTC	1-10-1 MOE	1516
336148	1100	1113	TATAGGTCAAGTCT	3-8-3 MOE	1495
398034	1099	1110	AGGTCAAGTCTA	1-10-1 MOE	1300
397963	1098	1111	TAGGTCAAGTCTAA	2-10-2 MOE	1494
389994	1095	1106	CAAGTCTAAGTC	1-10-1 MOE	1299
336147	1090	1103	GTCTAAGTCGAATC	3-8-3 MOE	1298
389993	1083	1094	GAATCCATCCTC	1-10-1 MOE	1297
336146	1080	1093	AATCCATCCTCTTG	3-8-3 MOE	1296
398033	1077	1088	ATCCTCTTGATA	1-10-1 MOE	1198
397962	1076	1089	CATCCTCTTGATAT	2-10-2 MOE	1295
336145	1070	1083	CTTGATATCTCCTT	3-8-3 MOE	1294
336144	1057	1070	TTTGTCTGCTAA	3-8-3 MOE	1293
389759	1056	1067	GTTTCTGCTAAC	1-9-2 MOE	1292
389960	1056	1067	GTTTCTGCTAAC	1-10-1 MOE	1292
392059	1055	1068	TGTTTCTGCTAACG	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内のトシは非修飾	1291
336143	1044	1057	ACGATCTCTTTGAT	3-8-3 MOE	1290
398032	1038	1049	TTTGATGATGGC	1-10-1 MOE	1222
397961	1037	1050	CTTTGATGATGGCT	2-10-2 MOE	1289
389992	1036	1047	TGATGATGGCTG	1-10-1 MOE	1288
336142	1032	1045	ATGATGGCTGTCAT	3-8-3 MOE	1287
389991	1021	1032	TGTCTGGGAGCC	1-10-1 MOE	1286
392058	1020	1033	ATGTCTGGGAGCCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内のトシは非修飾	1285
397960	1020	1033	ATGTCTGGGAGCCT	2-10-2 MOE	1285
389990	1007	1018	TGGCTGAAGAAA	1-10-1 MOE	1284
397959	1006	1019	GTGGCTGAAGAAAA	2-10-2 MOE	1283
398031	987	998	GAGAGATGGCAG	1-10-1 MOE	1282
397958	986	999	AGAGAGATGGCAGA	2-10-2 MOE	1281
389758	983	994	GATGGCAGAAGC	1-9-2 MOE	1280
389959	983	994	GATGGCAGAAGC	1-10-1 MOE	1280
398030	976	987	GAAGCTGCTGGT	1-10-1 MOE	1143
397957	975	988	AGAAGCTGCTGGTG	2-10-2 MOE	1279
389989	953	964	TTCTGCAGGATG	1-10-1 MOE	1170
389757	941	952	GAAATGGCTCTG	1-9-2 MOE	1278
389958	941	952	GAAATGGCTCTG	1-10-1 MOE	1278
397956	940	953	GGAAATGGCTCTGG	2-10-2 MOE	1277
398029	931	942	TGGACTTGGCGG	1-10-1 MOE	1186
397955	930	943	CTGGACTTGGCGGT	2-10-2 MOE	1276
398028	914	925	GATGCCCTCGC	1-10-1 MOE	1275
397954	913	926	TGATGCCCTCGCT	2-10-2 MOE	1274
398027	883	894	GGACCGCAGCCG	1-10-1 MOE	1155
397953	882	895	TGGACCGCAGCCGG	2-10-2 MOE	1273
389756	874	885	CCGGGTAATGGC	1-9-2 MOE	1272
389957	874	885	CCGGGTAATGGC	1-10-1 MOE	1272
398026	867	878	ATGGCTGCTGCG	1-10-1 MOE	1160
397952	866	879	AATGGCTGCTGCGG	2-10-2 MOE	1271
389987	848	859	CTGGATGGTTGC	1-10-1 MOE	1270
389755	806	817	AGAGGCCTGGCA	1-9-2 MOE	1269
389956	806	817	AGAGGCCTGGCA	1-10-1 MOE	1269
389985	584	595	ATGGTGACAGGC	1-10-1 MOE	1268
398025	581	592	GTGACAGGCGAC	1-10-1 MOE	1267

10

20

30

40

【 0 8 9 4 】

【表 20 - 10】

397951	580	593	GGTGACAGGCGACT	2-10-2 MOE	1266
389754	312	323	TGCTCACAGGCG	1-9-2 MOE	1158
389955	312	323	TGCTCACAGGCG	1-10-1 MOE	1158
398024	231	242	CAGCGGCTCAAC	1-10-1 MOE	1265
397950	230	243	ACAGCGGCTCAACT	2-10-2 MOE	1264
389982	205	216	CATGGCTGCAGC	1-10-1 MOE	1161
392056	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1263
394424	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 MOE	1263
396007	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (R)-CMOE BNA シリンは非修飾	1263
396008	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (S)-CMOE BNA シリンは非修飾	1263
396009	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 $\alpha$ -L-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1263
396566	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 オキシアミノ BNA シリンは非修飾	1263
396567	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 N-メチル-オキシアミノ BNA シリンは非修飾	1263
396568	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (6R)-6-メチル メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1263
397913	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 OMe キャップ内のシリンは非修飾	1263
401974	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 OMe シリンは非修飾	1263
403737	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内は 5-チアゾール核酸塩基	1263
404121	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA キャップ内は 5-メチルシリン 3'末端は THF ホスホロチオエート	1263
404228	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA キャップ内は 5-メチルシリン 5'末端は逆無塩基(reverse abasic)	1263
396024	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (6'S)-6'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1263
396569	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (5'S)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1263
396577	204	217	TCATGGCTGCAGCT	2-10-1-1 メチレンオキシ BNA / メチレンオキシ BNA / 2'-(フチルアセトアミド)-ハルミタミド/ キャップ内のシリンは非修飾	1263
396576	204	217	TCATGGCTGCAGCT	1-1-10-2 2'-(フチルアセトアミド)-ハルミタミド/ メチレンオキシ BNA / メチレンオキシ BNA キャップ内のシリンは非修飾	1263
398023	191	202	CCGAGAGGAGAG	1-10-1 MOE	1262
397949	190	203	TCCGAGAGGAGAGA	2-10-2 MOE	1261
398022	126	137	AAGAGTCCCGCC	1-10-1 MOE	1260
397948	125	138	AAAGAGTCCCGCCA	2-10-2 MOE	1259

10

20

30

40

【 0 8 9 5 】

【表 2 2 - 1】

表 22: 配列番号 15 に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS No.	5' 標的 部位	3' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列 番号
397948	525	538	AAAGAGTCCCGCCA	2-10-2 MOE	1259
398022	526	537	AAGAGTCCCGCC	1-10-1 MOE	1260
397949	590	603	TCCGAGAGGAGAGA	2-10-2 MOE	1261
398023	591	602	CCGAGAGGAGAG	1-10-1 MOE	1262
394424	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 MOE	1263
397913	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 OMe ギャップ内のシチンは非修飾	1263
401974	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 Ome シチンは非修飾	1263
403737	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内は 5-チアゾール核酸塩 基	1263
392056	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内のシチンは非修飾	1263
396576	604	617	TCATGGCTGCAGCT	1-1-10-2 2'-(ブチルアセトアミド)-パ ルミタミド / メチレンオキシ BNA / メチ レンオキシ BNA ギャップ内のシチンは非修飾	1263
396577	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-1-2 メチレンオキシ BNA / メチ レンオキシ BNA / 2'-(ブチルアセトア ミド)-パルミタミド / ギャップ内のシチンは非修飾	1263
404121	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内は 5-メチルシチン 3' 末端は THF ホスホロチオエート	1263
404228	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ギャップ内は 5-メチルシチン 5' 末端は逆無塩基	1263
396007	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (R)-CMOE BNA シチンは非修飾	1263
396008	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (S)-CMOE BNA シチンは非修飾	1263
396009	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 α-L-メチレンオキシ BNA シチンは非修飾	1263
396024	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (6'S)-6'-メチル-メチレンオキ シ BNA シチンは非修飾	1263
396566	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 オキシアミノ BNA シチンは非修飾	1263
396567	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 N-メチル-オキシアミノ BNA シチンは非修飾	1263
396568	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (6R)-6-メチル メチレンオキシ BNA シチンは非修飾	1263
396569	604	617	TCATGGCTGCAGCT	2-10-2 (5'S)-5'-メチル-メチレンオキ シ BNA	1263

【 0 8 9 6 】

10

20

30

40

【表 2 2 - 2】

				シリンは非修飾	
389982	605	616	CATGGCTGCAGC	1-10-1 MOE	1161
397950	630	643	ACAGCGGCTCAACT	2-10-2 MOE	1264
398024	631	642	CAGCGGCTCAAC	1-10-1 MOE	1265
389955	712	723	TGCTCACAGGCG	1-10-1 MOE	1158
389754	712	723	TGCTCACAGGCG	1-9-2 MOE	1158
397951	980	993	GGTGACAGGCGACT	2-10-2 MOE	1266
398025	981	992	GTGACAGGCGAC	1-10-1 MOE	1267
389985	984	995	ATGGTGACAGGC	1-10-1 MOE	1268
389956	1206	1217	AGAGGCCTGGCA	1-10-1 MOE	1269
389755	1206	1217	AGAGGCCTGGCA	1-9-2 MOE	1269
389987	1248	1259	CTGGATGGTTGC	1-10-1 MOE	1270
397952	1266	1279	AATGGCTGCTGCGG	2-10-2 MOE	1271
398026	1267	1278	ATGGCTGCTGCG	1-10-1 MOE	1160
389957	1274	1285	CCGGGTAATGGC	1-10-1 MOE	1272
389756	1274	1285	CCGGGTAATGGC	1-9-2 MOE	1272
397953	1282	1295	TGGACCGCAGCCGG	2-10-2 MOE	1273
398027	1283	1294	GGACCGCAGCCG	1-10-1 MOE	1155
397954	1313	1326	TGATGCCCTCGCT	2-10-2 MOE	1274
398028	1314	1325	GATGCCCTCGC	1-10-1 MOE	1275
397955	1330	1343	CTGGACTTGCGGT	2-10-2 MOE	1276
398029	1331	1342	TGGACTTGCGG	1-10-1 MOE	1186
397956	1340	1353	GGAAATGGCTCTGG	2-10-2 MOE	1277
389958	1341	1352	GAAATGGCTCTG	1-10-1 MOE	1278
389757	1341	1352	GAAATGGCTCTG	1-9-2 MOE	1278
389989	1353	1364	TTCTGCAGGATG	1-10-1 MOE	1170
397957	1375	1388	AGAAGCTGCTGGTG	2-10-2 MOE	1279
398030	1376	1387	GAAGCTGCTGGT	1-10-1 MOE	1143
389959	1383	1394	GATGGCAGAAGC	1-10-1 MOE	1280
389758	1383	1394	GATGGCAGAAGC	1-9-2 MOE	1280
397958	1386	1399	AGAGAGATGGCAGA	2-10-2 MOE	1281
398031	1387	1398	GAGAGATGGCAG	1-10-1 MOE	1282
397959	1406	1419	GTGGCTGAAGAAA	2-10-2 MOE	1283
389990	1407	1418	TGGCTGAAGAAA	1-10-1 MOE	1284
397960	1420	1433	ATGTCTGGGAGCCT	2-10-2 MOE	1285
392058	1420	1433	ATGTCTGGGAGCCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内は 5-メチルシリン	1285
389991	1421	1432	TGTCTGGGAGCC	1-10-1 MOE	1286
336142	1432	1445	ATGATGGCTGTCAT	3-8-3 MOE	1287
389992	1436	1447	TGATGATGGCTG	1-10-1 MOE	1288
397961	1437	1450	CTTTGATGATGGCT	2-10-2 MOE	1289
398032	1438	1449	TTTGATGATGGC	1-10-1 MOE	1222
336143	1444	1457	ACGATCTCTTTGAT	3-8-3 MOE	1290
392059	1455	1468	TGTTTCTGCTAACG	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内は 5-メチルシリン	1291
389960	1456	1467	GTTTCTGCTAAC	1-10-1 MOE	1292
389759	1456	1467	GTTTCTGCTAAC	1-9-2 MOE	1292
336144	1457	1470	TTTGTTTCTGCTAA	3-8-3 MOE	1293
336145	1470	1483	CTTGATATCTCCTT	3-8-3 MOE	1294
397962	1476	1489	CATCCTCTTGATAT	2-10-2 MOE	1295
398033	1477	1488	ATCCTCTTGATA	1-10-1 MOE	1198
336146	1480	1493	AATCCATCCTCTTG	3-8-3 MOE	1296

【 0 8 9 7 】

【表 2 2 - 3】

389993	1483	1494	GAATCCATCCTC	1-10-1 MOE	1297
336147	1490	1503	GTCTAAGTCGAATC	3-8-3 MOE	1298
389994	1495	1506	CAAGTCTAAGTC	1-10-1 MOE	1299
398034	1499	1510	AGGTCAAGTCTA	1-10-1 MOE	1300
398010	1500	1513	TACAGGTCAAGTCT	2-10-2 MOE	1166
398077	1501	1512	ACAGGTCAAGTC	1-10-1 MOE	1167
398011	1512	1525	CGCAGAAATGGATA	2-10-2 MOE	1301
398078	1513	1524	GCAGAAATGGAT	1-10-1 MOE	1302
398012	1570	1583	TTCGCATCCGTCTA	2-10-2 MOE	1303
398079	1571	1582	TCGCATCCGTCT	1-10-1 MOE	1304
398013	1663	1676	CCCTAGGTTGAATA	2-10-2 MOE	1305
398080	1664	1675	CCTAGGTTGAAT	1-10-1 MOE	1306
398014	2025	2038	GTTATGCAAATCAG	2-10-2 MOE	1307
398081	2026	2037	TTATGCAAATCA	1-10-1 MOE	1308
398015	2620	2633	TGACTCAGTAAATT	2-10-2 MOE	1309
398082	2621	2632	GACTCAGTAAAT	1-10-1 MOE	1310
398016	2655	2668	TTAAAATTCTTGGG	2-10-2 MOE	1311
398083	2656	2667	TAAAATTCTTGG	1-10-1 MOE	1312
398017	2687	2700	CCTAACTTTTAGAC	2-10-2 MOE	1313
398084	2688	2699	CTAACTTTTAGA	1-10-1 MOE	1314
398018	2745	2758	ACCTGAAACTGCAA	2-10-2 MOE	1315
398085	2746	2757	CCTGAAACTGCA	1-10-1 MOE	1157
398019	13166	13179	GTGTCAAACCCT	2-10-2 MOE	1316
398086	13167	13178	TGTCAAACCAC	1-10-1 MOE	1204
398020	14675	14688	CCTATCCCCTACTGA	2-10-2 MOE	1317
398087	14676	14687	CTATCCCCTACTG	1-10-1 MOE	1318
390033	15351	15362	AGCCAACTGCAA	1-10-1 MOE	1483
398021	30985	30998	TTGGATAAATATCT	2-10-2 MOE	1168
398088	30986	30997	TGGATAAATATC	1-10-1 MOE	1169
397964	31001	31014	CCCATAGCAATAAT	2-10-2 MOE	1319
336150	31001	31014	CCCATAGCAATAAT	3-8-3 MOE	1319
398035	31002	31013	CCATAGCAATAA	1-10-1 MOE	1320
389961	31005	31016	ATCCCATAGCAA	1-10-1 MOE	1321
389760	31005	31016	ATCCCATAGCAA	1-9-2 MOE	1321
397965	31013	31026	TCTGCAGGAAATCC	2-10-2 MOE	1322
398036	31014	31025	CTGCAGGAAATC	1-10-1 MOE	1323
336151	31014	31027	TTCTGCAGGAAATC	3-8-3 MOE	1324
389996	31017	31028	TTTCTGCAGGAA	1-10-1 MOE	1165
336152	31025	31038	CCTTCAAGTCTTTC	3-8-3 MOE	1325
336153	31040	31053	TTGTTCCTGTATAC	3-8-3 MOE	1326
397966	31045	31058	CAATATTGTTCTG	2-10-2 MOE	1327
398037	31046	31057	AATATTGTTCT	1-10-1 MOE	1202
389962	31047	31058	CAATATTGTTCC	1-10-1 MOE	1328
389761	31047	31058	CAATATTGTTCC	1-9-2 MOE	1328
336154	31052	31065	ACATCATCAATATT	3-8-3 MOE	1329
389977	31480	31491	CTTAAAATTGG	1-10-1 MOE	1421
389776	31480	31491	CTTAAAATTGG	1-9-2 MOE	1421
397967	62446	62459	CTTTGAATCCAAAA	2-10-2 MOE	1330
389998	62447	62458	TTTGAATCCAAA	1-10-1 MOE	1331
336156	62450	62463	TATGCTTTGAATCC	3-8-3 MOE	1332
336157	62463	62476	TTGTAATGGTTTTT	3-8-3 MOE	1333
389963	62468	62479	ATCTTGTAATGG	1-10-1 MOE	1334
389762	62468	62479	ATCTTGTAATGG	1-9-2 MOE	1334

10

20

30

40

【表 2 2 - 4】

336158	62475	62488	AGATTGTATATCTT	3-8-3 MOE	1335
390000	67987	67998	GTCATAATGTCT	1-10-1 MOE	1194
397968	67987	68000	GTGTCATAATGTCT	2-10-2 MOE	1195
398038	67988	67999	TGTCATAATGTC	1-10-1 MOE	1200
336159	67989	68002	CGGTGTCATAATGT	3-8-3 MOE	1336
336160	67997	68010	AAATTTGGCGGTGT	3-8-3 MOE	1337
397969	67999	68012	TTAAATTTGGCGGT	2-10-2 MOE	1338
398039	68000	68011	TAAATTTGGCGG	1-10-1 MOE	1339
397971	69952	69965	TCTTCAAAAGGATA	2-10-2 MOE	1340
336162	69952	69965	TCTTCAAAAGGATA	3-8-3 MOE	1340
398041	69953	69964	CTTCAAAAGGAT	1-10-1 MOE	1196
389964	69955	69966	GTCTTCAAAAGG	1-10-1 MOE	1197
389763	69955	69966	GTCTTCAAAAGG	1-9-2 MOE	1197
398089	69957	69968	TGGTCTTCAAAA	1-10-1 MOE	1341
397972	69963	69976	GTGGGTTATGGTCT	2-10-2 MOE	1342
336163	69963	69976	GTGGGTTATGGTCT	3-8-3 MOE	1342
398042	69964	69975	TGGGTTATGGTC	1-10-1 MOE	1214
336164	69977	69990	AAGTTCTAGCTGTG	3-8-3 MOE	1343
390002	69981	69992	ATAAGTTCTAGC	1-10-1 MOE	1344
336165	69988	70001	AAGGGTTTGATAAG	3-8-3 MOE	1345
390003	70003	70014	AAGATCTTCACA	1-10-1 MOE	1243
397973	70003	70016	TCAAGATCTTCACA	2-10-2 MOE	1346
336166	70003	70016	TCAAGATCTTCACA	3-8-3 MOE	1346
398043	70004	70015	CAAGATCTTCAC	1-10-1 MOE	1244
336167	70012	70025	AGCCATTGGTCAAG	3-8-3 MOE	1347
390004	70021	70032	TTCACCTTAGCCA	1-10-1 MOE	1208
336168	70021	70034	TCTTCACTTAGCCA	3-8-3 MOE	1348
389965	70040	70051	CTGCAACATGAT	1-10-1 MOE	1018
389764	70040	70051	CTGCAACATGAT	1-9-2 MOE	1018
397974	70040	70053	TGCTGCAACATGAT	2-10-2 MOE	1349
336169	70040	70053	TGCTGCAACATGAT	3-8-3 MOE	1349
398044	70041	70052	GCTGCAACATGA	1-10-1 MOE	1350
336170	70051	70064	TTACAGTGAATTGC	3-8-3 MOE	1351
390005	70059	70070	CCAGCTTTACAG	1-10-1 MOE	1352
389966	70081	70092	CATTACACCAGT	1-10-1 MOE	1353
389765	70081	70092	CATTACACCAGT	1-9-2 MOE	1353
397975	70081	70094	ATCATTACACCAGT	2-10-2 MOE	1354
336171	70081	70094	ATCATTACACCAGT	3-8-3 MOE	1354
398045	70082	70093	TCATTACACCAG	1-10-1 MOE	1355
336172	70096	70109	AATAAATATGCACA	3-8-3 MOE	1356
389967	70123	70134	TGCCTTTAAAAA	1-10-1 MOE	1217
389766	70123	70134	TGCCTTTAAAAA	1-9-2 MOE	1217
397976	70123	70136	TGTGCCTTTAAAAA	2-10-2 MOE	1357
398046	70124	70135	GTGCCTTTAAAA	1-10-1 MOE	1199
336173	70124	70137	TTGTGCCTTTAAAA	3-8-3 MOE	1358
336174	70131	70144	GGGCCTCTTGTC	3-8-3 MOE	1359
336175	70154	70167	CCTTACTTCCCAT	3-8-3 MOE	1360
335345	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE	1362
335356	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE ウイング内はホスホジエステル結合	1362
335414	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE 3'ウイング内の C は、9-(アミノエキ シ)フェキサジンである	1362

10

20

30

40



【表 2 2 - 5】

335415	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE 5'ウイング内の C は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1362
335416	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 MOE ウイング内の C は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1362
336176	70161	70174	CTCTGGTCCTTACT	3-8-3 MOE	1361
335371	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 メチレンオキシ BNA ウイング内はホスホジエステル結合	1362
335382	70161	70176	GTCTCTGGTCCTTACT	3-10-3 メチレンオキシ BNA	1362
335344	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE	1363
335355	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE ウイング内はホスホジエステル結合	1363
335411	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE 3'の C は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1363
335412	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE 2番目の C は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1363
335413	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 MOE 2番目の C および 3'末端の C は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1363
335370	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内はホスホジエステル結合	1363
335381	70162	70175	TCTCTGGTCCTTAC	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1363
398068	79799	79810	ACAGCTACACAA	1-10-1 MOE	1472
389968	89056	89067	TCTGACTGGGAA	1-10-1 MOE	1151
389767	89056	89067	TCTGACTGGGAA	1-9-2 MOE	1151
336177	89056	89069	CCTCTGACTGGGAA	3-8-3 MOE	1364
336178	89063	89076	CATAGCGCCTCTGA	3-8-3 MOE	1365
336179	89083	89096	CAGGTAGCTATAAT	3-8-3 MOE	1366
390007	89085	89096	CAGGTAGCTATA	1-10-1 MOE	1367
390009	89135	89146	ATCTTGTGAAAC	1-10-1 MOE	1175
397977	89135	89148	TCATCTTGTGAAAC	2-10-2 MOE	1368
336180	89135	89148	TCATCTTGTGAAAC	3-8-3 MOE	1368
398047	89136	89147	CATCTTGTGAAA	1-10-1 MOE	1369
336181	89145	89158	GTTTCAAACATCAT	3-8-3 MOE	1370
397978	89147	89160	TAGTTTCAAACATC	2-10-2 MOE	1371
398048	89148	89159	AGTTTCAAACAT	1-10-1 MOE	1372
389969	89152	89163	GAATAGTTTCAA	1-10-1 MOE	1373
389768	89152	89163	GAATAGTTTCAA	1-9-2 MOE	1373
336182	89155	89168	CATTGGAATAGTTT	3-8-3 MOE	1374
397979	89162	89175	CACTGAACATTGGA	2-10-2 MOE	1375
398049	89163	89174	ACTGAACATTGG	1-10-1 MOE	1376
390010	89165	89176	CCACTGAACATT	1-10-1 MOE	1240
336183	89166	89179	CCGCCACTGAACAT	3-8-3 MOE	1377
397980	94786	94799	CAGACCACAAACTG	2-10-2 MOE	1378
398050	94787	94798	AGACCACAAACT	1-10-1 MOE	1379
392060	94790	94803	CTGGCAGACCACAA	2-10-2 メチレンオキシ BNA キャップ内のシリンは非修飾	1380

【 0 9 0 0 】

10

20

30

40

【表 2 2 - 6】

389970	94791	94802	TGGCAGACCACA	1-10-1 MOE	1249
389769	94791	94802	TGGCAGACCACA	1-9-2 MOE	1249
336185	94792	94805	AGCTGGCAGACCAC	3-8-3 MOE	1381
397981	94798	94811	ACCTTTAGCTGGCA	2-10-2 MOE	1382
398051	94799	94810	CCTTTAGCTGGC	1-10-1 MOE	1220
336186	94803	94816	TCTTCACCTTTAGC	3-8-3 MOE	1383
390012	94860	94871	TCAAAGTACATG	1-10-1 MOE	1384
336187	94862	94875	GAACTCAAAGTACA	3-8-3 MOE	1385
389971	94865	94876	GAACTCAAAGT	1-10-1 MOE	1386
389770	94865	94876	GAACTCAAAGT	1-9-2 MOE	1386
397982	94865	94878	AGGGAACTCAAAGT	2-10-2 MOE	1387
398052	94866	94877	GGGAACTCAAAG	1-10-1 MOE	1388
336188	94869	94882	GCTGAGGGAACTCA	3-8-3 MOE	1389
336189	94888	94901	TCACCACACACAGG	3-8-3 MOE	1390
336190	94904	94917	GAACTCTACTTTGA	3-8-3 MOE	1391
389972	94909	94920	GAAGAACTCTAC	1-10-1 MOE	1392
389771	94909	94920	GAAGAACTCTAC	1-9-2 MOE	1392
397983	94910	94923	GTGGAAGAACTCTA	2-10-2 MOE	1393
398053	94911	94922	TGGAAGAACTCT	1-10-1 MOE	1394
336191	94915	94928	TGTTTGTGGAAGAA	3-8-3 MOE	1395
336192	94925	94938	CATCTTGTTCTGTT	3-8-3 MOE	1396
397984	97824	97837	AGTGAAACATTTTG	2-10-2 MOE	1397
398054	97825	97836	GTGAAACATTTT	1-10-1 MOE	1144
336194	97827	97840	AAAAGTGAAACATT	3-8-3 MOE	1145
389973	97835	97846	TTACCCAAAAGT	1-10-1 MOE	1398
389772	97835	97846	TTACCCAAAAGT	1-9-2 MOE	1398
336195	97836	97849	TATTTACCCAAAAG	3-8-3 MOE	1399
397985	97837	97850	GTATTTACCCAAAA	2-10-2 MOE	1400
398055	97838	97849	TATTTACCCAAA	1-10-1 MOE	1401
397986	97853	97866	TCCTGGTATGAAGA	2-10-2 MOE	1402
336196	97853	97866	TCCTGGTATGAAGA	3-8-3 MOE	1402
398056	97854	97865	CCTGGTATGAAG	1-10-1 MOE	1403
390015	97857	97868	GGTCCTGGTATG	1-10-1 MOE	1404
336197	97862	97875	TTCTCTGGTCTG	3-8-3 MOE	1405
397987	97866	97879	AGGTTTCTCTGGT	2-10-2 MOE	1406
398057	97867	97878	GGTTTCTCTGG	1-10-1 MOE	1407
336198	97873	97886	TTTTCTGAGGTTTC	3-8-3 MOE	1408
336199	97891	97904	AGACTTCCATTTTC	3-8-3 MOE	1409
389974	97893	97904	AGACTTCCATTT	1-10-1 MOE	1410
389773	97893	97904	AGACTTCCATTT	1-9-2 MOE	1410
336200	97918	97931	CAAATGCTATCGAT	3-8-3 MOE	1411
336201	97933	97946	GCACGCTCTATACT	3-8-3 MOE	1412
389975	97934	97945	CACGCTCTATAC	1-10-1 MOE	1413
389774	97934	97945	CACGCTCTATAC	1-9-2 MOE	1413
336202	97948	97961	TCCTTGTCATTATC	3-8-3 MOE	1414
397988	97990	98003	GCTTTGTCAAGATC	2-10-2 MOE	1415
389976	97991	98002	CTTTGTCAAGAT	1-10-1 MOE	1177
389775	97991	98002	CTTTGTCAAGAT	1-9-2 MOE	1177
336203	97991	98004	TGCTTTGTCAAGAT	3-8-3 MOE	1416
397989	98017	98030	AAGTATCGGTTGGC	2-10-2 MOE	1417
336204	98017	98030	AAGTATCGGTTGGC	3-8-3 MOE	1417
398058	98018	98029	AGTATCGGTTGG	1-10-1 MOE	1418
336205	98032	98045	TTAAAATTTGGAGA	3-8-3 MOE	1419

10

20

30

40

【表 2 2 - 7】

397990	98034	98047	CCTTAAAATTTGGA	2-10-2 MOE	1420
389977	98035	98046	CTTAAAATTTGG	1-10-1 MOE	1421
389776	98035	98046	CTTAAAATTTGG	1-9-2 MOE	1421
336207	102230	102243	TCTACTGTTTTTGT	3-8-3 MOE	1422
336208	102236	102249	GGCTCCTCTACTGT	3-8-3 MOE	1423
335330	102251	102265	AGCCTCTGGATTTGA	1-10-4 MOE	1424
335331	102252	102266	TAGCCTCTGGATTTG	1-10-4 MOE	1426
336209	102252	102265	AGCCTCTGGATTTG	3-8-3 MOE	1425
335377	102252	102266	TAGCCTCTGGATTTG	1-10-4 メチレンオキシ BNA 3' ウィング内はホスホジエステル	1426
335376	102252	102266	TAGCCTCTGGATTTG	1-10-4 メチレンオキシ BNA	1426
390577	102253	102266	TAGCCTCTGGATTT	1-10-3 MOE シトシンは非修飾 ウィング内の T は 2-チオチミンである	1427
335332	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	1-10-4 MOE	1429
386770	102253	102266	TAGCCTCTGGATTT	1-11-2 MOE	1427
375560	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 MOE	1429
391449	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 MOE シトシンは非修飾	1429
392055	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 MOE キャップ内のシトシンは非修飾	1429
362977	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	2-12-2 MOE	1428
371975	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	3-10-2 MOE	1429
386556	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
335341	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
335350	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
383739	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE キャップ内は 5-メチルシトシン	1428
390576	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE キャップ内は 5-メチルシトシン ウィング内の T は 2-チオチミンである	1428
390580	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE ウィング内のピリミジンは 5-チアゾールである キャップ内のシトシンは非修飾	1428
390581	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE キャップ内のシトシンは非修飾	1428
391096	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
391098	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE	1428
391863	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE シトシンは非修飾	1428
384071	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 OMe キャップ内は 5-メチルシトシン	1428
385036	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 OMe/2'-O-メチル-4'-チオ/2'-O-メチル-4'-チオ ウィング内のシトシンは非修飾	1428
335368	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA ウィング内はホスホジエステル結合	1428
391864	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA	1428

10

20

30

40

【表 2 2 - 8】

				キヤップ内のシリンは非修飾	
392054	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 メチレンオキシ BNA キヤップ内のシリンは非修飾	1429
391172	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1429
391865	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1428
391868	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 (5'R)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA / メチレンオキシ BNA /(5'R)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1428
391869	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 メチレンオキシ BNA /(5'S)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA /(5'S)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1428
384073	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA キヤップ内は 5-メチルシリン	1428
335379	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 メチレンオキシ BNA	1428
390579	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-1-1-10-3 MOE/4'チオ/2'-O- [(2-メキシ)エチル]-4'-チオ/2'-O- [(2-メキシ)エチル]-4'-チオ ウイング内のシリンは非修飾 ウイング内はホスホジエステル結合	1428
390582	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/4'チオ/2'-O-[(2- メキシ)エチル]-4'-チオ ウイング内のシリンは非修飾 ウイング内はホスホジエステル結合	1428
390606	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/pentaF/pentaF ウイング内のシリンは非修飾 ウイング内はホスホジエステル結合	1428
384072	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/pentaF/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
385871	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 OMe/ 2'-O-[(2-メキシ) エチル]-4'-チオ/ 2'-O-[(2-メキシ) エチル]-4'-チオ ウイング内のシリンは非修飾	1428
390607	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-3 MOE/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
390608	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 MOE/pentaF/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
390609	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	3-10-2-1 MOE/MOE/pentaF ウイング内のシリンは非修飾	1428
386682	102253	102268	GCTAGCCTCTGGATTT	1-2-10-3 2'-( <u>フチルアセアミド</u> )- <u>ハ</u> <u>ルミタミド</u> /MOE /MOE	1428
391173	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 (5'R)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA シリンは非修飾	1429
391174	102253	102267	CTAGCCTCTGGATTT	2-10-3 (5'S)-5'-メチル-メチレンオキシ BNA	1429

【表 2 2 - 9】

				シリンは非修飾	
386970	102254	102266	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 MOE	1432
390578	102254	102266	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 MOE シリンは非修飾 ウイング内の T は、2-チオチミンである	1432
335333	102254	102268	GCTAGCCTCTGGATT	1-10-4 MOE	1430
331429	102254	102267	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 MOE	1431
335349	102254	102267	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 MOE	1431
335367	102254	102267	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 メチレンオキシ BNA ウイング内はホスホジエステル結合	1431
392061	102254	102267	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 メチレンオキシ BNA キヤップ内のシリンは非修飾	1431
335378	102254	102267	CTAGCCTCTGGATT	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1431
383991	102254	102266	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 2'-(アセチルアミノ-ブチル-アセトアミド)- コレステロール /MOE	1432
383992	102254	102266	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 2'-(アセチルアミノ-ブチル-アセトアミド)- コール酸/MOE	1432
386683	102254	102266	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 5'末端は 2'-(ブチルアセトアミド)- パルミタミド/MOE	1432
390614	102254	102266	TAGCCTCTGGATT	1-10-2 PentaF	1432
389954	102255	102266	TAGCCTCTGGAT	1-10-1 MOE	1434
335334	102255	102269	TGCTAGCCTCTGGAT	1-10-4 MOE	1433
389777	102255	102266	TAGCCTCTGGAT	1-9-2 MOE	1434
390430	102256	102268	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シリンは非修飾	1163
390431	102256	102268	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シリンは非修飾 ウイング内の C は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1163
390432	102256	102268	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE	1163
390433	102256	102268	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シリンは非修飾 Nt 6 は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1163
390434	102256	102268	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シリンは非修飾 Nt 7 は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1163
390435	102256	102268	GCTAGCCTCTGGA	1-10-2 MOE シリンは非修飾 Nt 9 は、9-(アミノエトキシ)フェキサジンである	1163
335335	102256	102270	CTGCTAGCCTCTGGA	1-10-4 MOE	1435
335336	102257	102271	ACTGCTAGCCTCTGG	1-10-4 MOE	1436
335337	102258	102272	AACTGCTAGCCTCTG	1-10-4 MOE	1437
335338	102259	102273	GAAGCTAGCCTCT	1-10-4 MOE	1438
335339	102260	102274	TGAAGCTAGCCTC	1-10-4 MOE	1439

10

20

30

40

【表 2 2 - 1 0】

335340	102261	102275	TTGAACTGCTAGCCT	1-10-4 MOE	1440
336210	102261	102274	TGAACTGCTAGCCT	3-8-3 MOE	1441
397991	102264	102277	AGTTGAACTGCTAG	2-10-2 MOE	1442
398059	102265	102276	GTTGAACTGCTA	1-10-1 MOE	1443
390017	102268	102279	GAAGTTGAACTG	1-10-1 MOE	1444
336211	102269	102282	ACAGAAGTTGAACT	3-8-3 MOE	1445
397992	102293	102306	TCATTGTCACTAAC	2-10-2 MOE	1446
336212	102293	102306	TCATTGTCACTAAC	3-8-3 MOE	1446
398060	102294	102305	CATTGTCACTAA	1-10-1 MOE	1447
389978	102301	102312	TCAGGTTTCATTG	1-10-1 MOE	1448
389778	102301	102312	TCAGGTTTCATTG	1-9-2 MOE	1448
336213	102303	102316	ATGATCAGGTTTCAT	3-8-3 MOE	1449
397993	102307	102320	TATAATGATCAGGT	2-10-2 MOE	1450
398061	102308	102319	ATAATGATCAGG	1-10-1 MOE	1451
336214	102314	102327	GAATATCTATAATG	3-8-3 MOE	1139
390019	102320	102331	GTCAGAATATCT	1-10-1 MOE	1173
397994	102322	102335	TGGTGTCAGAATAT	2-10-2 MOE	1452
398062	102323	102334	GGTGTCAGAATA	1-10-1 MOE	1255
336215	102326	102339	TCAGTGGTGTCAGA	3-8-3 MOE	1453
336216	102339	102352	CTCTGGATCAGAGT	3-8-3 MOE	1454
390020	102340	102351	TCTGGATCAGAG	1-10-1 MOE	1149
336217	102349	102362	AAGGTTTCATTCTCT	3-8-3 MOE	1455
397995	102357	102370	TTCATCAAAAGGTT	2-10-2 MOE	1456
389979	102358	102369	TCATCAAAAGGT	1-10-1 MOE	1176
389779	102358	102369	TCATCAAAAGGT	1-9-2 MOE	1176
336218	102358	102371	CTTCATCAAAAGGT	3-8-3 MOE	1457
390021	102360	102371	CTTCATCAAAAG	1-10-1 MOE	1458
336219	102366	102379	ATGCTGATCTTCAT	3-8-3 MOE	1459
336220	102381	102394	TTTTGTAATTTGTG	3-8-3 MOE	1460
336221	102387	102400	TCAGACTTTTGTAA	3-8-3 MOE	1461
390022	102443	102454	CAGTTTATTCAA	1-10-1 MOE	1142
397996	102477	102490	TGTCCTATTGCCAT	2-10-2 MOE	1462
398063	102478	102489	GTCCTATTGCCA	1-10-1 MOE	1205
397997	102487	102500	TCTGACACAATGTC	2-10-2 MOE	1463
398064	102488	102499	CTGACACAATGT	1-10-1 MOE	1464
397998	102505	102518	TGTTCCCTATAACTG	2-10-2 MOE	1465
398065	102506	102517	GTTCCCTATAACT	1-10-1 MOE	1466
397999	102528	102541	AAGATTGGTCAGGA	2-10-2 MOE	1467
398066	102529	102540	AGATTGGTCAGG	1-10-1 MOE	1468
398000	102561	102574	GTGTCAAAACCCTG	2-10-2 MOE	1469
398067	102562	102573	TGTCAAAACCCT	1-10-1 MOE	1210
390025	102563	102574	GTGTCAAAACCC	1-10-1 MOE	1211
390026	102595	102606	AGCTACACAACC	1-10-1 MOE	1470
398001	102596	102609	CACAGCTACACAAC	2-10-2 MOE	1471
398068	102597	102608	ACAGCTACACAA	1-10-1 MOE	1472
398002	102607	102620	TATATACATGACAC	2-10-2 MOE	1473
398069	102608	102619	ATATACATGACA	1-10-1 MOE	1474
390027	102612	102623	AGGTATATACAT	1-10-1 MOE	1206
398003	102637	102650	AATTTTAAATGTCC	2-10-2 MOE	1475
398070	102638	102649	ATTTTAAATGTC	1-10-1 MOE	1476
390028	102648	102659	TCCTAATTGAAT	1-10-1 MOE	1477
390029	102667	102678	AAAGTGCCATCT	1-10-1 MOE	1478
398004	102689	102702	TTTATAAAACTGGA	2-10-2 MOE	1479

【 0 9 0 5】

10

20

30

40

【表 2 2 - 1 1】

398071	102690	102701	TTATAAACTGG	1-10-1 MOE	1480
390030	102691	102702	TTTATAAACTG	1-10-1 MOE	1074
398005	102827	102840	TGCAAACCTTATCTG	2-10-2 MOE	1481
398072	102828	102839	GCAAACCTTATCT	1-10-1 MOE	1482
390033	102836	102847	AGCCAACCTGCAA	1-10-1 MOE	1483
398006	102837	102850	CTTAGCCAACCTGCA	2-10-2 MOE	1484
398073	102838	102849	TTAGCCAACCTGC	1-10-1 MOE	1485
398007	103069	103082	AGCACC AATATGCT	2-10-2 MOE	1247
398074	103070	103081	GCACC AATATGC	1-10-1 MOE	1248
398008	103267	103280	TAAATCATTGTCAA	2-10-2 MOE	1486
398075	103268	103279	AAATCATTGTCA	1-10-1 MOE	1233
398009	103327	103340	GCACTGGCCTTGAT	2-10-2 MOE	1487
398076	103328	103339	CACTGGCCTTGA	1-10-1 MOE	1488
390041	103332	103343	TTAGCACTGGCC	1-10-1 MOE	1489
390047	103585	103596	TGTGTAAGGTCA	1-10-1 MOE	1490
390049	103636	103647	GTTAATGACATT	1-10-1 MOE	1491
390050	103660	103671	GTATTCAAGTAA	1-10-1 MOE	1140
390052	103780	103791	GACAATTTCTAC	1-10-1 MOE	1492
390054	103862	103873	AACACTGCACAT	1-10-1 MOE	1493

塩、プロドラッグおよび生物学的等価体 (bioequivalent)

本明細書中に提供されるアンチセンス化合物は、任意の薬学的に受容可能な塩、エステル、またはこのようなエステルの塩、あるいは、ヒトを含む動物に投与した際に生物学的に活性な代謝産物またはその残基を（直接的または間接的に）提供し得る、任意の他の機能的な化学等価体を含む。したがって、例えば、本開示はまた、アンチセンス化合物のプロドラッグおよび薬学的に受容可能な塩、このようなプロドラッグの薬学的に受容可能な塩、ならびに、他の生物学的等価体にも拡張される。

#### 【0906】

用語「プロドラッグ」は、不活性または活性が低い形態で調製され、体内またはその細胞内で、内因性の酵素、化学物質および/または状態の作用により活性な形態（すなわち、薬物）へと変換される治療因子を指す。具体的に、オリゴヌクレオチドのプロドラッグバージョンは、WO 93/24510またはWO 94/26764に開示される方法に従って、SATE（（S-アセチル-2-チオエチル）ホスフェート）誘導体として調製される。プロドラッグはまた、一方または両方の末端が核酸塩基（この核酸塩基は、（例えば、末端にホスホジエステルバックボーン結合を組み込むことによって）切断されて活性な化合物を生じる）を含む、アンチセンス化合物を含み得る。特定の実施形態では、1以上の非薬物部分が、プロドラッグから切断されて、活性な形態を生じる。特定のこのような実施形態では、このような非薬物部分は、ヌクレオチドでもオリゴヌクレオチドでもない。

#### 【0907】

用語「薬学的に受容可能な塩」は、本明細書中に記載される化合物の生理学的に重要な塩および薬学的に受容可能な塩；すなわち、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、これに対して所望されない毒物学的作用を与えない塩、を指す。アンチセンスオリゴヌクレオチドのナトリウム塩は、ヒトに対する治療的な投与に有用であり、このような投与に対し、都合よく適応される。

#### 【0908】

特定の実施形態では、二本鎖核酸（dsRNA化合物が挙げられるがこれらに限定されない）の塩（ナトリウム塩が挙げられるがこれらに限定されない）もまた提供される。

#### 【0909】

G. 特定の薬学的組成物

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、1以上の短鎖アンチセンス化合物および1以上の賦形剤を含む。特定のこのような実施形態では、賦形剤は、水、塩溶液、アル

10

20

30

40

50

コール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミラーゼ、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロースおよびポリビニルピロリドンから選択される。

【0910】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、公知の技術（溶解、造粒、糖衣錠作製、研和（levigating）、カプセル化、エントラッピング（entrapping）または錠剤化プロセスが挙げられるがこれらに限定されない）を用いて調製される。

【0911】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、液体（例えば、懸濁液、エリキシルおよび/または溶液）である。特定のこのような実施形態では、液体薬学的組成物は、当該分野で公知の成分（水、グリコール、油、アルコール、矯味矯臭剤、保存料および着色剤が挙げられるがこれらに限定されない）を用いて調製される。

10

【0912】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、固体（例えば、粉末、錠剤および/またはカプセル）である。特定のこのような実施形態では、1以上のオリゴヌクレオチドを含有する固体薬学的組成物は、当該分野で公知の成分（デンプン、糖、希釈剤、顆粒化剤、滑沢剤、結合剤および法介在が挙げられるがこれらに限定されない）を用いて調製される。

【0913】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、蓄積調製物（depot preparation）として処方される。特定のこのようなデポ調製物は、代表的には、非蓄積調製物よりも長く作用する。特定の実施形態では、このような調製物は、移植（例えば、皮下または筋肉内）または筋肉内注射によって投与される。特定の実施形態では、蓄積調製物は、適切なポリマー性もしくは疎水性材料（例えば、受容可能な油中のエマルジョン）またはイオン交換樹脂を用いて、または、難溶性誘導体として（例えば、難溶性塩として）調製される。

20

【0914】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、送達システムを含む。送達システムの例としては、リポソームおよびエマルジョンが挙げられるがこれらに限定されない。特定の送達システムは、特定の薬学的組成物（疎水性化合物を含有する組成物を含む）を調製するための有用である。特定の実施形態では、ジメチルスルホキシドのような特定の有機溶媒が使用される。

30

【0915】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、本発明の1以上の薬学的因子を特定の組織または細胞型に送達するように設計された1以上の組織特異的な送達分子を含有する。例えば、特定の実施形態では、薬学的組成物は、組織特異的な抗体でコーティングされたリポソームを含む。

【0916】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、共溶媒系を含む。特定のこのような共溶媒系は、例えば、ベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性ポリマーおよび水性相を含む。特定の実施形態では、このような共溶媒系は、疎水性化合物のために使用される。このような共溶媒系の非限定的な例は、VPD共溶媒系であり、これは、3% w/vのベンジルアルコール、8% w/vの非極性界面活性剤であるPolysorbate 80<sup>TM</sup>および65% w/vのポリエチレングリコール300を含有する無水エタノールの溶液である。このような共溶媒系の割合は、その可溶性および毒性の特徴を有意に変更することなく、かなり変化し得る。さらに、共溶媒の成分の同一性が変化し得る：例えば、他の界面活性剤が、Polysorbate 80<sup>TM</sup>の代わりに使用され得る；ポリエチレングリコールの分画サイズが変化し得る；他の生体適合性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）が、ポリエチレングリコールを置き換え得る；ならびに、他の糖または多糖が、デキストロースに取って代わり得る。

40

50



## 【0917】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、持続放出システムを含む。このような持続放出システムの非限定的な例は、固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスである。特定の実施形態では、持続放出システムは、その化学的性質に依存して、数時間、数日間、数週間または数ヶ月間の期間にわたり、薬学的因子を放出し得る。

## 【0918】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、経口投与のために調製される。特定のような実施形態では、薬学的組成物は、1以上のオリゴヌクレオチドを1以上の薬学的に受容可能なキャリアと合わせることによって処方される。特定のようなキャリアは、薬学的組成物が、被験体による経口摂取のための錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ジェル、シロップ、スラリー、懸濁液などとして処方されることを可能にする。特定の実施形態では、経口用の薬学的組成物は、オリゴヌクレオチドおよび1以上の固体賦形剤を混合することによって得られる。適切な賦形剤としては、糖（乳糖、ショ糖、マンニトールまたはソルビトールを含む）のような充填剤；例えば、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、米デンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチル-セルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースおよび/またはポリビニルピロリドン（PVP）のようなセルロース調製物が挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、このような混合物は、必要に応じて、磨り潰され、そして、補助物質（auxiliary）が必要に応じて添加される。特定の実施形態では、薬学的組成物は、錠剤または糖衣錠のコアを得るために形成される。特定の実施形態では、崩壊剤（例えば、架橋ポリビニルピロリドン、寒天もしくはアルギン酸、またはアルギン酸ナトリウムのようなこれらの塩）が添加される。

## 【0919】

特定の実施形態では、糖衣錠のコアにはコーティングが施される。特定のような実施形態では、濃縮糖溶液が使用され得、これは、必要に応じて、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコールおよび/または二酸化チタン、ラッカー溶液、ならびに、適切な有機溶媒もしくは溶媒混合物を含有し得る。染料または色素が、錠剤または糖衣錠のコーティングに添加され得る。

## 【0920】

特定の実施形態では、経口投与のための薬学的組成物は、ゼラチンから形成された滑り嵌め（push-fit）カプセルである。特定のような滑り嵌めカプセルは、乳糖のような1以上の充填剤、デンプンのような結合剤、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のような滑沢剤、ならびに、必要に応じて、安定化剤を含む混合剤中に、1以上の本発明の薬学的因子を含有する。特定の実施形態では、経口投与のための薬学的組成物は、ゼラチンおよび可塑剤（例えば、グリセロールまたはソルビトール）から作成された、密封された軟カプセルである。特定のカプセルにおいて、1以上の本発明の薬学的因子は、適切な液体（例えば、脂肪性油、流動パラフィン、または液体ポリエチレングリコール）中に溶解または懸濁される。さらに、安定化剤が添加され得る。

## 【0921】

特定の実施形態では、薬学的組成物は、バツカル投与（buccal administration）のために調製される。特定のような薬学的組成物は、従来の様式で処方される錠剤またはロゼンジである。

## 【0922】

特定の実施形態では、薬学的組成物は、注射（例えば、静脈内、皮下、筋肉内など）による投与のために調製される。特定のような実施形態では、薬学的組成物はキャリアを含み、そして、水溶液（例えば、水またはHank溶液、Ringer溶液または生理食塩水のような生理学的に適合性の緩衝液）中に処方される。特定の実施形態では、他の成分（例えば、溶解性を補助する成分または保存料としてはたらく成分）が含まれる。特定の実施形態では、注射可能な懸濁液が、適切な液体キャリア、懸濁剤などを用いて調製される。注射のための特定の薬学的組成物は、単位投薬形態（例えば、アンプル）また

10

20

30

40

50

は複数の用量の容器で提供される。注射のための特定の薬学的組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液もしくはエマルジョンであり、そして、懸濁剤、安定化剤および/もしくは分散剤のような処方用の因子を含み得る。注射のための薬学的組成物において使用するのに適した特定の溶媒としては、親油性溶媒および脂肪性油（例えば、ごま油）、合成脂肪酸エステル（例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリド）およびリポソームが挙げられるがこれらに限定されない。水性注射用懸濁液は、懸濁液の粘性を増加させる物質（例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトールまたはデキストラン）を含み得る。必要に応じて、このような懸濁液はまた、適切な安定化剤、または薬学的因子の溶解性を増大させて、高度に濃縮された溶液の調製を可能にする因子を含み得る。

10

**【0923】**

特定の実施形態では、薬学的組成物は、経粘膜投与のために調製される。特定のこのような実施形態では、浸透されるバリアに適切な浸透性物質が処方に使用される。このような浸透性物質は、一般に当該分野で公知である。

**【0924】**

特定の実施形態では、薬学的組成物は、吸入による投与のために調製される。吸入のための特定のこのような薬学的組成物は、加圧パックまたは噴霧器中のエアロゾルスプレーの形態で調製される。特定のこのような薬学的組成物は、圧縮不活性ガス（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適切なガス）を含む。特定の実施形態では、加圧エアロゾルを使用する場合、投薬単位は、定量の用量を送達する弁で決定され得る。特定の実施形態では、吸入器または散布器において使用するためのカプセルおよびカートリッジが処方され得る。特定のこのような処方物は、本発明の薬学的因子と、乳糖またはデンプンのような適切な粉末基剤との粉末混合物を含む。

20

**【0925】**

特定の実施形態では、薬学的組成物は、直腸投与のために調製される（例えば、挫剤または貯留浣腸）。特定のこのような薬学的組成物は、カカオ脂および/または他のグリセリドのような公知の成分を含む。

**【0926】**

特定の実施形態では、薬学的組成物は、局所投与のために調製される。特定のこのような薬学的組成物は、無刺激の湿潤基材（例えば、軟膏またはクリーム）を含む。例示的な適切な軟膏基材としては、ワセリン、ワセリン+揮発性シリコン、ラノリン、および Beiersdorf (Cincinnati, Ohio) から入手可能な Eucerin<sup>TM</sup> のような油中水エマルジョンが挙げられるがこれらに限定されない。例示的な適切なクリーム基材としては、Beiersdorf (Cincinnati, Ohio) から入手可能な Nivea<sup>TM</sup> クリーム、コールドクリーム (USP)、Johnson & Johnson (New Brunswick, N.J.) から入手可能な Purpose Cream<sup>TM</sup>、Pfizer (Morris Plains, N.J.) から入手可能な Lubriderm<sup>TM</sup> が挙げられるがこれらに限定されない。

30

**【0927】**

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、治療上有効な量のオリゴヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、治療上有効な量は、疾患の症状を予防、軽減もしくは改善するか、または、処置される被験体の生存を延長するのに十分である。治療上有効な量の決定は、十分に当業者の能力の範囲内である。

40

**【0928】**

特定の実施形態では、1以上の本発明の短鎖アンチセンス化合物は、プロドラッグとして処方される。特定の実施形態では、インピボ投与した際、プロドラッグは、短鎖アンチセンス化合物の生物学的に、薬学的に、または、治療的により活性な形態へと化学的に変換される。特定の実施形態では、プロドラッグは、対応する活性形態よりも投与が容易なので、有用である。例えば、特定の場合において、プロドラッグは、対応する活性形態よ

50

りも（例えば、経口投与を介した）バイオアベイラビリティが高くあり得る。特定の場合において、プロドラッグは、対応する活性形態と比較して改善された溶解性を有し得る。特定の実施形態では、プロドラッグは、対応する活性形態よりも水への溶解性が低い。特定の場合において、このようなプロドラッグは、より優れた細胞膜通過性を有し、細胞膜では、水への溶解性が移動性に対し不利益である。特定の実施形態では、プロドラッグはエステルである。特定のこのような実施形態では、エステルは、投与した際に、カルボン酸へと代謝により加水分解される。特定の場合において、カルボン酸を含有する化合物は、対応する活性形態である。特定の実施形態では、プロドラッグは、酸性基に結合した短いペプチド（ポリアミノ酸）を含む。特定のこのような実施形態では、ペプチドは、投与した際に切断されて、対応する活性形態を形成する。

10

## 【0929】

特定の実施形態では、プロドラッグは、インビボ投与した際に活性な化合物が再生されるように、薬学的に活性な化合物を修飾することによって生成される。プロドラッグは、薬物の代謝安定性もしくは輸送特性を変更するため、副作用もしくは毒性を遮蔽するため、薬物の風味を改良するため、または、薬物の他の特徴もしくは特性を変更するために設計され得る。インビボにおける薬学的プロセスおよび薬物代謝の知識に基づけば、一旦薬学的に活性な化合物が公知となると、当業者は化合物のプロドラッグを設計し得る（例えば、Nogrady (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, New York, 388 - 392 頁を参照のこと）。

20

## 【0930】

特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的因子を含有する薬学的組成物は、哺乳動物（特に、ヒト）被験体における状態または障害を処置するために有用である。適切な投与経路としては、経口、直腸、経粘膜、腸内 (intestinal)、経腸 (enteral)、局所、挫剤、吸入、クモ膜下腔内、心室内、腹腔内、鼻腔内、眼内および非経口（例えば、静脈内、筋肉内、骨髄内および皮下）が挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、クモ膜下腔内投与用の薬 (pharmaceutical intrathecal) は、全身への曝露ではなく、局所的な曝露を達成するように投与される。例えば、薬学的組成物は、所望の作用領域（例えば、腎臓領域または心臓領域）に直接注射され得る。

30

## 【0931】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドと比較して、特に経口投与に適するようにされる。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドと比較して増大した効力を有するので、これらの親オリゴヌクレオチドよりも経口投与により適している。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドと比較してより良い安定性、アベイラビリティまたは溶解性の特性を有するので、これらの親オリゴヌクレオチドよりも経口投与に適している。

## 【0932】

さらなる局面では、薬学的因子は、適切な希釈剤（例えば、注射用の滅菌水）で再構成される、滅菌の凍結乾燥されたオリゴヌクレオチドである。再構成された生成物は、生理食塩水中に希釈した後、皮下注射として、または、静脈内注入として投与される。凍結乾燥された薬物生成物は、調製中に酸または塩基で pH 7.0 ~ 9.0 に調整された注射用水中で調製され、その後凍結乾燥されたオリゴヌクレオチドから構成される。この凍結乾燥されたオリゴヌクレオチドは、25 ~ 800 mg のオリゴヌクレオチドであり得る。これは、25 mg、50 mg、75 mg、100 mg、125 mg、150 mg、175 mg、200 mg、225 mg、250 mg、275 mg、300 mg、325 mg、350 mg、375 mg、425 mg、450 mg、475 mg、500 mg、525 mg、550 mg、575 mg、600 mg、625 mg、650 mg、675 mg、700 mg、725 mg、750 mg、775 mg および 800 mg の凍結乾燥したオリゴヌクレ

40

50

オチドを包含することが理解される。凍結乾燥した薬物生成物は、プロモブチルのゴム栓で栓をし、そして、アルミニウム F L I P - O F F (登録商標) オーバーシールでシールされた、2 mL の I 型の透明なガラスバイアル (硫酸アンモニウム処理) 中に入れられ得る。

#### 【0933】

本発明の組成物は、さらに、当該分野で確立された使用レベルの、薬学的組成物中に従来見られる他の補助成分を含み得る。したがって、例えば、組成物は、追加の適合性がある薬学的に活性な物質 (例えば、鎮痒剤、収斂剤、局所麻酔薬または抗炎症剤など) を含んでいても、本発明の種々の投薬形態を物理的に処方する際に有用な追加の物質 (色素、矯味矯臭剤、保存料、抗酸化剤、不透明化剤、増粘剤および安定化剤など) を含んでいても良い。しかし、このような物質は、添加される場合、本発明の組成物の成分の生物学的活性と過度に干渉しないべきである。処方物は、滅菌され得、そして、所望される場合、処方物のオリゴヌクレオチドと有害に干渉しない補助因子 (例えば、滑沢剤、保存料、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を与える塩、緩衝液、着色料、矯味矯臭料および/または芳香物質など) と混合され得る。

10

#### 【0934】

本明細書中に提供されるアンチセンス化合物はまた、他の分子、分子構造体もしくは化合物の混合物と、混合、カプセル化、結合、または、他の方法で関連付けられ得る。

#### 【0935】

また、本明細書中には、本明細書中に提供されるアンチセンス化合物を含む薬学的組成物および処方物が記載される。薬学的組成物は、局所性または全身性の処置が所望されているかどうか、そして、処置される領域に依存して、多数の方法で投与され得る。好ましい実施形態では、投与は、呼吸器管 (特に、肺) の表面に、例えば、粉末もしくはエアロゾルの噴霧、吸入または散布によって、口および/または鼻によって、局所的になされる。

20

#### 【0936】

簡便には単位投薬形態で提供され得る、本明細書中に記載される薬学的処方物は、製薬産業において周知の従来技術に従って調製され得る。このような技術は、活性な成分を薬学的なキャリアまたは賦形剤と会合させる工程を包含する。一般に、処方物は、活性成分を、液体キャリア、微粉化された固体キャリアまたはその両方と均一かつ密接に会合させ、次いで、必要に応じて、生成物を (例えば、送達のための特別な粒子サイズへと) 成形することによって調製される。好ましい実施形態では、薬学的処方物は、キャリアまたは他の因子を用いて、適切な溶媒 (例えば、水または通常の生理食塩水) 中、可能であれば、滅菌処方物中で、肺投与のために調製されて、吸入器、経鼻送達デバイス、噴霧器および肺送達のための他のデバイスを用いた送達のために所望される直径の液滴の形成を可能にする。あるいは、薬学的処方物は、乾燥粉末吸入器において使用するためのドライパウダーとして処方され得る。

30

#### 【0937】

「薬学的なキャリア」または「賦形剤」は、1以上の核酸を個体に送達するための薬学的に受容可能な溶媒、懸濁剤、または任意の他の薬理的に不活性なビヒクルであり得、そして、当該分野で公知である。賦形剤は、液体または固体であり得、そして、核酸および所定の薬学的組成物の他の成分と組み合わせられる場合に、所望される容積、粘度 (consistency) などを提供するように、心に決めた投与様式に従って選択される。

40

#### 【0938】

##### H. 特定の治療上の用途

特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、動物 (例えば、ヒト) における標的遺伝子の発現を調節するために使用される。特定の実施形態ではこのような化合物は、代謝障害を処置するため、または、1以上の疾患の徴候を調節するために使用され得る。例えば、この方法は、標的遺伝子に関連する疾患または状態の治療を必要とする上記動物に対して、この標的遺伝子の発現を調節するアンチセンス化合物の有効量を投与する工程を包含

50

する。標的RNAの発現または発現のタンパク質生成物を効率的に調節する、本明細書中に提供されるアンチセンス化合物は、有効なアンチセンス化合物とみなされる。有効なアンチセンス化合物はまた、多数の疾患の徴候（例えば、代謝および心臓血管系の疾患の徴候、この例は、以下に記載される）のうち1以上を効率的に調節する化合物を含む。

【0939】

標的遺伝子の発現の調節は、動物の細胞；組織；または器官を含んでいても含んでいなくてもよい体液において測定され得る。体液（例えば、唾液、血清、尿）、組織（例えば、生検）または器官のような解析のためのサンプルを得る方法、および、サンプルを解析可能に調製する方法は、当業者に周知である。RNAおよびタンパク質のレベルを解析するための方法は、上述されており、当業者に周知である。処置の効果は、当該分野で慣用的な臨床上の方法により、バイオマーカーもしくは疾患の徴候（動物から回収され、本明細書中に記載される1以上の化合物と接触させられた上述の体液、組織もしくは器官において標的遺伝子の発現と関連付けられる）を測定することによって評価され得る。これらのバイオマーカーとしては、肝トランスアミナーゼ、ビリルビン、アルブミン、血中尿素窒素、クレアチン、ならびに腎機能および肝機能の他のマーカー；インターロイキン、腫瘍壊死因子、細胞間接着分子、C反応性タンパク質、ケモカイン、サイトカインおよび他の炎症マーカーが挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0940】

本明細書中に提供されるアンチセンス化合物は、有効量の化合物を、適切な薬学的に受容可能な希釈剤またはキャリアに加えることによって、薬学的組成物中で利用され得る。需要可能なキャリアおよび希釈剤は、当業者に周知である。希釈剤またはキャリアの選択は、多数の要因（化合物の溶解性および投与経路が挙げられるがこれらに限定されない）に基づく。このような考慮は、十分に当業者により理解される。一局面では、本明細書中に記載されるアンチセンス化合物は、標的遺伝子の発現を阻害する。化合物はまた、標的遺伝子に関連する疾患および障害の処置のための医薬の製造において使用され得る。

20

【0941】

体液、器官または組織を、本明細書中に提供される1以上のアンチセンス化合物または組成物の有効量と接触させる方法もまた企図される。体液、器官または組織は、1以上の上記化合物と接触させられ、体液、器官または組織の細胞における標的遺伝子の発現の調節をもたらし得る。有効な量は、当業者にとって慣用的な方法により、標的核酸またはその産物に対する、アンチセンス化合物もしくは組成物の調節作用をモニタリングすることによって決定され得る。

30

【0942】

同時投与

特定の実施形態では、2以上のアンチセンス化合物が同時に投与される。特定の実施形態では、薬学的組成物は、第1の核酸に対して標的化された1以上のアンチセンス化合物（特に、オリゴヌクレオチド）と、第2の核酸標的に対して標的化された1以上のアンチセンス化合物とを含む。1以上のこれらのアンチセンス化合物は、短鎖アンチセンス化合物であり得る。特定の実施形態では、薬学的組成物は、同じ核酸標的の異なる領域に対して標的化された2以上のアンチセンス化合物を含む。1以上のこのようなアンチセンス化合物は、短鎖アンチセンス化合物であり得る。2以上の組み合わせられた化合物は、一緒に、または、連続して使用され得る。

40

【0943】

特定の実施形態では、1以上の薬学的組成物は、1以上の他の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と同じ疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物と異なる疾患または状態を処置するように設計される。特定の実施形態では、このような1以上の他の薬学的因子は、1以上の本発明の薬学的組成物の望ましくない作用を処置するように設計される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物は、その他の薬学的因子の望ま

50

しくない作用を処置するために、別の薬学的因子と同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、同時に投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、異なる時点で投与される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、単一の処方物内で一緒に調製される。特定の実施形態では、1以上の本発明の薬学的組成物と、1以上の他の薬学的因子とは、別々に調製される。

【0944】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、脂質低下剤が挙げられる。特定のこのような実施形態では、本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子としては、アトルバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチンおよびエゼチミブが挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の前に投与される。特定の実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物の投与の後に投与される。特定の実施形態では、脂質低下剤は、本発明の薬学的組成物と同時に投与される。特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与された場合に投与される用量と同じである。特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも少ない。特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤の用量は、脂質低下剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも多い。

【0945】

特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、HMG-CoAレダクターゼインヒビターである。特定のこのような実施形態では、HMG-CoAレダクターゼインヒビターは、スタチンである。特定の実施形態では、スタチンは、アトルバスタチン、シンバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチンおよびロスバスタチンから選択される。特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、コレステロール吸収阻害薬である。特定の実施形態では、コレステロール吸収阻害薬は、エゼチミブである。特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、同時に処方されるHMG-CoAレダクターゼインヒビターおよびコレステロール吸収阻害薬である。特定の実施形態では、同時に処方される脂質低下剤は、エゼチミブ/シンバスタチンである。特定の実施形態では、同時に投与される脂質低下剤は、ミクロソームトリグリセリド転移タンパク質インヒビターである。

【0946】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、胆汁酸金属イオン封鎖剤である。特定の実施形態では、胆汁酸金属イオン封鎖剤は、コレステラミン、コレステポールおよびコレセベラムから選択される。

【0947】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、ニコチン酸である。特定のこのような実施形態では、ニコチン酸は、即時放出性ニコチン酸、延長放出性ニコチン酸および持続放出性ニコチン酸から選択される。

【0948】

特定の実施形態では、同時に投与される薬学的因子は、フィブリン酸である。特定のこのような実施形態では、フィブリン酸は、ゲムフィプロジル、フェノフィブラート、クロフィブラート、ベザフィブラートおよびシプロフィブラートから選択される。

【0949】

本発明の薬学的組成物と同時に投与され得る薬学的因子のさらなる例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：コルチコステロイド（プレドニゾンが挙げられるがこれに限定されない）；免疫グロブリン（静脈内免疫グロブリン（IVIg）が挙げられるがこれに限定されない）；鎮痛剤（例えば、アセトアミノフェン）；抗炎症剤（非ステロイド性抗炎症薬（例えば、イブプロフェン、COX-1インヒビターおよびCOX-2インヒビター）が挙げられるがこれらに限定されない）；サリチル酸；抗生物質；抗ウイ

10

20

30

40

50

ルス薬；抗真菌剤；抗糖尿病剤（例えば、ピグアナイド、グルコシダーゼ阻害剤、インシュリン、スルホニル尿素およびチアゾリジンジオン）；アドレナリン作動性修飾物質；利尿薬；ホルモン（例えば、同化性ステロイド、アンドロゲン、エストロゲン、カルシトニン、プロゲステロン、ソマトスタチンおよび甲状腺ホルモン）；免疫調節因子；筋弛緩剤；抗ヒスタミン薬；骨粗しょう症剤（例えば、ビホスホネート、カルシトニンおよびエストロゲン）；プロスタグランジン、抗新生物剤；精神療法剤；鎮静薬；ウルシ属の非常に有毒な低木の生成物；抗体；およびワクチン。

#### 【0950】

特定の実施形態では、本発明の薬学的組成物は、脂質低下治療と組み合わせて施され得る。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療は、治療的なライフスタイルの変化である。特定のこのような実施形態では、脂質低下治療は、LDLアフェレーシスである。

10

#### 【0951】

##### I. キット、研究用試薬および診断

本明細書中に提供されるアンチセンス化合物は、診断に、そして研究試薬およびキットとして利用され得る。さらに、特異性をもって遺伝子発現を阻害するか、または、遺伝子発現を調節することが可能なアンチセンス化合物は、しばしば、特定の遺伝子の機能を解明するため、または、生物学的な経路の種々のメンバーの機能間を区別するために、当業者により使用される。

#### 【0952】

キットおよび診断における使用について、本明細書中に記載されるアンチセンス化合物は、単独または他の化合物もしくは治療薬との組み合わせのいずれであれ、細胞および組織内で発現される遺伝子の一部または全相補体の発現パターンを解明するための、微分解析および/または組み合わせ解析におけるツールとして使用され得る。遺伝子発現解析の方法は当業者に周知である。

20

#### 【0953】

##### J. 短鎖アンチセンス化合物の特定の利点

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドと比較したときに、利点を有する。例えば、特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、標的核酸に対して、その親オリゴヌクレオチドよりも高い親和性を有する。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドよりも高いインビトロでの効力を有する。特定のこのような実施形態では、インビトロでの効力の増加は、親和性の増加によっては完全には説明されない。特定の実施形態では、このようなインビトロでの効力の増加は、短鎖アンチセンス化合物の細胞透過能の増加、および/または、細胞内の標的核酸にアクセスする能力の増加に寄与し得る。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドよりも高いインビボでの効力を有する。特定の実施形態では、このようなより大きなインビボでの効力は、インビトロでの効力の増加または親和性の増加には寄与しない。特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドと比較したとき、インビトロでの効力または親和性に基づいて予測されるよりもなおより大きなインビボでの効力を有する。特定の実施形態では、このようなインビボでの効力の増加は、バイオアベイラビリティの増加、良好な細胞内への透過、（一度細胞内に入れば）標的核酸に対する良好なアクセス、または、他の要因に寄与し得る。

30

40

#### 【0954】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物は、その親オリゴヌクレオチドと比較した場合に、その標的核酸に対して特異性がより低いことが予想される。特定のこのような実施形態では、短鎖アンチセンス化合物からの副作用（毒性作用の可能性を含む）の増加が予想される。特定の実施形態では、このような追加の副作用は観察されない。特定の実施形態では、特定の短鎖アンチセンス化合物が結合し得る非標的核酸は、上記短鎖アンチセンス化合物に対しては利用可能ではない可能性がある。このような実施形態では、副作用（毒性を含む）は、予想されるよりも問題とならない。

50

## 【0955】

特定の実施形態では、短鎖アンチセンス化合物がより小さいので、短鎖アンチセンス化合物は、タンパク質と結合する可能性が低い。特定のこのような実施形態では、このようなタンパク質への少ない結合は、より低い毒性をもたらす。なぜならば、タンパク質の結合は、所望されない結果をもたらす得るからである。特定の実施形態では、このようなタンパク質への少ない結合は、より高い効力をもたらす。なぜならば、タンパク質への結合が少ないことで、治療効果に利用可能なアンチセンス化合物をより多く残すからである。特定の実施形態では、タンパク質への少ない結合は、薬物 - 薬物相互作用の毒性の低下をもたらす。

## 【0956】

非限定的な開示と参考としての援用

本明細書中に記載される特定の化合物、組成物および方法は、特定の実施形態に従って具体的に記載されてはいるものの、以下の実施例は、本明細書中に記載される化合物を単に例示するものとして機能し、本明細書中に記載される化合物を限定することは意図されない。本願で列挙される参考文献、GenBankアクセッション番号などは各々、その全体が本明細書中に参考として援用される。

## 【実施例】

## 【0957】

## 実施例 1

細胞培養および短鎖アンチセンス化合物での処理

標的核酸の発現に対する短鎖アンチセンス化合物の効果は、多数の培養細胞株または初代細胞株のいずれか1つにおいて試験され得る。細胞株は、American Type Culture Collection (Manassas, VA)のような公的に利用可能な供給源から得られ得る。細胞は、当業者に周知の方法に従って培養する。

## 【0958】

細胞が適切なコンフルエンスに達したときに、細胞を、記載されるようにして、LIPOFECTIN (登録商標) を用いてオリゴヌクレオチドで処理した。細胞が65~75%のコンフルエンスに達したときに、細胞をオリゴヌクレオチドで処理した。オリゴヌクレオチドを、Opti-MEM (登録商標) - 1 低血清培地 (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) 中でLIPOFECTIN (登録商標) (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) と混ぜ、オリゴヌクレオチド100nMあたり2.5µg/mLまたは3µg/mLの濃度の、オリゴヌクレオチドおよびLIPOFECTIN (登録商標) の所望される濃度を得た。このトランスフェクション混合物を室温で約0.5時間インキュベートした。96ウェルプレート中で増殖させた細胞について、ウェルを100µLのOPTI-MEM (登録商標) - 1で1回洗浄し、次いで、130µLのトランスフェクション混合物で処理した。24ウェルプレートまたは他の標準的な組織培養プレートにおいて増殖させた細胞を、適切な容量の培地およびオリゴヌクレオチドを用いて同様に処理した。二連または三連で、細胞を処理し、そして、データを得た。37°Cで約4~7時間処理した後、トランスフェクション混合物を含む培地を、新しい培養培地と交換した。オリゴヌクレオチド処理の16~24時間後に細胞を回収した。

## 【0959】

コントロールのオリゴヌクレオチドを用いて、特定の細胞株についての最適なオリゴマー性化合物の濃度を決定する。さらに、オリゴマー性化合物を、オリゴマー性化合物のスクリーニング実験または表現型アッセイにおいて試験する場合、コントロールのオリゴヌクレオチドを平行して試験する。

## 【0960】

使用されるオリゴヌクレオチドの濃度は、細胞株毎に異なる。特定の細胞株についての最適なオリゴヌクレオチドの濃度を決定するために、細胞を、ある範囲の濃度のポジティブコントロールのオリゴヌクレオチドで処理する。標的mRNAの80%阻害をもたらす

10

20

30

40

50



ポジティブコントロールのオリゴヌクレオチドの濃度を、次に、その細胞株についてのその後の実験における新しいオリゴヌクレオチドのスクリーニング濃度として利用する。80%阻害が達成されない場合、今度は、標的mRNAの60%阻害をもたらすポジティブコントロールのオリゴヌクレオチドの最低濃度を、その細胞株についてのその後の実験におけるオリゴヌクレオチドのスクリーニング濃度として利用する。60%阻害が達成されない場合、その特定の細胞株は、オリゴヌクレオチドトランスフェクション実験には不適切であるとみなす。本明細書中で使用されるアンチセンスオリゴヌクレオチドの濃度は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが、リボソーム試薬を用いてトランスフェクトされる場合には、50 nM ~ 300 nMであり、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドがエレクトロポレーションによりトランスフェクトされる場合には、1 nM ~ 40 nMである。

10

## 【0961】

実施例2：標的mRNAレベルのリアルタイム定量的PCR解析

標的mRNAレベルの定量を、ABI PRISM (登録商標) 7600、7700または7900 Sequence Detection System (PE Applied Biosystems, Foster City, CA)を製造業者の説明書に従って用いる、リアルタイム定量的PCRにより行った。

## 【0962】

定量的PCR解析の前に、測定される標的遺伝子に対して特異的なプライマー-プローブのセットを、GAPDH増幅反応と「複合化される(multiplexed)」能力について評価した。単離した後、RNAを、連続的な逆転写酵素(RT)反応およびリアルタイムPCR(これらは共に、同じウェル内で行う)に供する。RTおよびPCRの試薬は、Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA)から入手した。30 µLの総RNA溶液(20 ~ 200 ng)を含む96ウェルプレートに、20 µLのPCRカクテル(2.5 x PCR緩衝液(MgCl<sub>2</sub>なし)、6.6 mM MgCl<sub>2</sub>、各375 µMのdATP、dCTP、dCTPおよびdGTP、各375 nMのフォワードプライマーおよびリバースプライマー、125 nMのプローブ、4単位のRNaseインヒビター、1.25単位のPLATINUM(登録商標) Taq、5単位のMuLV逆転写酵素、ならびに2.5 x ROX色素)を加えることによって、RT、リアルタイムPCRを、同じウェル内で行った。RT反応を、48 °Cにて30分間行った。95 °Cで10分間インキュベートしてPLATINUM(登録商標) Taqを活性化させた後、40サイクルの以下の2段階PCRプロトコルを行った：95 °Cで15秒間(変性)、その後、60 °Cで1.5分間(アニーリング/伸長)。

20

30

## 【0963】

RT、リアルタイムPCRにより得られる遺伝子標的の量を、GAPDH(その発現が一定である遺伝子)の発現レベルを用いるか、または、RiboGreen(登録商標)(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて総RNAを定量化することによって正規化した。GAPDHの発現を、RT、リアルタイムPCRにより、標的と同時に、複合化して、または、別々に実行することによって定量化した。RiboGreen(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて、総RNAを定量化した。

40

## 【0964】

170 µLのRiboGreen(登録商標)作業試薬(working reagent)(10 mM Tris-HCl、1 mM EDTA、pH 7.5中1:350に希釈したRiboGreen(登録商標)試薬)を、ピペットで、30 µLの精製した細胞RNAを含む96ウェルプレートに入れた。プレートを、485 nmの励起および530 nmの放射で、CytoFluor(登録商標)4000(PE Applied Biosystems)において読み取った。

## 【0965】

GAPDH PCRプローブは、5'末端に共有結合されたJOEと、3'末端に共有結合されたTAMRAまたはMGBとを有し、JOEは、蛍光レポーター色素であり、T

50

A M R AまたはM G Bは、クエンチャー色素である。いくつかの細胞型において、異なる種に由来するG A P D H配列に対して設計されたプライマーおよびプローブを、G A P D Hの発現を測定するために使用する。例えば、ヒトG A P D Hプライマーおよびプローブのセットを、サルに由来する細胞および細胞株におけるG A P D Hの発現を測定するために使用する。

【0966】

リアルタイムPCRにおいて使用するためのプローブおよびプライマーは、慣用的な方法を用いて標的核酸に対してハイブリッド形成するように設計した。例えば、慣用的に、Primer Express (登録商標) (Applied Biosystems, Foster City, CA) ソフトウェアを用いて、リアルタイムPCRにおいて使用するためのプローブおよびプライマーを設計する。プライマーおよびプローブの配列、ならびに、これらがハイブリッド形成する標的核酸の例を表24に示す。標的特異的なPCRプローブは、5'末端に共有結合されたFAMと、3'末端に共有結合されたTAMRAまたはMGBとを有し、FAMは、蛍光色素であり、TAMRAまたはMGBはクエンチャー色素である。

【0967】

【表24】

表 24

リアルタイム PCR において使用するための標的特異的なプライマーおよびプローブ

標的名	種	配列の説明	配列 (5' - 3')	配列番号
ApoB	マウス	フォワードプライマー	CGTGGGCTCCAGCATTCTA	1524
ApoB	マウス	リバースプライマー	AGTCATTTCTGCCTTTGCGTC	1525
ApoB	マウス	プローブ	CCAATGGTCGGGCACTGCTCAA	1526
ApoB	マウス	フォワードプライマー	GAAAATAGACTTCCCTGAATAACTATGCATT	1527
ApoB	マウス	リバースプライマー	ACTCGCTTGCCAGCTTGC	1528
ApoB	マウス	プローブ	TTTCTGAGTCCCCGTGCCCAACA	1529
Gcgr	マウス	フォワードプライマー	TGAGCCTTGCCACCTTCTCT	1530
Gcgr	マウス	リバースプライマー	GCGCACCCAGCCAA	1531
Gcgr	マウス	プローブ	AGAGGAGCTTCTTTTCCCTCTACCTGGGC	1532
Gcgr	マウス	フォワードプライマー	ATTTCCTGCCCTGGTACCT	1533
Gcgr	マウス	リバースプライマー	CGGGCCCACACCTCTTG	1534
Gcgr	マウス	プローブ	CCACAAAGTGCAGCACCGCCTAGTGT	1535
PTEN	マウス	フォワードプライマー	GCCACAGGCTCCCAGACAT	1536
PTEN	マウス	リバースプライマー	TCCATCCTCTTGATATCTCCTTTIG	1537
PTEN	マウス	プローブ	ACAGCCATCATCAAAGAGATCGTTAGCAGAA	1538
PTEN	マウス	フォワードプライマー	ATGACAATCATGTTGCAGCAATTC	1539
PTEN	マウス	リバースプライマー	CGATGCAATAAATATGCACAAATCA	1540
PTEN	マウス	プローブ	CTGTAAAGCTGGAAAGGGACGGACTGGT	1541

実施例3: ApoB核酸に対して標的化され、2'-MOEまたはメチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA修飾を有する短鎖アンチセンス化合物

6週齢の雄性Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、3週間にわたり、1週につき2回の頻度で、ApoBに対して標的化されたアンチセンス化合物を腹腔内(i.p.)注射した。アンチセンス化合物の

用量には、 $2.4 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、 $1.2 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、 $0.6 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、 $0.3 \mu\text{mol}/\text{kg}$ および $0.15 \mu\text{mol}/\text{kg}$ を含めた。長さ14ヌクレオチドのアンチセンス化合物について、これらの用量は、それぞれ、約 $12 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $6 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $3 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $1.5 \text{mg}/\text{kg}$ または約 $0.75 \text{mg}/\text{kg}$ と同等である。表25には、この研究において使用したアンチセンス化合物の配列およびモチーフを示す。アンチセンス化合物は、長さ20ヌクレオチドまたは14ヌクレオチドのいずれかであり、そして、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)を有するウィングまたはBNA修飾された「ウィング」が両側に配置された、10の2'-デオキシヌクレオチドから構成される、中央の「ギャップ」領域を有する。例えば、2-10-2 MOEギャップマーのモチーフは、2'-MOE修飾を持つ2ヌクレオチドのウィングが両側に配置された10のヌクレオチドのギャップを持つアンチセンス化合物を示す。太字の残基は、2'-O-メトキシエチル部分を示し、そして、斜体の残基は、メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAを示す。各化合物のヌクレオシド間結合は、全体を通してホスホロチオエートである。ISIS 147764およびISIS 372938のシトシン残基は全て、5-メチルシトシンで置き換えられる。ISIS 387462について、この化合物のウィング内の唯一のシトシン残基は、5-メチルシトシンで置き換えられる。ApoBアンチセンス化合物は、Genbankアクセッション番号XM\_137955.5(配列番号2)を含む、公的に利用可能なApoB-100配列に対して標的化される。

【0968】

【表25】

表 25: ApoB 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物

ISIS NO	標的配列番号	5' 標的 部位	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
147764	2	8865	<b>G</b> TCCCTGAAGATGT <b>C</b> AAATGC	5-10-5 MOE	1561
372938	2	8235	<b>G</b> GTACATGG <b>A</b> AGTC	2-10-2 MOE	190
387462	2	8235	<b>G</b> GTACATGG <b>A</b> AGTC	2-10-2 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	190

最後の注射から48時間後に、マウスを屠殺して、トランスアミナーゼ(表26)；肝臓および腎臓の重量(表27)；トリグリセリド、LDL、HDLおよび遊離脂肪酸のレベル(表28)；肝臓における標的mRNAレベル(表29)；血漿中の標的タンパク質レベル；ならびにオリゴヌクレオチドの組織における濃度(表30)を評価した。これらのエンドポイントは、本明細書中に記載され、かつ当業者に周知の方法を用いて決定した。

【0969】

10

20

30

## 【表 2 6】

表 26: ALT および AST のレベル (IU/L)

ISIS NO	用量 μmol/kg	ALT	AST
生理食塩水	N/A	27.8	46.3
147764	2.4	29.5	64.0
372938	2.4	26.0	49.0
372938	1.2	24.8	49.5
372938	0.6	28.0	79.3
372938	0.3	28.3	60.0
372938	0.15	28.3	50.3
387462	2.4	41.3	84.0
387462	1.2	35.3	63.5
387462	0.6	32.0	77.3
387462	0.3	27.8	55.0
387462	0.15	29.3	68.3

10

20

## 【 0 9 7 0 】

## 【表 2 7】

表 27: 肝臓および腎臓の重量 (生理食塩水コントロールの%)

ISIS NO	用量 μmol/kg	肝臓	腎臓
生理食塩水	N/A	100	100
147764	2.4	102	105
372938	2.4	100	100
372938	1.2	90	101
372938	0.6	96	112
372938	0.3	91	107
372938	0.15	96	98
387462	2.4	116	90
387462	1.2	113	90
387462	0.6	106	97
387462	0.3	101	126
387462	0.15	95	100

30

40

総体重および食料消費は、血清処置した動物またはオリゴヌクレオチド処置した動物との間で有意には異ならなかった。グルコースレベルもまた、全ての処置群の間で同様であった。

## 【 0 9 7 1 】

## 【表 2 8】

表 28: トリグリセリド (TRIG)、総コレステロール (CHOL)、HDL、LDL および遊離脂肪酸(FFA)のレベル

ISIS NO	用量 μmol/kg	TRIG (mg/dL)	CHOL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	FFA (mg/dL)
生理食塩水	N/A	167	107	81.8	11.0	1.76
147764	2.4	167	107	81.3	10.3	1.29
372938	2.4	153	104	79.0	10.3	1.28
372938	1.2	136	101	77.8	9.5	1.70
372938	0.6	184	110	83.3	10.8	1.66
372938	0.3	138	109	84.3	11.0	1.53
372938	0.15	151	106	82.8	10.8	1.57
387462	2.4	49	14	9.0	1.5	0.74
387462	1.2	71	23	16.5	2.0	0.76
387462	0.6	150	55	39.3	3.7	1.43
387462	0.3	136	92	72.8	7.5	1.14
387462	0.15	163	104	81.5	9.3	1.47

10

20

## 【 0 9 7 2 】

## 【表 2 9】

表 29: ApoB mRNA レベルの%(生理食塩水コントロールに対する)

ISIS NO	2.4 μmol/kg	1.2 μmol/kg	0.6 μmol/kg	0.3 μmol/kg	0.15 μmol/kg
147764	57.7	ND	ND	ND	ND
372938	77.0	90.0	87.3	92.6	93.1
387462	1.5	8.5	27.4	58.9	75.8

30

ISIS 387462での処置は、トリグリセリド、総コレステロール、HDL、LDL および脂肪酸における有意かつ用量依存性の減少をもたらした。これらの表現型の知見によれば、ISIS 387462での処置はまた、マウス血漿におけるApoBのmRNA (表 2 9) およびタンパク質 (示さず) のレベルの用量依存性の減少ももたらした。メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAギャップマーを用いた場合の効率のこの観察された増加が、オリゴヌクレオチド蓄積の増加に起因するものであるかどうかを決定するために、肝臓および腎臓における全長オリゴヌクレオチドおよび総オリゴヌクレオチドの濃度を決定した。

40

## 【 0 9 7 3 】

## 【表 30】

表 30: ApoB mRNA レベルに対する全長および総アンチセンス化合物の組織における濃度 ( $\mu\text{M}$ )

(生理食塩水コントロールの%)

ISIS NO	用量 $\mu\text{mol/kg}$	腎臓 全長	肝臓 全長	腎臓 総	肝臓 総	ApoB mRNA
147764	2.4	28.6	22.9	33.5	31.3	58
372938	2.4	32.0	5.49	34.0	7.76	77
387462	2.4	37.2	5.69	38.9	7.31	1.5
387462	1.2	29.8	3.71	31.3	4.91	8.5
387462	0.6	18.9	1.97	20.0	2.57	27
387462	0.3	9.11	0.73	9.49	0.78	59
387462	0.15	6.97	0.19	7.43	0.24	76

2 - 10 - 2 メチレンオキシ (4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNAギャップマーのレベルは、腎臓においては、5 - 10 - 5 MOEギャップマーおよび2 - 10 - 2 MOEギャップマーと同様であったが、肝臓においては有意に減少していた。肝臓におけるISIS 387462についてのEC<sub>50</sub>を、肝臓におけるオリゴヌクレオチド濃度をApoB mRNAの阻害に対して比較することによって決定した。ISIS 387462についてのおよそのEC<sub>50</sub>は、1  $\mu\text{M}$ である。対照的に、有効な5 - 10 - 5 MOEギャップマー化合物は、代表的に、肝臓において、約15  $\mu\text{M}$ のEC<sub>50</sub>を有する。

## 【0974】

総合すると、これらの結果は、ウィング内にメチレンオキシ (4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') を有するApoBの短鎖ギャップマーが、標的mRNA発現の強力なインヒビターであり、そして、トリグリセリド、コレステロールおよび遊離脂肪酸を効率的に低下させ得ることを示す。この短鎖アンチセンス化合物の効力は、組織への蓄積の増加の結果ではないようである。というのも、5 - 10 - 5 MOEギャップマーに関して、同様のレベルの化合物が腎臓において観察され、そして、肝臓においては、レベルの低下が見られたからである。さらに、メチレンオキシ (4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNAギャップマーは、有害な副作用をほとんど示さなかったか、全く示さなかった。

## 【0975】

実施例4: GCGR核酸に対して標的化され、2' - MOE修飾を有する短鎖アンチセンス化合物

8週齢の雄性C57/BL6マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) に、6.25 mg、12.5 mg、25 mgまたは50 mgの濃度のGCGRオリゴヌクレオチドの単回用量を腹腔内注射により投与した。各用量の群を、4匹の動物から構成した。表31には、この研究において使用したGCGRアンチセンス化合物の配列、モチーフおよび共役基を示す。太字の残基は、2' - O - メトキシエチル (2' - MOE) 部分を示す。化合物は全て、全体を通してホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、そして、各シトシンは、5 - メチルシトシンで置き換えられる。ISIS 386626、ISIS 386627およびISIS 386628はさらに、ジアミド結合を介して糖の2' - O位に結合されるC<sub>16</sub>結合基 (2' - OCH<sub>2</sub>C(=O)N(H)(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N(H)C(=O) - (CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>CH<sub>3</sub>) を含む。GCGRアンチセンス化合物は、Genbankアクセッション番号BC031885.1 (配列番号7) を含む、公開されたGCGR配列を標的とする。

## 【0976】

10

20

30

40

## 【表 3 1】

表 31: GCGR 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	標的配列番号	5' 標的的部位	配列 (5' -3')	ギャップマーのモチーフ	共役基	配列番号
148364	7	393	TGCAC <sup>TTT</sup> TG <sup>TGG</sup> TACCAAGG	5-10-5 MOE	なし	1562
386626	7	1768	G <sub>C16</sub> CTTCTCCATCATA	2-10-2 MOE	C16	1563
386627	7	1244	G <sub>C16</sub> GGCATGCTCGTCA	2-10-2 MOE	C16	653
386593	7	1244	GGGCATGCTCGTCA	2-10-2 MOE	なし	649
386628	7	1680	T <sub>C16</sub> GTCTTGCTGCTTT	2-10-2 MOE	C16	1564
386594	7	1680	TGTCTTGCTGCTTT	2-10-2 MOE	なし	1565

注射から 4 8 時間後にマウスを屠殺して、血清トランスアミナーゼレベル (表 3 2) ; 肝臓、白色脂肪組織 (WAT)、脾臓および腎臓の重量 (表 3 3) ; コレステロール、トリグリセリドおよびグルコースのレベル (表 3 4) ; GCGR mRNA レベル (表 3 5 ~ 4 1) ; ならびに、肝臓および腎臓における全長オリゴヌクレオチドおよび総オリゴヌクレオチドの濃度 (表 4 2) を決定した。これらのエンドポイントは、本明細書中に記載され、かつ当業者に周知の方法を用いて評価した。データには、処置前の瀉血 (Pre-Bleed) および処置後の瀉血 (Post-Bleed) からのデータを含める。

【 0 9 7 7 】

【表 3 2】

表 32: ALT および AST のレベル (IU/L)

ISIS NO	用量 (mg/kg)	ALT 処置前 の瀉血	ALT 処置後 の瀉血	AST 処置前 の瀉血	AST 処置後 の瀉血
生理食塩水	N/A	36	51	55	85
148364	50	24	40	40	115
148364	25	26	35	42	87
148364	12.5	23	32	44	69
148364	6.25	28	34	47	76
386626	50	28	40	48	120
386626	25	30	36	44	92
386626	12.5	28	34	44	90
386626	6.25	26	42	46	69
386627	50	27	457	42	451
386627	25	29	97	45	142
386627	12.5	29	62	46	81
386627	6.25	23	87	38	96
386593	50	23	33	46	58
386593	25	25	32	41	95
386593	12.5	26	33	43	74
386593	6.25	28	31	43	53
386628	50	28	68	44	76
386628	25	24	32	40	57
386628	12.5	28	35	42	75
386628	6.25	22	29	40	59
386594	50	29	34	46	92
386594	25	27	31	47	82
386594	12.5	28	33	45	74
386594	6.25	23	48	42	67

10

20

30

【 0 9 7 8 】



【表 3 3】

表 33: 臓器の重量 (生理食塩水コントロールに対する%)

ISIS NO	用量 (mg/kg)	肝臓	WAT	腎臓	脾臓
生理食塩水	N/A	100	100	100	100
148364	50	103	80	108	123
148364	25	103	75	112	115
148364	12.5	100	84	108	96
148364	6.25	101	89	104	113
386626	50	112	77	104	130
386626	25	109	97	103	120
386626	12.5	96	73	97	114
386626	6.25	100	90	100	95
386627	50	90	113	102	165
386627	25	99	87	99	143
386627	12.5	109	93	102	136
386627	6.25	103	96	102	131
386593	50	96	98	102	118
386593	25	83	94	100	104
386593	12.5	99	82	101	129
386593	6.25	96	77	98	144
386628	50	104	100	99	126
386628	25	102	97	109	113
386628	12.5	101	111	99	114
386628	6.25	98	106	102	151
386594	50	90	80	99	131
386594	25	93	76	99	128
386594	12.5	94	98	100	113
386594	6.25	102	85	101	119

10

20

30

全体として、G C G R アンチセンス化合物は、有害な副作用をほとんど示さなかったか、全く示さなかった。

【 0 9 7 9 】

【表 3 4】

表 34: トリグリセリド (TRIG)、コレステロール (CHOL) およびグルコースのレベル (IU/L)

ISIS NO	用量 (mg/kg)	TRIG 処置前 の瀉血	TRIG 処置後 の瀉血	CHOL 処置前 の瀉血	CHOL 処置後 の瀉血	グルコース 処置前 の瀉血	グルコース 処置後 の瀉血
生理食塩水	N/A	132	181	91	96	208	285
148364	50	110	177	81	94	207	228
148364	25	115	200	83	96	219	239
148364	12.5	106	179	85	89	198	256
148364	6.25	86	162	86	89	226	215
386626	50	87	163	79	57	239	179
386626	25	100	187	87	72	235	186
386626	12.5	100	148	82	76	232	185
386626	6.25	86	162	85	90	222	221
386627	50	106	120	83	126	227	150
386627	25	101	148	90	115	218	203
386627	12.5	99	203	86	98	237	219
386627	6.25	111	165	88	104	238	228
386593	50	130	128	100	95	244	213
386593	25	119	135	83	77	206	208
386593	12.5	122	128	83	79	222	233
386593	6.25	120	138	84	78	214	219
386628	50	102	98	88	95	209	232
386628	25	102	129	84	85	210	223
386628	12.5	90	123	90	94	231	240
386628	6.25	117	121	83	85	228	229
386594	50	93	99	84	85	203	274
386594	25	106	94	90	86	219	272
386594	12.5	118	133	85	95	200	292
386594	6.25	112	146	78	94	222	275

G C G R の 2 - 1 0 - 2 M O E ギャップマーは、5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーと比較して、より低い処置後の瀉血のトリグリセリドレベルに向かう傾向を示し、I S I S 3 8 6 6 2 8 および I S I S 3 8 6 5 9 4 が、最大の用量依存性作用を有した。グルコースレベルもまた、I S I S 3 8 6 6 2 6 および I S I S 3 8 6 6 2 7 での処置の後に用量依存性の様式で減少した。I S I S 3 8 6 6 2 8、I S I S 3 8 6 5 9 3 および I S I S 3 8 6 5 9 4 での処置もまた、全体として、処置後の瀉血のグルコースレベルの低下をもたらした。コレステロールのレベルは、処置群の間で有意に異なるようには見えなかった。

## 【 0 9 8 0 】

上に示される表現型の変化が G C G R mRNA の低下と相関しているかどうかを決定するために、処置した動物を、本明細書中に記載される方法に従い、リアルタイム P C R によって、肝臓における標的 mRNA のレベルについて評価した。表 3 5 ~ 4 1 は、G C G R 核酸を標的とするアンチセンス化合物の、その標的の発現に対する作用についての直

10

20

30

40

50

接的な比較からの結果を示す。結果は、生理食塩水コントロールの割合（％）として表す。

【 0 9 8 1 】

【 表 3 5 】

表 35: ISIS 148364 & ISIS 386626 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
148364	36	79	87	62
386626	0	8	3	7

10

【 0 9 8 2 】

【 表 3 6 】

表 36: ISIS 148364 & ISIS 386627 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
148364	63	87	105	86
386627	3	30	57	74

【 0 9 8 3 】

【 表 3 7 】

表 37: ISIS 148364 & ISIS 386593 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
148364	56	74	105	86
386593	9	38	74	90

20

【 0 9 8 4 】

【 表 3 8 】

表 38: ISIS 148364 & ISIS 386628 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
148364	42	77	98	101
386628	2	18	53	77

30

【 0 9 8 5 】

【 表 3 9 】

表 39: ISIS 148364 & ISIS 386594 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
148364	59	98	102	96
386594	25	47	50	96

40

【 0 9 8 6 】

【 表 4 0 】

表 40: ISIS 386627 & ISIS 386593 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
386627	5	40	58	42
386593	10	29	34	71

50

【 0 9 8 7 】

【 表 4 1 】

表 41: ISIS 386628 &amp; ISIS 386594 での処置後の GCGR mRNA のレベル

ISIS NO	50 mg/kg	25 mg/kg	12.5 mg/kg	6.25 mg/kg
386628	4	13	38	97
386594	19	50	56	99

2 - 1 0 - 2 M O E ギャップマーでの処置は、G C G R m R N A の発現における有意な用量依存性の低下をもたらした。I S I S 3 8 6 6 2 6 は、標的 m R N A の最大の低下を示した。短鎖アンチセンス化合物の効力における観察される増加が、アンチセンス化合物の蓄積の増加に起因するものであるかどうかを決定するために、肝臓および腎臓における全長アンチセンス化合物および総アンチセンス化合物の濃度を決定した。

10

【 0 9 8 8 】

【 表 4 2 】

表 42: 肝臓および腎臓における総および全長のアンチセンス化合物の濃度 (µg/g)

ISIS NO	総腎臓	総肝臓	全長腎臓	全長肝臓
148364	90	54	58	46
386626	757	274	355	125
386593	91	12	77	12
386628	496	286	305	202

20

表 4 2 に示す結果は、C<sub>16</sub> 共役基を含む短鎖アンチセンス化合物が、肝臓および腎臓の両方においてアンチセンス化合物の蓄積の有意な増加を示すことを実証する。しかしながら、標的 m R N A、トリグリセリドおよびグルコースレベルを低下させるのに有効であった I S I S 3 8 6 5 9 3 は、肝臓においては 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーと同様のレベルまで、そして、腎臓においては、より低いレベルまで蓄積する。これらの結果は、C<sub>16</sub> との共役が、肝臓および腎臓のアンチセンス化合物の濃度を増加させ得る一方で、完全には短鎖アンチセンス化合物の有効性の説明とはならないことを示唆する。

30

【 0 9 8 9 】

総合すると、これらの結果は、G C G R 短鎖アンチセンス化合物が、トリグリセリドおよびグルコースのレベルもまた低下させつつ、標的 m R N A の発現を有意に阻害し得ることを実証する。さらに、I S I S 3 8 6 6 2 7 を除いて、短鎖 M O E ギャップマーは、毒性作用をほとんど示さなかったか、全く示さなかった。

【 0 9 9 0 】

実施例 5 : G C G R 核酸に対して標的化され、2' - M O E 修飾およびメチレンオキシ ( 4' - C H<sub>2</sub> - O - 2' ) B N A 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物

40

8 週齢の雄性 C 5 7 / B L 6 マウス ( J a c k s o n L a b o r a t o r y , B a r H a r b o r , M E ) に、1 0 µ m o l / k g、3 . 2 µ m o l / k g、1 µ m o l / k g および 0 . 3 2 µ m o l / k g の濃度の G C G R アンチセンス化合物の単回用量を腹腔内 ( i . p . ) 注射により投与した。各用量の群を、4 匹の動物から構成した。表 4 3 には、この研究において使用した G C G R アンチセンス化合物の配列、モチーフおよび共役基を示す。太字の残基は、2' - O - メトキシエチル ( 2' - M O E ) 修飾を示し、そして、斜体の残基は、メチレンオキシ ( 4' - C H<sub>2</sub> - O - 2' ) B N A 修飾を示す。アンチセンス化合物は全て、全体を通してホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含み、そして、各シトシンは、5 - メチルシトシンで置き換えられる。G C G R アンチセンス化合物は、G e n b a n k アクセッション番号 B C 0 3 1 8 8 5 . 1 ( 配列番号 7 ) を含む

50

、公開された G C G R 核酸を標的とする。

【 0 9 9 1 】

【 表 4 3 】

表 43: GCGR 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物

ISIS NO	標的配列番号	5' 標的部位	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
148364	7	393	TGCACTTTGTGGTACCAAGG	5-10-5 MOE	1562
396144	7	1768	GCTTCTCCATCATA	2-10-2 MOE	1566
396148	7	1768	GCTTCTCCATCA/A	2-10-2 メチレンオキシ(4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1567
396145	7	1765	ATGGCTTCTCCATCATATCC	5-10-5 MOE	1568
396146	7	1244	GGGCATGCTCGTCA	2-10-2 MOE	650
396149	7	1244	GGGCATGCTCGTCA	2-10-2 メチレンオキシ(4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	652
396147	7	1241	CTTGGGCATGCTCGTCAGTC	5-10-5 MOE	1569

上に示される表現型の変化が G C G R mRNA の低下と相関しているかどうかを決定するために、処置した動物を、本明細書中に記載される方法に従い、RT、リアルタイム PCR によって、肝臓における標的 mRNA のレベルについて評価した。表 4 4 は、G C G R 核酸を標的とするアンチセンス化合物の、その標的の発現に対する作用についての直接的な比較からの結果を示す。結果は、生理食塩水コントロールの割合 (%) として表す。

【 0 9 9 2 】

【 表 4 4 】

表 44: GCGR mRNA のレベル

ISIS NO.	0.32 μmol/kg	1 μmol/kg	3.2 μmol/kg	10 μmol/kg
148364	105	106	73	38
396144	122	117	40	35
396148	20	6	2	1
396145	nd	Nd	33	8
396146	98	135	95	35
396149	91	41	30	7
396147	nd	Nd	68	28

表 4 4 に示すように、メチレンオキシ ( 4 ' - C H <sub>2</sub> - O - 2 ' ) B N A 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物の各々は、用量依存性の G C G R mRNA レベルの低下を示した。さらに、短鎖アンチセンス化合物は、5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーよりも、標的の減少の点で、より効果的であった。ウィング内にメチレンオキシ ( 4 ' - C H <sub>2</sub> - O - 2 ' ) B N A を含む短鎖アンチセンス化合物の各々は、生理食塩水コントロールおよび I S I S 1 4 8 3 6 4 処置の両方に対して、G C G R タンパク質の有意な減少をもたらした。次に、各アンチセンスについての推定の E D <sub>50</sub> 濃度を、Graphpad Prism を用いて計算した；E D <sub>50</sub> は、5 0 % の mRNA 減少が観察される用量である。これらの結果を、以下の表 4 5 に示す。

【 0 9 9 3 】

【表 4 5】

表 45: 推定の ED<sub>50</sub> 濃度

ギャップマーのモチーフ	ISIS NO	ED <sub>50</sub> (μmol/kg)	ED <sub>50</sub> (mg/kg)
5-10-5 MOE	148364	7	50.6
2-10-2 MOE	396144	4	18.1
2-10-2 メチレンオキシ BNA	396148	0.1	0.4
5-10-5 MOE	396145	2.1	9.3
2-10-2 MOE	396146	8.3	40
2-10-2 メチレンオキシ BNA	396149	1.1	5
5-10-5 MOE	396147	5.2	37.5

10

実施例 6 : P T E N 核酸を標的とし、メチレンオキシ ( 4 ' - C H <sub>2</sub> - O - 2 ' ) B N A 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物

6 週齢の雄性 B a l b / c マウス ( J a c k s o n L a b o r a t o r y , B a r H a r b o r , M E ) に、8 μ m o l / k g の用量の P T E N アンチセンス化合物を単回 i . p . 注射により投与した。各用量の群を、4 匹の動物から構成した。表 4 6 には、この研究において使用した P T E N アンチセンス化合物の配列およびモチーフを示す。太字の残基は、2 ' - O - メトキシエチル部分 ( 2 ' - M O E ) を示し、そして、斜体の残基は、メチレンオキシ B N A ヌクレオチドを示す。各アンチセンス化合物は、全体を通してホスホロチオエート結合を含む。さらに、I S I S 3 8 4 0 7 3 のギャップ、ならびに I S I S 3 9 2 0 5 6、I S I S 3 9 2 0 5 7、I S I S 3 9 2 0 6 1 および I S I S 3 9 2 0 6 3 のウィングにおけるシトシン残基は、5 - メチルシトシンで置き換えられる。アンチセンス化合物は、G e n b a n k アクセッション番号 U 9 2 4 3 7 . 1 ( 配列番号 1 3 ) を含む、公開された P T E N 核酸を標的とする。

20

【 0 9 9 4 】

【表 4 6】

30

表 46: PTEN 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物

ISIS NO	標的配列番号	5' 標的部位	配列 (5' -3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
141923	コントロール	N/A	<b>CCTTCCCTGAAGGTTCTCC</b>	5-10-5 MOE	1570
116847	29	2011	<b>TCAAATCCAGAGGCTAGCAG</b>	5-10-5 MOE	1571
384073	29	2013	<i>AAATCCAGAGGCTAGC</i>	3-10-3 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1428
391172	29	2013	<i>AAATCCAGAGGCTAG</i>	2-10-3 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1429
392056	29	140	<i>AGCTGCAGCCATGA</i>	2-10-2 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1263
392057	29	807	<i>GGTCCAGGGCCAAG</i>	2-10-2 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1162
392061	29	2014	<i>AATCCAGAGGCTAG</i>	2-10-2 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1431
392063	29	3099	<i>AGGCCAGTGCTAAG</i>	2-10-2 メチレンオキシ (4'-CH <sub>2</sub> -O-2') BNA	1226

40

注射から 7 2 時間後にマウスを屠殺して、血清トランスアミナーゼレベル ( 表 4 7 ) ; 肝臓および脾臓の重量 ( 表 4 7 ) ; ならびに、肝臓、腎臓および脂肪における P T E N のレベル ( 表 4 8 ) を、本明細書中に記載され、かつ当業者に周知の手法に従って決定した

50

【 0 9 9 5 】

【 表 4 7 】

表 47: トランスアミナーゼのレベルおよび臓器の重量

ISIS NO	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	肝臓重量 % 生理食塩水	脾臓重量 % 生理食塩水
生理食塩水	98.5	37.5	100	100
141923	89.5	34.8	101	108
116847	59.8	29.5	109	108
384073	57.8	29.3	115	111
391172	48.5	32.8	120	112
392056	516	892	125	167
392057	63.8	34.5	125	101
392061	189	42.0	123	111
392063	67.3	21.8	127	134

10

20

全体として、メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA修飾を持つ短鎖アンチセンス化合物は、有害な作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。さらに、総体重は、処置群の間で有意に異ならなかった。

【 0 9 9 6 】

【 表 4 8 】

表 48: 肝臓、腎臓および脂肪における PTEN mRNA のレベル%

ISIS NO	肝臓	腎臓	脂肪
生理食塩水	100	100	100
141923	102	133	118
116847	37	96	85
384073	24	74	77
391172	18	63	101
392056	27	88	74
392057	33	79	96
392061	24	61	85
392063	6.5	52	72

30

40

表 4 8 に示すように、PTEN 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物の各々は、生理食塩水で処置された動物およびコントロール処置の動物と比較して、肝臓における標的 mRNA レベルの有意な減少をもたらした。アンチセンス化合物は、腎臓および脂肪における標的 mRNA レベルに対して種々の作用を有した。アンチセンス化合物は、腎臓および脂肪における標的 mRNA レベルに対し種々の作用を有した。

【 0 9 9 7 】

実施例 7 : PTEN 核酸に対して標的化され、BNA 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物

50

6週齢の雄性Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、8 μmol/kg、4 μmol/kg、2 μmol/kgまたは1 μmol/kgの用量のPTEN核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物を単回腹腔内(i.p.)注射により投与した。各用量の群を、4匹の動物から構成した。表49には、この研究において使用した各アンチセンス化合物の配列、ウィング化学およびモチーフを示す。太字の残基は、2'-O-MOE修飾されたヌクレオチドを示し、斜体の残基は、メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA修飾を示す。アンチセンス化合物は全て、各位置にホスホロチオエート結合を含む。さらに、ISIS 116847のシトシン、およびISIS 392745のメチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAウィングにおけるシトシンは、5-メチルシトシンで置き換えられる。アンチセンス化合物は、Genbankアクセッション番号U92437.1(配列番号13)を含む、公開されたPTEN核酸を標的とする。

【0998】

【表49】

表 49: PTEN 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物

ISIS NO	標的配列番号	標的部位	配列(5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
116847	13	2011	<b>TCAAATCCAGAGGCTAGCAG</b>	5-10-5 MOE	1571
392063	13	3099	<i>CTTAGCACTGGCCT</i>	2-10-2 メチレンオキシBNA	1226
392745	13	3099	<i>CTTAGCACTGGCCT</i>	2-10-2 メチレンオキシBNA	1226

注射から72時間後にマウスを屠殺して、血清トランスアミナーゼレベル(表50); 肝臓、腎臓および脾臓の重量(表50); 肝臓におけるPTEN mRNAのレベル(表51); ならびに、推定のED<sub>50</sub>オリゴヌクレオチド濃度(表52)を決定した。これらのエンドポイントは、本明細書中に記載され、かつ当業者に周知の方法を用いて測定した。

【0999】

【表50】

表 50: AST、ALT およびビリルビンのレベルならびに臓器の重量

ISIS NO	用量 μmol/kg	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ビリルビン (mg/dL)	肝臓重量 % 生理食塩水	腎臓重量 % 生理食塩水	脾臓重量 % 生理食塩水
生理食塩水	N/A	64.0	31.8	0.15	100	100	100
116847	8	73.0	32.0	0.1	114	92	106
392063	8	50.3	17.3	0.1	115	98	115
392063	4	100.8	31.3	0.15	122	94	116
392063	2	60.5	32.8	0.1	112	99	106
392063	1	57.5	29.3	0.1	104	95	107
392745	8	75.5	23.5	0.13	125	99	100
392745	4	77.0	29.3	0.13	121	100	96
392745	2	69.0	32.0	0.13	110	98	103
392745	1	52.0	27.3	0.1	109	97	104

全体として、PTENアンチセンス化合物は、毒性の徴候を示さなかった。腎臓、肝臓

10

20

30

40

50



および脾臓の重量は全て、正常範囲内であった。総体重は、処置群の間で有意に異ならなかった。

【 1 0 0 0 】

【表 5 1】

表 51: 肝臓における PTEN mRNA のレベル% (生理食塩水コントロールに対する)

ISIS NO	8 μmol/kg	4 μmol/kg	2 μmol/kg	1 μmol/kg
116847	36	ND	ND	ND
392063	7.4	16	32	60
392745	5.2	11	31	60

10

表 5 1 に示すように、メチレンオキシ ( 4 ' - C H <sub>2</sub> - O - 2 ' ) B N A 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物の各々は、用量依存性の P T E N mRNA レベルの低下を示した。さらに、短鎖アンチセンス化合物は、5 - 1 0 - 5 MOEギャップマーよりも、標的の減少の点で、より効果的であった。肝臓における P T E N タンパク質のレベルもまた、各々 8 μ m o l / k g の用量のアンチセンス化合物を投与した後に決定した。ウイング内にメチレンオキシ ( 4 ' - C H <sub>2</sub> - O - 2 ' ) B N A を含む短鎖アンチセンス化合物の各々は、生理食塩水コントロールおよび I S I S 1 1 6 8 4 7 処置の両方に対して、P T E N タンパク質の有意な減少をもたらした。次に、各オリゴヌクレオチドについての推定の E D <sub>50</sub> 濃度を、G r a p h p a d P r i s m を用いて計算した。これらの結果を、以下の表 5 2 に示す。

20

【 1 0 0 1 】

【表 5 2】

表 52: 推定の E D <sub>50</sub> 濃度

ウイングの化学	ISIS NO	ED <sub>50</sub> (μmol/kg)	ED <sub>50</sub> (mg/kg)
MOE (5-MeC を含む)	116847	6.3	45.2
メチレンオキシ BNA (5-MeC を含む)	392063	1.3	5.8
メチレンオキシ BNA	392745	1.2	5.6

30

種々のタイプの二環式核酸化合物をさらに調べるために、P T E N 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物のさらなるセットを設計し、そして、試験した。6 週齢の雄性 B a l b / c マウス ( J a c k s o n L a b o r a t o r y , B a r H a r b o r , M E ) に、8 μ m o l / k g 、 4 μ m o l / k g 、 2 μ m o l / k g または 1 μ m o l / k g の用量のアンチセンス化合物を単回腹腔内 ( i . p . ) 注射により投与した。各用量の群を、4 匹の動物から構成した。表 5 3 には、この研究において使用した各アンチセンス化合物の配列、ウイング化学およびモチーフを示す。アンチセンス化合物は全て、各位置にホスホロチオエート結合を含む。I S I S 3 9 2 0 6 3 のメチレンオキシ ( 4 ' - C H <sub>2</sub> - O - 2 ' ) B N A ウイングにおけるシトシン残基は、5 - メチルシトシンで置き換えられる。アンチセンス化合物は、G e n b a n k アクセション番号 U 9 2 4 3 7 . 1 ( 配列番号 1 3 ) を含む、公開された P T E N 核酸を標的とする。

40

【 1 0 0 2 】

【表 5 3】

表 53: PTEN 核酸を標的とするアンチセンス化合物

ISIS NO	標的配列番号	5' 標的部位	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
392063	29	3099	CTTAGCACTGGCCT	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1226
396564	29	3099	CTTAGCACTGGCCT	2-10-2 オキシアミノ (4'-CH <sub>2</sub> -N(R)-O-2') BNA	1226
396006	29	3099	CTTAGCACTGGCCT	2-10-2 α-L-メチレンオキシ BNA	1226

10

注射から 7 2 時間後にマウスを屠殺して、血清トランスアミナーゼレベル (表 5 4) ; 肝臓および脾臓の重量 (表 5 4) ; ならびに肝臓における PTEN mRNA のレベル (表 5 5) を、本明細書中に記載され、かつ当業者に周知の方法に従って決定した。

【 1 0 0 3 】

【表 5 4】

表 54: AST および ALT のレベルならびに臓器の重量

ISIS NO	用量 μmol/kg	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	肝臓 重量	脾臓 重量
生理食 塩水	N/A	71	33	100	100
392063	8	97	38	118	103
392063	4	179	36	115	107
392063	2	67	32	109	116
392063	1	68	27	102	105
396564	8	67	25	100	104
396564	4	96	30	102	106
396564	2	68	27	100	119
396564	1	79	39	97	109
396006	8	56	28	110	104
396006	2	139	36	97	105

20

30

【 1 0 0 4 】

【表 5 5】

表 55: 肝臓における PTEN mRNA のレベル% (生理食塩水コントロールに対する)

40

ISIS NO	8 μmol/kg	4 μmol/kg	2 μmol/kg	1 μmol/kg
392063	6.9	18	39	71
396564	86	97	100	96
396006	6.5	ND	ND	70

上に示すように、α-L-メチレンオキシ (4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物は、標的 mRNA レベルの用量依存性の減少をもたらした。オキシアミノ BNA 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物での処置は、標的発現のわずか

50

な減少をもたらした。

【1005】

実施例8. ApoB核酸およびPTEN核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物を用いた、単回用量投与の用量応答研究

6週齢の雄性Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、8 μmol/kg、4 μmol/kg、2 μmol/kgまたは1 μmol/kgの用量のアンチセンス化合物を単回腹腔内(i.p.)注射により投与した。各用量の群を、4匹の動物から構成した。表56には、この研究において使用した各アンチセンス化合物の配列、ウィング化学およびモチーフを示す。斜体の残基は、メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA修飾を示し、下線の残基はN-メチル-オキシアミノ(4'-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-2')BNA修飾を示し、そして、四角で囲った残基は、α-L-メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA修飾を示す。アンチセンス化合物は全て、各位置にホスホロチオエート結合を含む。ISIS 116847のシトシン、およびISIS 392063のメチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAウィングにおけるシトシンは各々、5-メチルシトシンで置き換えられるが、ISIS 392745のメチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNAウィングにおけるチミジンは、5-メチルチミジンで置き換えられる。PTENアンチセンス化合物は、Genbankアクセッション番号U92437.1(配列番号13)を含む、公開されたPTEN核酸を標的とする。ApoBアンチセンス化合物は、Genbankアクセッション番号XM\_137955.5(配列番号2)を含む、公開されたApoB核酸を標的とする。

【1006】

【表56】

表 56: ApoB 核酸および PTEN 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	標的	標的配列番号	5' 標的部位	配列	ギャップマー	配列番号
387462	ApoB	19	8235	<i>GGTACATGGAAGTC</i>	2-10-2 メチレンオキシ BNA	193
392063	PTEN	29	3099	<i>C'TTAGCACTGGCCT'</i>	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1226
396565	PTEN	29	3099	<u>CUTAGCACTGGCCU</u>	2-10-2 N-Me-オキシアミノ BNA	1226
396006	PTEN	29	3099	<span style="border: 1px solid black;">C</span> UTAGCACTGGC <span style="border: 1px solid black;">C</span> U	2-10-2 α-L-メチレンオキシ BNA	1226

【1007】

10

20

30

## 【表 5 7】

表 57: ApoB mRNA および PTEN mRNA の減少% (生理食塩水コントロールに対する)

ISIS NO	用量 ( $\mu\text{mol/kg}$ )	ApoB mRNAの減少% (生理食塩水に対する)	PTEN mRNAの減少% (生理食塩水に対する)
387462	8	0.62	92.8
	4	6.55	103
	2	18.6	105
	1	42.0	98.0
392063	8	126	6.79
	4	111	18.1
	2	112	42.4
	1	114	62.3
396565	8	116	23.8
	4	1.04	46.6
	2	94.4	76.1
	1	115	89.5
396006	8	94.3	62.9
	4	101	18.2
	2	79.7	52.4
	1	111	82.4

表 5 7 に示すように、メチレンオキシ BNA 修飾を有する短鎖アンチセンス化合物の各々は、用量依存性の標的 mRNA レベルの低下を示した。特筆すべきことに、N - メチル - オキシアミノ BNA ウィングを有する短鎖アンチセンス化合物 (ISIS 396565) もまた、 $\alpha$  - D - メチレンオキシ BNA アンチセンス化合物および  $\alpha$  - L - メチレンオキシ BNA アンチセンス化合物の両方に類似した、PTEN の発現の用量依存性の減少を示した。次に、各アンチセンスについての推定の ED<sub>50</sub> 濃度を、Graphpad Prism を用いて計算した。これらの結果を、以下の表 5 8 に示す。

【1008】

【表 5 8】

表 58: 推定の ED<sub>50</sub> 濃度

ウィングの化学	ISIS NO	ED <sub>50</sub> ( $\mu\text{mol/kg}$ )	ED <sub>50</sub> (mg/kg)
メチレンオキシ BNA	387462	0.8	3.9
メチレンオキシ BNA	392063	1.5	7
N-Me-オキシアミノ BNA	396565	3.8	17.4
$\alpha$ -L-メチレンオキシ BNA	396006	2.1	9.3

実施例 9 : SGLT - 2 mRNA を標的とする親化合物および親の混合型バックボーンアンチセンス化合物の投与

ISIS 257016 を、週 2 回、1 mg / kg、7.5 mg / kg、14 mg / kg または 17 mg / kg の用量で、db / db マウス (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) に腹腔内投与した。コントロール群には、同じ投薬スケジュールで生理食塩水を受けた群、および、ISIS 1457

33を受けた群を含めた。ISIS 257016およびISIS 145733は共に、配列GAAGTAGCCACCAACTGTGC（配列番号1572）を含み、さらに、5ヌクレオチドの「ウィング」が両側（5'方向および3'方向）に配置された10の2'-デオキシヌクレオチドから構成される中央の「ギャップ」領域を含む。これらのウィングは、2'-メトキシエチル（2'-MOE）ヌクレオチドから構成される。シチジン残基は全て5-メチルシチジンである。ヌクレオチド間（バックボーン）結合は、ISIS 145733についてのオリゴヌクレオチド全体にわたりホスホロチオエート（P=S）であるが；ISIS 257016は混合型バックボーンを有する。ISIS 257016についてのヌクレオチド間結合は、ウィング内がホスホジエステル（P=O）であり、ギャップ内がホスホロチオエートである。最後の用量の投与から48時間後にマウスを屠殺し、そして、SGLT-2 mRNAレベルについて腎臓組織を解析した。結果を、以下の表59に示す。

【1009】

【表59】

表 59: 5-10-5 MOE ギャップマーによる SGLT2 mRNA のインビボでの発現のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 nmol/kg	SGLT2 の発現における変化% 生理食塩水に対する	
	ISIS 145733	ISIS 257016
17	-37.5	-76
14	-31.25	-74
7.5	-12.5	-62.5
1	+3	-44

ISIS 257016およびISIS 145733は共に、生理食塩水コントロールと比較してSGLT-2のレベルを顕著に減少させた。（mRNAレベルは、上述のように、RT、リアルタイムPCRを用いて決定した）。しかし、ISIS 257016は、ISIS 145733と比較して、SGLT-2 mRNAを減少させる効力が、約20～50倍高いことが示された。血漿グルコースレベルにおける付随する減少が、処置群について見られた（ISIS 257016を受けた群について $470 \pm 23$ であるのに比べ、生理食塩水の群では、 $661 \pm 14$ であった）。腎臓におけるISIS 257016およびISIS 145733の蓄積は、用量範囲全体で同様であったが、全長257016のアンチセンスは、腎臓においてほとんど検出されず、これは、変性産物が活性の増大を担っているという理論を支持している。また、25mg/kgの単回投薬の後の作用の開始が、インタクトな257016のアンチセンス化合物がほとんど残されていない時点と相関していた。

【1010】

上述のような同様の同じ投薬スケジュールで、ISIS 257016、ISIS 145733または生理食塩水を用いて、痩せたマウス、ob/obマウスおよびZDFラット（Charles Rivers Laboratories）において同様の研究を行った。ISIS 145733およびISIS 257016についての結合部位の配列は、マウスとラットとの間で保存されている（表60を参照のこと）。腎臓におけるSGLT-2 mRNAの減少は、上で見られたものと同様であった。ラットを利用する研究において、2週にわたり週2回10mg/kgの用量を与えた場合、ISIS 145733は、SGLT-2 mRNAレベルを約40%低下させることが示されたが、一方で、ISIS 257016で達成された減少は、80%を上回った。ISIS 25

7016は、12.5 mg/kgの低用量でSGLT2の発現を最大限に減少させた。より低い用量範囲でのさらなる研究は、1 mg/kg/w未満の用量の混合型バックボーンのアнтиセンス化合物で、SGLT2 mRNAの有意な減少を示す。

【1011】

実施例10：SGLT-2 mRNAを標的とする親化合物および短鎖アンチセンス化合物の投与

薬物動態研究は、ISIS 257016が、12核酸塩基のファーマコフォアへと代謝されるプロドラッグとして作用したことを示した。次の研究において、ZDFラットに、1.5 mg/kgのISIS 257016またはISIS 370717のいずれかを週に2回、あるいは、同様の投薬スケジュールで生理食塩水を腹腔内投薬した。ISIS 370717は、SGLT-2核酸に対して標的化された12核酸塩基のアンチセンス化合物であり、配列TAGCCACCAACT（配列番号154）を含み、そしてさらに、1ヌクレオチドの「ウィング」が両側（5'方向および3'方向）に配置された10の2'-デオキシヌクレオチドから構成される中央の「ギャップ」領域を含む。ウィングは、2'-メトキシエチル（2'-MOE）ヌクレオチドから構成される。シチジン残基は全て、5-メチルシチジンである。ヌクレオチド間（バックボーン）結合は、オリゴヌクレオチド全体にわたりホスホロチオエート（P=S）である。

10

【1012】

投薬から5週間後に、動物を屠殺し、そして、SGLT-2 mRNAレベルについて腎臓組織を解析した。ISIS 257016およびISIS 370717の薬物動態活性は同様であったが、12ヌクレオチドのアンチセンス化合物は、より早い作用の開始を示した。ISIS 370717は、2.8 μmol/kgの単回投薬の2日後に、腎臓においてSGLT2の発現の80%近い阻害を示したが、ISIS 257016は、同じ用量の投与の2日後に、約25%の阻害を示すのみであった。このデータは、ISIS 257016が12ヌクレオチドのファーマコフォアを有するプロドラッグであることを支持する。

20

【1013】

実施例11：短鎖アンチセンス化合物の効力およびバイオアベイラビリティ

ISIS 370717により示された効力の改善と、これらの短鎖アンチセンス化合物についての経口バイオアベイラビリティの改善とは、これらの化合物を、経口投与に有用なものにする。正常なラットに、週2回、100 mg/kgで、ISIS 370717、ISIS 145733または生理食塩水を腹腔内投与により与えた。最後の投薬から約48時間後に動物を屠殺して、アンチセンス化合物の濃度およびSGLT-2 mRNAのレベルについて腎臓組織を解析した。腎臓組織において、コントロールと比較して有意により高いISIS 370717の蓄積が見られた（組織1グラムあたり約500 μg）。さらに、SGLT-2 mRNAは、コントロールを80%より多く上回って減少した。

30

【1014】

実施例12：およそ12ヌクレオチドの短鎖アンチセンス化合物のウィング、ギャップおよび全長のバリエーション

40

ISIS 370717 1-10-1 MOEギャップマーをテンプレートとして用いて、種々のモチーフを持つ配列に関連性のあるオリゴを作成した。これらのバリエーションを表60に提示する。公開された配列（GenBankアクセッション番号U29881.1（本明細書中に配列番号1575として引用）およびGenBankアクセッション番号AJ292928.1（本明細書中に配列番号1576として引用））を用いて、マウスまたはラットのSGLT2核酸の異なる領域を標的とするように、アンチセンス化合物を設計した。

【1015】

【表 6 0】

表 60: SGLT2 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	マウス配列番号 1575 における 5' 標的部	ラット配列番号 1576 における 5' 標的部	ギャップマーのモチーフ	配列 (5' -3')	配列番号
257016	2680	148	5-10-5 MOE	<u>GAAGTAGCCACCAACTGTGC</u>	1553
370717	2684	152	1-10-1 MOE	<u>TAGCCACCAACT</u>	1554
386169	2684	152	2-8-2 MOE	<u>TAGCCACCAACT</u>	1555
386176	2685	153	1-8-1 MOE	<u>AGCCACCAAC</u>	1556
386196	2684	152	3-6-3 MOE	<u>TAGCCACCAACT</u>	1557

アンチセンス化合物を、マウス SGLT2 mRNA レベルに対するその作用について解析した。データは、2.5 μmol/kg、0.5 μmol/kg または 0.1 μmol/kg の上記 MOE ギャップマー（腹腔内注射により与えた）を、3 週間にわたり、週 2 回マウスに投薬した 3 つの実験から取った範囲である。最後の投与から 48 時間後にマウスを屠殺し、腎臓における SGLT2 レベルについて評価した。SGLT2 mRNA レベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、RT、リアルタイム PCR により決定した。PCR の結果を、内部の ISIS コントロールに対して正規化した。結果を、以下の表 6 1 に示す。

【1016】

【表 6 1】

表 61: 1-10-1 および 1-10-2 MOE ギャップマーによる、インビボでの SGLT2 のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 umol/kg	SGLT2 の発現における変化% 生理食塩水に対する				
	ISIS 370717	ISIS 386169	ISIS 386176	ISIS 386196	ISIS 386197
2.5	-82	-85	-80	-50	-20
0.5	-70	-80	-68	-30	-15
0.1	-55	-70	-65	-35	-20

これらの結果は、試験した種々のモチーフが全て、用量依存性の様式で、インビボで SGLT2 の発現を阻害することを示す。1-10-1 ギャップマー、2-8-2 ギャップマーおよび 1-8-1 ギャップマーが特に強力であることが分かった。

【1017】

実施例 13: 1-10-1 MOE ギャップマーおよび 1-10-2 MOE ギャップマーによるラット SGLT-2 のアンチセンス性阻害

表 6 2 に提供される 1-10-1 MOE ギャップマーアンチセンス化合物および 1-10-2 MOE ギャップマーアンチセンス化合物は、マウスまたはラットの SGLT2 mRNA の異なる領域を標的とするように設計した。表 6 2 における短鎖アンチセンス化合物は全て、長さ 12 または 13 ヌクレオチドのいずれかのキメラオリゴヌクレオチド（「ギャップマー」）であり、5' 側に 1 ヌクレオチドの「ウィング」、そして、3' 側に 2 または 1 ヌクレオチドの「ウィング」が配置された、10 の 2'-デオキシヌクレオチドからなる中央の「ギャップ」セグメントから構成される。これらのウィングは、2'-メトキシエチル（2'-MOE）ヌクレオチドから構成される。ヌクレオシド間（バック

ボーン)結合は、オリゴヌクレオチド全体を通してホスホロチオエート (P = S) である。シチジン残基は全て、5 - メチルシチジンである。

【 1 0 1 8 】

【表 6 2】

表 62: SGLT2 核酸を標的とするアンチセンス化合物

ISIS NO	配列番号 XXX における 5' 標的部 位 (マウス)	配列番号 XXX における 5' 標的部 位 (ラット)	ギャップマー のモチーフ	配列 (5'-3')	配列番 号
370717	2684	152	1-10-1 MOE	<u>TAGCCACCAACT</u>	1554
382675	2683	151	1-10-1 MOE	<u>TAGCCACCAACTG</u>	1559
379692		508	1-10-1 MOE	<u>TGTTCCAGCCCA</u>	246
382676		507	1-10-2 MOE	<u>TGTTCCAGCCCAG</u>	246
379699		1112	1-10-2 MOE	<u>GGCATGAGCTTC</u>	281
382677		1111	1-10-2 MOE	<u>GGCATGAGCTTCA</u>	281
382677		958	1-10-2 MOE	<u>GGCATGAGCTTCA</u>	281

短鎖アンチセンス化合物を、ラット SGLT2 mRNA レベルに対するその作用について解析した。データは、450 nmol/kg、150 nmol/kg または 50 nmol/kg の 1-10-1 MOE ギャップマーまたは 1-10-2 MOE ギャップマー (腹腔内注射により与えた) を、3 週間にわたり、週 2 回、雄性 Sprague-Dawley ラット (170 ~ 200 g) に投薬した 3 つの実験から取った範囲である。最後の投与から 48 時間後にラットを屠殺し、腎臓における SGLT2 mRNA レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、RT、リアルタイム PCR により決定した。PCR の結果を、内部の ISIS コントロールに対して正規化した。結果を、以下の表 6 3 に示す。

【 1 0 1 9 】

【表 6 3】

表 63: 1-10-1 および 1-10-2 MOE ギャップマーによる、インビボでの SGLT2 mRNA のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 nmol/kg	SGLT2 の発現における変化%					
	生理食塩水に対する					
	ISIS 370717 1-10-1	ISIS 382675 1-10-2	ISIS 379692 1-10-1	ISIS 382676 1-10-2	ISIS 379699 1-10-1	ISIS 382677 1-10-2
450	-70	-80	-90	-85	-83	-75
150	-70	-65	-85	-80	-75	-60
50	-55	-50	-80	-65	-60	-40

これらの結果は、1-10-1 MOE ギャップマーおよび 1-10-2 MOE ギャップマーが共に、用量依存性の様式で、インビボで SGLT2 mRNA を減少させることを示す。

【 1 0 2 0 】

ラットを、さらに、総体重、肝臓、脾臓および腎臓の重量について評価した。脾臓、肝臓または体重における有意な変化は、特定の化合物が毒性作用を引き起こすことを示し得る。全ての変化が、実験の誤差の許容範囲内であった。処置の間、または、研究の終了時



点では、体重の有意な変化は観察されなかった。肝臓または脾臓の重量においても有意な変化が観察されなかった。

【 1 0 2 1 】

インビボで投与された短鎖アンチセンス化合物の毒性作用はまた、肝臓または腎臓の疾患または損傷に関連する酵素およびタンパク質のレベルを測定することによって評価され得る。血清トランスアミナーゼアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ( A S T ) およびアラニンアミノトランスフェラーゼ ( A L T ) のレベルにおける上昇は、しばしば、肝臓の疾患または損傷の指標となる。血清総ビリルビンは、肝臓および胆汁の機能の指標となり、そして、アルブミンおよび血中尿素窒素 ( B U N ) は、腎機能の指標となる。グルコースおよびトリグリセリドのレベルはときどき、処置の毒性に起因して変化する。血清グルコースもまた、SGLT2の活性に一部依存する。A L T、A S T、総ビリルビン、アルブミン、B U N、グルコースおよびトリグリセリドのレベルを、短鎖アンチセンス化合物で処置したラットにおいて測定した。肝臓および腎臓の損傷および疾患の慣用的な臨床上の指標のレベルは、正常範囲内であり、そして、生理食塩水で処置した動物に対して、有意に変わっておらず、これらの短鎖アンチセンス化合物が、腎機能または肝機能に有意に影響を及ぼさないことが実証された。トリグリセリドおよびグルコースのレベルは、生理食塩水で処置した動物に対して、有意には上昇しなかった。

10

【 1 0 2 2 】

実施例 1 4 : 1 - 1 0 - 1 M O E ギャップマーによるマウスおよびラットの S G L T 2 のアンチセンス性阻害

20

マウス S G L T 2 mRNA の異なる領域を標的とするように設計された 1 - 1 0 - 1 M O E ギャップマーアンチセンス化合物を、表 6 4 に示す。

【 1 0 2 3 】

【表 6 4】

表 64: SGLT2 mRNA を標的とするアンチセンス化合物の組成物

ISIS NO	配列番号 XXXにおける 5' 標的部位 (マウス)	配列番号 XXXにおける 5' 標的部位 (ラット)	モチーフ	配列 (5' -3')	配列 番号
370717	2684	152	1-10-1 MOE	<u>TAGCCACCAACT</u>	1554
379692		508	1-10-1 MOE	<u>TGTTCCAGCCCA</u>	246
379699		1112	1-10-1 MOE	<u>GGCATGAGCTTC</u>	281
379702		1525	1-10-1 MOE	<u>GCACACAGCTGC</u>	293
381408	3034**		1-10-1 MOE	<u>TACCGAACACCT</u>	1560

30

\*\*は、標的配列に対する3つのミスマッチを示す

短鎖アンチセンス化合物を、マウス S G L T 2 mRNA レベルに対するその作用について解析した。データは、450 nmol / kg、150 nmol / kg または 50 nmol / kg の上記 1 - 1 0 - 1 M O E ギャップマーのうちの一つ ( 腹腔内注射により与えた ) を、3週間にわたり、週2回、雄性の6週齢の B a l b / c マウスに投薬した3つの実験から取った範囲である。最後の投与から48時間後にマウスを屠殺し、腎臓における S G L T 2 mRNA レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、R T、リアルタイム P C R により決定した。P C R の結果を、内部の I S I S コントロールに対して正規化した。結果を、以下の表 6 5 に示す。

40

【 1 0 2 4 】

## 【表 6 5】

表 65: 1-10-1 MOE ギャップマーによる、インビボでの SGLT2 mRNA のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 nmol/kg	SGLT2 の発現における変化% 生理食塩水に対する				
	ISIS 370717	ISIS 379692	ISIS 379699	ISIS 379702	ISIS 381408
450	-65	-80	-80	-75	-
150	-55	-70	-62.5	-72.5	-
50	-47.5	-52.5	-42.5	-52.5	-

これらの結果は、ISIS 381408を除いて、1-10-1 MOE ギャップマーが全て、マウスにおいて、用量依存性の様式で、インビボで SGLT2 の発現を阻害することを示す。ISIS 381408 の活性は、ラットの研究に示されている（表 6 5 を参照のこと）。

## 【1025】

ラットにおける 1-10-1 ギャップマーの評価

上記 1-10-1 ギャップマー（上の表 6 4 を参照のこと）のラット SGLT2 mRNA レベルに対する作用。データは、250 nmol/kg（腹腔内注射により与えた）を、3週間にわたり、週2回、雄性 Sprague-Dawley ラット（170～200g）に投薬した4つの実験から取った。最後の投与から48時間後にラットを屠殺し、腎臓における SGLT2 mRNA レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、RT、リアルタイムPCRにより決定した。PCRの結果を、内部のISISコントロールに対して正規化した。結果を、以下の表 6 6 に示す。

## 【1026】

## 【表 6 6】

表 66: 1-10-1 MOE ギャップマーによる、インビボでの SGLT2 mRNA のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 nmol/kg	SGLT2 の発現における変化% 生理食塩水に対する				
	ISIS 370717	ISIS 379692	ISIS 379699	ISIS 379702	ISIS 381408
250	-70	-85	-75	-25	-5

これらの結果は、1-10-1 MOE ギャップマーが全て、インビボでのラットの研究において SGLT2 の発現を阻害することを示す。

## 【1027】

実施例 15：さらなる 1-10-1 MOE ギャップマーおよび 2-8-2 MOE ギャップマーによるマウスおよびラットの SGLT2 発現のアンチセンス性阻害

1-10-1 MOE ギャップマー短鎖アンチセンス化合物および 2-8-2 MOE ギャップマー短鎖アンチセンス化合物は、マウス SGLT2 mRNA の異なる領域を標的とするが、種族にわたって相補性を有するように設計した。短鎖アンチセンス化合物を表 6 7 に示す。表 6 7 における短鎖アンチセンス化合物は全て、長さ 12 ヌクレオチドであり、両側（5' 方向および 3' 方向）に 2'-修飾を有するウィングセグメントが配置された、2'-デオキシヌクレオチドからなる中央の「ギャップ」セグメントから構成され

10

20

30

40

50

る。これらのウイングは、2'-メトキシエチル(2'-MOE)ヌクレオチドから構成される。ヌクレオチド間(バックボーン)結合は、オリゴヌクレオチド全体を通してホスホロチオエート(P=S)である。シチジン残基は全て、5-メチルシチジンである。

【1028】

【表67】

表 67: SGLT2 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	5' 標的 部位 (ラット)	標的配 列番号 (ラット)	ギャップマー のモチーフ	配列 (5'-3')	配列番号
379692	508		1-10-1 MOE	<u>IGTTCCAGCCCA</u>	246
388625	508		1-10-1 MOE	<u>IGTTCCAGCCCA</u>	246
379699	1112		1-10-1 MOE	<u>GGCATGAGCTTC</u>	281
388626	1112		2-8-2 MOE	<u>GGCATGAGCTTC</u>	281
379702	1525		2-8-2 MOE	<u>GCACACAGCTGC</u>	293
388627	1525		2-8-2 MOE	<u>GCACACAGCTGC</u>	293

10

短鎖アンチセンス化合物を、インビボでのマウス SGLT2 mRNA レベルに対するその作用について解析した。データは、0.5 μmol/kg、0.1 μmol/kg または 0.02 μmol/kg の 1-10-1 MOE ギャップマーまたは 2-8-2 MOE ギャップマーのいずれか(腹腔内注射により与えた)を、3週間にわたり、週2回、雄性の6週齢の Balb/c マウスに投薬した3つの実験から取った。最後の投与から48時間後にマウスを屠殺し、腎臓における SGLT2 レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、RT、リアルタイムPCRにより決定した。PCRの結果を、内部のISISコントロールに対して正規化した。結果を、以下の表68に示す。

20

【1029】

【表68】

表 68: 1-10-1 および 2-8-2 MOE ギャップマーによる、インビボでの SGLT2 mRNA のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 umol/kg	SGLT2 の発現における変化%					
	生理食塩水に対する					
	ISIS 379692 1-10-1	ISIS 388625 2-8-2	ISIS 379699 1-10-1	ISIS 388626 2-8-2	ISIS 379702 1-10-1	ISIS 388627 2-8-2
0.5	-85	-90	-75	-80	-70	-65
0.1	-75	-88	-60	-60	-65	-50
0.02	-55	-65	-30	-45	-40	-38

30

40

これらの結果は、1-10-1 MOE ギャップマーおよび 2-8-2 MOE ギャップマーが共に、用量依存性の様式で、インビボで SGLT2 の発現を阻害することを示す。

【1030】

マウスを、さらに、総体重、肝臓、脾臓および腎臓の重量について評価した。全ての変化が、実験の誤差の許容範囲内であった。処置の間、または、研究の終了時点では、体重の有意な変化は観察されなかった。肝臓または脾臓の重量においても有意な変化が観察されなかった。

50

## 【1031】

A L T、A S T、B U N、トランスアミナーゼ、血漿クレアチニン、グルコースおよびトリグリセリドのレベルを、短鎖アンチセンス化合物で処置したマウスにおいて測定した。肝臓および腎臓の損傷および疾患の慣用的な臨床上の指標のレベルは、正常範囲内であり、そして、生理食塩水で処置した動物に対して、有意に変わっておらず、これらの短鎖アンチセンス化合物が、腎機能または肝機能に有意に影響を及ぼさないことが実証された。トリグリセリドおよびグルコースのレベルは、生理食塩水で処置した動物に対して、有意には上昇しなかった。

## 【1032】

マウスにおける I S I S 379692 1-10-1 MOEギャップマー、I S I S 392170 1-10-1メチレンオキシBNAギャップマー、I S I S 388625 2-8-2 MOEギャップマーおよび I S I S 392173 2-8-2メチレンオキシBNAギャップマーの評価

インビボでのマウス S G L T 2 mRNA レベルに対する、I S I S 379692 1-10-1 MOEギャップマーおよび I S I S 388625 2-8-2 MOEギャップマーの作用を、I S I S 392170 1-10-1メチレンオキシBNAギャップマーおよび I S I S 392173 2-8-2メチレンオキシBNAギャップマー（表69を参照のこと）の作用と比較した。データは、5 nmol/kg、25 nmol/kg または 125 nmol/kg の I S I S 379692 1-10-1 MOEギャップマーまたは I S I S 388625 2-8-2 MOEギャップマーのいずれか（腹腔内注射により与えた）を、3週間にわたり、週2回、雄性の6週齢の B a l b / c マウスに投薬した3つの実験から取った。最後の投与から48時間後にマウスを屠殺し、腎臓における S G L T 2 mRNA レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、R T、リアルタイム P C R により決定した。P C R の結果を、内部の I S I S コントロールに対して正規化した。データは、生理食塩水で処置した動物に対する変化の割合（％）（「+」は増加を示し、「-」は減少を示す）として表し、表69に示す。

## 【1033】

## 【表69】

表 69: 1-10-1 および 2-8-2 MOE ギャップマーによる、インビボでの SGLT2 mRNA のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 nmol/kg	ISIS 379692 1-10-1 MOE	ISIS 392170 1-10-1 メチレン オキシ BNA	ISIS 388625 2-8-2 MOE	ISIS 392173 2-8-2 メチレンオ キシ BNA
125	-58	-69	-70	-75
25	-46	-54	-47	-57
5	-7	-23	-18	-44

これらの結果は、1-10-1 MOEギャップマーおよび2-8-2 MOEギャップマーが共に、3つの投薬範囲のうち最も高い点において、用量依存性の様式で、インビボで S G L T 2 の発現を阻害することを示す。これらの結果はまた、メチレンオキシBNA構築物がMOE構築物よりもより強力であることを示す。処置の間、または、研究の終了時点では、体重の有意な変化は観察されなかった。肝臓または脾臓の重量においても有意な変化が観察されなかった。A L T、A S T、B U N およびクレアチニンのレベルを含む毒性パラメータは、正常範囲内であり、生理食塩水で処置した動物に対して、有意に変化しておらず、これらの化合物が、腎機能または肝機能に有意に影響を及ぼさないことが実証された。

## 【1034】

10

20

30

40

50

ラットにおけるISIS 379692 1-10-1 MOEギャップマーおよびISIS 388625 2-8-2 MOEギャップマーの評価

インビボでのラットSGLT2 mRNAレベルに対する、ISIS 379692 1-10-1 MOEギャップマーおよびISIS 388625 MOE 2-8-2ギャップマー（表70を参照のこと）の作用。データは、200nmol/kg、50nmol/kg、12.5nmol/kgまたは3.125nmol/kgのISIS 379692 1-10-1 MOEギャップマーまたはISIS 388625 2-8-2 MOEギャップマーのいずれか（腹腔内注射により与えた）を、3週間にわたり、週2回、雄性のSprague-Dawleyラット（170～200g）に投薬した4つの実験から取った。最後の投与から48時間後にラットを屠殺し、腎臓におけるSGLT2レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、RT、リアルタイムPCRにより決定した。PCRの結果を、内部のISISコントロールに対して正規化した。結果を、以下の表70に示す。

【1035】

【表70】

表70: 1-10-1 および 2-8-2 MOEギャップマーによる、インビボでのSGLT2 mRNAのアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 umol/kg	SGLT2の発現における変化% 生理食塩水に対する	
	ISIS 379692	ISIS 388625
	1-10-1	2-8-2
200	-80	-80
50	-65	-65
12.5	-15	-15
3.125	+30	+25

これらの結果は、1-10-1 MOEギャップマーおよび2-8-2 MOEギャップマーが共に、3つの投薬範囲のうち最も高い点において、用量依存性の様式で、インビボでSGLT2の発現を阻害することを示す。

【1036】

ラットを、さらに、総体重、肝臓、脾臓および腎臓の重量について評価した。全ての変化が、実験の誤差の許容範囲内であった。処置の間、または、研究の終了時点では、体重の有意な変化は観察されなかった。肝臓または脾臓の重量においても有意な変化が観察されなかった。

【1037】

ALT、AST、BUN、コレステロール、血漿クレアチニンおよびトリグリセリドのレベルを、短鎖アンチセンス化合物で処置したラットにおいて測定した。肝臓および腎臓の損傷および疾患の慣用的な臨床上の指標のレベルは、正常範囲内であり、そして、生理食塩水で処置した動物に対して、有意に変わっておらず、これらの短鎖アンチセンス化合物が、腎機能または肝機能に有意に影響を及ぼさないことが実証された。

【1038】

実施例16：ZDFラットにおけるSGLT2発現のアンチセンス性阻害

ISIS 388625、ISIS 388626およびコントロールオリゴであるISIS 388628を、ZDFラットの血漿グルコースレベルおよびHbA1cに対するその作用について解析した。レプチンレセプター欠失Zucker糖尿病脂肪過多（ZDF）ラットは、2型糖尿病の研究に有用なモデルである。糖尿病は、8～10週齢のこれらの雄性ラットにおいて自然に生じ、そして、過食症、多尿症、多渴症および体重増加の障害（impaired weight gain）、糖尿病の臨床上の症状と並行す

10

20

30

40

50

る症状を伴う (Phillips MS, et al., 1996, Nat Genet 13, 18-19)。6週齢のZDFラットに、12週にわたり、週1回、400nm/kgの用量で短鎖アンチセンス化合物を腹腔内注射した。データを表71および72に示す。

【1039】

【表71】

表 71: 血漿グルコース

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	モチーフ	特定の日に記録した 血漿グルコースのレベル (mg/dl)			
				10日目	40日目	55日目	66日目
PBS		n/a	n/a	450.7	478.5	392.8	526.2
388625	246	TGTTCCAGCCCA	2-8-2 MOE	435.5	278.7	213.8	325.5
388626	281	GGCATGAGCTTC	2-8-2 MOE	434.7	300.5	219.8	379.8
388628	226	TAGCCGCCACA	2-8-2 MOE	436.0	502.0	411.2	668.8

10

【1040】

【表72】

表 72: HbA1cの状態

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	モチーフ	特定の日の HbA1c の割合 (%) p < 0.001		
				40日目	55日目	68日目
PBS		n/a	n/a	8.0	8.9	10.0
388625	246	TGTTCCAGCCCA	2-8-2 MOE	6.5	5.8	4.3
388626	281	GGCATGAGCTTC	2-8-2 MOE	6.6	5.9	4.0
388628	226	TAGCCGCCACA	2-8-2 MOE	8.0	9.1	7.8

20

30

ISIS 388625およびISIS 388626は、PBSおよびコントロール処置動物と比較して、血漿グルコースレベルおよびHbA1cを有意に減少させた。

【1041】

実施例17: イヌ腎臓におけるSGLT2発現のアンチセンス性阻害 (ISIS 388625)

ISIS 388625は、TGTTCCAGCCCA (配列番号246)の配列を持つ2-8-2 MOEギャップマーである (例えば、表71を参照のこと)。イヌSGLT2 mRNAレベルに対するISIS 388625の作用。データは、1mg/kg/週または10mg/kg/週のいずれかのISIS 388625または生理食塩水 (週に2回、皮下注射により与えた) を、合計9匹の雄性のビーグル犬に投薬した2つの投薬群から取った。研究の46日目に全てのイヌを屠殺し、腎臓におけるSGLT2レベルについて評価した。標的のレベルを、本明細書中の他の実施例に記載されるようにして、RT、リアルタイムPCRにより決定した。PCRの結果を、内部のISISコントロールに対して正規化した。結果を、以下の表73に示す。

40

【1042】

## 【表 7 3】

表 73: ISIS 388625 による、インビボでの SGLT2 mRNA のアンチセンス性阻害

オリゴヌクレオチドの用量 mg/kg/wk	SGLT2 の発現における変化% 生理食塩水に対する
	ISIS 388625
1	-85
10	-95

10

これらの結果は、80%を上回る SGLT2 mRNA の減少が、1 mg / kg / wk の用量の ISIS 388625 で達成され得ることを示す。なおより多い現象が、わずかにより高い用量で達成され得る。イヌにおける ISIS 388625 の投与はまた、グルコース抵抗性を改善することも示された。ピーク血漿グルコースレベルは、平均して 50% を上回って減少され、そして、その後のグルコースの下降が、標準的なグルコース抵抗性試験における生理食塩水コントロールと比較して、少なくなった。尿中へのグルコースの排泄もまた増加した。

## 【1043】

実施例 18 : SGLT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物のインビボ試験

20

ヒト/サル/マウス/ラットの SGLT2 に対して相補的な 20 の 1 - 10 - 1 MOE ギャップマーを設計、合成し、そして、腎臓における SGLT2 mRNA レベルの抑制についてインビボで試験した。マウスおよびラットについての標的部位を表 7 4 に示す。ヒトについての標的部位を表 4 および 5 に示す。データは、2 週間の期間にわたり、週に 2 回 (合計 4 回の注射) の、350 nmol / kg のオリゴヌクレオチドを腹腔内注射により雄性の 6 週齢の Balb / c マウスに投与した 2 つの実験からの平均である。最後の投与から 48 時間後にマウスを屠殺し、腎臓における SGLT2 mRNA レベルについて評価した。SGLT2 mRNA レベルを、2 つの異なる PCR プライマープロブセットである、プライマープロブセット (PPS) 534 および PPS 553 を用いて、標準的な手順に従って、定量的リアルタイム PCR 解析により決定した。SGLT2 mRNA レベルを、シクロフォリン mRNA レベル (これもまた、定量的リアルタイム PCR により測定した) に対して正規化した。結果を、以下の表 7 4 に示す。

30

## 【1044】

【表 7 4】

表 74: インビボでの SGLT2 のアンチセンス性阻害

ISIS NO	配列番号 XXX における 5' 標的的部位 (マウス)	配列番号 XXX における 5' 標的的部位 (ラット)	配列 (5'-3')	モチーフ	PPS 534 % 生理食塩水	PPS 553 % 生理食塩水	配列番号
PBS			N/A		---	---	
370717	2684	152	TAGCCACCAACT	1-10-1 MOE	-84.4	-84.3	1554
379684	2070	64	TGTCAGCAGGAT	1-10-1 MOE	-45.0	-43.2	214
379685	2103	97	TGACCAGCAGGA	1-10-1 MOE	-10.3	-20.5	219
379686	2121*	115	ACCACAAGCCAA	1-10-1 MOE	-71.9	-75.1	225
379687	2824	216	GATGTTGCTGGC	1-10-1 MOE	-47.1	-52.1	230
379688	2876	268	CCAAGCCACTTG	1-10-1 MOE	-62.6	-70.4	240
379689		298	AGAGCGCATTCC	1-10-1 MOE	-17.5	-30.4	241
379690		415	ACAGGTAGAGGC	1-10-1 MOE	-18.9	-22.5	242
379691		454	AGATCTTGGTGA	1-10-1 MOE	-35.0	-48.6	243
379692		508	TGTTCCAGCCCA	1-10-1 MOE	-88.1	-88.5	246
379693		546	CATGGTGATGCC	1-10-1 MOE	-51.6	-59.9	254
379694		609	GACGAAGGTCTG	1-10-1 MOE	-42.1	-54.4	264
379695		717	GGACACCGTCAG	1-10-1 MOE	-52.5	-64.1	266
379696		954	CAGCTTCAGGTA	1-10-1 MOE	-24.6	-36.2	267
379697		982	CTGGCATGACCA	1-10-1 MOE	-32.0	-46.3	272
379698		1071	GCAGCCCACCTC	1-10-1 MOE	-11.8	-27.0	275
379699		1112	GGCATGAGCTTC	1-10-1 MOE	-83.5	-85.8	281
379700		1138	CCAGCATGAGTC	1-10-1 MOE	-2.8	-16.4	285
379701		1210	CCATGGTGAAGA	1-10-1 MOE	-0.3	-11.9	288
379702		1525	GCACACAGCTGC	1-10-1 MOE	-87.8	-89.5	293
379703		1681	GCCGGAGACTGA	1-10-1 MOE	-44.2	-45.9	295

\* は、標的配列に対する1または2のミスマッチを示す

実施例 19 : Hep3B 細胞におけるヒト PCSK9 のアンチセンス性阻害

PCSK9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、インビトロでの PCSK9 mRNA に対するその作用について試験した。短鎖アンチセンス化合物を表 6 に示す。各短鎖アンチセンス化合物の Isis No、ギャップマーのモチーフおよび配列番号を、再度、表 7 5 に示す。培養 Hep3B 細胞を、100 nM の短鎖アンチセンス化合物で処理した。PCSK9 核酸に対して標的化された 5'-10-5' MOE ギャップマーを、ポジティブコントロールとして用いた。処理期間の後、これらの細胞から RNA を単離し、PCSK9 mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的り

10

20

30

40

50



アルタイムPCRにより測定した。PCSK9 mRNAレベルを、RIBOGREEN（登録商標）により測定した総RNA含量に従って調整した。結果は、未処理のコントロール細胞に対するPCSK9の阻害の割合（%阻害）として表75に示す。「%阻害」の欄において、「0」は、その特定の短鎖アンチセンス化合物では、PCSK9 mRNAの減少が観察されなかったことを示す。

【1045】

【表 7 5 - 1】

表 75: 短鎖アンチセンス化合物による、PCSK9 のアンチセンス性阻害

ISIS No.	配列番号	配列番号 4 における 5' 標的部	配列番号 4 における 3' 標的部	ギャップマーのモチーフ	%阻害範囲	%阻害
400297	329	695	708	2-10-2 MOE		0
400298	330	696	709	2-10-2 MOE		0
400299	331	697	710	2-10-2 MOE		0
400300	332	742	755	2-10-2 MOE		9
400301	333	757	770	2-10-2 MOE	20-30%	27
400302	334	828	841	2-10-2 MOE		0
400303	335	829	842	2-10-2 MOE		0
400304	336	830	843	2-10-2 MOE	10-20%	11
400305	337	937	950	2-10-2 MOE	30-40%	38
400306	338	952	965	2-10-2 MOE	40-50%	40
400307	339	988	1001	2-10-2 MOE	70-80%	76
400308	340	989	1002	2-10-2 MOE	50-60%	55
400309	341	990	1003	2-10-2 MOE	40-50%	44
400310	342	991	1004	2-10-2 MOE		8
400311	343	992	1005	2-10-2 MOE	10-20%	18
400312	344	993	1006	2-10-2 MOE	20-30%	28
400313	345	994	1007	2-10-2 MOE	10-20%	10
400314	346	1057	1070	2-10-2 MOE	20-30%	26
400315	347	1075	1088	2-10-2 MOE		0
400316	348	1076	1089	2-10-2 MOE		8
400317	349	1077	1090	2-10-2 MOE		7
400318	350	1078	1091	2-10-2 MOE	20-30%	26
400319	351	1093	1106	2-10-2 MOE		0
400320	352	1094	1107	2-10-2 MOE		0

【 1 0 4 6 】

10

20

30

40

【表 7 5 - 2】

400321	353	1095	1108	2-10-2 MOE		0
400322	354	1096	1109	2-10-2 MOE		0
400323	355	1147	1160	2-10-2 MOE		0
400324	356	1255	1268	2-10-2 MOE		7
400325	357	1334	1347	2-10-2 MOE		4
400326	358	1335	1348	2-10-2 MOE		0
400327	359	1336	1349	2-10-2 MOE	30-40%	36
400328	360	1453	1466	2-10-2 MOE	10-20%	13
400329	361	1454	1467	2-10-2 MOE	10-20%	14
400330	362	1455	1468	2-10-2 MOE	40-50%	43
400331	363	1456	1469	2-10-2 MOE	30-40%	35
400332	364	1569	1582	2-10-2 MOE		0
400333	365	1570	1583	2-10-2 MOE		0
400334	366	1571	1584	2-10-2 MOE		0
400335	367	1572	1585	2-10-2 MOE		0
400336	368	1573	1586	2-10-2 MOE		4
400337	369	1574	1587	2-10-2 MOE		0
400338	370	1575	1588	2-10-2 MOE		9
400339	371	1576	1589	2-10-2 MOE		0
400340	372	1577	1590	2-10-2 MOE		0
400341	373	1578	1591	2-10-2 MOE		0
400342	374	1621	1634	2-10-2 MOE		0
400343	375	1622	1635	2-10-2 MOE		0
400344	376	1623	1636	2-10-2 MOE		0
400345	377	1624	1637	2-10-2 MOE		0
400346	378	1738	1751	2-10-2 MOE		5
400347	379	1739	1752	2-10-2 MOE		0

10

20

30

40

【 1 0 4 7 】

【表 7 5 - 3】

400348	380	1740	1753	2-10-2 MOE		0
400349	381	1741	1754	2-10-2 MOE	10-20%	13
400350	382	1834	1847	2-10-2 MOE	10-20%	15
400351	383	1835	1848	2-10-2 MOE	10-20%	14
400352	384	1836	1849	2-10-2 MOE	20-30%	29
400353	385	1837	1850	2-10-2 MOE	10-20%	19
400354	386	1838	1851	2-10-2 MOE	10-20%	19
400355	387	1839	1852	2-10-2 MOE		0
400356	388	1840	1853	2-10-2 MOE		0
400357	389	2083	2096	2-10-2 MOE		0
400358	390	2084	2097	2-10-2 MOE	10-20%	12
400359	391	2085	2098	2-10-2 MOE		0
400360	392	2086	2099	2-10-2 MOE	30-40%	38
400361	393	2316	2329	2-10-2 MOE		2
400362	394	2317	2330	2-10-2 MOE	10-20%	16
400363	395	2318	2331	2-10-2 MOE		8
400364	396	2319	2332	2-10-2 MOE		0
400365	397	2320	2333	2-10-2 MOE	20-30%	25
400366	398	2321	2334	2-10-2 MOE	10-20%	15
400367	399	2322	2335	2-10-2 MOE	10-20%	12
400368	400	2323	2336	2-10-2 MOE	10-20%	11
400369	401	2324	2337	2-10-2 MOE		0
400370	402	2325	2338	2-10-2 MOE	10-20%	13
400371	403	3543	3556	2-10-2 MOE		0

10

20

30

40

表 7 5 に示されるように、P C S K 9 核酸に対して標的化され、かつ 2 - 1 0 - 2 M O E のギャップマーのモチーフを有する短鎖アンチセンス化合物は、培養細胞において P C S K 9 mRNA を減少させた。

## 【 1 0 4 8 】

P C S K 9 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、用量応答実験の H e p 3 B 細胞において試験した。細胞を、本明細書中に記載されるようにして、n M の濃度の表 7 6 に示される短鎖アンチセンス化合物で処理した。処理期間の後、これらの細胞から R N A を単離し、そして、P C S K 9 mRNA レベルを、本明細書中に記載される

50

ようにして、定量的リアルタイムPCRにより測定した。PCSK9 mRNAレベルを、シクロフォリン特異的なプライマープロブセットを用いてリアルタイムPCRにより測定したシクロフォリンmRNAレベルに対して正規化した。結果を、未処理のコントロール細胞に対するPCSK9の阻害の割合として示す。また、用量応答実験において試験した短鎖アンチセンス化合物の各々についての、Graphpad Prismを用いて計算したEC<sub>50</sub> (mRNAの50%の減少が観察される濃度)も示す。以下の表に示すように、PCSK9 mRNAレベルは、用量依存性の様式で減少した。

【1049】

【表76】

表 76: 短鎖アンチセンス化合物による PCSK9 の用量依存性のアンチセンス性阻害

	%阻害					
	160 nM	80 nM	40 nM	20 nM	10 nM	5 nM
5-10-5	95	96	85	78	58	38
400307	93	92	56	45	39	35
400308	86	77	40	26	10	31
400309	78	72	12	38	23	49
400327	55	43	49	23	37	5
400330	71	82	69	40	32	8
400331	82	75	63	47	40	29
400352	64	63	44	40	16	7
400353	48	54	43	23	27	15

実施例 20 : BNAを含む短鎖アンチセンス化合物によるPCSK9のアンチセンス性阻害

PCSK9核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、マウスおよびヒトの両方の培養細胞において、用量応答性実験において試験した。試験した化合物には、ISIS 403739およびISIS 403740を含んだ。ISIS 403739は、配列番号404のヌクレオチド配列からなり、2-10-2のギャップマーのモチーフを有する短鎖アンチセンス化合物であり、ウイング内のヌクレオチドは、(6'S)-6'メチルBNAを含む。ISIS 403740は、配列番号405のヌクレオチド配列からなり、2-10-2のギャップマーのモチーフを有する短鎖アンチセンス化合物であり、ウイング内のヌクレオチドは、(6'S)-6'メチルBNAを含む。また、PCSK9核酸に対して標的化された5-10-5 MOEギャップマーも試験した。

【1050】

マウス肝細胞をプレーティングし、そして、本明細書中に記載されるようにして、nMの濃度の表77に示される短鎖アンチセンス化合物で処理した。処理期間の後、これらの細胞からRNAを単離し、そして、PCSK9 mRNAレベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイムPCRにより測定した。PCSK9 mRNAレベルを、シクロフォリン特異的なプライマープロブセットを用いてリアルタイムPCRにより測定したシクロフォリンmRNAレベルに対して正規化した。結果は、未処理のコントロール細胞に対するPCSK9の阻害の割合として示す。存在する場合、「0」は、PCSK9 mRNAにおける減少が観察されなかったことを示す。ISIS 403739は、30nM以上の用量で、マウスPCSK9 mRNAの用量依存性の減少を示した。ISIS 403740は、短鎖アンチセンス化合物の2つの最も高い用量において、マウスPCSK9 mRNAの減少を示した。

【1051】

10

20

30

40

## 【表 7 7】

表 77: BNA を含む短鎖アンチセンス化合物によるマウス PCSK9 のアンチセンス性阻害

	%阻害						
	3.75 nM	7.5 nM	15 nM	30 nM	60 nM	120 nM	240 nM
5-10-5	10	15	21	18	44	43	77
403739	40	19	29	29	32	49	57
403740	3	0	29	13	0	40	33

ヒト Hep 3 B 細胞を、本明細書中に記載されるように、nM の濃度の短鎖アンチセンス化合物で処理した。処理期間の後、これらの細胞から RNA を単離し、そして、PCSK9 mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム PCR により測定した。PCSK9 mRNA レベルを、シクロフォリン特異的なプライマープローブセットを用いてリアルタイム PCR により測定したシクロフォリン mRNA レベルに対して正規化した。結果は、未処理のコントロール細胞に対する PCSK9 の阻害の割合として示す。データを表 7 8 に示し、このデータは、ISIS 403740 での処理後のヒト PCSK9 mRNA の用量依存性の減少を実証する。ISIS 403739 は、より高い用量において、用量依存性の減少を示した。

【 1 0 5 2】

## 【表 7 8】

表 78: BNA を含む短鎖アンチセンス化合物によるマウス PCSK9 のアンチセンス性阻害

	%阻害						
	2.5 nM	5 nM	10 nM	20 nM	40 nM	80 nM	160 nM
5-10-5	7	2	21	33	30	59	71
403739	10	5	7	6	25	52	65
403740	6	12	16	29	45	48	59

実施例 2 1 : Hep G 2 細胞における G C G R のアンチセンス性阻害

G C G R 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、インビトロでの G C G R mRNA に対するその作用について試験した。

【 1 0 5 3】

Hep G 2 細胞

96 ウェルプレート内の 1 ウェルあたりに 10000 細胞の濃度で培養した Hep G 2 細胞を、本明細書中に記載されるようにして、25 nM、50 nM、100 nM または 200 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した。処理期間の後、これらの細胞から RNA を単離し、そして、G C G R mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム PCR により測定した。G C G R mRNA レベルを、RIBOGREEN (登録商標) により測定した総 RNA 含量に従って調整した。結果は、未処理のコントロール細胞に対する G C G R mRNA の減少の割合として示す。

【 1 0 5 4】

表 7 9 は、3 - 10 - 3 MOE ギャップマーである ISIS 327161 の示される用量での処理後のデータを示す。ISIS 327161 は、用量依存性の様式で G C G R mRNA を減少させた。

【 1 0 5 5】

10

20

30

40

【表 79】

表 79: 短鎖アンチセンス化合物による、HepG2 細胞における GCGR のアンチセンス性阻害

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	25 nM	50 nM	100 nM	200 nM
327161	520	AGCTGCTGTACATC	3-8-3 MOE	-36	-30	-33	-64

サルの肝細胞

GCGR 核酸に対して標的化させたさらなる短鎖アンチセンス化合物を、インビトロでの、サル GCGR mRNA に対するその作用について試験したサルの初代培養肝細胞を、本明細書中に記載されるようにして、25 nM、50 nM、100 nM または 200 nM の短鎖アンチセンス化合物で処理した。処理期間の後、これらの細胞から RNA を単離し、そして、GCGR mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム PCR により測定した。GCGR mRNA レベルを、RIBOGREEN (登録商標) により測定した総 RNA 含量に従って調整した。結果は、未処理のコントロール細胞に対する GCGR mRNA の減少の割合として表 80 に示す。

【1056】

【表 80】

表 80: 短鎖アンチセンス化合物による初代サル肝細胞における GCGR のアンチセンス性阻害

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	25 nM	50 nM	100 nM	200 nM
327131	489	ATGTTGGCCGTGGT	3-8-3 MOE	0	-8	-36	-36
327161	520	AGCTGCTGTACATC	3-8-3 MOE	-19	-33	-55	-54

実施例 22: 短鎖アンチセンス化合物による DGAT2 のアンチセンス性阻害

DGAT2 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、インビトロでの DGAT2 mRNA に対するその作用について試験した。96 ウェルプレート中の培養 A10 細胞を、75 nM の短鎖アンチセンス化合物で処理した。約 24 時間の処理期間の後、これらの細胞から RNA を単離し、そして、DGAT2 mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム PCR により測定した。DGAT2 mRNA レベルを、RIBOGREEN (登録商標) により測定した総 RNA 含量に従って調整した。結果は、未処理のコントロール細胞に対する DGAT2 の阻害の割合として表 81 に示す。

【1057】

【表 8 1】

表 81: A10 細胞における DGAT2 のアンチセンス性阻害

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	% コントロール
372491	795	ACATGAGGATGACACT	3-10-3 MOE	80
372500	702	GTGTGTCTTCACCAGC	3-10-3 MOE	16
372501	704	TTGTGTGTCTTCACCA	3-10-3 MOE	28
372503	708	GCAGGTTGTGTGTCTT	3-10-3 MOE	35
372508	719	AGTTCCTGGTGGTCAG	3-10-3 MOE	35
372516	805	TACAGAAGGCACCCAG	3-10-3 MOE	27
372524	738	GCCAGGCATGGAGCTC	3-10-3 MOE	21
372530	746	TCGGCCCCAGGAGCCC	3-10-3 MOE	35
372546	825	TTGGTCTTGTGATTGT	3-10-3 MOE	34
372563	691	AGCCAGGTGACAGA	2-10-2 MOE	48
372569	796	CATGAGGATGACAC	2-10-2 MOE	104
372578	703	TGTGTCTTCACCAG	2-10-2 MOE	59
372580	707	GGTTGTGTGTCTTC	2-10-2 MOE	48
372586	720	GTTCTTGGTGGTCA	2-10-2 MOE	40
372594	806	ACAGAAGGCACCCA	2-10-2 MOE	77
372602	739	CCAGGCATGGAGCT	2-10-2 MOE	39
372618	765	GTGGTACAGGTCGA	2-10-2 MOE	29
372624	826	TGGTCTTGTGATTG	2-10-2 MOE	56

10

20

D G A T 2 mRNA に対して標的化されたさらなる短鎖アンチセンス化合物を、インビトロで、用量応答性実験において試験した。A 1 0 細胞を上述のようにして調製し、そして、6.25 nM、12.5 nM、25.0 nM、50.0 nM、100.0 nM および 200.0 nM の短鎖アンチセンス化合物で処理して、D G A T 2 の阻害が用量依存性の様式で生じているかどうかを決定した。データは、以下の表 8 2 に示される短鎖アンチセンス化合物の各々が、用量依存性の様式でラット D G A T 2 mRNA を減少させることを実証する。結果は、未処理のコントロール細胞に対する阻害の割合として示す。「0」は、D G A T 2 mRNA が減少されなかったことを示す。

【 1 0 5 8 】

【表 8 2】

表 82: A10 細胞における DGAT2 の用量依存性の阻害

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	用量 (nM)					
				6.25	12.5	25.0	50.0	100.0	200.0
372562	784	GTCTTGGAGGGCCG	2-10-2 MOE	0	0	0	36	48	75
372568	794	GACTTGCAGGCCA	2-10-2 MOE	0	0	15	26	72	69
372586	720	GTTCTTGGTGGTCA	2-10-2 MOE	19	0	7	22	45	77
372602	739	CCAGGCATGGAGCT	2-10-2 MOE	0	0	0	18	47	76
372618	765	GTGGTACAGGTCGA	2-10-2 MOE	0	5	0	27	65	80

40

D G A T 2 mRNA に対して標的化されたさらなる短鎖アンチセンス化合物をインビトロにおいて試験した。A 1 0 細胞を上述のようにして調製し、そして、0.62 nM、1.85 nM、5.56 nM、16.67 nM、50.0 nM および 150.0 nM の短鎖アンチセンス化合物で処理して、D G A T 2 の阻害が用量依存性の様式で生じているかどうかを決定した。D G A T 2 mRNA を、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム PCR を用いて測定した。データは、以下の表 8 3 に示される短鎖アンチセンス化合物の各々が、用量依存性の様式でラット D G A T 2 mRNA を阻害すること

50



を実証する。結果は、未処理のコントロール細胞に対するラット DGAT2 の阻害の割合として示す。存在する場合、「0」は、DGAT2 mRNA の減少が観察されなかったことを示す。

【1059】

【表83】

表 83: A10 細胞における DGAT2 の用量依存性の阻害

ISIS NO.	配列番号	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	0.62 nM	1.85 nM	5.56 nM	16.67 nM	50 nM	150 nM
372500	702	GTGTGTCTTCACCAGC	3-10-3 MOE	0	0	0	18	64	88
372501	704	TTGTGTGTCTTCACCA	3-10-3 MOE	1	5	10	11	25	68
372503	708	GCAGGTTGTGTGTCTT	3-10-3 MOE	7	10	4	25	54	80
372508	719	AGTTCCTGGTGGTCAG	3-10-3 MOE	0	0	6	14	39	71
372516	805	TACAGAAGGCACCCAG	3-10-3 MOE	1	10	0	4	35	81
372524	738	GCCAGGCATGGAGCTC	3-10-3 MOE	7	0	5	30	68	91
372530	746	TCGGCCCCAGGAGCCC	3-10-3 MOE	0	2	0	10	38	78
372546	825	TTGGTCTTGTGATTGT	3-10-3 MOE	0	2	11	4	48	78
372563	691	AGCCAGGTGACAGA	2-10-2 MOE	0	0	0	1	4	46
372578	703	TGTGTCTTCACCAG	2-10-2 MOE	0	0	0	2	7	42
372580	707	GGTTGTGTGTCTTC	2-10-2 MOE	0	5	5	3	16	42
372586	720	GTTTCCTGGTGGTCA	2-10-2 MOE	0	0	0	0	7	55
372594	806	ACAGAAGGCACCCA	2-10-2 MOE	0	0	0	0	2	15
372602	739	CCAGGCATGGAGCT	2-10-2 MOE	0	0	10	0	19	51
372618	765	GTGGTACAGGTCGA	2-10-2 MOE	0	0	0	0	30	60
372624	826	TGGTCTTGTGATTG	2-10-2 MOE	0	0	0	1	16	38

#### 実施例 23 : HuVEC 細胞におけるヒト PTP1B のアンチセンス性阻害

PTP1B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、インビトロでの PTP1B mRNA に対するその作用について試験した。96 ウェルプレート内の 1 ウェルあたりに 5000 細胞の濃度で培養した HuVEC 細胞を、本明細書中に記載されるようにして、3 nM の短鎖アンチセンス化合物で処理した。処理期間の後、これらの細胞から RNA を単離し、そして、PTP1B mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム PCR により測定した。PTP1B mRNA レベルを、RIBOGREEN (登録商標) により測定した総 RNA 含量に従って調整した。結果は、未処理のコントロールに対する、PTP1B の阻害の割合 (% 阻害) として示す。データは、表 84 における PTP1B 核酸に対して標的化され、かつ、2-10-2 ギャップマーのモチーフを有する短鎖アンチセンス化合物が、HuVEC 細胞において PTP1B を阻害し得ることを実証した。

【1060】

## 【表 8 4】

表 84: 短鎖アンチセンス化合物による HuVEC 細胞における PTP1B のアンチセンス性阻害

ISIS NO.	配列番号	ギャップマーのモチーフ	%阻害
399301	1542	2-10-2 OMe	55
404137	1053	2-10-2 MOE	76
404138	1054	2-10-2 MOE	76
404139	1052	2-10-2 MOE	80
404140	1051	2-10-2 MOE	73

10

## 実施例 2 4 : H e p G 2 細胞におけるヒト P T P 1 B のアンチセンス性阻害

P T P 1 B 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物を、インビトロでの P T P 1 B m R N A に対するその作用について試験した。9 6 ウェルプレート内の 1 ウェルあたりに 1 0 0 0 0 細胞の濃度で培養した H e p G 2 細胞を、2 5 n M のアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理した。処理期間の後、これらの細胞から R N A を単離し、そして、P T P 1 B m R N A レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム P C R により測定した。P T P 1 B m R N A レベルを、R I B O G R E E N (登録商標)により測定した総 R N A 含量に従って調整した。結果は、未処理のコントロールに対する、P T P 1 B の阻害の割合 (% 阻害) として示す。データは、表 8 5 における P T P 1 B 核酸に対して標的化され、かつ、2 - 1 0 - 2 ギャップマーのモチーフを有する短鎖アンチセンス化合物が、H e p G 2 細胞において P T P 1 B を阻害し得ることを実証した。

20

## 【 1 0 6 1 】

## 【表 8 5】

表 85: 短鎖アンチセンス化合物による HepG2 細胞における PTP1B のアンチセンス性阻害

ISIS NO.	配列番号	ギャップマーのモチーフ	%阻害
399301	1542	2-10-2 OMe	43
404137	1053	2-10-2 MOE	71
404138	1054	2-10-2 MOE	86
404139	1052	2-10-2 MOE	45
404140	1051	2-10-2 MOE	93

30

## 実施例 2 5 : H u V E C 細胞における P T P 1 B のアンチセンス性阻害 : 用量応答実験

ヒト血管内皮 (H u V E C) 細胞を、1 ウェルあたり 5 0 0 0 細胞の濃度でプレATINGし、そして、本明細書中に記載されるようにして、n M の濃度の表 8 6 に示される短鎖アンチセンス化合物で処理した。処理期間の後、これらの細胞から R N A を単離し、そして、P T P 1 B m R N A レベルを、本明細書中に記載されるようにして、定量的リアルタイム P C R により測定した。P T P 1 B m R N A レベルを、R I B O G R E E N (登録商標)により測定した総 R N A 含量に従って調整した。2 つの異なるヒト P T P 1 B プライマープロブセットを用いて m R N A レベルを測定した。プライマープロブセット (P P S) 1 9 8 での結果を表 8 6 に示し、プライマープロブセット (P P S) 3 0 0 0 での結果を表 8 7 に示す。結果は、未処理のコントロール細胞に対する、P T P 1 B m R N A 発現の阻害の割合として示す。存在する場合、「0」は、P T P 1 B m R N A の減少が観察されなかったことを示す。表 8 6 および 8 7 に示されるように、P T P 1 B m R N A レベルは、用量依存性の様式で減少した。

40

50

【 1 0 6 2 】

【表 8 6】

表 86: PPS 198 を用いた、HuVEC 細胞におけるヒト PTP1B に対する用量応答

ISIS NO.	配列番号	ギャップマーのモチーフ	%阻害			
			1.11 nM	3.33 nM	10.0 nM	30.0 nM
398105	1066	2-10-2 MOE	0	25	79	90
398112	1072	2-10-2 MOE	1	10	73	93
398120	1086	2-10-2 MOE	0	31	80	96
399096	1544	2-10-2 MOE	3	30	78	96
399102	1545	2-10-2 MOE	0	15	62	88
399113	1547	2-10-2 MOE	0	31	72	90
399132	1548	2-10-2 MOE	0	32	75	95
399173	1549	2-10-2 MOE	0	24	63	89
399208	1550	2-10-2 MOE	0	37	86	93
399276	1551	2-10-2 MOE	0	8	61	89
399301	1542	2-10-2 MOE	8	63	91	97
399315	1552	2-10-2 MOE	0	20	68	88
398173	1543	1-10-1 MOE	0	4	80	97

10

【 1 0 6 3 】

【表 8 7】

表 87: PPS 3000 を用いた、HuVEC 細胞におけるヒト PTP1B に対する用量応答

ISIS NO.	配列番号	ギャップマーのモチーフ	%阻害			
			1.11 nM	3.33 nM	10.0 nM	30.0 nM
398105	1066	2-10-2 MOE	0	35	79	93
398112	1072	2-10-2 MOE	0	26	77	94
398120	1086	2-10-2 MOE	0	35	79	93
399096	1544	2-10-2 MOE	0	23	75	94
399102	1545	2-10-2 MOE	0	9	60	87
399113	1547	2-10-2 MOE	0	9	65	90
399132	1548	2-10-2 MOE	0	26	76	91
399173	1549	2-10-2 MOE	0	11	59	92
399208	1550	2-10-2 MOE	0	47	85	96
399276	1551	2-10-2 MOE	0	14	64	86
399301	1542	2-10-2 MOE	16	65	93	99
399315	1552	2-10-2 MOE	0	25	71	93
398173	1543	1-10-1 MOE	0	18	80	90

20

30

実施例 26 : 短鎖アンチセンス化合物による、ApoB のアンチセンス性阻害

表 88 に示される短鎖アンチセンス化合物を、そのインピボでの作用について試験した。6 週齢の雄性 Balb/c マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) に、 $3.2 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、 $1 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、 $0.32 \mu\text{mol}/\text{kg}$  または  $0.1 \mu\text{mol}/\text{kg}$  の用量を、3 週間にわたり週に 2 回、腹腔内投与した。5-10-5 MOE ギャップマーをコントロール処置に用いた。最後の投薬の約 48 時間後にマウスを屠殺した。RNA 単離のために肝臓組織を回収し、そして、血清化学解析のために血液を回収した。ApoB mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、リアルタイム PCR により測定した。ApoB mRNA レベルを、RIBOGREEN により決定した RNA レベルに対して正規化し、そして、生理食塩水で処置したコントロール動物における ApoB mRNA に対する阻害の割合として、表 89 に示す。

40

【 1 0 6 4 】

【表 8 8】

表 88: ApoB 核酸を標的とする短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	配列 (5' -3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
387462	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 メチレンオキシ BNA	190
398296	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 6'-(S)-メチル メチレンオキシ BNA	190

【 1 0 6 5 】

【表 8 9】

表 89: BNA を含む短鎖アンチセンス化合物による ApoB のアンチセンス性阻害

Isis No	用量	
	(umol/kg)	%阻害
379818	1	56
387462	0.1	33
	0.32	57
	1	93
398296	3.2	99
	0.1	17
	0.32	35
	1	80
	3.2	98

表 8 9 は、2 - 1 0 - 2 のギャップマーのモチーフと、ウイング内の BNA 修飾とを有する短鎖アンチセンス化合物での処置後に、ApoB mRNA レベルが用量依存性の様式で減少したことを示す。1  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  の用量では、短鎖アンチセンス化合物による ApoB の阻害は、同等の用量の 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーで観察されるよりも大きかった。1  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  および 3 . 2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  の短鎖アンチセンス化合物の用量において、コレステロールが減少された。

【 1 0 6 6 】

短鎖アンチセンス化合物は、臓器の重量および体重、血清トランスアミナーゼ、ビリルビン、血中尿素窒素およびクレアチニンにより判断されるように、有害な副作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。

【 1 0 6 7 】

実施例 2 7 : 短鎖アンチセンス化合物による、PTEN のアンチセンス性阻害

表 9 0 に示される短鎖アンチセンス化合物を、そのインビボでの作用について試験した。6 週齢の雄性 Balb / c マウス ( Jackson Laboratory , Bar Harbor , ME ) に、3 . 2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 、1  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  または 0 . 3 2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  の用量を、3 週間にわたり週に 2 回、腹腔内投与した。5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーをコントロール処置に用いた。最後の投薬の約 4 8 時間後にマウスを屠殺した。RNA 単離のために肝臓組織を回収し、そして、血清化学解析のために血液を回収した。PTEN mRNA レベルを、本明細書中に記載されるようにして、リアルタイム PCR により測定した。PTEN mRNA レベルを、RIBOGREEN により決定した RNA レベルに対して正規化し、そして、生理食塩水で処置したコントロール動物における PTEN mRNA に対する阻害の割合として、表 9 1 に示す。

【 1 0 6 8 】

10

20

30

40

## 【表 9 0】

表 90:PTEN 核酸に対して標的化された短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
392063	AGGCCAGTGCTAAG	2-10-2 メチレンオキシ BNA	1226
392749	AGGCCAGTGCTAAG	2-10-2 (6'S)-6'-メチル メチレンオキシ BNA	1226
396006	AGGCCAGTGCTAAG	2-10-2 $\alpha$ -L-メチレンオキシ BNA	1226

10

## 【 1 0 6 9】

## 【表 9 1】

表 91: BNA 修飾を含む短鎖アンチセンス化合物による PTEN のアンチセンス性阻害

Isis No	用量 (umol/kg)	%阻害
116847	1	47
392063	0.1	26
	0.32	43
	1	74
	3.2	96
392749	0.1	17
	0.32	34
	1	64
	3.2	96
396006	0.1	20
	0.32	32
	1	67
	3.2	88

20

表 9 1 は、2 - 1 0 - 2 のギャップマーのモチーフと、ウィング内の BNA 修飾とを有する短鎖アンチセンス化合物での処置後に、PTEN mRNA レベルが用量依存性の様式で減少したことを示す。1  $\mu$ mol / kg の用量では、短鎖アンチセンス化合物による PTEN の阻害は、同等の用量の 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーで観察されるよりも大きかった。

## 【 1 0 7 0】

最高用量の ISIS 392063 を除いて、血清トランスアミナーゼでは有意な増加は観察されなかった。全体として、短鎖アンチセンス化合物は、有害な副作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。

40

## 【 1 0 7 1】

実施例 2 8 : BNA 修飾を含む短鎖アンチセンス化合物の単回用量投与

6 週齢の雄性 Balb / c マウス ( Jackson Laboratory , Bar Harbor , ME ) に、8  $\mu$ mol / kg、4  $\mu$ mol / kg、2  $\mu$ mol / kg または 1  $\mu$ mol / kg の用量の短鎖アンチセンス化合物の単回の腹腔内注射を施した。試験した短鎖アンチセンス化合物は、ISIS 387462 および ISIS 398296 であった。各用量の群を、4 匹の動物から構成した。5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーをコントロール処置に用いた。最後の投薬の約 4 8 時間後にマウスを屠殺した。RNA 単

50

離のために肝臓組織を回収し、そして、血清化学解析のために血液を回収した。ApoB mRNAレベルを、本明細書中に記載されるようにして、リアルタイムPCRにより測定した。ApoB mRNAレベルを、RIBOGREENにより決定したRNAレベルに対して正規化し、そして、生理食塩水で処置したコントロール動物におけるApoB mRNAに対する阻害の割合として、表92に示す。

【1072】

【表92】

表 92: BNA を含む短鎖アンチセンス化合物による ApoB のアンチセンス性阻害

Isis No	用量 (umol/kg)	%阻害
379818	8	77
387462	8	99
	4	93
	2	81
	1	58
398296	8	97
	4	81
	2	54
	1	19

表92は、2-10-2のギャップマーのモチーフと、ウィング内のBNA修飾とを有する短鎖アンチセンス化合物の単回投与後に、ApoB mRNAレベルが用量依存性の様式で減少したことを示す。8 μmol/kgの用量では、短鎖アンチセンス化合物によるApoBの阻害は、同等の用量の5-10-5 MOEギャップマーで観察されるよりも大きかった。ISIS 387462のED<sub>50</sub>は、3.9 mg/kgであり、そして、ISIS 398296のED<sub>50</sub>は、8.7 mg/kgであった。コレステロールもまた、用量依存性の様式で減少した。トリグリセリドは、最高用量で減少した。

【1073】

短鎖アンチセンス化合物は、臓器の重量および体重、血清トランスアミナーゼ、ビリルビン、血中尿素窒素およびクレアチニンにより判断されるように、有害な副作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。

【1074】

同様の単回用量投与研究において、配列番号1226、2-10-2のギャップマーのモチーフ(このウィングのヌクレオチドは、(6'R)-6'メチルメチレンオキシBNA修飾を含む)を持つISIS 392748は、PTEN mRNAを用量依存性の様式で減少させた。さらに、配列番号1226、2-10-2のギャップマーのモチーフ(このウィングのヌクレオチドは、(6'S)-6'-メチルメチレンオキシBNA修飾を含む)を持つISIS 392749は、PTEN mRNAを用量依存性の様式で減少させた。2-10-2のギャップマーのモチーフ、配列番号1226の配列、および6-(S)-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>-BNA修飾を有する短鎖アンチセンス化合物もまた、同様のインビボ研究においてPTEN mRNAを減少させた。

【1075】

実施例29: BNA修飾を含む短鎖アンチセンス化合物の単回用量投与

6週齢の雄性Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、8 μmol/kg、4 μmol/kg、2 μmol/kgまたは1 μmol/kgの用量の短鎖アンチセンス化合物の単回の腹腔内注射を施した。各用量の群を、4匹の動物から構成した。試験した短鎖アンチセンス化合物は、ISIS 392063、ISIS 392749およびISIS 366006であった。5-10

10

20

30

40

50

- 5 MOEギャップマーをコントロール処置に用いた。最後の投薬の約48時間後にマウスを屠殺した。RNA単離のために肝臓組織を回収し、そして、血清化学解析のために血液を回収した。ApoB mRNAレベルを、本明細書中に記載されるようにして、リアルタイムPCRにより測定した。ApoB mRNAレベルを、RIBOGREENにより決定したRNAレベルに対して正規化し、そして、生理食塩水で処置したコントロール動物におけるApoB mRNAに対する阻害の割合として、表93に示す。

【1076】

【表93】

表 93: BNA 修飾を含む短鎖アンチセンス化合物による PTEN のアンチセンス性阻害

Isis No	用量 ( $\mu\text{mol/kg}$ )	%阻害
116847	8	62
392063	8	92
	4	82
	2	58
	1	38
396565	8	76
	4	38
	2	24
	1	11
396006	8	94
	4	82
	2	48
	1	18

表93は、2-10-2のギャップマーのモチーフと、ウイング内のBNA修飾とを有する短鎖アンチセンス化合物での処置後に、PTEN mRNAレベルが用量依存性の様式で減少したことを示す。8  $\mu\text{mol/kg}$ の用量では、短鎖アンチセンス化合物によるPTENの阻害は、同等の用量の5-10-5 MOEギャップマーで観察されるよりも大きかった。推定のED<sub>50</sub>は、ISIS 392063について7 mg/kg、ISIS 396565について17.4 mg/kg、そして、ISIS 396006について9.3 mg/kgであった。

【1077】

ISIS 392063の最高用量を除いて、血清トランスアミナーゼでは有意な増加は観察されなかった。全体として、短鎖アンチセンス化合物は、有害な副作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。

【1078】

実施例30：パルミチン酸結合を含む短鎖アンチセンス化合物による、ApoBのアンチセンス性阻害

6週齢の雄性Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、2.5  $\mu\text{mol/kg}$ 、1.0  $\mu\text{mol/kg}$ 、0.4  $\mu\text{mol/kg}$ および0.16  $\mu\text{mol/kg}$ の用量のアンチセンス化合物の単回の腹腔内注射を施した。各用量の群を、4匹の動物から構成した。試験した短鎖アンチセンス化合物を、表94に示す。5-10-5 MOEギャップマーをコントロール処置に用いた。最後の投薬の約48時間後にマウスを屠殺した。RNA単離のために肝臓組織を回収し、そして、血清化学解析のために血液を回収した。ApoB mRNAレベルを、本明細書中に記載されるようにして、リアルタイムPCRにより測定した。ApoB mRNAレベル

10

20

30

40

50

を、RIBOGREENにより決定したRNAレベルに対して正規化し、そして、生理食塩水で処置したコントロール動物におけるApoB mRNAに対する阻害の割合として、表95に示す。

【1079】

【表94】

表 94: パルミチン酸共役基を含む短鎖アンチセンス化合物

ISIS NO	配列 (5'-3')	ギャップマーのモチーフ	配列番号
387462	GGTACATGGAAGTC	2-10-2 メチレンオキシBNA	190
391871	GGTACATGGAAGTC	1-1-10-2 2'-(フチルアセトアミド)-パルミタミド/MOE/MOEキャップ内のシチンは非修飾 (すなわち、5'ヌクレオチドにおいて置換された2'-(フチルアセトアミド)-パルミタミドを持つ2-10-2 MOE)	190
391872	GGTACATGGAAGTC	1-1-10-2 2'-(フチルアセトアミド)-パルミタミド メチレンオキシBNA/メチレンオキシBNA キャップ内のシチンは非修飾 (すなわち、5'ヌクレオチドにおいて置換された2'-(フチルアセトアミド)-パルミタミドを持つ2-10-2 メチレンオキシBNA)	190

【1080】

【表95】

表 95: パルミチン酸共役基を含む短鎖アンチセンス化合物によるアンチセンス性阻害

Isis No	用量 (umol/kg)	%阻害
5-10-5	2.5	54
387462	2.5	99
	1.0	91
	0.4	65
	0.16	16
391871	2.5	49
	1.0	18
	0.4	5
	0.16	0
391872	2.5	99
	1.0	92
	0.4	50
	0.16	18

表95は、パルミチン酸(C16)共役基を有する短鎖アンチセンス化合物での処置後に、ApoB mRNAレベルが用量依存性の様式で減少したことを示す。2.5 μmol/kgの用量では、短鎖アンチセンス化合物によるApoBの阻害は、同等の用量の5-10-5 MOEギャップマーで観察されるよりも大きかった。この研究において、推定のED<sub>50</sub>は、ISIS 387462について1.5 mg/kg、ISIS 391

10

20

30

40

50



871について13.1 mg/kg、そして、ISIS 391872について1.9 mg/kgであった。5-10-5 MOEギャップマーについての推定のED<sub>50</sub>は、17.4 mg/kgであった。トリグリセリドは、ISIS 387462およびISIS 391872の2.5 mg/kgおよび1.0 mg/kgの用量において減少した。ISIS 387462およびISIS 391872は、総コレステロール、HDL-CおよびLDL-Cを用量依存性の様式で顕著に減少させた；LDL-Cにおける減少は、検出限界を下回って下がるほど顕著であった。全体として、短鎖アンチセンス化合物は、有害な副作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。

【1081】

実施例31：BNA修飾を含む短鎖アンチセンス化合物による、インビボでのPCSK9のアンチセンス性阻害

6週齢の雄性Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、ISIS 403739またはISIS 403740の15 μmol/kg、4.7 μmol/kg、1.5 μmol/kgまたは0.47 μmol/kgの用量にて、短鎖アンチセンス化合物の単回の腹腔内注射を施した。各用量の群を、4匹の動物から構成した。5-10-5 MOEギャップマーをコントロール処置に用いた。最後の投薬の約72時間後にマウスを屠殺した。RNA単離のために肝臓組織を回収し、そして、血清化学解析のために血液を回収した。PCSK9 mRNAレベルを、本明細書中に記載されるようにして、リアルタイムPCRにより測定した。PCSK9 mRNAレベルを、RIBOGREENにより決定したRNAレベルに対して正規化した。ISIS 403739は、生理食塩水コントロールに対して、PCSK9 mRNAを約70%減少させた。ISIS 403740は、生理食塩水コントロールに対して、PCSK9を約13%減少させたが、この減少は、統計的に有意ではなかった。より低い用量では、PCSK9 mRNAを有意には減少しなかった。全体として、短鎖アンチセンス化合物は、有害な副作用をほとんど示さなかったか、または全く示さなかった。

【配列表】

0005731115000001.app

10

20

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
 A 6 1 P 3/10 (2006.01) A 6 1 P 3/10

- (31)優先権主張番号 60/805,660  
 (32)優先日 平成18年6月23日(2006.6.23)  
 (33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 60/864,554  
 (32)優先日 平成18年11月6日(2006.11.6)  
 (33)優先権主張国 米国(US)
- (31)優先権主張番号 PCT/US2007/061183  
 (32)優先日 平成19年1月27日(2007.1.27)  
 (33)優先権主張国 米国(US)
- (74)代理人 100106080  
 弁理士 山口 晶子
- (72)発明者 バーノット, サンジャイ  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 0 9 , カールズバッド, パセオ アラヤン 8 0 9  
 4
- (72)発明者 ギアリー, リチャード エス.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 0 9 , カールズバッド, アベニダ ニーブ 3 3 5  
 2
- (72)発明者 マッケイ, ロバート  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 6 4 , ポーウェイ, ゴールデン アイ レーン 1  
 2 4 6 7
- (72)発明者 モニア, プレット ピー.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 2 4 , エンシニタス, カーサ ヘルモサ コート  
 2 3 0 6
- (72)発明者 セス, プニート ピー.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 7 8 , サン マルコス, ケストラル ドライブ 8  
 9 6
- (72)発明者 シウコウスキ, アンドリュー エム.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 0 9 , カールズバッド, アリカンテ ロード 7 3  
 1 7 - ビー
- (72)発明者 スウェイジ, エリック イー.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 0 9 , カールズバッド, パレンケ ストリート 7  
 7 8 9
- (72)発明者 ワンスウィクス, エドワード  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 0 6 4 , ポーウェイ, コロニー ドライブ 1 2 3 2  
 6

## 合議体

審判長 鈴木 恵理子  
 審判官 高 美葉子  
 審判官 中島 庸子

- (56)参考文献 国際公開第2004/96016(WO,A1)  
 Nucleic Acids Res.(2003)Vol.31,No.21,p.6355  
 - 6372

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C12N15/00-90

PUBMED

CA

MEDLINE

BIOSIS

WPIDS