(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-537711
(P2024-537711A)
(43)公表日　令和6年10月16日(2024.10.16)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/113 (2010.01)*	C12N	15/113	130Z	4C076
C07K	*7/06 (2006.01)*	C07K	7/06	ZNA	4C086
C07K	*7/08 (2006.01)*	C07K	7/08		4H045
A61P	*3/00 (2006.01)*	A61P	3/00		
A61K	*47/64 (2017.01)*	A61K	47/64		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全133頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-518369(P2024-518369)
(86)(22)出願日　令和4年9月28日(2022.9.28)
(85)翻訳文提出日　令和6年4月1日(2024.4.1)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/044995
(87)国際公開番号　WO2023/055774
(87)国際公開日　令和5年4月6日(2023.4.6)
(31)優先権主張番号　63/261,860
(32)優先日　令和3年9月30日(2021.9.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/408,277
(32)優先日　令和4年9月20日(2022.9.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　501237039
サレプタ セラピューティクス， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ファースト ストリート ２１５
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　１つ以上の脱塩基ユニットを有するアンチセンスオリゴヌクレオチド

(57)【要約】
本明細書では、オリゴヌクレオチド、ペプチド－オリゴヌクレオチド－コンジュゲート、並びに少なくとも１つのプリン及びピリミジンを含まない脱塩基サブユニットを有するヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１内の標的領域に対して相補的な標的化配列が提供される。また、本明細書では、筋疾患、ウイルス感染、又は細菌感染の治療を必要とする対象においてそれを行う方法であって、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、ペプチド、及びペプチド－オリゴヌクレオチド－コンジュゲートを対象に投与することを含む、方法が提供される。

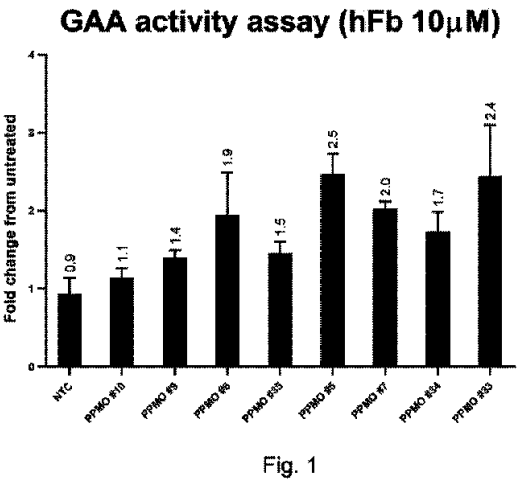


Fig. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
修飾アンチセンスオリゴヌクレオチド及び細胞膜透過性ペプチドを含むコンジュゲートであって、
前記修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドが、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、モルホリノオリゴマーを含み、
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、前記細胞膜透過性ペプチドに共有結合されており、
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットが、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットが、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端から前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、前記標的化配列を形成し、
少なくとも１つのサブユニットが、脱塩基サブユニットであり、
前記脱塩基サブユニットを除いて、前記標的化配列が、前記標的領域に対して少なくとも８０％相補的である、コンジュゲート。
【請求項２】
前記標的領域が、配列番号２（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７））及び配列番号３（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－２４））からなる群から選択される配列を含む、請求項１に記載のコンジュゲート。
【請求項３】
前記標的領域が、配列番号２に記載の配列を含む、請求項２に記載のコンジュゲート。
【請求項４】
前記標的領域が、配列番号３に記載の配列を含む、請求項２に記載のコンジュゲート。
【請求項５】
前記標的領域が、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－５６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７６－５２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７４－５５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－４９－２４）から選択される、請求項１又は２に記載のコンジュゲート。
【請求項６】
前記標的領域が、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）である、請求項１又は５に記載のコンジュゲート。
【請求項７】
前記標的化配列が、配列ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ（配列番号４）を含み、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである、請求項１又は６に記載のコンジュゲート。
【請求項８】
前記標的化配列が、
ｉ）配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉ）配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉｉ）配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｖ）配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｖ）配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、及び
ｖｉ）配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる群から選択される配列を含む、請求項１又は７に記載のコンジュゲート。
【請求項１０】

前記標的領域が、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－５６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７６－５２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７４－５５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－４９－２４）からなる群から選択される、請求項１又は５に記載のコンジュゲート。

【請求項１１】

前記標的領域が、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）からなる群から選択される、請求項１又は１０に記載のコンジュゲート。

【請求項１２】

前記標的化配列が、

ｉ）配列番号１１（ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ ＣＴＣ Ｔ）、

ｉｉ）配列番号１２（ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ ＧＣＡ ＧＣＴ Ｃ）、

ｉｉｉ）配列番号１３（ＣＡＣ ＴＣＡ ＣＸＸ ＸＸＣ ＴＣＴ ＣＡＡ ＡＧＣ ＡＧＣ Ｔ）、

ｉｖ）配列番号１４（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｖ）配列番号１５（ＧＣＧ ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ Ｃ）、

ｖｉ）配列番号１６（ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ）からなる群から選択され、

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである、請求項１又は１１に記載のコンジュゲート。

【請求項１３】

前記標的化配列が、

ｉ）配列番号１７（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＧＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｉｉ）配列番号１８（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｉｉｉ）配列番号１９（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｉｖ）配列番号２０（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＧＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｖ）配列番号２１（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｖｉ）配列番号２２（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、

ｖｉｉ）配列番号２３（ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ）、及び

ｖｉｉｉ）配列番号２４（ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＧＢＢ ＧＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ）からなる群から選択される、請求項１又は１２に記載のコンジュゲート。

【請求項１４】

前記脱塩基サブユニットを除いて、前記標的化配列が、前記標的領域に対して少なくとも８４％、少なくとも８８％、又は少なくとも９２％相補的である、請求項１～１３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

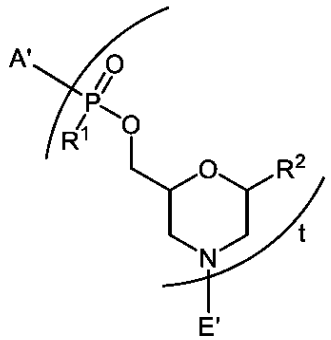
【請求項１５】

前記脱塩基サブユニットを除いて、前記標的化配列が、前記標的領域に対して少なくとも９０％相補的である、請求項１～１３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項１６】

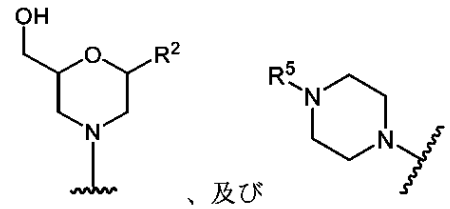
前記脱塩基サブユニットを除いて、前記標的化配列が、前記標的領域に対して少なくと

も９５％相補的である、請求項１～５のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項１７】
前記脱塩基サブユニットを除いて、前記標的化配列が、前記標的領域に対して１００％相補的である、請求項１～５のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項１８】
各脱塩基サブユニットが、前記標的化配列の５’末端又は３’末端から少なくとも８つのサブユニットである、請求項１～４のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項１９】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、１つ～５つの脱塩基サブユニットを含む、請求項１～４のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項２０】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、１つ、２つ、３つ、又は４つの脱塩基サブユニットを含む、請求項１～４又は１９のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項２１】
前記コンジュゲートが、式ＩＶの化合物：
【化８１】



（ＩＶ）

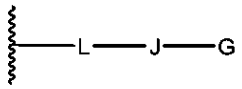
又はその薬学的に許容される塩であり、
式中、
Ａ’は、－Ｎ（Ｈ）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｎ（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、
【化８２】



、及び

から選択され、式中、
Ｒ^{5}は、－Ｃ（Ｏ）（Ｏ－アルキル）$_x$－ＯＨであり、式中、ｘは３～１０であり、各アルキル基は、各出現において独立して、Ｃ$_{2-6}$－アルキルであるか、
又はＲ^{5}は、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、トリチル、モノメトキシトリチル、－（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）－Ｒ^6、－（Ｃ$_{1-6}$－ヘテロアルキル）－Ｒ^6、アリール－Ｒ^6、ヘテロアリール－Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）－Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アリール－Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ヘテロアリール－Ｒ^6、及び

【化８３】



;

から選択され、

Ｒ^{6}は、ＯＨ、ＳＨ、及びＮＨ$_{2}$から選択されるか、又はＲ^{6}は、Ｏ、Ｓ、若しくはＮＨであり、それらの各々は、固体支持体に共有結合されており、

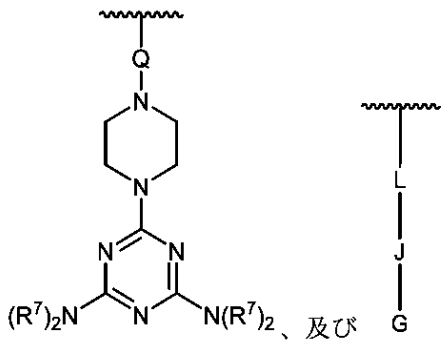
各Ｒ^{1}は、独立して、ＯＨ及び－Ｎ（Ｒ^{3}）（Ｒ^{4}）から選択され、式中、各Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各出現において独立して、Ｈ又は－Ｃ$_{1-6}$－アルキルであり、

各Ｒ^{2}は、各出現において独立して、Ｈ（脱塩基性）、核酸塩基、及び化学保護基で官能化された核酸塩基から選択され、前記核酸塩基は、各出現において独立して、ピリジン、ピリミジン、プリン、及びデアザ－プリンから選択されるＣ$_{3-6}$複素環を含み、

ｔは、８～４０であり、

Ｅ’はＨ、－Ｃ$_{1-6}$－アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、

【化８４】



、及び

から選択され、

式中、

Ｑは、－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$Ｃ（Ｏ）－又は－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$Ｓ$_{2}$（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$Ｃ（Ｏ）－であり、

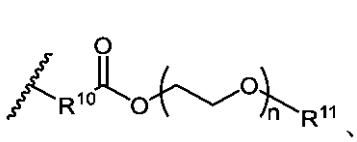
Ｒ^{7}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{8}）$_{2}$であり、式中、Ｒ^{8}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$ＮＨＣ（＝ＮＨ）ＮＨ$_{2}$であり、

Ｌは、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、又はＲ^{9}から選択され、Ｌは、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、

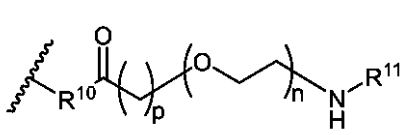
Ｗは、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{m}$－ＮＨ－であり、式中、ｍは、２～１２であり、

Ｒ^{9}は、

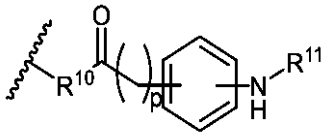
【化８５】



、



、及び



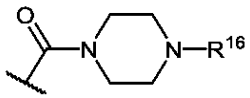
からなる群から選択され、

ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０であり、

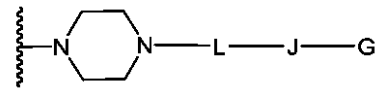
ｐは、２、３、４、又は５であり、

Ｒ^{10}は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、

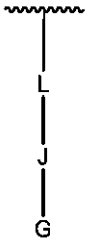
Ｒ１１は、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、及び
【化８６】



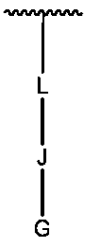
からなる群から選択され、
Ｒ１６は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、Ｒ１６は、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、Ｊは、細胞膜透過性ペプチドであり、
Ｇは、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ１－６－アルキル、ベンゾイル、及びステアロイルから選択され、Ｇは、Ｊに共有結合されており、
ただし、
Ａ’が
【化８７】



であるか、又はＥ’が
【化８８】

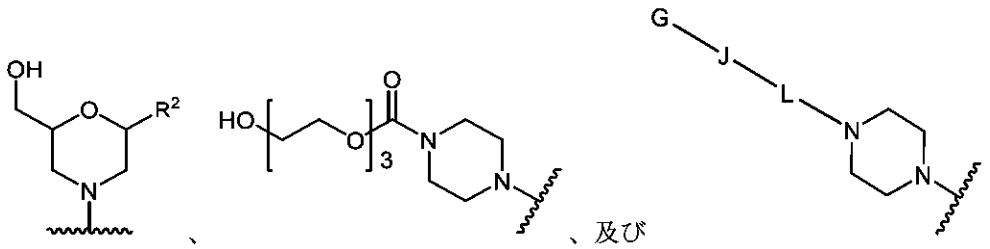


であることを条件とする、請求項１～２０のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項２２】
Ｅ’が、Ｈ、－Ｃ１－６－アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｃ１－６－アルキル、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、及び
【化８９】



から選択される、請求項２１に記載のコンジュゲート。
【請求項２３】
Ａ’が、－Ｎ（Ｃ１－６－アルキル）ＣＨ２Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、

【化９０】



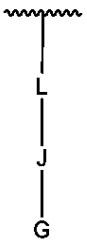
、 、及び

から選択される、請求項２１又は２２に記載のコンジュゲート。

【請求項２４】

Ｅ’が、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ3、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、４－メトキシトリチル、及び

【化９１】

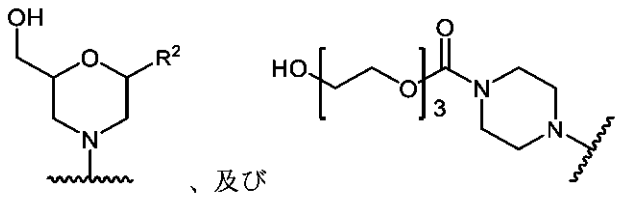


から選択される、請求項２１～２３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項２５】

Ａ’が、－Ｎ（Ｃ1－6－アルキル）ＣＨ2Ｃ（Ｏ）ＮＨ2、

【化９２】

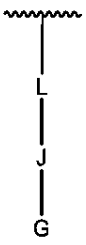


、及び

から選択され、

Ｅ’が、

【化９３】

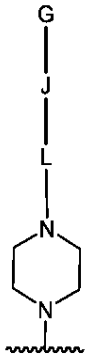


である、請求項２１～２４のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

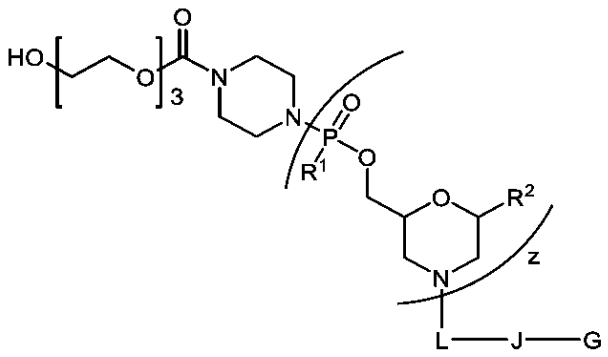
【請求項２６】

Ａ’が、

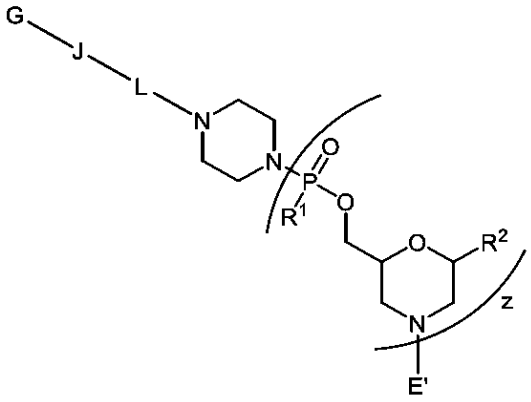
【化９４】



であり、
Ｅ’が、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ3、トリチル、４－メトキシトリチル、ベンゾイル、及びステアロイルから選択される、請求項２１～２４のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項２７】
式ＩＶのペプチド－オリゴヌクレオチドコンジュゲートが、
【化９５】



（ＩＶａ）、及び

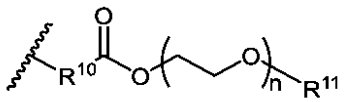


（ＩＶｂ）

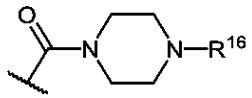
から選択されるペプチド－オリゴヌクレオチドコンジュゲートであり、
式中、Ｅ’は、Ｈ、Ｃ1－6－アルキル、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ3、ベンゾイル、及びステアロイルから選択される、請求項２１に記載のコンジュゲート。
【請求項２８】
前記コンジュゲートが、式（ＩＶａ）のものである、請求項２１～２７のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項２９】
前記コンジュゲートが、式（ＩＶｂ）のものである、請求項２１～２７のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３０】
各Ｒ^{1}が、－Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$である、請求項２１～２７のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３１】
各核酸塩基が、各出現において独立して、アデニン、グアニン、シトシン、５－メチル－シトシン、チミン、ウラシル、及びヒポキサンチンから選択される、請求項２１～３０のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３２】
前記標的化配列が、配列：
ｉ）配列番号４（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉ）配列番号１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）、
ｉｉｉ）配列番号１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）、
ｉｖ）配列番号１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）、
ｖ）配列番号１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｖｉ）配列番号１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）、
ｖｉｉ）配列番号１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）を含み、
各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである、請求項２１～３１のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３３】
前記標的化配列が、
ｉ）配列番号５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉ）配列番号６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉｉ）配列番号７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｖ）配列番号８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｖ）配列番号９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｖｉ）配列番号１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｖｉｉ）配列番号１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｖｉｉｉ）配列番号１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｉｘ）配列番号１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘ）配列番号２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘｉ）配列番号２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘｉｉ）配列番号２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘｉｉｉ）配列番号２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、及び
ｘｉｖ）配列番号２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる群から選択される配列を含む、請求項２１～３３のいずれか一項に記

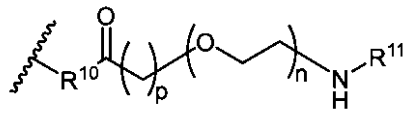
載のコンジュゲート。
【請求項３４】
Ｌが、グリシンである、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３５】
Ｌが、プロリンである、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３６】
Ｌが、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_5$－ＮＨ－である、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３７】
Ｌが、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_2$－ＮＨ－である、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３８】
Ｌが、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_2$－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_2$）$_5$－ＮＨ－である、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３９】
Ｌが、
【化９６】



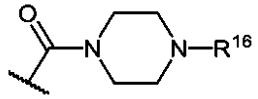
であり、Ｒ^{10}が、結合であり、Ｒ^{11}が、グリシン及び
【化９７】



から選択される、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４０】
Ｌが、
【化９８】

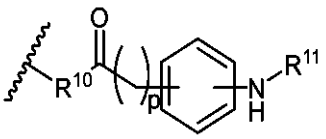


であり、Ｒ^{10}が、結合であり、Ｒ^{11}が、グリシン及び
【化９９】

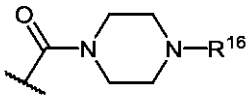


から選択される、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４１】
Ｌが、

【化１００】

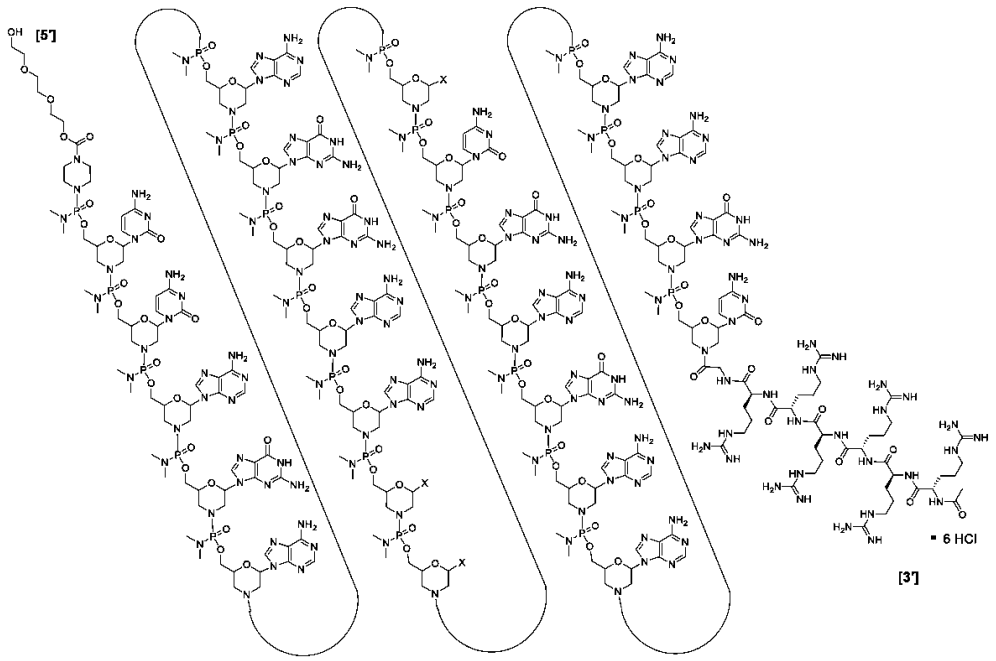


であり、
Ｒ１０が、結合であり、Ｒ１１が、グリシン及び
【化１０１】



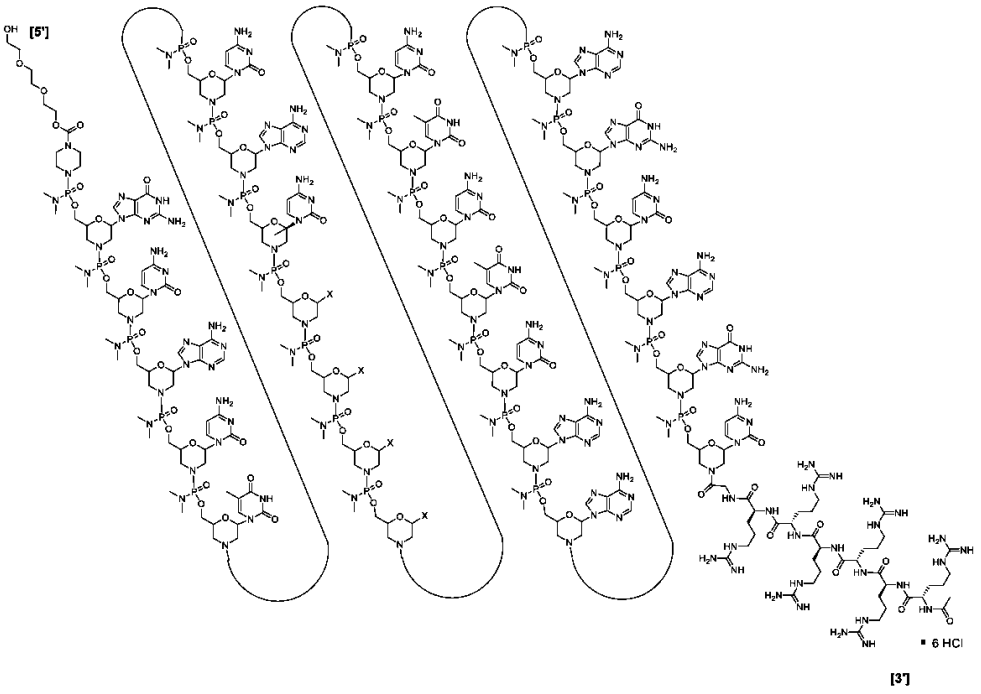
から選択される、請求項２１～３３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４２】
Ｊが、ｒＴＡＴ、ＴＡＴ、Ｒ９Ｆ２、Ｒ５Ｆ２Ｒ４、Ｒ４、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、（ＲＸＲ）４、（ＲＸＲ）５、（ＲＸＲＲＢＲ）２、（ＲＡＲ）４Ｆ２、（ＲＧＲ）４Ｆ２から選択される、請求項２１～３９のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４３】
Ｇが、Ｈ、Ｃ（Ｏ）ＣＨ３、ベンゾイル、及びステアロイルから選択される、請求項２１～４２のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４４】
Ｇが、Ｈ又は－Ｃ（Ｏ）ＣＨ３である、請求項２１～４３のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４５】
Ｇが、Ｈである、請求項２１～４４のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４６】
Ｇが、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ３である、請求項２１～４４のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４７】
請求項１～４６のいずれか一項に記載のコンジュゲート又はその薬学的に許容される塩と、少なくとも１つの薬学的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。
【請求項４８】
疾患の治療を必要とする対象においてそれを行う方法であって、請求項１～４６のいずれか一項に記載のコンジュゲート又は請求項４７に記載の医薬組成物の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項４９】
前記疾患が、ポンペ病である、請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
前記対象が、ヒトである、請求項４８に記載の方法。
【請求項５１】
前記ヒトが、小児である、請求項５０に記載の方法。
【請求項５２】
前記ヒトが、成人である、請求項５０に記載の方法。
【請求項５３】
アンチセンスオリゴマー化合物であって、

【化１０２】



（Ｖａ）

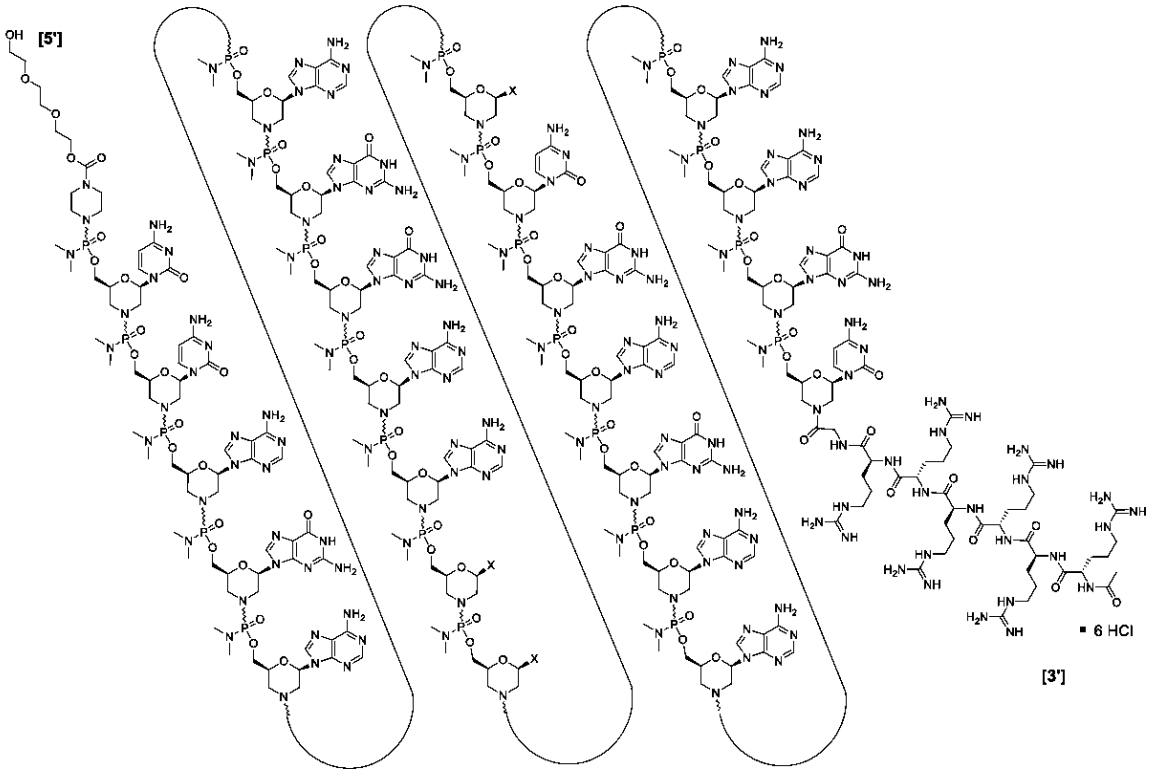
及び



（Ｖｃ）

から選択され、
式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである、アンチセンスオリゴマー化合物。
【請求項５４】
前記アンチセンスオリゴマー化合物が、

【化１０３】

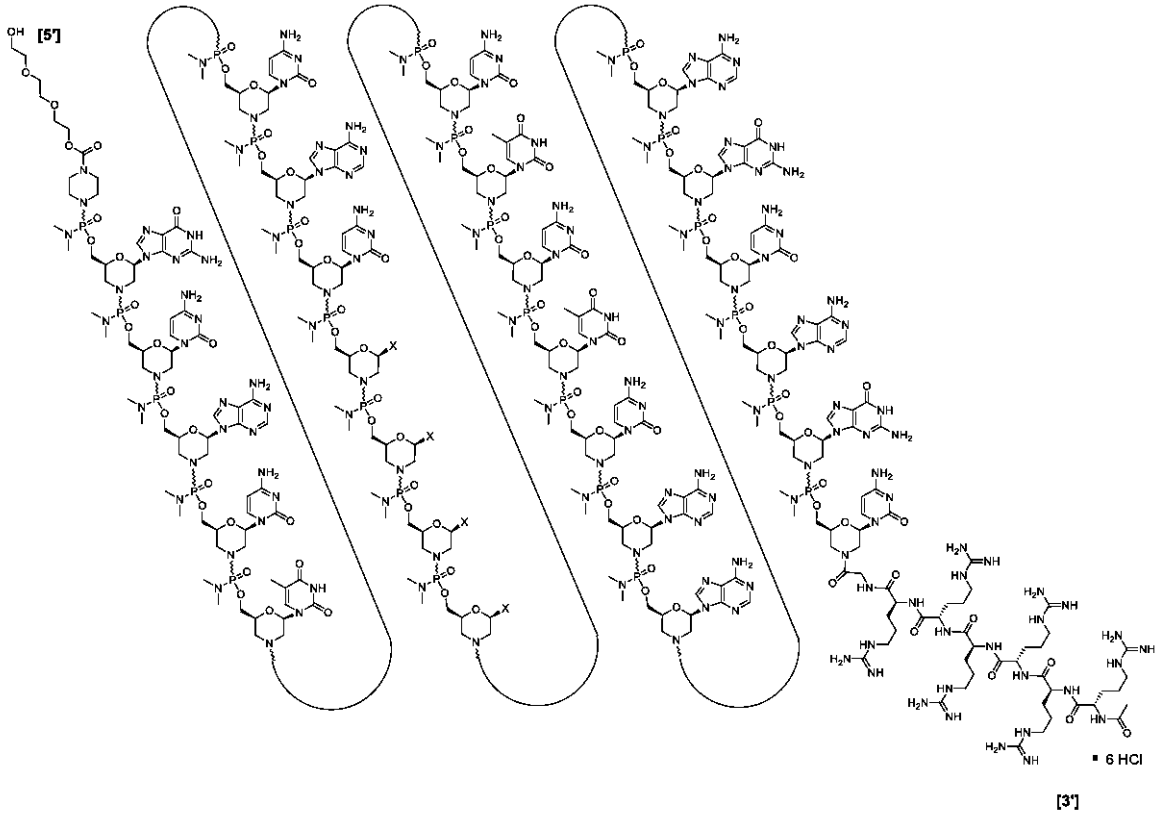


（Ｖｂ）

であり、
式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである、請求項５３に記載のアンチセンスオリゴマー化合物。

【請求項５５】
前記アンチセンスオリゴマー化合物が、

【化１０４】



であり、式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである、請求項５３に記載のアンチセンスオリゴマー化合物。

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

本願は、２０２２年９月２０日に出願された米国仮特許出願第６３／４０８，２７７号及び２０２１年９月３０日に出願された米国仮特許出願第６３／２６１，８６０号の利益を主張するものであり、これらの内容全体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【０００２】

アンチセンス技術は、選択的スプライシング産物を含む１つ以上の特定の遺伝子産物の発現を調節するための手段を提供し、多くの治療、診断、及び研究用途において比類なく有用である。アンチセンス技術の背後にある原理は、標的核酸にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドなどのアンチセンス化合物が、多くのアンチセンスメカニズムのうちのいずれか１つを通して転写、スプライシング、又は翻訳などの遺伝子発現活性を調節することである。アンチセンス化合物の配列特異性は、疾患に関与する遺伝子の発現を選択的に調節する治療薬としてはもちろん、ターゲットバリデーション及び遺伝子機能のためのツールとして魅力的である。

【０００３】

グリコーゲン蓄積症ＩＩ型（ＧＳＤ－ＩＩ）（ポンペ病、糖原病ＩＩ、酸性マルターゼ欠損症（ＡＭＤ）としても知られる）は、酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）と呼ばれる酵素の欠損によって引き起こされる遺伝性常染色体劣性リソソーム蓄積障害である

。体内のＧＡＡの役割は、グリコーゲンを分解することである。ＧＡＡ活性のレベルの低減又は非存在は、心臓、骨格筋（呼吸に関与するものを含む）、肝臓、及び神経系を含む罹患組織におけるグリコーゲンの蓄積につながる。このグリコーゲンの蓄積は、ＧＳＤ－ＩＩを有する個人において進行性の筋力低下及び呼吸不全を引き起こすと考えられる。ＧＳＤ－ＩＩは、乳児、幼児、又は成人で生じ得、予後は、発症時間及び症状の重症度に応じて変化する。臨床的には、ＧＳＤ－ＩＩは、重度（乳児）から軽度の遅発成人型に及ぶ広範囲かつ連続的な重症度の範囲で現れ得る。患者は、呼吸不全により最終的に死亡する。疾患の重症度と残留酸性アルファ－グルコシダーゼ活性との間には良好な相関があり、活性は、疾患の遅発型では正常の１０～２０％であり、早発型では２％未満である。ＧＳＤ－ＩＩは、世界中で約５，０００～１０，０００人の人々に影響を及ぼすと推定される。

【０００４】

疾患の成人発症型に関連する最も一般的な変異は、ＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇである。成人発症性ＧＳＤ－ＩＩ患者の３分の２超で見られるこの変異は、ヘテロ接合性の個人において選択的な利点を与え得るか、又は非常に古い変異である。この変異を有する成人発症性ＧＳＤ－ＩＩ個人の広範な人種差は、共通の発端者と相反する。

【０００５】

ＧＡＡ遺伝子は、２０ｋｂほどにわたる２０個のエクソンからなる。３．４ｋｂのｍＲＮＡは、約１０５ｋＤの分子量を有するタンパク質をコードする。ＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ変異は、開始ＡＵＧコドンを含有するエクソン２（５７７個の塩基）の完全又は部分的な喪失をもたらす。

【０００６】

ＧＳＤ－ＩＩの治療は、薬物治療戦略、食事療法、及び骨髄移植を伴ってきたが、大きな成功はない。近年、酵素補充療法（ＥＲＴ）は、ＧＳＤ－ＩＩ患者に新たな希望をもたらしている。例えば、組換えＧＡＡタンパク質薬物であるＭｙｏｚｙｍｅ（登録商標）は、米国及び欧州の両方で２００６年にＧＳＤ－ＩＩ疾患を有する患者での使用の承認を得た。Ｍｙｏｚｙｍｅ（登録商標）は、リソソームへの送達のためにＧＡＡタンパク質の表面上のマンノース－６－リン酸（Ｍ６Ｐ）に依存する。米国食品医薬品局はまた、遅発性ポンペ病患者の治療のために、Ｎｅｘｖｉａｚｙｍｅ（登録商標）（アバルグルコシダーゼアルファ－ｎｇｐｔ）も承認している。Ｎｅｘｖｉａｚｙｍｅは、Ｍ６Ｐ受容体を特異的に標的とするよう設計された酵素補充療法（ＥＲＴ）である。

【０００７】

主にＲＮＡの下方制御に使用されるアンチセンス技術は、最近、スプライシングプロセスを改変するように適合されている。多くの遺伝子の一次遺伝子転写産物（プレｍＲＮＡ）を処理することは、イントロンの除去、及びドナースプライス部位がアクセプタースプライス部位に結合されているエクソンの正確なスプライシングを伴う。スプライシングは、ドナースプライス部位及びアクセプタースプライス部位、並びに正のエクソンスプライスエンハンサー（主にエクソン内に位置する）及び負のスプライスモチーフ（スプライスサイレンサーは主にイントロン内に位置する）のバランスを有する分岐点（アクセプター前部位の上流）の協調認識を伴う、正確なプロセスである。

【０００８】

アンチセンス技術の分野における目覚ましい進歩が見られるが、改善されたＧＳＤ－ＩＩの治療のための改善されたアンチセンス又はアンチジーン性能を有するペプチド－オリゴヌクレオチド－コンジュゲートに対するニーズが残っている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００９】

本開示は、グリコーゲン蓄積症ＩＩ型（ＧＳＤ－ＩＩ）（ポンペ病、糖原病ＩＩ、酸性マルターゼ欠損症（ＡＭＤ）、酸性アルファ－グルコシダーゼ欠損症、及びリソソームアルファ－グルコシダーゼ欠損症）としても知られる）の治療として、エクソン包含を誘導

するためのアンチセンスオリゴマー並びに関連する組成物及び方法に関し、より具体的には、エクソン２の包含の誘導、及びそれによってＧＡＡ遺伝子によってコードされる酵素的に活性な酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）タンパク質のレベルを回復させることに関する。

【００１０】

したって、本明細書では、アンチセンスオリゴマー又はその薬学的に許容される塩が提供され、アンチセンスオリゴマーは、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、

アンチセンスオリゴマーの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、

少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、

脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。

【００１１】

アンチセンスオリゴマーは、ポンペ病などの疾患を含むがこれに限定されない、様々な疾患のための治療を必要とする対象における治療に有用である。

【００１２】

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーであり得る。アンチセンスオリゴマーは、細胞膜透過性ペプチドを更に含み得る。ペプチドは、本明細書に提供されるか、又は当該技術分野で既知のペプチドのいずれかであり得る。

【００１３】

一実施形態では、標的領域は、配列番号２（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７））及び配列番号３（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－２４））からなる群から選択される配列を含む。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）から選択される。更なる実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）である。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）である。一実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）である。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）である。

【００１４】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなり、

【表７－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＸＸ ＸＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ ＣＴＣ Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ ＧＣＡ ＧＣＴ Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ ＴＣＡ ＣＸＸ ＸＸＣ ＴＣＴ ＣＡＡ ＡＧＣ ＡＧＣ Ｔ	１３

【表７－２】

ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	１６

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【００１５】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【００１６】

更なる実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表８－１】

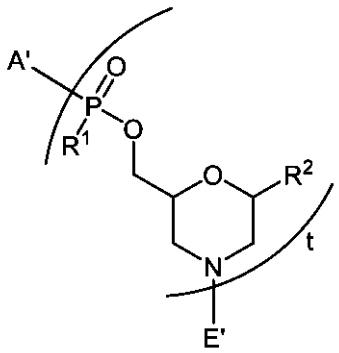
名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１９

【表８－２】

GAA－IVS1（－69－45）（G56B）	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	20
GAA－IVS1（－69－45）（G53B G54B）	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	21
GAA－IVS1（－69－45）（G54B G55B）	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	22
GAA－IVS1（－69－45）（G55B G56B）	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	23
GAA－IVS1（－65－41）（G54B G55B）	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	24.

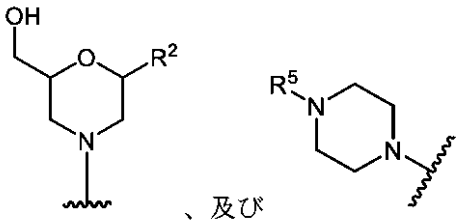
【００１７】
一実施形態では、Ｂは、Ｈである。
【００１８】
いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基は、モルホリノ環構造に連結されており、モルホリノ環構造は、１つの環構造のモルホリノ窒素を隣接する環構造の５’環外炭素に結合するリン含有サブユニット間連結によって結合されている。
【００１９】
いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基は、ペプチド核酸（ＰＮＡ）に連結されており、リン酸－糖ポリヌクレオチド骨格は、核酸塩基が連結している可撓性擬似ペプチドポリマーによって置き換えられている。
【００２０】
いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、ロックド核酸（ＬＮＡ）に連結されており、ロックド核酸構造は、リボース部分が２’酸素と４’炭素を結合する余分な架橋を有する、化学的に修飾されたヌクレオチド類似体である。
【００２１】
いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、架橋核酸（ＢＮＡ）に連結されており、糖立体構造は、フラノース骨格への追加の架橋構造の導入によって制限又はロックされている。いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、２’－Ｏ，４’－Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）に連結されている。
【００２２】
いくつかの態様では、修飾アンチセンスオリゴマーは、アンロックド核酸（ＵＮＡ）サブユニットを含有し得る。ＵＮＡ及びＵＮＡオリゴマーは、サブユニットのＣ２’－Ｃ３’結合が切断されているＲＮＡの類似体である。
【００２３】
いくつかの態様では、修飾アンチセンスオリゴマーは、非架橋酸素のうちの１つが硫黄によって置き換えられている、１つ以上のホスホロチオエート（又はＳ－オリゴ）を含有する。いくつかの態様では、修飾アンチセンスオリゴマーは、リボースの２’－ＯＨが、それぞれ、メチル、メトキシエチル、２－（Ｎ－メチルカルバモイル）エチル、又はフルオロ基で置換されている、１つ以上の２’Ｏ－メチル、２’Ｏ－ＭＯＥ、ＭＣＥ、及び２’－Ｆを含有する。

【００２４】
いくつかの態様では、修飾アンチセンスオリゴマーは、トリシクロ－ＤＮＡ（ｔｃ－ＤＮＡ）であり、これは、骨格の立体構造的柔軟性を制限し、かつねじれ角γの骨格形状を最適化するために、各ヌクレオチドがシクロプロパン環の導入によって修飾されている、拘束されたＤＮＡ類似体である。
【００２５】
一態様では、アンチセンスオリゴマーは、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、式中、
修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端からアンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、標的化配列を形成し、
少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、
脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。
【００２６】
一実施形態では、本開示は、式Ｉに従ったアンチセンスオリゴマー、
【化１】



（Ｉ）

又はその薬学的に許容される塩を提供し、
式中、
Ａ’は、－Ｎ（Ｈ）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｎ（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、
【化２】

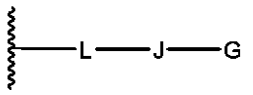


、及び

から選択され、式中、
Ｒ^{5}は、－Ｃ（Ｏ）（Ｏ－アルキル）$_x$－ＯＨであり、式中、ｘは３～１０であり、各アルキル基は、各出現において独立して、Ｃ$_{2-6}$－アルキルであるか、

又はR^{5}は、H、－C（O）C$_{1-6}$－アルキル、トリチル、モノメトキシトリチル、－（C$_{1-6}$－アルキル）－R^{6}、－（C$_{1-6}$－ヘテロアルキル）－R^{6}、アリール－R^{6}、ヘテロアリール－R^{6}、－C（O）O－（C$_{1-6}$－アルキル）－R^{6}、－C（O）O－アリール－R^{6}、－C（O）O－ヘテロアリール－R^{6}、及び

【化３】



;

から選択され、

R^{6}は、OH、SH、及びNH$_{2}$から選択されるか、又はR^{6}は、O、S、若しくはNHであり、それらの各々は、固体支持体に共有結合されており、

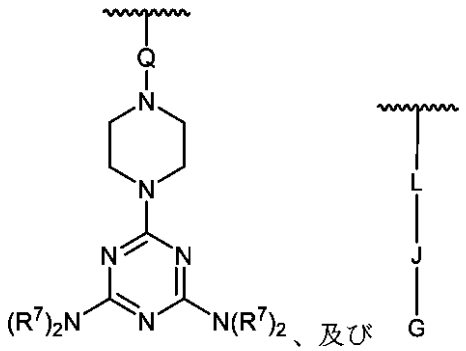
各R^{1}は、独立して、OH及び－N（R^{3}）（R^{4}）から選択され、式中、各R^{3}及びR^{4}は、各出現において独立して、H又は－C$_{1-6}$－アルキルであり、

各R^{2}は、各出現において独立して、H（脱塩基性）、核酸塩基、及び化学保護基で官能化された核酸塩基から選択され、核酸塩基は、各出現において独立して、ピリジン、ピリミジン、プリン、及びデアザ－プリンから選択されるC$_{3-6}$複素環を含み、

tは、８～４０であり、

E’は、H、－C$_{1-6}$－アルキル、－C（O）C$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、

【化４】



、及び

から選択され、

式中、

Qは、－C（O）（CH$_{2}$）$_{6}$C（O）－又は－C（O）（CH$_{2}$）$_{2}$S$_{2}$（CH$_{2}$）$_{2}$C（O）－であり、

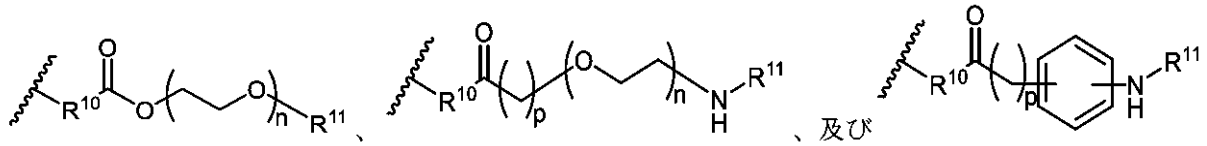
R^{7}は、－（CH$_{2}$）$_{2}$OC（O）N（R^{8}）$_{2}$であり、式中、R^{8}は、－（CH$_{2}$）$_{6}$NHC（＝NH）NH$_{2}$であり、

Lは、グリシン、プロリン、W、W－W、又はR^{9}から選択され、Lは、JのN末端又はC末端へのアミド結合によって共有結合されており、

Wは、－C（O）－（CH$_{2}$）$_{m}$－NH－であり、式中、mは、２～１２であり、

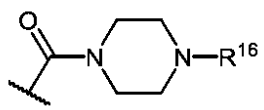
R^{9}は、

【化５】

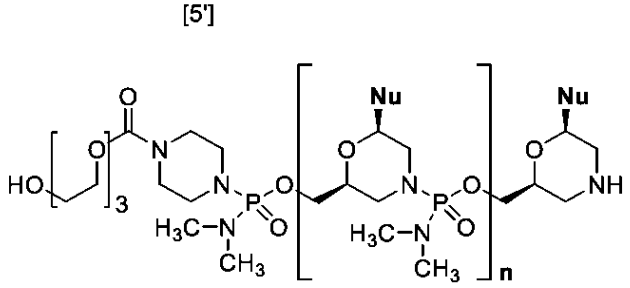


、及び

からなる群から選択され、
ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０であり、
ｐは、２、３、４、又は５であり、
Ｒ^{10}は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、
Ｒ^{11}は、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、及び
【化６】



からなる群から選択され、
Ｒ^{16}は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、Ｒ^{16}は、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、Ｊは、細胞膜透過性ペプチドであり、
Ｇは、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、及びステアロイルから選択され、Ｇは、Ｊに共有結合されている。
【００２７】
いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（ＩＩ）に従うか、
【化７】



（ＩＩ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、
【表９】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＸＸ ＸＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ ＣＴＣ Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ ＧＣＡ ＧＣＴ Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ ＴＣＡ ＣＸＸ ＸＸＣ ＴＣＴ ＣＡＡ ＡＧＣ ＡＧＣ Ｔ	１３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	１６

【００２８】
各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。
【００２９】
一実施形態では、Ｂは、Ｈである。
【００３０】
一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。
【表１０－１】

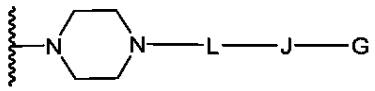
名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	９

【表１０－２】

（－１７７，－１７８脱塩基性）		
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＧＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＧＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）（Ｇ５４Ｂ Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＧＢＢ ＧＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	２４．

【００３１】
一実施形態では、Ｂは、Ｈである。
【００３２】
一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチド及び細胞膜透過性ペプチドを含むコンジュゲートであり、
修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞膜透過性ペプチドに共有結合されており、
アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端からアンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、標的化配列を形成し、
少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、
脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。
【００３３】

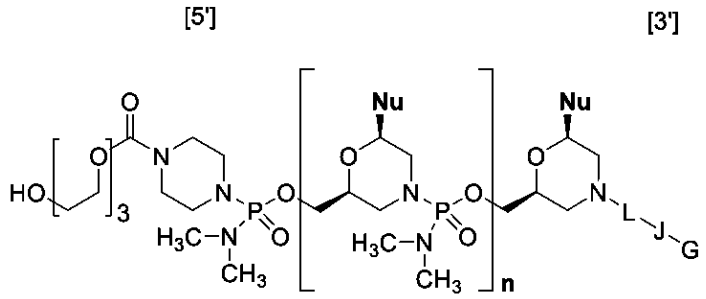
したがって、式Ｉ又はその塩の一実施形態では、Ａ’は、
【化８】



であるか、又はＥ’は、
【化９】



である。
【００３４】
いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（ＩＩＩａ）に従うか、
【化１０】



（ＩＩＩａ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、
【表１１－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＸＸ ＸＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ ＣＴＣ Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ ＧＣＡ ＧＣＴ Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ ＴＣＡ ＣＸＸ ＸＸＣ ＴＣＴ ＣＡＡ ＡＧＣ ＡＧＣ Ｔ	１３

【表１１－２】

ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	１６．

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【００３５】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【００３６】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表１２－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ ＡＡＡ　ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ ＡＡＡ　ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ ＡＡＡ　ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ ＡＡＡ　ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ ＡＡＡ　ＧＣ	９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ ＡＡＡ　ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１９

【表１２－２】

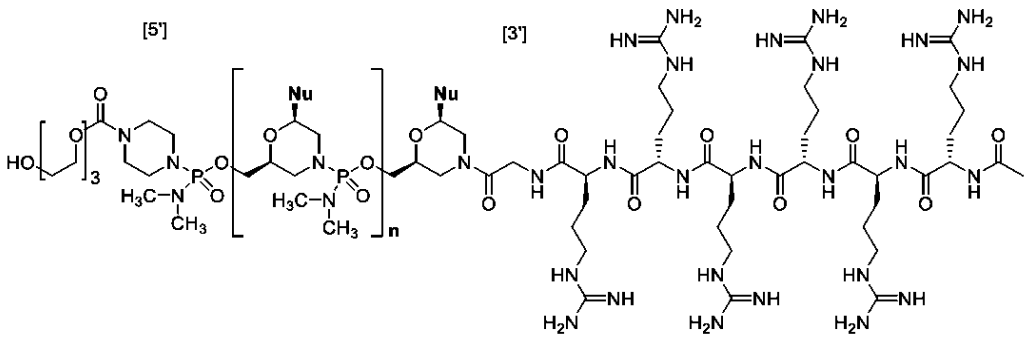
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ　Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ　Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	２４．

【００３７】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（ＩＩＩ）に従うか、

【化１１】



（ＩＩＩ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、

【表１３－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ	１３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１４

【表１３－２】

ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	１６

【００３８】

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【００３９】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【００４０】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表１４－１】

名称	標的化配列［5’から3’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＧＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＧＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２０

【表１４－２】

ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ　Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ　Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	２４．

【００４１】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【００４２】

アンチセンスオリゴマーは、標的領域への標的化配列の結合時に、ＧＡＡ　ｍＲＮＡ中のエクソン２の保持を促進し得る。アンチセンスオリゴマーは、配列番号１内の標的領域に対して完全に相補的である第２のアンチセンスオリゴヌクレオチドと比較して、ＧＡＡ酵素活性の効力を保持する。別の態様では、本明細書に提供されるアンチセンスオリゴマーと薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物が、本明細書に提供される。

【００４３】

また、本明細書に提供されるアンチセンスオリゴマーの治療有効量を対象に投与することを含む、疾患を治療する方法も本明細書に提供される。

【００４４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーは、ポンペ病を治療するために使用され得る。

【図面の簡単な説明】

【００４５】

【図１】スクリーニング中に様々なＰＭＯ化合物について見られたＧＡＡ酵素活性（酵素アッセイ）を示す棒グラフを示す。Ｙ軸は、未処理対照と比較したＧＡＡ酵素活性の倍率増加を表す。個々の化合物を１０μＭで投与した。

【図２】図２Ａは、スクリーニング中に様々なＰＭＯ化合物について見られたＧＡＡ酵素活性（酵素アッセイ）を示す棒グラフを示す。Ｙ軸は、未処理対照（ＵＴ）と比較した酵素活性（ｍｍｏｌ／ｍｇ時間）及びＧＡＡ酵素活性の倍率増加を表す。図２Ｂは、スクリーニング中に様々なＰＭＯ化合物について見られたＧＡＡ酵素活性（酵素アッセイ）を示す棒グラフを示す。Ｙ軸は、未処理対照と比較したＧＡＡ酵素活性の倍率増加を表す。個々の化合物を２０μＭで投与した。

【図３】ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１の－６５領域におけるアンチセンスマイクロウォークデータを示す棒グラフを示す。個々の化合物を２０μＭで投与した。

【図４】図４Ａは、スクリーニング中に様々なＰＰＭＯ化合物について見られたＧＡＡ酵素活性（酵素アッセイ）を示す棒グラフを示す。Ｘ軸は、非標的化対照と比較したＧＡＡ酵素活性の倍率増加を表す。個々の化合物を２０μＭで投与した。図４Ｂは、スクリーニング中に様々なＰＰＭＯ化合物について見られたＧＡＡ　ｍＲＮＡ転写産物レベル（ｑＰＣＲアッセイ）を示す棒グラフを示す。Ｘ軸は、非標的化対照及び未処理対照と比較した、ＧＡＡ　ｍＲＮＡ内の２つの位置で測定されたＧＡＡ　ｍＲＮＡ転写産物の倍率増加を表す。個々の化合物を３０μＭで投与した。

【図５】ＧＡＡ遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１の－１６９領域におけるアンチセンスマイクロウォークデータを示す棒グラフを示す。個々の化合物を１０μＭで投与した。
【図６】ＰＰＭＯ番号３３、３４、５、及び７を用いたジムノティック処理後の患者の線維芽細胞中のＧＡＡ酵素活性の用量依存的な増加を示すグラフを示す。
【図７】スクリーニング中にＰＰＭＯ化合物について見られたＧＡＡ　ｍＲＮＡ転写産物レベル（ｑＰＣＲアッセイ）を示す棒グラフを示す。Ｙ軸は、非標的化対照及び未処理対照と比較したＧＡＡ　ｍＲＮＡ転写産物の倍率増加を表す。個々の化合物を１、２．５、５、１０、２０、及び３０μＭで投与した。
【図８】選択されたＰＰＭＯ番号３４、５、及び７を用いたジムノティック処理後の患者のｉＰＳＣ由来筋管におけるエクソン１～２接合部にわたって測定されたＧＡＡ発現の用量依存的な増加を示すグラフを示す。
【図９】ＰＰＭＯ番号５、７、及び３４を用いた処理後の患者のｉＰＳＣ由来筋管における総タンパク質に対して正規化されたＧＡＡタンパク質の量の増加を示すデジタルゲル画像及びグラフを示す。
【図１０】ＰＰＭＯ番号１２及び１５を用いた処理後の患者のｉＰＳＣ由来筋管における総タンパク質に対して正規化されたＧＡＡタンパク質の量の増加を示すデジタルゲル画像及びグラフを示す。
【図１１】ＰＰＭＯ番号７、５、及び１２を用いた処理後の患者のｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡ酵素活性の量の増加を示すグラフを示す。
【図１２】選択されたＰＰＭＯ化合物の凝集能力を示すグラフを示す。結果をサイズ／強度分布としてプロットする。
【発明を実施するための形態】
【００４６】
本明細書では、アンチセンスオリゴマー又はその薬学的に許容される塩が提供され、アンチセンスオリゴマーは、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットである。アンチセンスオリゴマーは、ポンペ病を含むがこれに限定されない、様々な疾患の治療を必要とする対象における治療に有用である。
【００４７】
ある特定の実施形態は、細胞中のエクソン－２欠失ＧＡＡ　ｍＲＮＡに対するエクソン２含有ＧＡＡコードｍＲＮＡのレベルを強化するための方法に関し、方法は、細胞を、ＧＡＡ遺伝子内の領域に特異的にハイブリダイズするのに十分な長さ及び相補性のアンチセンスオリゴマーと接触させることを含み、これにより、細胞中のエクソン－２欠失ＧＡＡｍＲＮＡに対するエクソン２含有ＧＡＡ　ｍＲＮＡのレベルが強化される。いくつかの実施形態では、細胞は、対象内にあり、方法は、アンチセンスオリゴマーを対象に投与することを含む。
【００４８】
一実施形態では、細胞膜透過性ペプチドを含むアンチセンスオリゴマーが本明細書に提供され、アンチセンスオリゴマーは、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットである。
【００４９】
また本明細書では、ポンペ病を治療するための方法も提供される。
【００５０】
Ｉ．定義
別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する当該分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似又は同等の任意の方法及び材料が、本開示の主題の実施又は試験で使用され得るが、好ましい方法及び材料が記載される。本開示の目的のために、以下

の用語が以下に定義される。

【００５１】

「約（ａｂｏｕｔ）」という用語は、当業者によって理解され、それが使用される文脈においてある程度変化する。本明細書で使用される場合、量、持続時間、などの測定可能な値を参照するとき、用語「約（ａｂｏｕｔ）」は、そのような変化が開示された方法を実施するために適切であるため、±５％、±１％、及び±０．１％を含む、±１０％の変動を包含することを意味する。

【００５２】

「アルキル（ａｌｋｙｌ）」という用語は、ある特定の実施形態では、１つ～６つ、又は１つ～８つの炭素原子を含む、飽和、直鎖、又は分岐鎖の炭化水素部分を指す。C_{1-6}－アルキル部分の例には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル部分が含まれるがこれらに限定されず、C_{1-8}－アルキル部分の例には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル、ヘプチル、及びオクチル部分が含まれるがこれらに限定されない。

【００５３】

アルキル置換基中の炭素原子の数は、「C_{x-y}」によって示され得、式中、ｘは最小であり、ｙは置換基中の炭素原子の最大数である。同様に、C_x鎖は、ｘ炭素原子を含むアルキル鎖を意味する。

【００５４】

「ヘテロアルキル（ｈｅｔｅｒｏａｌｋｙｌ）」という用語は単独で、又は別の用語との組み合わせで、特に明記しない限り、明記されている数の炭素原子、及びＯ、Ｎ、及びＳからなる群から選択される１つ又は２つのヘテロ原子を含む、安定な直鎖又は分岐鎖アルキル基を指し、窒素及び硫黄原子は酸化されていてもよく、窒素ヘテロ原子は四級化されていてもよい。ヘテロ原子は、ヘテロアルキル基の残りの部分とそれが付着するフラグメントとの間を含む、ヘテロアルキル基の任意の位置に配置され得、並びにヘテロアルキル基中の最も遠位の炭素原子に付着し得る。例には以下が含まれる：$-O-CH_2-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_2-CH_2-OH$、$-CH_2-CH_2-NH-CH_3$、$-CH_2-S-CH_2-CH_3$、及び$-CH_2-CH_2-S(=O)-CH_3$。最大２つのヘテロ原子は、例えば、$-CH_2-NH-OCH_3$、又は$-CH_2-CH_2-S-S-CH_3$のように連続し得る。

【００５５】

「アリール（ａｒｙｌ）」という用語は、単独で又はその他の用語と組み合わせて用いられる場合、特に明記しない限り、１つ以上のリング（一般に、１つ、２つ、又は３つのリング）を含む炭素環式芳香族系を指し、こうしたリングは、ビフェニルなどのペンダント様式で結合してもよく、又はナフタリンなどのように融合してもよい。アリール基の例は、フェニル、アントラシル（ａｎｔｈｒａｃｙｌ）、及びナフチルを含む。様々な実施形態では、アリール基の例は、フェニル（例えば、C_6－アリール）及びビフェニル（例えば、C_{12}－アリール）を含む。いくつかの実施形態では、アリール基は６～１６個の炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、アリール基は、６～１２個の炭素原子を有する（例えば、C_{6-12}－アリール）。いくつかの実施形態では、アリール基は、６個の炭素原子を有する（例えば、C_6－アリール）。

【００５６】

本明細書で使用される場合、「ヘテロアリール（ｈｅｔｅｒｏａｒｙｌ）」又は「ヘテロ芳香族（ｈｅｔｅｒｏａｒｏｍａｔｉｃ）」という用語は、芳香族特性を有する複素環を指す。ヘテロアリール置換基は、例えば、C_{1-9}－ヘテロアリールが、ヘテロ原子の数を含まず、ヘテロアリール基に含有される炭素原子の数を示すように、炭素原子の数によって定義され得る。例えば、C_{1-9}－ヘテロアリールは、追加的な１つ～４つのヘテロ原子を含むことになる。多環式ヘテロアリールは、部分的に飽和した１つ以上の環を含み得る。ヘテロアリールの非限定的な例は、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル（例え

ば、２－及び４－ピリミジニルを含む）、ピリダジニル、チエニル、フリル、ピロリル（例えば、２－ピロリルを含む）、イミダゾリル、チアゾリル、ピラゾリル（例えば、３－及び５－ピラゾリルを含む）、イソチアゾリル、１，２，３－トリアゾリル、１，２，４－トリアゾリル、１，３，４－トリアゾリル、テトラゾリル、１，２，３－チアジアゾリル、１，２，３－オキサジアゾリル、１，３，４－チアジアゾリル及び１，３，４－オキサジアゾリルを含む。

【００５７】

多環性複素環及びヘテロアリールの非限定的な例は、インドリル（例えば、３－、４－、５－、６－及び７－インドリル）、インドリニル、キノリル、テトラヒドロキノリル、イソキノリル（例えば、１－及び５－イソキノリルを含む）、１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリル、シンノリニル、キノキサリニル（例えば、２－及び５－キノキサリニルを含む）、キナゾリニル、フサラジニル（ｐｈｔｈａｌａｚｉｎｙｌ）、１，８－ナフチリジニル、１，４－ベンゾジオキサニル、クマリン、ジヒドロクマリン、１，５－ナフチリジニル、ベンゾフリル（例えば、３－，４－，５－，６－及び７－ベンゾフリルを含む）、２，３－ジヒドロベンゾフリル、１，２－ベンジソキサゾリル（ｂｅｎｚｉｓｏｘａｚｏｌｙｌ）、ベンゾチエニル（例えば、３－，４－，５－，６－，及び７－ベンゾチエニル）、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル（例えば、２－ベンゾチアゾリル及び５－ベンゾチアゾリル）、プリニル、ベンゾイミダゾリル（例えば、２－ベンゾイミダゾリルを含む）、ベンゾトリアゾリル、チオキサンチニル（ｔｈｉｏｘａｎｔｈｉｎｙｌ）、カルバゾリル、カルボニル、アクリジニル、ピロリジジニル（ｐｙｒｒｏｌｉｚｉｄｉｎｙｌ）、及びキノリジジニルを含む。

【００５８】

「保護基」又は「化学保護基」という用語は、化合物の一部又は全ての反応部分を遮断して、保護基が除去されるまでそのような部分が化学反応に関与するのを防止する化学部分を指し、例えば、そのような部分は、Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ，Ｐ．Ｇ．Ｍ．Ｗｕｔｓ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，３ｒｄ ｅｄ．Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ（１９９９）に列挙及び記載されている。異なる保護基が用いられる場合、それぞれ（異なる）保護基が異なる手段によって除去可能であることが有利であり得る。完全に異なる反応条件下で切断された保護基は、こうした保護基の差分除去を可能にする。例えば、保護基は、酸、塩基、及び水素化分解によって除去することができる。トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、アセタール及びｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルなどの基は酸不安定性であり、水素化分解で除去可能なＣｂｚ基、及び塩基不安定性のＦｍｏｃ基で保護されたアミノ基の存在下でカルボキシ及びヒドロキシ反応部分を保護するために使用され得る。カルボン酸部分は、限定するものではないが、メチル、又はエチルなどの塩基不安定基で遮断されてもよく、またヒドロキシ反応部分は、ｔｅｒｔ－ブチルカルバメートなどの酸不安定基、又は酸及び塩基の両方で安定であるが加水分解的に除去可能なカルバメートによって遮断されたアミンの存在下で、アセチルなどの塩基不安定部分で遮断され得る。

【００５９】

カルボン酸及びヒドロキシル反応部分もまた、ベンジル基などの加水分解的に除去可能な保護基で遮断されてもよく、一方でアミン基はＦｍｏｃなどの塩基不安定基で遮断されてもよい。式Ｉ及び式ＩＶの化合物の合成に特に有用なアミン保護基は、トリフルオロアセトアミドである。カルボン酸反応部分は、２，４－ジメトキシベンジルなどの酸化的に除去可能な保護基で遮断されてもよく、一方で既存のアミノ基はフッ化物不安定シリルカルバメートで遮断されてもよい。

【００６０】

アリル遮断基は、酸－及び塩基－保護基の存在下で有用であるが、それは前者が安定であり、その後、金属又はｐｉ－酸触媒によって除去され得るためである。例えば、アリル遮断カルボン酸は、酸不安定ｔ－ブチルカルバメート又は塩基不安定酢酸アミン保護基の存在下、パラジウム（０）－触媒反応で脱保護され得る。また別の形態の保護基は、化合

物又は中間体が付着され得る樹脂である。残基が樹脂に付着している限り、その官能基は遮断され、反応できない。樹脂から放出されると、官能基は反応可能になる。

【００６１】

「ヌクレオブーゼ（ｎｕｃｌｅｏｂａｓｅ）」、「塩基対形成部分（ｂａｓｅ ｐａｉｒｉｎｇ ｍｏｉｅｔｙ）」、「核酸塩基対形成部分（ｎｕｃｌｅｏｂａｓｅ－ｐａｉｒｉｎｇ ｍｏｉｅｔｙ）」、又は「基（ｂａｓｅ）」という用語は、ヌクレオシド、ヌクレオチド、及び／又はモルホリノサブユニットの複素環部分を指す。核酸塩基は自然発生的であり得（例えば、ウラシル、チミン、アデニン、シトシン、及びグアニン）、又はこれらの自然発生的な核酸塩基の修飾若しくは類似体であり得、例えば、核酸塩基の１つ以上の窒素原子は、各出現において独立して、炭素によって置き換えられ得る。例示的な類似体としては、ヒポキサンチン（ヌクレオチドイノシンの塩基構成要素）、２，６－ジアミノプリン；５－メチルシトシン；Ｃ５－プロピニル修飾ピリミジン、１０－（９－（アミノエトキシ）フェノキサジニル）（Ｇ－クランプ）などが挙げられる。

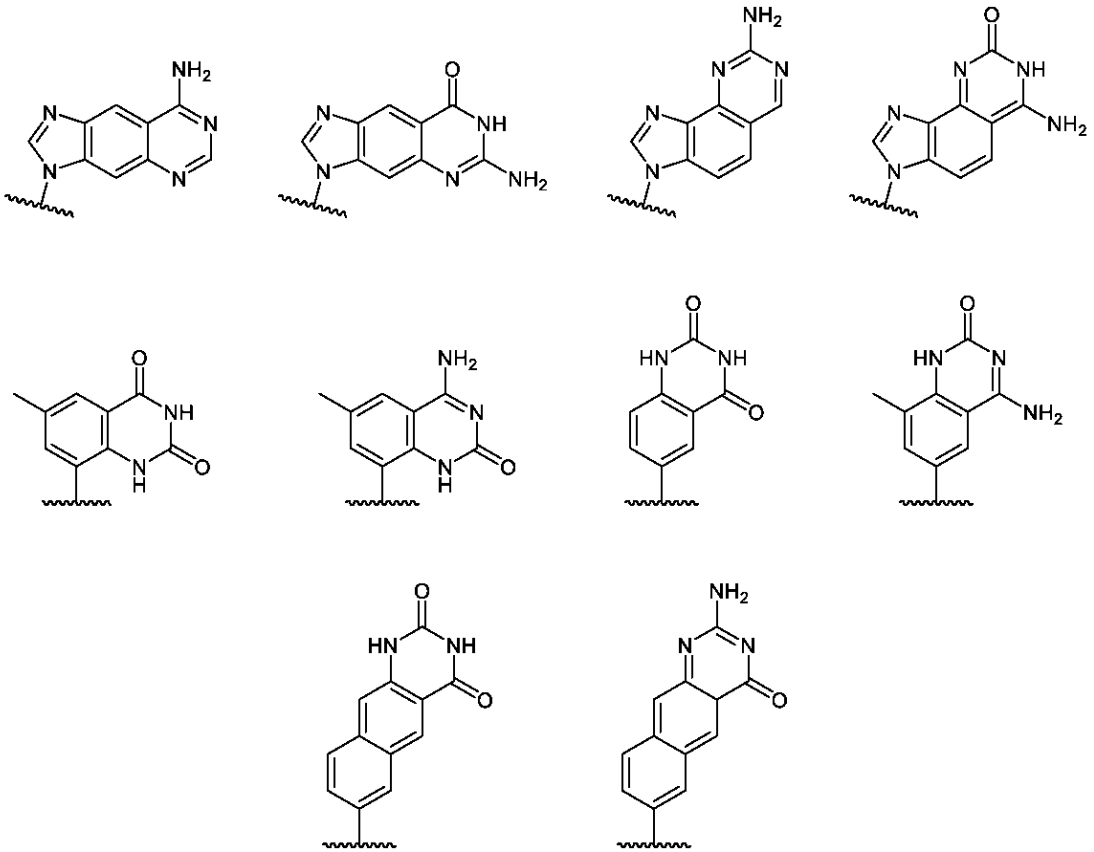
【００６２】

塩基対形成部分の更なる例には、限定するものではないが、ウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン及びアシル保護基、２－フルオロウラシル、２－フルオロシトシン、５－ブロモウラシル、５－ヨードウラシル、２，６－ジアミノプリン、アザシトシン、偽イソシトシン及び偽ウラシルなどのピリミジン類似体並びに８－置換プリン、キサンチン、又はヒポキサンチン（後者２つは自然分解生成物である）などの他の修飾核酸塩基によって保護されたそれらの各アミノ基を有するヒポキサンチンが挙げられる。Ｃｈｉｕ ａｎｄ Ｒａｎａ（２００３）ＲＮＡ９：１０３４－１０４８、Ｌｉｍｂａｃｈ ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２２：２１８３－２１９６、及びＲｅｖａｎｋａｒ ａｎｄ Ｒａｏ，Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｎａｔｕｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ｖｏｌ．７，３１３に開示される修飾核酸塩基もまた企図され、これらの内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【００６３】

塩基対形成部分の更なる例としては、１つ以上のベンゼン環が付加された拡大サイズの核酸塩基が挙げられるが、これらに限定されない。Ｇｌｅｎ Ｒｅｓｅａｒｃｈカタログ（ｗｗｗ．ｇｌｅｎｒｅｓｅａｒｃｈ．ｃｏｍ）、Ｋｒｕｅｇｅｒ ＡＴ ｅｔ ａｌ．（２００７）Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．４０：１４１－１５０、Ｋｏｏｌ ＥＴ（２００２）Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．３５：９３６－９４３、Ｂｅｎｎｅｒ ＳＡ ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔ．６：５５３－５４３、Ｒｏｍｅｓｂｅｒｇ ＦＥ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．７：７２３－７３３、Ｈｉｒａｏ，Ｉ（２００６）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．１０：６２２－６２７（これらの内容は参照により本明細書に組み込まれる）に記載される核酸塩基置換は、本明細書に記載されるオリゴマーの合成に有用であると企図される。拡張サイズの核酸塩基の例を以下に示す：

【化１２】



【００６４】

「オリゴヌクレオチド（ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ）」又は「オリゴマー（ｏｌｉｇｏｍｅｒ）」という用語は、複数の連結されたヌクレオシド、ヌクレオチド、又はヌクレオシド及びヌクレオチドの両方の組み合わせを含む化合物を指す。本明細書で提供される特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドはモルホリノオリゴヌクレオチドである。

【００６５】

本明細書で使用される場合、「アンチセンスオリゴマー」又は「アンチセンス化合物」という用語は、互換的に使用され、各々がリボース若しくは他のペントースト糖又はモルホリノ基で構成される骨格サブユニット上で担持される塩基を有するサブユニットの配列を指し、骨格基は、化合物中の塩基がワトソン・クリック塩基対形成によって核酸中の標的配列（典型的にはＲＮＡ）にハイブリダイズして、標的配列内の核酸：オリゴマーヘテロ二本鎖を形成することを可能にするサブユニット間連結によって連結されている。オリゴマーは、標的配列に対する正確な配列相補性又はほぼ正確な相補性を有し得る。そのようなアンチセンスオリゴマーは、標的配列を含有するｍＲＮＡの翻訳を遮断又は阻害するように設計されており、それがハイブリダイズする配列に「向けられる」と言うことができる。

【００６６】

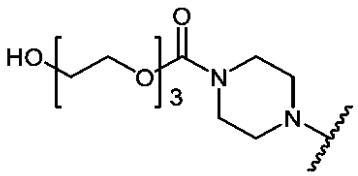
また、「アンチセンスオリゴマー」又は「アンチセンス化合物」のタイプとして本明細書に企図されるのは、ホスホロチオエート修飾オリゴマー、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、ロックド核酸（ＬＮＡ）、２’－フルオロ修飾オリゴマー、２’－Ｏ，４’－Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）、トリシクロ－ＤＮＡ、トリシロ－ＤＮＡホスホロチオエート修飾オリゴマー、２’－Ｏ－［２－（Ｎ－メチルカルバモイル）エチル］修飾オリゴマー、２’－Ｏ－メチルホスホロチオエート修飾オリゴマー、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）修飾オリゴマー、及び２’－Ｏ－メチルオリゴヌクレオチド、又はそれらの組み合わせ、並びに当該技術分野で既知の他のアンチセンス剤である。

【００６７】
アンチセンスオリゴマーは、オリゴマーが生理学的条件下で、３７℃超、４５℃超、好ましくは少なくとも５０℃、及び典型的には６０℃～８０℃以上のＴｍで標的にハイブリダイズする場合、標的ポリヌクレオチドに「特異的にハイブリダイズする」。オリゴマーの「Ｔｍ」は、５０％が相補的ポリヌクレオチドにハイブリダイズする温度である。Ｔｍは、例えば、Ｍｉｙａｄａ　ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．１５４：９４－１０７に記載されるような生理食塩水中の標準条件下で決定される。こうしたハイブリダイゼーションは、アンチセンスオリゴマーの標的配列に対する「近似的（ｎｅａｒ）」又は「実質的な（ｓｕｂｓｔａｎｔｉａｌ）」相補性、並びに完全な相補性によって生じ得る。

【００６８】
「相補的（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｙ）」及び「相補性（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｉｔｙ）」という用語は、塩基対形成規則によって関連付けられるオリゴヌクレオチド（すなわち、ヌクレオチド配列）を指す。例えば、配列「Ｔ－Ｇ－Ａ（５’－３’）」は、配列「Ｔ－Ｃ－Ａ（５’－３’）」に対して相補的である。相補性は、「部分（ｐａｒｔｉａｌ）」であってもよく、その中では一部の核酸塩基のみが塩基対形成規則に従って一致する。あるいは、核酸間に「完全な（ｃｏｍｐｌｅｔｅ）」、「全体の」、又は「完璧な（ｐｅｒｆｅｃｔ）」（１００％の）相補性があってもよい。核酸鎖間の相補性の程度は、核酸鎖間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に顕著な影響を与える。多くの場合、完全相補性が望ましいが、いくつかの実施形態は、標的ＲＮＡに対して１つ以上のミスマッチ、好ましくは６、５、４、３、２、又は１つのミスマッチを含み得る。こうしたハイブリダイゼーションは、アンチセンスオリゴマーの標的配列に対する「近似的（ｎｅａｒ）」又は「実質的な（ｓｕｂｓｔａｎｔｉａｌ）」相補性、並びに完全な相補性によって生じ得る。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、約５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９９％又は１００％の相補性で標的配列にハイブリダイズし得る。オリゴマー内の任意の位置における変動が含まれる。ある特定の実施形態では、内部における変形よりもオリゴマーの末端付近の配列の変形が一般的に好ましく、また存在する場合、典型的には、５’末端、３’末端、又は両方の末端の約６、５、４、３、２、又は１つのヌクレオチドである。

【００６９】
「ＴＥＧ」、「ＥＧ３」、又は「トリエチレングリコールテール」という用語は、例えば、その３’末端又は５’末端でオリゴマーにコンジュゲートされたトリエチレングリコール部分を指す。例えば、いくつかの実施形態では、「ＴＥＧ」は、例えば、式Ｉ又は式ＩＶのコンジュゲートのＡ’が、以下の式のものである。

【化１３】



【００７０】
自然発生的なヌクレオチド塩基としては、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、及びウラシルが挙げられ、これらはそれぞれ、記号Ａ、Ｇ、Ｃ、Ｔ、及びＵを有する。ヌクレオチド塩基はまた、自然発生的なヌクレオチド塩基の類似体を包含し得る。塩基対形成は、典型的には、プリンＡとピリミジンＴ又はＵとの間、及びプリンＧとピリミジンＣとの間で生じる。

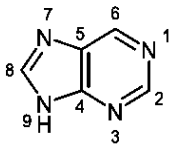
【００７１】
オリゴヌクレオチドはまた、核酸塩基（当該技術分野では単に「塩基（ｂａｓｅ）」と称される）修飾又は置換を含み得る。修飾又は置換塩基を含むオリゴヌクレオチドは、核

酸中で最もよく見られる１つ以上のプリン又はピリミジン塩基がそれほど一般的ではない、又は非天然の塩基で置き換えられたオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、核酸塩基は、プリン塩基のＮ９原子、又はピリミジン塩基のＮ１原子で、ヌクレオチドはヌクレオシドのモルホリン環に共有結合されている。

【００７２】

プリン塩基は、一般式によって記載されるとおり、イミダゾール環に融合したピリミジン環を含む。

【化１４】



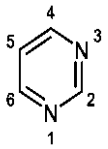
【００７３】

アデニン及びグアニンは、核酸中で最も一般的に見られる２つのプリン核酸塩基である。これらは、限定するものではないが、Ｎ６－メチルアデニン、Ｎ２－メチルグアニン、ヒポキサンチン、及び７－メチルグアニンを含む、その他の自然発生的なプリンで置換され得る。

【００７４】

ピリミジン塩基は、一般式によって記載されるとおり、６員ピリミジン環を含む。

【化１５】



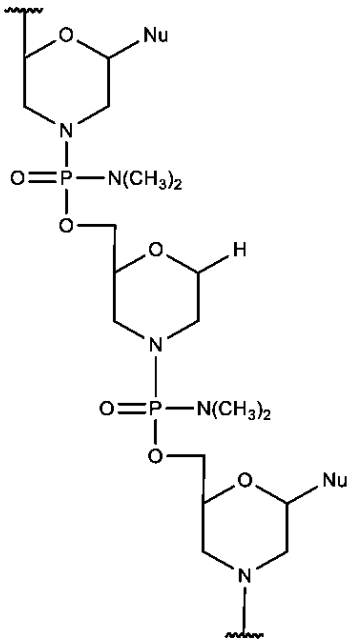
【００７５】

シトシン、ウラシル、及びチミンは、核酸中で最も一般的に見られるピリミジン塩基である。これらは、限定するものではないが、５－メチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン、偽ウラシル、及び４－チオウラシルを含む、その他の自然発生的なピリミジンで置換され得る。一実施形態では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチドはウラシルの代わりにチミン塩基を含む。

【００７６】

その他の修飾又は置換塩基は、限定するものではないが、２，６－ジアミノプリン、オロト酸、アグマチジン、リシジン、２－チオピリミジン（例えば、２－チオウラシル、２－チオチミン）、Ｇ－クランプ及びその誘導体、５－置換ピリミジン（例えば、５－ハロウラシル、５－プロピニルウラシル、５－プロピニルシトシン、５－アミノメチルウラシル、５－ヒドロキシメチルウラシル、５－アミノメチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン、スーパーＴ）、７－デアザグアニン、７－デアザアデニン、７－アザ－２，６－ジアミノプリン、８－アザ－７－デアザグアニン、８－アザ－７－デアザアデニン、８－アザ－７－デアザ－２，６－ジアミノプリン、スーパーＧ、スーパーＡ、及びＮ４－エチルシトシン、又はその誘導体；Ｎ２－シクロペンチルグアニン（ｃＰｅｎｔ－Ｇ）、Ｎ２－シクロペンチル－２－アミノプリン（ｃＰｅｎｔ－ＡＰ）、及びＮ２－プロピル－２－アミノプリン（Ｐｒ－ＡＰ）、偽ウラシル又はその誘導体；並びに２，６－ジフロオロトルエン又は脱塩基部位などの無塩基のような、縮重又はユニバーサル塩基（例えば、１－デオキシリボース、１，２－ジデオキシリボース、１－デオキシ－２－Ｏ－メチルリボース；又は環酸素が窒素で置き換えられているピロリジン誘導体（アザリボース））を含む。偽ウラシルは、ウラシルの自然発生的な異性化バージョンであり、ウリジンにおける通常のＮ－グリコシドというよりむしろＣ－グリコシドによる。

【００７７】
特定の修飾又は置換核酸塩基は、本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチドの結合親和性を向上させるために特に有用である。これらは、５－置換ピリミジン、６－アザピリミジン、並びに２－アミノプロピルアデニン、５－プロピニルウラシル及び５－プロピニルシトリンを含むＮ－２、Ｎ－６、及び０－６置換プリンを含む。様々な実施形態では、核酸塩基は、０．６～１．２℃の核酸二重安定性を向上させることを示される５－メチルシトシン置換基を含み得る。
【００７８】
いくつかの実施形態では、修飾又は置換核酸塩基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの精製を容易にするために有用である。例えば、ある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、３つ以上の（例えば、３、４、５、６つ以上）連続グアニン塩基を含み得る。ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチドでは、３つ以上の連続グアニン塩基のストリングは、オリゴヌクレオチドの凝集をもたらし、精製を複雑にし得る。こうしたアンチセンスオリゴヌクレオチドでは、連続したグアニンの１つ又は複数をヒポキサンチンで置換し得る。３つ以上の連続グアニン塩基のストリングにおける１つ以上のグアニンに対するヒポキサンチン置換は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの凝集を減少させ、それによって精製を促進し得る。
【００７９】
「脱塩基サブユニット」という用語は、アンチセンスオリゴマー中のプリン及びピリミジンを含まないサブユニットを指す。一実施形態では、「脱塩基サブユニット」は、水素である。本明細書に組み込まれる脱塩基サブユニットは、アンチセンス骨格を保持するが、プリン塩基又はピリミジン塩基を含まない。脱塩基サブユニットを含むアンチセンスオリゴマーの非限定的な例を以下に示す。
【化１６】



【００８０】
本明細書に提供されるオリゴヌクレオチドは合成され、生物起源のアンチセンス組成物を含まない。本開示の分子は、例えば、取り込み、分布、若しくは吸収、又はそれらの組み合わせを助けるために、混合、カプセル封入、コンジュゲートされ得るか、又は別の方法で、例えば、リポソーム、受容体標的分子、経口、直腸、局所、若しくは他の製剤などの他の分子、分子構造、若しくは化合物の混合物に関連し得る。
【００８１】

本明細書で使用される場合、「核酸類似体」は、非自然発生的な核酸分子を指す。核酸は、一緒に直鎖状構造に連結されたヌクレオチドサブユニットのポリマーである。各ヌクレオチドは、ペントース（５炭素）糖に付着した窒素含有芳香族塩基からなり、これは、リン酸基に付着している。連続的なリン酸基は、ホスホジエステル結合を通して一緒に連結されて、ポリマーを形成する。自然発生的な核酸の２つの一般的な形態は、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）及びリボ核酸（ＲＮＡ）である。鎖の一方の末端は、糖部分の５’－炭素原子に付着した遊離リン酸基を担持し、これは、分子の５’末端と呼ばれる。他方の末端は、糖部分の３’－炭素に遊離ヒドロキシル（－ＯＨ）基を有し、分子の３’末端と呼ばれる。核酸類似体は、１つ以上の非自然発生的な核酸塩基、糖、及び／又はヌクレオチド間連結、例えば、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）を含み得る。本明細書に開示されるように、ある特定の実施形態では、「核酸類似体」は、ＰＭＯであり、ある特定の実施形態では、「核酸類似体」は、正に荷電したカチオン性ＰＭＯである。

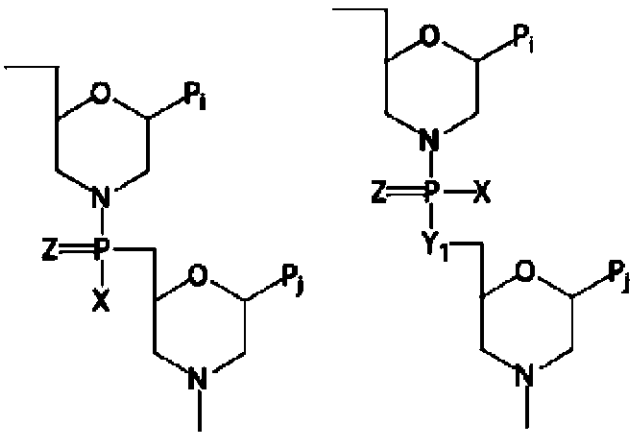
【００８２】

「モルホリノオリゴマー」又は「ＰＭＯ」は、典型的なポリヌクレオチドに水素結合することができる塩基を支持する骨格を有するポリマー分子を指し、ポリマーは、ペントース糖骨格部分、及びより具体的には、ヌクレオチド及びヌクレオシドに典型的であるホスホジエステル結合によって連結されたリボース骨格を欠くが、代わりに、環窒素を通して結合する環窒素を含有する。例示的な「モルホリノ」オリゴマーは、ホスホラミデート結合又はホスホロジアミデート連結によって一緒に連結されたモルホリノサブユニット構造を含み、１つのサブユニットのモルホリノ窒素を隣接するサブユニットの５’環外炭素に結合し、各サブユニットは、塩基特異的水素結合によってポリヌクレオチド中の塩基に結合するのに有効なプリン又はピリミジン塩基対形成部分を含む。モルホリノオリゴマー（アンチセンスオリゴマーを含む）は、例えば、米国特許　第５，０３４，５０６号、同第５，１４２，０４７号、同第５，１６６，３１５号、同第５，１８５，４４４号、同第５，２１７，８６６号、同第５，５０６，３３７号、同第５，５２１，０６３号、同第５，６９８，６８５号、同第８，０７６，４７６号、及び同第８，２９９，２０６号、並びにＰＣＴ公開第２００９／０６４４７１号に詳述されており、それらの全ては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【００８３】

好ましいモルホリノオリゴマーは、本明細書ではＰＭＯと称されるホスホロジアミデート連結モルホリノオリゴマーである。そのようなオリゴマーは、以下に示されるものなどのモルホリノサブユニット構造で構成され、

【化１７】



式中、Ｘは、ＮＨ$_2$、ＮＨＲ、又はＮＲ$_2$（Ｒは、低級アルキル、好ましくはメチルである）であり、Ｙ$_1$は、Ｏであり、Ｚは、Ｏであり、Ｐ$_i$及びＰ$_j$は、塩基特異的水素結合によってポリヌクレオチド中の塩基に結合するのに有効なプリン又はピリミジン塩基対形

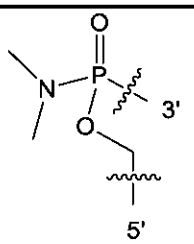
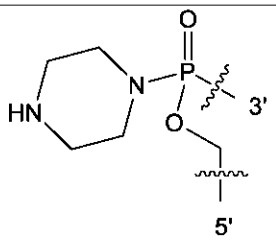
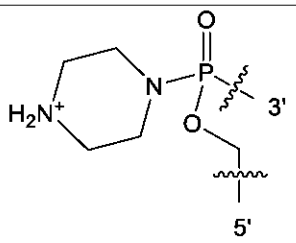
成部分である。また、交互のホスホロジアミデート連結を有する構造が好ましく、Ｘは、メトキシ又はエトキシなどの低級アルコキシであり、Y_1は、ＮＨ又はＮＲであり、Ｒは、低級アルキルであり、Ｚは、Ｏである。

【００８４】

代表的なＰＭＯには、サブユニット間連結が連結（Ａ１）であるＰＭＯが含まれる。表１を参照されたい。

【表１】

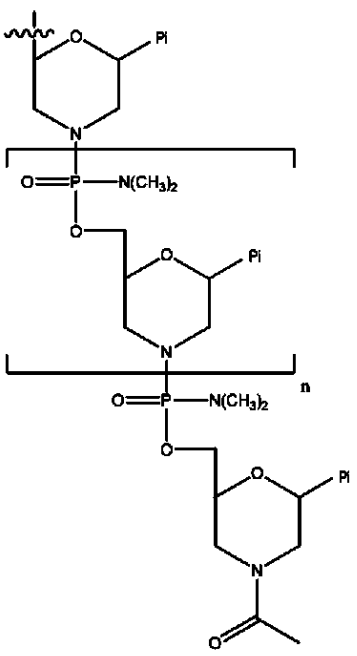
表１．代表的なサブユニット間連結

番号	名称	構造
A1	PMO	
A2	PMO^+（非プロトン化形態を示す）	
A3	PMO^+（+）	

【００８５】

「ホスホラミデート」基が、３つの付着した酸素原子及び１つの付着した窒素原子を有するリンを含む一方で、「ホスホロジアミデート」基は、２つの付着した酸素原子及び２つの付着した窒素原子を有するリンを含む。代表的なホスホロジアミデートの例を以下に示し、

【化１８】



各Ｐ$_i$は、独立してＨ、核酸塩基、及び化学保護基で官能化された核酸塩基から選択され、核酸塩基は、各出現において独立して、ピリジン、ピリミジン、トリアジナン、プリン、及びデアザプリンから選択されるＣ$_{3-6}$複素環を含み、ｎは、６～３８の整数である。ＰＭＯの３’末端におけるサブユニットの環窒素は、アセチルなどのキャッピング基でキャップされ得るか、又は遊離水素で脱キャップされ得る。

【００８６】

本明細書に記載されるオリゴマーの非荷電又は修飾サブユニット間連結では、１つの窒素は、常に骨格鎖にペンダントしている。ホスホロジアミデート連結における第２の窒素は、典型的には、モルホリノ環構造における環窒素である。

【００８７】

ＰＭＯは、スプライシング又は翻訳機構構成成分の結合又は進行を防止することによって遺伝子発現を阻害する、水溶性、非荷電、又は実質的に非荷電アンチセンス分子である。ＰＭＯはまた、ウイルス複製を阻害又は遮断することが示されている（Ｓｔｅｉｎ，Ｓｋｉｌｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．２００１、ＭｃＣａｆｆｒｅｙ，Ｍｅｕｓｅ ｅｔ ａｌ．２００３）。それらは、酵素消化に対して高度に耐性である（Ｈｕｄｚｉａｋ，Ｂａｒｏｆｓｋｙ ｅｔ ａｌ．１９９６）。ＰＭＯは、無細胞培養モデル及び細胞培養モデルにおいてインビトロで（Ｓｔｅｉｎ，Ｆｏｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ．１９９７、Ｓｕｍｍｅｒｔｏｎ ａｎｄ Ｗｅｌｌｅｒ １９９７）、及びゼブラフィッシュ、カエル、及びウニの胚においてインビボで（Ｈｅａｓｍａｎ，Ｋｏｆｒｏｎ ｅｔ ａｌ．２０００、Ｎａｓｅｖｉｃｉｕｓ ａｎｄ Ｅｋｋｅｒ ２０００）、並びにラット、マウス、ウサギ、イヌ、及びブタなどの成体動物モデルにおいて（例えば、Ａｒｏｒａ ａｎｄ Ｉｖｅｒｓｅｎ ２０００、Ｑｉｎ，Ｔａｙｌｏｒ ｅｔ ａｌ．２０００、Ｉｖｅｒｓｅｎ ２００１、Ｋｉｐｓｈｉｄｚｅ，Ｋｅａｎｅ ｅｔ ａｌ．２００１、Ｄｅｖｉ ２００２、Ｄｅｖｉ，Ｏｌｄｅｎｋａｍｐ ｅｔ ａｌ．２００２、Ｋｉｐｓｈｉｄｚｅ，Ｋｉｍ ｅｔ ａｌ．２００２、Ｒｉｃｋｅｒ，Ｍａｔａ ｅｔ ａｌ．２００２を参照されたい）、高いアンチセンス特異性及び有効性を実証している。

【００８８】

アンチセンスＰＭＯオリゴマーは、他の広く使用されているアンチセンスオリゴヌクレオチドよりも、少ない非特異的効果で、細胞内に取り込まれ、インビボでより一貫して有効であることが示されている（例えば、Ｐ．Ｉｖｅｒｓｅｎ，“Ｐｈｏｓｐｈｏｒａｍｉｄｉｔｅ Ｍｏｒｐｈｏｌｉｎｏ Ｏｌｉｇｏｍｅｒｓ，”ｉｎ Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｄ

ｒｕｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｓ．Ｔ．Ｃｒｏｏｋｅ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，２００１を参照されたい）。アルギニンリッチペプチドへのＰＭＯのコンジュゲーションは、それらの細胞取り込みを増加させることが示されている（例えば、米国特許第７，４６８，４１８号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。

【００８９】

本明細書で使用される場合、「荷電」、「非荷電」、「カチオン性」、及び「アニオン性」は、ほぼ中性のｐＨ、例えば、約６～８での化学部分の優勢な状態を指す。例えば、この用語は、生理学的ｐＨ、すなわち、約７．４での化学部分の優勢な状態を指し得る。

【００９０】

「カチオン性ＰＭＯ」又は「ＰＭＯ＋」は、以前に記載されている任意の数の（１－ピペラジノ）ホスフィニリデンオキシ、（１－（４－（ω－グアニジノ－アルカノイル））－ピペラジノ）ホスフィニリデンオキシ連結（Ａ２及びＡ３、表１を参照されたい）を含む、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーを指す（例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＰＣＴ公開第２００８／０３６１２７号を参照されたい）。

【００９１】

オリゴヌクレオチド類似体（例えば、非荷電オリゴヌクレオチド類似体）の「骨格」は、塩基対形成部分を支持する構造を指し、例えば、本明細書に記載されるモルホリノオリゴマーについては、「骨格」は、サブユニット間連結（例えば、リン含有連結）によって結合されたモルホリノ環構造を含む。「実質的に非荷電の骨格」は、サブユニット間連結の５０％未満がほぼ中性ｐＨで荷電されるオリゴヌクレオチド類似体の骨格を指す。例えば、実質的に非荷電の骨格は、ほぼ中性のｐＨで荷電される５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１０％未満、５％未満、又は更には０％未満のサブユニット間連結を含み得る。いくつかの実施形態では、実質的に非荷電の骨格は、４つの非荷電（生理学的ｐＨで）連結毎に最大１つの荷電（生理学的ｐＨで）サブユニット間連結、８つの非荷電連結毎に最大１つ、又は１６個の非荷電連結毎に最大１つを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される核酸類似体は、完全に非荷電である。

【００９２】

「標的化塩基配列」という用語、又は単に「標的化配列」という用語は、標的配列、例えば、ヒトのＲＮＡゲノム中の標的配列に対して相補的である（加えて、実質的に相補的であることを意味する）核酸類似体中の配列である。類似体化合物の配列全体、又は一部分のみが、標的配列に対して相補的であり得る。例えば、２０個の塩基を有する類似体では、１２～１４個のみが標的化配列であり得る。典型的には、標的化配列は、類似体中の連続的な塩基で形成されるが、代替的に、例えば、類似体の両端から一緒に配置された場合、標的配列に及ぶ配列を構成する非連続的な配列で形成され得る。

【００９３】

「ペプチド」という用語は、複数の結合したアミノ酸を含む化合物を指す。本明細書に提供されるペプチドは、細胞膜透過性ペプチドと考えられ得る。

【００９４】

本明細書で使用される場合、「細胞膜透過性ペプチド」（ＣＰＰ）又は「キャリアペプチド」は、細胞によるＰＭＯの取り込みを促進し、それによってＰＭＯを細胞の内部（細胞質）に送達することができる比較的短いペプチドである。ＣＰＰ又はキャリアペプチドは、典型的には、約１２～約４０アミノ酸長である。キャリアペプチドの長さは、特に限定されず、異なる実施形態において変動する。いくつかの実施形態では、キャリアペプチドは、４～４０個のアミノ酸サブユニットを含む。他の実施形態では、キャリアペプチドは、６～３０個、６～２０個、８～２５個、又は１０～２０個のアミノ酸サブユニットを含む。様々な実施形態では、本開示のＣＰＰ実施形態は、以下に更に記載されるアルギニンに富むペプチドを含み得る。

【００９５】

本明細書で使用される場合、「ペプチドコンジュゲートホスホロジアミデート連結モル

ホリノオリゴマー」又は「ＰＰＭＯ」は、細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）又はキャリアペプチドなどのペプチドに共有結合したＰＭＯを指す。細胞膜透過性ペプチドは、細胞によるＰＭＯの取り込みを促進し、それによってＰＭＯを細胞の内部（細胞質）に送達する。そのアミノ酸配列に応じて、ＣＰＰは、概して有効であり得るか、又は特定の細胞型へのＰＭＯ送達に特異的若しくは選択的に有効であり得る。ＰＭＯ及びＣＰＰは、典型的には、それらの末端で連結され、例えば、ＣＰＰのＣ末端は、ＰＭＯの５’末端に連結され得るか、又はＰＭＯの３’末端は、ＣＰＰのＮ末端に連結され得る。ＰＰＭＯは、非荷電ＰＭＯ、荷電（例えば、カチオン性）ＰＭＯ、及びそれらの混合物を含み得る。一実施形態では、本明細書に記載されるコンジュゲートの連結部分が切断されて、ＰＰＭＯを放出し得る。

【００９６】

キャリアペプチドは、直接、あるいは任意選択的なリンカー、例えば、システイン（Ｃ）、グリシン（Ｇ）、若しくはプロリン（Ｐ）などの１つ以上の追加の自然発生的なアミノ酸、又は追加のアミノ酸類似体、例えば、６－アミノヘキサン酸（Ｘ）、ベーター－アラニン（Ｂ）、若しくはＸＢを介して、核酸類似体に連結され得る。当該技術分野で既知の他の連結部分も用いられ得る。

【００９７】

「アミノ酸サブユニット」は、概して、α－アミノ酸残基（－ＣＯ－ＣＨＲ－ＮＨ－）であるが、β－又は他のアミノ酸残基（例えば、－ＣＯ－ＣＨ$_2$ＣＨＲ－ＮＨ－）であり得、Ｒは、アミノ酸側鎖である。

【００９８】

「自然発生的なアミノ酸」という用語は、自然界に見られるタンパク質中に存在するアミノ酸を指し、例としては、アラニン（Ａ）、システイン（Ｃ）、アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）、フェニルアラニン（Ｆ）、グリシン（Ｇ）、ヒスチジン（Ｈ）、イソロイシン（Ｉ）、リジン（Ｋ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、アスパラギン（Ｎ）、プロリン（Ｐ）、グルタミン（Ｑ）、アルギニン（Ｒ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、バリン（Ｖ）、トリプトファン（Ｗ）、及びチロシン（Ｙ）が挙げられる。「非天然アミノ酸」という用語は、自然界に見られるタンパク質中に存在しないアミノ酸を指し、例としては、ベーター－アラニン（β－Ａｌａ）及び６－アミノヘキサン酸（Ａｈｘ）が挙げられる。

【００９９】

薬剤は、薬剤が細胞膜にわたる受動的拡散以外の機構によって細胞に入ることができる場合、「哺乳動物細胞によって能動的に取り込まれる」。薬剤は、例えば、ＡＴＰ依存性輸送機構による哺乳動物細胞膜にわたる薬剤の輸送を指す「能動的輸送」によって、又は輸送タンパク質への薬剤の結合（これは次いで、膜をわたる結合した薬剤の通過を促進する）を必要とする輸送機構による細胞膜にわたるアンチセンス剤の輸送を指す「促進輸送」によって輸送され得る。

【０１００】

本明細書で使用される場合、「有効量」は、所望の生物学的結果を達成するのに十分である物質の任意の量を指す。「治療有効量」とは、所望の治療結果を達成するのに十分である物質の任意の量を指す。

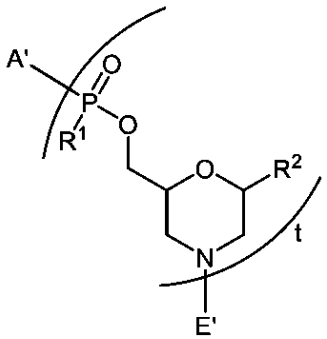
【０１０１】

本明細書で使用される場合、「対象」は、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、ウマ、サル、非ヒト霊長類、又はヒトを含み得る哺乳動物である。ある特定の実施形態では、対象は、ヒトである。

【０１０２】

個人（例えば、ヒトなどの哺乳動物）又は細胞の「治療」は、個人又は細胞の自然経過を変更するために使用されるあらゆる種類の介入である。治療は、限定するものではないが、医薬組成物の投与を含み、予防的に、又は病理学的事象の開始若しくは病原体との接触の後に、行い得る。

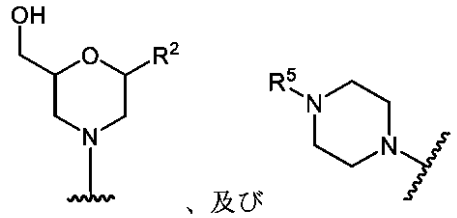
【０１０３】
ＩＩ．ペプチド－オリゴヌクレオチド
いくつかの実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むアンチセンスオリゴマーが本明細書に提供され、
修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端からアンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、標的化配列を形成し、
少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、
脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。
【０１０４】
一実施形態では、脱塩基サブユニットは、標的化配列の内部にある。
【０１０５】
一実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが２０～４０個のサブユニットである。別の実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１９～２９個のサブユニットである。別の実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１８～４０、１９～３０、１９～２９、２０～４０、２０～３０、２０～２５、２１～４０、２１～３０、２１～２５、２２～４０、２２～３０、２２～２５、２３～４０、２３～３０、又は２３～２５個のサブユニットである。更に別の実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０個のサブユニットである。
【０１０６】
一実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、式Ｉのアンチセンスオリゴマー、
【化１９】



（Ｉ）

又はその薬学的に許容される塩であり、
式中、
Ａ’は、－Ｎ（Ｈ）ＣＨ２Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、－Ｎ（Ｃ１－６－アルキル）ＣＨ２Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、

【化２０】



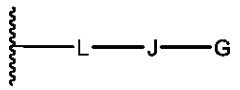
、及び

から選択され、式中、

Ｒ^{5}は、－Ｃ（Ｏ）（Ｏ－アルキル）$_{x}$－ＯＨであり、式中、ｘは３～１０であり、各アルキル基は、各出現において独立して、Ｃ$_{2-6}$－アルキルであるか、

又はＲ^{5}は、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、トリチル、モノメトキシトリチル、－（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）－Ｒ^{6}、－（Ｃ$_{1-6}$－ヘテロアルキル）－Ｒ^{6}、アリール－Ｒ^{6}、ヘテロアリール－Ｒ^{6}、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）－Ｒ^{6}、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アリール－Ｒ^{6}、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ヘテロアリール－Ｒ^{6}、及び

【化２１】



;

から選択され、

Ｒ^{6}は、ＯＨ、ＳＨ、及びＮＨ$_{2}$から選択されるか、又はＲ^{6}は、Ｏ、Ｓ、若しくはＮＨであり、それらの各々は、固体支持体に共有結合されており、

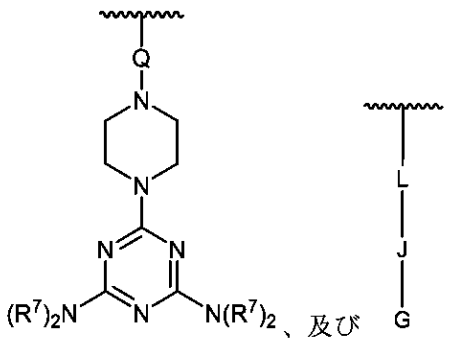
各Ｒ^{1}は、独立して、ＯＨ及び－Ｎ（Ｒ^{3}）（Ｒ^{4}）から選択され、式中、各Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各出現において独立して、Ｈ又は－Ｃ$_{1-6}$－アルキルであり、

各Ｒ^{2}は、各出現において独立して、Ｈ（脱塩基性）、核酸塩基、及び化学保護基で官能化された核酸塩基から選択され、核酸塩基は、各出現において独立して、ピリジン、ピリミジン、プリン、及びデアザ－プリンから選択されるＣ$_{3-6}$複素環を含み、

ｔは、８～４０であり、

Ｅ’は、Ｈ、－Ｃ$_{1-6}$－アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、

【化２２】



、及び

から選択され、

式中、

Ｑは、－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$Ｃ（Ｏ）－又は－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$Ｓ$_{2}$（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$Ｃ（Ｏ）－であり、

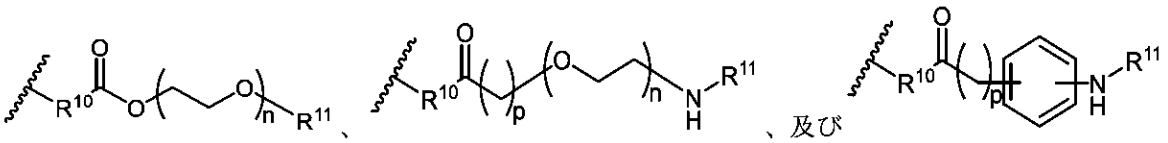
Ｒ^{7}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{8}）$_{2}$であり、式中、Ｒ^{8}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$ＮＨＣ（＝ＮＨ）ＮＨ$_{2}$であり、

Ｌは、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、又はＲ^{9}から選択され、Ｌは、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、

Ｗは、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{m}$－ＮＨ－であり、式中、ｍは、２～１２であり、

Ｒ^{9}は、

【化２３】



からなる群から選択され、

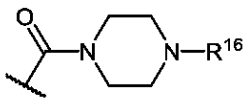
ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０であり、

ｐは、２、３、４、又は５であり、

Ｒ^{10}は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、

Ｒ^{11}は、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、及び

【化２４】



からなる群から選択され、

Ｒ^{16}は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、Ｒ^{16}は、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、Ｊは、細胞膜透過性ペプチドであり、

Ｇは、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、及びステアロイルから選択され、Ｇは、Ｊに共有結合されている。

【０１０７】

一態様では、アンチセンスオリゴマーが本明細書に開示され、アンチセンスオリゴマーは、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチド及び細胞膜透過性ペプチドを含むコンジュゲートであり、

修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１８～４０個のサブユニットであり、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含み、

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノオリゴマーを含み、

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞膜透過性ペプチドに共有結合されており、

アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端からアンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、標的化配列を形成し、

少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、

脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。

【０１０８】

一実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが２０～４０個のサブユニットである。別の実施形態では、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが１９～２９個のサブユニットである。

【０１０９】

一実施形態では、標的領域は、配列番号２（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７））

及び配列番号　３（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－２４））からなる群から選択される配列を含む。更なる実施形態では、標的領域は、配列番号２に記載される配列を含む。別の実施形態では、標的領域は、配列番号　３に記載される配列を含む。

【０１１０】

一実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－５６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７６－５２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７４－５５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－４９－２４）から選択される。更なる実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）である。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）である。一実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）である。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）である。

【０１１１】

一実施形態では、標的化配列は、配列ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ（配列番号４）を含み、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は非塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。別の実施形態では、標的化配列は、

ｉ）配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｉ）配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｉｉ）配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｖ）配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｖ）配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、及び

ｖｉ）配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる群から選択される配列を含む。

【０１１２】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０１１３】

一実施形態では、標的化配列は、配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。

【０１１４】

一実施形態では、標的化配列は、配列ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ（配列番号４）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。更に別の実施形

態では、標的化配列は、配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。

【０１１５】

一実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－５６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７６－５２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７４－５５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－４９－２４）からなる群から選択される。別の実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）からなる群から選択される。

【０１１６】

一実施形態では、標的化領域は、

ｉ）配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）、

ｉｉ）配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）、

ｉｉｉ）配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）、

ｉｖ）配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖ）配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）、

ｖｉ）配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる群から選択される配列を含み、

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は非塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。一実施形態では、標的化配列は、

ｉ）配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｉｉ）配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｉｉｉ）配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｉｖ）配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖ）配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖｉ）配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖｉｉ）配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、及び

ｖｉｉｉ）配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる群から選択される。

【０１１７】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０１１８】

一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）を

含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）を含む。

【０１１９】

一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる。

【０１２０】

一実施形態では、脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、又は９９パーセント相補的である。別の実施形態では、脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８４％、少なくとも８８％、又は少なくとも９２％相補的である。更に別の実施形態では、脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも９０％相補的である。更に別の実施

形態では、脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも９５％相補的である。更に別の実施形態では、脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して１００％相補的である。

【０１２１】

一実施形態では、各脱塩基サブユニットは、標的化配列の５’末端又は３’末端から少なくとも８つのサブユニットである。

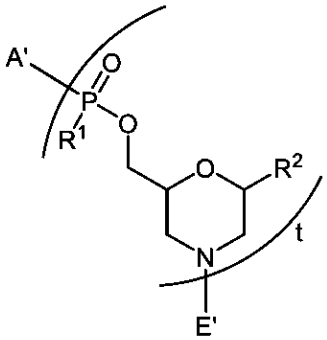
【０１２２】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、１～５つの脱塩基サブユニットを含み得る。一実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ、２つ、３つ、又は４つの脱塩基サブユニットを含む。

【０１２３】

別の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式ＩＶを有するアンチセンス－オリゴマーコンジュゲート、

【化２５】



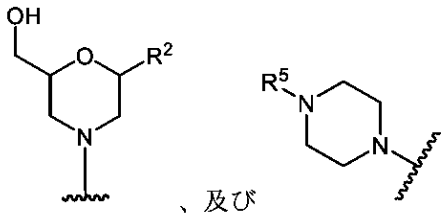
（ＩＶ）

又はその薬学的に許容される塩であり、

式中、

Ａ’は、－Ｎ（Ｈ）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－Ｎ（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、

【化２６】



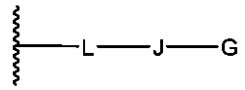
、及び

から選択され、式中、

Ｒ^{5}は、－Ｃ（Ｏ）（Ｏ－アルキル）$_x$－ＯＨであり、式中、ｘは３～１０であり、各アルキル基は、各出現において独立して、Ｃ$_{2-6}$－アルキルであるか、

又はＲ^{5}は、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、トリチル、モノメトキシトリチル、－（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）－Ｒ^6、－（Ｃ$_{1-6}$－ヘテロアルキル）－Ｒ^6、アリール－Ｒ^6、ヘテロアリール－Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）－Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アリール－Ｒ^6、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ヘテロアリール－Ｒ^6、及び

【化２７】



;

から選択され、

Ｒ^{6}は、ＯＨ、ＳＨ、及びＮＨ$_{2}$から選択されるか、又はＲ^{6}は、Ｏ、Ｓ、若しくはＮＨであり、それらの各々は、固体支持体に共有結合されており、

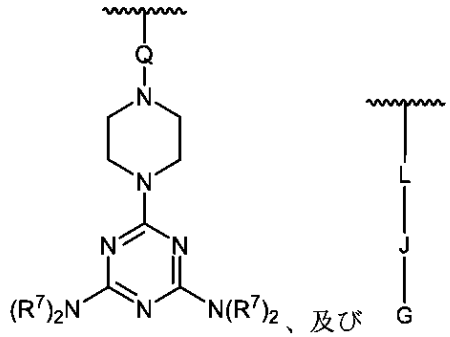
各Ｒ^{1}は、独立して、ＯＨ及び－Ｎ（Ｒ^{3}）（Ｒ^{4}）から選択され、式中、各Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各出現において独立して、Ｈ又は－Ｃ$_{1-6}$－アルキルであり、

各Ｒ^{2}は、各出現において独立して、Ｈ（脱塩基性）、核酸塩基、及び化学保護基で官能化された核酸塩基から選択され、核酸塩基は、各出現において独立して、ピリジン、ピリミジン、プリン、及びデアザ－プリンから選択されるＣ$_{3-6}$複素環を含み、

ｔは、８～４０であり、

Ｅ’は、Ｈ、－Ｃ$_{1-6}$－アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、

【化２８】



から選択され、

式中、

Ｑは、－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$Ｃ（Ｏ）－又は－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$Ｓ$_{2}$（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$Ｃ（Ｏ）－であり、

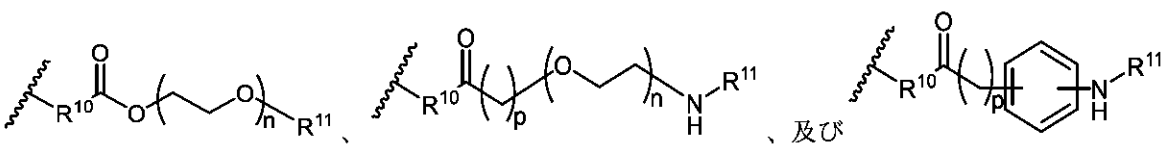
Ｒ^{7}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{8}）$_{2}$であり、式中、Ｒ^{8}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$ＮＨＣ（＝ＮＨ）ＮＨ$_{2}$であり、

Ｌは、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、又はＲ^{9}から選択され、Ｌは、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、

Ｗは、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{m}$－ＮＨ－であり、式中、ｍは、２～１２であり、

Ｒ^{9}は、

【化２９】



からなる群から選択され、

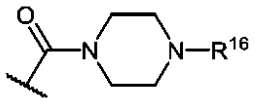
ｎは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０であり、

ｐは、２、３、４、又は５であり、

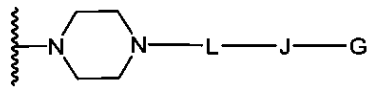
Ｒ^{10}は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、

Ｒ^{11}は、グリシン、プロリン、Ｗ、Ｗ－Ｗ、及び

【化３０】



からなる群から選択され、
Ｒ１６は、結合、グリシン、プロリン、Ｗ、又はＷ－Ｗから選択され、Ｒ１６は、ＪのＮ末端又はＣ末端へのアミド結合によって共有結合されており、Ｊは、細胞膜透過性ペプチドであり、
Ｇは、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、及びステアロイルから選択され、Ｇは、Ｊに共有結合されており、
ただし、
Ａ’が
【化３１】



であるか、又はＥ’が
【化３２】

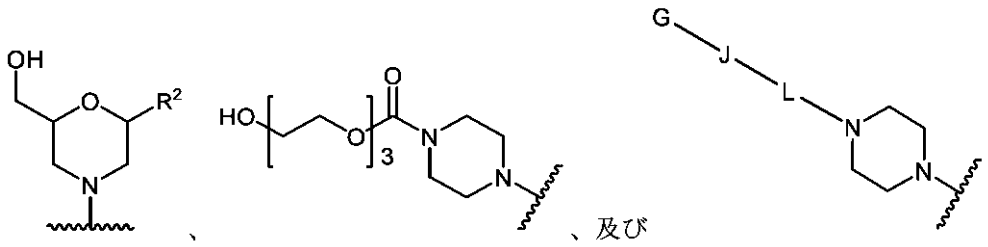


であることを条件とする。
【０１２４】
一実施形態では、Ｅ’は、Ｈ、－Ｃ$_{1-6}$－アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｃ$_{1-6}$－アルキル、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル、トリメトキシトリチル、及び
【化３３】



から選択される。
【０１２５】
一実施形態では、Ａ’は、Ｎ（Ｃ$_{1-6}$－アルキル）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$、

【化３４】



、

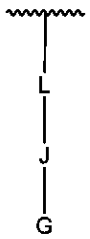
、及び

から選択される。

【０１２６】

一実施形態では、Ｅ’は、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ3、ベンゾイル、ステアロイル、トリチル、４－メトキシトリチル、及び

【化３５】

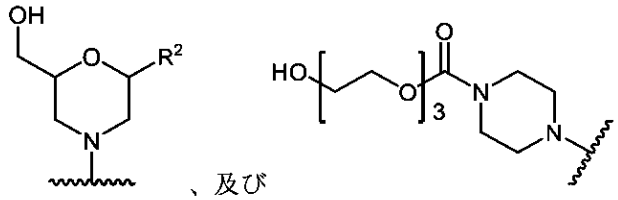


から選択される。

【０１２７】

一実施形態では、Ａ’は、Ｎ（Ｃ1－6－アルキル）ＣＨ2Ｃ（Ｏ）ＮＨ2、

【化３６】

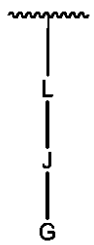


、及び

から選択され、

Ｅ’は、

【化３７】

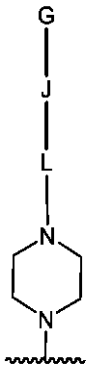


である。

【０１２８】

一実施形態では、Ａ’は、

【化３８】

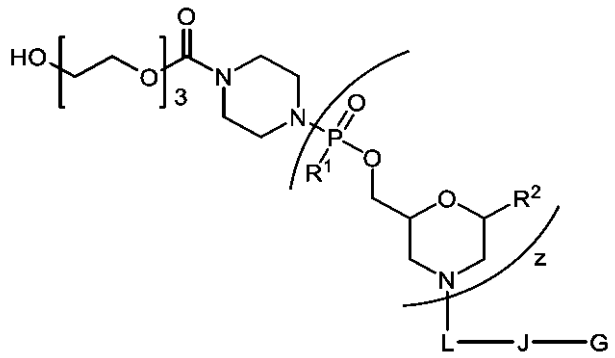


であり、

Ｅ’は、Ｈ、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_3$、トリチル、４－メトキシトリチル、ベンゾイル、及びステアロイルから選択される。

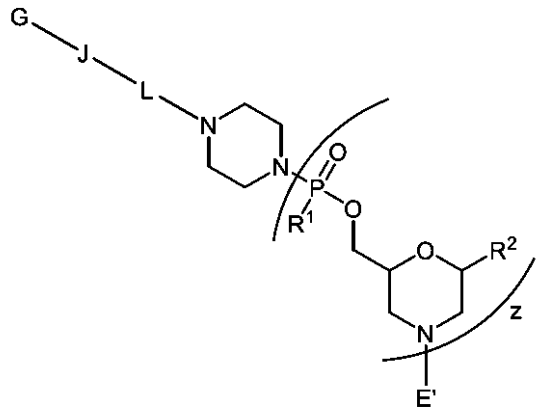
一実施形態では、式ＩＶのコンジュゲートは、

【化３９－１】



（ＩＶａ）、及び

【化３９－２】



（ＩＶｂ）

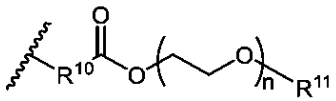
から選択されるコンジュゲートであり、

式中、Ｅ’は、Ｈ、Ｃ$_{1-6}$－アルキル、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_3$、ベンゾイル、及びステアロイルから選択される。

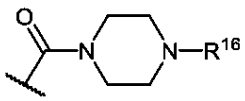
【０１２９】

一実施形態では、コンジュゲートは、式（ＩＶａ）のものである。一実施形態では、コ

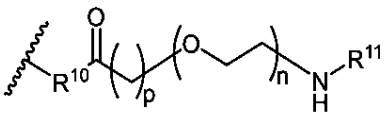
ンジュゲートは、式（ＩＶｂ）のものである。
【０１３０】
一実施形態では、各Ｒ^{1}は、－Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$である。
【０１３１】
一実施形態では、各核酸塩基は、各出現において独立して、アデニン、グアニン、シトシン、５－メチル－シトシン、チミン、ウラシル、及びヒポキサンチンから選択される。一実施形態では、Ｌは、グリシンである。一実施形態では、Ｌは、プロリンである。一実施形態では、Ｌは、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{5}$－ＮＨ－である。一実施形態では、Ｌは、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－ＮＨ－である。一実施形態では、Ｌは、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{2}$－ＮＨ－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{5}$－ＮＨ－である。
【０１３２】
一実施形態では、Ｌは、
【化４０】



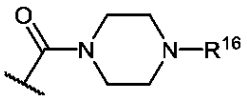
であり、式中、Ｒ^{10}は、結合であり、Ｒ^{11}は、グリシン及び
【化４１】



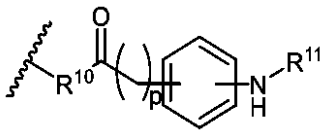
から選択される。
【０１３３】
一実施形態では、Ｌは、
【化４２】



であり、式中、Ｒ^{10}は、結合であり、Ｒ^{11}は、グリシン及び
【化４３】

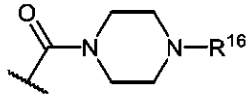


から選択される。
【０１３４】
一実施形態では、Ｌは、
【化４４】



であり、式中、Ｒ^{10}は、結合であり、Ｒ^{11}は、グリシン及び

【化４５】



から選択される。

【０１３５】

一実施形態では、Ｊは、ｒＴＡＴ、ＴＡＴ、Ｒ９Ｆ２、Ｒ５Ｆ２Ｒ４、Ｒ４、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、（ＲＸＲ）４、（ＲＸＲ）５、（ＲＸＲＲＢＲ）２、（ＲＡＲ）４Ｆ２、（ＲＧＲ）４Ｆ２から選択される。

【０１３６】

一実施形態では、Ｇは、Ｈ、Ｃ（Ｏ）ＣＨ３、ベンゾイル、及びステアロイルから選択される。一実施形態では、Ｇは、Ｈ又は－Ｃ（Ｏ）ＣＨ３である。一実施形態では、Ｇは、Ｈである。一実施形態では、
Ｇは、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ３である。

【０１３７】

一実施形態では、ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列であり、少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットである。別の実施形態では、標的領域は、配列番号２（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７））及び配列番号　３（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－２４））からなる群から選択される配列を含む。

【０１３８】

一実施形態では、標的化配列は、配列：

ｉ）配列番号　４（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｉ）配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）、

ｉｉｉ）配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）、

ｉｖ）配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）、

ｖ）配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖｉ）配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）、

ｖｉｉ）配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）を含み、

【０１３９】

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。

【０１４０】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０１４１】

更なる実施形態では、標的化領域は、

ｉ）配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｉ）配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｉｉ）配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｉｖ）配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｖ）配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｖｉ）配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、

ｖｉｉ）配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｖｉｉｉ）配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｉｘ）配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘ）配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘｉ）配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘｉｉ）配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、
ｘｉｉｉ）配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、及び
ｘｉｖ）配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる群から選択される配列を含む。

【０１４２】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０１４３】

一実施形態では、コンジュゲートは、その薬学的に許容される塩、及び少なくとも１つの薬学的に許容される担体である。

【０１４４】

一実施形態では、疾患の治療を必要とする対象においてそれを行う方法であって、コンジュゲート又は医薬組成物の治療有効量を対象に投与することを含む、方法が本明細書に提供される。

【０１４５】

一実施形態では、疾患は、ポンペ病である。一実施形態では、対象は、ヒトである。更なる実施形態では、ヒトは、小児である。別の実施形態では、ヒトは、成人である。

【０１４６】

ＩＩＩ．オリゴマー化学物質の特徴

また、本明細書では、アンチセンスオリゴマーが修飾アンチセンスオリゴマーである、アンチセンスオリゴマーが提供される。修飾アンチセンスオリゴマーの例としては、モルホリノオリゴマー、ホスホロチオエート修飾オリゴマー、２’－Ｏ－メチル修飾オリゴマー、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、ロックド核酸（ＬＮＡ）、ホスホロチオエートオリゴマー、２’－Ｏ－ＭＯＥ修飾オリゴマー、２’－フルオロ修飾オリゴマー、２’－Ｏ，４’－Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）、トリシクロ－ＤＮＡ、トリシクロ－ＤＮＡホスホロチオエートサブユニット、２’－Ｏ－［２－（Ｎ－メチルカルバモイル）エチル］修飾オリゴマー（上記のいずれかの組み合わせを含む）が挙げられるが、これらに限定されない。ホスホロチオエートと２’－Ｏ－Ｍｅ修飾化学物質を組み合わせて、２’－Ｏ－Ｍｅ－ホスホロチオエート骨格を生成することができる。例えば、ＰＣＴ公開第２０１３／１１２０５３号及び同第２００９／００８７２５号（参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０１４７】

いくつかの実施形態では、修飾アンチセンスオリゴマーの核酸塩基は、モルホリノ環構造に連結されており、モルホリノ環構造は、１つの環構造のモルホリノ窒素を隣接する環構造の５’環外炭素に結合するリン含有サブユニット間連結によって結合されている。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基は、ペプチド核酸（ＰＮＡ）に連結されており、リン酸－糖ポリヌクレオチド骨格は、核酸塩基が連結している可撓性擬似ペプチドポリマーによって置き換えられている。いくつかの態様では、アンチセ

ンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、ロックド核酸（ＬＮＡ）に連結されており、ロックド核酸構造は、リボース部分が２’酸素と４’炭素を結合する余分な架橋を有する、化学的に修飾されたヌクレオチド類似体である。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、架橋核酸（ＢＮＡ）に連結されており、糖立体構造は、フラノース骨格への追加の架橋構造の導入によって制限又はロックされている。いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、２’－Ｏ，４’－Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）に連結されている。

【０１５０】

いくつかの実施形態では、修飾アンチセンスオリゴマーは、アンロックド核酸（ＵＮＡ）サブユニットを含有し得る。ＵＮＡ及びＵＮＡオリゴマーは、サブユニットのＣ２’－Ｃ３’結合が切断されているＲＮＡの類似体である。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、修飾アンチセンスオリゴマーは、非架橋酸素のうちの１つが硫黄によって置き換えられている、１つ以上のホスホロチオエート（又はＳ－オリゴ）を含有する。いくつかの態様では、修飾アンチセンスオリゴマーは、リボースの２’－ＯＨが、それぞれ、メチル、メトキシエチル、２－（Ｎ－メチルカルバモイル）エチル、又はフルオロ基で置換されている、１つ以上の２’Ｏ－メチル、２’Ｏ－ＭＯＥ、ＭＣＥ、及び２’－Ｆを含有する。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、修飾アンチセンスオリゴマーは、トリシクロ－ＤＮＡ（ｔｃ－ＤＮＡ）であり、これは、骨格の立体構造的柔軟性を制限し、かつねじれ角ｇの骨格形状を最適化するために、各ヌクレオチドがシクロプロパン環の導入によって修飾されている、拘束されたＤＮＡ類似体である。

【０１５３】

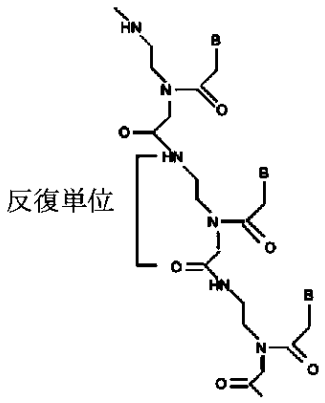
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、架橋核酸（ＢＮＡ）に連結されており、糖立体構造は、フラノース骨格への追加の架橋構造の導入によって制限又はロックされている。いくつかの態様では、アンチセンスオリゴマーの核酸塩基のうちの少なくとも１つは、２’－Ｏ，４’－Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）に連結されている。そのような態様では、ＢＮＡ又はＥＮＡに連結された各核酸塩基は、５－メチル基を含む。本開示のオリゴマー化学物質の例示的な実施形態が以下に更に記載される。

【０１５４】

１．ペプチド核酸（ＰＮＡ）

ペプチド核酸（ＰＮＡ）は、骨格がデオキシリボース骨格と構造的に同形であり、ピリミジン又はプリン塩基が結合するＮ－（２－アミノエチル）グリシン単位からなる、ＤＮＡの類似体である。天然のピリミジン塩基及びプリン塩基を含有するＰＮＡは、ワトソン・クリック塩基対形成規則に従い相補的なオリゴマーにハイブリダイズし、塩基対認識の点でＤＮＡを模倣する。ＰＮＡの骨格は、ホスホジエステル結合ではなくペプチド結合によって形成され、アンチセンス用途（以下の構造を参照）によく適したものになる。骨格は非荷電性であり、通常を超える熱安定性を示すＰＮＡ／ＤＮＡ又はＰＮＡ／ＲＮＡ二本鎖をもたらす。ＰＮＡは、ヌクレアーゼ又はプロテアーゼによって認識されない。ＰＮＡの非限定的な例が以下に示される。

【化４６】



【０１５５】

自然構造に対する根本的構造変化にもかかわらず、ＰＮＡは、ＤＮＡ又はＲＮＡへのヘリックス形態での配列特異的結合が可能である。ＰＮＡの特徴には、相補的なＤＮＡ又はＲＮＡに対する高い結合親和性、単一塩基ミスマッチによって引き起こされる不安定化作用、ヌクレアーゼ及びプロテアーゼに対する耐性、塩濃度に依存しないＤＮＡ又はＲＮＡとのハイブリダイゼーション、並びにホモプリンＤＮＡとの三重鎖形成が含まれる。ＰＡＮＡＧＥＮＥ（商標）は、その独自のＢｔｓ　ＰＮＡモノマー（Ｂｔｓ、ベンゾチアゾール－２－スルホニル基）及び独自のオリゴマー化プロセスを開発してきた。Ｂｔｓ　ＰＮＡモノマーを使用したＰＮＡオリゴマー化は、脱保護、カップリング、及びキャッピングの反復サイクルで構成される。ＰＮＡは、当該技術分野において既知の任意の技術を使用して合成的に産生され得る。例えば、米国特許　第６，９６９，７６６号、同第７，２１１，６６８号、同第７，０２２，８５１号、同第７，１２５，９９４号、同第７，１４５，００６号、及び同第７，１７９，８９６号を参照されたい。また、ＰＮＡの調製について、米国特許　第５，５３９，０８２号、同第５，７１４，３３１号、及び同第５，７１９，２６２も参照されたい。ＰＮＡ化合物の更なる教示は、Ｎｉｅｌｓｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５４：１４９７－１５００，１９９１に見ることができる。上記の各々は、参照によりその全体が組み込まれる。

【０１５６】

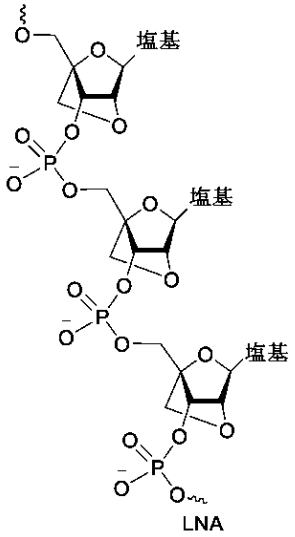
２．ロックド核酸（ＬＮＡ）

アンチセンスオリゴマーはまた、「ロックド核酸」サブユニット（ＬＮＡ）を含有し得る。「ＬＮＡ」は、架橋核酸（ＢＮＡ）と呼ばれる修飾のクラスのメンバーである。ＢＮＡは、リボース環の立体構造をＣ３０－エンド（ノーザン）糖パッカーにロックする共有結合を特徴とする。ＬＮＡの場合、架橋は、２’－Ｏ位置と４’－Ｃ位置との間のメチレンから構成される。ＬＮＡは、骨格の事前組織化及び塩基スタッキングを増強して、ハイブリダイゼーション及び熱安定性を高める。

【０１５７】

ＬＮＡの構造は、例えば、Ｗｅｎｇｅｌ，ｅｔ　ａｌ．，Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ（１９９８）４５５、Ｋｏｓｈｋｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ（１９９８）５４：３６０７、Ｊｅｓｐｅｒ　Ｗｅｎｇｅｌ，Ａｃｃｏｕｎｔｓ　ｏｆ　Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓｅａｒｃｈ（１９９９）３２：３０１、Ｏｂｉｋａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔｅｒｓ（１９９７）３８：８７３５、Ｏｂｉｋａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔｅｒｓ（１９９８）３９：５４０１、及びＯｂｉｋａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ　Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（２００８）１６：９２３０に見ることができ、これらは、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。ＬＮＡの非限定的な例が以下に示される。

【化４７】



【０１５８】

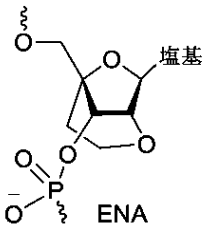
本開示のアンチセンスオリゴマーは、１つ以上のＬＮＡを組み込み得る。場合によっては、アンチセンスオリゴマーは、ＬＮＡから完全に構成され得る。個々のＬＮＡヌクレオシドサブユニットの合成及びそれらのオリゴマーへの組み込みのための方法は、例えば、米国特許　第７，５７２，５８２号、同第７，５６９，５７５号、同第７，０８４，１２５号、同第７，０６０，８０９号、同第７，０５３，２０７号、同第７，０３４，１３３号、同第６，７９４，４９９号、及び同第６，６７０，４６１号に記載され、これらの各々は、参照によりその全体が組み込まれる。典型的なサブユニット間リンカーとしては、ホスホジエステル部分及びホスホロチオエート部分が挙げられる。あるいは、非リン含有リンカーが用いられ得る。更なる実施形態は、ＬＮＡ含有アンチセンスオリゴマーを含み、各ＬＮＡサブユニットは、ＤＮＡサブユニットによって分離される。ある特定のアンチセンスオリゴマーは、交互のＬＮＡ及びＤＮＡサブユニットから構成され、サブユニット間リンカーは、ホスホロチオエートである。

【０１５９】

３．エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）

２’Ｏ，４’Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）は、ＢＮＡのクラスの別のメンバーである。非限定的な例が以下に示される。

【化４８】



【０１６０】

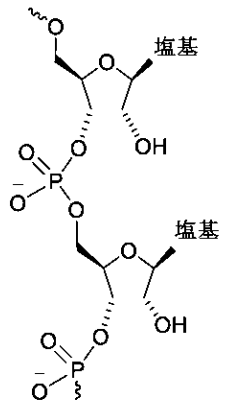
ＥＮＡオリゴマー及びその調製は、Ｏｂｉｋａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ（１９９７）３８（５０）：８７３５に記載されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本開示のアンチセンスオリゴマーは、１つ以上のＥＮＡサブユニットを組み込み得る。

【０１６１】

４．アンロックド核酸（ＵＮＡ）

アンチセンスオリゴマーはまた、アンロックド核酸（ＵＮＡ）サブユニットを含有し得る。ＵＮＡ及びＵＮＡオリゴマーは、サブユニットのＣ２’－Ｃ３’結合が切断されているＲＮＡの類似体である。ＬＮＡは、（ＤＮＡ及びＲＮＡに対して）立体構造的に制限されるが、ＵＮＡは、非常に柔軟である。ＵＮＡは、例えば、ＷＯ２０１６／０７０１６６に開示されている。ＵＮＡの非限定的な例が以下に示される。

【化４９】



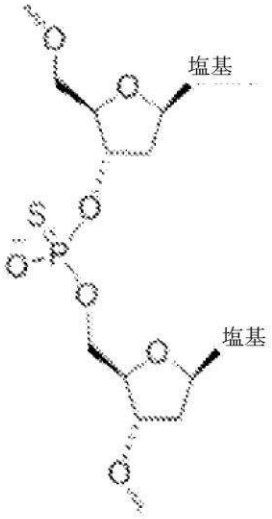
典型的なサブユニット間リンカーとしては、ホスホジエステル部分及びホスホロチオエート部分が挙げられる。あるいは、非リン含有リンカーが用いられ得る。

【０１６２】

５．ホスホロチオエート

「ホスホロチオエート」（又はＳ－オリゴ）は、非架橋酸素のうちの１つが硫黄で置換されている正常なＤＮＡのバリアントである。ホスホロチオエートの非限定的な例が以下に示される。

【化５０】



【０１６３】

ヌクレオチド間結合の硫化は、５’から３’及び３’から５’のＤＮＡ　ＰＯＬ１エキソヌクレアーゼ、ヌクレアーゼＳ１及びＰ１、ＲＮａｓｅ、血清ヌクレアーゼ、並びにヘビ毒ホスホジエステラーゼを含む、エンドヌクレアーゼ及びエキソヌクレアーゼの作用を低減する。ホスホロチオエートは、ホスホン酸水素に対する二硫化炭素中の元素硫黄の溶液の作用、又は亜リン酸トリエステルをテトラエチルチウラムジスルフィド（ＴＥＴＤ）若しくは３Ｈ－１，２－ベンゾジチオール－３－オン１，１－ジオキシド（ＢＤＴＤ）のいずれかで硫化する方法、の２つの主要な経路によって作製される（例えば、Ｉｙｅｒ　ｅｔ

ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５５，４６９３－４６９９，１９９０（これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照）。後者の方法は、ほとんどの有機溶媒中の元素硫黄の不溶性、及び二硫化炭素の毒性の問題を回避する。ＴＥＴＤ及びＢＤＴＤ法はまた、より高い純度のホスホロチオエートをもたらす。

【０１６４】

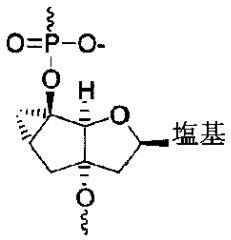
６．トリクリクロ－ＤＮＡ及びトリシクロ－ホスホロチオエートサブユニット

トリシクロ－ＤＮＡ（ｔｃ－ＤＮＡ）は、骨格の立体構造的柔軟性を制限し、かつねじれ角γの骨格形状を最適化するために、各ヌクレオチドがシクロプロパン環の導入によって修飾されている、拘束されたＤＮＡ類似体のクラスである。ホモ塩基アデニン及びチミン含有ｔｃ－ＤＮＡは、相補的ＲＮＡと非常に安定したＡ－Ｔ塩基対を形成する。トリシクロ－ＤＮＡ及びその合成は、国際特許出願公開第２０１０／１１５９９３号に記載されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本開示のアンチセンスオリゴマーは、１つ以上のトリシクロ－ＤＮＡサブユニットを組み込み得る。場合によっては、アンチセンスオリゴマーは、トリシクロ－ＤＮＡサブユニットから完全に構成され得る。

【０１６５】

トリシクロ－ホスホロチオエートサブユニットは、ホスホロチオエートサブユニット間連結を有するトリシクロ－ＤＮＡサブユニットである。トリシクロ－ホスホロチオエートサブユニット及びその合成は、国際特許出願公開第２０１３／０５３９２８号に記載されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本開示のアンチセンスオリゴマーは、１つ以上のトリシクロ－ＤＮＡサブユニットを組み込み得る。場合によっては、アンチセンスオリゴマーは、トリシクロ－ＤＮＡサブユニットから完全に構成され得る。トリシクロ－ＤＮＡ／トリシクロ－ホスホロチオエートサブユニットの非限定的な例が以下に示される。

【化５１】



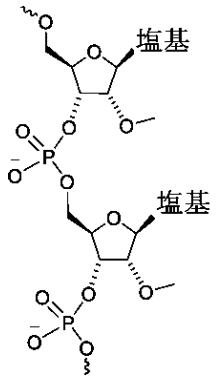
トリシクロDNA

【０１６６】

７．２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、及び２’－Ｆオリゴマー

「２’－Ｏ－Ｍｅオリゴマー」分子は、リボース分子の２’－ＯＨ残基にメチル基を有する。２’－Ｏ－Ｍｅ－ＲＮＡは、ＤＮＡと同じ（又は類似の）挙動を示すが、ヌクレアーゼ分解から保護される。２’－Ｏ－Ｍｅ－ＲＮＡはまた、更なる安定化のためにホスホロチオエートオリゴマー（ＰＴＯ）と組み合わせることができる。２’Ｏ－Ｍｅオリゴマー（ホスホジエステル又はホスホロチオエート）は、当該技術分野の常用技術に従って合成することができる（例えば、Ｙｏｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．３２：２００８－１６，２００４（これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照）。２’Ｏ－Ｍｅオリゴマーの非限定的な例が以下に示される。

【化５２】

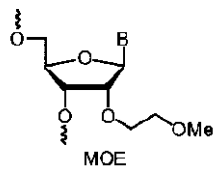


２’Ｏ－Ｍｅ

【０１６７】

２’－Ｏ－メトキシエチルオリゴマー（２’－Ｏ－ＭＯＥ）は、リボース分子の２’－ＯＨ残基にメトキシエチル基を有し、Ｍａｒｔｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｅｌｖ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ，７８，４８６－５０４，１９９５で考察されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。２’－Ｏ－ＭＯＥサブユニットの非限定的な例が以下に示される。

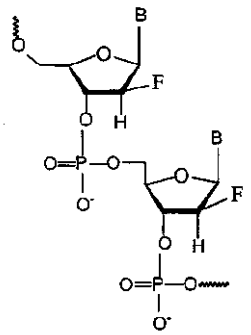
【化５３】



【０１６８】

２’－フルオロ（２’－Ｆ）オリゴマーは、２’－ＯＨの代わりに２’位に蛍光ラジカルを有する。２’－Ｆオリゴマーの非限定的な例が以下に示される。

【化５４】



２’－Ｆ

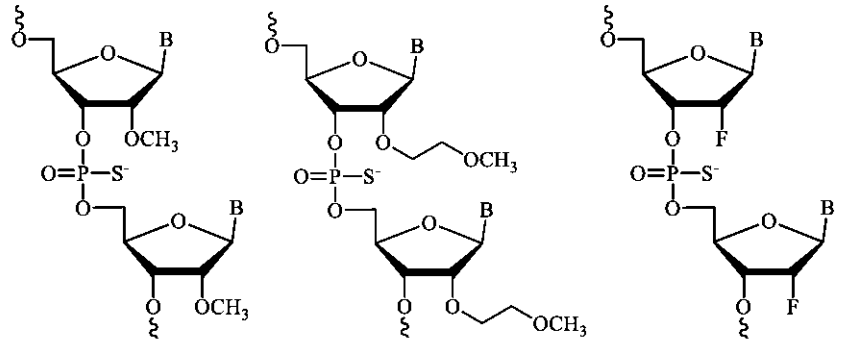
【０１６９】

２’－フルオロオリゴマーは、ＷＯ２００４／０４３９７７に更に記載されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１７０】

２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、及び２’－Ｆオリゴマーはまた、以下に示されるように、１つ以上のホスホロチオエート（ＰＳ）連結を含み得る。

【化５５】

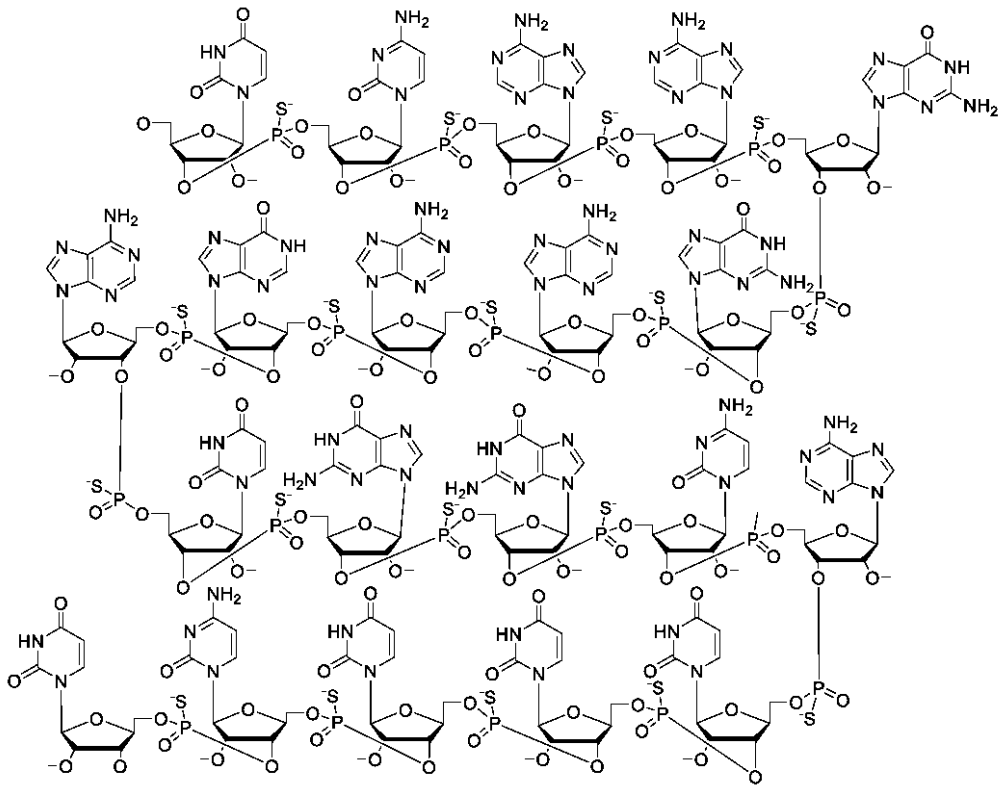


２’－Ｏ－メチルＰＳ　　２’－Ｏ－ＭＯＥ　ＰＳ　　２’－Ｆ　ＰＳ

【０１７１】

更に、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、及び２’－Ｆオリゴマーは、例えば、以下に示される２’－Ｏ－メチルＰＳオリゴマードリサペルセンのように、オリゴマー全体にわたってＰＳサブユニット間連結を含み得る。

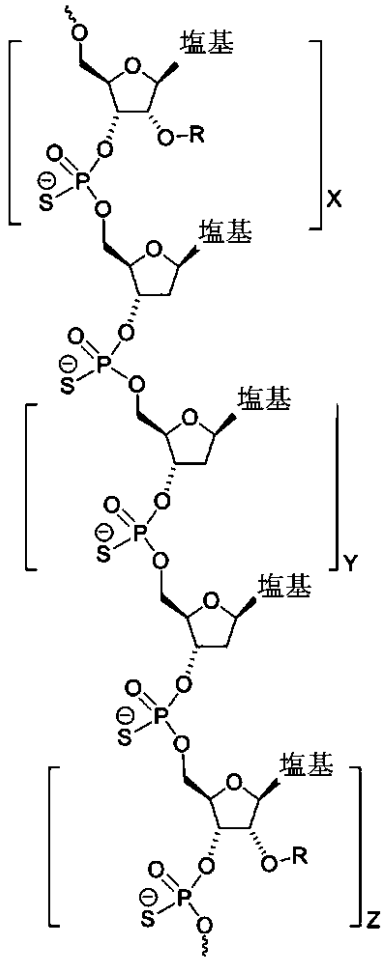
【化５６】



【０１７２】

あるいは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、及び／又は２’－Ｆオリゴマーは、以下に示されるように、オリゴマーの末端にＰＳ連結を含み得る。

【化５７】



式中、
Ｒは、ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$（メトキシエチル又はＭＯＥ）であり、
Ｘ、Ｙ、及びＺは、それぞれ、指定された５’－ウィング、中央ギャップ、及び３’－ウィングの各領域内に含有されるヌクレオチドの数を表す。

【０１７３】

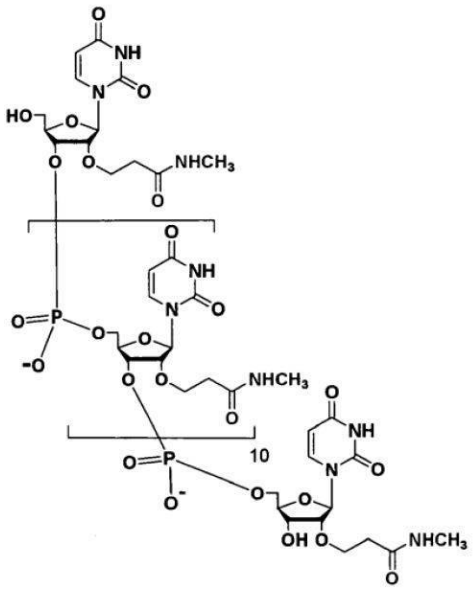
本開示のアンチセンスオリゴマーは、１つ以上の２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、及び２’－Ｆサブユニットを組み込み得、本明細書に記載されるサブユニット間連結のいずれかを利用し得る。いくつかの事例では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、又は２’－Ｆサブユニットから完全に構成され得る。本開示のアンチセンスオリゴマーの一実施形態は、２’－Ｏ－メチルサブユニットで完全に構成される。

【０１７４】

８．２’－Ｏ－［２－（Ｎ－メチルカルバモイル）エチル］オリゴマー（ＭＣＥ）

ＭＣＥは、本開示のアンチセンスオリゴマーで有用な２’－Ｏ修飾リボヌクレオシドの別の例である。ここで、２’－ＯＨは、ヌクレアーゼ耐性を高めるために２－（Ｎ－メチルカルバモイル）エチル部分へと誘導体化される。ＭＣＥオリゴマーの非限定的な例が以下に示される。

【化５８】



【０１７５】

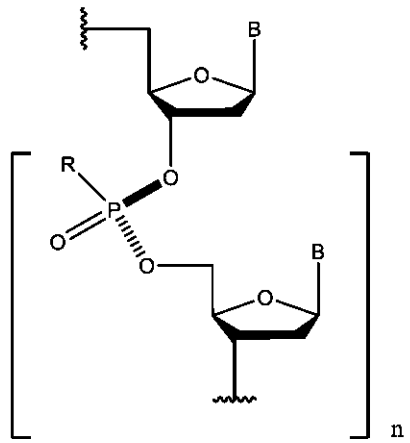
ＭＣＥ及びその合成は、Ｙａｍａｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．（２０１１）７６（９）：３０４２－５３に記載され、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本開示のアンチセンスオリゴマーは、１つ以上のＭＣＥサブユニットを組み込み得る。

【０１７６】

９．立体特異的オリゴマー

立体特異的オリゴマーは、各リン含有連結の立体化学が、実質的に立体的に純粋なオリゴマーが産生されるような合成方法によって固定されるものである。立体特異的オリゴマーの非限定的な例が以下に示される。

【化５９】



【０１７７】

上記の例において、オリゴマーの各リンは、同一の立体配置を有する。追加の例としては、本明細書に記載されるオリゴマーが挙げられる。例えば、ＬＮＡ、ＥＮＡ、トリシクロ－ＤＮＡ、ＭＣＥ、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、２’－Ｆ、及びモルホリノ系オリゴマーは、立体特異的リン含有ヌクレオシド間連結、例えば、ホスホロチオエート、ホスホジエステル、ホスホラミデート、ホスホロジアミデート、又は他のリン含有ヌクレオシド間連結などを用いて調製することができる。そのようなオリゴマーの調製で使用するための立体特異的オリゴマー、調製方法、キラル制御合成、キラル設計、及びキラル補

助剤は、例えば、ＷＯ２０１７／１９２６６４、ＷＯ２０１７／１９２６７９、ＷＯ２０１７／０６２８６２、ＷＯ２０１７／０１５５７５、ＷＯ２０１７／０１５５５５、ＷＯ２０１５／１０７４２５、ＷＯ２０１５／１０８０４８、ＷＯ２０１５／１０８０４６、ＷＯ２０１５／１０８０４７、ＷＯ２０１２／０３９４４８、ＷＯ２０１０／０６４１４６、ＷＯ２０１１／０３４０７２、ＷＯ２０１４／０１０２５０、ＷＯ２０１４／０１２０８１、ＷＯ２０１３／０１２７８５８、及びＷＯ２０１１／００５７６１に詳述されており、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１７８】

立体特異的オリゴマーは、Ｒｐ配置又はＳｐ配置においてリン含有ヌクレオシド間連結を有し得る。連結の立体配置が制御されるキラルリン含有連結は、「立体純粋」と称され、連結の立体配置が制御されないキラルリン含有連結は、「立体不規則的」と称される。ある特定の実施形態では、本開示のオリゴマーは、複数の立体純粋及び立体不規則的連結を含み、これにより得られるオリゴマーは、オリゴマーの予め指定された位置に立体純粋サブユニットを有する。立体純粋サブユニットの位置の例は、図７Ａ及び図７Ｂの国際特許出願公開第２０１７／０６２８６２（Ａ２）号に提供される。一実施形態では、オリゴマー中の全てのキラルリン含有連結は、立体不規則的である。一実施形態では、オリゴマー中の全てのキラルリン含有連結は、立体純粋である。

【０１７９】

ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個全てのキラルリン含有連結は、立体不規則的である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個全てのキラルリン含有連結は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも１０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも２０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも３０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも４０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも５０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも６０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも７０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも８０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマー中のｎ個のリン含有連結のうちの少なくとも９０％（整数に四捨五入）は、立体純粋である。

【０１８０】

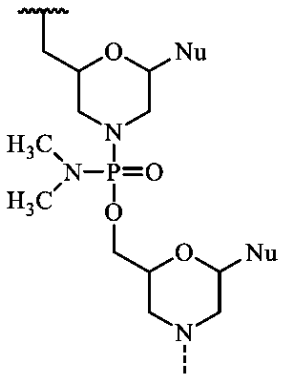
ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、Ｓｐ又はＲｐのいずれか）の少なくとも２個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、Ｓｐ又はＲｐのいずれか）の少なくとも３個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマ

ーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも４個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも５個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも６個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも７個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも８個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも９個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１０個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１１個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１２個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１３個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１４個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１５個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１６個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１７個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１８個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも１９個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも２０個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。

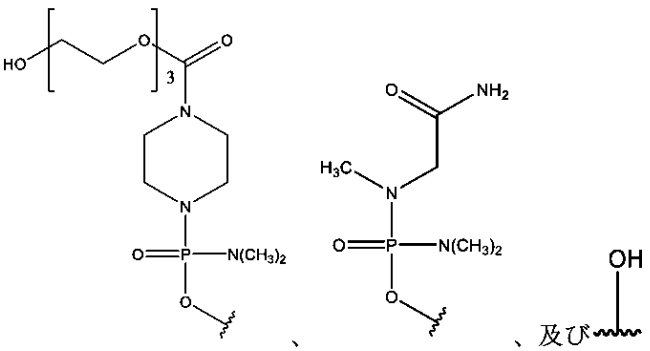
【０１８１】

ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、同じ立体配向（すなわち、ＳＰ又はＲＰのいずれか）の少なくとも２個の連続的な立体純粋リン含有連結と、他の立体配向の少なくとも２個の連続的な立体純粋リン含有連結とを含有する。例えば、オリゴマーは、ＳＰ配向の少なくとも２個の連続的な立体純粋リン含有連結のと、ＲＰ配向の少なくとも２個の連続的な立体純粋リン

含有連結とを含有し得る。
【０１８２】
ｎ個（ｎは１以上の整数である）のキラルリン含有連結を有するオリゴマーの一実施形態では、オリゴマーは、交互のパターンで同じ立体配向の少なくとも２個の連続的な立体純粋リン含有連結を含有する。例えば、オリゴマーは、順番に、以下：２個以上のＲ$_P$、２個以上のＳ$_P$、及び２個以上のＲ$_P$等を含有し得る。
【０１８３】
１０．モルホリノオリゴマー
本開示の例示的な実施形態は、以下の一般構造：
【化６０】



の、かつＳｕｍｍｅｒｔｏｎ，Ｊ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ＆ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，７： １８７－１９５（１９９７）の図２に記載されるような、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴヌクレオチドに関する。本明細書に記載されるモルホリノは、上記の一般構造の全ての立体異性体及び互変異性体を含むことが意図されている。モルホリノオリゴマーの合成、構造、及び結合特性は、米国特許第５，６９８，６８５号、同第５，２１７，８６６号、同第５，１４２，０４７号、同第５，０３４，５０６号、同第５，１６６，３１５号、同第５，５２１，０６３号、同第５，５０６，３３７号、同第８，０７６，４７６号、及び同第８，２９９，２０６号に詳述されており、これらの全ては、参照により本明細書に組み込まれる。
【０１８４】
ある特定の実施形態では、モルホリノは、オリゴマーの５’又は３’末端で「テール」部分とコンジュゲートされて、その安定性及び／又は溶解性を高める。例示的なテールとしては、以下が挙げられる：
【化６１】



を含む。
【０１８５】
様々な態様では、本開示は、式（ＩＶ）に従うアンチセンスオリゴマー、又はその薬学的に許容される塩を提供する。

【０１８６】
一実施形態では、ヒト酸性アルファグルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列であり、少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットである。別の実施形態では、標的領域は、配列番号２（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７））及び配列番号３（ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－２４））からなる群から選択される配列を含む。更なる実施形態では、標的領域は、配列番号２に記載される配列を含む。別の実施形態では、標的領域は、配列番号３に記載される配列を含む。
【０１８７】
一実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－５６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７６－５２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７４－５５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－４９－２４）から選択される。更なる実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６７）である。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）である。一実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）である。別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）である。更に別の実施形態では、標的化領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）である。
【０１８８】
一実施形態では、標的化配列は、配列ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ（配列番号４）を含み、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は非塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。別の実施形態では、標的化配列は、
ｉ）配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉ）配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｉｉ）配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｉｖ）配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、
ｖ）配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）、及び
ｖｉ）配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる群から選択される配列を含む。
【０１８９】
一実施形態では、Ｂは、Ｈである。
【０１９０】
一実施形態では、標的化配列は、配列番号　５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）を含む。
【０１９１】
一実施形態では、標的化配列は、配列ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ（配列番号４）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号５（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　６（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣ

Ｇ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号７（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　８（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　９（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１０（ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ）からなる。

【０１９２】

一実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－８０－５６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７６－５２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７４－５５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－４９－２４）からなる群から選択される。別の実施形態では、標的領域は、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２－４８）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１－４７）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０－４６）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）、ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６－４２）、及びＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）からなる群から選択される。

【０１９３】

一実施形態では、標的化領域は、

ｉ）配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）、

ｉｉ）配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）、

ｉｉｉ）配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）、

ｉｖ）配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖ）配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）、

ｖｉ）配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる群から選択される配列を含み、

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は非塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。一実施形態では、標的化配列は、

ｉ）配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｉｉ）配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｉｉｉ）配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｉｖ）配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖ）配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖｉ）配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、

ｖｉｉ）配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）、及び

ｖｉｉｉ）配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる群から選択される。

【０１９４】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０１９５】

一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）を含む。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）を含む。

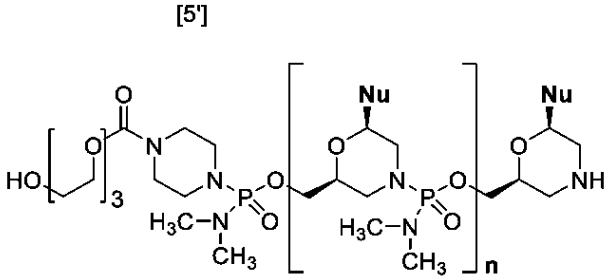
【０１９６】

一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１１（ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１２（ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１３（ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１４（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１５（ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１６（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１７（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　１８（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　１９（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２０（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２１（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。更に別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２２（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。一実施形態では、標的化配列は、配列番号　２３（ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ）からなる。別の実施形態では、標的化配列は、配列番号　２４（ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ）からなる。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（ＩＩ）に従うか、

【化６２】



（ＩＩ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、

【表１５】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＸＸ ＸＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ ＣＴＣ Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ ＧＣＡ ＧＣＴ Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ ＴＣＡ ＣＸＸ ＸＸＣ ＴＣＴ ＣＡＡ ＡＧＣ ＡＧＣ Ｔ	１３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	１６

【０１９８】

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【０１９９】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２００】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表１６－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	９

【表１６－２】

（－１７７，－１７８脱塩基性）		
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ　Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ　Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	２４．

【０２０１】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２０２】

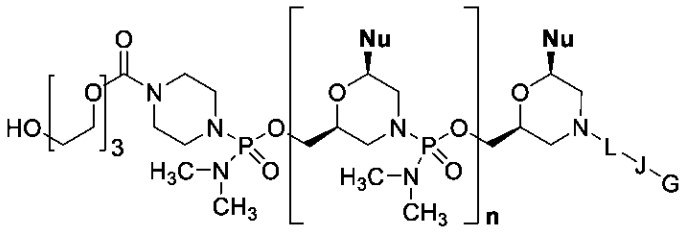
いくつかの実施形態では、式（ＩＩ）のアンチセンスオリゴマーは、遊離塩基形態である。いくつかの実施形態では、式（ＩＩ）のアンチセンスオリゴマーは、その薬学的に許容される塩形態である。いくつかの実施形態では、式（ＩＩ）のアンチセンスオリゴマーは、そのＨＣｌ（塩酸）塩である。ある特定の実施形態では、ＨＣｌ塩は、１　ＨＣｌ、２　ＨＣｌ、３　ＨＣｌ、４　ＨＣｌ、５　ＨＣｌ、又は６　ＨＣｌ塩である。ある特定の実施形態では、ＨＣｌ塩は、６　ＨＣｌ塩である。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（ＩＩＩａ）に従うか、

【化６３】

[5']　　[3']



（ＩＩＩａ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、

【表１７】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ	１３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	１６

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【０２０４】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２０５】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表１８－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	６

【表１８－２】

ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＧＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＧＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ　Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ　Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）（Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＧＢＢ ＧＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	２４．

【０２０６】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

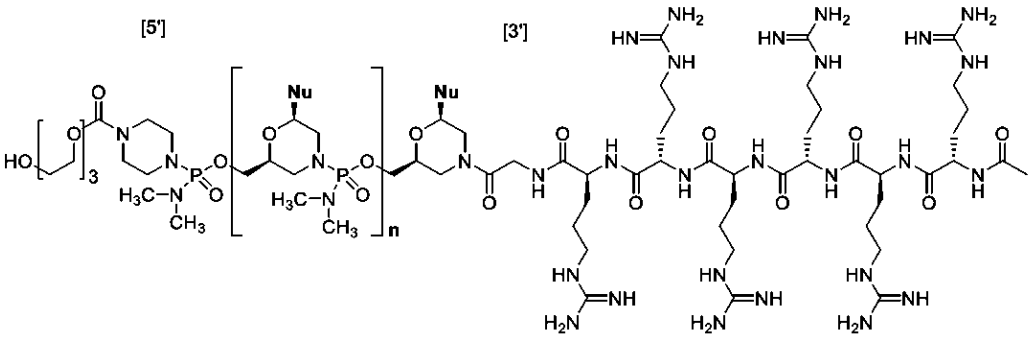
【０２０７】

いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩａ）のアンチセンスオリゴマーは、遊離塩基形態である。いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩａ）のアンチセンスオリゴマーは、その薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩａ）のアンチセンスオリゴマーは、そのＨＣｌ（塩酸）塩である。ある特定の実施形態では、ＨＣｌ塩は、５ＨＣｌ塩である。ある特定の実施形態では、ＨＣｌ塩は、６　ＨＣｌ塩である。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（ＩＩＩ）に従うか、

【化６４】



（ＩＩＩ）

又はその薬学的に許容される塩であり、式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、

【表１９】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＸＸ　ＸＣＧ　ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＸＸ　ＸＸＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ	１３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ　ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＸ　ＸＸＸ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＸＸＸ　ＸＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	１６

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【０２０９】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２１０】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表２０】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＧＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＧＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＢＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５５Ｂ Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＧＢＢ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	２３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５－４１）（Ｇ５４Ｂ Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＧＢＢ ＧＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	２４．

【０２１１】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

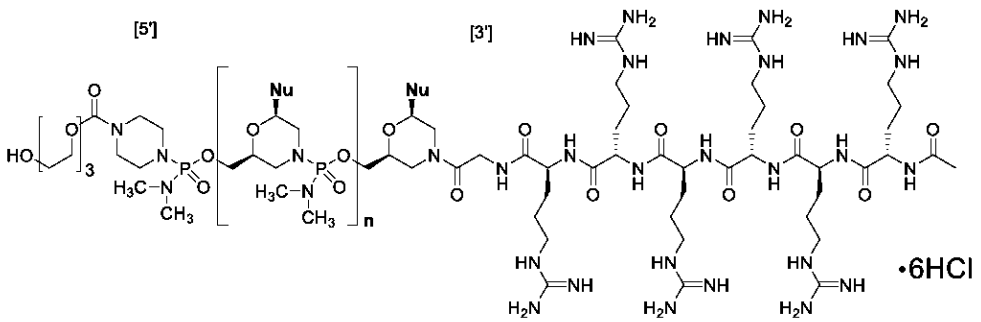
【０２１２】

いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）のアンチセンスオリゴマーは、遊離塩基形態である。いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）のアンチセンスオリゴマーは、その薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）のアンチセンスオリゴマーは、そのＨＣｌ（塩酸）塩である。ある特定の実施形態では、ＨＣｌ塩は、５　ＨＣｌ塩である。ある特定の実施形態では、ＨＣｌ塩は、６　ＨＣｌ塩である。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、式（Ｖ）に従うか、

【化６５】



（Ｖ）

式中、１～ｎ個の各Ｎｕは、５’から３’に、以下のうちの１つにおける核酸塩基に対応し、

【表２１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＸＸ ＸＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７２，－４８）	ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ ＣＴＣ Ｔ	１１
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７１，－４７）	ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ ＧＣＡ ＧＣＴ Ｃ	１２
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－７０，－４６）	ＣＡＣ ＴＣＡ ＣＸＸ ＸＸＣ ＴＣＴ ＣＡＡ ＡＧＣ ＡＧＣ Ｔ	１３
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１４
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６５，－４１）	ＧＣＧ ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＸ ＸＸＸ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ Ｃ	１５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６６，－４２）	ＧＧＣ ＧＧＣ ＡＣＴ ＣＡＣ ＸＸＸ ＸＣＴ ＣＴＣ ＡＡＡ Ｇ	１６

各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。Ｘが脱塩基性（Ｂ）である場合、水素が、核酸塩基Ａ、Ｃ、Ｔ、又はＧの代わりに存在する。

【０２１４】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２１５】

式（Ｖ）のいくつかの態様では、Ｘの１つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は各々、Ｇである。ある特定の態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、１つの事例は、Ｇである。式（Ｖ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１の事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の２つの事例は、Ｇである。式（Ｖ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第３の事例は、Ｇである。（Ｖ）の式のある特定の態様では、５’から３’へのＸの第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第２の事例は、Ｇである。

【０２１６】

式（Ｖ）のいくつかの態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は、Ｇである。式（Ｖ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第３の事例は、Ｇである。（Ｖ）の式のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第２の事例は、Ｇである

。（Ｖ）の式のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１の事例は、Ｇである。

【０２１７】

一実施形態では、標的化領域は、以下の配列のうちのいずれか１つを含むか、又はそれからなる。

【表２２－１】

名称	標的化配列［５’から３’］	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	５
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＢ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	８
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＢ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	９
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）（－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＢＧ ＢＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣ	１０
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＢ ＧＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１７
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－６９－４５）（Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ ＣＴＣ ＡＣＧ ＢＧＧ ＣＴＣ ＴＣＡ ＡＡＧ ＣＡＧ Ｃ	１８

【表２２－２】

GAA－IVS1（－６９－４５）（G５５B）	GCA CTC ACG GBG CTC TCA AAG CAG C	１９
GAA－IVS1（－６９－４５）（G５６B）	GCA CTC ACG GGB CTC TCA AAG CAG C	２０
GAA－IVS1（－６９－４５）（G５３B G５４B）	GCA CTC ACB BGG CTC TCA AAG CAG C	２１
GAA－IVS1（－６９－４５）（G５４B G５５B）	GCA CTC ACG BBG CTC TCA AAG CAG C	２２
GAA－IVS1（－６９－４５）（G５５B G５６B）	GCA CTC ACG GBB CTC TCA AAG CAG C	２３
GAA－IVS1（－６５－４１）（G５４B G５５B）	GGC GGC ACT CAC GBB GCT CTC AAA G	２４.

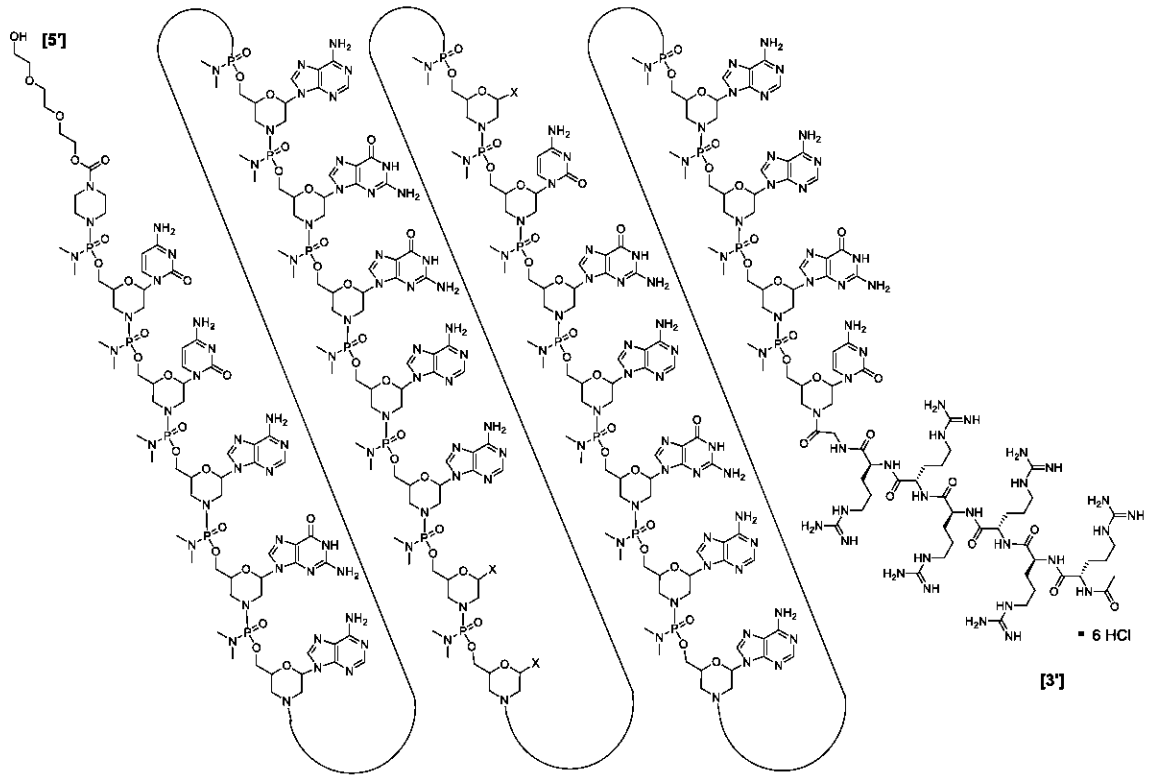
【０２１８】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２１９】

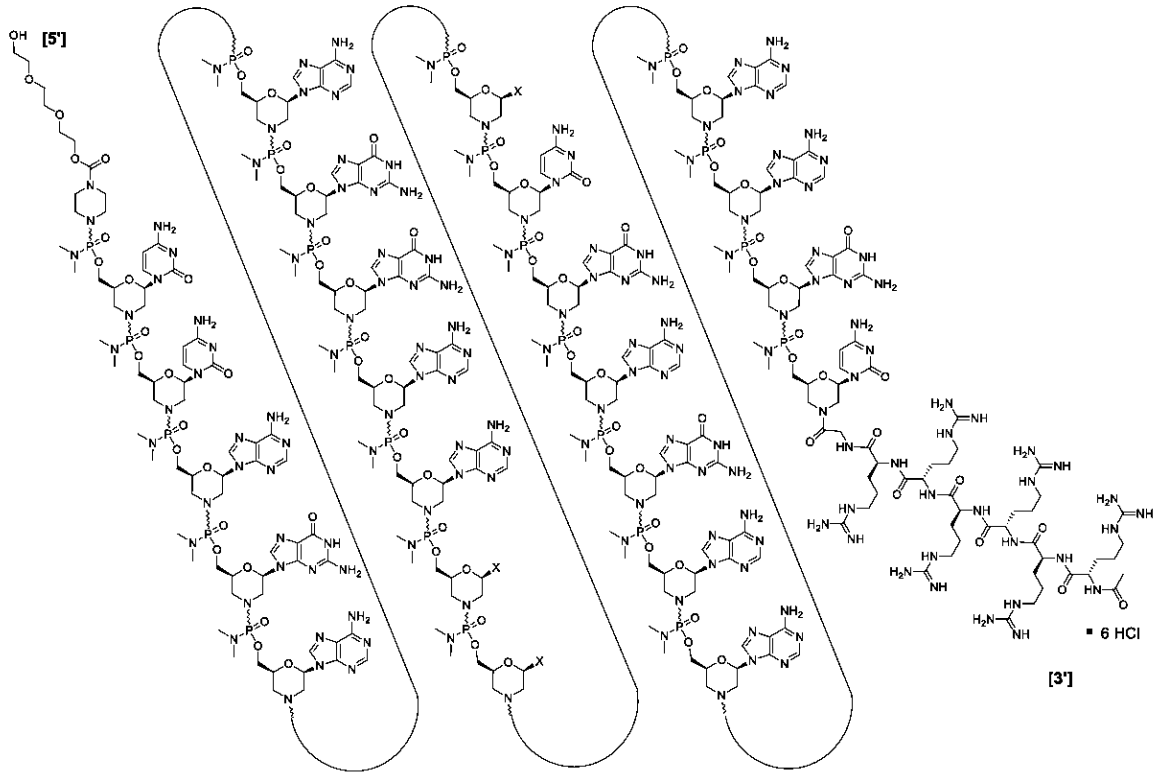
例えば、式（Ｖ）のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式（Ｖａ）に従い、

【化６６】



式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であ

り、少なくとも１つのＸは、Ｂである。
【０２２０】
一実施形態では、Ｂは、Ｈである。
【０２２１】
式（Ｖａ）のいくつかの態様では、Ｘの１つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は各々、Ｇである。式（Ｖａ）のある特定の態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、１つの事例は、Ｇである。式（Ｖａ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１の事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の２つの事例は、Ｇである。式（Ｖａ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第３の事例は、Ｇである。式（Ｖａ）のある特定の態様では、５’から３’へのＸの第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第２の事例は、Ｇである。
【０２２２】
式（Ｖａ）のいくつかの態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は、Ｇである。式（Ｖａ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第３の事例は、Ｇである。式（Ｖａ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第２の事例は、Ｇである。式（Ｖａ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１の事例は、Ｇである。
【０２２３】
例えば、式（Ｖ）のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式（Ｖｂ）に従い、
【化６７】



式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。
【０２２４】
一実施形態では、Ｂは、Ｈである。
【０２２５】
式（Ｖｂ）のいくつかの態様では、Ｘの１つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例

は各々、Ｇである。ある特定の態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、１つの事例は、Ｇである。式（Ｖｂ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１の事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の２つの事例は、Ｇである。式（Ｖｂ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第３の事例は、Ｇである。（Ｖｂ）の式のある特定の態様では、５’から３’へのＸの第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第２の事例は、Ｇである。

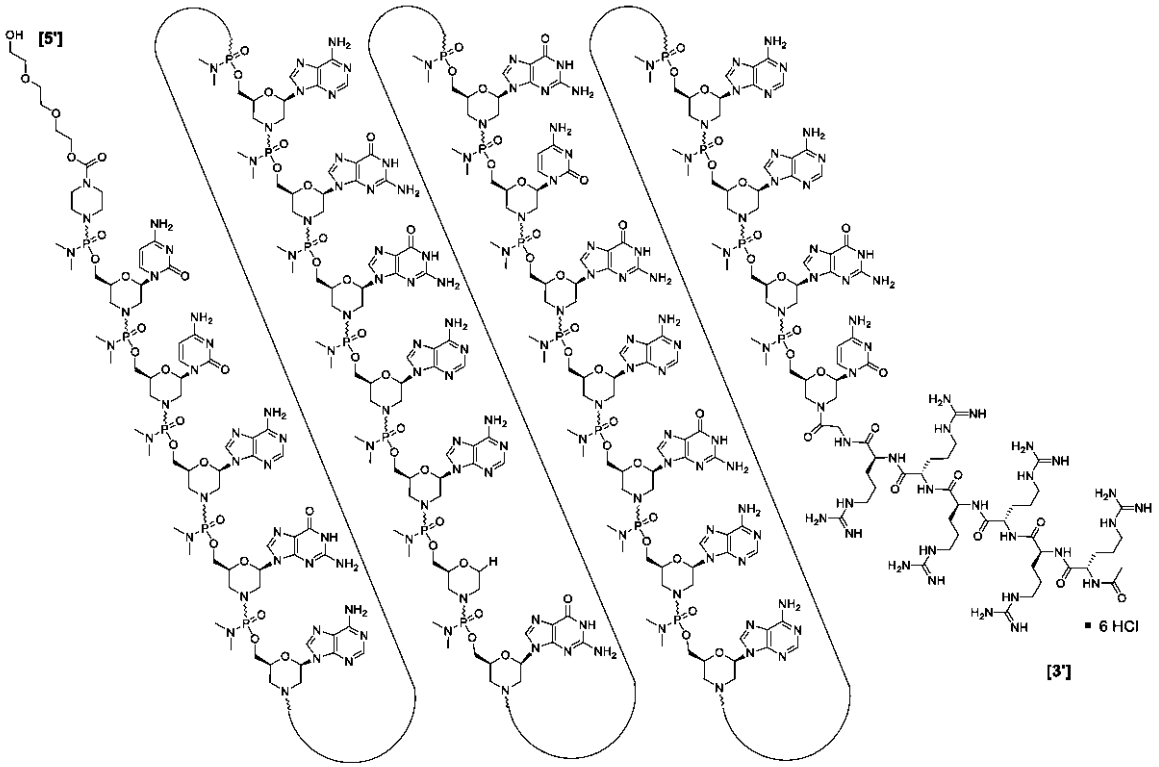
【０２２６】

式（Ｖｂ）のいくつかの態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は、Ｇである。式（Ｖｂ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第３の事例は、Ｇである。（Ｖｂ）の式のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第２の事例は、Ｇである。（Ｖｂ）の式のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１の事例は、Ｇである。

【０２２７】

例えば、式（Ｖ）のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式（ＶＩＩ）に従う。

【化６８】

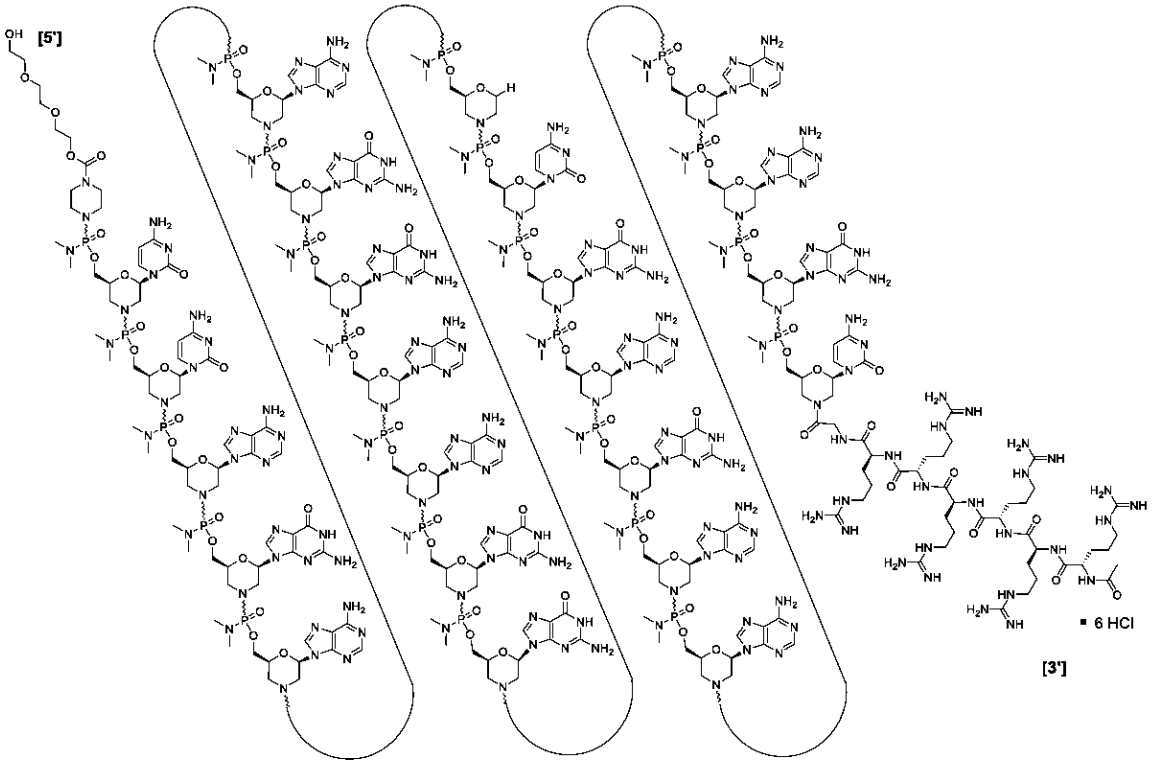


（ＶＩＩ）

【０２２８】

例えば、式（Ｖ）のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式（ＶＩＩＩ）に従う。

【化６９】

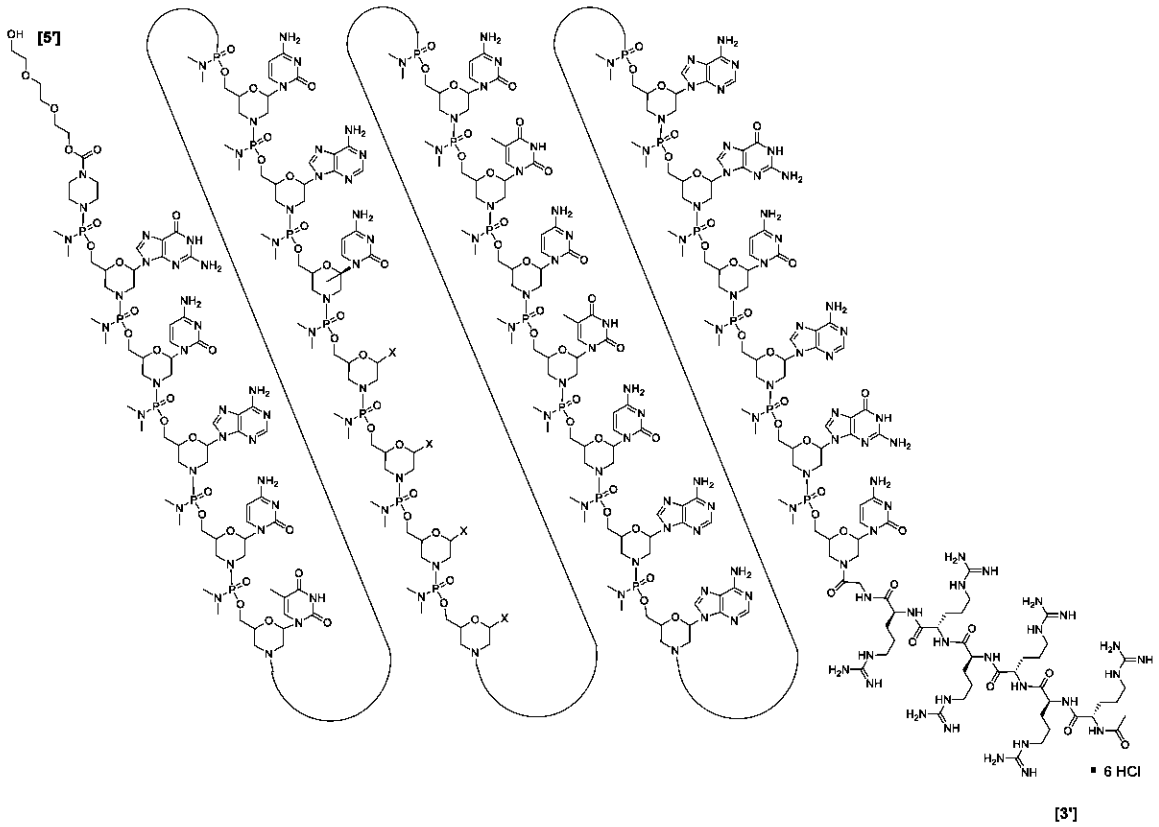


（ＶＩＩＩ）

【０２２９】

例えば、式（Ｖ）のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式（Ｖｃ）に従い、

【化７０】



式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。

【０２３０】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２３１】

式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、Ｘの１つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は各々、Ｇである。式（Ｖｃ）のある特定の態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、１つの事例は、Ｇである。式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１の事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の２つの事例は、Ｇである。式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第３の事例は、Ｇである。式（Ｖｃ）のある特定の態様では、５’から３’へのＸの第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第２の事例は、Ｇである。

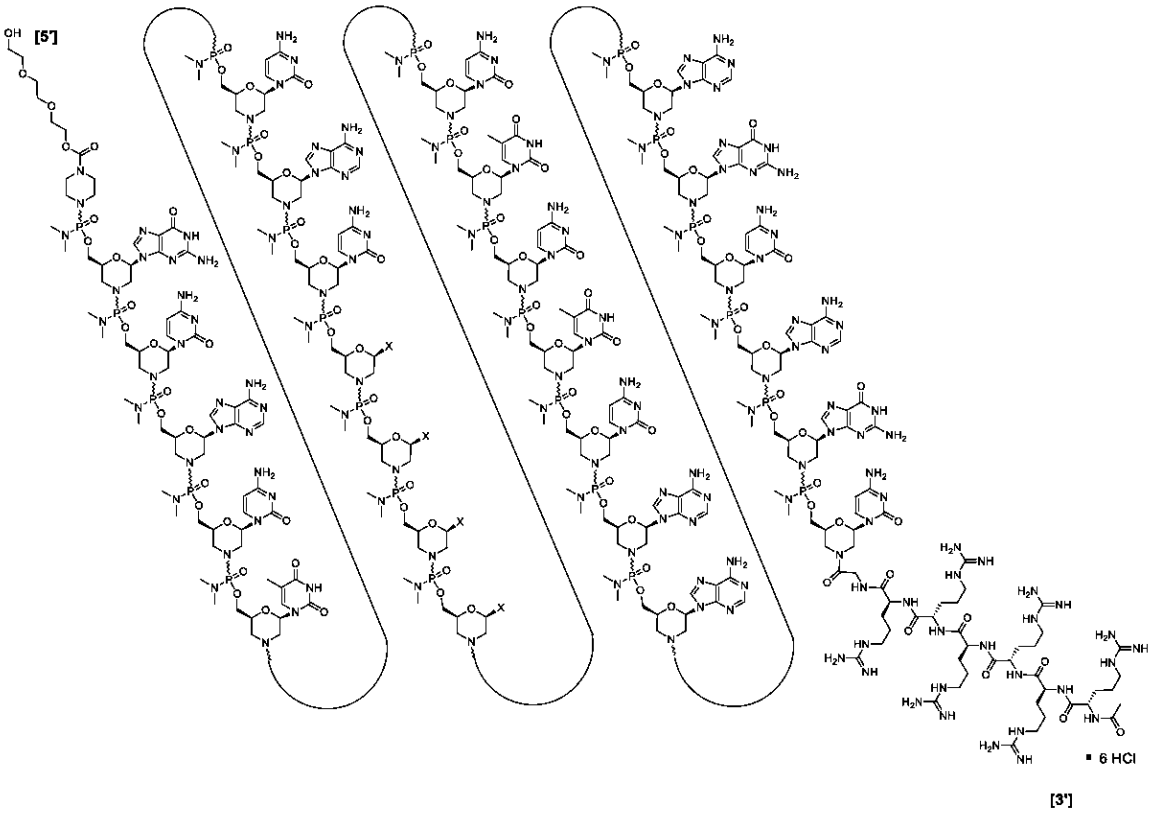
【０２３２】

式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は、Ｇである。式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第３の事例は、Ｇである。式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第２の事例は、Ｇである。式（Ｖｃ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１の事例は、Ｇである。

【０２３３】

例えば、式（Ｖ）のいくつかの実施形態を含む、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、式（Ｖｄ）に従い、

【化７１】



式中、各Ｘは、独立して、グアニン（Ｇ）から選択されるか、又は脱塩基性（Ｂ）であり、少なくとも１つのＸは、Ｂである。

【０２３４】

一実施形態では、Ｂは、Ｈである。

【０２３５】

式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、Ｘの１つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は各々、Ｇである。式（Ｖｄ）のある特定の態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、１つの事例は、Ｇである。式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１の事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の２つの事例は、Ｇである。式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第３の事例は、Ｇである。式（Ｖｄ）のある特定の態様では、５’から３’へのＸの第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１及び第２の事例は、Ｇである。

【０２３６】

式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、Ｘの２つの事例は、脱塩基性であり、Ｘの他の事例は、Ｇである。式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第２の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第３の事例は、Ｇである。式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第１及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第２の事例は、Ｇである。式（Ｖｄ）のいくつかの態様では、５’から３’へのＸの第２及び第３の事例は、脱塩基性であり、Ｘの第１の事例は、Ｇである。

【０２３７】

ＩＶ．標的配列及び標的領域

アンチセンス用途のためのいくつかの実施形態では、オリゴマーは、核酸標的配列に対して１００％相補的であり得るか（少なくとも１つの脱塩基サブユニットを除く）、又はオリゴマーと核酸標的配列との間に形成されるヘテロ二本鎖が、細胞ヌクレアーゼの作用及びインビボで生じ得る他の分解様式に耐えるのに十分に安定である限り、例えば、バリアントに対応するためのミスマッチを含み得る。存在する場合、ミスマッチは、中央より

もハイブリッド二本鎖の末端領域に向かって不安定化が少ない。許容されるミスマッチの数は、オリゴマーの長さ、二本鎖中のＧ：Ｃ塩基対の割合、及び二本鎖安定性のよく理解された原理に従った二本鎖中のミスマッチの位置に依存する。そのようなアンチセンスオリゴマーは、必ずしも核酸標的配列に対して１００％相補的ではないが、核酸標的の生物学的活性、例えば、コードされたタンパク質の発現が調節されるように、標的配列に安定的かつ特異的に結合することが有効である。

【０２３８】

オリゴマーと標的配列との間に形成された二本鎖の安定性は、結合T_mの関数であり、細胞の酵素的切断に対する二本鎖の感受性を示す。相補的配列ＲＮＡに関するアンチセンス化合物のT_mは、Ｈａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，１９８５，ｐｐ．１０７－１０８に記載されるもの、又はＭｉｙａｄａ ＣＧ．ａｎｄ Ｗａｌｌａｃｅ ＲＢ（１９８７）Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．Ｖｏｌ．１５４ ｐｐ．９４－１０７に記載されるものなどの従来的方法によって測定され得る。

【０２３９】

いくつかの実施形態では、各アンチセンスオリゴマーは、相補的配列ＲＮＡに関して、体温よりも高いか、又は他の実施形態では５０℃超の結合T_mを有する。他の実施形態では、T_mは、６０～８０℃以上の範囲内である。周知の原理に従って、相補的ベースのＲＮＡハイブリッドに関するオリゴマー化合物のT_mは、二本鎖中のＣ：Ｇ対塩基の比を増加させることによって、及び／又はヘテロ二本鎖の長さ（塩基対における）を増加させることによって増加し得る。同時に、細胞取り込みを最適化する目的で、オリゴマーのサイズを制限することが有利であり得る。この理由から、２０個以下の塩基の長さで高いT_m（５０℃以上）を示す化合物は、高いT_m値に対して２０個超の塩基を必要とする化合物よりも概して好ましい。一部の用途では、より長いオリゴマー、例えば、２０個の塩基よりも長いオリゴマーは、ある特定の利点を有し得る。

【０２４０】

標的化配列塩基は、正常なＤＮＡ塩基又はその類似体、例えば、標的－配列ＲＮＡ塩基へのワトソン・クリック塩基対形成が可能であるウラシル及びイノシンであり得る。

【０２４１】

アンチセンスオリゴマーは、ｍＲＮＡの翻訳を遮断若しくは阻害若しくは調節するように、又はプレｍＲＮＡスプライスプロセシングを阻害若しくは調節するように、又は標的化ｍＲＮＡの分解を誘導するように設計され得、これがハイブリダイズする標的配列「に向けられる」又は「に標的化される」と言うことができる。ある特定の実施形態では、標的配列は、プレプロセシングされたｍＲＮＡの３’又は５’スプライス部位、分岐点、又はスプライシングの制御に関与する他の配列を含む領域を含む。標的配列は、エクソン内にあり得るか、又はイントロン内にあり得るか、又はイントロン／エクソン接合部に及び得る。

【０２４２】

標的ＲＮＡのスプライシングを調節するのに、標的ＲＮＡ配列に対して十分な配列相補性を有するアンチセンスオリゴマーは、アンチセンス剤が、そうでなければ標的化ＲＮＡのスプライシングを調節する、及び／又は三次元構造を変化させる天然タンパク質の結合部位のマスキングを誘発するのに十分な配列を有することを意味する。同様に、標的ＲＮＡのスプライシングを調節するのに、標的ＲＮＡ配列に対して十分相補的な配列を有するオリゴマー試薬は、オリゴマー試薬が、そうでなければ標的化ＲＮＡのスプライシングを調節する、及び／又は三次元構造を変化させる天然タンパク質の結合部位のマスキングを誘発するのに十分な配列を有することを意味する。

【０２４３】

ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、ヒトＧＡＡプレｍＲＮＡのイントロン１の配列に対して十分な長さ及び相補性を有する。ヒトのＧＡＡ遺伝子のイントロ

ン１（配列番号１）配列を以下の表２に示す（配列番号１の３’末端付近の強調表示されたＴ／Ｇは、上述のＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ変異であり、この位置のヌクレオチドは、Ｔ又はＧのいずれかである）。

【表２－１】

表２
ＧＡＡ標的化オリゴマーの標的領域

名称	配列（５’－３’）	配列番号
ＧＡＡ－ＩＶＳ１	ＧＴＧＡＧＡＣＡＣＣＴＧＡＣＧＴＣＴＧＣＣＣＣＧＣＧＣＴＧＣＣＧＧ ＣＧＧＴＡＡＣＡＴＣＣＣＡＧＡＡＧＣＧＧＧＴＴＴＧＡＡＣＧＴＧＣＣ ＴＡＧＣＣＧＴＧＣＣＣＣＣＡＧＣＣＴＣＴＴＣＣＣＣＴＧＡＧＣＧＧＡ ＧＣＴＴＧＡＧＣＣＣＣＡＧＡＣＣＴＣＴＡＧＴＣＣＴＣＣＣＧＧＴＣＴ ＴＴＡＴＣＴＧＡＧＴＴＣＡＧＣＴＴＡＧＡＧＡＴＧＡＡＣＧＧＧＧＡＧ ＣＣＧＣＣＣＴＣＣＴＧＴＧＣＴＧＧＧＣＴＴＧＧＧＧＣＴＧＧＡＧＧＣ ＴＧＣＡＴＣＴＴＣＣＣＧＴＴＴＣＴＡＧＧＧＴＴＴＣＣＴＴＴＣＣＣＣ ＴＴＴＴＧＡＴＣＧＡＣＧＣＡＧＴＧＣＴＣＡＧＴＣＣＴＧＧＣＣＧＧＧ ＡＣＣＣＧＡＧＣＣＡＣＣＴＣＴＣＣＴＧＣＴＣＣＴＧＣＡＧＧＡＣＧＣ ＡＣＡＴＧＧＣＴＧＧＧＴＣＴＧＡＡＴＣＣＣＴＧＧＧＧＴＧＡＧＧＡＧ ＣＡＣＣＧＴＧＧＣＣＴＧＡＧＡＧＧＧＧＧＣＣＣＣＴＧＧＧＣＣＡＧＣ ＴＣＴＧＡＡＡＴＣＴＧＡＡＴＧＴＣＴＣＡＡＴＣＡＣＡＡＡＧＡＣＣＣ ＣＣＴＴＡＧＧＣＣＡＧＧＣＣＡＧＧＧＧＴＧＡＣＴＧＴＣＴＣＴＧＧＴ ＣＴＴＴＧＴＣＣＣＴＧＧＴＴＧＣＴＧＧＣＡＣＡＴＡＧＣＡＣＣＣＧＡ ＡＡＣＣＣＴＴＧＧＡＡＡＣＣＧＡＧＴＧＡＴＧＡＧＡＧＡＧＣＣＴＴＴ ＴＧＣＴＣＡＴＧＡＧＧＴＧＡＣＴＧＡＴＧＡＣＣＧＧＧＧＡＣＡＣＣＡ ＧＧＴＧＧＣＴＴＣＡＧＧＡＴＧＧＡＡＧＣＡＧＡＴＧＧＣＣＡＧＡＡＡ ＧＡＣＣＡＡＧＧＣＣＴＧＡＴＧＡＣＧＧＧＴＴＧＧＧＡＴＧＧＡＡＡＡ	１

【表２－２】

	GGGGTGAGGGGCTGGAGATTGAGTGAATCACCA GTGGCTTAGTCAACCATGCCTGCACAATGGAAC CCCGTAAGAAACCACAGGGATCAGAGGGCTTCC CGCCGGGTTGTGGAACACACCAAGGCACTGGAG GGTGGTGCGAGCAGAGAGCACAGCATCACTGCC CCCACCTCACACCAGGCCCTACGCATCTCTTCC ATACGGCTGTCTGAGTTTTATCCTTTGTAATAA ACCAGCAACTGTAAGAAACGCACTTTCCTGAGT TCTGTGACCCTGAAGAGGGAGTCCTGGGAACCT CTGAATTTATAACTAGTTGATCGAAAGTACAAG TGACAACCTGGGATTTGCCATTGGCCTCTGAAG TGAAGGCAGTGTTGTGGGACTGAGCCCTTAACC TGTGGAGTCTGTGCTGACTCCAGGTAGTGTCAA GATTGAATTGAATTGTAGGACACCCAGCCGTGT CCAGAAAGTTGCAGAATTGATGGGTGTGAGAAA AACCCTACACATTTAATGTCAGAAGTGTGGGTA AAATGTTTCACCCTCCAGCCCAGAGAGCCCTAA TTTACCAGTGGCCCACGGTGGAACACCACGTCC GGCCGGGGGGCAGAGCGTTCCCAGCCAAGCCTTC TGTAACATGACATGACAGGTCAGACTCCCTCGG GCCCTGAGTTCACTTCTTCCTGGTATGTGACCA GCTCCCAGTACCAGAGAAGGTTGCACAGTCCTC TGCTCCAAGGAGCTTCACTGGCCAGGGGCTGCT TTCTGAAATCCTTGCCTGCCTCTGCTCCAAGGC CCGTTCCTCAGAGACGCAGACCCCTCTGATGGC TGACTTTGGTTTGAGGACCTCTCTGCATCCCTC CCCCATGGCCTTGCTCCTAGGACACCTTCTTCC TCCTTTCCCTGGGGTCAGACTTGCCTAGGTGCG GTGGCTCTCCCAGCCTTCCCCACGCCCTCCCCA TGGTGTATTACACACACCAAAGGGACTCCCCTA TTGAAATCCATGCATATTGAATCGCATGTGGGT TCCGGCTGCTCCTGGGAGGAGCCAGGCTAATAG AATGTTTGCCATAAAATATTAATGTACAGAGAA GCGAAACAAAGGTCGTTGGTACTTGTTAACCTT ACCAGCAGAATAATGAAAGCGAACCCCCATATC TCATCTGCACGCGACATCCTTGTTGTGTCTGTA CCCGAGGCTCCAGGTGCAGCCACTGTTACAGAG ACTGTGTTTCTTCCCCATGTACCTCGGGGGCCG GGAGGGGTTCTGATCTGCAAAGTCGCCAGAGGT TAAGTCCTTTCTCTCTTGTGGCTTTGCCACCCC TGGAGTGTCACCCTCAGCTGCGGTGCCCAGGAT TCCCCACTGTGGTATGTCCGTGCACCAGTCAAT AGGAAAGGGAGCAAGGAAAGGTACTGGGTCCCC CTAAGGACATACGAGTTGCCAGAATCACTTCCG CTGACACCCAGTGGACCAAGCCGCACCTTTATG CAGAAGTGGGGCTCCCAGCCAGGCGTGGTCACT CCTGAAATCCCAGCACTTCGGAAGGCCAAGGGG GGTGGATCACTTGAGCTCAGGAGTTCGAGACCA GCCTGGGTAACATGGCAAAATCCCGTCTCTACA AAAATACAGAAAATTAGCTGGGTGCGGTGGTGT GTGCCTACAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAA GTGGGAGGATTGCTTGAGTCTGGGAGGTGGAGG TTGCAGTGAGCCAGGATCTCACCACAGCACTCT	

【表２－３】

	GGCCCAGGCGACAGCTGTTTGGCCTGTTTCAAG TGTCTACCTGCCTTGCTGGTCTTCCTGGGGACA TTCTAAGCGTGTTTGATTTGTAACATTTTAGCA GACTGTGCAAGTGCTCTGCACTCCCCTGCTGGA GCTTTTCTCGCCCTTCCTTCTGGCCCTCTCCCC AGTCTAGACAGCAGGGCAACACCCACCCTGGCC ACCTTACCCCACCTGCCTGGGTGCTGCAGTGCC AGCCGCGGTTGATGTCTCAGAGCTGCTTTGAGA GCCCCGTGAGTGCCGCCCCTCCCGCCTCCCTGC TGAGCCCGCTTT／GCTTCTCCCGCAG	
GAA－IVS1（－189－167）	GCTTTTCTCGCCCTTCCTTCTGG	2
GAA－IVS1（－80－24）	GATGTCTCAGAGCTGCTTTGAGAGCCCCGTGAG TGCCGCCCCTCCCGCCTCCCTGC	3

【０２４４】

ある特定の実施形態では、標的配列とアンチセンス標的化配列との間の相補性の程度は、安定した二本鎖を形成するのに十分である。標的ＲＮＡ配列を含む、脱塩基ユニットを除くアンチセンスオリゴマーの相補性の領域は、８～１１個の塩基ほど短くあり得るが、１２～１５個以上の塩基、例えば、１０～４０個の塩基、１２～３０個の塩基、１２～２５個の塩基、１５～２５個の塩基、１２～２０個の塩基、又は１５～２０個の塩基であり得、これらの範囲の間の全ての整数を含む。約１４～１５個の塩基のアンチセンスオリゴマーは、概して、固有の相補的配列を有するのに十分な長さである。ある特定の実施形態では、本明細書で考察されるように、必要な結合Ｔｍを達成するために、相補的塩基の最小長さが必要とされ得る。

【０２４５】

ある特定の実施形態では、４０個の塩基ほどの長さのオリゴマーが好適であり得、少なくとも最小数の塩基、例えば、１０～１２個の塩基が、標的配列に対して相補的である。いくつかの実施形態では、細胞における促進取り込み又は能動的取り込みは、約３０個未満の塩基のオリゴマー長さで最適化される。本明細書に更に記載されるＰＭＯオリゴマーについて、結合安定性及び取り込みの最適なバランスは、概して、１８～２５個の塩基の長さで生じる。約１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０個の塩基からなるアンチセンスオリゴマー（例えば、ＰＭＯ、ＰＭＯ－Ｘ、ＰＮＡ、ＬＮＡ、２’－ＯＭｅ）が、本開示に含まれ、所望の標的配列に対して相補的である少なくとも約６、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０個の連続的又は非連続な塩基。

【０２４６】

ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、標的配列に対して１００％相補的であり得るか（少なくとも１つの脱塩基ヌクレオチドを除く）、又はオリゴマーと標的配列との間に形成されるヘテロ二本鎖が、細胞ヌクレアーゼの作用及びインビボで生じ得る他の分解方法に耐えるのに十分に安定である限り、例えば、バリアントに対応するためのミスマッチを含み得る。したがって、ある特定のオリゴマーは、オリゴマー（少なくとも１つの脱塩基ヌクレオチドを除く）と標的配列との間に、実質的な相補性、すなわち、

約又は少なくとも約７０％の配列相補性、例えば、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％の配列相補性を有し得る。ヌクレアーゼによる切断の影響を受けにくいオリゴマー骨格が本明細書で考察される。ミスマッチが存在する場合、典型的には、中央よりもハイブリッド二本鎖の末端領域に向かって不安定化が少ない。許容されるミスマッチの数は、オリゴマーの長さ、二本鎖中のＧ：Ｃ塩基対の割合、及び二本鎖安定性のよく理解された原理に従った二本鎖中のミスマッチの位置に依存する。そのようなアンチセンスオリゴマーは、必ずしも標的配列に対して１００％相補的ではないが、標的プレＲＮＡのスプライシングが調節されるように、標的配列に安定的かつ特異的に結合することが有効である。オリゴマーと標的配列との間に形成された二本鎖の安定性は、結合Ｔｍの関数であり、細胞の酵素的切断に対する二本鎖の感受性を示す。相補的配列ＲＮＡに関するオリゴマーのＴｍは、Ｈａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，１９８５，ｐｐ．１０７－１０８に記載されるもの、又はＭｉｙａｄａ Ｃ．Ｇ．ａｎｄ Ｗａｌｌａｃｅ Ｒ．Ｂ．，１９８７，Ｏｌｉｇｏｍｅｒ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．Ｖｏｌ．１５４ ｐｐ．９４－１０７に記載されるものなどの従来的方法によって測定され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、相補的配列ＲＮＡに関して、体温よりも高い、好ましくは約４５℃又は５０℃超の結合Ｔｍを有し得る。６０～８０℃の範囲のＴｍも含まれる。周知の原理に従って、相補的ベースのＲＮＡハイブリッドに関するオリゴマーのＴｍは、二本鎖中のＣ：Ｇ対塩基の比を増加させることによって、及び／又はヘテロ二本鎖の長さ（塩基対における）を増加させることによって増加し得る。同時に、細胞取り込みを最適化する目的で、オリゴマーのサイズを制限することが有利であり得る。この理由から、２５個以下の塩基の長さで高いＴｍ（４５～５０℃以上）を示す化合物は、高いＴｍ値に対して２５個超の塩基を必要とする化合物よりも概して好ましい。

【０２４７】

ある特定の実施形態では、アンチセンス標的化配列は、表２に列挙される標的配列のうちの１つ以上の領域にハイブリダイズするように設計されている。選択されたアンチセンス標的化配列は、配列が標的配列へのハイブリダイゼーション時にスプライス調節をもたらすのに十分に相補的である限り、例えば、約１２個以上の塩基、例えば、約４０個の塩基とより短く作製され得、少数のミスマッチを含み得、任意選択的に、ＲＮＡと４５℃以上のＴｍを有するヘテロ二本鎖を形成する。

【０２４８】

Ｖ．細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）

例えば、置換基Ｊの範囲内の、本明細書で考察されるアルギニンリッチ細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）は、アンチセンスオリゴマーの細胞への透過を強化するのに、及び動物モデルの異なる筋肉群におけるエクソンスキッピングを引き起こすのに有効であり得る。

【０２４９】

例示的なアルギニンリッチペプチドを以下の表３に示す。

【表３】

表３：アルギニンリッチペプチドトランスポーター（Ｊ）

名称（指定）	配列
ｒＴＡＴ	ＲＲＲＱＲＲＫＫＲ－Ｌ
Ｔａｔ	ＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
R_9F_2	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＦＦ－Ｌ
$R_5F_2R_4$	ＲＲＲＲＲＦＦＲＲＲＲ－Ｌ
R_4	ＲＲＲＲ－Ｌ
R_5	ＲＲＲＲＲ－Ｌ
R_6	ＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
R_7	ＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
R_8	ＲＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
R_9	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
$(RXR)_4$	ＲＸＲＲＸＲＲＸＲＲＸＲ－Ｌ
$(RXR)_5$	ＲＸＲＲＸＲＲＸＲＲＸＲＲＸＲ－Ｌ
（ＲＸＲＲβＲ）２	ＲＸＲＲβＲＲＸＲＲβＲ－Ｌ
$(RAR)_4F_2$	ＲＡＲＲＡＲＲＡＲＲＡＲＦＦＣ－Ｌ
$(RGR)_4F_2$	ＲＧＲＲＧＲＲＧＲＲＧＲＦＦＣ－Ｌ

[a]配列番号に割り当てられた配列は、連結部分Ｌを含まない。αおよびβは、それぞれ６－アミノヘキサン酸およびベーターアラニンを指す。

【０２５０】

別の態様では、置換基Ｊの範囲内の例示的な細胞膜透過性ペプチドを表４に提供する。置換基Ｌへの結合点は、表に示されるとおりである。

【表４－１】

表４

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
$(RFF)_3$；　ＣＰ０４０７	ＲＦＦＲＦＦＲＦＦ－Ｌ
ＲＴＲ	ＲＴＲＴＲＦＬＲＲＴ－Ｌ
ＲＦＦＲ	ＲＦＦＲＦＦＲＦＦＲ－Ｌ
ＫＴＲ	ＫＴＲＴＫＦＬＫＫＴ－Ｌ
ＫＦＦ	ＫＦＦＫＦＦＫＦＦ－Ｌ
ＫＦＦＫ	ＫＦＦＫＦＦＫＦＦＫ－Ｌ
$(RFF)_2$	ＲＦＦＲＦＦ－Ｌ
$(RFF)_2R$	ＲＦＦＲＦＦＲ－Ｌ
Ｒα	ＲααＲααＲ－Ｌ

【表４－２】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
（ＲαＲ）４；　Ｐ００７	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
Ｔａｔ$_{47_58}$	ＹＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
Ｔａｔ$_{48_58}$	ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
Ｔａｔ$_{49_58}$	ＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
ペネトラチン	ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧ－Ｌ
トランスポータン	ＧＷＴＬＮＳＡＧＹＬＬＧＫＩＮＬＫＡＬＡＡＬＡＫＫＩＬ－Ｌ
２αＨｐｈ－１	ＹＡＲＶＲＲＲＧＰＲＧＹＡＲＶＲＲＲＧＰＲＲ－Ｌ
Ｈｐｈ－１	ＹＡＲＶＲＲＲＧＰＲＲ－Ｌ
Ｓｉｍ－２	ＡＫ　ＡＡＲＱＡＡＲ－Ｌ
ＨＳＶ１　ＶＰ２２	ＤＡＡＴＡＴＲＧＲＳＡＡＳＲＰＴＥＲＰＲＡＰＡＲＳＡＳＲＰＲＲＰＶＥ－Ｌ
Ｐｅｐ－１	ＫＥＴＷＷＥＴＷＷＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－Ｌ
Ｐｅｐ－２	ＫＥＴＷＦＥＴＷＦＴＥＷＳＱＰＫＫＫＲＫＶ－Ｌ
ＡＮＴＰ	ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ－Ｌ
R_6Ｐｅｎ	ＲＲＲＲＲＲ－ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧ－Ｌ
ｒＴａｔ	ＲＲＲＱＲＲＫＫＲＣ－Ｌ
ｐＴａｔ	ＣＹＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
R_9F_2	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＦＦＣ－Ｌ
R_9CF_2	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＣＦＦ－Ｌ
R_8CF_2R	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＣＦＦＲ－Ｌ
$R_6CF_2R_3$	ＲＲＲＲＲＲＣＦＦＲＲＲ－Ｌ
R_5FCFR_4	ＲＲＲＲＲＦＣＦＲＲＲＲ－Ｌ
$R_5F_2R_4$	ＲＲＲＲＲＦＦＲＲＲＲ－Ｌ
$R_4CF_2R_5$	ＲＲＲＲＣＦＦＲＲＲＲＲ－Ｌ
$R_2CF_2R_7$	ＲＲＣＦＦＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
CF_2R_9	ＣＦＦＲＲＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
CR_9F_2	ＣＲＲＲＲＲＲＲＲＲＦＦ－Ｌ
F_2R_9	ＦＦＲＲＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
$R_5F_2CF_2R_4$	ＲＲＲＲＲＦＦＣＦＦＲＲＲＲ－Ｌ
R_9I_2	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＩＩ－Ｌ
R_8F_3	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＦＦＦ－Ｌ
R_9F_4	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＦＦＦＦ－Ｌ
R_8F_2	ＲＲＲＲＲＲＲＲＲＦＦ－Ｌ
R_6F_2	ＲＲＲＲＲＲＦＦ－Ｌ
R_5F_2	ＲＲＲＲＲＦＦ－Ｌ
$(RR\alpha)_3RR$	ＲＲαＲＲαＲＲαＲＲ－Ｌ
$(R\alpha R)_4$	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
$(\alpha RR)_4$	αＲＲαＲＲαＲＲαＲＲ－Ｌ
$(R\alpha)_5RR$	ＲαＲαＲαＲαＲαＲ－Ｌ
$(R\alpha R)_3$	ＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
$(R\alpha R)_2R$	ＲαＲＲαＲＲ－Ｌ
$(R\alpha R)_2$	ＲαＲＲαＲ－Ｌ
$(RK\alpha)_3RK$	ＲＫαＲＫαＲＫαＲＫ－Ｌ
$(RH\alpha)_3RH$	ＲＨαＲＨαＲＨαＲＨ－Ｌ
R_8CF_2R	ＲＲＲＲＲＲＲＲＣＦＦＲ－Ｌ
$(RR\alpha)_3RR$	ＲＲαＲＲαＲＲαＲＲ－Ｌ
$(R\alpha R)_4$；　Ｐ００７	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
$(\alpha RR)_4$	αＲＲαＲＲαＲＲαＲＲ－Ｌ

【表４－３】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
（Ｒα）$_5$Ｒ	ＲαＲαＲαＲαＲαＲ－Ｌ
（Ｒα）$_7$Ｒ	ＲαＲαＲαＲαＲαＲαＲ－Ｌ
（ＲαＲ）$_5$	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
（ＲαＲＲβＲ）$_2$；　Ｂ	ＲαＲＲβＲＲαＲＲβＲ－Ｌ
（ＲαＲ）$_3$ＲβＲ	ＲαＲＲαＲＲαＲＲβＲ－Ｌ
（Ｒβ）$_5$ＲαＲβＲ	ＲβＲβＲβＲβＲβＲαＲβＲ－Ｌ
ＲβＲβＲβＲαＲβＲβＲβＲ	ＲβＲβＲβＲαＲβＲβＲβＲ－Ｌ
α（Ｒβ）$_3$Ｒα（Ｒβ）$_3$Ｒ－α	αＲβＲβＲβＲαＲβＲβＲβＲ－Ｌ
（ＲβＲα）$_4$	ＲβＲαＲβＲαＲβＲαＲβＲ－Ｌ
（Ｒβ）$_4$（Ｒα）$_3$Ｒ	ＲβＲβＲβＲβＲαＲαＲαＲ－Ｌ
Ｒα（Ｒβ）$_2$Ｒα（Ｒβ）$_3$Ｒ	ＲαＲβＲβＲβＲαＲβＲβＲβＲ－Ｌ
（Ｒβ）$_7$Ｒ	ＲβＲβＲβＲβＲβＲβＲβＲ－Ｌ
Ｒ$_4$	ｔｇ－ＲＲＲＲ－Ｌ
Ｒ$_5$	ｔｇ－ＲＲＲＲＲ－Ｌ
Ｒ$_6$	ｔｇ－ＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
Ｒ$_7$	ｔｇ－ＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
Ｒ$_8$	ｔｇ－ＲＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
Ｒ$_5$ＧＲ$_4$	ｔｇ－ＲＲＲＲＧＲＲＲＲ－Ｌ
Ｒ$_5$Ｆ$_2$Ｒ$_4$	ｔｇ－ＲＲＲＲＲＦＦＲＲＲＲ－Ｌ
Ｔａｔ	ｔｇ－ＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
ｒＴａｔ	ｔｇ－ＲＲＲＱＲＲＫＫＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲ－Ｌ
	ＲβＲＲβＲ－Ｌ
	ＲαＲＲβＲ－Ｌ
	ＲβＲＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＹ^{b}ＲαＲ－Ｌ
	ＲβＲＹ^{b}ＲβＲ－Ｌ
	ＲαＲＹ^{b}ＲβＲ－Ｌ
	ＲβＲＹ^{b}ＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲ－Ｌ
	ＲβＲＩＬＦＱＹＲβＲ－Ｌ
	ＲαＲＩＬＦＱＹＲβＲ－Ｌ
	ＲβＲＩＬＦＱＹＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
	ＲβＲＲβＲＲβＲ－Ｌ
	ＲαＲＲβＲＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲβＲＲβＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲβＲ－Ｌ
	ＲβＲＲαＲＲβＲ－Ｌ
	ＲβＲＲβＲＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＹ^{b}ＲαＲＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＹ^{b}ＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＹ^{b}ＲαＲＹ^{b}ＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲＹ^{b}ＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＹ^{b}ＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲ－Ｌ
	ＲβＲＹ^{b}ＲβＲＲβＲ－Ｌ
	ＲβＲＲβＲＹ^{b}ＲβＲ－Ｌ

【表４－４】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	RβRILFQYRβRRβR－L
	RβRRβRILFQYRβR－L
	RβRYRβRY^{b}RβR－L
	RβRILFQYRβRILFQYRβR－L
	RβRY^{b}RβRILFQYRβR－L
	RβRILFQYRβRY^{b}RβR－L
	RαRY^{b}RβRRαR－L
	RαRRβRY^{b}RαR－L
	RαRILFQYRβRRαR－L
	RαRRβRILFQYRαR－L
	RαRY^{b}RβRY^{b}RαR－L
	RαRILFQYRβRILFQYRαR－L
	RαRY^{b}RβRILFQYRαR－L
	RαRILFQYRβRY^{b}RαR－L
	RαRY^{b}RβRRβR－L
	RαRRβRY^{b}RβR－L
	RαRILFQYRβRRβR－L
	RαRRβRILFQYRβR－L
	RαRY^{b}RβRY^{b}RβR－L
	RαRILFQYRβRILFQYRβR－L
	RαRY^{b}RβRILFQYRβR－L
	RαRILFQYRβRY^{b}RβR－L
	RαRY^{b}RαRRβR－L
	RαRRαRY^{b}RβR－L
	RαRILFQYRαRRβR－L
	RαRRαRILFQYRβR－L
	RαRY^{b}RαRY^{b}RβR－L
	RαRILFQYRαRILFQYRβR－L
	RαRY^{b}RαRILFQYRβR－L
	RαRILFQYRαRY^{b}RβR－L
	RβRY^{b}RαRRβR－L
	RβRRαRY^{b}RβR－L
	RβRILFQYRαRRβR－L
	RβRRαRILFQYRβR－L
	RβRY^{b}RαRY^{b}RβR－L
	RβRILFQYRαRILFQYRβR－L
	RβRY^{b}RαRILFQYRβR－L
	RβRILFQYRαRY^{b}RβR－L
	RβRY^{b}RαRRαR－L
	RβRRαRY^{b}RαR－L
	RβRILFQYRαRRαR－L
	RβRRαRILFQYRαR－L
	RβRY^{b}RαRY^{b}RαR－L
	RβRILFQYRαRILFQYRαR－L
	RβRY^{b}RαRILFQYRαR－L
	RβRILFQYRαRY^{b}RαR－L
	RβRY^{b}RβRRαR－L
	RβRRβRY^{b}RαR－L
	RβRILFQYRβRRαR－L
	RβRRβRILFQYRαR－L
	RβRY^{b}RβRY^{b}RαR－L

【表４－５】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	RβRILFQYRβRILFQYRαR－L
	RβRY^{b}RβRILFQYRαR－L
	RβRILFQYRβRY^{b}RαR－L
	RαRRαRRαRRαR－L
	RαRRβRRαRILFQYRαRβRαR－L
	RαRRβRRαRRβR－L
	YGRKKRRQRRRP－L
	RαRRαRRαRRαRαβASSLNIAαC－L
	RαRRβRRαRILFQYRαRβRαRβASSLNIAαC－L
	RαRRβRRαRASSLNIARαRβRαRβC－L
	RαRRβRRαRRβRαβASSLNIA－L
	THRPPMWSPVWP－L
	HRPPMWSPVWP－L
	THRPPMWSPV－L
	THRPPMWSP－L
	THRPPMWSPVFP－L
	THRPPMWSPVYP－L
	THRPPMWSPAWP－L
	THRPPMWSPLWP－L
	THRPPMWSPIWP－L
	THRPPMWTPVVWP－L
	THRPPMFSPVWP－L
	THRPPMWS－L
	HRPPMWSPVW－L
	THRPPMYSPVWP－L
	THRPPnleWSPVWP－L （nle＝norleucine）
	THKPPMWSPVWP－L
	SHRPPMWSPVWP－L
	STFTHPR－L
	YDIDNRR－L
	AYKPVGR－L
	HAIYPRH－L
	HTPNSTH－L
	ASSPVHR－L
	SSLPLRK－L
	KKRS－L
	KRSK－L
	KKRSK－L
	KSRK－L
	SRKR－L
	RKRK－L
	KSRKR－L
	QHPPWRV－L
	THPPTTH－L
	YKHTPTT－L
	QGMHRGT－L
	SRKRK－L

【表４－６】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	ＫＳＲＫＲＫ－Ｌ
	ＰＫＫＫＲＫＶ－Ｌ
	ＧＫＫＲＳＫＶ－Ｌ
	ＫＳＲＫＲＫＬ－Ｌ
	ＨＳＰＳＫＩＰ－Ｌ
	ＨＭＡＴＦＨＹ－Ｌ
	ＡＱＰＮＫＦＫ－Ｌ
	ＮＬＴＲＬＨＴ－Ｌ
	ＫＫＫＲ－Ｌ
	ＫＫＲＫ－Ｌ
	ＫＫＫＲＫ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧＣ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧＣ－Ｌ
	ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧＣ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧＣ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲＲＱＩＫＩＬＦＱＮＲαＲαＲαＲαＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲαＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＨＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＲＣ－Ｌ
	ＲαＲαＲαＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲＡＲＡＲＡＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩαＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ

【表４－７】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIRILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRLYSPLSFQαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRISILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRARRαRIHILFQYαRMKWHKAC－L
	RARRαRRARIHILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIHILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIKILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIKILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIαILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIHILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIRILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIRILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRKILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRKILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRαILFQNRRMKWHK－L

【表４－８】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	RαRRαRRαRαILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRHILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRHILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRRILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRRILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRILFQNRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRILFQNαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIKILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIKILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIαILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIHILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIHILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIRILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRIILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRKILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRKILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRαILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRαILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRHILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRHILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRRILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαRILFQYRRMKWHK－L
	RαRRαRRαRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRRαR－L

【表４－９】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲ－Ｌ
	ＲＡＲＲＡＲ－Ｌ
	ＲＡＲＲＡＲＲＡＲ－Ｌ
	ＲＡＲＲＡＲＲＡＲＲＡＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩ－Ｌ
	ＲαＲＲＡＲＲαＲ－Ｌ
	ＲＡＲＲαＲＲＡＲ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＲαＲαＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＧＧＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＨＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＫＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＲＣ－Ｌ
	ＲαＲαＲαＲαＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲＡＲＡＲＡＲＡＲＩＫＩＬＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩαＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＨＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩＲＩＬＦＱＮαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＩαＩＬＦＱＹαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＲαＲＬＹＳＰＬＳＦＱαＲＭＫＷＨＫＡＣ－Ｌ
	ＲＲＭＫＷＨＫ－Ｌ
	αＲＭＫＷＨＫ－Ｌ
	ααααααααααααααααＩＬＦＱααＲＭＫＷＨＫ－Ｌ

【表４－１０】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	αααααααααααααΙLFQααRMKWHK－L
	RRRRRRRQΙKΙLFQNPKKKRKVGGC－L
	HHFFRRRRRRRRRFFC－L
	HHHHHHRRRRRRRRRFFC－L
	HHHHHHFFRRRRRRRRRFFC－L
	HHHHHααRRRRRRRRRFFC－L
	HHHHHHααFFRRRRRRRRRFFC－L
	HHHαRRRRRRRRRFFαHHHC－L
	αRMKWHK－L
	αRWKWHK－L
	RαRARαR－L
	RαRαRαR－L
	RARαRAR－L
	RαRAR－L
	αααααααααααααΙLFQααHMKWHK－L
	αααααααααααααΙLFQααRWKWHK－L
	αααααααααααααΙLFQααHWKWHK－L
	αααααααααααααΙLFQαRαRARαR－L
	αααααααααααααΙLFQαRαRαRαR－L
	αααααααααααααΙLFQαRαRRαR－L
	αααααααααααααΙLFQαRARαRAR－L
	αααααααααααααΙLFQαRαRARαR－L
	αααααααααααααΙLFQαRαRAR－L
	αααααααααααααΙLΙQααRMKWHK－L
	αααααααααααααΙLΙQααHMKWHK－L
	αααααααααααααΙLΙQααRWKWHK－L
	αααααααααααααΙLΙQααHWKWHK－L
	αααααααααααααΙLΙQαRαRARαR－L
	αααααααααααααΙLΙQαRαRαRαR－L
	αααααααααααααΙLΙQαRαRRαR－L
	αααααααααααααΙLΙQαRARαRAR－L

【表４－１１】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	αααααααααααααααILIQαRαRA RαR－L
	αααααααααααααααILIQαRαRA R－L
	αααααααααααααααILFQααHMK WHK－L
	αααααααααααααααILFQααRWK WHK－L
	αααααααααααααααILFQααHWK WHK－L
	αααααααααααααααILFQαRαRA RαR－L
	αααααααααααααααILFQαRαR αR－L
	αααααααααααααααILFQαRαRR αR－L
	αααααααααααααααILFQαRARα RAR－L
	αααααααααααααααILFQαRαRA RαR－L
	αααααααααααααααILFQαRαRA R－L
	αααααααααααααααILIQααRMK WHK－L
	αααααααααααααααILIQααHMK WHK－L
	αααααααααααααααILIQααRWK WHK－L
	αααααααααααααααILIQααHWK WHK－L
	αααααααααααααααILIQαRαRA RαR－L
	αααααααααααααααILIQαRαR αR－L
	αααααααααααααααILIQαRαRR αR－L
	αααααααααααααααILIQαRARα RAR－L
	αααααααααααααααILIQαRαRA RαR－L
	αααααααααααααααILIQαRαRA R－L
	RαRRARRαRRARαA－L
	RαRRARRαRILFQYαHMKWHKAC －L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC －L
	RαRRARRαRILFQYαRWKWHKAC －L
	RαRRαRRαRRαRC－L

【表４－１２】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	RαRRαRRαRIαILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIHILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRLYSPLSFQαRMKWHKAC－L
	RαRRαRRαRILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRIαILFQYαRMKWHKAC－L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC－L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYαHMKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYαRWKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYαHWKWHKAC－L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαRAC－L
	RαRRARRαRILFQYRαRαRαRAC－L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRILFQYRαRRαRC－L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαRAC－L
	RαRRARRαRILFQYRαRαRαRAC－L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHKAC－L
	RαRRαRILFQYRαRRαRCYS－L
	RARRαRRARILFQYRARαRARAC－L
	RARRαRRARILFQYRαRARαRAC－L
	RARRαRRARILFQYRαRRαRAC－L
	RARRαRRARILFQYRαRARαAC－L

【表４－１３】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	RαRRARRαRILFQYRαRRαRAC－L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαAC－L
	RαRRARRαRIHILFQNαRMKWHKAC－L
	RαRRARRαRRARαAC－L
	RαRRARRαRILFQYαHMKWHK－L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRARRαRILFQYαRWKWHK－L
	RαRRARRαRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRARRαRILFQYRαRARαR－L
	RαRRARRαRILFQYRαRαRαR－L
	RαRRARRαRILFQYRαRRαR－L
	RαRRARRαRILFQYRARαRAR－L
	RαRRARRαRILFQYRαRAR－L
	RαRRARRαRILIQYαHMKWHK－L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHK－L
	RαRRARRαRILIQYαRWKWHK－L
	RαRRARRαRILIQYαRMKWHK－L
	RαRRARRαRILIQYRαRARαR－L
	RαRRARRαRILIQYRαRαRαR－L
	RαRRARRαRILIQYRαRRαR－L
	RαRRARRαRILIQYRARαRAR－L
	RαRRARRαRILIQYRαRAR－L
	RARRαRRARILFQYαHMKWHK－L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHK－L
	RARRαRRARILFQYαRWKWHK－L
	RARRαRRARILFQYαRMKWHK－L
	RARRαRRARILFQYRαRARαR－L
	RARRαRRARILFQYRαRαRαR－L
	RARRαRRARILFQYRαRRαR－L
	RARRαRRARILFQYRARαRAR－L
	RARRαRRARILFQYRαRAR－L
	RARRαRRARILIQYαHMKWHK－L
	RARRαRRARILIQYαRMKWHK－L
	RARRαRRARILIQYαRWKWHK－L
	RARRαRRARILIQYαRMKWHK－L
	RARRαRRARILIQYRαRARαR－L
	RARRαRRARILIQYRαRαRαR－L
	RARRαRRARILIQYRαRRαR－L
	RARRαRRARILIQYRARαRAR－L
	RARRαRRARILIQYRαRAR－L
	RαRRαRILFQYαHMKWHK－L
	RαRRαRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRILFQYαRWKWHK－L
	RαRRαRILFQYαRMKWHK－L
	RαRRαRILFQYRαRARαR－L
	RαRRαRILFQYRαRαRαR－L
	RαRRαRILFQYRαRRαR－L
	RαRRαRILFQYRARαRAR－L

【表４－１４】

例示的なキャリアペプチド配列	
名称	配列（アミノ末端からカルボキシ末端）
	ＲαＲＲαＲＩＬＦＱＹＲαＲＡＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹαＨＭＫＷＨＫ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹαＲＭＫＷＨＫ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹαＲＷＫＷＨＫ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹαＲＭＫＷＨＫ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹＲαＲＡＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹＲαＲαＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹＲαＲＲαＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹＲＡＲαＲＡＲ－Ｌ
	ＲαＲＲαＲＩＬＩＱＹＲαＲＡＲ－Ｌ
	ＰＲＰαααααααααααＰＲＧ－Ｌ
	ＲＲＲＲＲＲＲＲ－Ｌ
	ＲＲＭＫＷＫＫ－Ｌ
	ＰＫＫＫＲＫＶ－Ｌ
	ＣＫＤＥＰＱＲＲＳＡＲＬＳＡＫＰＡＰＰＫＰＥＰ
	ＫＰＫＫＡＰＡＫＫ－Ｌ
	ＲＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
	ＲＫＫＲＲＱＲＲ－Ｌ
	ＲＫＫＲＲＱＲ－Ｌ
	ＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
	ＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
	ＡＫＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
	ＲＡＫＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
	ＲＫＡＲＲＱＲＲＲ－Ｌ
	ＲＫＫＡＲＱＲＲＲ－Ｌ

【０２５１】

Ｌは、式（Ｉ）に列挙されるとおりであり、かつ本明細書全体を通して記載されるとおりであり、β＝３－アラニン、α＝６－アミノヘキサン酸、ｔｇ＝非修飾アミノ末端、又はアセチル基、ベンゾイル基、若しくはステアロイル基（すなわち、アセチルアミド、ベンゾイルアミド、若しくはステアロイルアミド）でキャップされたアミノ末端であり、Ｙは、ＮＨ－（ＣＨＲ）－Ｃ（Ｏ）－であり、式中、ｎは、２～７であり、各Ｒは、各出現において独立して、水素又はメチルである。簡略化のために、全ての配列が末端ｔｄ基を伴い記載されているわけではないが、上記の配列の各々は、非修飾アミノ末端、又はアセチル基、ベンゾイル基、若しくはステアロイル基でキャップされたアミノ末端を含み得る。

【０２５２】

ＶＩ．医薬組成物

本開示はまた、開示されたアンチセンスオリゴマーの製剤化及び送達を提供する。したがって、本開示の一態様は、本明細書に開示されるアンチセンスオリゴマーと薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物である。

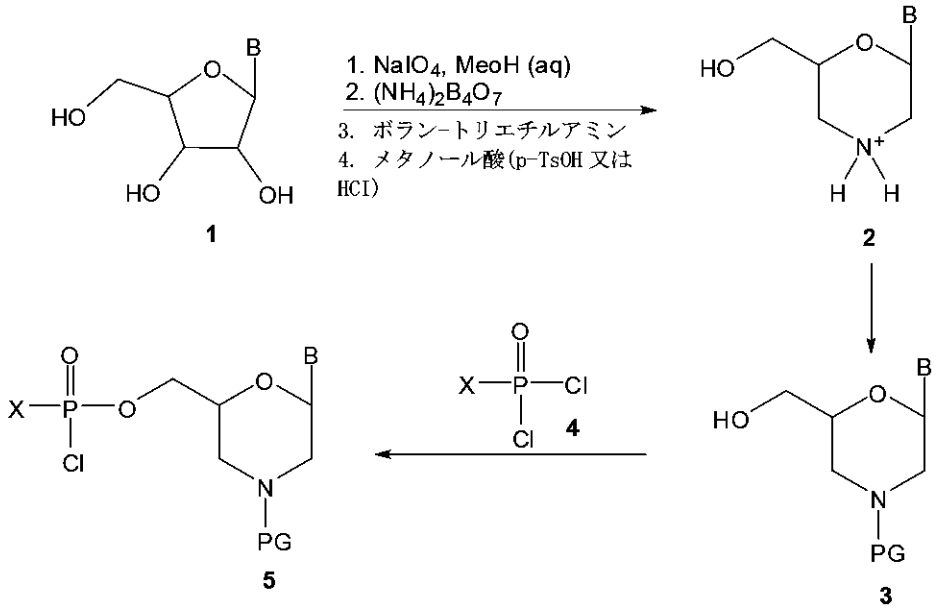
【０２５３】

標的核酸へのアンチセンスオリゴマーの効果的な送達は、治療の重要な側面である。アンチセンスオリゴマー送達経路には、経口及び非経口経路、例えば、静脈内、皮下、腹腔内、及び筋肉内、並びに吸入、経皮、及び局所送達を含む様々な全身経路が含まれるが、これらに限定されない。適切な経路は、治療中の対象の状態に対して必要に応じて、当業者によって決定され得る。例えば、皮膚のウイルス感染の治療におけるアンチセンスオリゴマーの送達のための適切な経路が局所送達である一方で、ウイルス性呼吸器感染の治療のためのアンチセンスオリゴマーの送達は、静脈内又は吸入によるものであり得る。アンチセンスオリゴマーはまた、ウイルス感染の任意の特定の部位に直接送達され得る。

【０２５４】
アンチセンスオリゴマーは、生理学的及び／又は薬学的に許容される任意の便利なビヒクル中で投与され得る。そのような組成物は、当業者によって用いられる様々な標準的な薬学的に許容される担体のうちのいずれかを含み得る。例としては、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）、水（例えば、注射用滅菌水）、水性エタノール、油／水エマルション又はトリグリセリドエマルションなどのエマルション、錠剤、及びカプセルが挙げられるが、これらに限定されない。好適な生理学的に許容される担体の選択は、選択された投与方法に応じて異なる。
【０２５５】
本化合物（例えば、アンチセンスオリゴマー）は、概して、遊離酸又は遊離塩基として利用され得る。あるいは、本化合物は、酸付加塩又は塩基付加塩の形態で使用され得る。遊離アミノ化合物の酸付加塩は、当該技術分野で周知の方法によって調製され得、有機酸及び無機酸から形成され得る。好適な有機酸としては、マレイン酸、フマル酸、安息香酸、アスコルビン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、シュウ酸、プロピオン酸、酒石酸、サリチル酸、クエン酸、グルコン酸、乳酸、マンデル酸、ケイ皮酸、アスパラギン酸、ステアリン酸、パルミチン酸、グリコール酸、グルタミン酸、及びベンゼンスルホン酸が挙げられる。好適な無機酸としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、及び硝酸が挙げられる。塩基付加塩は、カルボン酸アニオンで形成される塩を含み、アルカリ金属及びアルカリ土類金属（例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、バリウム、及びカルシウム）から選択されるものなどの有機カチオン及び無機カチオン、並びにアンモニウムイオン及びその置換誘導体（例えば、ジベンジルアンモニウム、ベンジルアンモニウム、２－ヒドロキシエチルアンモニウムなど）で形成される塩を含む。したがって、構造（Ｉ）の「薬学的に許容される塩」という用語は、ありとあらゆる許容される塩形態を包含することが意図されている。
【０２５６】
加えて、プロドラッグも本発明の文脈内に含まれる。プロドラッグは、そのようなプロドラッグが患者に投与されたとき、インビボで構造（Ｉ）の化合物を放出する任意の共有結合担体である。プロドラッグは、概して、日常的な操作又はインビボのいずれかによって修飾が切断されるような方法で、官能基を修飾することによって調製され、親化合物が得られる。プロドラッグは、例えば、ヒドロキシ基、アミン基、又はスルフヒドリル基が、患者に投与されたときに切断してヒドロキシ基、アミン基、又はスルフヒドリル基を形成する任意の基に結合している、本発明の化合物を含む。したがって、プロドラッグの代表的な例としては（限定されないが）、構造（Ｉ）の化合物のアルコール官能基及びアミン官能基の酢酸塩、ギ酸塩、並びに安息香酸塩誘導体が挙げられる。更に、カルボン酸（－ＣＯＯＨ）の場合、メチルエステル、エチルエステルなどのエステルが用いられ得る。
【０２５７】
ＶＩＩ．作製方法
塩基性窒素ヌクレオチド間リンカーを有するオリゴマーの調製
モルホリノサブユニット、修飾サブユニット間結合、及びそれらを含むオリゴマーは、例えば、米国特許第５，１８５，４４４号及び同第７，９４３，７６２号に記載されるように調製され得、それらは参照によりそれらの全体が組み込まれる。モルホリノサブユニットは、以下の一般的反応スキーム１に従って調製され得る。

【化７２】

反応スキーム１．モルホリノサブユニットの調製



【０２５８】

Ｂが塩基対形成部分を表し、ＰＧが保護基を表す、反応スキーム１を参照すると、モルホリノサブユニットは、示されるように、対応するリボヌクレオシド（１）から調製され得る。モルホリノサブユニット（２）は、好適な保護基前駆体、例えば、塩化トリチルとの反応によって任意選択的に保護され得る。３’保護基は概して、以下により詳細に記載されるように、固体オリゴマー合成中に除去される。塩基対形成部分は、固相オリゴマー合成に対して好適に保護され得る。好適な保護基としては、アデニン及びシトシンに対するベンゾイル、グアニンに対するフェニルアセチル、及びヒポキサンチン（Ｉ）に対するピバロイルオキシメチルが挙げられる。ピバロイルオキシメチル基は、ヒポキサンチン複素環塩基のＮ１位置に導入され得る。調製において単離することなく使用した。保護されていないヒポキサンチンサブユニットが用いられてもよいが、活性化反応における収率は、塩基が保護されている場合にはるかに優れている。他の好適な保護基としては、米国特許第８，０７６，４７６号に開示されているものが挙げられ、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２５９】

活性化されたリン化合物４との３の反応は、所望の連結部分５を有するモルホリノサブユニットをもたらす。構造４の化合物は、当業者に既知の任意の数の方法を使用して調製され得る。例えば、そのような化合物は、対応するアミン及びオキシ塩化リンの反応によって調製され得る。これに関して、アミン出発材料は、当該技術分野で既知の任意の方法、例えば、実施例及び米国特許第７，９４３，７６２号に記載される方法を使用して調製され得る。

【０２６０】

構造５の化合物は、サブユニット間連結を含むオリゴマーを調製するための固相自動オリゴマー合成に使用され得る。そのような方法は、当該技術分野で周知である。簡潔に、構造５の化合物は、５’末端で修飾されて、固体支持体へのリンカーを含有してもよい。例えば、化合物５は、リンカーによって固体支持体に連結され得る。一旦支持されると、保護基（例えば、トリチル）が除去され、遊離アミンは、構造５の第２の化合物の活性化リン部分と反応する。この配列は、所望の長さのオリゴが得られるまで繰り返される。末端の５’末端の保護基は、５’修飾が所望される場合、除去されるか、又はそのままにされ

るかのいずれかであり得る。
【０２６１】
修飾モルホリノサブユニット及びモルホリノオリゴマーの調製は、実施例においてより詳細に説明される。任意の数の修飾連結を含有するモルホリノオリゴマーは、本明細書に記載される方法、当該技術分野で既知の方法、及び／又は参照により本明細書に記載される方法を使用して調製され得る。また、実施例において、前述（例えば、ＰＣＴ公開第２００８／０３６１２７号を参照されたい）のように調製されたモルホリノオリゴマーの全体的な修飾も記載される。
【０２６２】
本明細書に記載される更なる連結修飾を含有するＰＭＯ、ＰＭＯ＋、ＰＰＭＯ、及びＰＭＯ－Ｘ含有の合成は、当該技術分野で既知の方法を使用して行われ、係属中の米国特許第８，２９９，２０６号及び同第８，０７６，４７６号、並びにＰＣＴ公開第２００９／０６４４７１号、同第２０１１／１５０４０８号、及び同第２０１２／１５０９６０号に記載され、それらは参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。
【０２６３】
３’トリチル修飾を有するＰＭＯは、本質的に、脱トリチル化工程が省略されることを除いて、ＰＣＴ公開第２００９／０６４４７１号に記載されるように合成される。
【０２６４】
ＶＩＩＩ．治療方法
本明細書では、治療目的（例えば、ＧＳＤ－ＩＩを有する対象を治療すること）のために、本開示のアンチセンスオリゴマーを使用して、エクソン２含有ＧＡＡ　ｍＲＮＡ及び／又はタンパク質の発現を増加させる方法が提供される。方法は、治療有効量の本明細書に開示されるアンチセンスオリゴマー又はその医薬組成物の投与を必要とする患者に、それを行うことを含む。一実施形態では、疾患は、ポンペ病である。いくつかの実施形態では、酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡ内の領域に特異的にハイブリダイズするのに十分な長さ及び相補性のヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴマーであって、その領域へのアンチセンスオリゴマーの結合は、対象の細胞及び／又は組織中のエクソン２含有ＧＡＡ　ｍＲＮＡのレベルを高める。例示的なアンチセンス標的化配列を、本明細書の表６Ａ～６Ｃに示す。
【０２６５】
また、酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡ内の領域に特異的にハイブリダイズするのに十分な長さ及び相補性のヌクレオチド配列を含む、グリコーゲン蓄積症ＩＩ型（ＧＳＤ－ＩＩ、ポンペ病）の治療のための薬剤の調製に使用するためのアンチセンスオリゴマーも含まれ、その領域へのアンチセンスオリゴマーの結合は、エクソン２含有ＧＡＡ　ｍＲＮＡのレベルを高める。
【０２６６】
ＧＳＤ－ＩＩを治療する方法又はＧＳＤ－ＩＩの治療のための薬剤のいくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマー化合物は、
ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含む、長さが１８～４０個のサブユニットであるアンチセンスオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴマーの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、
少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、
脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。
【０２６７】
ＧＳＤ－ＩＩを治療する方法又はＧＳＤ－ＩＩの治療のための薬剤のいくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマー化合物は、
ヒト酸性アルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（

配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含む、長さが１８～４０個のサブユニットであるアンチセンスオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端からアンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、標的化配列を形成し、
少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、
脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。

【０２６８】
ＧＳＤ－ＩＩを治療する方法又はＧＳＤ－ＩＩの治療のための薬剤のいくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマー化合物は、
ヒト酸性アルファグルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的な標的化配列を含む、長さが１８～４０個のサブユニットである修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノオリゴマーを含み、
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞膜透過性ペプチドに共有結合されており、
アンチセンスオリゴヌクレオチドの各サブユニットは、核酸塩基を含むか、又は脱塩基サブユニットであり、各サブユニットは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの５’末端からアンチセンスオリゴヌクレオチドの３’末端への順序で一緒になって、標的化配列を形成し、
少なくとも１つのサブユニットは、脱塩基サブユニットであり、
脱塩基サブユニットを除いて、標的化配列は、標的領域に対して少なくとも８０％相補的である。

【０２６９】
上述のように、「ＧＳＤ－ＩＩ」は、罹患した個人におけるＧＡＡタンパク質の過小発現を特徴とすることが多いヒト常染色体劣性疾患であるグリコーゲン蓄積症ＩＩ型（ＧＳＤ－ＩＩ又はポンペ病）を指す。乳児ＧＳＤ－ＩＩを有する対象、及び遅発型の疾患を有する対象が含まれる。

【０２７０】
ある特定の実施形態では、対象は、心臓、骨格筋、肝臓、及び神経系組織を含む、１つ以上の組織中のＧＡＡタンパク質の発現及び／又は活性が（例えば、健康な対象又はより早い時点と比較して）低減している。いくつかの実施形態では、対象は、心臓、骨格筋、肝臓、及び神経系組織を含む、１つ以上の組織中のグリコーゲンの蓄積が（例えば、健康な対象又はより早い時点と比較して）増加している。特定の実施形態では、対象は、機能的ＧＡＡタンパク質の発現の低減をもたらす他の変異と場合によっては組み合わせて、少なくとも１つのＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ変異（ｃ．３３６－１３Ｔ＞Ｇとも称される）を有する。ＧＳＤ－ＩＩで使用された分子遺伝子検査の概要を以下の表５に示す。

【表５】

表５

遺伝子記号	試験方法	検出された変異	試験方法による変異検出頻度	試験の可用性
ＧＡＡ	配列分析	ｐ．Ａｒｇ８５４＊	約５０％～６０％	臨床
		ｐ．Ａｓｐ６４５Ｇｌｕ	約４０％～８０％	
		ＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ	約５０％～８５％	
		遺伝子中の他の配列バリアント	８３％～９３％	
	選択されたエクソンの配列分析	選択されたエクソンにおける配列バリアント	８３％～９３％	
	標的化変異分析	標的部位における配列バリアント	標的化変異のうちバリアントについて１００％	
	欠失／重複分析	エクソン及び全遺伝子の欠失／重複	５％～１３％	

【０２７１】

ある特定の実施形態は、本明細書に記載されるように、細胞、組織、及び／又は対象におけるエクソン２含有ＧＡＡ　ｍＲＮＡ又はタンパク質の発現を増加させる方法に関する。いくつかの事例では、エクソン－２含有ＧＡＡ　ｍＲＮＡ又はタンパク質は、対照、例えば、対照細胞／対象、アンチセンスオリゴマーを含まない対照組成物、治療の欠如、及び／又はより早い時点と比較して、約又は少なくとも約５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％増加する。また、健康な対照のレベルと比較して、含有するＧＡＡ　ｍＲＮＡ又はタンパク質の発現を維持する方法も含まれる。

【０２７２】

いくつかの実施形態は、本明細書に記載されるように、細胞、組織、及び／又は対象における機能的／活性ＧＡＡタンパク質の発現を増加させる方法に関する。ある特定の事例では、機能的／活性ＧＡＡタンパク質のレベルは、対照、例えば、対照細胞／対象、アンチセンスオリゴマーを含まない対照組成物、治療の欠如、及び／又は早期の時点と比較して、約又は少なくとも約５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％増加する。また、健康な対照のレベルと比較して、機能的／活性ＧＡＡタンパク質の発現を維持する方法も含まれる。

【０２７３】

特定の実施形態は、本明細書に記載されるように、１つ以上の細胞、組織、及び／又は対象におけるグリコーゲンの蓄積を低減する方法に関する。ある特定の事例では、グリコーゲンの蓄積は、対照、例えば、対照細胞／対象、アンチセンスオリゴマーを含まない対照組成物、治療の欠如、及び／又はより早い時点と比較して、約又は少なくとも約５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％低減される。また、細胞、組織、及び／又は対象における正常な、又はそうでなければ健康なグリコーゲンレベル（例えば、無症状レベル又はＧＳＤ－ＩＩの症状の低減に関連するレベル）を維持する方法も含まれる。

【０２７４】
また、ＧＳＤ－ＩＩの１つ以上の症状の低減を必要とする対象において、それを行う方法も含まれる。特定の例としては、心肥大、筋緊張低下、心筋症、左室流出路閉塞、呼吸窮迫、運動遅延／筋力低下、及び摂食困難／障害などの乳児ＧＳＤ－ＩＩの症状が挙げられる。追加の例としては、筋力低下（例えば、進行性筋力低下を含む骨格筋力低下）、咳障害、再発性胸部感染症、筋緊張低下、運動マイルストーンの遅延、嚥下又は咀嚼の困難、及び肺活量の低減又は呼吸不全などの遅発性ＧＳＤ－ＩＩの症状が挙げられる。
【０２７５】
本開示のアンチセンスオリゴマーは、ＧＳＤ－ＩＩを（予防的又は治療的に）処置するために対象に投与され得る。そのような治療と併せて、薬理ゲノム学（すなわち、個人の遺伝子型と、外来化合物又は薬物に対するその個人の応答との間の関係の研究）が考慮され得る。治療薬の代謝の違いは、薬理学的に活性な薬物の用量と血中濃度との間の関係を変化させることによって、重度の毒性又は治療の失敗につながる可能性がある。
【０２７６】
したがって、医師又は臨床医は、治療剤を投与するかどうかの決定、並びに治療剤を用いた治療の投与量及び／又は治療レジメンの調整に、関連する薬理ゲノム研究で得られた知識を適用することを考慮し得る。
【０２７７】
標的核酸へのアンチセンスオリゴマーの効果的な送達は、治療の一側面である。アンチセンスオリゴマー送達経路には、経口及び非経口経路、例えば、静脈内、皮下、腹腔内、及び筋肉内、並びに吸入、経皮、及び局所送達を含む様々な全身経路が含まれるが、これらに限定されない。適切な経路は、治療中の対象の状態に対して必要に応じて、当業者によって決定され得る。血管循環又は血管外循環、血液又はリンパ系、及び脳脊髄液は、ＲＮＡが導入され得る一部の非限定的な部位である。直接的なＣＮＳ送達を用いられ得、例えば、脳室内又は髄腔内投与が投与経路として使用され得る。
【０２７８】
特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、筋肉内注射（ＩＭ）によって対象に投与され、すなわち、それらは、筋肉内投与又は送達される。筋肉内注射部位の非限定的な例としては、腕の三角筋、脚の外側広筋、及び股関節の腹側臀筋（ｖｅｎｔｒｏｇｌｕｔｅａｌ ｍｕｓｃｌｅ）、並びに臀部の背側臀筋（ｄｏｒｓｏｇｌｕｔｅａｌ ｍｕｓｃｌｅ）が挙げられる。特定の実施形態では、ＰＭＯ、ＰＭＯ－Ｘ、又はＰＰＭＯは、ＩＭによって投与される。
【０２７９】
ある特定の実施形態では、中枢神経系組織中のグリコーゲン蓄積としてそれを必要とする対象。例としては、中枢神経系の病理がＧＳＤ－ＩＩにおける呼吸障害に寄与する事例が挙げられる（例えば、ＤｅＲｕｉｓｓｅａｕ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ＵＳＡ．１０６：９４１９－２４，２００９を参照されたい）。したがって、本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーは、例えば、対象がＣＮＳの関与を伴うＧＳＤ－ＩＩを有する場合、任意の当該技術分野において承認されている方法によって、対象の神経系に送達され得る。例えば、本開示のアンチセンスオリゴマーの末梢血注射を使用して、拡散的及び／又は能動的な手段を介して、当該試薬を末梢ニューロンに送達することができる。あるいは、アンチセンスオリゴマーは、血液脳関門（ＢＢＢ）の横断を促進するように修飾されて、中枢神経系（ＣＮＳ）のニューロン細胞への当該試薬の送達を達成することができる。アンチセンスオリゴマー技術及び送達戦略における具体的な最近の進歩は、ニューロン障害に対するアンチセンスオリゴマー使用の範囲を広げている（例えば、Ｆｏｒｔｅ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．２００５．Ｃｕｒｒ．Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｓ ６：２１－２９、Ｊａｅｇｅｒ，Ｌ．Ｂ．，ａｎｄ Ｗ．Ａ．Ｂａｎｋｓ．２００５．Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．１０６：２３７－２５１、Ｖｉｎｏｇｒａｄｏｖ，Ｓ．Ｖ．，ｅｔ ａｌ．２００４．Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．５：５０－６０を参照されたく、上記は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。例えば、本開示のアンチセンスオリゴ

マーは、ペプチド核酸（ＰＮＡ）化合物として生成され得る。ＰＮＡ試薬は各々、ＢＢＢを横断することが特定されている（Ｊａｅｇｅｒ，Ｌ．Ｂ．，ａｎｄ　Ｗ．Ａ．Ｂａｎｋｓ．２００５．Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．１０６：２３７－２５１）。例えば、血管作用薬を用いた対象の治療も、ＢＢＢを横断する輸送を促進することが記載されている（同文献）。本開示のアンチセンスオリゴマーの、ＢＢＢを横断して能動的に輸送される薬剤への結合も、送達機構として使用され得る。アンチセンス剤を、イオヘキソールなどの造影剤とともに（例えば、別々に、同時に、同じ製剤中で）投与することもまた、ＰＣＴ公開第２０１３／０８６２０７号（参照によりその全体が組み込まれる）に記載されるように、ＢＢＢを横断する送達を促進することができる。

【０２８０】

ある特定の実施形態では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、経皮方法によって送達され得る（例えば、アンチセンスオリゴマーを、例えば、エマルションに組み込むことを介して、そのようなアンチセンスオリゴマーをリポソームに任意選択的にパッケージ化して）。そのような経皮及びエマルション／リポソーム媒介送達方法は、当該技術分野でのアンチセンスオリゴマーの送達について、例えば、米国特許　第６，９６５，０２５号に記載されており、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２８１】

本明細書に記載されるアンチセンスオリゴマーはまた、移植可能なデバイスを介して送達され得る。そのようなデバイスの設計は、例えば、米国特許　第６，９６９，４００号（その内容は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載される人工移植設計を用いた、当該技術分野において承認されているプロセスである。

【０２８２】

アンチセンスオリゴマーは、当該技術分野において承認されている技術（例えば、トランスフェクション、エレクトロポレーション、融合、リポソーム、コロイド状ポリマー粒子、及びウイルスベクター及び非ウイルスベクター、並びに当該技術分野で既知の他の手段）を使用して、細胞内に導入され得る。選択される送達方法は、少なくともオリゴマー化学、処理される細胞、及び細胞の位置に依存し、当業者には明らかであろう。例えば、局在化は、リポソームを方向付けるために表面上の特定のマーカーを有するリポソーム、標的細胞を含有する組織への直接注射、特定の受容体媒介取り込みなどによって達成され得る。

【０２８３】

当該技術分野で既知のように、アンチセンスオリゴマーは、例えば、リポソーム媒介取り込み、エクソソーム媒介取り込み、脂質コンジュゲート、ポリリジン媒介取り込み、ナノ粒子媒介取り込み、受容体媒介エンドサイトーシスを伴う方法、並びにマイクロインジェクション、透過処理（例えば、ストレプトリジン－Ｏ透過処理、アニオン性ペプチド透過処理）、エレクトロポレーション、及び当該技術分野で既知である様々な非侵襲的な非エンドサイトーシス送達方法（Ｄｏｋｋａ　ａｎｄ　Ｒｏｊａｎａｓａｋｕｌ，Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　４４，３５－４９（その全体が参照により組み込まれる）を参照）などの追加の非エンドサイトーシス送達方法を使用して送達され得る。

【０２８４】

アンチセンスオリゴマーは、生理学的及び／又は薬学的に許容される任意の便利なビヒクル又は担体中で投与され得る。そのような組成物は、当業者によって用いられる様々な標準的な薬学的に許容される担体のうちのいずれかを含み得る。例としては、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）、水、水性エタノール、油／水エマルション又はトリグリセリドエマルションなどのエマルション、錠剤、及びカプセルが挙げられるが、これらに限定されない。好適な生理学的に許容される担体の選択は、選択された投与方法に応じて異なる。薬学的に許容される担体は、薬学的投与に適合する、ありとあらゆる溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを含むことが意図されている。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体及び薬剤の使用は、当該技

術分野で周知である。任意の従来的な媒体又は薬剤が活性化合物と不適合である場合を除き、組成物におけるその使用が企図される。補助的な活性化合物も組成物に組み込まれ得る。

【０２８５】

本開示の化合物（例えば、アンチセンスオリゴマー）は、概して、遊離酸又は遊離塩基として利用され得る。あるいは、本開示の化合物は、酸付加塩又は塩基付加塩の形態で使用され得る。本開示の遊離アミノ化合物の酸付加塩は、当該技術分野で周知の方法によって調製され得、有機酸及び無機酸から形成され得る。好適な有機酸としては、マレイン酸、フマル酸、安息香酸、アスコルビン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、シュウ酸、プロピオン酸、酒石酸、サリチル酸、クエン酸、グルコン酸、乳酸、マンデル酸、ケイ皮酸、アスパラギン酸、ステアリン酸、パルミチン酸、グリコール酸、グルタミン酸、及びベンゼンスルホン酸が挙げられる。

【０２８６】

好適な無機酸としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、及び硝酸が挙げられる。塩基付加塩は、カルボン酸アニオンで形成される塩を含み、アルカリ金属及びアルカリ土類金属（例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、バリウム、及びカルシウム）から選択されるものなどの有機カチオン及び無機カチオン、並びにアンモニウムイオン及びその置換誘導体（例えば、ジベンジルアンモニウム、ベンジルアンモニウム、２－ヒドロキシエチルアンモニウムなど）で形成される塩を含む。したがって、「薬学的に許容される塩」という用語は、ありとあらゆる許容される塩形態を包含することが意図されている。

【０２８７】

加えて、プロドラッグも本開示の文脈内に含まれる。プロドラッグは、そのようなプロドラッグが患者に投与されたとき、インビボで化合物を放出する任意の共有結合担体である。プロドラッグは、概して、日常的な操作又はインビボのいずれかによって修飾が切断されるような方法で、官能基を修飾することによって調製され、親化合物が得られる。プロドラッグは、例えば、ヒドロキシ基、アミン基、又はスルフヒドリル基が、患者に投与されたときに切断してヒドロキシ基、アミン基、又はスルフヒドリル基を形成する任意の基に結合している、本開示の化合物を含む。したがって、プロドラッグの代表的な例としては（限定されないが）、本開示のアンチセンスオリゴマーのアルコール官能基及びアミン官能基の酢酸塩、ギ酸塩、並びに安息香酸塩誘導体が挙げられる。更に、カルボン酸（－ＣＯＯＨ）の場合、メチルエステル、エチルエステルなどのエステルが用いられ得る。

【０２８８】

いくつかの事例では、リポソームは、細胞へのアンチセンスオリゴマーの取り込みを促進するために用いられ得る（例えば、Ｗｉｌｌｉａｍｓ，Ｓ．Ａ．，Ｌｅｕｋｅｍｉａ １０（１２）：１９８０－１９８９，１９９６、Ｌａｐｐａｌａｉｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｖｉｒａｌ Ｒｅｓ．２３：１１９，１９９４、Ｕｈｌｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ｏｌｉｇｏｍｅｒｓ：ａ ｎｅｗ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｐｒｉｎｃｉｐｌｅ，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ，Ｖｏｌｕｍｅ ９０，Ｎｏ．４，２５ ｐａｇｅｓ ５４４－５８４，１９９０、Ｇｒｅｇｏｒｉａｄｉｓ，Ｇ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １４，Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ，Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒｓ ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，ｐｐ．２８７－３４１，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９７９を参照されたい）。ハイドロゲルはまた、例えば、ＷＯ９３／０１２８６に記載されるように、アンチセンスオリゴマー投与のためのビヒクルとして使用され得る。あるいは、オリゴマーは、マイクロスフェア又は微粒子中で投与され得る。（例えば、Ｗｕ，Ｇ．Ｙ．ａｎｄ Ｗｕ，Ｃ．Ｈ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２，３０ １９８７を参照されたい）。あるいは、アンチセンスオリゴマーと複合体化されたガス充填マイクロバブルの使用は、米国特許第６，２４５，７４７号に記載されるように、標的組織への送達を強化することができる。徐放性組成物も使用され得る。これらは、フィルム又はマイクロカプセルなどの成形品の形態の半透過性ポリマーマト

リックスを含み得る。

【０２８９】

一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、好適な医薬担体中で、リソソーム蓄積障害の症状を呈する哺乳動物対象、例えば、ヒト又は飼育動物に投与される。方法の一態様では、対象は、ヒト対象、例えば、ＧＳＤ－ＩＩ（ポンペ病）を有すると診断された患者である。好ましい一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、薬学的に許容される担体中に含有され、経口的に送達される。別の好ましい実施形態では、オリゴマーは、薬学的に許容される担体中に含有され、静脈内（ｉ．ｖ．）に送達される。

【０２９０】

一実施形態では、アンチセンス化合物は、少なくとも２００～４００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血中濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。典型的には、アンチセンスオリゴマーの１回以上の用量は、概して規則的な間隔で、約１～２週間の期間投与される。経口投与のための好ましい用量は、７０ｋｇ当たり約１～１０００ｍｇのオリゴマーである。場合によっては、１０００ｍｇ／患者を超える用量が必要であり得る。ｉ．ｖ．投与について、好ましい用量は、７０ｋｇ当たり約０．５ｍｇ～１０００ｍｇのオリゴマーである。アンチセンスオリゴマーは、短期間規則的な間隔で、例えば、２週間以下、毎日投与され得る。しかしながら、場合によっては、オリゴマーは、より長期間にわたって断続的に投与される。投与には、抗生物質又は他の治療的処置の投与が続き得るか、又はそれと同時であり得る。治療レジメンは、イムノアッセイ、他の生化学的検査、及び治療中の対象の生理学的検査の結果に基づいて、指示されたように調整されてもよい（用量、頻度、経路など）。

【０２９１】

ある特定の実施形態では、方法は、インビトロ方法である。ある特定の他の実施形態では、方法は、インビボ方法である。

【０２９２】

ある特定の実施形態では、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。ある特定の実施形態では、宿主細胞は、非ヒト霊長類細胞である。ある特定の実施形態では、宿主細胞は、ヒト細胞である。

【０２９３】

ある特定の実施形態では、宿主細胞は、自然発生的な細胞である。ある特定の他の実施形態では、宿主細胞は、操作された細胞である。

【０２９４】

ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、好適な医薬担体中で、哺乳動物対象、例えば、ヒト又は実験動物若しくは飼育動物に投与される。

【０２９５】

ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、追加の薬剤とともに、哺乳動物対象、例えば、ヒト又は実験動物若しくは飼育動物に投与される。アンチセンスオリゴマー及び追加の薬剤は、同じ又は異なる投与経路及び／又は投与部位を介して、同時又は逐次的に投与され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマー及び追加の薬剤は、共製剤化され、一緒に投与され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴマー及び追加の薬剤は、キット中で一緒に提供され得る。

【０２９６】

一実施形態では、薬学的に許容される担体中に含有されるアンチセンスオリゴマーは、経口的に送達される。

【０２９７】

一実施形態では、薬学的に許容される担体中に含有されるアンチセンスオリゴマーは、静脈内（ｉ．ｖ．）に送達される。

【０２９８】

追加の投与経路、例えば、皮下、腹腔内、及び肺も、本開示によって企図される。

【０２９９】

方法の別の適用では、対象は、家畜動物、例えば、ブタ、ウシ、又はヤギなどであり、処置は、予防的又は治療的のいずれかである。また、家畜に食物を給餌する方法において、食物が上記の有効量のアンチセンスオリゴマー組成物で補充される改善も企図される。

【０３００】

一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも２００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血中濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも２００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血漿濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも２００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血清濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。

【０３０１】

一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも４００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血中濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも４００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血漿濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。一実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも４００ｎＭのアンチセンスオリゴマーのピーク血清濃度をもたらすのに有効な量及び方法で投与される。

【０３０２】

典型的には、アンチセンスオリゴマーの１回以上の用量は、概して規則的な間隔で、約１～２週間の期間投与される。経口投与のための好ましい用量は、ｋｇ体重当たり約０．０１～１５ｍｇのアンチセンスオリゴマーである。場合によっては、１５ｍｇのアンチセンスオリゴマー／ｋｇを超える用量が必要であり得る。ｉ．ｖ．投与について、好ましい用量は、ｋｇ体重当たり約０．００５ｍｇ～１５ｍｇのアンチセンスオリゴマーである。アンチセンスオリゴマーは、短期間規則的な間隔で、例えば、２週間以下、毎日投与され得る。しかしながら、場合によっては、アンチセンスオリゴマーは、より長い期間にわたって断続的に投与される。投与には、抗生物質又は他の治療的処置の投与が続き得るか、又はそれを伴い得る。治療レジメンは、イムノアッセイ、他の生化学的検査、及び治療中の対象の生理学的検査の結果に基づいて、指示されたように調整されてもよい（用量、頻度、経路など）。

【０３０３】

アンチセンスオリゴマーを使用する効果的なインビボ治療レジメンは、投与の期間、用量、頻度、及び経路、並びに治療中の対象の状態に応じて異なり得る（すなわち、局所又は全身感染に応答した投与に対して予防的投与）。したがって、そのようなインビボ療法は、最適な治療転帰を達成するために、多くの場合、治療中の検査による監視、及び用量又は治療レジメンの対応する調整を必要とする。

【０３０４】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、哺乳動物細胞によって能動的に取り込まれる。更なる実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、そのような取り込みを促進するために、本明細書に記載される輸送部分（例えば、輸送ペプチド）にコンジュゲートされ得る。

【０３０５】

参照による援用

本明細書で言及される全ての出版物、特許、及び特許出願は、各個々の出版物、特許、又は特許出願が具体的かつ個々に参照によって組み込まれるのと同じ程度まで、参照により本明細書に取り込まれる。

【実施例】

【０３０６】

実施例は、例示の目的で、本開示のある特定の実施形態を説明するために以下に記載される。しかしながら、特許請求の範囲は、決して本明細書に記載される実施例によって制限されるものではない。開示された実施形態に対する様々な変更及び修正が当業者に明ら

かであり、そのような変更及び修正は、限定するものではないが、本開示の化学構造、置換基、誘導体、製剤又は方法に関するものを含み、本開示の趣旨及び添付の特許請求の範囲の範囲から逸脱することなく行われ得る。本明細書のスキームにおける構造の変数の定義は、本明細書に提示される式の対応する位置のそれに等しい。

【０３０７】

実施例１－アンチセンス標的化配列の設計

アンチセンスオリゴマー標的化配列を、ヒトＧＡＡ遺伝子中のＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ変異に関連する治療用スプライススイッチング用途のために設計した。ここで、スプライススイッチングオリゴマーは、イントロン及びエクソンのスプライスサイレンサーエレメント（それぞれＩＳＳエレメント及びＥＳＳエレメント）を抑制し、それによって成熟ＧＡＡ　ｍＲＮＡにおけるエクソン２保持を促進することが予想される。次いで、正常又はほぼ正常なＧＡＡ発現の回復は、機能的酵素が合成されることを可能にし、それによってＧＳＤ－ＩＩ患者に臨床的利益を提供するであろう。

【０３０８】

表６Ａ～６Ｃに記載される標的化配列を含む例示的なオリゴマーを、ＰＰＭＯ（アルギニンリッチＣＰＰなどのＣＰＰにコンジュゲートされたオリゴマー）として調製した。以下に記載されるように、これらのアンチセンスオリゴマーを、以下の実施例２にも記載されるように、ジムノティック取り込みプロトコルを使用して、ＧＳＤ－ＩＩ患者由来線維芽細胞及び患者ｉＰＳＣ由来筋管に導入した。

【０３０９】

実施例２－材料及び方法

ＧＳＤ－ＩＩ細胞。ＧＳＤ－ＩＩ（Ｃｏｒｉｅｌｌ細胞株ＧＭ００４４３及びＧＭ１１６６１）を有する個人からの患者由来線維芽細胞を、１０％～１５％ＦＢＳを有するイーグルＤＭＥＭ中で、標準プロトコルに従って培養した。細胞は、実験前に少なくとも２回継代され、トランスフェクション時に約８０％コンフルエントである。ＧＭ００４４３及びＧＭ１１６６１患者由来線維芽細胞をｉＰＳＣ株に再プログラミングし、その後、筋芽細胞に分化し、増殖させ、バンク化した。患者ｉＰＳＣ由来筋芽細胞を、使用前に筋芽細胞増殖培地中で培養し、２回継代させた。筋芽細胞を、処理前の２日間、筋管に分化させた。

【０３１０】

ＧＭ００４４３線維芽細胞は、３０歳の男性由来である。成人型；３０代で発症；ＧＡＡに対するｍＲＮＡの正常なサイズ及び量、ＧＡＡタンパク質が抗体によって検出されたが、正常酸性アルファ－１，４グルコシダーゼ活性の９～２６％のみ；ＣＣＲでの継代３；ドナー対象は、ＧＡＡ遺伝子のイントロン１のアクセプター部位の－１３位にＴ＞Ｇトランスバージョンを担持し、第１のコードエクソンの欠失［エクソン２（ＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ）］を伴う選択的にスプライシングされた転写産物をもたらす、１つの対立遺伝子を有するヘテロ接合性である。

【０３１１】

ＧＭ１１６６１線維芽細胞は、３８歳の男性由来である。異常な肝機能検査；身体活動中の時折の脚の筋肉硬直、朝の頭痛；脂っぽい食べ物に対する抵抗感；腹部嚢胞；欠損線維芽細胞及びＷＢＣ酸性アルファ－１，４グルコシダーゼ活性；ドナー対象は、複合ヘテロ接合体であり、対立遺伝子１は、ＧＡＡ遺伝子のイントロン１のアクセプター部位の－１３位にＴ＞Ｇトランスバージョン（ＩＶＳ１－１３Ｔ＞Ｇ）を担持し、得られた選択的にスプライシングされた転写産物は、開始コドンを含有するエクソン２のインフレーム欠失を有し、対立遺伝子２は、エクソン１８のインフレーム欠失を担持する。

【０３１２】

治療プロトコル。使用前に患者由来線維芽細胞を２回継代した。細胞を、様々な濃度のＰＰＭＯを含有する培地を交換することによって、約８０％のコンフルエンシーで処理した。患者ｉＰＳＣ由来筋芽細胞を、使用前に少なくとも２回継代し／増殖させた。筋芽細胞を１日間培養し、２日間筋管に分化させ、その後、様々な濃度のＰＰＭＯを含有する分

化培地で処理した。

【０３１３】

ＧＡＡ ｑＰＣＲ。定量的ＰＣＲ実験について、参照遺伝子に加えてエクソン１～２及びエクソン３～４の接合部でＧＡＡ ｍＲＮＡを同時に増幅するマルチプレックスＴａｑＭａｎ ｑＰＣＲアッセイを使用した。処理された患者ｉＰＳＣ由来筋管由来の１００～５００ｎｇの総ＲＮＡを、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ ＶＩＬＯ ｃＤＮＡ合成キット（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を使用して逆転写した。ｃＤＮＡを、Ｑｕａｎｔｓｔｕｉｏ７ Ｐｒｏサーモサイクラー（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を使用したＴａｑＭａｎ Ｍｕｌｔｉｐｌｅｘ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を使用した増幅前に３～１０倍希釈した。各ｑＰＣＲ反応は、ＧＡＡエクソン１～２接合部を検出するためのＦＡＭプローブ、ＧＡＡエクソン３～４接合部を検出するためのＶＩＣプローブ、及び参照遺伝子を検出するためのＪＵＮプローブを含有した。マルチプレックスで設定された各アッセイ及びプローブの相対標準曲線を生成し、参照遺伝子に対して正規化された処理試料中の各種の開始量を計算するために使用した。

【０３１４】

ＧＡＡ酵素アッセイ及びＰｒｏｔｅｉｎ Ｓｉｍｐｌｅ Ｗｅｓ。患者由来線維芽細胞を約８０％のコンフルエンシーまで培養し、次いで、ジムノティック取り込みを介してＰＰＭＯ化合物で処理した。６日間処理を継続し、その時点で、Ａｂｃａｍ ＧＡＡ Ａｃｔｉｖｉｔｙ Ａｓｓａｙ Ｋｉｔ（ａｂ２５２８８７）を使用してＧＡＡ活性を測定した。

【０３１５】

ＰｒｏｔｅｉｎＳｉｍｐｌｅ（登録商標）Ｊｅｓ（商標）システムを使用して、ＧＡＡタンパク質へのウェスタンブロットを実施した。組換え抗ＧＡＡ抗体（ＥＰＲ４７１６（２））（Ａｂｃａｍ ａｂ１３７０６８）、及びＰｒｏｔｅｉｎＳｉｍｐｌｅ（登録商標）抗ウサギ検出モジュール（ＤＭ－００１）、及び１２～２３０ｋＤａ分離モジュール（ＳＭ－Ｗ００４）を使用して、ＧＡＡを検出した。ＰｒｏｔｅｉｎＳｉｍｐｌｅ（登録商標）タンパク質正規化キット（ＡＭ－ＰＮ０１）を使用して、ＧＡＡタンパク質濃度を総タンパク質に対して正規化した。

【０３１６】

実施例３－アンチセンスＰＰＭＯの調製（R^1は、－－Ｎ（CH_3）$_2$である）

アンチセンスＰＰＭＯを、ヒトＧＡＡプレｍＲＮＡ（例えば、ヒトＧＡＡプレｍＲＮＡのイントロン１）を標的とするように設計し、本明細書に記載されるように合成し、ＧＳＤ－ＩＩ患者由来線維芽細胞及びＧＳＤ－ＩＩ患者ｉＰＳＣ由来筋管を処置するために使用した。

【表６Ａ－１】

表６Ａ ヌクレオフェクトされたＰＰＭＯ化合物（脱塩基サブユニット）			
名称	標的化配列（ＴＳ）＊ （５’－３’）	ＴＳ配列 ＩＤ番号	５’末端 ３’末端
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＧＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	３３	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）－Ｇ	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＣＧＡ ＧＡＡ　ＡＡＧ　Ｃ	３４	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７）－２Ｇ	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＣ　ＧＡＧ ＡＡＡ　ＡＧＣ	３５	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
Ｈ５３Ａ（－１００－７６） 陰性対照（ＮＴＣ）	ＣＧＴ　ＴＡＴ　ＣＴＣ　ＡＣＡ　ＴＴＴ ＡＴＧ　ＴＴＧ　ＣＴＴ　Ａ	ＮＴＣ	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７） （－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＧ　ＢＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	５	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７） （－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＧＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	６	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７） （－１７７脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＧＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	７	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７） （－１７８，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＧＢ　ＢＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	８	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７） （－１７７，－１７８脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＢ　ＧＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	９	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９，１６７） （－１７７，－１７９脱塩基性）	ＣＣＡ　ＧＡＡ　ＧＧＡ　ＡＢＧ　ＢＣＧ ＡＧＡ　ＡＡＡ　ＧＣ	１０	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６

【表６Ａ－２】

ＧＲ６：Ｇｌｙ（Ａｒｇ）$_6$　Ｂ：プリン及びピリミジンを含まない脱塩基サブユニット。本明細書に組み込まれる脱塩基サブユニットは、オリゴマーのホスホロジアミデート骨格を保持するが、プリン塩基又はピリミジン塩基を含有しない。

【表６Ｂ】

表６Ｂ マイクロウォークデータ			
名称	標的化配列（ＴＳ）＊ （５’－３’）	ＴＳ配列 ＩＤ番号	５’末端 ３’末端
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－８０，－５６）	ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ ＴＧ　ＡＧＡ　ＣＡＴ　Ｃ	３７	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－７６，－５２）	ＣＧＧ　ＧＧＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　Ａ ＧＣ　ＴＣＴ　ＧＡＧ　Ａ	３８	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－７４，－５５）	ＧＧＣ　ＴＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ ＣＴ　ＧＡ	３９	５’　ＴＥＧ ３’　Ｒ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－７２，－４８）	ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　Ａ ＡＧ　ＣＡＧ　ＣＴＣ　Ｔ	４０	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－７１，－４７）	ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＧＧ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　Ａ ＡＡ　ＧＣＡ　ＧＣＴ　Ｃ	４１	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－７０，－４６）	ＣＡＣ　ＴＣＡ　ＣＧＧ　ＧＧＣ　ＴＣＴ　Ｃ ＡＡ　ＡＧＣ　ＡＧＣ　Ｔ	４２	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９，－４５）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　Ｔ ＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	４３	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６６，－４２）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＧＧ　Ｇ ＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	４４	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６５，－４１） －２Ｇ	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＧＣ　Ｔ ＣＴ　ＣＡＡ　ＡＧ	４５	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－４９，－２４）	ＧＣＡ　ＧＧＧ　ＡＧＧ　ＣＧＧ　ＧＡＧ　Ｇ ＧＧ　ＣＧＧ　ＣＡＣ　Ｔ	４６	５’　ＴＥＧ ３’　ＧＲ６

ＧＲ６：Ｇｌｙ（Ａｒｇ）$_6$

【表６Ｃ】

表６Ｃ ヌクレオフェクトされたＰＰＭＯ化合物（脱塩基サブユニット）			
名称	標的化配列（ＴＳ）＊ （5’－3’）	ＴＳ配列 ＩＤ番号	5’付着 3’付着
ＧＡＡ　ｈ5’Ｅｘ１ （１７３　１９０）	ＴＣＣ　ＴＡＣ　ＣＴＧ　ＣＴＧ　ＣＣＴ　ＣＡＴ	４７	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５３Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＧＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１７	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１８	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	１９	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＧＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２０	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５３Ｂ　Ｇ５４Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＢ　ＢＧＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２１	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＢＢＧ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２２	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６９－４５） （Ｇ５５Ｂ　Ｇ５６Ｂ）	ＧＣＡ　ＣＴＣ　ＡＣＧ　ＧＢＢ　ＣＴＣ　ＴＣＡ　ＡＡＧ　ＣＡＧ　Ｃ	２３	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１ （－６５－４１） （Ｇ５４Ｂ　Ｇ５５Ｂ）	ＧＧＣ　ＧＧＣ　ＡＣＴ　ＣＡＣ　ＧＢＢ　ＧＣＴ　ＣＴＣ　ＡＡＡ　Ｇ	２４	5’　ＴＥＧ 3’　ＧＲ６

ＧＲ６：Ｇｌｙ（Ａｒｇ）$_6$　Ｂ：プリン及びピリミジンを含まない脱塩基サブユニット。本明細書に組み込まれる脱塩基サブユニットは、オリゴマーのホスホロジアミデート骨格を保持するが、プリン塩基又はピリミジン塩基を含有しない。

【表６Ｄ】

表６Ｄ
マイクロウォークデータ

名称	標的化配列（ＴＳ）＊（５’－３’）	ＴＳ配列ＩＤ番号	５’末端 ３’末端
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８６－１６６）	ＧＣＣ ＡＧＡ ＡＧＧ ＡＡＧ ＧＧＣ ＧＡＧ ＡＡＡ	４８	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８８－１６８）	ＣＡＧ ＡＡＧ ＧＡＡ ＧＧＧ ＣＧＡ ＧＡＡ ＡＡＧ	４９	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１８９－１６９）	ＡＧＡ ＡＧＧ ＡＡＧ ＧＧＣ ＧＡＧ ＡＡＡ ＡＧＣ	５０	５’ ＴＥＧ ３’ Ｒ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１９０－１７０）	ＧＡＡ ＧＧＡ ＡＧＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣＴ	５１	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１９１－１７１）	ＡＡＧ ＧＡＡ ＧＧＧ ＣＧＡ ＧＡＡ ＡＡＧ ＣＴＣ	５２	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１９２－１７２）	ＡＧＧ ＡＡＧ ＧＧＣ ＧＡＧ ＡＡＡ ＡＧＣ ＴＣＣ	５３	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１９６－１７６）	ＡＧＧ ＧＣＧ ＡＧＡ ＡＡＡ ＧＣＴ ＣＣＡ ＧＣＡ	５４	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１９４－１７４）	ＧＡＡ ＧＧＧ ＣＧＡ ＧＡＡ ＡＡＧ ＣＴＣ ＣＡＧ	５５	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６
ＧＡＡ－ＩＶＳ１（－１９８－１７８）	ＧＧＣ ＧＡＧ ＡＡＡ ＡＧＣ ＴＣＣ ＡＧＣ ＡＧＧ	５６	５’ ＴＥＧ ３’ ＧＲ６

ＧＲ６：Ｇｌｙ（Ａｒｇ）$_6$

【０３１７】
実施例４－ＧＳＤ－ＩＩ患者由来線維芽細胞中のＧＡＡ活性及びタンパク質
上記のアンチセンスＰＰＭＯを、ジムノティック取り込みによってＧＭ００４４３又はＧＭ１１６６１線維芽細胞及び患者後ｉＰＳＣ由来筋管に送達した。３７℃、５％CO_2で４～６日間インキュベーションし、細胞を溶解し、溶解物中のＧＡＡ活性又はＧＡＡタンパク質発現を、上記のようにイムノアッセイによって測定した。概して、本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理された細胞中のＧＡＡ酵素のタンパク質発現は、未処理細胞中のＧＡＡ発現レベルよりも高かった。これらの結果は、本開示のオリゴヌクレオチドが、遅発性ポンペ病を有する患者由来の細胞中のＧＡＡ酵素の発現及び／又は活性を増加させることを示す。バリアントオリゴヌクレオチドの標的化配列は、ヒトアルファ－グルコシダーゼ（ＧＡＡ）遺伝子のプレｍＲＮＡのイントロン１（配列番号１）内の標的領域に対して相補的であり、標的領域は、プリン及びピリミジンを含まない脱塩基サブユニットを含む。驚くべきことに、これらの脱塩基サブユニットの使用は、親配列の効力を保持しながら、低収率オリゴヌクレオチドの合成を促進した。
【０３１８】
実施例５－活性化モルホリノ脱塩基サブユニットの小規模合成
一般的調製：化合物１（１．１０当量）をジクロロメタン（７．００ｍＬ／ｇ）中に懸濁した。この懸濁液に、テトラメチルグアニジン（０．５０当量）及びジイソプロピルエチルアミン（１．８０当量）を添加し、混合物を３０℃に加温し、６０分間保持して材料を溶解した後、室温に冷却した。別個に、塩化トリチル（１．００当量）をジクロロメタン（２．４２ｍＬ／ｇ）中に溶解し、この溶液を第１の溶液にゆっくりと添加し、温度を３０℃未満に保った。反応完了時（１～２時間）、反応混合物をクエン酸緩衝液（ｐＨ４）及び水で洗浄した。有機相を分離し、化合物２含有量についてアッセイした（収率：９３％）。
【０３１９】

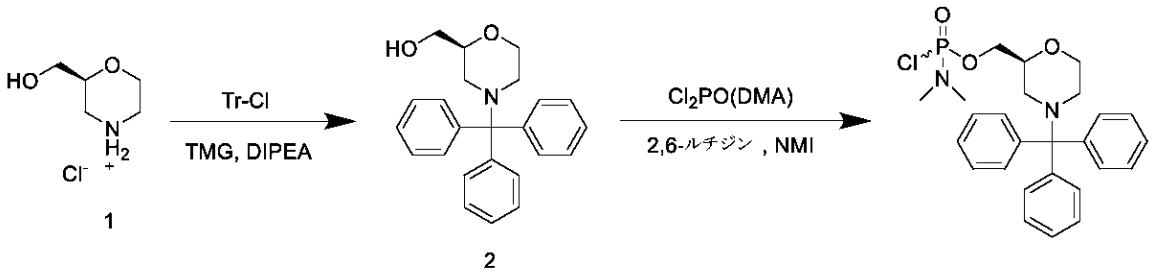
化合物２（１．００当量）の溶液に、２，６－ルチジン（１．１５当量）及びＮ－メチルイミダゾール（０．３８当量）を添加し、溶液を常圧蒸留によって６．００ｍＬ／ｇの体積に濃縮した。ジクロロメタン（５．００ｍＬ／ｇ）を溶液に添加し、これを再び常圧蒸留によって同じ体積に濃縮した。このプロセスを、含水量がカール・フィッシャー滴定によって検出不可能になるまで繰り返し、溶液を０～５℃に冷却した。ジメチルアミノホスホリルジクロリド（１．０５当量）を細い流れの中に添加し、反応混合物を室温に一晩加温させた。

【０３２０】

反応完了の確認後、混合物を分子ふるいのカラムに通し、得られた溶液を、ヘプタン中の酢酸エチルの段階勾配を使用したシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。生成物含有画分をプールし、プールを蒸発乾固させて、最終生成物固体を生成した（収率：最終工程では７３％、２工程プロセスでは６８％）。

【化７３】

反応スキーム２．活性化モルホリノ脱塩基サブユニットの調製



【０３２１】

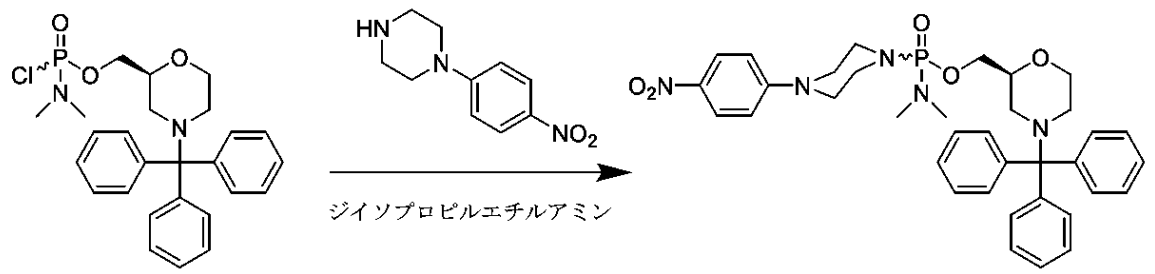
活性化モルホリノサブユニットは、水性ＨＰＬＣ移動相中では不安定であるため、１－（４－ニトロフェニル）ピペラジン（ＮＰＰ）を用いたクエンチ誘導体化を用いて、サブユニットを、ＨＰＬＣを用いた分析のための安定したジアミデート誘導体に変換した。ＮＰＰは、３９１ｎｍで強く吸収するため、安定性を提供することに加えて、３９１ｎｍでの分析を使用して、オリゴマーの成長鎖と反応する可能性が高い不純物を見ることができる。

【０３２２】

分析のための生成物は、ＮＰＰ誘導体化された活性化モルホリノ塩基サブユニットであるため、この材料の標準を合成し、ＨＰＬＣ、質量分析、及びＮＭＲで特性評価した。これは、質量分析及びＮＭＲ確認構造を有する合成された標準のＨＰＬＣクロマトグラムと比較することによる、活性化サブユニットの特定を可能にする。　ＨＰＬＣ分析における生成物ピークは、２つのジアステレオマーの部分分割によりわずかに分裂する。

【化７４】

反応スキーム３．モルホリノ脱塩基サブユニットの安定したジアミデート誘導体の調製



正確な質量：655.29

【０３２３】

実施例６－ＧＳＤ－ＩＩ患者由来線維芽細胞中のＧＡＡ活性

線維芽細胞培養。ヒト線維芽細胞株を、１５％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）及び２ｍＭのＬ－グルタミンを含有する改変イーグル培地（ＭＥＭ、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）中で、５％CO_2での３７℃のインキュベーターにおいて維持した。現在使用されている線維芽細胞株は、Ｃｏｒｉｅｌｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅから入手され、以下の株を含む：ＧＭ０８４０２（健康対照）、ＧＭ０８４００（健康対照）、ＧＭ００４４３（ポンペ遅発性）、ＧＭ１１６６１（ポンペ遅発性）、ＧＭ２００８９（ポンペ乳児発症性）、及びＧＭ２０１２３（健康なポンペ保因者）。処理の１日前に、細胞を３０，０００細胞／ウェルで２４ウェル細胞培養プレートにプレーティングし、一晩インキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳで洗浄し、培地で補充されたＰＰＭＯの処理をウェルに添加した。処理を伴い、培地交換なしで、細胞を６日間インキュベートさせた。ＧＡＡ活性アッセイ溶解のために、細胞をＰＢＳで１回洗浄し、次いで、氷冷ＧＡＡ活性アッセイ緩衝液（Ａｂｃａｍ）中で溶解した。図６は、選択されたＰＰＭＯ化合物を用いたジムノティック処理後の患者の線維芽細胞中のＧＡＡ発現の用量依存的な増加を示す。

【０３２４】

実施例７－ＧＳＤ－ＩＩ患者由来筋管におけるＧＡＡ活性及びタンパク質

患者ｉＰＳＣ由来筋管。患者の線維芽細胞を、フィーダーフリー及びフットプリントフリーの方法を使用して、ｉＰＳＣに再プログラミングした。多能性を、マーカーであるＯｃｔ３／４、ＮＡＮＯＧ、ＴＲＡ－１－６０を用いた免疫染色によって検証した。ｉＰＳＣは、正常な核型及びアルカリホスファターゼ活性を保持した。ｉＰＳＣ株を筋芽細胞に分化させ、凍結させ、回復させた。筋芽細胞マーカーであるデスミン及びＭｙｏＤの免疫蛍光、並びにｑＰＣＲによって測定される主要なマーカーの発現によって、筋原性系統を確認した。筋芽細胞の最終的な分化を、３～６日間の培養にわたって実施し、免疫蛍光によって測定された筋原性マーカーであるＭＨＣ及びＭｙｏＧの発現によって確認した。

【０３２５】

ｉＰＳＣへの線維芽細胞の非統合的な再プログラミング。線維芽細胞をＤＭＥＭ　１０％ＦＣＳ中で維持した。一晩インキュベーションした後、培養培地を新鮮なものに置き換え、細胞を、ＦｕＧＥＮＥ６トランスフェクション試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用することによって、Ｅｐｉ５（商標）ｉＰＳＣ再プログラミングキット（Ｔｈｅｍｏｆｉｓｈｅｒ）からの２μｇのエピソームプラスミドでトランスフェクトした。翌日、培養培地をｍＴｅＳＲ－ｐｌｕｓ培地（ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で置き換えた。再プログラミングプロセス中、トランスフェクトされた細胞をｍＴｅＳＲ　ｐｌｕｓ中で培養し、トランスフェクション後最大２週間、隔日培地を交換した。コロニーを、ピペットチップを使用することによって、Ｇｅｌｔｒｅｘマトリックスで覆われた新しい培養皿に移した。その手順の１時間前に、１０μＭのＹ－２７６３２を培養培地に添加した。ｉＰＳＣを、Ａｌｏｎｓｏ－Ｂａｒｒｏｓｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌ　Ｒｅｓ．２３，１７３－１７７；２０１７に記載されるように、ｍＴｅＳＲ　ｐｌｕｓ培地中で更に増殖させ、維持した。

【０３２６】

ＳＫＭ分化。筋原性前駆細胞を、前述のプロトコルに従ってｈｉＰＳＣから分化させた［Ｃｈａｌ，Ｊ　ｅｔ．Ａｌ．Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２０１５，３３，９６２－９６９］。簡潔に述べると、筋原性前駆細胞を、多段階小分子分化プロトコルを通して生成した。筋原性前駆細胞を、６０μｇ／ｍＬのコラーゲンＩコーティング６ウェルプレート中で増殖させ、継代し、凍結保存した。筋芽細胞分化について、凍結した筋原性前駆細胞を筋芽細胞増殖培地（ｉＸＣｅｌｌｓ、カタログ番号ＭＤ－０１０２Ａ）中で解凍した。成長培地を２日毎に８日間新しくし、次いで、凍結保存した。筋管分化について、筋芽細胞を回収し、３２，０００／ｃｍ２の密度で播種し、筋芽細胞増殖培地を使用して培養して、１００％のコンフルエンシーに達した。骨格筋細胞分化について、コンフルエントな筋芽細胞培養物を筋芽細胞分化培地（ｉＸＣｅｌｌｓ、カタログ番号ＭＤ－０１０２Ｂ）に切り替え、２日毎に培地交換した。伸長した筋管は、筋芽細胞分化培地中で７２時間後に明らかであった。

【０３２７】
ＰＰＭＯは、ＬＯＰＤ患者ｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡ発現を増加させる。患者ｉＰＳＣ由来筋芽細胞を、９６ウェル又は２４ウェルのコラーゲンコーティングプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）に播種し、ｉＰＳＣ由来筋芽細胞増殖培地（ｉＸＣｅｌｌｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）中で４８時間増殖させた。培地を筋管分化培地（ｉＸＣｅｌｌｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）に交換し、分化を４８時間続けた。次いで、培地を、指示された濃度のＰＰＭＯを含有する新鮮な分化培地に交換した。Ｑｕｉｃｋ－ＲＮＡ ９６ Ｋｉｔ（Ｚｙｍｏ）を製造業者のプロトコルに従って使用した７２時間のジムノティック処理後に、ＲＮＡを細胞培養物から抽出した。ｓｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ ＶＩＬＯキット（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を製造業者のプロトコルに従って使用して、１００～３００ｎｇのＲＮＡを逆転写した。ＦＡＭチャネル上のエクソン１～２遺伝子座でのＧＡＡ発現を測定するマルチプレックスｑＰＣＲアッセイ（Ｈｓ．ＰＴ．５８．２４９６２３８０、Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ＤＮＡ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、９００ｎＭのプライマー、２５０ｎＭのプローブ）、ＶＩＣチャネル上のエクソン３～４遺伝子座でのＧＡＡ（Ｈｓ０１０８９８３４＿ｍ１、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ、１．８μＭのプライマー、５００ｎＭのプローブ）、及びＪＵＮチャネル上のＨＰＲＴ（Ｈｓ９９９９９０９＿ｍ１＿ｑｓｙ、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ、９００ｎＭのプライマー、２５０ｎＭのプローブ）を、Ｑｕａｎｔｓｔｕｄｉｏ ７ Ｐｒｏ ＰＣＲサーモサイクラー（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）上のＭｕｌｔｉｐｌｅｘ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）とともに使用した。ｑＰＣＲサイクル条件は、９５℃で２０秒間の初期変性工程、続いて、９５℃で３秒間、５８℃で２０秒間、１秒当たり１．９２℃のランプ速度の４０サイクルからなった。図７及び図８は、選択されたＰＰＭＯを用いたジムノティック処理後の患者ｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡ発現の用量依存的な増加を示す。

【０３２８】
ＰＰＭＯは、ＬＯＰＤ患者ｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡタンパク質を増加させる。患者ｉＰＳＣ由来筋芽細胞を、２４ウェルのコラーゲンコーティングプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）に播種し、ｉＰＳＣ由来筋芽細胞増殖培地（ｉＸＣｅｌｌｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）中で２４時間増殖させた。培地を筋管分化培地（ｉＸＣｅｌｌｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）に交換し、分化を２４時間続けた。次いで、培地を、指示された濃度のＰＰＭＯを含有する新鮮な分化培地に交換した。細胞溶解物を、ＲＩＰＡ溶解緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を使用した９６時間のジムノティック処理後に調製した。タンパク質濃度を、Ｐｉｅｒｃｅ ＢＣＡ Ａｓｓａｙ Ｋｉｔ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を使用して測定した。細胞溶解物を、自動キャピラリーウェスタンブロットシステム、ＪＥＳＳシステム（Ｐｒｏｔｅｉｎｓｉｍｐｌｅ）用の試料調製キット（Ｐｒｏｔｅｉｎｓｉｍｐｌｅ）を使用して調製した。細胞溶解物を、０．１×試料緩衝液（Ｐｒｏｔｅｉｎｓｉｍｐｌｅ）を使用して同じタンパク質濃度に希釈し、プロトコル指示に従って５Ｘ蛍光マスターミックス（Ｐｒｏｔｅｉｎｓｉｍｐｌｅ）と混合した。試料を、プロトコル指示に従って９５℃で変性させた。ＪＥＳＳを、ミルクフリー抗体希釈剤で希釈した１：４００希釈抗ＧＡＡ一次抗体（Ａｂｃａｍ ａｂ１３７０６８）、タンパク質正規化基質、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）コンジュゲート二次抗体、化学発光基質、及びアッセイプレートの指示されたウェルに分注された洗浄緩衝液を使用して実行した。試料を、ビオチン化ラダーマーカーとともに三連でＪＥＳＳプレート上の指示された場所に充填し、アッセイプレートをＪＥＳＳ装置に配置した。タンパク質のシグナル強度（ピーク面積）を、タンパク質正規化キット及びＣｏｍｐａｓｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ（Ｐｒｏｔｅｉｎｓｉｍｐｌｅ）の分析を使用して、キャピラリーウェルに含まれる総タンパク質のピーク面積に対して正規化した。ＧＡＡタンパク質バンドの定量分析を、Ｃｏｍｐａｓｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ（ＰｒｏｔｅｉｎＳｉｍｐｌｅ）を使用して実施した。図９及び図１０は、選択されたＰＰＭＯ化合物を用いた処理後の、患者ｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡタンパク質の増加を示す。

【０３２９】
ＰＰＭＯは、ＬＯＰＤ患者ｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡタンパク質を増加させる。患者ｉＰＳＣ由来筋芽細胞を、増殖培地（ＥＭ、ｉＸＣｅｌｌｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）中、８０，０００細胞／ウェルで、２４ウェルコラーゲンコーティングプレート（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）にプレーティングした。ＥＭ中での４８時間の成長後、細胞をＰＢＳ中で洗浄し、培地を分化培地（ＤＭ、ｉＸＣｅｌｌｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）に交換した。細胞をＤＭ中で４８時間インキュベートし、次いで、ＰＰＭＯ補充ＤＭで処理し、培地交換なしで４日間インキュベートした。ＧＡＡ活性アッセイ溶解のために、細胞をＰＢＳで１回洗浄し、次いで、氷冷ＧＡＡ活性アッセイ緩衝液（Ａｂｃａｍ）中で溶解した。図１１は、選択されたＰＰＭＯ化合物を用いた処理後の、患者ｉＰＳＣ由来筋管におけるＧＡＡ酵素活性の用量依存性な増加を示す。
【０３３０】
実施例８－脱塩基置換は、ＰＰＭＯ凝集を低減する
ＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）中の一定濃度溶液中のＰＰＭＯ試料の凝集を、製造業者の標準プロトコルを使用してＺｅｔａｓｉｚｅｒ Ｎａｎｏ（Ｍａｌｖｅｒｎ）を使用した動的光散乱によって測定した。図１２は、脱塩基置換が、ＰＰＭＯ凝集を低減することを示す。遊離ＰＰＭＯの比は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって測定された場合、脱塩基置換とともに増加する。
【０３３１】
要約すると、本明細書に提供されるＰＰＭＯ化合物は、ＬＯＰＤ患者由来筋管におけるＧＡＡスプライシングを一貫して補正し、ＧＡＡタンパク質及び酵素活性レベルを増加させた。ヒトＩＶＳ１－ＧＡＡの標的関与が、ＬＯＰＤのマウスモデルで確認された。驚くべきことに、脱塩基サブユニットの置換は、ＧＡＡ酵素を活性な状態に戻すことにおいて、親配列とほぼ同じくらい有効である（例えば、ＰＰＭＯ７対ＰＰＭＯ３３）。興味深いことに、ＤＬＳデータは、脱塩基サブユニットを含むことによって、これらの配列における凝集又は二次構造形成の何らかの変化を示す。

【図面】

【図１】

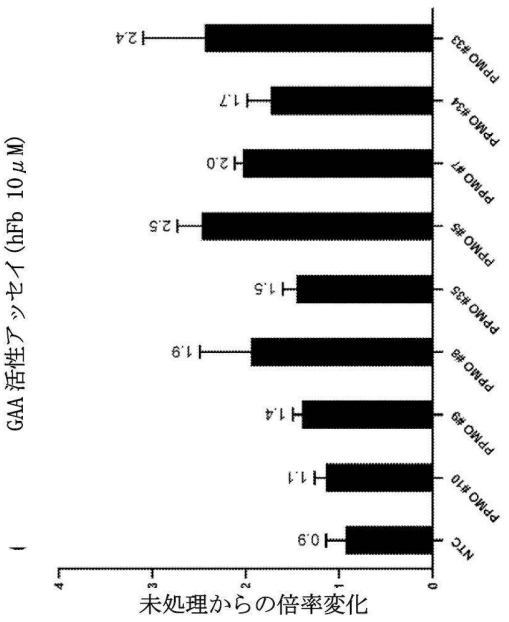


図１

【図２】

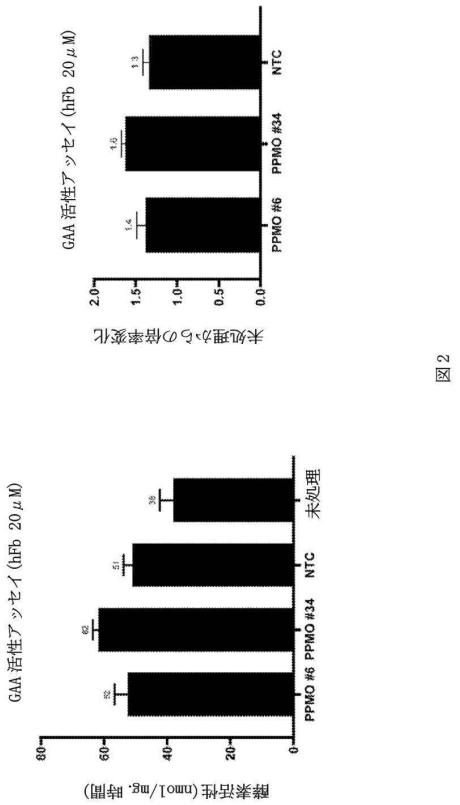


図２

【図３】

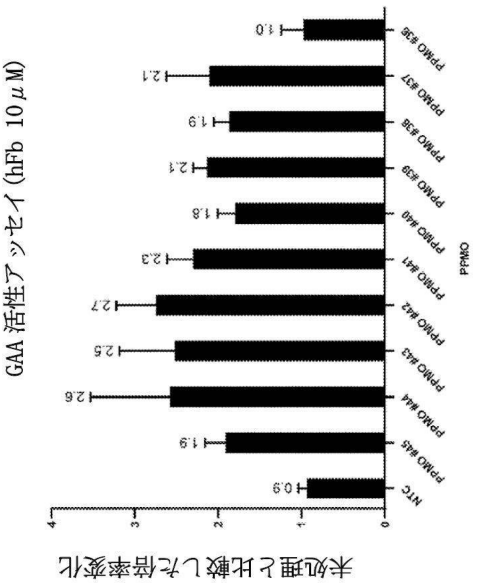


図３

【図４】

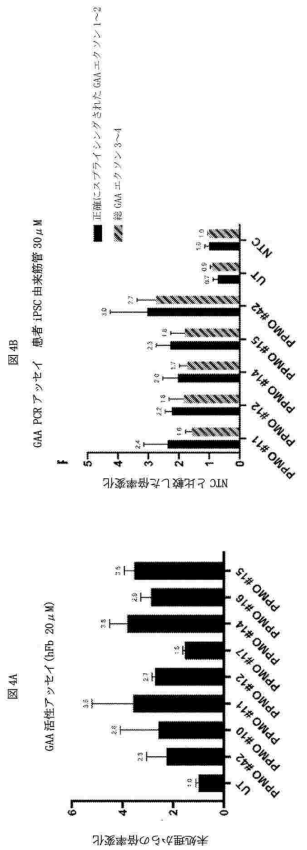


図４

【図５】

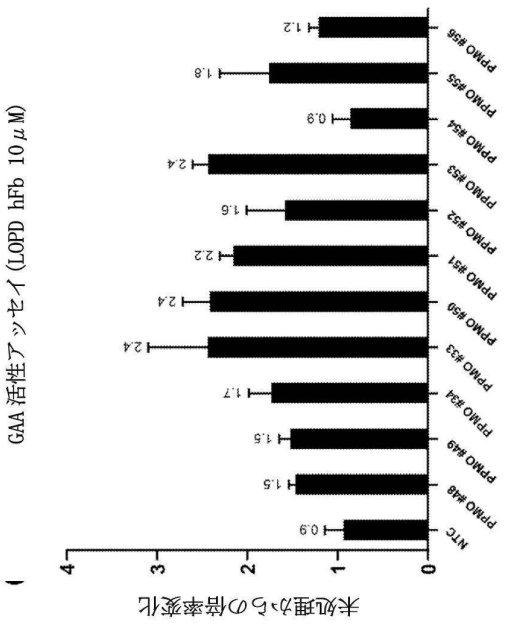


図５

【図６】

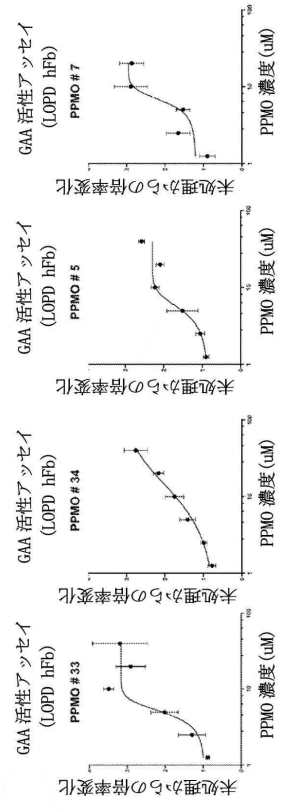


図６

【図７】

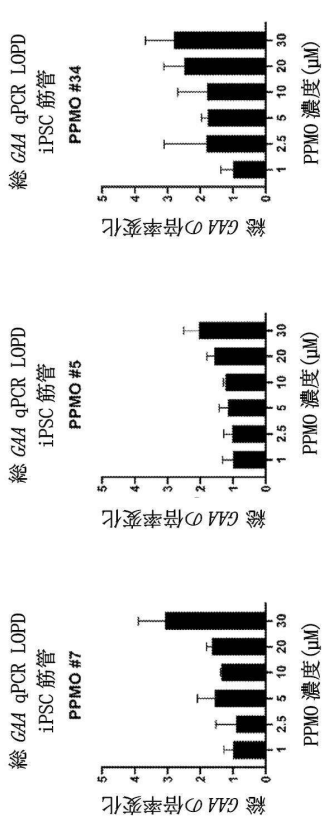


図７

【図８】

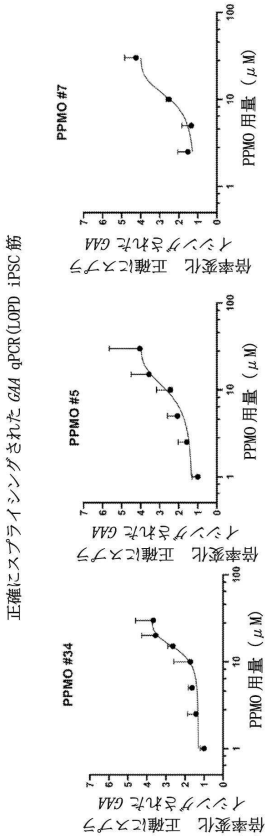


図８

【図９】

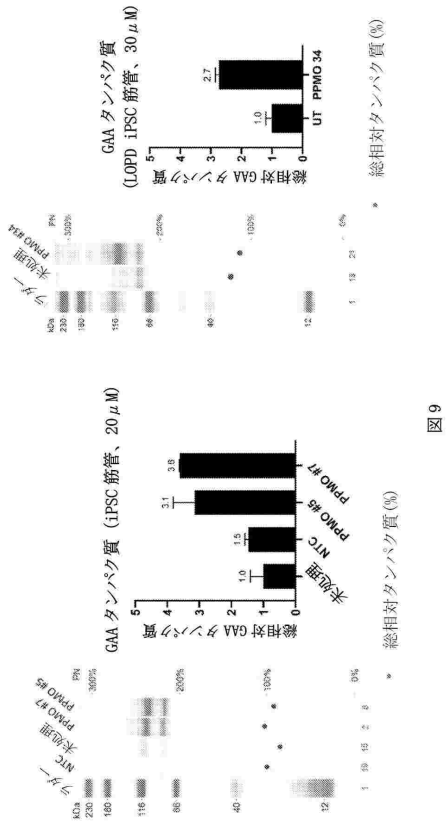


図９

【図１０】

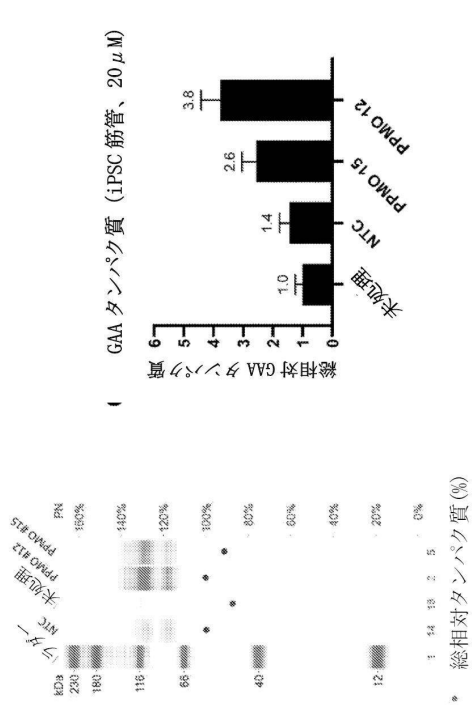


図１０

【図１１】

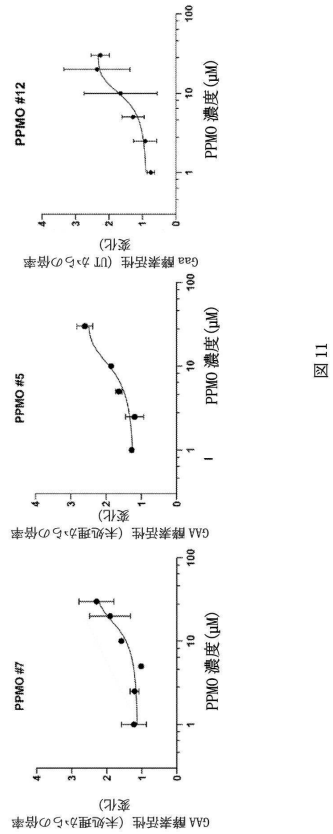


図１１

【図１２】

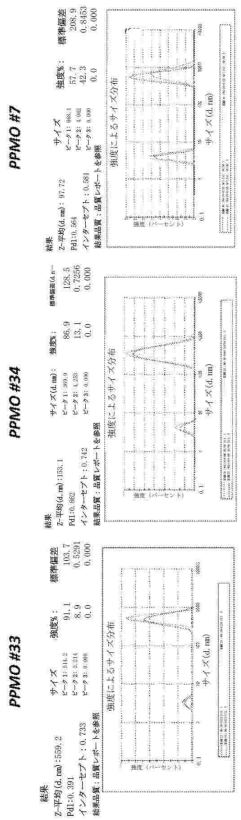


図１２

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/044995

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/113 A61K31/712 A61P21/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, Sequence Search, EMBASE, EMBL

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/190922 A1 (UNIV ERASMUS MEDICAL CT [NL]) 17 December 2015 (2015-12-17)	1-6,10, 11, 14-20, 47-52
Y	pages 79,88; claims 1-20; sequences 12,13,130,190	7-9,12, 13,21-46
A	page 91 - page 99	53-55
Y	WO 2019/079637 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 25 April 2019 (2019-04-25) page 67 - page 96; claims 1,14-18; examples 1,2; sequences 121,123,125	1-52

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 February 2023	27/02/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bucka, Alexander

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/044995

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/138534 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]; UNIV MURDOCH [AU]) 1 September 2016 (2016-09-01) page 44 - page 72; claims 1-16,21; examples 1,3-7; compounds 266,290,292,305,306,329,331	1-52
A	ESPOSITO VERONICA ET AL: "Effects of abasic sites on structural, thermodynamic and kinetic properties of quadruplex structures", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 38, no. 6, 21 December 2009 (2009-12-21), pages 2069-2080, XP93019811, GB ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkp1087 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2847214/pdf/gkp1087.pdf> tables 1-3	1-55
A	WO 2017/184529 A1 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 26 October 2017 (2017-10-26) claims 1,12,24; sequences 60,62,124,130,146	1-55
A	EP 3 085 784 A1 (ENCODEGEN CO LTD [KR]) 26 October 2016 (2016-10-26) claims 1-6; examples 1-5	1-55
A	WO 2018/026284 A1 (ERASMUS UNIV MEDICAL CENTER ROTTERDAM ERASMUS MC [NL]) 8 February 2018 (2018-02-08) page 51; claims 1-10 page 68 - page 70; example; sequences 105,108,367	1-55
A	J. LIU ET AL: "RNA duplexes with abasic substitutions are potent and allele-selective inhibitors of huntingtin and ataxin-3 expression", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 41, no. 18, 24 July 2013 (2013-07-24), pages 8788-8801, XP055185879, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkt594 tables 1,2	1-55

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/044995

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEN JINGYANG ET AL: "DNA oligonucleotides with A, T, G or C opposite an abasic site: structure and dynamics", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 36, no. 1, 19 November 2007 (2007-11-19), pages 253-262, XP93019812, GB ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/nar/gkm622 Retrieved from the Internet: URL:https://academic.oup.com/nar/article-pdf/36/1/253/16747642/gkm622.pdf> figure 1 -----	1-55
A	CHOW GARRICK ET AL: "Aggregation and Disaggregation of Morpholino Oligomers in Solution", MORPHOLINO OLIGOMERS: METHODS AND PROTOCOLS; METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, ISSN 1064-3745, HUMANA PRESS INC, US, vol. 1565, 1 April 2017 (2017-04-01), pages 31-38, XP009542271, ISBN: 978-1-4939-6815-2 figures 1,4 -----	1-55

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/044995

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed.

   b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/044995

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015190922 A1	17-12-2015	AU 2015272128 A1	19-01-2017
		CA 2950878 A1	17-12-2015
		CN 106661580 A	10-05-2017
		EP 3155100 A1	19-04-2017
		EP 4039807 A1	10-08-2022
		ES 2908962 T3	04-05-2022
		HR P20220379 T1	27-05-2022
		IL 284423 A	29-07-2021
		JP 6851201 B2	31-03-2021
		JP 2017522010 A	10-08-2017
		KR 20170008874 A	24-01-2017
		US 2017247704 A1	31-08-2017
		US 2019241897 A1	08-08-2019
		US 2021139913 A1	13-05-2021
		WO 2015190922 A1	17-12-2015
WO 2019079637 A2	25-04-2019	EP 3697910 A2	26-08-2020
		JP 2021500016 A	07-01-2021
		US 2021130822 A1	06-05-2021
		WO 2019079637 A2	25-04-2019
WO 2016138534 A2	01-09-2016	AU 2016224976 A1	14-09-2017
		AU 2020203825 A1	02-07-2020
		BR 112017018383 A2	04-09-2018
		CA 2977528 A1	01-09-2016
		EP 3262056 A2	03-01-2018
		HK 1249106 A1	26-10-2018
		IL 254112 A	28-06-2018
		IL 281199 A	29-04-2021
		JP 2018509143 A	05-04-2018
		JP 2021166543 A	21-10-2021
		MA 41759 A	03-01-2018
		TW 201702378 A	16-01-2017
		US 2018216111 A1	02-08-2018
		WO 2016138534 A2	01-09-2016
WO 2017184529 A1	26-10-2017	AU 2017254106 A1	01-11-2018
		BR 112018071477 A2	19-02-2019
		CA 3021267 A1	26-10-2017
		CN 109414511 A	01-03-2019
		EA 201892366 A1	29-03-2019
		EP 3445405 A1	27-02-2019
		JP 7033547 B2	10-03-2022
		JP 2019513405 A	30-05-2019
		JP 2022082544 A	02-06-2022
		KR 20180134389 A	18-12-2018
		SG 11201808964P A	29-11-2018
		TW 201741459 A	01-12-2017
		US 2019284555 A1	19-09-2019
		US 2022364085 A1	17-11-2022
		WO 2017184529 A1	26-10-2017
EP 3085784 A1	26-10-2016	AU 2014367550 A1	07-07-2016
		BR 112016014155 A2	09-01-2018
		CA 2933171 A1	25-06-2015
		CN 105829535 A	03-08-2016
		EP 3085784 A1	26-10-2016
		JP 6748687 B2	02-09-2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/044995

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		JP 2017502665 A	26-01-2017
		JP 2019030312 A	28-02-2019
		KR 20150070944 A	25-06-2015
		RU 2016129053 A	23-01-2018
		US 2016304878 A1	20-10-2016
WO 2018026284 A1	08-02-2018	AU 2017307962 A1	21-03-2019
		AU 2018285351 A1	16-01-2020
		CA 3032911 A1	08-02-2018
		CA 3067333 A1	20-12-2018
		EP 3494221 A1	12-06-2019
		EP 3638788 A1	22-04-2020
		NL 2019069 A	09-02-2018
		US 2019194661 A1	27-06-2019
		US 2020138846 A1	07-05-2020
		WO 2018026284 A1	08-02-2018
		WO 2018231060 A1	20-12-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/7088(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7088	
Ａ６１Ｋ	*47/42 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/42	

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士　山本 健策

(72)発明者　オリバー， ライアン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ファースト ストリート ２１５

(72)発明者　キム， ケビン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ファースト ストリート ２１５

(72)発明者　アハーン， メーガン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ファースト ストリート ２１５

Ｆターム（参考）　4C076　AA11 AA12 AA17 AA36 AA53 BB01 BB11 BB15 BB21 BB31
CC21 EE41 EE59
4C086　AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA13 MA17 MA22 MA35
MA37 MA52 MA55 MA56 MA63 MA66 NA14 ZC21 ZC51
4H045　AA10 AA30 BA13 BA14 BA15 BA16 EA20