

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-529875
(P2024-529875A)

(43)公表日 令和6年8月14日(2024.8.14)

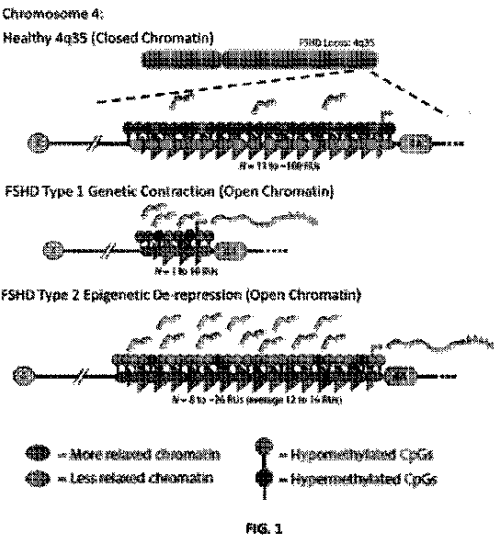
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z	4 C 0 8 6
C 1 2 N	15/88 (2006.01)	C 1 2 N	15/88	Z	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全134頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-501734(P2024-501734)				
(86)(22)出願日	令和4年7月14日(2022.7.14)				
(85)翻訳文提出日	令和6年2月15日(2024.2.15)				
(86)国際出願番号	PCT/US2022/073754				
(87)国際公開番号	WO2023/288289				
(87)国際公開日	令和5年1月19日(2023.1.19)				
(31)優先権主張番号	63/221,568				
(32)優先日	令和3年7月14日(2021.7.14)				
(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, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く				
(71)出願人	522387191 ミレキュール インコーポレイテッド アメリカ合衆国 メリーランド州 208 78 ゲイザースバーグ クインス オー チャード ロード 704 스위트 260				
(74)代理人	100127926 弁理士 結田 純次				
(74)代理人	100216105 弁理士 守安 智				
(72)発明者	アントニー・サーレハ アメリカ合衆国メリーランド州2087 8. ゲイザースバーグ. クインス・オー チャード・ロード704. 스위트14 0. ミレキュール インコーポレイテッド				
(72)発明者	グラント・ベルガード 最終頁に続く				

(54)【発明の名称】 神経筋障害のためのオリゴヌクレオチドおよびその組成物

(57)【要約】

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーのような神経筋疾患に関連するRNA転写物を選択的に阻害するための操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドが本明細書において開示される。これらのいずれかを含有するベクター、これらのいずれかを含有する医薬製剤、およびこれらのいずれかを含有するキットも開示される。顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーのような神経筋疾患に関連するRNA転写物とDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドを接触させることによって、ポリペプチドの発現および活性を選択的に阻害する方法も本明細書において開示される。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

長さが約 15 個から約 25 個までのヌクレオチドである操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドであって、

配列番号 20, 962 ~ 42, 138 のうちのいずれか 1 つと少なくとも約: 80 %、85 %、90 %、または 95 % の配列同一性を含む操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

【請求項 2】

長さが約 15 個から約 25 個までのヌクレオチドであり、

配列番号 42, 006 ~ 42, 138 のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 %、85 %、90 %、または 95 % の配列同一性を含む、請求項 1 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

10

【請求項 3】

個体間で 85 % を超えて保存されている、D U X 4 RNA の結合部位に相補性である、請求項 1 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

【請求項 4】

DNA ヌクレオチドおよび RNA ヌクレオチドを含む、請求項 2 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

【請求項 5】

DNA ヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

20

【請求項 6】

RNA ヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

【請求項 7】

低分子干渉 RNA (s i RNA)、マイクロ RNA (m i RNA)、核内低分子 RNA (s n RNA)、U スプライソソーム RNA (U - RNA)、核小体低分子 RNA (s n o RNA)、P i w i 相互作用 RNA (p i RNA)、反復関連低分子干渉 RNA (r a s s i RNA)、低分子 r DNA 由来 RNA (s r RNA)、トランスファー RNA 由来低分子 RNA (t s RNA)、リボソーム RNA 由来低分子 RNA (r s RNA)、長鎖非コード RNA 由来低分子 RNA (l n c s RNA)、またはメッセンジャー RNA 由来低分子 RNA (m s RNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (A S O)、ギャップマー、ミックスマー、二本鎖 RNA (d s RNA)、一本鎖 RNA i (s s RNA i)、DNA 指向性 RNA 干渉 (d d RNA i)、RNA 活性化オリゴヌクレオチド (RNA a)、またはエクソスキッピングオリゴヌクレオチドである、請求項 6 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

30

【請求項 8】

ロックド核酸の核酸塩基、2' O メチル核酸塩基、または 2' メトキシエチル核酸塩基からなるリストから選択される少なくとも 1 個の核酸塩基を含む、請求項 1 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

40

【請求項 9】

約 45 から約 65 °C までの予測融解温度 (T_m) の水溶液中で D U X 4 コード配列に結合し、ここで、水溶液は約 7.2 から約 7.6 までの pH 範囲を有する、請求項 2 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド。

【請求項 10】

コンジュゲートであって、

i) 請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドと;

ii) 抗体、抗体断片、単一単量体可変抗体ドメイン、天然に存在するリガンド、小分子、またはペプチドと;

50

場合により、 $i i i) i)$ を $i i)$ に連結するリンカーとを含むコンジュゲート。

【請求項 1 1】

ベクターであって、

請求項 1 ～ 9 に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドを含有するまたはコードするベクター。

【請求項 1 2】

ウイルスベクター、ナノ粒子ベクター、リボソームベクター、エキソソームベクター、細胞外小胞ベクター、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 1 1 に記載のベクター。

【請求項 1 3】

リボソームベクターである、請求項 1 2 に記載のベクター。

【請求項 1 4】

ナノ粒子ベクターである、請求項 1 2 に記載のベクター。

【請求項 1 5】

エキソソームベクターである、請求項 1 2 に記載のベクター。

【請求項 1 6】

細胞外小胞ベクターである、請求項 1 2 に記載のベクター。

【請求項 1 7】

医薬組成物であって、

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、

請求項 1 0 に記載のコンジュゲート、

請求項 1 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載のベクター、および

薬学的に許容される：賦形剤、希釈剤、担体、またはそれらの組み合わせを含む医薬組成物。

【請求項 1 8】

緩衝化剤、安定剤、抗酸化剤、凍結保護剤、凍結乾燥剤、希釈剤、またはそれらの任意の組み合わせを含む薬学的に許容される賦形剤を含む、請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

蒸留水、脱イオン水、生理食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液、細胞増殖培地、リン酸緩衝食塩水 (P B S)、またはそれらの任意の組み合わせを含む薬学的に許容される希釈剤を含む、請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

単位用量形態である、請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

キットであって、

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、

請求項 1 0 に記載のコンジュゲート、

請求項 1 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載のベクター、または

請求項 1 7 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物、および

容器

を含むキット。

【請求項 2 2】

容器は、ジャー、アンプル、注射器、バッグ、箱、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 2 1 に記載のキット。

【請求項 2 3】

対象において疾患または状態を処置する方法であって、

請求項 1 7 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の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。

10

20

30

40

50

【請求項 24】

疾患または状態は、DUX4 媒介性疾患または状態である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

DUX4 媒介性疾患または状態は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

対象はそれを必要としている、請求項 23 ～ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

それを必要とする対象はそれを必要とするヒト対象である、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

投与は、対象の体重 1 kg 当たり約 0.001 mg から約 10,000 mg までの医薬製剤の量での投与である、請求項 23 ～ 27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

投与は、経口、鼻腔内、直腸に、局所に、眼内、筋肉内、静脈内、腹腔内、心臓内、皮下、頭蓋内、くも膜下腔内、またはそれらの任意の組み合わせの投与である、請求項 23 ～ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

医薬組成物は、

約 1 ml ～ 約 5 ml、約 5 ml ～ 10 ml、約 15 ml ～ 約 20 ml、約 25 ml ～ 約 30 ml、約 30 ml ～ 約 50 ml、約 50 ml ～ 約 100 ml、約 100 ml ～ 150 ml、約 150 ml ～ 約 200 ml、約 200 ml ～ 約 250 ml、約 250 ml ～ 約 300 ml、約 300 ml ～ 約 350 ml、約 350 ml ～ 約 400 ml、約 400 ml ～ 約 450 ml、約 450 ml ～ 500 ml、約 500 ml ～ 750 ml、または約 750 ml ～ 1000 ml

の体積で投与される液体剤形を含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

医薬組成物は、液体剤形、固体剤形、吸入可能な剤形、鼻腔内剤形、リポソーム製剤、丸薬の形態、カプセルの形態、ゲル、またはそれらの任意の組み合わせである、請求項 23 ～ 30 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

投与は、全身投与または局所投与を含む、請求項 23 ～ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

非経口投与、静脈内投与、皮下投与、くも膜下腔内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、血管内投与、注入、経口投与、吸入投与、十二指腸内投与、眼内投与、経皮投与、直腸投与、またはそれらの任意の組み合わせのうちの少なくとも 1 つを含む全身投与を含む、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

併用療法を同時にまたは逐次的に投与することをさらに含む、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 35】

方法であって、

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の操作された DUX-4 標的指向性オリゴヌクレオチドを対象に投与することを含み、

投与の後、操作された DUX-4 標的指向性オリゴヌクレオチドは異なる 2 つの内因性疾患関連 RNA に選択的にハイブリダイズし、ここで、異なる 2 つの内因性疾患関連 RNA のうちの 1 つは、第 1 の遺伝子座から転写された DUX4 RNA であり、そして異なる 2 つの内因性疾患関連 RNA のうちの 1 つは、第 1 の遺伝子座とは異なる遺伝子座から転写されている、方法。

【請求項 36】

異なる2つの内因性疾患関連RNAのうちの第2のRNAは、配列番号42139～42894から選択される、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

操作されたDUX4－標的指向性オリゴヌクレオチドは、第1の遺伝子座とは異なる遺伝子座から転写された内因性疾患関連RNAにハイブリダイズし、その結果、ハイブリダイゼーションの際に結合部位に4つ以下のミスマッチ、バルジ、挿入または欠失が存在し、結果として生じる二重鎖は、少なくとも7個の連続した核酸塩基の長さの相補性の2つの領域、または少なくとも10個の連続した核酸塩基の長さの1つの領域を含有する、請求項35に記載の方法。

【請求項38】

DUX4媒介性疾患または状態である疾患または状態を処置する方法である、請求項35に記載の方法。

【請求項39】

DUX4媒介性疾患または状態は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、請求項37に記載の方法。

【請求項40】

操作されたDUX4－標的指向性オリゴヌクレオチドと第2のRNAとの間のハイブリダイゼーションの際、予測される熱融解点が約40℃～約65℃である、請求項8に記載の方法。

【請求項41】

神経筋疾患の処置に使用するための組成物であって、
請求項1～9のいずれか1項に記載の操作されたDUX4－標的指向性オリゴヌクレオチド、
請求項10に記載のコンジュゲート、
請求項11～16のいずれか1項に記載のベクター、
請求項17～20のいずれか1項に記載の医薬組成物
および薬学的に許容される：賦形剤、希釈剤、または担体を含む組成物。

【請求項42】

神経筋疾患は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、請求項41に記載の使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2021年7月14日出願の米国仮出願第63／221，568号の利益を主張し、その開示は参照によってその全体を本明細書に組み入れる。

【0002】

参照による組み入れ

本明細書において言及されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、それぞれ個々の刊行物、特許、または特許出願が具体的かつ個別に参照によって組み入れると示されたのと同程度に、参照によって本明細書に組み入れる。参照により組み入れる刊行物および特許または特許出願が本明細書に含まれる開示と矛盾する限り、本明細書はこのような何らかの矛盾する資料に取って代わることおよび／またはそれに優先することが意図される。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

本開示のある特定の態様は、長さが約15個から約25個までのヌクレオチドである操作されたDUX4－標的指向性オリゴヌクレオチドに関するものであり、操作されたDUX

10

20

30

40

50

X 4－標的指向性オリゴヌクレオチドは、配列番号 20, 962～42, 138 のうちのいずれか 1 つと少なくとも約：80%、85%、90%、または 95% の配列同一性を含む。さらに、操作された D U X 4－標的指向性オリゴヌクレオチドは、長さが約 15 個から約 25 個までのヌクレオチドとすることができ、配列番号 42, 006～42, 138 のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80%、85%、90%、または 95% の配列同一性を含むことができる。

【0004】

ある特定の場合では、操作された D U X 4－標的指向性オリゴヌクレオチドは DNA ヌクレオチドおよび RNA ヌクレオチドを含む。一部の場合では、本オリゴヌクレオチドは DNA ヌクレオチドを含む。一部の場合では、オリゴヌクレオチドは RNA ヌクレオチドを含む。ある特定の場合では、オリゴヌクレオチドは、低分子干渉 RNA (s i R N A)、マイクロ RNA (m i R N A)、核内低分子 RNA (s n R N A)、U スプライソソーム RNA (U－R N A)、核小体低分子 RNA (s n o R N A)、P i w i 相互作用 RNA (p i R N A)、反復関連低分子干渉 RNA (r a s i R N A)、低分子 r D N A 由来 RNA (s r R N A)、トランスファー RNA 由来低分子 RNA (t s R N A)、リボソーム RNA 由来低分子 RNA (r s R N A)、長鎖非コード RNA 由来低分子 RNA (l n c s R N A)、またはメッセンジャー RNA 由来低分子 RNA (m s R N A) である。上記のオリゴヌクレオチドは、ある特定の場合では、少なくとも 1 個のロックド核酸の核酸塩基を含むことができる。

【0005】

上記の D U X 4－標的指向性オリゴヌクレオチドは、約 45 から約 65℃ までの予測融解温度 (T_m) の水溶液中で D U X 4 コード配列に結合することができ、ここで、水溶液は約 7.2 から約 7.6 までの pH 範囲を有する。

【0006】

本開示の別の態様は、

i) 上記の D U X 4－標的指向性オリゴヌクレオチドのコンジュゲートであり、ここで、コンジュゲートは、オリゴヌクレオチドと、抗体、抗体断片、単一単量体可変抗体ドメイン、天然に存在するリガンド、小分子、またはペプチドと；
場合により、i i i) i) を i i) に連結するリンカーとを含む。

【0007】

本開示の別の態様は、本明細書に記載のコンジュゲートまたは本明細書に記載のオリゴヌクレオチドを含有するまたはコードするベクターに関する。ある特定の場合では、ベクターは、ウイルスベクター、ナノ粒子ベクター、リボソームベクター、エキソソームベクター、細胞外小胞ベクター、またはそれらの組み合わせを含むことができる。ベクターはリボソームベクターであってもよい。ベクターはナノ粒子ベクターであってもよい。ベクターはエキソソームベクターであってもよい。ベクターは細胞外ベクターであってもよい。

【0008】

本開示の別の態様は、本明細書に記載の操作された D U X 4－標的指向性オリゴヌクレオチド、本明細書に記載のコンジュゲート、請求項 10～15 のいずれか 1 項に記載のベクターである本明細書に記載のベクター、および薬学的に許容される：賦形剤、希釈剤、担体、またはそれらの組み合わせを含む医薬組成物に関する。ある特定の場合では、薬学的に許容される賦形剤は、緩衝化剤、安定剤、抗酸化剤、希釈剤、またはそれらの任意の組み合わせを含む。ある特定の例では、薬学的に許容される希釈剤は、蒸留水、脱イオン水、生理食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液、細胞増殖培地、リン酸緩衝食塩水 (P B S)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。本明細書に記載の医薬組成物は、単位用量形態とすることができ。

【0009】

本開示の別の態様は、本明細書に記載の操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、本明細書に記載のコンジュゲート、本明細書に記載のベクター、または本明細書に記載の医薬組成物、および容器を含むキットに関する。ある特定の場合では、容器は、ジャー、アンプル、注射器、バッグ、箱、またはそれらの組み合わせを含むことができる。

【0010】

本開示の別の態様は、対象において疾患または状態を処置する方法であって、本明細書に記載の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である。疾患または状態は、DUX4媒介性疾患または状態である。DUX4媒介性疾患または状態は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである。対象は、それを必要とする対象とすることができる。対象は、それを必要とするヒト対象とすることができる。

10

【0011】

本方法では、投与は、対象の体重1kg当たり約0.001mgから約10,000mgまでの医薬製剤の量での投与である。投与は、経口、鼻腔内、直腸に、局所に、眼内、筋肉内、静脈内、腹腔内、心臓内、皮下、頭蓋内、くも膜下腔内、またはそれらの任意の組み合わせの投与とすることができる。

【0012】

本方法は、医薬組成物を使用することができ、ここで、医薬組成物は、約1ml~約5ml、約5ml~10ml、約15ml~約20ml、約25ml~約30ml、約30ml~約50ml、約50ml~約100ml、約100ml~150ml、約150ml~約200ml、約200ml~約250ml、約250ml~約300ml、約300ml~約350ml、約350ml~約400ml、約400ml~約450ml、約450ml~500ml、約500ml~750ml、または約750ml~1000mlの体積で投与される液体剤形である。ある特定の場合では、医薬組成物は、液体剤形、固体剤形、吸入可能な剤形、鼻腔内剤形、リポソーム製剤、丸薬の形態、カプセルの形態、ゲル、またはそれらの任意の組み合わせである。

20

【0013】

ある特定の場合では、投与は全身投与または局所投与を含む。投与は、全身投与とすることができ、ここで、全身投与は：非経口投与、静脈内投与、皮下投与、くも膜下腔内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、血管内投与、注入、経口投与、吸入投与、十二指腸内投与、直腸投与、またはそれらの任意の組み合わせのうちの少なくとも1つを含む。

30

【0014】

ある特定の場合では、本方法は、併用療法を同時にまたは逐次的に投与することをさらに含む。

【0015】

本開示の別の態様は、本明細書に記載のものの操作されたDUX-4標的指向性オリゴヌクレオチドを投与する方法に関係し、投与の後、操作されたDUX-4標的指向性オリゴヌクレオチドは異なる2つの内因性疾患関連RNAに選択的にハイブリダイズし、ここで、異なる2つの内因性疾患関連RNAのうちの1つは、第1の遺伝子座から転写されたDUX4 RNAであり、そして異なる2つの内因性疾患関連RNAのうちの1つは、第1の遺伝子座とは異なる遺伝子座から転写されている。なおさらに、ある特定の場合では、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、第1の遺伝子座とは異なる遺伝子座から転写された内因性疾患関連RNAにハイブリダイズし、その結果、操作されたDUX4標的指向性オリゴヌクレオチドの少なくとも10個の連続したオリゴヌクレオチドは、少なくとも1個の核酸塩基によって中断されている、連続した塩基の少なくとも2つの異なる連続したセクションにハイブリダイズする。本方法は、DUX4媒介性疾患または状態である疾患または状態を処置する方法とすることができる。疾患または状態は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーとすることができる。操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドと第2のRNAとの間のハイブリダイゼーションの際、予測される熱融解点が約40℃~約65℃とすることができる。

40

50

【0016】

本開示の別の態様は、神経筋疾患の処置に使用するための組成物であって、本明細書に記載の操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、本明細書に記載のコンジュゲート、本明細書に記載のベクター、本明細書に記載の医薬組成物および薬学的に許容される：賦形剤、希釈剤、または担体を含む組成物である。組成物は、神経筋疾患が顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである場合に使用するためとすることができる。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】FSHDをもたらす遺伝子組換えを示す、図である。

【図2】D4Z4領域に起源をもつ選択的スプライシングのDUX4転写物を示す、図である。

10

【図3】FSHDおよび健康な筋生検組織由来の選択的スプライシングのDUX4転写物のRNA-Seqデータからの読取りカバレッジの概略を示す、図である。

【図4】精巣由来の選択的スプライシングのDUX4転写物のRNA-Seqデータからの読取りカバレッジの概略を示す、図である。

【図5】未修飾オリゴと比較した、化学修飾された抗DUX4 ASOの血清安定性を示す、図である。

【図6A】自然免疫賦活化の減少を図示する、図である。図6Aは操作された抗DUX4 ASOへのPBMC曝露後の、自然免疫によるIFN α およびTNF α の産生の減少を表す、図である。

20

【図6B】自然免疫賦活化の減少を図示する、図である。図6Bは、Raw-blue cellアッセイによる、操作されたDUX4 ASOへの自然免疫賦活化の減少を図示する、図である。

【図7】3'UTRにDUX4のコード配列を有するeGFPを発現する安定なヒトまたはマウス筋芽細胞を用いたDUX4 ASO HTSアッセイ計画を示す、図である。

【図8A】DUX4 mRNAのノックダウンを示す、図である。図8Aは、治療用ASOがFSHD筋管においてDUX4の強力なノックダウンを有することを示す、図である。

【図8B】DUX4 mRNAのノックダウンを示す、図である。図8Bは、FSHD筋管における、DUX4ならびにDUX4誘導性遺伝子ZSCAN4およびSLC34A2のノックダウンを示す、図である。

30

【図9】多重標的のASOによるFSHD患者の筋芽細胞におけるDUX4転写物およびDBET RNA転写物の同時ノックダウンを示す、図である。

【図10】FSHD関連遺伝子およびパスウェイを特定するためのデータ解析の図式的外観を示す、図である。

【図11】水平ギャップ（上から下へ）によって分けられた6つのFSHD関連生物学的機能：DUX4調節、細胞外マトリックス、細胞周期、免疫／炎症応答、免疫グロブリンおよび筋肉発達関連を表す遺伝子の発現を示す、図である

【図12A】特定された共標的による潜在的な効果の例示的なパスウェイを示す、図である。図12Aは、Xieら（18）による細胞増殖におけるKi-67のパスウェイ調節を示す、図である。

40

【図12B】特定された共標的による潜在的な効果の例示的なパスウェイを示す、図である。図12Bは、Elkonら（19）による炎症性シグナル伝達におけるIRF5の誘導を示す、図である。

【図13】患者の生検サンプルにおけるIRF5およびMKI67のRNA発現を示す、図である。

【図14A】多重標的指向性ASOによる共標的化転写物の検証を示す、図である。図14Aは、ASOによる処理後の筋芽細胞を示す。

【図14B】多重標的指向性ASOによる共標的化転写物の検証を示す、図である。図14Bは、ASOで処理した筋芽細胞から得られたRNA（DUX4、DBET、IRF5、およびMKI67）からのqRT-PCRの結果を示す。

50

【図 15】本明細書において開示される方法およびシステムを示すダイアグラムである。

【図 16】遺伝物質を解析するようにプログラムされたコンピュータ制御システムを示す、図である。

【発明を実施するための形態】

【0018】

概要

【0002】顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）は、筋ジストロフィー（MD）の第3位の最も一般的な形態であり、米国では症状を呈する患者がおよそ40,000人である（1、2）。全FSHD患者の95%を占めるFSHDタイプ1（FSHD1）は、およそ100から11未満への染色体4q35上のD4Z4リピート数の減少の結果である（3）。FSHDタイプ2（SHD2）は、後成的因子、structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain containing 1（SMCHD1）における機能欠失型突然変異の結果である（3）（図1）。どちらの遺伝的突然変異もD4Z4領域の低メチル化をもたらし、このことは、D4Z4内にコードされている二重ホメオボックス4タンパク質（DUX4）遺伝子の不適当な発現を可能にする。DUX4の異常発現は筋肉組織に対して重度に毒性であり、したがって、筋細胞の酸化ストレスとアポトーシスをもたらして筋機能を劣化させる（4、5）。FSHDにより、顔、肩、腕、腹部および脚の筋肉の進行性の筋力低下という結果になる。患者の約20%は最終的に車椅子生活である（6）。1〜3つのD4Z4リピートのみが残っている場合は、よりいっそう重度で急速に進行する障害が結果として生じ（7）、多くの場合、小児期発症（8）および聴力と視力の喪失（9）が伴う。もしDUX4発現を筋肉組織で排除することが可能であれば、FSHD1および2の進行を停止することが可能であるという、広範な科学的コンセンサスが当分野に存在する（10〜12）。いくつかの研究では、RNAオリゴヌクレオチド治療薬がDUX4を直接抑制し、in vitroでおよびマウスモデルで筋肉の病状を好転させる可能性を有することが示されてきた（13〜16）。しかし、DUX4が標的のオリゴヌクレオチド治療薬の相補性結合部位の保存は依然として問題点である。

【0019】

あらゆる障害を処置するために設計されたオリゴヌクレオチド治療薬（ONT）は、疾患転写物の標的RNA結合部位に完全に相補性である場合、標的化転写物を調節する際に最も効果的となるであろう。加えて、標的化結合配列は、本障害の患者間で変動性が低いことが必要である。そうでない場合、標的結合部位に疾患遺伝子の配列にSNPまたは突然変異を有する患者は、治療用オリゴヌクレオチドと完全に相補性ではない場合があり、したがって、ONTによる疾患遺伝子の完全なサイレンシングには至らない結果となる。本出願は、初めて、DUX4遺伝子／エクソン内の保存されたバリエーション配列を決定するという問題を解決し、臨床的に意義のあるDUX4バリエーションを標的とするRNA治療薬を特定し、かつ効能と安定性のために優れた構造改変を備えるRNA治療薬を生み出すものである。

【0020】

通常、数百〜数千の個体を含む配列データベースを使用して、オリゴヌクレオチド治療薬（ONT）に向けて高度に保存された結合部位を選択する（20）。しかし、こういったデータベースを使用してDUX4遺伝子の変動性を正確に予測することはできない。課題は、DUX4の保存された治療標的を見つけることである。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの解決策および生成および検証が本明細書において開示される。ほとんどの公開配列データベースでは、DNA断片配列決定技術を利用して、集団から配列データが効率的にかつ安価に収集される。これは、数百塩基の長さのピースであって、クローン化し増幅し配列が決定されるピースへと長いゲノムDNAを断片化することを伴う。次いで、個々の断片が、より大きな既知の参照ゲノム配列にマッピングされる。このような技術は、反復配列を正確に区別する際にまたはマッピングする際に効果的ではないことが知られている（21）。

【0021】

DUX4遺伝子のコード領域は、4番染色体上の各D4Z4リピートに存在する。正常な個体由来のDNAは、各4番染色体上にD4Z4の11～200コピーを含有する（12）。加えて、DUX4含有D4Z4リピートは10番染色体上にも見いだされる。しかし、10番染色体上のD4Z4リピートの欠失は、DUX4コード配列の下流エクソン3～5が欠如していることに起因して、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）の発生とは関連しない。したがって、10番染色体のDUX4コード配列に見いだされる配列のばらつきはONTの設計にとって重要ではないと思われる。さらに、D4Z4偽遺伝子が同様にヒトゲノム全体を通して見いだされ（22）、D4Z4のDUX4配列とDUXファミリーメンバーDUX1～DUX5をコードする他の反復性DNA配列との間に顕著な配列の重複が存在する（23）。このゲノムの複雑さにより、D4Z4リピートと重複する配列決定されたDNA断片のマッピングが不十分になり、それらがどのゲノム遺伝子座に起源をもつかということにほとんど確信が持てない。FSHD患者におけるDUX4コード配列の変異を予測する上で、ゲノムの複雑さにより、配列データと列記された変異がDUX4の保存された配列を正確に予測することができるということに確信がほとんどもてないという問題が生み出されるが、これは、データの大半に、FSHD患者の4番染色体の1コピー上に存在する疾患の原因であり短縮されたD4Z4リピートアレイとは関係しない、他のゲノム位置からの配列変異が混在しているからである。論理的な解決策の1つは、FSHD患者の筋生検からのRNA配列データを使用することであると思われる。実施例1に示すように、このようなアプローチでは、DUX4コード配列のばらつきの予測を可能とする十分なデータはもたらされない。

10

20

【0022】

本開示は、初めて、DUX4遺伝子／エクソン内の保存されたバリエーション配列を決定するという問題を解決し、臨床的に意義のあるDUX4バリエーションを標的とするONT治療薬を特定し、かつ効能と安定性のために優れた構造改変を備えるONT治療薬を生み出すものである。

【0023】

206人の対象の内>85%で保存されているDUX4コード配列の全領域を表す配列が本明細書に開示される（表4）。これらの領域を特定するために、本発明者らが驚くべきことに発見したことは、実施例3に示すように、患者の筋生検からのRNA-seqデータを、精巣サンプルからのRNA-seqと組み合わせたデータベースへと組み合わせることによって、RNA-seqデータにおいて十分なリード数を特定することができる、ということである。低レベルのDUX4発現が精巣の配偶子細胞で観察されることは当技術分野で知られているが（24）、一方、当業者は、精巣RNA配列からDUX4疾患転写物の変動性を予測することができるとはこれまで期待していなかったと思われるが、これは、精巣で発現されるDUX4転写物は、差次的にスプライスされており、疾患を引き起こすと予測されるDUX4の筋肉特異的転写物に含まれるエクソン1、エクソン2、およびエクソン3の領域を欠くことが報告されていたからである（25）（図2）。これら2つの組織からのRNA-seqデータを単一のデータセットに組み合わせることで、本発明者らは、DUX4疾患遺伝子全体にわたって十分なリードカバレッジを生成し、その結果、85%超で保存されているとともにほとんどの患者を効果的に処置することができると思われる領域を予測することができた。

30

40

【0024】

相補性RNAの切断とそれに続く分解用のRNase Hに依存するアンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）は、意図されたRNA標的の他にも多くのRNAを発現停止させることができ、実際に発現停止させる（26、27）。これらの非標的RNAは、多くの場合、オフターゲット効果と呼ばれる。ギャップマーASOの場合、このようなことが起こるのは、オリゴヌクレオチドのDNA部分が部分的に相補性の標的部位に結合し、RNase H切断を誘導することにより、意図されないRNAオフターゲットの分解を引き起こす場合、である。慎重な配列解析により、これらの潜在的な相互作用の多くを特定

50

することができる。しかし、単純な配列アライメントによると、多くの場合、本当のオフターゲット相互作用が正確に予測されない。本発明者らは、RNA治療薬向けのオフターゲット効果を予測および追跡するためのデータ解析パイプラインを開発したが、これは、構造モチーフおよび結合エネルギーも考慮し、その結果、予測を改善する（WO 2021 203043）。

【0025】

当分野での一般的実務とは、オリゴヌクレオチドの設計においてできる限りオフターゲット効果を回避することである。本明細書に記載の新規なアプローチとは、その代わりに、オフターゲットに全体的に目を向けることである。本発明者らは、まず、Toxnet および Ingenuity Pathway Analysis (IPA) のような毒性データベースを通して予測される標的をフィルタリングすることによって、潜在的に有害でありかつ毒性を引き起こすと思われるものを探す。本発明者らはまた、サブセットで甚だしく過剰発現している遺伝子を探すことにより、FSHD患者からの筋生検のトランスクリプトームプロファイルの解析を通して疾患パスウェイに関連する可能性のある、または、炎症、筋細胞分裂もしくは細胞死パスウェイのような既知の疾患パスウェイに関連する可能性のある、オフターゲットについて検討する。

10

【0026】

本情報により、どのASO配列を合成、試験および検証するかに関する優先順位付けが可能となる。次いで、高ノックダウン能力と高疾患関連性を有するオフターゲットを実証するASOを使用して、分化した筋管における*in vitro*でのオフターゲット転写物のノックダウンをqRT-PCRによって検証する。

20

【0027】

定義

別途明示しない限り、非限定用語、例えば「含有する (contain)」、「含有すること (containing)」、「含む (include)」、「含むこと (including)」等とは、「含むこと (comprising)」を意味する。

【0028】

単数形の「a」、「an」、および「the」とは、文脈上明確に指示されない限り、複数の参照を含んで本明細書では使用される。したがって、反対の指示がない限り、本出願に記載された数値パラメータは、得ようとする所望の特性に応じて変化してもよい近似値である。

30

【0029】

本明細書で使用される場合、「約」という用語は、参照された数値表示にプラスまたはマイナスで：当該の参照された数値表示の5%、10%、15%、または20%を意味することができる。一部の 경우에는「約」とは、参照された数値表示にプラスまたはマイナスで当該の参照された数値表示の15%を意味する場合がある。一部の 경우에는「約」とは、参照された数値表示にプラスまたはマイナスで当該の参照された数値表示の20%を意味する場合がある。生物システムまたはプロセスに関しては、この用語は、ある値の1桁以内、5倍以内、または2倍以内を意味することができる。本出願および特許請求の範囲に特定の値が記載されている場合、特に示さない限り、特定の値について許容される誤差範囲内を意味する「約」という用語が想定されるべきである。また、値の範囲および／または部分的な範囲が提供される場合、範囲および／または部分的な範囲は、範囲および／または部分的な範囲の終点を含むことができる。

40

【0030】

本明細書で使用される「実質的に」という用語は、所与の値の100%に近づく値を指すことができる。一部の 경우에는、この用語は、総量の少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%または約100%とすることができる量を指すことができる。

【0031】

「相同性」という用語は、参照配列に対する配列の同一性の%を指すことができる。実

50

際問題として、特定の任意の配列が本明細書に記載の任意の配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%または99%同一とすることができるかどうか（本明細書に記載の特定の核酸配列と一致することができる）、このような特定のポリペプチド配列は、Bestfitプログラム（Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711）のような既知のコンピュータプログラムを使用して従来通りに判定することができる。Bestfitまたは他の任意の配列アライメントプログラムを使用して、特定の配列が、例を挙げると、参照配列と95%同一であるかどうかを判定する場合、同一性のパーセンテージが参照配列の完全長にわたって算出されるように、および、参照配列全体の5%までの相同性のギャップが許容されるように、パラメータを設定することができる。本明細書に開示の任意の配列はまた、開示の配列と約：75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を備える配列を含む。

10

【0032】

「オリゴヌクレオチド」という用語は、化学的に修飾されているか否かにかかわらず、DNA、RNA、またはハイブリッド核酸配列を指すことができ、この場合、例えば、通常はDNAの場合のような一本鎖が、標的RNAに逆相補性で結合する。RNAの場合、オリゴヌクレオチドは、通常はmiRNAの場合と同様に一本鎖である場合があり、この場合、一本鎖は標的RNA配列に逆相補性で結合する。他の例では、RNAオリゴヌクレオチドは二本鎖である場合もあることに関して、例えば、通常はsiRNAの場合と同様であり、この場合、一方の鎖が標的RNA配列に逆相補性で結合する。

20

【0033】

本明細書で使用される場合、一部の例では、用語「標的指向性」という用語および「標的とされた」という用語は互換的に使用することができ、例えば、DUX4を標的とするオリゴヌクレオチドは、DUX4－標的指向性オリゴヌクレオチドまたはDUX4を標的とするオリゴヌクレオチドとすることができる。DUX4を標的とするオリゴヌクレオチドは、DUX4－標的指向性オリゴヌクレオチドとすることができる。標的指向性配列は、DUX4転写物に対して逆相補性を有することができる。一部の例では、標的指向性配列は、DUX4転写物および1つまたはそれ以上のさらなる遺伝子座、またはその転写物と少なくとも部分的な逆相補性を有することができる。一部の例では、遺伝子座

30

【0034】

「断片」という用語は、本明細書で使用される場合、配列の一部、完全長配列よりも短くてもよいサブセットとすることができる。断片は、遺伝子の一部である場合がある。断片は、ペプチドの一部またはタンパク質の一部である場合がある。断片は、アミノ酸配列の一部である場合がある。断片は、オリゴヌクレオチド配列の一部である場合がある。断片は、長さが約：20、30、40、50個未満のアミノ酸である場合がある。断片は、長さが約：2、5、10、20、30、40、50個未満のオリゴヌクレオチドである場合がある。

40

【0035】

本明細書で使用される「後成的マーカー」という用語は、核酸塩基のあらゆる共有結合修飾とすることができる。

【0036】

「投与する」、「投与すること」、「投与」等の用語は、本明細書で使用される場合、生物学的作用の所望の部位への化合物または組成物の送達を可能にするために使用することができる方法を指すことができる。「送達」という用語には、身体の影響を受けた組織または領域への直接適用が含まれる。

【0037】

50

「対象」、「宿主」、「個体」、および「患者」という用語は本明細書において互換的に使用されて、動物、典型的には哺乳動物を指す。

【0038】

「処置する (treat)」、「処置すること (treating)」、および「処置 (treatment)」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも部分的に：疾患もしくは状態の症状を軽減、緩和もしくは改善すること；さらなる症状を予防すること；症状の根底にある原因を改善もしくは予防すること；症状の再発を予防すること；疾患もしくは状態を阻害すること、例えば、疾患もしくは状態の発生を少なくとも部分的に阻止すること；疾患もしくは状態を緩和すること；疾患もしくは状態の退行を引き起こすこと；疾患もしくは状態によって引き起こされた状態を緩和すること；または、予防的、治療的いずれかで、もしくは両方で、疾患もしくは状態の症状を停止させることを含意し得る。

10

【0039】

本明細書で使用される場合、「作用剤」または「生物学的活性剤」とは、生物学的、医薬的、または化学的化合物、またはこれらの構造物のいずれかの塩を指すことができる。

【0040】

本明細書で使用される「組織」という用語は、あらゆる組織サンプルとすることができる。組織は、疾患または状態を有することが疑われる組織であっても、それらを有することが確認される組織であってもよい。

【0041】

「哺乳動物細胞」という用語は、あらゆる哺乳動物細胞、典型的にはヒト細胞を指すことができる。

20

【0042】

操作された DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド

本明細書の開示は、選択された DUX4 標的位置を含む RNA 転写物の治療用標的指向性を提供する。RNA 医学では、主たる 2 つの方法：二本鎖 RNA 媒介性干渉 (RNAi) およびアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) が用いられる。総じて、RNAi はリボヌクレアーゼを活性化することによって機能することができ、リボヌクレアーゼは、元の RNA 標的がより小さい小片に切断された後、他の酵素および複合体とともに RNA を協調的に分解する。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ワトソン・クリック塩基対形成を介してその標的核酸に結合することができ、立体障害、スプライシングの変化、標的分解の開始、またはその他の事象を介して遺伝子発現を阻害または変更することができる。

30

【0043】

本開示のある特定の態様では、オリゴヌクレオチド治療薬 (ONT) は、標的化転写物を調節することが適用できる任意の障害を処置するように設計することができる。ある特定の態様では、処置とは、ダウンレギュレーションを必要とする転写物を有する疾患の標的 RNA 結合部位に関して、1 つもしくはそれ以上の実質的にまたは完全に相補性の ASO を用いるものである。ある特定の場では、オリゴヌクレオチド治療薬は主に DNA であり、他の場では、オリゴヌクレオチドは主に RNA である。一般に、DUX4 を効率的に標的とする ASO は融合転写物に結合し、RNAse H を通して分解を誘導することができる。

40

【0044】

本開示の他の態様では、DUX4 RNA 転写物に相補性である配列を含む siRNA または miRNA のような干渉 RNA は、そのような標的化転写物を調節することが適用できる任意の障害を処置するように設計することができる。ある特定の態様では、siRNA は二本鎖であり、この場合、一方の鎖が相補性である。RISC は、miRNA または siRNA のガイド鎖を使用して、ワトソン・クリック塩基対形成を介して mRNA 転写物の相補性の 3'-非翻訳領域 (3' UTR) を標的とし、その結果、RISC が、mRNA 分解のようないくつかの方法で mRNA 転写物の遺伝子発現を調節することを可能に

50

し、その結果、このことによって選択されたmRNAのタンパク質発現を防止するかまたは減少させる。

【0045】

言及されたオリゴヌクレオチドはmiRNAを含むことができる。このようなmiRNAは、1つまたはそれ以上の配列修飾、1つまたはそれ以上の化学修飾、またはそれらの組み合わせを含有することができ、これらの修飾は：miRNAの安定性を増強することができる；免疫賦活化（自然免疫応答を介するような）を実質的に減少させるかまたは排除することができる；miRNAの薬理活性を改善することができる；miRNAの多標的指向性（poly-targeting）効果を保持することができる；またはそれらの任意の組み合わせを行うことができる。

10

【0046】

それらに限定されないが配列表の核酸配列を含めて、本明細書で提供の核酸配列は、それらに限定されないが修飾された核酸塩基を有するそのような核酸を含めて、天然または修飾されたRNAおよび／またはDNAの任意の組み合わせを含有する核酸を包含することが意図される。さらなる例としてそして限定するものではないが、核酸塩基配列「ATCGATCG」を有するオリゴヌクレオチドは、修飾されているか未修飾であるかにかかわらず、それらに限定されないが、配列「AUCGAUCG」を有するもののようなRNA塩基を含むそのような化合物、および「AUCGATCG」のような一部のDNA塩基および一部のRNA塩基を有するものを含めて、そのような核酸塩基配列を有する任意のオリゴマー化合物ならびにその他の修飾塩基または天然に存在する塩基を有するオリゴマー化合物を包含する。同様に、配列「AUCGAUCG」を含むRNA転写物は、「ATCGATCG」のような対応する任意のDNA配列を包含する。本明細書の核酸配列はまた、開示の配列と、少なくとも約：75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を含む配列を含む。

20

【0047】

ある特定の場合では、オリゴヌクレオチド構築物は、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドを含む第1の鎖と、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの少なくとも一部に相補性の配列を含む第2の鎖とを含むことができる。第2の鎖は、第1の鎖の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれを超えて相補性とすることができる。第2の鎖は、第1の鎖の少なくとも約：5、10、15、または20個の連続した塩基に相補性とすることができる。オリゴヌクレオチドは、5'末端または3'末端のような末端オーバーハングを含むことができる。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせは、1つまたはそれ以上の化学修飾を含むことができる。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせの塩基の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%が化学修飾を含むことができる。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせは、1つまたはそれ以上の糖修飾を含むことができる。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせの塩基の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%が糖修飾を含むことができる。糖修飾はグリコシル化塩基を含むことができる。一部の場合では、ヌクレオチドの塩基がグリカンでグリコシル化されている場合がある。第1の鎖、第2の鎖またはそれらの組み合わせは、化学修飾および糖修飾を有する塩基の組み合わせを含むことができる。

30

40

【0048】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩のような本明細書に記載のオリゴヌクレオチドは、長さが約5個から約50個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約40個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約30

50

個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約25個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約60個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約80個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約100個までのヌクレオチドとすることができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、長さが約5個から約200個までのヌクレオチドとすることができる。

【0049】

他のある特定の場合では、干渉RNAは、哺乳動物細胞における他の生体分子の発現または機能を調節する、ゲノム内で発現される短鎖非コードRNA配列を含む調節性非コードRNA(ncRNA)とすることができる。ncRNAは一般に、長さが<200個のヌクレオチドであり、一本鎖または二本鎖の場合があり、非直鎖状の二次構造または三次構造を形成する場合がある。ncRNAは、外因性由来低分子干渉RNA(siRNA)、マイクロRNA(miRNA)、核内低分子RNA(snRNA)、UスプライソソームRNA(U-RNA)、核小体低分子RNA(snoRNA)、Piwi相互作用RNA(piRNA)、反復関連低分子干渉RNA(rasiRNA)、低分子rDNA由来RNA(srRNA)、トランスファーRNA由来低分子RNA(tsRNA)、リボソームRNA由来低分子RNA(rsRNA)、長鎖非コードRNA由来低分子量RNA(lncsRNA)、またはメッセンジャーRNA由来低分子RNA(msRNA)を含むことができる。

【0050】

DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、DNA、RNAまたはそれらの混合物を含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、複数のヌクレオチドを含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、人工核酸アナログを含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、DNAを含んでもよく、無細胞DNA、cDNA、胎児DNA、ウイルスDNA、または母体DNAを含む場合もある。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、shRNA、またはsiRNA、ncRNA模倣体、小ヘアピンRNA(shRNA)、ダイサー依存性siRNA(di-siRNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)、ギャップマー、ミックスマー、二本鎖RNA(dsRNA)、一本鎖RNAi、(ssRNAi)、DNA指向性RNA干渉(ddRNAi)、RNA活性化オリゴヌクレオチド(RNAa)、またはエクソンスキッピングオリゴヌクレオチドを含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、完全合成miRNAを含むことができる。完全合成miRNAは、ncRNAに由来しないまたはncRNAをベースとしないものである。代わりに、完全合成miRNAは、複数の潜在的な標的配列の解析に基づいてもよく、ncRNAではない単離された天然の非コード配列に基づいてもよい。

【0051】

修飾オリゴヌクレオチド

一部の場合では、第2の鎖は、ヌクレオチドの化学修飾された塩基を含むことができる。一部の場合では、第2の鎖の塩基のサブセットは、約1%から約5%までの塩基、約1%から約10%までの塩基、約1%から約20%までの塩基、約1%から約30%までの塩基、約1%から約40%までの塩基、約1%から約50%までの塩基、約1%から約60%までの塩基、約1%から約70%までの塩基、約1%から約80%までの塩基、もしくは約1%から約90%までの塩基、またはそれを超えて、など、化学的に修飾することができる。本明細書に記載の第2の鎖は、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドについて本明細書に記載したのと同じ様式で化学修飾することができる。

【0052】

オリゴヌクレオチドは糖修飾を含むことができる。オリゴヌクレオチドは、複数の糖修飾を含むことができる。糖修飾は、グルコースを含む場合もあり、その誘導体を含む場合もある。糖修飾は、リボースを含んでもよくデオキシリボースを含んでもよい。糖修飾は、単糖、二糖、三糖またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0053】

一部の場合では、リボヌクレオチドまたはデオキシヌクレオチドを、本明細書に記載の化学修飾によって、例えば、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの骨格を形成する塩基成分、糖（リボース）成分、リン酸成分、またはそれらの任意の組み合わせを修飾することができる。

【0054】

DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、化学修飾を含むことができる。オリゴヌクレオチドは複数の化学修飾を含むことができる。オリゴヌクレオチドは、末端のようなオリゴヌクレオチドの一部内に複数の化学修飾を含むことができる。化学修飾は、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、アミド基、エステル基、これらのうちのいずれかの2種以上、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。化学修飾は、例えばアセチル化、メチル化、ヒドロキシル化等によって化学的に変更された、任意の天然に存在するもしくは天然に存在しないグアノシン、ウリジン、アデノシン、チミジンまたはシチジンを始めとするグアノシン、ウリジン、アデノシン、チミジンまたはシトシンなど、化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる。これには、1-メチル-アデノシン、1-メチル-グアノシン、1-メチル-イノシン、2, 2-ジメチル-グアノシン、2, 6-ジアミノプリン、2'-アミノ-2'-デオキシアデノシン、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン、2'-アミノ-2'-デオキシグアノシン、2'-アミノ-2'-デオキシウリジン、2-アミノ-6-クロロプリンリボシド、2-アミノプリンリボシド、2'-アラアデノシン、2'-アラシチジン、2'-アラウリジン、2'-アジド-2'-デオキシアデノシン、2'-アジド-2'-デオキシシチジン、2'-アジド-2'-デオキシグアノシン、2'-アジド-2'-デオキシウリジン、2-クロロアデノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシアデノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシシチジン、2'-フルオロ-2'-デオキシグアノシン、2'-フルオロ-2'-デオキシウリジン、2'-フルオロチミジン、2-メチル-アデノシン、2-メチル-グアノシン、2-メチル-チオ-N6-イソペネニル-アデノシン、2'-O-メチル-2'-アミノアデノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシアデノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシシチジン、2'-O-メチル-2'-デオキシグアノシン、2'-O-メチル-2'-デオキシウリジン、2'-O-メチル-5-メチルウリジン、2'-O-メチルイノシン、2'-O-メチルブソイドウリジン、2-チオシチジン、2-チオシチジン、3-メチル-シチジン、4-アセチル-シチジン、4-チオウリジン、5-（カルボキシヒドロキシメチル）-ウリジン、5, 6-ジヒドロウリジン、5-アミノアリルシチジン、5-アミノアリル-デオキシウリジン、5-ブロモウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウラシル、5-クロロ-a-ra-シトシン、5-フルオロ-ウリジン、5-ヨードウリジン、5-メトキシカルボニルメチル-ウリジン、5-メトキシ-ウリジン、5-メチル-2-チオウリジン、6-アザシチジン、6-アザウリジン、6-クロロ-7-デアザ-グアノシン、6-クロロプリンリボシド、6-メルカプト-グアノシン、6-メチル-メルカプトプリン-リボシド、7-デアザ-2'-デオキシ-グアノシン、7-デアザアデノシン、7-メチル-グアノシン、8-アザアデノシン、8-ブロモ-アデノシン、8-ブロモ-グアノシン、8-メルカプト-グアノシン、8-オキソグアノシン、ベンゾイミダゾールリボシド、ベータ-D-マンノシル-ケオシン、ジヒドロ-ウリジン、イノシン、N1-メチルアデノシン、N6-（[6-アミノヘキシル]カルバモイルメチル）-アデノシン、N6-イソペネニル-アデノシン、N6-メチル-アデノシン、N7-メチル-キサントシン、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ピューロマイシン、ケオシン、ウラシル-5-オキシ酢酸、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ワイプトキソシン、キサント

10

20

30

40

50

シン、キシロアデノシンまたはそれらの任意の組み合わせが含まれる。このようなバリエーションの製造は、例えば、米国特許第 4, 373, 071 号、同第 4, 401, 796 号、同第 4, 415, 732 号、同第 4, 458, 066 号、同第 4, 500, 707 号、同第 4, 668, 777 号、同第 4, 973, 679 号、同第 5, 047, 524 号、同第 5, 132, 418 号、同第 5, 153, 319 号、同第 5, 262, 530 号または同第 5, 700, 642 号から当業者であれば知られている。

【0055】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、以下のような化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる：2-アミノ-6-クロロプリンリボシド-5'-トリホスフェート、2-アミノプリンリボシド-5'-トリホスフェート、2-アミノアデノシン-5'-トリホスフェート、2'-アミノ-2'-デオキシシチジン-トリホスフェート、2-チオシチジン-5'-トリホスフェート、2-チオウリジン-5'-トリホスフェート、2'-フルオロチミジン-5'-トリホスフェート、2'-O-メチル-イノシン-5'-トリホスフェート、4-チオウリジン-5'-トリホスフェート、5-アミノアシルシチジン-5'-トリホスフェート、5-アミノアシルウリジン-5'-トリホスフェート、5-ブロモシチジン-5'-トリホスフェート、5-ブロモウリジン-5'-トリホスフェート、5-ブromo-2'-デオキシシチジン-5'-トリホスフェート、5-ブromo-2'-デオキシウリジン-5'-トリホスフェート、5-ヨードシチジン-5'-トリホスフェート、5-ヨード-2'-デオキシシチジン-5'-トリホスフェート、5-ヨードウリジン-5'-トリホスフェート、5-ヨード-2'-デオキシウリジン-5'-トリホスフェート、5-メチルシチジン-5'-トリホスフェート、5-メチルウリジン-5'-トリホスフェート、5-プロピニル-2'-デオキシシチジン-5'-トリホスフェート、5-プロピニル-2'-デオキシウリジン-5'-トリホスフェート、6-アザシチジン-5'-トリホスフェート、6-アザウリジン-5'-トリホスフェート、6-クロロプリンリボシド-5'-トリホスフェート、7-デアザアデノシン-5'-トリホスフェート、7-デアザグアノシン-5'-トリホスフェート、8-アザアデノシン-5'-トリホスフェート、8-アジダアデノシン-5'-トリホスフェート、ベンゾイミダゾール-リボシド-5'-トリホスフェート、N1-メチルアデノシン-5'-トリホスフェート、N1-メチルグアノシン-5'-トリホスフェート、N6-メチルアデノシン-5'-トリホスフェート、O-6-メチルグアノシン-5'-トリホスフェート、プソイドウリジン-5'-トリホスフェート、ピューロマイシン-5'-トリホスフェート、キサントシン-5'-トリホスフェート、またはそれらの任意の組み合わせ。

【0056】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、以下のような化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる：ピリジン-4-オンリボヌクレオシド、5-アザ-ウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオウリジン、4-チオ-プソイドウリジン、2-チオ-プソイドウリジン、5-ヒドロキシウリジン、3-メチルウリジン、5-カルボキシメチル-ウリジン、1-カルボキシメチル-プソイドウリジン、5-プロピニル-ウリジン、1-プロピニル-プソイドウリジン、5-タウリノメチルウリジン、1-タウリノメチル-プソイドウリジン、5-タウリノメチル-2-チオ-ウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-ウリジン、5-メチル-ウリジン、1-メチル-プソイドウリジン、4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、ジヒドロウリジン、ジヒドロプソイドウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-プソイドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン、またはそれらの任意の組み合わせ。

【0057】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチド

ドは、以下のような化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる：5-アザ-シチジン、プソイドイソシチジン、3-メチル-シチジン、N4-アセチルシチジン、5-ホルミルシチジン、N4-メチルシチジン、5-ヒドロキシメチルシチジン、1-メチル-プソイドイソシチジン、ピロロ-シチジン、ピロロ-プソイドイソシチジン、2-チオ-シチジン、2-チオ-5-メチル-シチジン、4-チオ-プソイドイソシチジン、4-チオ-1-メチル-プソイドイソシチジン、4-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドイソシチジン、1-メチル-1-デアザ-プソイドイソシチジン、ゼブラリン、5-アザ-ゼブラリン、5-メチル-ゼブラリン、5-アザ-2-チオ-ゼブラリン、2-チオ-ゼブラリン、2-メトキシ-シチジン、2-メトキシ-5-メチル-シチジン、4-メトキシ-プソイドイソシチジン、4-メトキシ-1-メチル-プソイドイソシチジン、またはそれらの任意の組み合わせ。

10

【0058】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、以下のような化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる：2-アミノプリン、2,6-ジアミノプリン、7-デアザ-アデニン、7-デアザ-8-アザ-アデニン、7-デアザ-2-アミノプリン、7-デアザ-8-アザ-2-アミノプリン、7-デアザ-2,6-ジアミノプリン、7-デアザ-8-アザ-2,6-ジアミノプリン、1-メチルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N6-イソペンテニルアデノシン、N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、2-メチルチオ-N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、N6-グリシニルカルバモイルアデノシン、N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、2-メチルチオ-N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、N6, N6-ジメチルアデノシン、7-メチルアデニン、2-メチルチオ-アデニン、2-メトキシ-アデニン、またはそれらの任意の組み合わせ。

20

【0059】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、以下のような化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる：イノシン、1-メチル-イノシン、ワイオシン、ワイプトシン、7-デアザ-グアノシン、7-デアザ-8-アザ-グアノシン、6-チオ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-8-アザ-グアノシン、7-メチル-グアノシン、6-チオ-7-メチル-グアノシン、7-メチルイノシン、6-メトキシ-グアノシン、1-メチルグアノシン、N2-メチルグアノシン、N2, N2-ジメチルグアノシン、8-オキソ-グアノシン、7-メチル-8-オキソ-グアノシン、1-メチル-6-チオ-グアノシン、N2-メチル-6-チオ-グアノシン、N2, N2-ジメチル-6-チオ-グアノシン、またはそれらの任意の組み合わせ。

30

【0060】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、以下のような化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができる：6-アザ-シチジン、2-チオ-シチジン、アルファ-チオ-シチジン、プソイド-イソ-シチジン、5-アミノアリル-ウリジン、5-ヨード-ウリジン、N1-メチル-プソイドウリジン、5,6-ジヒドロウリジン、アルファ-チオ-ウリジン、4-チオ-ウリジン、6-アザ-ウリジン、5-ヒドロキシ-ウリジン、デオキシ-チミジン、5-メチル-ウリジン、ピロロ-シチジン、イノシン、アルファ-チオ-グアノシン、6-メチル-グアノシン、5-メチル-シチジン、8-オキソ-グアノシン、7-デアザ-グアノシン、N1-メチル-アデノシン、2-アミノ-6-クロロ-プリン、N6-メチル-2-アミノ-プリン、プソイド-イソ-シチジン、6-クロロ-プリン、N6-メチル-アデノシン、アルファ-チオ-アデノシン、8-アジド-アデノシン、7-デアザ-アデノシン、またはそれらの任意の組み合わせ。

40

【0061】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、2'位で化学修飾することができる、化学修飾されたヌクレオチドを含むことがで

50

きる。化学修飾されたオリゴヌクレオチドは、2'炭素原子で置換基を含むことができ、この場合、置換基は、2'-水素（2'-デオキシ）、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル、2'-フルオロ、2'-メトキシエチル、2'-フルオロのような、ハロゲン、アルコキシ基、水素、アリールオキシ基、アミノ基もしくはアミノアルコキシ基、ロックド核酸（LNA）またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0062】

DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドへの別の化学修飾（ヌクレオチドの2'位を含むもののような）は、ロックド核酸（LNA）ヌクレオチド、エチレン架橋核酸（ENA）ヌクレオチド、（S）拘束エチル（cEt）ヌクレオチド、架橋核酸（BNA）またはそれらの任意の組み合わせとすることができる。骨格の修飾は、修飾ヌクレオチドの糖を好ましいノーザン構造にロックすることができる。一部の

10

【0063】

一部の場では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、少なくとも1個の化学的に修飾されたヌクレオチドを含むことができ、この場合、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドへと組み込むことができるリン酸骨格を修飾することができる。骨格の1個またはそれ以上のリン酸基は、例えば、酸素原子のうちの1個またはそれ以上を異なる置換基で置き換えることによって、修飾することができる。さらに、修飾ヌクレオチドは、本明細書に記載のように、修飾リン酸による未修飾リン酸部分の完全な交換を含むことができる。修飾リン酸基の例としては、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、ホスホロセネート、ボラノホスフェート、ボラノホスフェートエステル、ホスホン酸水素、ホスホロアミデート、アルキルホスホネート、アリールホスホネートまたはホストリエステルを挙げることができる。リン酸リンカーはまた、窒素（架橋ホスホロアミデート）、硫黄（架橋ホスホロチオエート）および炭素（架橋メチレンホスホネート）による連結している酸素の交換によっても修飾することができる。

20

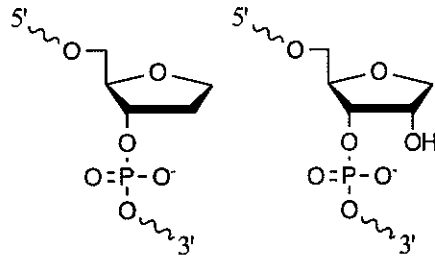
【0064】

一部の場では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、糖修飾を含むことができる。糖修飾は、リンカーのようなコンジュゲートを含むことができる。一部の場では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、1個またはそれ以上のリンカー基を含むことができる。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、抗体、タンパク質、脂質、アプタマー、小分子、薬物、またはそれらの任意の組み合わせに連結することができる。リンカーは、共有結合を形成することができる。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、リンカーを介して第2のDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのような1つまたはそれ以上のオリゴヌクレオチドに連結することができる。一部の場では、リンカーは、切断可能なリンカーとすることができる。一部の場では、リンカーは、アジドリナーを含むことができる。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、グリカンでグリコシル化されているヌクレオチドの塩基を含むことができる。一部の場では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、有機塩基を欠失するヌクレオチドのような脱塩基部位を含むことができる。一部の場では、脱塩基ヌクレオチドは、リボースの2'位にてなど、本明細書に記載の化学修飾を含むことができる。一部の場では、リボースの2'C原子は、一部の場では2'-水素（2'-デオキシ）、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチルまたは2'-フルオロからのハロゲン、アルコキシ基、水素、アリールオキシ基、アミノ基またはアミノアルコキシ基のような置換基で置換することができる。一部の場では、脱塩基部位ヌクレオチドは、構造1Aを含む場合があり、構造1Bを含む場合もある：

30

40

【化 1】



dスパーサー (1A)

rスパーサー (1B)

10

【0065】

一部の 경우에는、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、「5'-CAP」構造の付加によって修飾することができる。5'-キャップは、成熟miRNAの5'-末端を「キャップすること」ができる、修飾ヌクレオチドの実体のような実体とすることができる。5'-キャップは、典型的には、修飾ヌクレオチドによって、特にグアニンヌクレオチドの誘導体によって形成することができる。一部の 경우에는、5'-キャップは、5'-5'-トリホスフェートリンケージを介して、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの5'-末端に連結することができる。5'-キャップは、メチル化することができる、例えばm7GpppNとすることができる、この場合、Nは、RNAの5'-末端のような、5'-キャップを担持する核酸の末端5'-ヌクレオチドとすることができる。5'-キャップ構造には以下が含まれる：グリセリル、逆位デオキシ脱塩基残基（部分）、4', 5'メチレンヌクレオチド、1-（ベターD-エリスロフラノシル）ヌクレオチド、4'-チオヌクレオチド、炭素環式ヌクレオチド、1, 5-アンヒドロヘキシトールヌクレオチド、L-ヌクレオチド、アルファ-ヌクレオチド、修飾塩基ヌクレオチド、スレオ-ペントフラノシルヌクレオチド、非環式3', 4'-セコヌクレオチド、非環式3, 4-ジヒドロキシブチルヌクレオチド、非環式3, 5-ジヒドロキシペンチルヌクレオチド、3'-3'-逆位ヌクレオチド部分、3'-3'-逆位脱塩基部分、3'-2'-逆位ヌクレオチド部分、3'-2'-逆位脱塩基部分、1, 4-ブタンジオールホスフェート、3'-ホスホロアミデート、ヘキシルホスフェート、アミノヘキシルホスフェート、3'-ホスフェート、3'ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、または架橋もしくは非架橋メチルホスホン酸部分。一部の 경우에는、修飾された5'-CAP構造は以下を含むことができる：CAP1（m7Gの隣接ヌクレオチドのリボースのメチル化）、CAP2（m7Gの下流の第2のヌクレオチドのリボースのメチル化）、CAP3（m7Gの下流の第3のヌクレオチドのリボースのメチル化）、CAP4（m7Gの下流の第4のヌクレオチドのリボースのメチル化）、ARCA（アンチリバーSCAPアナログ）、修飾ARCA（例えば、ホスホチオエート修飾ARCA）、イノシン、N1-メチルグアノシン、2'-フルオログアノシン、7-デアザ-グアノシン、8-オキソ-グアノシン、2-アミノ-グアノシン、LNA-グアノシン、または2-アジド-グアノシン。

40

【0066】

一部の 경우에는、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、核酸配列の1個またはそれ以上の塩基にメチル基、ヒドロキシメチル基、炭素原子、酸素原子、またはそれらの任意の組み合わせを付加することを含むことができる共有結合修飾を含むことができる。一部の 경우에는、共有結合修飾は、酸素原子のような核酸配列と会合する分子またはそれらの組み合わせの酸化状態を変化させることを含むことができる。共有結合修飾は、シトシン、チミン、ウラシル、アデニン、グアニン、またはそれらの組み合わせのような、任意の塩基で行うことができる。一部の 경우에는、後成的修飾は、酸化を含む場合があり、還元を含む場合もある。核酸配列は、1個またはそれ以上の後成的に修飾された塩基を含むことができる。後成的に修飾された塩基は、シトシン、ウ

50

ラシル、チミン、アデニン、またはグアニンのような任意の塩基を含むことができる。後成的に修飾された塩基は、メチル化塩基、ヒドロキシメチル化塩基、ホルミル化塩基、もしくはカルボン酸含有塩基またはそれらの塩を含むことができる。後成的に修飾された塩基は、5-メチル化シトシン（5-mC）のような5-メチル化塩基を含むことができる。後成的に修飾された塩基は、5-ヒドロキシメチル化シトシン（5-hmC）のような5-ヒドロキシメチル化塩基を含むことができる。後成的に修飾された塩基は、5-ホルミル化シトシン（5-fC）のような5-ホルミル化塩基を含むことができる。後成的に修飾された塩基は、5-カルボキシル化シトシン（5-caC）のような5-カルボキシル化塩基またはその塩を含むことができる。一部の場合では、後成的に修飾された塩基は、メチルトランスフェラーゼにより導かれる活性化基の転移（mTAG）を含むことができる。

10

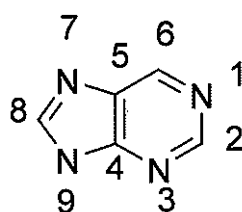
【0067】

後成的に修飾された塩基は、1個またはそれ以上の塩基もしくはプリン（構造1のような）またはピリミジンの1個またはそれ以上の塩基（構造2のような）を含むことができる。後成的修飾は、任意の位置のうちの1つまたはそれ以上の位置で行うことができる。例えば、後成的修飾は、構造1に示されるように、位置1、2、3、4、5、6、7、8、9を含めて、プリンの1つまたはそれ以上の位置で行うことができる。一部の場合では、後成的修飾は、構造2に示されるように、位置1、2、3、4、5、6を含めて、ピリミジンの1つまたはそれ以上の位置で行うことができる。

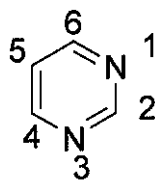
【0068】

20

【化2】



構造1



構造2

30

【0069】

核酸配列は、後成的に修飾された塩基を含むことができる。核酸配列は、複数の後成的に修飾された塩基を含むことができる。核酸配列は、CGサイト、CpGアイランド、またはそれらの組み合わせ内に配置された後成的に修飾された塩基を含むことができる。核酸配列は、メチル化塩基、ヒドロキシメチル化塩基、ホルミル化塩基、カルボン酸含有塩基またはそれらの塩のような様々な後成的に修飾された塩基、これらの複数のいずれか、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0070】

一部の場合では、化学修飾された場合、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、表1に示すような、式：ガイドパターン1、ガイドパターン2、またはガイドパターン3のものとすることができる。

40

【0071】

50

【表 1】

表 1: 化学修飾の式	
パターン	配列 (5'-3')
1	$\{N\}^* \{N\}^* (n^*)_a \{N\}^* \{N\}$
2	$\{N\}^* \{N\}^* (n^*)_b \{N\}^* n^* \{N\}^* \{N\}$
3	$\{N\}^* \{N\}^* \{N\}^* (n^*)_b \{N\}^* \{N\}^* \{N\}$
4	$\{N\}^* \{N\}^* n^* \{N\}^* (n^*)_c \{N\}^* \{N\}^* n^* n^* \{N\}^* \{N\}$
5	$\langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* (n^*)_d \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^*$
6	$CAP-\{N\}^* \{N\}^* (n^*)_a \{N\}^* \{N\}$
7	$CAP-\{N\} \{N\} (n^*)_e n \{N\} \{N\}$
8	$CAP-\{N\} mp \{N\} (n^*)_e n \{N\} mp \{N\}$
9	$CAP-\{N\}^* \{N\}^* \{N\}^* (n^*)_b \{N\}^* \{N\}^* \{N\}$
10	$CAP-\langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* (n^*)_d \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^* \langle N \rangle^*$

10

20

【0072】

表 1 に示すように、N および n は、天然または非天然の任意のヌクレオチドとすることができる；{N} は LNA とすることができる；[N] は BNA とすることができる；<N> は、2'-メチルオキシエチル修飾のウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンとすることができる；* は、ホスホチオネート修飾の骨格とすることができる；mp はメチルホスホネート修飾の骨格とすることができる；CAP は、5'-末端メチル基（5'-Oメチル）またはアミノ-炭素 6 鎖（5'-アミノ C6）のようなアルキルアミノ基とすることができる；a は 10～26 とすることができる；b は 8～24 とすることができる；c は 4～20 とすることができる；d は 5～22 とすることができる；e は 9～25 とすることができる。

30

【0073】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、天然の塩基または糖と比べて、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの塩基または糖への化学修飾を含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、複数の化学修飾のような、2つ以上の化学修飾を含むことができる。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの塩基の一部または糖の一部は、1つまたはそれ以上の化学修飾を含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの塩基または糖のうちの、約：10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% またはそれを超えて化学修飾することができる。

【0074】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、複数の RNA 配列のうちの RNA 配列に対する特異性を向上させるために操作されているかまたは修飾されている場合がある。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、複数の RNA 配列のうちの RNA 配列に対する特異性を著しく向上させるために修飾されていてもよい。向上した特異性は、操作していない場合がある相当するオリゴヌクレオチドと比較してもよく、または異なる方法で操作または修飾されている場合がある相当するオリゴヌクレオチドと比較してもよい。特異性は、相当するオリゴヌクレオチドと比較して、少なくとも約：2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95% またはそれを超えて向上させることができる。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、第 2 の R

40

50

N A 配列と比較して第 1 の R N A 配列に対する特異性を向上させるように操作してもよく、修飾してもよい。

【0075】

D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドの研究および発見

標的 D U X 4 バリエーションを特定するために、参照配列（クエリー配列、すなわち、本明細書に記載の配列）と対象配列との間の同一性は、グローバル配列アライメントとも呼ばれるが、Brutlagら（Comp. App. Biosci. 6: 237~245 頁（1990））のアルゴリズムに基づいてFASTDBコンピュータプログラムを使用して決定することができる。一部の場合では、FASTDBアミノ酸アライメントで使用する、同一性が狭義に解釈される特定の態様向けのパラメータには、以下が含まれる：スコアリングスキーム = PAM（許容される突然変異のパーセント）0、k-タプル = 2、ミスマッチペナルティ = 1、連結ペナルティ = 20、ランダム化グループ長さ = 0、カットオフスコア = 1、ウィンドウサイズ = 配列長、ギャップペナルティ = 5、ギャップサイズペナルティ = 0.05、ウィンドウサイズ = 500 または対象配列の長さのいずれか短い方。対象配列が、内部欠失の理由ではなく、N 末端または C 末端の欠失に起因してクエリー配列よりも短い場合、FASTDB プログラムではグローバルな同一性パーセントを算出する際に対象配列の N 末端および C 末端のトランケーションについては計上しないことを考慮して、結果に手作業で補正を行うことができる。クエリー配列と比べて N 末端および C 末端でトランケーションされた対象配列の場合は、対応する対象残基と一致／アラインしない、対象配列の N 末端および C 末端に横たわるクエリー配列の残基数を、クエリー配列の全塩基に対するパーセントとして算出することにより、同一性パーセントを補正することができる。残基が一致／アラインしているかどうかの判定は、FASTDB 配列アライメントの結果によって判定することができる。次いで、このパーセンテージを、指定されたパラメータを使用して FASTDB プログラムによって算出された同一性パーセントから減算して、最終的な同一性パーセントスコアに到達することができる。この最終的な同一性パーセントスコアを、本態様の目的に使用することができる。一部の場合では、クエリー配列と一致／アラインしていない対象配列の N 末端および C 末端に対する残基のみが、同一性パーセントスコアを手作業で調整する目的のために考慮される。すなわち、対象配列の最も遠くにある N 末端および C 末端残基の外側のクエリー残基位置のみが、この手作業補正のために考慮される。例えば、90 個の残基の対象配列を、100 残基のクエリー配列とアライメントを取って、同一性パーセントを決定することができる。欠失は対象配列の N 末端で発生し、したがって、FASTDB アライメントは N 末端における最初の 10 個の残基の一致／アラインメントを示さない。当該 10 個の対になっていない残基は配列の 10%（一致しない N および C 末端における残基の数／クエリー配列中の残基の総数）であるので、FASTDB プログラムにより算出された同一性パーセントスコアから 10% を減算する。残りの 90 個の残基が完全に一致した場合、最終的な同一性パーセントは 90% となるであろう。別の例では、90 個の残基の対象配列を 100 個の残基のクエリー配列と比較する。この場合では、欠失は内部欠失であるため、対象配列の N 末端または C 末端には、クエリー配列と一致しない／アラインしない残基はない。この場合、FASTDB により算出された同一性パーセントは手作業で補正しない。再度、FASTDB のアライメントで表示される、対象配列の N 末端および C 末端の外側で、クエリー配列と一致しない／アラインしない残基位置のみを手作業で補正する。

【0076】

異なるすべての OTN 位置を評価するために、D U X 4 遺伝子 chr4: 190, 173, 774~190, 185, 942 にわたる参照配列内で 1bp スライドで、サイズ 15bp、16bp、17bp、18bp、19、および 20bp のウィンドウを作成した。各ウィンドウについて、参照の逆相補（アンチセンス）配列も報告されているので、これは OTN 設計に直接使用することができた。PySamsStats v1.2 ツール <https://github.com/alimanfoo/pysamstats> を使用して、すべてのサンプルの RNA-Seq BAM ファイルを単一の BAM ファイ

10

20

30

40

50

ルにマージし、カスタムPythonスクリプトを使用して、マージされたBAMファイルにおいて各ゲノム位置での参照塩基頻度とリード深度を取得した。平均カバレッジを、ウィンドウの各塩基をカバーするリードの平均数として定義した。最小保存スコアを、最低保存の塩基を表す各OTNウィンドウに対して算出した。平均融解温度(T_m)を、Primer3 v2.4.0 Rツール(39)を用いて、デフォルトのパラメータを用いて、最近傍モデルを使用して、結果として得られるOTN／標的RNA二重鎖について算出した。SantaLucia 1998(40)およびOwczarzyら2004(41)により定義された異なる塩補正式に基づいて、2つの融解温度(T_M)値が報告された。次いで、本発明者らは、そのデータをOTNおよび長さ15～20bpのDUX4のOTN結合部位についてフィルタリングしたが、条件は、平均カバレッジ>50、本研究の個体間で最小保存率>85%、および平均T_M 45～65℃とした。結果として得られるすべてのOTN配列および対のDUX4標的部位配列は、すべてDNAフォームで表されるが、配列番号1～2X, XXXを包含する配列リストファイルとして提出する。本発明者らは、それらがDUX4媒介性障害を処置するためのOTNを開発するあらゆる取り組みにとって有用なリソースであるので、それらを本開示に含めた。これらのDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、化学修飾された場合または化学修飾されていない場合、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つと少なくとも90%の配列同一性を有することができる。ある特定の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つのオリゴヌクレオチドと少なくとも約80%の配列同一性を含むことができる。例えば、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つのオリゴヌクレオチドと少なくとも約90%の配列同一性を含むことができる。一部の場 20合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つのオリゴヌクレオチドと約80%～100%の配列同一性を含むことができる。一部の場 30合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つのオリゴヌクレオチドと約85%～100%の配列同一性を含むことができる。一部の場 40合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つの少なくとも約10個の連続した塩基と少なくとも80%の配列同一性を含むことができる。一部の場 50合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つの少なくとも約10個の連続した塩基と少なくとも85%の配列同一性を含むことができる。一部の場 合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、配列番号41, 923～42, 115のいずれか1つと少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0077】

付加的に、すべてDNAフォームで表されている、化学修飾なし(配列番号41, 923～41, 982)でおよび化学修飾あり(配列番号41, 983～42, 115)で表2に示すように、解析により多数のDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドを作製する能力がもたらされた。化学修飾されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドに関して、表2に示すように、{N}はLNAとすることができる; [N]はBNAとすることができる; (N)は、2'-メチルオキシエチル修飾のウラシル、グアニン、アデニン、またはシトシンとすることができる; *は、ホスホチオネート修飾の骨格とすることができる; mpはメチルホスホネート修飾の骨格とすることができる; アミノC6-は5'-アミノ-炭素6鎖とすることができる。加えて、表2に示すようにある特定のDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、同様にxmlファイルで提出された表3に示すような標的DUX4 mRNAの複数のサブシーケンスと相互作用することができた。加えて、表に表示されていない場合でも化学修飾されたオリゴヌクレオチドはいずれも、活性を保持しながら5'-アミノ-炭素6鎖を用いて合成することができた。さらなる標的RNAについ

てはオリゴヌクレオチドの未修飾配列の隣に列記されているだけであり、さらなる標的 RNA については同じ配列の化学修飾バージョンに関して繰り返されてはいないが、それらはその配列によってなおも標的となると思われる。

【 0 0 7 8 】

【表 2 - 1】

表 2: さらなる疾患関連 RNA とハイブリダイズする DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド			
オリゴ	配列 (5'-3')	配列番号	さらなる標的化 RNA 配列番号
AS-DX-001	GCCATCGCGGGTAGCC	41923	
AS-DX-002	TGTCGGGAGGGCCATC	23534	42274; 42482; 42169; 42566
AS-DX-003	TCCAAACGAGTCTCCG	41924	42885
AS-DX-004	GATTCTGAAACCAGAT	41925	42331; 42600
AS-DX-005	GCGGGCGCCCTGCCAC	41926	42178; 42790; 42711; 42539; 42406; 42161; 42507; 42817; 42196; 42390; 42563; 42167; 42504; 42426; 42464
AS-DX-006	TCATCCAGCAGCAGGC	41927	42694; 42734; 42493; 42284; 42481; 42636; 42352; 42705; 42147; 42235; 42775; 42219; 42752; 42633; 42758; 42166; 42559; 42733; 42651; 42413; 42581; 42479; 42827; 42595; 42365; 42260; 42230; 42866; 42144; 42725; 42143; 42678; 42362; 42172; 42206; 42173; 42884; 42832; 42141; 42480; 42590; 42151; 42168; 42236; 42321; 42248; 42586; 42767; 42485
AS-DX-007	TAGCCAGCCAGGTGTT	23789	42287; 42359; 42577; 42157; 42728; 42856; 42848; 42443; 42524; 42202
AS-DX-008	CAGCGTCGGAAGGTGG	23942	42154; 42244; 42676
AS-DX-009	TAGACAGCGTCGGAAG	23946	

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

AS-DX-010	ATAGGATCCACAGGGA	23981	42214; 42806; 42215; 42432; 42813; 42412; 42392; 42502
AS-DX-011	TCTATAGGATCCACAG	41928	42689
AS-DX-012	GCACTAATCATCCAGG	25364	42841; 42774; 42176; 42746
AS-DX-014	CAGCGTCGGAAGGTG	21509	42429; 42210; 42619; 42617; 42153; 42242; 42675
AS-DX-015	CCTAGACAGCGTCGGAAGGT	38051	
AS-DX-018	ATAGGATCCACAGGGAGG	30389	42760; 42492
AS-DX-019	CGGCTCTGGGATCCCCGG	41929	42310; 42826; 42744
AS-DX-020	GCAGTTCTCCGCGGAG	41930	42290; 42707; 42250; 42343; 42171; 42148
AS-DX-021	GGGGCGGAGACACGCC	41931	42295; 42648; 42715; 42717
AS-DX-022	AGAAGGCAGGAATCCCAG	30245	42688; 42687; 42685; 42686; 42307; 42592; 42275; 42584; 42663; 42188
AS-DX-023	GCAGGAATCCCAGGCCGG	41932	42386; 42306; 42421
AS-DX-024	CTCCGCGGAGTGGAGT	41933	42289; 42149; 42878; 42783; 42661; 42423
AS-DX-025	GGAGTCTCTCACCGGGCC	41934	42308
AS-DX-026	AGAGGCCAGCGAGCTCCC	41935	42221; 42329; 42773; 42197; 42621
AS-DX-027	GGCTCTGGGATCCCCGGG	41936	42309; 42454; 42824; 42743; 42763
AS-DX-028	CAGAGAGGCCAGCGAGCT	30302	42811; 42672; 42330; 42340; 42175; 42371
AS-DX-029	GACAGCGTCGGAAGGTGG	30341	
AS-DX-030	GTAACCTAATCCAGGTT	30365	
AS-DX-031	GACATTCAGCCAGAAT	23921	42401; 42703; 42770; 42568; 42508; 42328; 42450
AS-DX-032	ACAAGGGCACAGAGAGGC	30310	42868; 42254; 42194; 42554

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

AS-DX-033	GAGCTCCCTTGCACGTCA	41937	
AS-DX-034	CCGTCCAACCCCGCGTC	41938	
AS-DX-035	CCTAAAGCTCCTCCAGCA	30205	42253; 42302; 42536
AS-DX-036	GCGAGGCGGCCTCTCCG	41939	42297
AS-DX-037	GCCTCCAGCTCCCCGGG	41940	42296; 42793; 42472; 42785; 42348; 42189; 42673; 42227; 42203; 42851; 42198
AS-DX-038	GGTGTCTGGGAGGGCCAT	41941	42483; 42589; 42394
AS-DX-039	GCCTCAGCTGGCGTGA	23626	42797; 42666; 42427; 42357; 42660; 42653; 42858; 42531
AS-DX-040	CTGGGCCAGCCGTTCTCT	41942	42370
AS-DX-041	GGGCCAGCCGTTCTCTGG	41943	42269
AS-DX-042	GCTCCGGAATGCCGAT	41944	42538; 42548
AS-DX-043	CAATTTTCAGGCTTTTCT	30435	
AS-DX-044	TGCCTACAGAAGGCTTTG	31124	
AS-DX-045	ATCTCTGCACTCATCACA	30402	42276
AS-DX-046	CTGATCACCGAAGTTCTG	41945	
AS-DX-048	CCAGGAGATGTAACTCTA	30368	42761; 42518
AS-DX-049	GAAAGAGAGGCCACCGCC	30221	42303
AS-DX-050	GTAGCCAGCCAGGTGTTC	41946	42304; 42579; 42778; 42490
AS-DX-051	GCCCCTCCGTAGCCAGCC	41947	42305; 42265; 42762; 42231
AS-DX-052	TGCTGTCCGAGGGTGTCG	30092	
AS-DX-053	AGGGGTGCTTCCAGCGAG	30179	42298; 42342
AS-DX-054	TTCTTCCTCGCTGAGGGG	30183	42299; 42894
AS-DX-055	CGGTATTCTTCCTCGCTG	30188	42300; 42789
AS-DX-056	TCCTCCAGCAGAGCCCGG	41948	42301; 42588; 42140; 42842; 42810; 42614

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

AS-DX-057	CCTGGGCCGGCTCTGGGA	41949	42311; 42540; 42545; 42513
AS-DX-058	TGCTGGTACCTGGGCCGG	41950	42312; 42350
AS-DX-059	TCTATAGGATCCACAGGG	30392	
AS-DX-060	GGGCATTTTAATATATCTCTGAACT	41951	
AS-DX-061	TATCTTCTGAACTAATCATCCA	41952	
AS-DX-062	CAGGAGATGTAACTCTAATCCAG	41953	
AS-DX-063	CTCTCACCGGGCCTAGACCTAGAAG	41954	
AS-DX-064	TGCGCACTGCGCGCAGGTCTAGCCA	41955	
AS-DX-065	ACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAG	41956	
AS-DX-066	CGGGGTGCGCACTGCGCGCAGGTCT	41957	
AS-DX-067	TGCGCACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAG	41958	
AS-DX-068	ACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAGCGGGC	41959	
AS-DX-069	ACCCGACCCCGTCCCAACCCCGCGT	41960	
AS-DX-070	TGGGCTGGTGGAGAGGCAG	41961	42521; 42185; 42246; 42313; 42765; 42186; 42658; 42434; 42505; 42501; 42551; 42478; 42320; 42821; 42585; 42809; 42187; 42745; 42356; 42456; 42247; 42256; 42615; 42682; 42668; 42451; 42835; 42557; 42662; 42691; 42537; 42820; 42861; 42876; 42611; 42634; 42748; 42530
AS-DX-071	TTCCTCTCTCCATCTCTGC	41962	
AS-DX-072	TTGTCCCGGAGGAAACCGC	41963	
AS-DX-073	AATCACGCCTCCGTCGTCC	41964	
AS-DX-074	TTCCCTGCATGTTCCGGGTGCCCG	41965	

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

AS-DX-075	CTTCCCTGCATGTTTCCGG	41966	
AS-DX-076	TGTGGCTCTCGTTCATTTC	41967	
AS-DX-077	CTCCGTGGGAGTCTTGAGTGTGCCA	41968	
AS-DX-078	TGGAAGTGAACCTCCGTGG	41969	
AS-DX-079	TGGTGGTGGTGGTGGTGGT	41970	
AS-DX-080	CACCCCTTCATGAATGGCGCC	41971	
AS-DX-081	ACAGGCTCCACCCCTTCATG	41972	
AS-DX-082	TTCCGCTCAAAGCAGGCCTC	41973	
AS-DX-083	AAAGCGATCCTTCTCAAAGGCTCGG	41974	
AS-DX-084	CCTGCGCGGGCGCCCTGCCGC	41975	
AS-DX-085	TATCTCTGAACTAATCATC	41976	
AS-DX-086	AGCGCCTGGCGGCGGAACGCAGACC	41977	
AS-DX-087	ATCTCTGCCCCGCTTCCCTCCCGCC	41978	
AS-DX-088	AAACCAGATCTGAATCCTGGAC	41979	
AS-DX-089	TTTCTAGGAGAGGTTGCGCCTG	41980	
AS-DX-090	AGCGTCGGAAGGTGG	21508	42228; 42428; 42495; 42332; 42462; 42420; 42152; 42241; 42860; 42674
AS-DX-091	AGATCCCCTCTGCC	41981	
AS-DX-094	ACAGCGTCGGAAGGTG	23943	42620; 42618; 42677
AS-DX-095	GACAGCGTCGGAAGGT	23944	42596
AS-DX-096	AGACAGCGTCGGAAGG	23945	
AS-DX-097	CCTAGACAGCGTCGGAAGGTAG	41982	
AS-DX-098	CAGGAATCCCAGGCCG	41983	42875; 42288; 42460; 42572; 42608; 42833; 42630; 42437; 42262; 42598; 42338; 42323

10

20

30

40

50

【表 2 - 6】

AS-DX-099	CAGGAATCCCAGGCC	21371	42389; 42874; 42280; 42207; 42459; 42318; 42637; 42327; 42607; 42533; 42560; 42251; 42799; 42881; 42629; 42436; 42532; 42337; 42553; 42739; 42322; 42571; 42155
AS-DX-100	CGGCTCTGGGATCCCCGGGA	41984	42316
AS-DX-101	GGCTCTGGGATCCCCG	41985	42655; 42291; 42453; 42425; 42837; 42681; 42731; 42679; 42801; 42823; 42335; 42603; 42218; 42825; 42379; 42604; 42610; 42742; 42385; 42486
AS-DX-102	GGCTCTGGGATCCCC	41986	42654; 42282; 42520; 42452; 42836; 42680; 42730; 42461; 42510; 42587; 42800; 42822; 42334; 42580; 42602; 42258; 42529; 42474; 42270; 42264; 42351; 42766; 42764; 42399; 42377; 42609; 42622; 42718; 42484
AS-DX-104	TAGACAGCGTCGGAAGGTGG	38049	42732; 42333; 42245; 42564; 42339; 42419
AS-DX-105	GAGCTCCCTTGACGTCAGC	41987	
AS-DX-106	AGCTCCCTTGACGTC	23896	42447; 42830
AS-DX-107	GAGCTCCCTTGACGT	23897	42448; 42494; 42180; 42388; 42150
AS-DX-108	GAGCTCCCTTGACG	21469	42445; 42782; 42852; 42867; 42179; 42387; 42569; 42525; 42380; 42383

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

AS-DX-109	CGTAGCCAGCCAGGTGTTCC	41988	42314
AS-DX-111	TAGCCAGCCAGGTGT	21339	42565; 42854; 42279; 42819; 42528; 42358; 42719; 42326; 42818; 42403; 42576; 42794; 42628; 42156; 42407; 42416; 42727; 42366; 42798; 42855; 42871; 42641; 42325; 42415; 42888; 42847; 42164; 42408; 42142; 42205; 42638; 42526; 42442; 42729; 42523; 42201; 42575
AS-DX-112	CTTCTATAGGATCCACAGGG	38106	42594
AS-DX-113	ATGCCCAGGAAAGAATGGCA	41989	
AS-DX-114	CAAAGACAGACAGAGGTA	41990	42704; 42768; 42240; 42163; 42441
AS-DX-116	GTCCTAAAGCTCCTCCA	26770	42294; 42623; 42336; 42803; 42431; 42583; 42750
AS-DX-117	TCCTAAAGCTCCTCCAG	26769	42293; 42162; 42535; 42780; 42467; 42430; 42582; 42183; 42208
AS-DX-118	GGGATGCCTTGCATCTG	26720	42292; 42578; 42324; 42349; 42395
AS-DX-119	GAAACCAGATCTGAATC	41991	42368; 42547; 42400
AS-DX-120	GGGTCCAAACGAGTCTC	41992	42542; 42268; 42747
AS-DX-121	GCTGCAGAAACTCCGG	41993	42285; 42519; 42190; 42723; 42319; 42192; 42616
AS-DX-122	TGTTCCCCGCGAAAGA	23783	42286; 42220
AS-DX-123	GTGACATATCTCTGCA	23998	42807; 42804; 42409
AS-DX-124	CATATCTCTGCACTCA	23994	42740; 42229; 42889; 42652

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

AS-DX-125	GACATATCTCTGCACT	23996	42373; 42487; 42139
AS-DX-126	GGGGTCCAAACGAGTC	41994	42466; 42541; 42438; 42165; 42266; 42522
AS-DX-127	TACAGGGGATATTGTG	41995	42708; 42457; 42828
AS-DX-128	AGCAGGGCGGTCTGG	41996	42814; 42211; 42515; 42701; 42381; 42422; 42642; 42497; 42665; 42839; 42639; 42859; 42720; 42831; 42690; 42433; 42702; 42375; 42272; 42781
AS-DX-129	AGCTGCCCCGGCTTG	41997	42864; 42517; 42277; 42791; 42367; 42751; 42237; 42612; 42393; 42439; 42382; 42862; 42458; 42887; 42863; 42573; 42417; 42396; 42667; 42543; 42405; 42613; 42391; 42722; 42670; 42372; 42170
AS-DX-130	CCCAGGAAAGAAAGG	41998	42659; 42815; 42281; 42212; 42769; 42374; 42599; 42354; 42880; 42632; 42700; 42200; 42886; 42656; 42753; 42857; 42488; 42759; 42625; 42273; 42344; 42816; 42204
AS-DX-131	GGTGAGCCCCGGCCGG	41999	42754; 42812; 42402; 42506; 42222; 42404; 42471; 42341; 42145; 42469; 42850; 42556; 42883; 42840; 42756; 42873; 42195; 42893; 42671

10

20

30

40

50

【表 2 - 9】

AS-DX-132	GCAGACCAGGGCGCC	42000	42435; 42278; 42411; 42792; 42749; 42591; 42397; 42737; 42199; 42721; 42193; 42347; 42870; 42346; 42552; 42424; 42500; 42364; 42259; 42146; 42624; 42779; 42473; 42263; 42738; 42360; 42355; 42626; 42503; 42414; 42217; 42475; 42890; 42605; 42845; 42555; 42834; 42440; 42788; 42376; 42879; 42697; 42249; 42786; 42261; 42849
AS-DX-133	CCTGGGCCGGCTCTG	42001	42516; 42699; 42891; 42664; 42213; 42283; 42574; 42239; 42398; 42713; 42544; 42838; 42224; 42511; 42514; 42477; 42378; 42877; 42882; 42706; 42496; 42561; 42698; 42449; 42787; 42635; 42512; 42191; 42209; 42363; 42361; 42683; 42869; 42692; 42550; 42892; 42232
AS-DX-134	AGAAGGCAGGAATCCCAGGC	37973	42315
AS-DX-135	CGGGTGCCTGGCCCTTC	42002	42772; 42795; 42509; 42796; 42468; 42865; 42716; 42606; 42418

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 0】

AS-DX-136	CCAGCTCCTCCCGGGC	42003	42724; 42736; 42696; 42695; 42177; 42498; 42712; 42465; 42225; 42234; 42646; 42643; 42345; 42843; 42741; 42567; 42714; 42238; 42872; 42353; 42784; 42647; 42649; 42601; 42223; 42369; 42755; 42657; 42562; 42257; 42463; 42455; 42627; 42771; 42645; 42777; 42846; 42158; 42226; 42255; 42243; 42159; 42776; 42499; 42593; 42631; 42644; 42470; 42735; 42489; 42233; 42640; 42597; 42384; 42491; 42710; 42669; 42252; 42527; 42549; 42267; 42476; 42684; 42216; 42174; 42184; 42853; 42693; 42271; 42709
AS-DX-137	TTGTGACATATCTCTGCA	30411	42808; 42805; 42410; 42844
AS-DX-138	CTCCCTTGACGTC	21466	42444; 42160; 42317; 42726; 42757
AS-DX-139	GCTCCCTTGACGTC	23895	42446; 42181; 42829; 42570
AS-DX-140	AGCTCCCTTGACGTC	26881	42182
AS-DX-141	CGAGCTCCCTTGACGTCAG	42004	
AS-DX-142	AAGCGATCCTTCTCAA	42005	42650; 42546; 42534; 42558; 42802
AS-DX-001-1	{G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*t*a*g*{C}*{C}	42006	
AS-DX-001-2	アミノ C6- {G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*t*a*g*{C}*{C}	42007	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 1】

AS-DX-002-1	{T}*{G}*t*c*g*g*a*g*g*c*c*a*{T}*{C}	42008	
AS-DX-002-2	アミノ C6- {T}*{G}*t*5mec*g*g*a*g*g*5mec*5mec*a*{T}*{C}	42009	
AS-DX-002-3	アミノ C6- {T}*mp{G}*t*c*g*g*a*g*g*c*c*a*{T}*mp{C}	42010	
AS-DX-002-4	アミノ C6- {T}*{G}*t*c*g*g*a*g*g*c*c*a*{T}*{C}	42011	
AS-DX-003-1	{T}*{C}*c*a*a*c*g*a*g*t*c*t*c*{C}*{G}	42012	
AS-DX-003-2	アミノ C6- {T}*{C}*c*a*a*c*g*a*g*t*c*t*c*{C}*{G}	42013	
AS-DX-004-1	{G}*{A}*t*t*c*t*g*a*a*c*c*a*g*{A}*{T}	42014	
AS-DX-004-2	アミノ C6- {G}*{A}*t*t*c*t*g*a*a*c*c*a*g*{A}*{T}	42015	
AS-DX-005-1	{G}*{C}*g*g*g*c*g*c*c*t*g*c*c*{A}*{C}	42016	
AS-DX-005-2	アミノ C6- {G}*{C}*g*g*g*c*g*c*c*t*g*c*c*{A}*{C}	42017	
AS-DX-006-1	{T}*{C}*a*t*c*c*a*g*c*a*g*c*a*g*{G}*{C}	42018	
AS-DX-006-2	アミノ C6- {T}*{C}*a*t*c*c*a*g*c*a*g*c*a*g*{G}*{C}	42019	
AS-DX-007-1	{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}	42020	
AS-DX-007-2	アミノ C6- {T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}	42021	
AS-DX-007-3	{T}*mA*{G}*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*{G}*mU*{T}	42022	
AS-DX-008-1	{C}*{A}*g*c*g*t*c*g*a*a*g*g*t*{G}*{G}	42023	
AS-DX-008-2	アミノ C6- {C}*{A}*g*c*g*t*c*g*a*a*g*g*t*{G}*{G}	42024	
AS-DX-009-1	{T}*{A}*g*a*c*a*g*c*g*t*c*g*a*{A}*{G}	42025	
AS-DX-009-2	アミノ C6- {T}*{A}*g*a*c*a*g*c*g*t*c*g*a*{A}*{G}	42026	
AS-DX-010-1	{A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*{A}	42027	
AS-DX-010-2	アミノ C6- {A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*{A}	42028	
AS-DX-010-3	アミノ C6- {A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*{A}	42029	
AS-DX-011-1	{T}*{C}*t*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*{A}*{G}	42030	
AS-DX-011-2	アミノ C6- {T}*{C}*t*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*{A}*{G}	42031	
AS-DX-012-1	{G}*{C}*a*c*t*a*a*t*c*a*t*c*c*a*{G}*{G}	42032	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 2】

AS-DX-012-2	アミノ C6- {G}*{C}*a*c*t*a*a*t*c*a*t*c*c*a*{G}*{G}	42033	
AS-DX-014-1	{C}*{A}*{G}*c*g*t*c*g*g*a*a*g*{G}*{T}*{G}	42034	
AS-DX-014-2	アミノ C6- {C}*{A}*{G}*c*g*t*c*g*g*a*a*g*{G}*{T}*{G}	42035	
AS-DX-015-1	(C)*(C)*(T)*(A)*(G)*a*c*a*g*c*g*t*c*g*g*(A) *(A)*(G)*(G)*(T)	42036	
AS-DX-015-2	アミノ C6- (C)*(C)*(T)*(A)*(G)*a*c*a*g*c*g*t*c*g*g*(A) *(A)*(G)*(G)*(T)	42037	
AS-DX-015-3	{C}*{C}*t*{A}*g*a*c*a*g*c*g*t*c*g*{G}*{A} *a*g*{G}*{T}	42038	
AS-DX-018-1	{A}*{T}*{A}*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*g*{A}*{G} *{G}	42039	
AS-DX-018-2	{A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*a*{G} *{G}	42040	
AS-DX-019-1	{C}*{G}*{G}*c*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*{C}*{G} *{G}	42041	
AS-DX-021-1	{G}*{G}*{G}*g*c*g*g*a*g*a*c*a*c*g*{C}*{C} *{C}	42042	
AS-DX-022-1	{A}*{G}*{A}*a*g*g*c*a*g*g*a*a*t*c*c*{C}*{A} *{G}	42043	
AS-DX-023-1	{G}*{C}*{A}*g*g*a*a*t*c*c*c*a*g*g*c*{C}*{G} *{G}	42044	
AS-DX-023-2	{G}*{C}*a*{G}*g*a*a*t*c*c*c*a*g*g*c*c*mG *{G}	42045	
AS-DX-023-3	{G}*{C}*mA*g*g*a*a*t*c*c*c*a*g*g*c*{C}*mG *{G}	42046	
AS-DX-025-1	{G}*{G}*{A}*g*t*c*t*c*t*c*a*c*c*g*{G}*{C} *{C}	42047	
AS-DX-026-1	{A}*{G}*{A}*g*g*c*c*a*g*c*g*a*g*c*t*{C}*{C} *{C}	42048	
AS-DX-027-1	{G}*{G}*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*{G}*{G} *{G}	42049	
AS-DX-027-2	{G}*mG*c*{T}*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*c*g*{G} *{G}	42050	
AS-DX-027-3	{G}*mG*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*c*mG*mG *{G}	42051	
AS-DX-027-4	{G}*{G}*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*{G}*{G}*{G}	42052	
AS-DX-028-1	{C}*{A}*{G}*a*g*a*g*g*c*c*a*g*c*g*a*{G}*{C} *{T}	42053	
AS-DX-029-1	{G}*{A}*{C}*a*g*c*g*t*c*g*g*a*a*g*g*{T}*{G} *{G}	42054	
AS-DX-029-2	アミノ C6- {G}*{A}*{C}*a*g*5mec*g*t*5mec*g*g*a*a*g* g*{T}*{G}*{G}	42055	
AS-DX-030-1	{G}*{T}*{A}*a*c*t*c*t*a*a*t*c*c*a*g*{G}*{T} *{T}	42056	
AS-DX-031-1	{G}*mA*{C}*a*t*t*c*a*g*c*c*a*g*{A}*mA*{T}	42057	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 3】

AS-DX-032-1	{A}*{C}*{A}*a*g*g*g*c*a*c*a*g*a*{G}*{G}*{C}	42058	
AS-DX-033-1	{G}*{A}*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*{C}*{A}	42059	
AS-DX-033-2	アミノ C6- {G}*{A}*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*5mec*g*{T}*{C}*{A}	42060	
AS-DX-033-3	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42061	
AS-DX-033-4	{G}*{A}*g*{C}*{T}*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*t*mC*{A}	42062	
AS-DX-034-1	{C}*{C}*{G}*t*c*c*a*a*c*c*c*g*c*{G}*{T}*{C}	42063	
AS-DX-035-1	{C}*{C}*{T}*a*a*a*g*c*t*c*c*t*c*c*a*{G}*{C}*{A}	42064	
AS-DX-036-1	{G}*{C}*{G}*a*g*g*c*g*g*c*c*t*t*t*{C}*{C}*{G}	42065	
AS-DX-037-1	{G}*{C}*{C}*t*c*c*a*g*c*t*c*c*c*c*c*{G}*{G}*{G}	42066	
AS-DX-038-1	{G}*{G}*{T}*g*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*{C}*{A}*{T}	42067	
AS-DX-040-1	{C}*{T}*{G}*g*g*c*c*a*g*c*c*g*t*t*c*{T}*{C}*{T}	42068	
AS-DX-041-1	{G}*{G}*{G}*c*c*a*g*c*c*g*t*t*c*t*c*{T}*{G}*{G}	42069	
AS-DX-043-1	{C}*{A}*a*t*t*t*c*a*g*c*t*t*t*{T}*t*{C}*{T}	42070	
AS-DX-044-1	{T}*{G}*{C}*c*t*a*c*a*g*a*a*g*g*c*t*{T}*{T}*{G}	42071	
AS-DX-045-1	{A}*{T}*c*t*c*t*g*c*a*c*t*c*a*t*{C}*a*{C}*{A}	42072	
AS-DX-045-2	{A}*mU*{C}*t*c*t*g*c*a*c*t*c*a*t*c*{A}*mC*{A}	42073	
AS-DX-046-1	{C}*{T}*g*a*t*c*a*c*c*g*a*a*g*t*{T}*c*{T}*{G}	42074	
AS-DX-048-1	{C}*{C}*a*g*g*a*g*a*t*g*t*a*a*c*{T}*c*{T}*{A}	42075	
AS-DX-049-1	{G}*{A}*{A}*a*g*a*g*a*g*g*c*a*c*c*{G}*{C}*{C}	42076	
AS-DX-050-1	{G}*{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}*{C}	42077	
AS-DX-050-2	{G}*mU*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*mU*{T}*{C}	42078	
AS-DX-050-3	{G}*mU*a*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*mG*t*{T}*{C}	42079	
AS-DX-050-4	{G}*{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}*{C}	42080	
AS-DX-051-1	{G}*{C}*{C}*c*c*t*c*c*g*t*a*g*c*c*a*{G}*{C}*{C}	42081	
AS-DX-052-1	{T}*{G}*{C}*t*g*t*c*c*g*a*g*g*t*g*{T}*{C}*{G}	42082	
AS-DX-053-1	{A}*{G}*{G}*g*g*t*g*c*t*t*c*a*g*c*{G}*{A}*{G}	42083	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 4】

AS-DX-054-1	{T}*{T}*{C}*t*t*c*c*t*c*g*c*t*g*a*g*{G}*{G}*{G}	42084	
AS-DX-055-1	{C}*{G}*{G}*t*a*t*t*c*t*t*c*c*t*c*g*{C}*{T}*{G}	42085	
AS-DX-056-1	{T}*{C}*{C}*t*c*c*a*g*c*a*g*a*g*c*c*{C}*{G}*{G}	42086	
AS-DX-057-1	{C}*{C}*{T}*g*g*g*c*c*g*g*c*t*c*t*g*{G}*{G}*{A}	42087	
AS-DX-058-1	{T}*{G}*{C}*t*g*g*t*a*c*c*t*g*g*g*c*{C}*{G}*{G}	42088	
AS-DX-059-1	{T}*{C}*{T}*a*t*a*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}	42089	
AS-DX-059-2	{T}*{C}*t*{A}*t*a*g*a*t*c*c*a*c*a*g*{G}*{G}	42090	
AS-DX-059-3	[アミノC6-]{T}*{C}*{T}*a*t*a*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}	42091	
AS-DX-094-1	{A}*mC*{A}*g*c*g*t*c*g*g*a*a*g*{G}*mU*{G}	42092	
AS-DX-098-1	{C}*mA*{G}*g*a*a*t*c*c*a*g*g*{C}*mC*{G}	42093	
AS-DX-099-1	{C}*mA*{G}*g*a*a*t*c*c*a*g*{G}*mC*{C}	42094	
AS-DX-100-1	{C}*mG*g*{C}*t*c*t*g*g*a*t*c*c*{C}*{C}*g*g*{G}*{A}	42095	
AS-DX-101-1	{G}*{G}*c*t*c*t*g*g*a*t*c*c*mC*mC*{G}	42096	
AS-DX-102-1	{G}*{G}*c*t*c*t*g*g*a*t*c*c*mC*mC*{C}	42097	
AS-DX-104-1	{T}*{A}*g*{A}*c*a*g*c*g*t*c*g*g*a*a*{G}*{G}*t*{G}*{G}	42098	
AS-DX-105-1	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*{C}*a*{G}*{C}	42099	
AS-DX-106-1	{A}*mG*{C}*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*{G}*mU*{C}	42100	
AS-DX-106-2	{A}*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*{C}	42101	
AS-DX-107-1	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*{C}*mG*{T}	42102	
AS-DX-108-1	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*{A}*mC*{G}	42103	
AS-DX-109-1	{C}*{G}*t*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*{T}*mG*t*t*{C}*{C}	42104	
AS-DX-111-1	{T}*mA*{G}*c*c*a*g*c*c*a*g*g*{T}*mG*{T}	42105	
AS-DX-112-1	{C}*{T}*t*c*{T}*{A}*t*a*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}	42106	
AS-DX-112-2	(T)*(T)*(C)*(T)*a*t*a*g*a*t*c*c*a*c*a*(G)*(G)*(G)*(C)	42107	
AS-DX-113-1	{A}*{T}*g*c*c*c*a*g*a*a*a*g*a*{A}*mU*g*g*{C}*{A}	42108	
AS-DX-114-1	{C}*mA*{A}*a*g*a*c*a*g*a*c*a*g*a*{G}*G*{T}*{A}	42109	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 5】

AS-DX-116-1	{G}*mU*c*{C}*t*a*a*a*g*c*t*c*t*mC*{C}*{A}	42110	
AS-DX-117-1	t*{C}*c*t*a*a*a*g*c*t*c*t*c*t*{C}*mA*{G}	42111	
AS-DX-118-1	{G}*{G}*g*{A}*{T}*g*c*c*t*t*g*c*a*t*c*{T}*{G}	42112	
AS-DX-119-1	{G}*{A}*{A}*a*c*c*a*g*a*t*c*t*g*{A}*a*{T}*{C}	42113	
AS-DX-120-1	{G}*{G}*{G}*t*c*c*a*a*a*c*g*a*g*{T}*c*{T}*{C}	42114	
AS-DX-121-1	{G}*mC*{T}*g*c*a*g*a*a*a*c*t*c*{C}*mG*{G}	42115	
AS-DX-122-1	{T}*mG*{T}*t*c*c*c*c*g*c*g*a*a*{A}*{G}*{A}	42116	
AS-DX-123-1	{G}*{T}*{G}*a*c*a*t*a*t*c*t*c*t*{G}*{C}*{A}	42117	
AS-DX-124-1	{C}*{A}*mU*a*t*c*t*c*t*g*c*a*c*mU*{C}*{A}	42118	
AS-DX-125-1	{G}*{A}*c*a*t*a*t*c*t*c*t*g*{C}*a*{C}*{T}	42119	
AS-DX-126-1	{G}*{G}*{G}*g*t*c*c*a*a*a*c*g*a*mG*{T}*{C}	42120	
AS-DX-127-1	{T}*mA*{C}*a*g*g*g*a*t*a*t*{G}*mU*{G}	42121	
AS-DX-128-1	{A}*mG*mC*a*g*g*g*c*g*g*t*c*mU*mG*{G}	42122	
AS-DX-129-1	{A}*mG*{C}*t*g*c*c*c*c*g*c*t*mU*{G}	42123	
AS-DX-130-1	{C}*mC*{C}*a*g*g*a*a*a*g*a*a*{A}*mG*{G}	42124	
AS-DX-131-1	{G}*{G}*mU*g*a*g*c*c*c*c*g*g*c*c*{G}*{G}	42125	
AS-DX-132-1	{G}*{C}*a*g*a*c*c*a*g*g*g*c*g*{C}*{C}	42126	
AS-DX-133-1	{C}*{C}*mU*g*g*g*c*c*g*g*c*t*{C}*mU*{G}	42127	
AS-DX-133-2	{C}*{C}*t*g*g*g*c*c*g*g*c*t*c*{T}*{G}	42128	
AS-DX-134-1	(A)*(G)*(A)*(A)*g*c*a*g*a*a*t*c*c*(A)*(G)*(G)*(C)	42129	
AS-DX-134-2	{A}*{G}*{A}*a*g*g*c*a*g*a*a*t*c*c*mA*{G}*mG*{C}	42130	
AS-DX-135-1	{C}*{G}*g*g*t*g*c*c*t*g*g*c*c*mC*t*{T}*{C}	42131	
AS-DX-136-1	{C}*{C}*a*g*c*t*c*c*t*c*c*c*g*g*mG*{C}	42132	
AS-DX-137-1	{T}*{T}*g*t*g*a*c*a*t*a*t*c*t*c*t*{G}*mC*{A}	42133	
AS-DX-138-1	{C}*mU*{C}*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42134	
AS-DX-139-1	{G}*mC*{T}*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42135	
AS-DX-140-1	{A}*{G}*c*{T}*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42136	

10

20

30

40

【表 2 - 1 6】

AS-DX-141-1	(C)*(G)*(A)*(G)*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*(T)*(C)*(A)*(G)	42137	
AS-DX-142-1	{A}*mA*{G}*c*g*a*t*c*c*t*t*c*t*{C}*mA*{A}	42138	

【0079】

表 2 の右端列にあるのは、列記の D U X 4 が標的のオリゴヌクレオチドに部分的に相補

50

性であるが、異なる遺伝子座に起源をもつRNAである。GGGenome (<https://gggenome.dbcls.jp/>) の改変スクリプトを使用することによって、ヒトトランスクリプトーム (Human RNA Refseq release 205、2021年3月) への本発明者らのオリゴヌクレオチド配列の迅速なアライメントが可能になる。このスクリプトによって、DUX4を標的とする可能性のある各オリゴヌクレオチドに部分的に相補性であるすべての転写物が特定されたが、4つ以下のミスマッチ、バルジ、挿入もしくは欠失を含有するか、少なくとも7個の連続した塩基の長さの2つの相補性領域を含有するか、または少なくとも10個の連続した塩基の長さの1つの領域を含有する。これらの相互作用はまた、予測TM約40℃～約65℃を有することができる。

10

【0080】

他のどの転写物がFSHDに関連することができかつ標的とするのに有利とすることができるかを理解するために、加えて、本発明者らは、サンプルの取り扱い、マイクロアレイおよびRNAseqによるトランスクリプトームプロファイリング、ならびに重要な患者情報について厳格な基準を持って10例の研究に関するデータベースを組み立てた。本発明者らは、公開されているデータセットの中で、または本発明者ら独自のRNA-seq解析を使用して、FSHD筋対対照筋で一般に上方制御されている遺伝子を特定した。興味深いことに、クラスターは臨床重症度スコア（すなわち、軽度、中等度、または重度の疾患）と良好に合致する。本発明者らの解析を支持して、図11に表示するように、本発明者らのより大規模なメタ解析に含まれるサンプルのサブセットからの同様の解析より同様の結果が得られた。この解析から、本発明者らは、この調節不全の裏付け証拠、およびあらゆる関連する臨床相関を各遺伝子とともに維持しつつ、FSHDにおける上方制御された遺伝子のデータベースを創り出した。このデータベースから、次に、本発明者らは、GOパスウェイ解析を利用してパスウェイエンリッチメント解析を実行した（12）。最も上方制御されるパスウェイには、炎症応答およびその他の免疫調節パスウェイ、細胞増殖、細胞周期調節が含まれる。

20

さらなる標的化RNAは、上方制御されるかまたはそうでなければ疾患に関連する転写物を表しており、DUX4に加えてノックダウンにも有利とすることができる。

【0081】

加えて、さらなる遺伝子の多数のmRNAサブシーケンスがFSHDに関連していた。例えば、AS-DX-007（配列番号23, 789）は、FSHDに関連する3つの共標的、例えば、DBET、MKI67、およびIRF5を標的とすることが予測される。DBETは、D4Z4リピートのオープニングおよびDUX4の発現に関連する非コードRNAである（38）。MKI67は、FSHD筋組織で上方制御されるKi-67タンパク質をコードしており、かつ筋線維細胞の増殖と損傷のDUX4誘導に関与している可能性がある。（図12A）。IRF5（インターフェロン制御因子5）は、いくつかの炎症性シグナルによって上方制御される転写因子をコードし、かつ、TNFのようないくつかのサイトカインの発現および細胞内インターフェロン応答の誘導をもたらす（図12B）。これらの遺伝子のmRNAの転写物（DUX4自体のものも含めて）内の標的サブシーケンスを、RNAフォームで示すように本明細書において表3に提供する。

30

40

【0082】

【表 3 - 1】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
A4GNT	1	AGTGCAGGATATGTT	42116	LINC00661	1	CAGCCGGGGCAGCA	42494
ABCA7	1	CCTGGCTCTGCTGGAGGA	42117	LINC01275	1	TACAGTCACATCTCCTGG	42495
ABCB1	1	TCCTCCTGCTGGATGA	42118	LINC01602	1	CCGGAGTTTCTGCC	42496
ABCB9	1	ACCCCTGGCTGGCA	42119	LINC01605	1	GGGGATCCCATAACC	42497
ABCB9	2	GCCTGCTGCTGGGA	42120	LINC01615	1	CTGCCTCTCCTCATCCAA	42498
ABCD2	1	GCCTTGCTGGATGA	42121	LINC02391	1	GCCTGTTTGGA	42499
ABHD15	1	CCCGCCGGGGCTCTCC	42122	LINC02725	1	ACACCTGGCTCTA	42500
ABHD2	1	GGAGCCTGGCTGCTGC	42123	LINC02725	2	AACACCTGGCTCCTA	42501
ABTB1	1	GCCCTGCTGGATGA	42124	LINC02802	1	GGGGCAAGGGAGCTC	42502
ACE	1	CACCGCGGAGATGC	42125	LINC02904	1	AACCTGGCTGGCTT	42503
ACOT6	1	ACTGACTCCGCGGAG	42126	LINGO3	1	GCGCTGGAGGAGCTGG	42504
ACOXL	1	ACATGAAGGGAGCTC	42127	LMF1	1	CCACCTGGCTGGCAA	42505
ACP3	1	GGCTGCTGCTGGATGA	42128	LMX1A	1	AGGGATCCCAGAGTC	42506
ACTL10	1	CCACCTTCCGACT	42129	LOC100507403	1	CTCCCTCTCCACCCCCA	42507
ACTL10	2	CACCTTCCGACTG	42130	LOC101927533	1	TCAGCAGCTGAGGC	42508
ACTL10	3	CCACCTTCCGACTG	42131	LOXL2	1	GGCCTGGGATTCCG	42509
ADAM28	1	AGCCTGGGATTACTG	42132	LPIN2	1	GGCCTGGGATCCCTC	42510
ADAM32	1	ACACCTGGCTTCTA	42133	LPIN2	2	TTGAGAAGGATGCTT	42511
ADAM32	2	AACACCTGGCTTCTA	42134	LRP10	1	CAGGAGGAGCTTTAGGG	42512
ADAMTS12	1	GCCCAGAGGAGCTGG	42135	LRP10	2	TCAGGAGGAGCTTTAGG	42513
ADAMTS8	1	GCGCGGGAGGAGCGGG	42136	LRRC8A	1	CTGCCTCTCCACGCACA	42514
ADAMTSL3	1	TGACGTGCAAGCGG	42137	LRRN2	1	CTCGGCATTCCGAAGC	42515
ADCY3	1	GCGGCCGGGGCGCCCGC	42138	LRRN2	2	GGGGAGGGCGCCCGC	42516

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
ADGRA1	1	CTGGAGGAGCTTCAGA	42139	LRRN4	1	TCCCAGACCCGCCCAGG	42517
ADGRA2	1	GACCTCTGCTGTCTTTG	42140	LUZP1	1	GACTGTTTGGA	42518
ADGRD1	1	ACACCTGGCTGCTG	42141	LUZP1	2	GTGACTGTTTGGA	42519
ADGRD1	2	GCCTCTTTGGACCCC	42142	LYPD1	1	CAGCCGGGGCA	42520
ADGRE5	1	GCCTTCTGCTGGATGA	42143	LZTS1	1	CAGGCCGGCCCCAGA	42521
ADGRL3	1	GCGGCCGGGCGCCCGC	42144	LZTS1	2	TCCCAGGCCGGCCCAGA	42522
ADGRL3	2	GGCTGCTGCTGGAGA	42145	MAB21L4	1	TTGAGAAGGATCCTC	42523
AFAP1L2	1	GAGGCCCTCCCGGCA	42146	MAFB	1	TATTCAGACTGGTTTC	42524
AFF3	1	CAAGCCGGGGAGCG	42147	MAN1C1	1	AACGCATTCCGGAGC	42525
AFF3	2	CCCGCGGAGAACGC	42148	MANSC4	1	GCCCGGGAGGAGCGG	42526
AJUBA	1	GCCTGCTGCTGGACGG	42149	MAP3K12	1	CTGGGCCCGGCCCAGG	42527
ALPP	1	GCTGCTGCTGGAGA	42150	MAP3K12	2	CTGGCTCCACCAGCCCA	42528
ANGPTL6	1	GCCCGGGAGGCGCGGG	42151	MAP3K8	1	GGCGCCCTGGTTCC	42529
ANKRD50	1	CGCTCGTGGCCTCTCTG	42152	MAP3K8	2	TGCCTGGGATTCTG	42530
ANKS1B	1	CCTGATGATTAGTGA	42153	MARCHF4	1	TCCTTCTGTGCCCTTGT	42531
ANKS3	1	GCGGGGAGGAGCTGG	42154	MAST3	1	CGCGCCCTGGTCGGC	42532
ANKS3	2	CTGGAGGGCGCCCGC	42155	MAST3	2	CCGGCCGGGGCGCC	42533
ANTXR2	1	AGTGCAAGGGATCTC	42156	MAST3	3	CAGCCTCTCCCCCAGCCCC	42534
ANTXR2	1	AGTGCAAGGGATCTC	42157	MAST4	1	TTGAGAAGGATGCTA	42535
ANXA4	1	TGACGTGCAAGAGC	42158	MBD2	1	TCCTGCTGGTGATGA	42536
ANXA4	2	TGACGTGCAAGAGCT	42159	MCEMP1	1	GGCTGGGATTCCG	42537
APLP1	1	CTGGAGGAGCGTAGGA	42160	MCTP1	1	CAGAGCCGGCGCGG	42538
ARAP1	1	GCCCCGGAGGAGCTGC	42161	MEFV	1	ACCCTGGAGGAGCTGG	42539
ARHGEF34P	1	GTGCTCTCACCAAGCCCA	42162	MEG3	1	GGGGCAGGGCGCCCAC	42540
ARHGEF35	1	ATGCTCTCACCAAGCCCA	42163	MEG3	2	CCACCTTCCGAGCCTCCA	42541

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
ARHGEF5	1	GTGCTCTCACC AGCCCA	42164	MEGF11	1	ACTCCTGGCTG GCTG	42542
ARID3C	1	TTTGGATTCCTG CCTTCT	42165	MEGF11	2	GATGGCCCTCCC TAA	42543
ARL5C	1	CCCGGGGGAGC GGAGC	42166	MFHAS1	1	GCCCTGGAGGA GCTGG	42544
ARSJ	1	CCGGAGTTTCT GCGGA	42167	MGAM	1	TTTCTGCTGAAT GTC	42545
ASAP1	1	CAGAGCCGGCA AGG	42168	MGAT1	1	CGGGCAAGGGA GCC	42546
ASB7	1	CTGGAGTTTCTG CAC	42169	MGAT1	2	TGCGGGCAAGG GAGC	42547
ASCL5	1	GGCGCCCTGGC TGA	42170	MICALL2	1	GGCCTGGGATT CTC	42548
ASF1B	1	CCCTCTCTGTGC CCTGGT	42171	MICALL2	2	CGGCCTGGGAG CCTG	42549
ASIC2	1	CCGGCCGGGGC CGCC	42172	MINK1	1	CAAGACGGGGC AGCT	42550
ASIC2	2	GGCGGGGCGCC CGC	42173	MIR9-3HG	1	CAGCGCCGGCC CAGC	42551
ASIC2	3	GGGAGCTGCTG GCCCT	42174	MIS18A	1	ACACCTGGCTG GTTC	42552
ATG16L2	1	CTCAGGGGAGC TGGAGGC	42175	MKI67	1	AGACCTGGCTG GCTT	42553
ATL3	1	GGGGCCTGGTC TGC	42176	MKI67	2	AAGACCTGGCT GGCTT	42554
ATP2A3	1	GCTTCTTTCCTG GG	42177	MKI67	3	CAGTTGAAGGC ATCCC	42555
ATP8A2	1	ACACCTGGCTG CTA	42178	MKI67	4	GAAGACCTGGC TGGCTTC	42556
ATP8A2	2	CACACCTGGCT GCTA	42179	MMEL1	1	AGGGATCCCAG AGGC	42557
ATP8B2	1	CCCGGGGGAGC GGGGC	42180	MMEL1	2	GCTGCTGCTGG TGA	42558
ATXN7L1	1	CCTTTCTGTCCT GGG	42181	MMRN2	1	CTGGAGGAGCT TTAA	42559
B3GNT3	1	ACCCTGGCTGG CCA	42182	MMRN2	2	TGGAGGAGCTT TAAC	42560
B3GNT3	2	TCCTGCTGCTGG TGA	42183	MRTFA	1	CTGGGATTCCTG CTTGT	42561
BARX1	1	GGCCTGGGATG CCCCG	42184	MST1R	1	CTGCCTCTTCTC AGCCCA	42562
BCAS4	1	CTGGAGGAGCA TTAGA	42185	MTUS2	1	GCCTGCTGCTG ATTA	42563
BCL11A	1	CAGGCCGGCCC AGC	42186	MUC16	1	GGGGATCCCAC AGTC	42564
BOC	1	CACCTTCCGAA CTG	42187	MX1	1	CAGGGATCTGC TGGAGGA	42565
BTG3-AS1	1	GCAGCCGCCCT GCT	42188	MYEOV	1	ATGGCCCTCCCA ACC	42566

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
C1orf52	1	TCTCTCTTTCCTGGG	42189	MYH10	1	GCGCTGCTGGA TGA	42567
C2CD4D-AS1	1	CGGCGCCGGCC CAGG	42190	MYO1F	1	GGGCCCTGGTC TTC	42568
C2CD4D-AS1	2	TCCCTGTGGATTCTCT	42191	MYO1F	2	CTGGGATACTGCCTTCT	42569
C9orf47	1	TCCCTGTGGATT CAT	42192	MYO3A	1	GCCCCGGGAGGG GTGG	42570
CA9	1	GCCCCGGGAGGC CTGG	42193	MYOCD	1	CCCTGGGTTTCCT ATAGAAG	42571
CACNA1I	1	GGCGCCCCGGGTCTGC	42194	NCCRP1	1	GCTGCTGCTGG AGGA	42572
CADPS2	1	CGGGGATCCCC GAGCA	42195	NCOA7	1	ACCTTCCGACA CTTC	42573
CALHM3	1	GCCTGCTGCTG GCTGC	42196	NDN	1	GCCCGAGGAGC TGG	42574
CAMK1D	1	TCTTTCGCGGG GAAGA	42197	NDOR1	1	CGGCCTGGGAG TCTG	42575
CAPN5	1	GGGAGCTGCTG GCCTCA	42198	NEAT1	1	CCCTCCTTTCCT GGG	42576
CBLB	1	CCAGCCGGGGC TCCCC	42199	NEK11	1	ATCTGGTTTCAG AC	42577
CCDC115	1	GACCTGGAGGA GCTGG	42200	NEUROG2	1	GCCCGGGAGGA GCCAG	42578
CCDC160	1	CGGAGCCGGCC CGG	42201	NFATC2	1	GGGGTCCCAGA GCC	42579
CCDC185	1	GCCCCGGAGGA GCTGG	42202	NFATC2	2	AGGGGTCCCAG AGCC	42580
CCDC88C	1	GCTCCGGAGGA GCTGG	42203	NHS	1	CGGGGATCCCG GAGGC	42581
CCDC88C	2	TCCGGAGGAGC TGGAGGC	42204	NIBAN2	1	GGCACCTGGT CTGT	42582
CCNJL	1	CCACCTTCCGA GCC	42205	NINL	1	GGAGGGCCAGC ACCCG	42583
CD101	1	TGAGTGCAGAG TATC	42206	NIPAL4	1	GGCCTGGCATTC CTG	42584
CD93	1	TCCGGCTGCTG GATGA	42207	NIPAL4	2	GGGCCTGGCAT TCCTG	42585
CDC14B	1	GGCTGGCTCAG AGGGGC	42208	NLRC5	1	GGGGATCCCAC AGCC	42586
CDCA2	1	CAAGCCGGCCC AGC	42209	NLRC5	2	GGGGGATCCCA CAGCC	42587
CDK5R2	1	GCCCGGGCGAG CTGG	42210	NOD2	1	CTGCCTCCCACC AGTCTA	42588
CELSR3	1	GCCAGGAGGAG CTGG	42211	NOL4L	1	CAACGGGGCAG CT	42589
CELSR3	2	GTCTGCTGCTG GATGG	42212	NOLC1	1	GAAGCGGGGCA GCT	42590
CENATAC-DT	1	GCCTGCTGCTG ATGC	42213	NOS3	1	CAGGGCTCTGC TGGAGCA	42591

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
CEP170B	1	CAAGCCGGGGA CT	42214	NOS3	2	CTGCCTCTGCTC CAGCCCC	42592
CEP170B	2	GCCCGGGAGGA GCAGA	42215	NOTCH3	1	CCGACTTTCTGC AGC	42593
CFAP157	1	GAGAGCCGGCC CAGC	42216	NPIPA7	1	CACCTTCCGAG TG	42594
CFAP300	1	TACCTCTTCTGT CTTTA	42217	NPIPA7	2	CACCTTCCGAG TGT	42595
CHD5	1	CCACCTTCCGA AGCT	42218	NPIPA8	1	CACCTTCCGAG TG	42596
CHD5	2	CACCTTCCGAA GCTC	42219	NPIPA8	2	CACCTTCCGAG TGT	42597
CHD5	3	GCCCGGGAGGG GTGG	42220	NRP2	1	GGGAGCTGTGG CCTCT	42598
CHD5	4	CCACCTTCCGA AGCTC	42221	NTRK3	1	GTGAATCCCAG AGCC	42599
CHD5	5	CCACCTTCCGA AGCTCCTG	42222	NUPR2	1	AGGAGGAGCTT TACGAC	42600
CHP1P2	1	CTCCTGTCCACC AGCCCT	42223	NYNRIN	1	GGGGCCCTGGT CTGG	42601
CHRN4	1	CTGCCTCTCCAT CACCA	42224	NYNRIN	2	GCTTTCTTTCT GGT	42602
CHST11	1	GCCTGCTGCTG GGTA	42225	OAS3	1	GGCGCCCTGGC CGC	42603
CHST15	1	GGCTCCTGGTCT GC	42226	ODAD1	1	GCGGAGGAGC TGG	42604
CHST8	1	CGCCGCGGAGA ACCGC	42227	OR13J1	1	ACACCTGGCTG TA	42605
CIITA	1	GGCTGGGATTC CTA	42228	OS9	1	GGCCTGGGATC CCTG	42606
CLIP2	1	GCCCAGGAGGA GCTGG	42229	OS9	2	GGGCCTGGGAT CCCTG	42607
CMAHP	1	TGCTGGAGGAG CATCAGG	42230	OSBPL5	1	GTCCAGGAGGA GCTGG	42608
CNDP2	1	CCCTCTCTGAGC CCTTGT	42231	OSBPL8	1	CCGTTCTTTCCT GGA	42609
CNKS3	1	GACCTGGAGGA GCTGG	42232	OTOG	1	GCCTGCTGCTG GGA	42610
CNTNAP1	1	CTGCCTCTCCCC CATCCTA	42233	P2RX1	1	CCACCCCTCCA CCAGCCCA	42611
CNTROB	1	GCCCTGGAGGA GCTGT	42234	P3H1	1	CAGCCCGGCC AGG	42612
COL12A1	1	GGGGATCCCAG AACA	42235	PABPC1L	1	GCAATGCTGCTG GAGA	42613
COL23A1	1	GGCGCCCTGGA CGC	42236	PAK3	1	GGCCTGGGATT G	42614
COL23A1	2	GCCTGCTGCTG GGTGT	42237	PALS2	1	ACACCTGGCTG CTG	42615
COL4A1	1	GGGCCCTGGTC TTC	42238	PAPPA	1	CCAGACCGCCC GGT	42616

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
COL4A1	2	CTCCTGGGATTCCTG	42239	PAQR5	1	GCCCGGGAGGAGTGT	42617
COL5A3	1	GCCTCCCTGGTCGTC	42240	PAQR8	1	TCACCTGGCTGGCTG	42618
COL5A3	2	TGGGATCCCAGGGCC	42241	PATL2	1	CCACCGCCCTGCT	42619
COL5A3	3	GGCTGGCGAGGAGGGGC	42242	PCDHA2	1	GACCGGGAGGAGTGT	42620
COL6A3	1	AACTCGTTTGGACCT	42243	PCDHA4	1	GACCGGGAGGAGTGT	42621
COL6A3	2	GACCAGGAGGAGCTGG	42244	PCDHA5	1	GACCGGGAGGAGTGT	42622
COL6A3	3	GAACCTCGTTTGACCC	42245	PCDHB2	1	GACCGGGAGGAGTGT	42623
COL6A5	1	CCAGAGAACGGTGGCAC	42246	PCDHB6	1	GACCGGGAGGAGTGT	42624
COL8A1	1	TGGGATCCCAGGCC	42247	PCDHB6	2	TGGCGGGTCTCGCCCC	42625
CORO1A	1	GCCAGGGAGGAGTGG	42248	PCDHGA5	1	GCCGGAGGAGCTGG	42626
CPNE4	1	CCAGACCGCCCGCT	42249	PCED1B-A S1	1	GTGGAAGGATCGCTT	42627
CPNE9	1	CCCTCTTTCCTGGG	42250	PCOLCE2	1	GCCTGCTGCTGGCTGC	42628
CREB3L1	1	GATGCCCTCCCGAA	42251	PCSK5	1	GGAGTGCAGAGATTG	42629
CRX	1	CTGGGTCCCTGCCTTCT	42252	PCSK9	1	TCCACCAGCTGAGGC	42630
CYP4F3	1	TGTGATGAGTCTGAGAT	42253	PDCD4-AS 1	1	TGGGATCCCAGAACCC	42631
DBET	1	CAAGCCGGGGCAGCT	42254	PDCD4-AS 1	2	CTGGGATCCCAAGAACCC	42632
DBET	2	GGCGCCCTGGTCTGC	42255	PDK3	1	TCTTTCTTTCCTGAG	42633
DBET	3	ACACCTGGCTGGCTA	42256	PDZD4	1	GGCCTGGAGGAGTGG	42634
DBET	4	GGCCTGGGATTCCTG	42257	PEAK3	1	GTCCCTCTCCACCAACCCA	42635
DBET	5	CCATTCTTTCCTGGG	42258	PEG3	1	GCTTCTTTCCTGGG	42636
DBET	6	GGGGATCCCAGAGCC	42259	PFN1	1	TCACGCCAGCTGAGGT	42637
DBET	7	CAGAGCCGGCCAGG	42260	PGR	1	ACTCCACTCCTGGAG	42638
DBET	8	GCCTGCTGCTGGATGA	42261	PIK3R5	1	CTGCTCTCCACAGCTCT	42639
DBET	9	CCGGAGTTTCTGCAGC	42262	PIK3R5-DT	1	ATGGGATGCCTGCCTTCT	42640
DBET	10	TCTTTCGCGGGGAACA	42263	PIK3R6	1	CAGGCCGGCCAGT	42641

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
DBET	11	AACACCTGGCTGGCTA	42264	PIRT	1	CCAGACCGCCA GCT	42642
DBET	12	CGGCCTGGGATTCCTG	42265	PKHD1	1	TAGCCAGCTGAGGC	42643
DBET	13	ACTCCACACCGCGGAG	42266	PLA2G6	1	CAGCGGGGCAGCT	42644
DBET	14	CACCGCGGAGAACTGC	42267	PLA2G6	2	CTGCCTCTGCCC CAGCCCC	42645
DBET	15	CGGGGATCCCA GAGCC	42268	PLCB3	1	CCCCGGGAGAGCTGG	42646
DBET	16	CAGATGCAAGGCATCCC	42269	PLEKHA6	1	CAGGTCGGGGCAGCT	42647
DBET	17	CTGGAGGAGCTTTAGGA	42270	PLEKHB2	1	CCGGCCGGGGC CCGCC	42648
DBET	18	TGGAGGAGCTTTAGGAC	42271	PLEKHD1	1	AGCTCCTGGCC TCTCTG	42649
DBET	19	GGGCGTGTCTCGCCCC	42272	PLEKHG3	1	CCAGGGGGAGCTGGTGGC	42650
DBET	20	CCCGGGGGAGCTGGAGGC	42273	PLPP4	1	ACACCTTCCGACACT	42651
DBET	21	CGGAAGAGGCGCCTCGC	42274	PLPP4	2	CACCTTCCGACACTG	42652
DBET	22	CTCGCTGGAAGCACCCCT	42275	PLPP4	3	ACACCTTCCGACACTG	42653
DBET	23	CCCCTCAGCGAGGAAGAA	42276	PLPP4	4	CACCTTCCGACACTGG	42654
DBET	24	CAGCGAGGAAGAATACCG	42277	PLXDC2	1	ACCTGCTGCTGGATGA	42655
DBET	25	CCGGGCTCTGCTGGAGGA	42278	PMEL	1	CGGGGATCCCGGAGCT	42656
DBET	26	TGCTGGAGGAGCTTTAGG	42279	PMEPA1	1	CGGAATCCCAGAGCC	42657
DBET	27	GGCGGTGGCCTCTCTTC	42280	PMEPA1	1	CGGAATCCCAGAGCC	42658
DBET	28	GAACACCTGGCTGGCTAC	42281	PML	1	CTGCCTCCTCCAGCCCA	42659
DBET	29	GGCTGGCTACGGAGGGGC	42282	POLR2H	1	CCGAGCCGGCC CAGG	42660
DBET	30	CCGGCCTGGGATTCTGC	42283	POLR2H	2	GCCCCGGGAGGGGCGGG	42661
DBET	31	CTGGGATTCCTGCCTTCT	42284	POM121L1 0P	1	CTGGGATCCTGCCTTCA	42662
DBET	32	GGCCGGTGAGAGACTCC	42285	POM121L1 P	1	CTGGGATCCTGCCTTCA	42663
DBET	33	CCCGGGGATCCAGAGCC	42286	POM121L4 P	1	CTGGGATCCTGCCTTCA	42664
DBET	34	CCGGGGATCCCAGAGCCG	42287	POM121L8 P	1	CTGGGATCCTGCCTTCA	42665
DBET	35	TCCCAGAGCCGGCCAGG	42288	PON1	1	CTGTGGATCCTGAGA	42666

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
DBET	36	CCGGCCCAGGT ACCAGCA	42289	PPAN-P2R Y11	1	CCTGGCCGCCC TGCT	42667
DBET	37	CTGCCTCTCCAC CAGCCCA	42290	PPOX	1	CTGTTCCACCA GCCCA	42668
DBET	38	GGAACACCTGG CTGGCTACG	42291	PPP1R15A	1	CAGGGCCGGCC CAGG	42669
DBET	39	GCCTGGGATTCC TGCCTTCT	42292	PPP1R15A	2	GCCCAGGAGGA GCTGA	42670
DBET	40	TCCCGGGGATC CCAGAGCCG	42293	PPT2-EGF L8	1	GCTGCTGCTGG AGGA	42671
DBH-AS1	1	GGACTGCAAGG GAG	42294	PRAMEF34 P	1	GCCCTGGAGGA GCTGC	42672
DCAKD	1	GGCCTGGGATA CCTT	42295	PRAMEF36 P	1	GCCCTGGAGGA GCTGC	42673
DDR2	1	ACTGAGTTTCTG CAGC	42296	PRDM16	1	GGCGCCCTGGG CTGC	42674
DDR2	2	GTGCCTCTCCAC CACCGA	42297	PRKCB	1	CAGAGCCGGCG CAGG	42675
DDX11	1	TCCTGTGCTGG ATGA	42298	PRKY	1	CCGGGCCGGCC CAGG	42676
DENND2 A	1	GGCCTGGGATT CTG	42299	PROK1	1	GCTCTCTTTCCT GGG	42677
DENND2 A	2	AGGCCTGGGAT TCTG	42300	PROSER3	1	CCAGGCCGCCC TGCT	42678
DGKI	1	CAGTCAAGGCA TCCC	42301	PRR3	1	CCGACCGCCCT GT	42679
DGKQ	1	ACCCTGGCTGG CTC	42302	PRR5L	1	GTTCTGGCTGA AGTC	42680
DIPK2B	1	ACAACCTGGCTG GCTT	42303	PRSS23	1	TAACCTGTCTGT CTTTG	42681
DLG2	1	GGCCTGGGATT CAG	42304	PRUNE2	1	GTCTGCTGCTG GTGA	42682
DLGAP2	1	ATTCGGCTGAAT GTC	42305	PTPN9	1	CGAGCCGGCCC CGG	42683
DLX1	1	CGGAGCTCGCG GCCTCT	42306	PTPRN2	1	CTCGCGGAGAA CGGC	42684
DLX1	2	AGCTCGCGGCC TCTTTG	42307	PYHIN1	1	CACAATATCCCC TGTG	42685
DLX4	1	ATCTGGTTTCAG AAC	42308	RAB31	1	GCCCGGGAGGA GCCGG	42686
DNAAF1 1	1	CCACCTCCGTC CT	42309	RAB37	1	ACCAGGGAGGA GCTGG	42687
DNAH1	1	CCACCTTCAAG CTGTCTT	42310	RAB39A	1	GGGCGGGCGCC CGC	42688
DNAH10	1	GGGGATCCCAG GGCC	42311	RAPGEF4	1	GTCCGGGAGGA GCGGG	42689
DNAH10	2	TGGGGATCCCA GGGCC	42312	RASAL3	1	CGGGCCGGCCC AGG	42690
DNAH14	1	TGGAGGAGCTT TAAAC	42313	RASAL3	2	GCGCTGGAGGA GCTGG	42691

10

20

30

40

50

【表 3 - 9】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
DNAH2	1	CGCCTGGGATTC TG	42314	RASGRP2	1	GGGCGTGCCCG CCCC	42692
DNAH2	1	CGCCTGGGATTC TG	42315	RASSF1	1	GAAGGGCCGCA CCCC	42693
DNAH2	2	CCACACCTACG CTGTCTA	42316	RASSF1	2	GTGCGTGTCCC CGCCCC	42694
DOCK11	1	AGCTCACTGGC CTCTCAG	42317	RBP1	1	GGCGGTCCCAG AGCC	42695
DPF1	1	CCGGCCGGGGC TCAGC	42318	RCVRN	1	CCACCTGGCTG GCTG	42696
DPP9-AS 1	1	CTCGCTGGAAG CCCCCT	42319	RELB	1	CCAGACCGCCG GCT	42697
DSCAML 1	1	CACCGCGGAGA ACGC	42320	RELL2	1	GGCGCCCTGGC CCGC	42698
DZIP1L	1	TCTTCCTTTCCT GGG	42321	RGPD6	1	CAAGCCGGGGA GCG	42699
ECEL1	1	GCCTGGAGGAG CTGG	42322	RGS11	1	CCTGAGTTTCTG CGGC	42700
EDNRB	1	CGCGCCCTGGT TGC	42323	RHCG	1	GCCCAGAGGAG CTGG	42701
EFCC1	1	GGCGCCCTGGC TGC	42324	RHPN2	1	ACCTGCTGCTG GAGA	42702
EFCC1	2	CCTGGGGGAGC TGGAGGC	42325	RIMS4	1	TGCATGCAAGG GAG	42703
EGFL6	1	CAGTGCAAGGC ATCAC	42326	RIPK4	1	AGACCTGGCTG GCCA	42704
EGR1	1	CCGGCCCAGGT CAGCA	42327	RIPK4	2	AAGACCTGGCT GGCCA	42705
ELF3	1	GGGGATCCCAA GCA	42328	RNASE10	1	AACCTGGCTGG CCA	42706
ENC1	1	GCTGCTGCTGG AGA	42329	RNF212	1	GGCGGTCCCAG AGCC	42707
ENOX1	1	GCCCGGGAGGA GCGG	42330	RNF212	2	CGGCGGTCCCA GAGCC	42708
EPHA2	1	CCTTGCTTTCCT GGG	42331	RPS2P32	1	CCACCTGGATG CTGTCTC	42709
EPHB4	1	GGCGCCCTGGA CTCC	42332	RTEL1	1	GCTGCTGCTGG AGA	42710
EPHB4	2	CTCCCTCCACCA GCTCA	42333	RTEL1-TN FRSF6B	1	GCTGCTGCTGG AGA	42711
EPSTI1	1	TCCGCCAGCTG AAGC	42334	RTN1	1	GCCCTGAGGAG CTGG	42712
ERICH3	1	ACACCTGGCTG GGTA	42335	RTN4RL2	1	GCCCTGGAGGA GCTGG	42713
ERICH3	2	AACACCTGGCT GGTA	42336	RUSC1	1	GGACCCTGGTC TGC	42714
ESPN	1	GGCGCCCTGGC AGC	42337	S1PR5	1	TGCGCCTGGTCT GC	42715
EVC2	1	CCGGGCCCGGCC CAGG	42338	SAMD3	1	GGCAGGGATTC CTG	42716

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 0】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
EXOC3L1	1	GCTGCTGCTGGCTGA	42339	SASH1	1	TGGTGCAGAGATACG	42717
EXOC3L2	1	CGAGCCGGCCCCGGG	42340	SBNO2	1	GCCCGAGAGGAGCTGG	42718
EZR	1	GGCGCCCTGGTTTGT	42341	SCN5A	1	CGGGGATCCAGAGCC	42719
EZR	2	GCTGCTGCTGGATA	42342	SCN5A	2	CCCGGGGATCCAGAGCC	42720
F11R	1	CCACCTGGCTGGCA	42343	SCN5A	3	CCGGGGATCCAGAGCCC	42721
FAM171A2	1	CCAGGCGGGGAGCT	42344	SDC3	1	CTGGCCCCACCAGCCCA	42722
FAM205A	1	GATTGAGATGGTTTC	42345	SDK1-AS1	1	CCTGGATAATTAATGTGC	42723
FAM83D	1	GCTCTGGAGGAGCTGG	42346	SDK1-AS1	2	GAGACTCTTTTGACCA	42724
FAM83G	1	AGAAACGCTGGCCCAG	42347	SEMA4C	1	GTCCCTCTCCCCAGCCCA	42725
FANCB	1	AGCTCGCGGGCTCTCTG	42348	SEMA5B	1	GTCGCCCTGGTCTGA	42726
FAS	1	CAGGCGGGGCACTG	42349	SERPINE1	1	TGGAGGACCTTAGGTC	42727
FAT1	1	AGTGCAGAGATGTC	42350	SEZ6	1	CAGCGGGGACAGCT	42728
FAT2	1	CCTGCTTTCCTGGG	42351	SH3TC1	1	GCCTGCTGCTGGGA	42729
FAT3	1	CCGCCGCCCTGCT	42352	SHANK1	1	TCTGTCTTTCCTGGG	42730
FAT3	2	GGCGCCCTGGTGC	42353	SHE	1	CCGCCCGGGGCCCCC	42731
FBLIM1	1	GCGGATCCCAGAGCC	42354	SHISA7	1	GCCCAGAGGAGCTGG	42732
FBLIM1	2	CAAGCCGGCCCCAGC	42355	SHROOM1	1	CCGCCCGGGGTCCCC	42733
FBLIM1	3	GGCGGATCCCAAGAGCC	42356	SIGLEC5	1	TGCTGCAAGGGAG	42734
FBXO24	1	CGGAAGGGAGCTC	42357	SIRPB1	1	GCCTGCTGCTGGAAA	42735
FBXO41	1	CCCGCCGCCCTGCT	42358	SKI	1	CCTCTTTCCTGGG	42736
FCGBP	1	CAAGCCGGGGCAGGT	42359	SKI	2	CCTCCCTGTGGGTCCGAT	42737
FER1L6	1	CTGCAAGGGAGCC	42360	SLA	1	GAGAGTTACATCCCTGG	42738
FGD5	1	GCCCGGGAGGAGCTGA	42361	SLC12A3	1	GGCTGGCAGGGAGGGGC	42739
FGF2	1	CGGGGATCCCGGCC	42362	SLC18B1	1	CCCGGGGACCCAGAGTC	42740
FKBP9P1	1	CCGGCCTGATTCCTGC	42363	SLC26A8	1	TGGGATCCCAGCGCC	42741

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 1】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
FKBPL	1	CGTGCAAGGGG CAC	42364	SLC28A3	1	CTCCCTCCCCAC CAGCCCC	42742
FKBPL	2	ACGTGCAAGGG GCAC	42365	SLC36A1	1	GAGGATCCCAG ACCC	42743
FLG-AS1	1	GGCCTGGGATTT G	42366	SLC39A11	1	GCCTGCTGCTG ATCA	42744
FLI1	1	GGGCAGGGCGC TCGC	42367	SLC41A2	1	TACGTCTGTCTG TCTTTG	42745
FLNB	1	CAAGCCGGGGG CT	42368	SLC46A2	1	GCTTCTTTCCT GAG	42746
FLNB	2	TCACTGTGGATC CTAA	42369	SLC7A14	1	ATTCTGGCTGAC TGTG	42747
FLRT1	1	CAACCGGGGCA GCA	42370	SLC8A2	1	TCCCGGGAGGA GCGG	42748
FOSL2	1	ATGGCCCTCCCA AGACC	42371	SLC8B1	1	TAAGGGCCAGG CCCCG	42749
FOXF1	1	GAGTGCAAGG CATCCC	42372	SLC9B2	1	GGGAGCTCGCT GGTCCT	42750
FRAT2	1	CAAGCCGGGGC ACG	42373	SLC01C1	1	CCTGGATGATTT TGC	42751
FRMD8	1	GGCGCCCTGGT GTGC	42374	SMAP2	1	ACCTGCTGCTG GAGGA	42752
FRMD8	2	CAAGCCGGGCC AAG	42375	SMPD3	1	GCCGGGAGGAG CGGG	42753
GAL3ST1	1	GAGGGTCCCAG AGCC	42376	SORCS3	1	GGCCGGAGGAG CTGG	42754
GALNS	1	CATTGAGATTGG TTTC	42377	SORCS3	2	GAAATCTGGCT GGCTAC	42755
GANC	1	TTTCTGGCTGAA TGCC	42378	SOWAHD	1	GGCGCCCTGGG TGC	42756
GAS6-AS 1	1	CCGGCCGGGGC CCC	42379	SOX17	1	CTGGAGGAGCT AAGGA	42757
GAS7	1	CCACCTGGCTG GCA	42380	SOX4	1	CCGCCGCCCTG CT	42758
GASK1A	1	CCGGCCGGGGC ACC	42381	SPATA6L	1	CTCAAGGGAGC TC	42759
GASK1B	1	CAAGCCGGGGC AGCT	42382	SPATC1	1	AGCCACTCCGC GGAG	42760
GASK1B	2	GTGGCAGGGCT CCGGC	42383	SPOCD1	1	GACCAGGAGGA GCTGG	42761
GCK	1	ACACCTGGCTG GA	42384	SPOCD1	2	CCAGGAGGAGC TGGAGGC	42762
GCKR	1	ACACCTGGCTG CA	42385	SPTBN2	1	GGCCCCTGGTC TGC	42763
GDF11	1	TGCAGAGAATG TCAC	42386	SPTBN2	2	GAGAGCCGGCC CAGC	42764
GDF11	2	TGCAGAGAATG TCACAG	42387	SRGAP2	1	GGCGCCCTGGC TTC	42765
GFOD2	1	GGCGCCCTGGA CTCC	42388	SRP19	1	CAGCGAGGAAG AAACCT	42766

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 2】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
GJA1	1	TCCCTGTGTATCCTAT	42389	SSBP4	1	GGGCAGGGCGCCGGC	42767
GJA3	1	CCCTGCTGCTGGATGG	42390	SSPOP	1	CCAGCCGGGGCAGCT	42768
GJD4	1	GCCGACCTGGTCTGC	42391	SSPOP	2	GGCCCCCTGGTCTGT	42769
GLB1	1	ATACTGGCTGGCTA	42392	SSPOP	3	CCCGGGGGAGCTGGGGC	42770
GNAI3	1	GCACCTGGCTGGCAA	42393	SSTR2	1	ACACCTGGCTTCTA	42771
GNAO1	1	CAAGCCGGGGAGCC	42394	ST20-AS1	1	GCAGGGCCAGGCCCCG	42772
GNAZ	1	CAAGGGCAGGCCACCCG	42395	STAC2	1	GAAGGGCCAGGCCAG	42773
GNAZ	2	CCACCTTGAGCTGTCTC	42396	STARD5	1	TGACGCCAGCTGATGC	42774
GPC2	1	CCACCTTCCGAGGCC	42397	STARD9	1	AGACCTGGCTGGCCA	42775
GPC6	1	TCGGCCTAGGATTCCTGC	42398	STARD9	2	GGCCTGGGATGCTG	42776
GPR146	1	CCACCGCCCTGCT	42399	STRC	1	TGGGATCCCAACC	42777
GPR146	2	ACTCCACTCCGAGAG	42400	STRC	2	CTGGGATCCCAAGACC	42778
GPR150	1	AGCGCCCTGGTCGGC	42401	STX2	1	GTGGAAGGATCGCTT	42779
GPR158	1	CGGAGATCCCAAGAGAC	42402	SV2B	1	GGGAGGAGCTTAGGAC	42780
GPR160	1	GTGGAGGGCGCCCGG	42403	SYNDIGIL	1	TGCAGAGAATGTCAC	42781
GPR37	1	TCCGCCAGCTGAGC	42404	SYNDIGIL	2	TGCAGAGAATGTCACCA	42782
GPX2	1	GCCCTTCCGACGCT	42405	SYNE3	1	TCCCATGGATCCAT	42783
GPX2	2	CCCTTCCGACGCTA	42406	SYNGAP1	1	TGCAGAGTATGTAC	42784
GRHL1	1	CTGGGAAGCTTAGGA	42407	SYNGAP1	2	TGCAGAGTATGTACCA	42785
GRHL1	2	TGGGAAGCTTAGGAC	42408	SYNGR3	1	CTGCCTCTCCACCTGCACC	42786
GRIA1	1	TCACTGTGGATCAT	42409	TAF5	1	CCGGGCTGCTGGAGGA	42787
H2BC8	1	CCAGACCGCCGTGCG	42410	TAL1	1	AGCCGCTGGCCCTCTCTC	42788
HAL	1	CTCCCTCTCCACAGCGCA	42411	TAPT1-AS1	1	CCGGCCGGGGCACC	42789
HECW2-AS1	1	AGGCCCTGGTCGTC	42412	TBC1D32	1	TCCAGTGGATCCAT	42790
HHAT	1	GTCCTGGGATTCCTG	42413	TCAM1P	1	CCAGACCTCCCTGCT	42791

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 3】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
HHAT	2	TGTCCTGGGATT CCTG	42414	TCAM1P	2	CCTTCCTTTCCT GGG	42792
HIP1R	1	GACGTTTGGAC CCC	42415	TCF7	1	CCTTTCTTTCCT TGG	42793
HMX1	1	CCACCCGGGGC AGCT	42416	TEAD2	1	ATGGCAGGGCG CCCC	42794
HOMER3	1	GGAGCCCTGGT CTCC	42417	TEKT4	1	GCAGCTGGCTG GCTA	42795
HOXC11	1	TCCTCTTCTGT CTTTG	42418	TEKT4P2	1	GCAGCTGGCTG GCTA	42796
HPGD	1	AAACCTGGCTG GCA	42419	TEPSIN	1	CTTCCTCTCCAC CATCCA	42797
HPGD	2	AAAACCTGGCT GGCA	42420	TESK2	1	CTGCCTCCACC AGACCC	42798
HRAT92	1	GGACGTGCAAG GGG	42421	TESMIN	1	CGGGATCCCAG AGCT	42799
HRAT92	2	CGTGCAAGGGG CGC	42422	TESMIN	2	CCGGGATCCCA GAGCT	42800
HRAT92	3	GGACGTGCAAG GGGC	42423	TESMIN	3	CCCCGGGATCC CAGAGCT	42801
HRAT92	4	GACGTGCAAGG GGCG	42424	TFAP2B	1	CGGGGATCCAG AGCT	42802
HRAT92	5	ACGTGCAAGGG GCGC	42425	TFAP2B	2	CCGGGGATCCA GAGCTG	42803
HS6ST2	1	CGAGCCGGCCC GGG	42426	TFR2	1	GCCTGCTGCTG GTGC	42804
HSF2BP	1	GTTCTGGCTGA AGTC	42427	TGFB2	1	GACAGTATCCCC TGTA	42805
HTR3C	1	CTCCACTGCAC CAGCCCA	42428	TGFBR3	1	AGAGGTGCAAG GGAGC	42806
ICAM2	1	CGGGATCCCAG AGCT	42429	TGFBR3	2	GAGGTGCAAGG GAGCG	42807
ICAM2	2	CCGGGATCCCA GAGCT	42430	TGM5	1	CCAGACCGCCC AGCT	42808
ICAM2	3	CCCGGGATCCC AGAGCT	42431	TIE1	1	CCCTGCTGCTG GAGA	42809
IFFO1	1	GCCAGGAGGAG CTGG	42432	TINAGL1	1	CGGCCTGGGAT CCAG	42810
IFFO2	1	CTGCCTCTCCAC CACA	42433	TLE3	1	GGCGCCCTGGG CAGC	42811
IFI16	1	CACAATATCCCC TGTG	42434	TLNRD1	1	GTGTCTCTCCAC CAGCCCC	42812
IGFBP7	1	AAAGCCGGGGC AGCA	42435	TMEM106 A	1	TGGGATCCCAG ACC	42813
IGFBPL1	1	GGCCTGGGATT CTG	42436	TMEM106 A	2	CTGGGATCCCA GACC	42814
IGFBPL1	2	TGGCCTGGGATT CTG	42437	TMEM165	1	CCGAGCCGGCC CGGG	42815
IGSF10	1	GGGGATCCCAA ACC	42438	TMPRSS13	1	CCAGACCCCCT GCT	42816

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 4】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
IGSF3	1	CCACCTTCCGCC T	42439	TNFRSF12 A	1	CCAGCCGGGGC TCGCC	42817
IGSF8	1	GCCCGGGAGGT GCTGG	42440	TNFRSF21	1	CCTGGATGATTG TGC	42818
IKZF1	1	GTGGCAGGGCG CGCGC	42441	TNKS1BP1	1	CAGGGCCTGCT GGAGGA	42819
IL1R1	1	GGCCGGGAGGA GCCGG	42442	TOR4A	1	GCCGCGAGGAG CTGG	42820
ILDR2	1	GTCTGTTTGGAC CCC	42443	TPK1	1	TGCAGTGATATG TCACAA	42821
INAVA	1	CTGGAGGAGCT GAGGA	42444	TPSD1	1	GGCCCCTGGTC TGC	42822
INKA2	1	GAAGGGCCAGG CAGCAG	42445	TRAF1	1	GCCAGGAGGAG CTGG	42823
INSRR	1	CCGCGGGGCTC ACC	42446	TRAF5	1	ACACCTGGCTG TA	42824
INSRR	2	GTCCTGGAGGA GCTGG	42447	TRAF5	2	AACACCTGGCT GTA	42825
INSYN1	1	CCGGCCGGGGC CCCC	42448	TRERF1	1	AGCACCTGGT CTGC	42826
IQGAP3	1	CCCGGTGGAGC TGGAGGA	42449	TRIM56	1	CCGGCCGGGGC TCAGC	42827
IRS2	1	GGCGCCCTGGG CGGC	42450	TRIM56	2	CCTGGTGGAGC TGGAGGC	42828
ITGA6	1	GGTGCTCCCAG AGCC	42451	TRIM62	1	CTGCAAGGGAG TC	42829
ITGAL	1	GGCGCCCTGGT TTTC	42452	TRIM67	1	GCCCGGGAGGC GCGGG	42830
ITGAX	1	GTCCAGGAGGA GCTGG	42453	TSPAN10	1	AGCCTGGCTGG CTA	42831
ITIH5	1	CAGAGCCGGCT CAGA	42454	TSPAN13	1	ACACCTGTCTG GCTA	42832
ITIH5	2	CTGCCTCTCCCC ACCCT	42455	TSPAN13	2	GACACCTGTCT GGCTA	42833
KANK4	1	GCTGCTGCTGG AGA	42456	TSPAN14	1	CCTTTCTTTCCC AGG	42834
KCNC3	1	GCCTGCTGCTG GATGA	42457	TTC22	1	CCAGCCAGCTG AGGC	42835
KCNC4	1	CCCTGCTGCTG GATGA	42458	TTC34	1	CGAGCCGCCCT GCT	42836
KCNF1	1	GAAGGCCCTCC CGGCA	42459	TTC6	1	CCACCTTCCGA GCG	42837
KCNF1	2	AAGGCCCTCCC GGCACC	42460	TTL10-A S1	1	CAGCCTCTCCA CCTGCACA	42838
KCNG2	1	GGGAATCCCAG AGCC	42461	TUBB2A	1	CCAGCCGGGGC AGCC	42839
KCNG2	2	GCCTGCTGTGG ATGA	42462	TUBB2B	1	CCAGCCGGGGC AGCC	42840
KCNG2	3	GGGGAATCCCA GAGCC	42463	TUBBP5	1	CCAGCCGGGGC AGCC	42841

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 5】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
KCNJ15	1	TGTGCAGAATATGTC	42464	TULP1	1	GAGGGCCAGGCACCCA	42842
KCNK10	1	TCTTTCTTTCCTTGG	42465	UBXN10	1	GCTGCTGCTGGTGA	42843
KCTD1	1	GCCGGGGAGGAGCTGG	42466	UCK2	1	CTGAAGGGAGCTC	42844
KCTD1	2	GAACACCCGGCTGGCCAC	42467	UCK2	2	ACCTCTCTTGCCCTTGT	42845
KCTD15	1	GCCGGGAGGAGCGG	42468	UNC13A	1	CAGAGCCGGCCCGG	42846
KCTD15	2	CCTCCCTTGATCCTT	42469	UNC45A	1	GGCGCCCTGGCGGC	42847
KIAA0319	1	GCTGCTGCTGGTGA	42470	VANGL1	1	CCACCTGGCTGGCA	42848
KIAA0895L	1	AGGCAAGGGAGCTC	42471	VAV2	1	GCCTGGAGGAGCTGG	42849
KIAA1522	1	CCACCTTCCGACCCC	42472	VAV3	1	CCGGCCGGGGCGCACG	42850
KIAA1549L	1	CAGGAGCCGGCCGGG	42473	VSTM4	1	GGCCTGGGATTCCTT	42851
KIF26A	1	GCAGCCGCCCTGCT	42474	VSTM4	2	AGGCCTGGGATTCCTT	42852
KIF5C	1	GCCCTGGAGGAGCTGG	42475	VSTM4	3	CGCCTCTCCACCAGCACC	42853
KLC3	1	GCCCTGAGGAGCTGG	42476	VWC2	1	CCGGCCGGGCCCAGG	42854
KLF16	1	GGCGCCCTGGTGC	42477	VWC2	2	ACCCCTCCGCGGAG	42855
KLF16	2	CTCCTCTCCACCACCCC	42478	VWF	1	GGCGCCCTGGCCAGC	42856
KLHL14	1	TCCCTGTGGACCGAT	42479	WASF2	1	CCTTCTTTCCTGGA	42857
KLK10	1	GGCCCCCTGGTCTGT	42480	WDR43	1	TGCCTGGGATTCCTG	42858
KRT86	1	GTGGCAGGGCGCCAC	42481	WNT7A	1	CAGAGCCGGCCCGA	42859
KRTAP2-1	1	CTCCTCTCCACAGCCCA	42482	WWC1	1	CCAGCCGGGGCTCCC	42860
LAMA4	1	CTGGCGGGGCTCACC	42483	WWC1	2	GCCTGCTGCTGAGGA	42861
LAMA5	1	GTGGCAGGGCCACGC	42484	WWOX	1	CGGGTCTCGTTTGGA	42862
LAMC2	1	ATTCTGGCTGATGTG	42485	XCR1	1	CCTTTCTTTCCTAGT	42863
LCNL1	1	GGAGGGCCAGGCCCG	42486	YEATS2	1	CAGCCGGGGCAGGT	42864
LDLR	1	TGGGATCCCAGGCC	42487	YPEL2	1	AACCTGGCTGGTA	42865
LEFTY2	1	CTGAGCCGGCCCGG	42488	ZC3H12B	1	CGAGTGCAGAGCTATG	42866

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 6】

表3:							
遺伝子名	部位	配列	配列番号	遺伝子名	部位	配列	配列番号
LIMK1	1	CAGAGCCGGCC CAGC	42489	ZC3H12D	1	AGCGCCTGGTC TGC	42867
LIMK1	2	GCCCAGAGCCG GCCCAGC	42490	ZDHHC8P1	1	CTGGCCGGGCC AGG	42868
LINC003 19	1	CACAGCCGGCC CAGC	42491	ZFP14	1	CAGAGCCGGCC AGG	42869
LINC005 28	1	GCAGGCCGCCC TGCT	42492	ZFP69	1	GCGGCCGGGGC TCACA	42870
LINC005 40	1	CGGGCCGGCCC AGG	42493	ZNF831	1	CCCCTCAGAGA GGAAGAA	42871

10

【0083】

DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドとRNA標的の相互作用の結果

一部の場合では、DUX4 mRNA配列と接触させた場合に修飾を含むDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩によって、修飾を欠くこと以外は同等のオリゴヌクレオチドの等量をDUX4 mRNA配列と接触させることと比較して、DUX4 mRNA配列によってコードされる、より低い活性のポリペプチドを生み出すことができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2分の1以下低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.5分の1以下低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.7分の1以下低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約2.0分の1以下低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5分の1低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2分の1から約2.0分の1まで低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.1分の1から約1.5分の1まで低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.1分の1から約2.5分の1まで低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2分の1から約3.0分の1まで低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2分の1以下～約10分の1以下低い発現とすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約14分の1以下低いとすることができる。一部の場合では、より低い発現は、約18分の1以下低い発現とすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20分の1低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2分の1から約14分の1までとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.1分の1から約20分の1まで低いとすることができる。一部の場合では、より低い活性は、約1.2分の1から約30分の1まで低いとすることができる。

20

30

40

【0084】

一部の場合では、mRNA配列と接触させた場合にDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩によって、修飾を欠くこと以外は同等のオリゴヌクレオチドの等量をmRNA配列と接触させることと比較して、mRNA配列によってコードされるポリペプチドの約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、3、4、5、6、7、8、9、10分の1以下低い発現を生み出すことができる。より低い発現は、約1.2分の1から約10分の1まで低い発現とすることができる。

【0085】

一部の場合では、mRNA配列と接触させた場合にDUX4-標的指向性オリゴヌクレ

50

オチドまたはその塩によって、修飾を欠くこと以外は同等のオリゴヌクレオチドの等量を mRNA 配列と接触させることと比較して、mRNA 配列によってコードされるポリペプチドの約：1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.3、4.5、6.7、8.9、10分の1以下低い活性を生み出すことができる。より低い活性は、約1.2分の1から約10分の1まで低い発現とすることができる。

【0086】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、生理的塩および pH にて、少なくとも約 45～65℃の予測熱融解温度を含むことができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、約 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 または 40℃で RNA 配列と結合することができる。一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、約 6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、または 7.8 の pH で RNA 配列と結合することができる。

【0087】

対象

一部の態様では、対象は、操作された DUX4-標的指向性核酸（オリゴヌクレオチドの形態のような）を含む本明細書に記載の組成物を受けることが適用できる、または本明細書に記載の方法によって処置される哺乳動物を含むことができる。そのような哺乳動物の例としては、ヒト、非ヒト霊長類（例えば、類人猿、テナガザル、チンパンジー、オランウータン、サル、マカク等）、飼育動物（例えば、イヌおよびネコ）、家畜（例えば、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）および実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、モルモット）を挙げることができる。哺乳動物は、任意の年齢であっても任意の発達段階であってもよく、例えば、哺乳動物は、新生児、乳児、思春期、成人または子宮内とすることができる。哺乳動物は、オスであってもメスであってもよい。一部の場合では、ヒトは、約：1日から約7日齢まで、1週から約5週齢まで、1カ月から約12カ月齢まで、1歳から約6歳まで、5歳から約15歳まで、14歳から約30歳まで、25歳から約50歳まで、40歳から約75歳まで、70歳から約100歳まで、85歳から約110歳まで、または約100歳から約130歳までとすることができる。

【0088】

一部の場合では、対象は疾患または状態とこれまでに診断されたことがない場合がある。一部の場合では、対象は疾患または状態と診断された場合がある。一部の場合では、対象は疾患または状態の確定診断を受けたことがない場合がある。対象は、疾患または状態（少なくとも部分的に遺伝的バリエーションに基づくような）を発生するリスクに曝されている場合がある。対象は診断検査を受けたことがあってもよい。診断検査には、画像化法、血球数解析、組織病理学的解析、バイオマーカー解析、またはそれらの任意の組み合わせが含まれる。

【0089】

対象は、神経筋疾患のような状態または疾患の処置を受けている患者のような、患者とすることができる。ある特定の場合では、対象は、神経筋障害のような状態または疾患を発生するリスクに曝されやすいおそれがある。対象は、神経筋障害のような状態または疾患から寛解している場合がある。対象者は健康であってもよい。

【0090】

一部の態様では、対象は、それを必要とする対象とすることができる。一部の態様では、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）の処置には、例えば、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）に罹患している哺乳動物が経験する筋力低下を緩和すること、および／または筋力低下の退縮もしくは消失を引き起こすことが含まれるような疾患を、対象が有する場合がある。

【0091】

投与および処置

一部の態様では、本明細書に開示の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドを使用して以下がもたらされるように、対象を処置することができる：処置によって：倦怠感の軽減、エネルギーの増大、体重の増加、体重の低下、筋肉量の増大、身体の柔軟性の向上、姿勢の向上、可動範囲の向上、筋緊張の停止、筋肉痛の緩和、またはそれらの任意の組み合わせがもたらされる。

【0092】

それを必要とする対象が、疾患または状態の処置を受けることができる。処置は、前処置であっても、予防的処置であっても、予防処置であってもよい。処置には、それを必要とする対象への、本明細書に記載の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物の投与が含まれる。

【0093】

処置することには、患者のうちで高度に保存された操作された D U X - 4 が標的のオリゴヌクレオチド、ならびに、出願時に提出された X M L 配列表ファイルの配列番号 20, 962 ~ 41, 922 および／もしくは表 2 に示す配列番号 41, 923 ~ 42, 115、またはそれらの任意の組み合わせから選択される、操作された D U X - 4 が標的のオリゴヌクレオチドを投与することが含まれる。

【0094】

送達には、身体の影響を受けた組織または領域への直接適用が含まれる。送達には、実質内注射、くも膜下腔内注射、心室内注射、または嚢内注射が含まれる。本明細書で提供される組成物は、任意の方法によって投与することができる。投与方法は、吸入、動脈内注射、脳室内注射、嚢内注射、筋肉内注射、眼窩内注射、実質内注射、腹腔内注射、髄腔内注射、くも膜下腔内注射、静脈内注射、脳室内注射、定位注射、皮下注射、またはそれらの任意の組み合わせによることができる。送達には、非経口投与（静脈内、皮下、くも膜下腔内、腹腔内、筋肉内、血管内または注入を含めて）、経口投与、吸入投与、十二指腸内投与、直腸投与が含まれる。送達には、皮膚のような表面の外表面への局所投与（ローション、クリーム、軟膏のような）が含まれる。一部の場合では、対象は、管理者が不在の場合でも組成物を投与することができる。一部の場合では、対象は、医療専門家（例えば、医師、看護師、医師助手、病院の用務員、ホスピス職員等）の監督下で医薬製剤を投与する場合がある。一部の場合では、医療専門家が医薬製剤を投与してもよい。一部の場合では、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーのような神経筋疾患の処置は、D U X 4 標的指向性オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチドを含むベクター、または下に記載の医薬製剤を含む組成物を用いることによるものである。さらにまた、医薬は、D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチドを含むベクター、または下に記載の医薬製剤を使用して製造することができる。医薬は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの処置に使用しても予防に使用してもよい。

【0095】

投与の方法には、*in vivo* または *in vitro* の送達方法が含まれる。方法には、*in vivo* の細胞のような細胞を、本明細書に記載の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物と接触させることが含まれる。方法には、単離および精製された細胞（*in vitro* での細胞のような）のような細胞を、本明細書に記載の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物と接触させることが含まれる。方法には、*in vivo* での組織または分離された *in vitro* での組織のような組織を、本明細書に記載の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物と接触させることが含まれる。

【0096】

処置には、単回用量で送達される 2 種以上の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドが含まれる。送達は、1 回の注射で、または同時に別々の 2 回の注射で 2 種以上の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドの送達のような、同時的送達であってもよい。送達は、分、時間、日、週、または月のような期間によって隔てることができる第 1 の用量お

10

20

30

40

50

び第2の用量の送達のような、逐次であってもよい。

【0097】

本開示のある特定の態様は、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの投与に関する。ヒト細胞は、頭頸部組織の細胞、皮膚細胞、子宮頸部細胞、前立腺細胞、幹細胞、骨細胞、血液細胞、筋肉細胞、脂肪細胞、神経細胞、内皮細胞、精子細胞、卵細胞、がん細胞、バリア細胞、ホルモン分泌細胞、外分泌細胞、上皮細胞、口腔細胞、感覚伝達細胞、自律神経細胞、末梢神経細胞、中枢神経細胞、分泌細胞、心筋細胞、白血球細胞、生殖細胞、ナース細胞、腎細胞、またはそれらの任意の組み合わせとすることができる。

【0098】

組織とは、実質的に健康である場合がある、実質的に良性である場合がある、またはそうでなければ実質的に疾患または状態が存在しない場合がある、サンプルとすることができる。組織とは、組織生検、組織切除、吸引（細針吸引のような）、組織洗浄、細胞診標本、体液、またはそれらの任意の組み合わせのような、対象から取り出された組織とすることができる。組織は、がん性細胞、腫瘍細胞、非がん性細胞、またはそれらの組み合わせを含むことができる。組織は、血液サンプル（無細胞DNAサンプルのような）を含むことができる。組織は、遺伝子組換えである場合があるサンプルであってもよい。

【0099】

処置には、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーのような神経筋疾患に関連する状態の処置が含まれる。処置によって、倦怠感の軽減、エネルギーの増大、体重の増加、体重の低下、筋肉量の増大、身体の柔軟性の向上、姿勢の向上、可動範囲の向上、筋緊張の停止、筋肉痛の緩和、またはそれらの任意の組み合わせをもたらすことができる。

【0100】

本開示のある特定の態様は、ベクターを用いる、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドの送達に関する。DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、またはそれらの任意の組み合わせを送達するために、ベクターを用いることができる。ベクターは、二本鎖DNAまたは一本鎖DNAのようなDNAを含むことができる。ベクターはRNAを含むことができる。一部の場合では、RNAは塩基修飾を含むことができる。ベクターは、組換えベクターを含むことができる。ベクターは、天然に存在するベクターから修飾されているベクターとすることができる。ベクターは、天然に存在しないベクターの少なくとも一部を含むことができる。一部の場合では、ベクターは、ウイルスベクター、リポソーム、ナノ粒子、エキソソーム、細胞外小胞、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。一部の場合では、ウイルスベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、これらのいずれかの一部、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。一部の場合では、ナノ粒子ベクターは、ポリマーベースナノ粒子、アミノ脂質ベースナノ粒子、金属ナノ粒子（金ベースナノ粒子のような）、これらのいずれかの一部、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。一部の場合では、ベクターはAAVベクターを含むことができる。ベクターは、修飾されたVP1タンパク質を含むように修飾することができる（VP1タンパク質を含むように修飾されたAAVベクターのような）。AAVは、AAV1血清型、AAV2血清型、AAV3血清型、AAV4血清型、AAV5血清型、AAV6血清型、AAV7血清型、AAV8血清型、AAV9血清型、これらのいずれかの派生体、またはそれらの任意の組み合わせのような血清型を含むことができる。

【0101】

ある特定の態様では、操作されたDUX4標的指向性オリゴヌクレオチドとして利用することを意図されたオリゴヌクレオチドの送達は、リポソーム送達を通じたものである。ある特定の例では、リポソームは正に荷電したリポソームとすることができる。ある特定の例では、リポソームは負に荷電したリポソームとすることができる。他の例では、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドの送達はポリマー送達である。他の例では、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド送達はデンドリマー媒介性送達

10

20

30

40

50

である。他の例では、操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドの送達は、マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、超音波、遺伝子銃または流体力学応用を介するものである。他の例では、操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドの送達は、ナノ粒子へのコンジュゲーションまたはそれとの会合を介するものである。

【0102】

医薬製剤

一部の態様では、操作された D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチド標的を送達するための多種多様な医薬製剤を用いることができる。

【0103】

医薬製剤は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、担体、またはそれらの組み合わせを含むことができる。

10

【0104】

医薬製剤の担体は、ある特定の場合では、固体担体とすることができ、乳糖、白土、スクロース、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸等を含むことができる。他の場合では、担体は液体担体であり、リン酸緩衝生理食塩水、シロップ、油、ピーナッツ油、オリーブ油、水、エマルジョン、湿潤剤、滅菌溶液、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0105】

医薬製剤に関する一部の態様では、医薬製剤は薬学的に許容される希釈剤を含むことができる。希釈剤は、例えば、滅菌蒸留水、脱イオン水、生理食塩水、リンゲル液、ブドウ糖溶液、細胞増殖培地、リン酸緩衝食塩水 (P B S)、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

20

【0106】

医薬製剤に関する一部の態様では、医薬製剤は賦形剤を含むことができる。賦形剤に関する例では、賦形剤は、p H 剤、安定化剤、緩衝化剤、可溶化剤、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。賦形剤は、界面活性剤、糖、アミノ酸、抗酸化剤、塩、非イオン性界面活性剤、可溶剤、トリグリセリド、アルコール、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。賦形剤は、炭酸ナトリウム、酢酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、ポリエチレングリコール (P E G)、ヒト血清アルブミン (H S A)、ソルビトール、スクロース、トレハロース、ポリソルベート 8 0、リン酸ナトリウム、スクロース、リン酸二ナトリウム、マンニトール、ポリソルベート 2 0、ヒスチジン、クエン酸塩、アルブミン、水酸化ナトリウム、グリシン、クエン酸ナトリウム、トレハロース、アルギニン、酢酸ナトリウム、酢酸塩、H C l、エデト酸二ナトリウム、レシチン、グリセリン、キサンタンゴム、大豆イソフラボン、ポリソルベート 8 0、エチルアルコール、水、テプレノンまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。賦形剤は、H a n d b o o k o f P h a r m a c e u t i c a l E x c i p i e n t s、A m e r i c a n P h a r m a c e u t i c a l A s s o c i a t i o n (1986) に記載の賦形剤とすることができる。

30

【0107】

本開示には、本明細書に記載の組成物の、薬学的に許容される塩を含めて、塩を含めることができる。十分に酸性な、十分に塩基性な、または両方の官能基を保有することができる本開示の化合物または組成物は、いくつかの無機塩基、無機酸または有機酸のいずれかと反応させて、塩を形成することができる。代替的に、第四級窒素を有するもののような、本質的に荷電している化合物を含有する組成物は、適当な対イオン、例えば、臭化物、クロリド、またはフッ化物のようなハロゲン化物、特に臭化物とともに塩を形成することができる。

40

【0108】

医薬組成物は、第 1 の活性成分を含むことができる。第 1 の活性成分は、本明細書に記載の D U X 4 - 標的指向性オリゴヌクレオチドを含むことができる。医薬組成物は単位用量形態で製剤化することができる。医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、

50

または担体を含むことができる。医薬組成物は、第2のDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドのような第2の、第3、または第4の活性成分を含むことができる。

【0109】

一部の場合では、室内に置かれた密閉容器に一定期間貯蔵された場合、修飾を含む操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩は、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩の初期量のうちの少なくとも約80%が残ることになる。一部の場合では、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、初期量のうちの少なくとも約70%が残ることになる。一部の場合では、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、初期量のうちの少なくとも約90%が残ることになる。一部の場合では、操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは、少なくとも約：60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%が残ることになる。一部の場合では、操作されたヌクレオチドは、少なくとも約60%～約少なくとも80%とすることができる。一部の場合では、操作されたヌクレオチドは、少なくとも約80%～少なくとも約99%とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも1カ月とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも約3カ月とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも約1年とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも約1、2、4、6、8、12、18、24、36、48または60カ月とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも約1カ月～約少なくとも1年とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも約6カ月～少なくとも約2年とすることができる。一部の場合では、貯蔵期間は、少なくとも約1カ月～少なくとも約5年とすることができる。

【0110】

一部の態様では、医薬組成物は、適切な単位用量で対象に投与することができる。医薬組成物は単位用量形態とすることができる。一部の場合では、単位用量とは、有効成分と不活性成分、希釈剤、または賦形剤の特定の混合物を含んで、特定の構成で、送達される特定の用量に配分されて、使用目的で販売される形態の医薬物製品を指すものとする。一部の場合では、単位用量はまた、再利用不可能な包装を包含する場合もあり得るが、FDAは単位用量の「包装」と「調剤」を区別する。2つ以上の単位用量とは、一緒に包装された別々の医薬物製品を指す場合があり、または、複数の薬物および／または用量を含有する単一の医薬物製品を指す場合もある。一部の例では、単位用量という用語はまた、医薬組成物を含む粒子を指す場合もあり、かつ含まれる任意の混合物を指す場合もあり得る。一部の場合では、単位用量のタイプは、薬物送達の投与経路および送達される物質によって様々である。一部の態様では、投与は、静脈内、腹腔内、動脈内、腫瘍内、皮下、筋肉内、鼻腔内、局所、経口、または皮内の各投与を含むことができる。一部の場合では、投与は吸入投与であってもよい。一部の態様では、投薬レジメンは主治医および臨床要因によって決定することができる。一部の態様では、対象への投薬量は、対象のサイズ、体表面積、年齢、性別、一般的な健康状態、投与される化合物、投与の時間および経路、同時に投与される他の薬物、またはそれらの任意の組み合わせを含めて、多くの要因次第とすることができる。一部の態様では、用量の範囲は、0.001～1000 μgを含むことができる。一部の態様では、用量はそのような範囲を下回っても上回ってもよい。一部の態様では、医薬組成物の定期的な投与としてのレジメンは、1 μg～10 mgの範囲とすることができる。一部の態様では、医薬組成物の定期的な投与としてのレジメンは、1日当たり、1週間当たりまたは1カ月当たり10²単位～10¹²単位の範囲とすることができる。一部の場合では、ユニットはベクターであってもASOであってもよい。一部の態様では、レジメンが持続注入を含む場合、レジメンはまた、それぞれ、医薬組成物または操作されたポリヌクレオチドまたは操作されたポリヌクレオチドをコードするDNAまたは操作されたポリヌクレオチドを含有もしくはコードするベクターに関して、体重1キログラム当たり1分当たり、1 μg～10,000 mgの範囲とすることもできる。ある特定の例では、その範囲は、体重1キログラム当たり1 mgから体重1キログラム当たり1000 mgまでである。一部の態様では、経過を定期的な評価によってモ

ニタリングすることができる。

【0111】

本開示の一部の態様では、医薬組成物が液体である場合、医薬組成物は、以下のような液体用量形態で投与することができる：約1ml～約5ml、約5ml～10ml、約15ml～約20ml、約25ml～約30ml、約30ml～約50ml、約50ml～約100ml、約100ml～150ml、約150ml～約200ml、約200ml～約250ml、約250ml～約300ml、約300ml～約350ml、約350ml～約400ml、約400ml～約450ml、約450ml～500ml、約500ml～750ml、または約750ml～1000ml。

【0112】

一部の態様では、本明細書に記載の組成物は、それを必要とする対象に1日またはそれ以上投与することができる。一部の態様では、投与は約：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30または約31日間行うことができる。一部の態様では、投与は約：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または約24カ月間行うことができる。一部の態様では、投与は約：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または約50年またはそれを超えた年間行うことができる。一部の態様では、投与は一生の間行うことができる。一部の態様では、本明細書に記載の医薬組成物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20日またはそれを超えた日間投与することができる。一部の態様では、本明細書に記載の組成物は、連続する日で投与しても、非連続的な日で投与してもよい。一部の態様では、本明細書に記載の組成物は、対象に1日当たり2回以上を投与してもよい。一部の例では、本明細書に記載の組成物は、対象に：1日当たり1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10回またはそれを超えた回数を投与してもよい。

【0113】

一部の態様では、本明細書において開示されているのは本明細書に開示の組成物を使用するための方法である。一部の態様では、1日の経口投薬レジメンは、総体重の1キログラム当たり約0.1ミリグラム(mg/kg)から約80mg/kgまで、約0.2mg/kgから約30mg/kgまで、または約0.5mg/kgから約15mg/kgまでとすることができる。一部の態様では、1日の非経口投薬レジメンは、総体重の約0.1mg/kgから約10,000mg/kgまで、約0.2mg/kgから約5,000mg/kgまで、または約0.5mg/kgから約1,000mg/kgまでを含むことができる。一部の態様では、1日の局所投薬レジメンは、約0.1mgから約500mgまでとすることができる。一部の態様では、1日の投薬レジメンは、1日当たり約0.01mg/kgから約1,000mg/kgとすることができる。一部の態様では、組成物の個々の投薬量の最適な量および間隔は、処置される状態の性質および程度、投与の形態、経路および部位、ならびに処置される特定の対象によって決定することができる、好ましくは、そのような最適値は本明細書に記載の方法によって決定することができる。一部の態様では、規定の日数の間1日当たり与えられる組成物の用量数は、治療決定試験の従来の過程を使用して当業者であれば確認することができる。一部の態様では、投薬レジメンは主治医および他の臨床要因によって決定することができる。一部の態様では、任意の一対象に対する投薬量は、多くの要因次第とすることができる。一部の態様では、投薬量に影響を与える因子は、対象のサイズ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間および経路、一般的な健康状態、同時に投与される他の薬物、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。一部の態様では、経過を定期的な評価によってモニタリングすることができる。

10

20

30

40

50

【0114】

医薬組成物を投与することができる。1日の経口投薬レジメンは、総体重の1キログラム当たり約0.1ミリグラム(mg/kg)から約80mg/kgまで、約0.2mg/kgから約30mg/kgまで、または約0.5mg/kgから約15mg/kgまでとすることができる。一部の態様では、1日の非経口投薬レジメンは、総体重の約0.1mg/kgから約10,000mg/kgまで、約0.2mg/kgから約5,000mg/kgまで、または約0.5mg/kgから約1,000mg/kgまでを含むことができる。一部の態様では、1日の局所投薬レジメンは、約0.1mgから約500mgまでとすることができる。一部の態様では、1日の投薬レジメンは、1日当たり約0.01mg/kgから約1,000mg/kgとすることができる。一部の態様では、組成物の個々の投薬量の最適な量および間隔は、処置される状態の性質および程度、投与の形態、経路および部位、ならびに処置される特定の対象によって決定することができる、好ましくは、そのような最適値は本明細書に記載の方法によって決定することができる。一部の態様では、規定の日数の間1日当たり与えられる組成物の用量数は、治療決定試験の従来の過程を使用して当業者であれば確認することができる。一部の態様では、投薬レジメンは主治医および他の臨床要因によって決定することができる。一部の態様では、任意の一対象に対する投薬量は、多くの要因次第とすることができる。一部の態様では、投薬量に影響を与える因子は、対象のサイズ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間および経路、一般的な健康状態、同時に投与される他の薬物、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。一部の態様では、経過を定期的な評価によってモニタリングすることができる。

10

20

【0115】

組成物または製剤は、神経筋疾患を処置または予防するために本明細書で使用する事ができ、RNA転写物の一部を含むRNAにハイブリダイズするように構成された操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド(操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは配列番号41, 923~42, 115のいずれか1つのオリゴヌクレオチドと少なくとも70%の配列同一性を含む)、前記オリゴヌクレオチドをコードするまたは含むベクター、および薬学的に許容される：賦形剤、希釈剤または担体を含む。ある特定の場合では、神経筋疾患は顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである。他の態様では、RNA転写物の一部を含むRNAにハイブリダイズするように構成された操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド(操作されたDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドは配列番号41, 923~42, 115のいずれか1つのオリゴヌクレオチドと少なくとも約70%の配列同一性を含む)、および薬学的に許容される：賦形剤、希釈剤または担体の使用を、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの処置および予防のための医薬の製造において、必要とする場合がある。

30

【0116】

併用療法

一部の態様では、併用療法と組み合わせでDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩を対象に投与する方法が本明細書で開示される。一部の態様では、1つまたはそれ以上のさらなる併用療法を同時に投与することができる。一部の態様では、1つまたはそれ以上のさらなる治療薬を逐次的に投与することができる。一部の態様では、併用療法は、免疫療法、ホルモン療法、凍結療法、外科的処置またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。併用療法には、小分子のような医薬組成物の投与が含まれる。併用療法には、1つまたはそれ以上の抗生物質のような医薬組成物の投与が含まれる。併用療法は、筋弛緩剤、抗うつ剤、ステロイド、オピオイド、大麻ベースの治療薬、アセトアミノフェン、非ステロイド性抗炎症剤、神経障害性薬剤、大麻、プロゲスチン、プロゲステロン、またはそれらの任意の組み合わせの投与を含むことができる。神経障害性薬剤は、ガバペンチンを含むことができる。非ステロイド性抗炎症剤は、ナプロキセン、イブプロフェン、COX-2阻害剤、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。第2の療法は、バイオ医薬剤の投与、細胞療法、再生医療療法、組織工学的アプローチ、幹細胞

40

50

胞移植またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。併用療法は、医療処置を含むことができる。医療処置は、硬膜外注射（ステロイド注射のような）、鍼治療、運動、理学療法、超音波、外科的療法、カイロプラクティック操作、整骨操作、化学的髄核融解術、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。併用療法は、呼吸補助装置または呼吸器の使用を含むことができる。併用療法は、タンパク質、幹細胞、臍帯血細胞、臍帯組織、組織、またはそれらの任意の組み合わせのよう再生療法または免疫療法の投与を含むことができる。第2の療法は、ピルフェニドン、ニンテダニブ、トシリズマブ、ミコフェノレートモフェチル／ミコフェノール酸プレドニゾン、アザチオプリン、またはそれらの組み合わせのような抗炎症化合物または抗線維症化合物を含むことができる。第2の療法はバイオシミラーを含むことができる。

10

【0117】

一部の態様では、併用療法が医薬品である場合、医薬品は固定用量配合薬の形態で医薬組成物に含まれる。

【0118】

一部の場合では、併用治療用用量レジメンは、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、または約12週間の期間、投与することができる。一部の場合では、用量レジメンは、約1カ月、約2カ月、約3カ月、約4カ月、約6カ月、約7カ月、約8カ月、約9カ月、約10カ月、または約12カ月の期間、投与することができる。一部の場合では、用量レジメンは、約1年、約2年、または約3年超の期間、投与することができる。

20

【0119】

一部の態様では、本明細書に開示の併用療法組成物のための使用の方法が本明細書で開示される。一部の態様では、1日の経口投薬レジメンは、総体重の1キログラム当たり約0.1ミリグラム（mg/kg）から約80mg/kgまで、約0.2mg/kgから約30mg/kgまで、または約0.5mg/kgから約15mg/kgまでとすることができる。一部の態様では、1日の非経口投薬レジメンは、総体重の約0.1mg/kgから約10,000mg/kgまで、約0.2mg/kgから約5,000mg/kgまで、または約0.5mg/kgから約1,000mg/kgまでを含むことができる。一部の態様では、1日の局所投薬レジメンは、約0.1mgから約500mgまでとすることができる。一部の態様では、1日の投薬レジメンは、1日当たり約0.01mg/kgから約1,000mg/kgとすることができる。一部の態様では、組成物の個々の投薬量の最適な量および間隔は、処置される状態の性質および程度、投与の形態、経路および部位、ならびに処置される特定の対象によって決定することができる。好ましくは、そのような最適値は本明細書に記載の方法によって決定することができる。一部の態様では、規定の日数の間1日当たり与えられる組成物の用量数は、治療決定試験の従来の過程を使用して当業者であれば確認することができる。一部の態様では、投薬レジメンは主治医および他の臨床要因によって決定することができる。一部の態様では、任意の一対象に対する投薬量は、多くの要因次第とすることができる。一部の態様では、投薬量に影響を与える因子は、対象のサイズ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間および経路、一般的な健康状態、同時に投与される他の薬物、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。一部の態様では、経過を定期的な評価によってモニタリングすることができる。

30

40

【0120】

一部の態様では、本明細書に記載の併用療法は、それを必要とする対象に1日またはそれ以上投与することができる。一部の態様では、投与は約：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30または約31日間行うことができる。一部の態様では、投与は約：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または約24カ月間行うことができる。一部の態様では、投与は約：1、2、3、4、5、6、

50

7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または約50年またはそれを超えた年間行うことができる。一部の場合では、投与は一生の間行うことができる。一部の態様では、本明細書に記載の医薬組成物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20日またはそれを超えた日間投与することができる。一部の場合では、本明細書に記載の組成物は、連続する日で投与しても、非連続的な日で投与してもよい。一部の場合では、本明細書に記載の組成物は、対象に1日当たり2回以上を投与してもよい。一部の場合では、本明細書に記載の組成物は、対象に：1日当たり1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10回またはそれを超えた回数を投与してもよい。

10

【0121】

一部の態様では、医薬品の定期的な投与としてのレジメンは、 $1\mu\text{g}\sim 10\text{mg}$ の範囲とすることができる。一部の態様では、医薬組成物の定期的な投与としてのレジメンは、1日当たり、1週間当たりまたは1カ月当たり 10^2 単位 $\sim 10^{10}$ 単位の範囲とすることができる。一部の態様では、レジメンが持続注入を含む場合、レジメンはまた、医薬品の $1\mu\text{g}\sim 10,000\text{mg}$ の範囲とすることもできる。ある特定の例では、範囲は、体重 1kg 当たり 1mg から体重 1kg 当たり 1000mg までである。一部の態様では、経過を定期的な評価によってモニタリングすることができる。

【0122】

20

キット

キットは、容器内のDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、容器内の核酸構築物、容器内のベクター、容器内の医薬組成物を含むことができる。キットは、容器内に2種以上のDUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、容器内に2種以上のベクター、容器内に2種以上の核酸構築物、または容器内に2種以上の医薬組成物を含むことができる。一部の場合では、容器はプラスチック容器であっても、ガラス容器であっても、金属製の容器であってもよい。容器は、注射器、バイアル、アンプル、バッグ、ジャー等を含むことができる。

【0123】

キットは、複数の容器を含む場合があり、各容器は、1つまたはそれ以上の、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、または核酸構築物、またはベクター、または医薬組成物を含む。キットは、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物の貯蔵のための賦形剤または希釈剤または緩衝剤または液体もしくはゲル状媒体を含むことができる。キットは、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、または医薬組成物の対象へのインビボ送達のための賦形剤、または希釈剤、または緩衝剤または液体もしくはゲル状の媒体を含むことができる。賦形剤または希釈剤または緩衝液または液体もしくはゲル状の媒体は、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド（または核酸構築物またはベクターまたは医薬組成物）を収容する容器に含めてもよく、別個の容器に収容してもよい。キットは、注射器または針のような送達用ベヒクルを含んでもよい。キットは、下流解析のための1種またはそれ以上の試薬を含む場合がある。

30

40

【0124】

一部の場合では、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩が、室内に置かれた密閉容器に、少なくとも約：1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月の期間の間、約21から約25℃（例えば、約21、22、23、24、25℃）までで、約45%から約55%まで（約：45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%のような）の相対大気湿度をもって、貯蔵される可能性がある場合、DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチドまたはその塩の初期量のうちの少なくとも約：70%、75%、80%、85%、90%、95%が残る。一部の場合では、期間は、約1月から約1年までとすることができる。一部の場合では、期間は

50

、約 1 カ月から約 2 年までとすることができる。一部の 경우에는、期間は、約 1 カ月から約 6 カ月までとすることができる。一部の 경우에는、期間は、約 1 カ月から約 3 年までとすることができる。一部の 경우에는、期間は、約 1 カ月から約 9 カ月までとすることができる。

【0125】

診断

一部の 경우에는、方法は、対象を疾患に罹患していると診断することをさらに含むことができる。一部の 경우에는、診断することは、*in vitro* 診断法を用いることができる。一部の 경우에는、*in vitro* 診断法はコンパニオン診断法であってもよい。他の例では、診断は *in vivo* 診断法を含むことができる。

10

【0126】

診断検査は、画像化法、血球数解析、組織病理学的解析、バイオマーカー解析、生検、磁気共鳴画像法、理学的検査、尿検査、超音波検査、遺伝子検査、肝機能検査、陽電子放出断層撮影法、X線検査、血清検査、血管造影法、心電図検査、内視鏡検査、診断用ポリメラーゼ連鎖反応検査（PCR）、パップスメア、ヘマトクリット検査、皮膚アレルギー検査、尿検査、大腸検査、酵素免疫測定法（ELISA）、顕微鏡解析、骨髄検査、迅速診断検査、妊娠検査、内臓機能検査、毒性検査、感染症検査、体液検査またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0127】

コンピュータ制御システム

本開示は、本開示の方法を実行するようにプログラムされたコンピュータ制御システムを提供する。図 15 に、FSDH の処置におけるような治療効果に対する種々の構築物の効能を予測または確認するようにプログラムされるか、または他の方法で構成されたコンピュータシステム 101 を示す。コンピュータシステム 101 は、例えば、種々の治療標的に対する構築物のモデリングもしくは特定、構築物の効能もしくは安定性のモデリング、またはそれらの任意の組み合わせのような、本開示の種々の態様を調節することができる。コンピュータシステム 101 は、ユーザーの電子デバイスであっても、電子デバイスに関して遠隔に位置するコンピュータシステムであってもよい。電子デバイスは、モバイル電子デバイスの場合がある。

20

【0128】

コンピュータシステム 101 は、中央処理ユニット（CPU、本明細書では「プロセッサ」および「コンピュータプロセッサ」とも称される）105 を備え、これはシングルコアプロセッサであっても、マルチコアプロセッサであっても、並列処理のための複数のプロセッサであってもよい。コンピュータシステム 101 はまた、メモリまたはメモリ場所 110（例えば、ランダムアクセスメモリ、リードオンリーメモリ、フラッシュメモリ）、電子記憶装置 115（例えば、ハードディスク）、1 つまたはそれ以上の他のシステムと通信するための通信インターフェース 120（例えば、ネットワークアダプター）、および周辺機器 125、例えばキャッシュ、他のメモリ、データストレージおよび／または電子ディスプレイアダプター類をも備える。メモリ 110、記憶装置 115、インターフェース 120 および周辺機器 125 は、コミュニケーションバス（実線）、例えばマザーボードを通して CPU 105 と通信している。記憶装置 115 は、データを記憶するためのデータ記憶装置（またはデータリポジトリ）とすることができる。コンピュータシステム 101 は、通信インターフェース 120 の支援によりコンピュータネットワーク（「ネットワーク」）130 に動作可能に連結することができる。ネットワーク 130 は、インターネット、インターネットおよび／またはエクストラネット、またはインターネットと通信しているイントラネットおよび／またはエクストラネットとすることができる。ネットワーク 130 は、一部の 경우에는、電気通信および／またはデータネットワークである。ネットワーク 130 は、1 つまたはそれ以上のコンピュータサーバを含み得、これによって、分散コンピューティング、例えばクラウドコンピューティングを可能とすることができる。ネットワーク 130 は、一部の 경우에는、コンピュータシステム 101 によって

30

40

50

支援されて、ピアツーピアネットワークを実行することができ、これによって、コンピュータシステム101に接続された機器がクライアントまたはサーバとして動作することを可能とすることができる。

【0129】

CPU105は、プログラムまたはソフトウェアで具現化することができる一連の機械可読命令を実行することができる。命令は、メモリ場所、例えばメモリ110に記憶することができる。命令はCPU105に出すことができ、これは次に、本開示の方法を実行するようにCPU105をプログラムまたは他の形で構成することができる。CPU105によって行われる操作の例としては、フェッチ、デコード、実行、およびライトバックを挙げることができる。

10

【0130】

CPU105は、回路、例えば集積回路の一部とすることができる。システム101の1つまたはそれ以上の他のコンポーネントは回路に含むことができる。一部の場合では、回路は、特定用途向け集積回路(ASIC)である。

【0131】

記憶装置115は、ファイル、例えばドライバー、ライブラリーおよび保存プログラムを記憶することができる。記憶装置115は、ユーザーデータ、例えば、ユーザー設定およびユーザープログラムを記憶することができる。コンピュータシステム101は、一部の場合では、コンピュータシステム101に対して外部である、例えばイントラネットまたはインターネットを通してコンピュータシステム101と通信しているリモートサーバ上にある1つまたはそれ以上のさらなるデータ記憶装置を含むことができる。

20

【0132】

コンピュータシステム101は、ネットワーク130を通して1つまたはそれ以上のリモートコンピュータシステムと通信することができる。例を挙げると、コンピュータシステム101は、ユーザーのリモートコンピュータシステムと通信することができる。リモートコンピュータシステムの例としては、パーソナルコンピュータ(例えば、ポータブルPC)、スレートもしくはタブレットPC(例えば、Apple(登録商標) iPad、Samsung(登録商標) Galaxy Tab)、電話、スマートフォン(例えば、Apple(登録商標) iPhone、アンドロイド対応機器、BlackBerry(登録商標))、または携帯情報端末が挙げられる。ユーザーは、ネットワーク130を介してコンピュータシステム101にアクセスすることができる。

30

【0133】

本明細書に記載の方法は、コンピュータシステム101の電子記憶場所に、例えばメモリ110または電子記憶装置115などに記憶された機械(例えば、コンピュータプロセッサ)実行可能コードの様式によって実行することができる。機械実行可能コードもしくは機械可読コードは、ソフトウェアの形で提供することができる。使用時に、そのコードはプロセッサ105によって実行することができる。一部の場合では、そのコードは、記憶装置115から検索し、プロセッサ105によって即時にアクセスできるようにメモリ110に記憶することができる。一部の状況では、電子記憶装置115を除外することができ、機械実行可能命令をメモリ110に記憶させる。

40

【0134】

コードは、コードを実行するように調整されたプロセッサを有する機械によって使用するために、プリコンパイルおよび構成することができるか、または実行時間中にコンパイルすることができる。当該コードは、そのコードがプレコンパイル様式または同時コンパイル(ascopiled)様式で実行することを可能にするように選択することができるプログラミング言語で供給することができる。

【0135】

コンピュータシステム101のような、本明細書で提供されるシステムおよび方法の態様は、プログラミングに具体化することができる。本技術の種々の態様は、典型的には機械(またはプロセッサ)実行可能コードおよび／またはある種の機械可読媒体に担持され

50

たもしくはその中に具体化された関連データの形態をとる、「製品」または「製造品」と考えることができる。機械実行可能コードは、メモリ（例えば、読み出し専用メモリ、ランダムアクセスメモリ、フラッシュメモリ）またはハードディスクのような電子記憶装置に記憶することができる。「記憶」タイプの媒体は、コンピュータ、プロセッサ等の有形メモリ、または種々の半導体メモリ、テープドライブ、ディスクドライブ等のようなその関連モジュールのいずれかまたはすべてを含むことができ、これらは、ソフトウェアプログラミングのためにいつでも非一時的記憶を提供することができる。ソフトウェアのすべてまたは一部は時には、インターネットまたは他の種々の電気通信ネットワークを通して通信することができる。例えば、そのような通信は、あるコンピュータまたはプロセッサから別のコンピュータまたはプロセッサへの、例えば、管理サーバまたはホストコンピュータからアプリケーションサーバのコンピュータプラットフォームへの、ソフトウェアのロードを可能にすることができる。したがって、ソフトウェア要素を保持することができる別の種類の媒体としては、ローカルデバイス間の物理的インターフェースにわたって、有線および光地上ネットワークを通して、ならびに、種々のエアリンクにわたって使用されているような光波、電波および電磁波が挙げられる。このような波を担持する物理的要素、例えば有線または無線リンク、光リンク等もまた、ソフトウェアを保持する媒体とみなすることができる。本明細書で使用される場合、非一時的で有形の「記憶」媒体に限定されていない限り、コンピュータまたは機械「可読媒体」のような用語は、実行のためにプロセッサに命令を与えることに関与する任意の媒体を指す。

10

20

【0136】

それゆえに、コンピュータ実行可能コードのような機械可読媒体は、それらに限定されないが、有形記憶媒体、搬送波媒体、または物理的伝送媒体を含めて、多くの形態を取ることができる。不揮発性の記憶媒体には、例えば、図面に示されるデータベース等を実装するために使用することができるもののような、コンピュータ等の記憶装置のいずれかのような光ディスクまたは磁気ディスクが含まれる。揮発性の記憶媒体には、そのようなコンピュータプラットフォームのメインメモリのようなダイナミックメモリが含まれる。有形の伝送媒体には、同軸ケーブル；コンピュータシステム内のバスを構成するワイヤを含めて、銅線および光ファイバーが含まれる。搬送波伝送媒体は、電気信号もしくは電磁信号の形態、または、無線（RF）データ通信および赤外線（IR）データ通信時に発生するもののような、音波もしくは光波の形態を取ることができる。したがって、コンピュータ可読媒体の一般的な形態には、例えばフロッピーディスク、フレキシブルディスク、ハードディスク、磁気テープ、他の任意の磁気媒体、CD-ROM、DVDもしくはDVD-ROM、他の任意の光媒体、パンチカード紙テープ、孔パターンを有する他の任意の物理的記憶媒体、RAM、ROM、PROMおよびEPROM、FLASH-EPROM、他の任意のメモリチップもしくはカートリッジ、データもしくは命令を搬送する搬送波、そのような搬送波を搬送するケーブルもしくはリンク、または、コンピュータがプログラミングコードおよび／もしくはデータを読み取ることができる他の任意の媒体等が含まれる。これらの形態のコンピュータ可読媒体の多くが、実行のために、1つまたはそれ以上の命令の1つまたはそれ以上の配列をプロセッサに搬送することに関与することができる。

30

40

【0137】

コンピュータシステム101は、例えば、1つまたはそれ以上の結果（即時結果または以前の方法からのアーカイブされた結果）、1つまたはそれ以上のユーザー入力、ライブラリーまたはデータベースからの基準値またはその派生物、またはそれらの任意の組み合わせを提供するためのユーザーインターフェース（UI）140を含む電子ディスプレイ135を含むことができるか、またはそれと通信することができる。UIの例としては、限定されないが、グラフィカルユーザーインターフェース（GUI）およびウェブベースユーザーインターフェースが挙げられる。

【0138】

一部の場合では、図15に示すように、遺伝物質を含有するサンプル202は、ヒト対

50

象のような対象 201 から取得することができる。サンプル 202 は、アッセイを行うような、本明細書に記載の 1 つまたはそれ以上の方法に供することができる。一部の場合では、アッセイは、配列決定（ナノポア配列決定のような）、ジェノタイピング、ハイブリダイゼーション、増幅、標識、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。方法からの 1 つまたはそれ以上の結果を、プロセッサ 204 に入力することができる。サンプルの識別、対象の識別、サンプルのタイプ、基準物、または他の情報のような 1 つまたはそれ以上の入力パラメータをプロセッサ 204 に入力することができる。アッセイからの 1 つまたはそれ以上の測定基準は、プロセッサが神経筋疾患の診断または処置に対する推奨のような結果を生み出すことができるように、プロセッサ 204 に入力することができる。プロセッサは、結果、入力パラメータ、測定基準、基準物、またはそれらの任意の組み合わせを、ビジュアルディスプレイまたはグラフィカルユーザーインターフェースのようなディスプレイ 205 に送信することができる。プロセッサ 204 は、（i）結果、入力パラメータ、測定基準、またはそれらの任意の組み合わせをサーバ 207 に送信し得、（i i）結果、入力パラメータ、測定基準、またはそれらの任意の組み合わせをサーバ 207 から受信し得、（i i i）またはそれらの組み合わせであり得る。

10

20

30

40

50

【0139】

本開示の方法およびシステムは、1 つまたはそれ以上のアルゴリズムの様式によって実行することができる。アルゴリズムは、中央処理ユニット 105 による実行時にソフトウェアによる様式によって実行することができる。アルゴリズムは、例えば、1 つまたはそれ以上の構築物の治療効能、安定性、またはその他の属性を最適化するために、教師あり学習を介して最適化された構築物を決定することができる。

【実施例 1】

【0140】

骨格筋サンプルからの D U X 4 配列

合計 95 例の骨格筋サンプルの R N A - s e q データから解析を実行したが、そのうちの 70 例は F S H D 患者に由来し、25 例は健康な個体に由来した。使用されたサンプルは、以下の公的に利用可能な 3 つのデータセット由来のものであった：Y a o ら 2014（28）W o n g ら 2020（17）および W a n g ら 2019（29）。この解析の結果を図 3 に示す。しかし、こういったアプローチでは、D U X 4 が非常に低レベルで発現するので配列サンプル当たり 1 つまたは 2 つのリードのみしか特定されなかったという事実起因して、D U X 4 コード配列の大部分から患者の R N A 配列変異を予測するのに十分なデータを生成することに成功しなかった。個体間の配列変異を確信的に予測するためには、サンプル毎に 50 ~ 100 × のリード数が通常は必要である。エクソン 1 に位置する D U X 4 の小領域のみがこの基準を満たした。

【実施例 2】

【0141】

精巣サンプルからの D U X 4 配列

本発明者らはこの否定的な仮説について検討することを決定し、206 個体由来の精巣サンプルの R N A - s e q データを解析した（30）。予想外に、このデータセットは、この配列にわたる平均カバレッジ 117 × をもって筋肉特異的転写物のエクソン 1、2、3 にわたる変動性を予測するのに十分であった（図 4）。このデータセットから、本発明者らは、> 85 % で保存されている D U X 4 コード配列のいくつかの領域にとって有能であり、このアプローチにおいて有望であることを提示した。しかし、D U X 4 のいくつかの領域は、スプライスアイソフォームの差異に起因する可能性が高いが、保存性を正確に予測するのに十分なカバレッジをまだ有していなかった。

【実施例 3】

【0142】

筋肉サンプルと精巣サンプルの統合データベースからの D U X 4 配列

この問題を解決するために、本発明者らは極めてユニークかつ前例のないアプローチを採用し、筋肉の R N A - s e q と精巣の R N A - s e q を 1 つの合併データセットに統合

し、解析を実行した。この最終解析では、本発明者らは、G T E Xから486本の精巢サンプルを取得することができかつ実施例1からの95例の骨格筋サンプルを利用した。この最終解析により、97%を超えるD U X 4遺伝子について>50×の読取りカバレッジをもたらす最良のデータが生成され、その結果患者のうちで85%超で保存されている、D U X 4遺伝子部位およびO T Nのペアの正確な予測が可能となった(表4)。上記のように、結果として生成するすべてのO T N配列およびペア化されたD U X 4標的部位配列は、すべてDNAフォームで表されているが、配列番号1~41, 922を包含するx m lファイルとして提出されている。本データは、F S H D患者の大部分のうちで保存されているD U X 4配列内の15~25個の塩基の適切な区間を特定する上で、およびO T N薬開発の選択において有用となろう。

【0143】

【表4】

表4: 保存された DUX4 領域

190173724-190173916, 190173917-190173950, 190173951-190174011, 190174012-190174073, 190174074-190174231, 190174232-190174291, 190174292-190174343, 190174344-190174517, 190174518-190174941, 190174942-190175068, 190175069-190175149, 190175150-190175197, 190175198-190175218, 190175219-190175285, 190175286-190175414, 190175415-190175588, 190175589-190175654, 190175655-190175713, 190175714-190175816, 190175817-190175918, 190175919-190176359, 190176360-190176589, 190176590-190178325, 190178326-190178341, 190178342-190178384, 190178385-190178402, 190178403-190178458, 190178459-190178528, 190178529-190178585, 190178586-190178886, 190178887-190179164, 190179165-190179573, 190179574-190179602, 190179603-190179746, 190179747-190179926, 190179927-190180010, 190180011-190180125, 190180126-190180225, 190180226-190181024, 190181025-190181092, 190181093-190181112, 190181113-190181219, 190181220-190181254, 190181255-190181291, 190181292-190181441, 190181442-190181625, 190181626-190181656, 190181657-190181909, 190181910-190181954, 190181955-190182178, 190182179-190182208, 190182209-190182254, 190182255-190182357, 190182358-190182437, 190182438-190183539, 190183540-190183738, 190183739-190183811, 190183812-190183834, 190183835-190184392, 190184393-190184588, 190184589-190184611, 190184612-190184807, 190184808-190184858, 190184859-190185155, 190185156-190185731, 190185732-190185762, 190185763-190185826, 190185827-190185947.

【0144】

表4に関して、染色体4q35上のD U X 4をコードする連続した配列は、個体間で>85%保存されており、F S H Dの処置のためにD U X 4を標的とするO N Tの標的部位として働く可能性がある。D U X 4のDNA配列および列記された座標は、E n s e m b l eリリース101 (G R C h 3 8 . p l 3)と合致する。

【0145】

図1を参照すると、この図はF S H Dをもたらす遺伝子組換えを図示する。F S H Dでは、タイプ1は、およそ100から11未満リピートまでの染色体4q35上のD 4 Z 4リピートの欠失の結果であり、染色体のオープニングおよびD U X 4の発現という結果につながる。F S H Dタイプ2は、後成的因子S M C H D 1における機能喪失突然変異の結果であり、4q35上の脱メチル化D 4 Z 4リピート、染色体のオープニングおよびD U X 4の発現という結果につながる。

【0146】

図2を参照すると、この図は、D 4 Z 4領域に起源をもつ選択的スプライシングのD U X 4転写物を示す。E N S T 0 0 0 0 0 6 1 6 1 6 6 . 1、E N S T 0 0 0 0 0 5 6 9 2

41.5、およびENST00000570263.5は、筋肉組織で発現する場合、F SHDと関連する。転写物ENST00000565211.1、ENST00000563716.5、およびENST00000564366.1は、他の組織で通常に発現され、障害とは関連しない。例えば、ENST00000563716.5は精巣で発現される。

【0147】

図3を参照すると、この図は、F SHDおよび健康な筋生検組織由来の選択的スプライシングのDUX4転写物のRNA-Se qデータからの読取りカバレッジを示す。

【0148】

図4を参照すると、この図は、精巣由来の選択的スプライシングのDUX4転写物のRNA-Se qデータからの読取りカバレッジを示す。選択的スプライシングのDUX4転写物ENST00000616166.1、ENST00000569241.5、およびENST00000570263.5は、筋肉組織で発現する場合、F SHDと関連する。

10

【0149】

図5を参照すると、この図は、化学修飾DUX4が標的のASOによって生物学的ヌクレアーゼに対するASOの安定性を改善することができることを示す。DUX4が標的のASOを10%ヒト血清中で37℃で指定の長さの時間の間、インキュベートした。各時点でのASOの安定性を、変性尿素-PAGEによって視覚化した。未修飾オリゴは、極めて低い半減期を有する未修飾DNA核酸の一例を示し、Neg Con Oligoは、DUX4を標的としないが同様の化学修飾を有するASOを示し、一方、他のパネルは、DUX4を標的とする化学的に操作されたASOを示す。例外的な例では、生物学的ヌクレアーゼに対して7日間（168時間）まで安定性を提示する。

20

【0150】

表5を参照すると、この表は、生物学的ヌクレアーゼに対するDUX4を標的とする化学修飾ASOの算出された半減期を示す。DUX4 ASOを10%ヒト血清中で37℃、様々な時点でインキュベートし、尿素-PAGEを介して視覚化した。各時点で濃度測定を実行し、各時点でのASO安定性を式 $N(t) = N_0 (1/2)^{t/t(1/2)}$ に基づいて算出および平均したが、ここで、 $N(t)$ は時点 t でのシグナルであり、 N_0 はヌクレアーゼとのインキュベーション前の開始時におけるシグナルであり、 $t(1/2)$ は半減期である。未修飾とは非化学修飾のRNAを指し、一方、Neg Con Oligoとは化学修飾されているがDUX4を標的としないASOを指す。

30

【0151】

40

50

【表 5】

表 5: ヒト血清半減期			
ASO ID	半減期(時間)	ASO ID	半減期(時間)
未修飾	0.05	AS-DX-059-1	>720
Neg Con Oligo	>720	AS-DX-098-1	427
AS-DX-001	119	AS-DX-099-1	>720
AS-DX-002-1	15	AS-DX-027-2	>720
AS-DX-002-2	291	AS-DX-027-3	>720
AS-DX-005-1	63	AS-DX-027-4	>720
AS-DX-008-1	124	AS-DX-100-01	>720
AS-DX-010-1	150	AS-DX-101-01	>720
AS-DX-010-2	505	AS-DX-102-01	>720
AS-DX-011-1	282	AS-DX-103-01	>720
AS-DX-012-1	700	AS-DX-105-01	353
AS-DX-015-1	336	AS-DX-033-2	601
AS-DX-101-1	139	AS-DX-033-3	>720
AS-DX-102-1	238	AS-DX-107-1	433
AS-DX-103-1	77	AS-DX-108-1	334
AS-DX-104-1	108	AS-DX-50-3	>720
AS-DX-105-1	45	AS-DX-50-4	>720
AS-DX-106-1	256	AS-DX-110-1	668
AS-DX-107-1	128	AS-DX-111-1	540
AS-DX-108-1	118	AS-DX-59-2	611
AS-DX-120-1	111	AS-DX-112-1	>720
AS-DX-007-1	>720	AS-DX-59-3	>720
AS-DX-016-1	>720		
AS-DX-018-1	387		
AS-DX-023-1	339		
AS-DX-025-1	857		
AS-DX-027-1	487		
AS-DX-028-1	221		
AS-DX-029-1	377		
AS-DX-030-1	538		
AS-DX-033-1	198		
AS-DX-038-1	174		
AS-DX-040-1	322		
AS-DX-041-1	>720		
AS-DX-050-1	350		
AS-DX-052-1	91		
AS-DX-057-1	401		

【0152】

図 6 A を参照すると、この図は、操作された DUX4 ASO についての自然免疫賦活化の減少を示す。ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) (およそ $2 \sim 6 \times 10^5$ 個の細胞) を丸底 96 ウェルプレートにプレATINGし、RNAiMAX 試薬を用いて 133 nM 濃度の指定 ASO を 48 時間トランスフェクトした。上清培地中の IFN- α (左軸) および TNF- α (右軸) のレベルを、6 人の患者について ELISA によって定量化した。ポリ (dA:dT) (Pos Con #1) および免疫賦活化性オリゴヌクレオチド (Pos Con #2) を、免疫賦活化のポジティブ対照として利用した。オリゴヌクレオチドを含まない RNAiMAX をベースラインネガティブ対照 (Baseline) として

利用したが、一方、DUX4を標的としない非免疫賦活化性RNA (Neg Con) をトランスフェクトすると免疫賦活化は低いことが実証された。

【0153】

図6Bを参照すると、この図がさらに示すところは、Raw-Blue細胞アッセイ (Invivogen、raw-sp) によれば、操作されたDUX4 ASOの自然免疫賦活化は減少すること、である。手短に説明すると、細胞を、10% FBS (Thermo、10082147) を含むDMEM (Thermo、11965092) にU底96ウェルプレート (Thermo、163320) に150 μ Lで100,000細胞/ウェルでプレATINGした。24時間後、OptiMEM (Thermo、31985088) 22.34 μ Lを、10 μ M ASO 2.66 μ Lの (ウェル当たり) およびLipofectamine 1 μ L (ウェル当たり) と混合した。次いで、Lipofectamine/ASO混合物をRaw Cellの各ウェルに添加して、最終ASO濃度を133 nMとした。Poly (dA:dT) (Invivogen、tlrl-patn) @1~10 ng/mL、CpG (invivogen、tlrl-1585) @133 nMをポジティブ対照として使用した。細胞をトランスフェクション/ASO混合物とともに@37度/5% CO₂で1日間インキュベートする。インキュベーション後、プレートを300 $\times$ gで5分間穏やかに回転させ、次いで各ウェルから20 μ Lを採取し、新しい平底96ウェルプレート (VWR、29442-056) に添加した。QUANT-Blue (Invivogen、rep-qbs) 180 μ Lを上清の各ウェルに添加し、@37度/5% CO₂で30分~6時間インキュベートした。Cytation 5 (Biotek) を使用して620~655 nmで吸光度を読み取った。データは6回繰返しのウェルの平均値を表し、エラーバーは標準偏差を表す。

10

20

【0154】

図7を参照すると、DUX4 ASO HTSアッセイ計画。3' UTRにDUX4のコード配列を有するeGFPを発現する安定したヒトまたはマウスの筋芽細胞。この構築物の構成的発現は、強力で遍在的な発現に向けてCMVによって駆動される。eGFP-UTR-DUX4転写物をコードする無傷のままのmRNAが転写され、eGFP配列が翻訳される。有毒なDUX4タンパク質の翻訳は、eGFP配列の末端における終止コドンおよびDUX4の開始コドンの突然変異によって妨げられる。DUX4を効率的に標的とするASOは、融合転写物に結合し、RNase HまたはRISCを通して分解を誘導し、その結果、GFPタンパク質の発現を妨げることができる。処理の後、プレートリーダーまたは画像解析によってアッセイして、実験用ASOと比較して、未処理細胞およびネガティブ対照トランスフェクションにおいて蛍光の減少を観察して、DUX4が標的のASOの効能を比較する再現可能な結果を効率的に生成することができた。2つのレポーターアッセイ、一方は不死化マウス筋芽細胞株C2C12におけるもの、他方は不死化ヒトFISHD筋芽細胞株15Abicにおけるものを開発した。

30

【0155】

表6を参照すると、この表は、安定したDUX4 GFPレポータースクリーニングアッセイのノックダウンを表示する。黒色ウオールで、透明底の96ウェルプレートに、15Abic安定細胞10,000個またはC2C12安定細胞1500個をそれぞれの培地にプレATINGした。付着後の翌日、Lipofectamine (商標) RNAiMAX Transfection Reagent (13778075、Thermo Fisher Scientific) を使用して細胞に次いでトランスフェクトした。各ウェルに、Lipofectamine (登録商標) RNAiMAX 0.20 μ L/ウェルをOpti-MEM 5 μ Lと混合し、5分間インキュベートした。次いで、2つのトランスフェクション混合物の総体積が10 μ L/ウェルとなるように、および総ウェル体積200 μ Lに含まれるASOの最終濃度がC2C12細胞の場合は12.5 nMおよび15Abic細胞の場合は25 nMになるように、Opti-MEMに含まれる等量の20 $\times$ ASOを添加した。ASO-Opti-MEM混合物を室温で15分間インキュベートした。次いで、結果として生じるトランスフェクション試薬混合物10 μ Lを各実験

40

50

ウェルに添加した。6時間後、通常の細胞培養培地を各ウェルに添加し、次いでプレートを37℃で72～96時間インキュベートした。次いで、培地を、読取りのために、L-グルタミンおよびビルビン酸ナトリウムをそれぞれ4mMおよび1mMまで補充したFluoroBrite DMEM培地 (A1896701、Thermo Fisher Scientific) 50μLと交換した。各ウェルの蛍光強度を、Cytation 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader (Biotek Instruments) で390+10nm励起および510+10nm発光で測定した。蛍光測定の後、無血清FluoroBrite DMEMを除去し、通常培地100μLを各ウェルに添加し、WST-8を使用して細胞生存率／細胞数を測定した。細胞生存率の測定は製造業者のプロトコルに従った。手短に説明すると、続いてWST-8 (a

b228554、Abcam) 10μLを各ウェルに添加し、プレートを振動させて試薬を均等に分散させた。次いで、プレートをインキュベーターに、細胞密度および細胞タイプに応じて30分～3時間戻した。細胞生存率を測定するために、460nmにおける吸光度をCytation 5で測定した。各ウェルのGFP測定値はWST-8細胞数に対して正規化した。表中の値は、6回繰返しのウェルからの平均GFP発現を表し、ネガティブ対照ASOによる処理の分率として表示する。

【0156】

10

20

30

40

50

【表 6 - 1】

表6 -オリゴヌクレオチド療法によるGFP-DUX4レポーターのノックダウン.

C2C12 GFP レポーターアッセイ		15Abic GFP レポーターアッセイ	
ASO 名	Ave. FC	ASO 名	Ave. FC
Neg. Con	0.99	Neg. Con	1.00
AS-DX-001-1	0.86	AS-DX-015-1	0.81
AS-DX-002-1	0.78	AS-DX-015-3	0.62
AS-DX-003-1	0.93	AS-DX-018-1	0.65
AS-DX-004-1	0.86	AS-DX-028-1	0.77
AS-DX-005-1	0.88	AS-DX-029-1	0.65
AS-DX-006-1	0.96	AS-DX-030-1	0.63
AS-DX-008-1	0.84	AS-DX-033-1	0.54
AS-DX-009-1	0.70	AS-DX-050-1	0.81
AS-DX-010-1	0.59	AS-DX-052-1	0.71
AS-DX-011-1	0.54	AS-DX-059-1	0.39
AS-DX-012-1	0.67	AS-DX-102-1	0.80
AS-DX-015-1	0.66	AS-DX-094-1	0.60
AS-DX-015-3	0.41	AS-DX-104-1	0.37
AS-DX-018-1	0.54	AS-DX-033-2	0.82
AS-DX-019-1	0.84	AS-DX-033-3	0.70
AS-DX-021-1	0.99	AS-DX-105-1	0.83
AS-DX-022-1	0.85	AS-DX-106-1	0.84
AS-DX-023-1	0.53	AS-DX-059-2	0.39
AS-DX-025-1	0.57	AS-DX-112-1	0.47
AS-DX-026-1	0.55	AS-DX-114-1	0.77
AS-DX-027-1	0.33	AS-DX-116-1	0.69
AS-DX-028-1	0.55	AS-DX-117-1	0.70
AS-DX-029-1	0.53	AS-DX-118-1	0.79

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

AS-DX-030-1	0.56		AS-DX-119-1	0.64
AS-DX-032-1	0.80		AS-DX-120-1	0.78
AS-DX-033-1	0.53		AS-DX-122-1	0.53
AS-DX-034-1	0.89		AS-DX-123-1	0.40
AS-DX-035-1	0.87		AS-DX-124-1	0.44
AS-DX-036-1	1.03		AS-DX-125-1	0.41
AS-DX-037-1	0.87		AS-DX-126-1	0.62
AS-DX-038-1	0.53		AS-DX-031-1	0.37
AS-DX-040-1	0.48		AS-DX-128-1	0.42
AS-DX-041-1	0.43		AS-DX-129-1	0.60
AS-DX-043-1	0.83		AS-DX-130-1	0.51
AS-DX-044-1	0.75		AS-DX-131-1	0.96
AS-DX-045-1	0.59		AS-DX-132-1	0.86
AS-DX-046-1	0.97		AS-DX-133-1	0.45
AS-DX-018-2	0.82		AS-DX-133-2	0.40
AS-DX-048-1	0.84		AS-DX-134-2	0.88
AS-DX-049-1	0.89		AS-DX-135-1	0.80
AS-DX-050-1	0.98		AS-DX-136-1	0.61
AS-DX-051-1	0.66		AS-DX-137-1	0.69
AS-DX-052-1	0.59		AS-DX-045-2	0.63
AS-DX-054-1	0.86		AS-DX-138-1	0.67
AS-DX-055-1	0.87		AS-DX-139-1	0.66
AS-DX-057-1	0.67		AS-DX-106-2	0.71
AS-DX-058-1	0.72		AS-DX-140-1	0.79
AS-DX-059-1	0.27		MRC-2107	0.64
AS-DX-023-2	0.60			
AS-DX-023-3	0.39			
AS-DX-098-1	0.62			
AS-DX-099-1	0.55			

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

AS-DX-027-2	0.55			
AS-DX-027-3	0.68			
AS-DX-027-4	0.56			
AS-DX-100-1	0.50			
AS-DX-094-1	0.44			
AS-DX-104-1	0.34			
AS-DX-033-2	0.42			
AS-DX-033-3	0.18			
AS-DX-105-1	0.29			
AS-DX-106-1	0.50			
AS-DX-107-1	0.30			
AS-DX-108-1	0.23			
AS-DX-059-2	0.50			
AS-DX-112-1	0.50			
AS-DX-113-1	0.58			
AS-DX-059-3	0.20			
AS-DX-116-1	0.90			
AS-DX-117-1	0.89			
AS-DX-118-1	0.94			
AS-DX-119-1	0.63			
AS-DX-120-1	0.78			
AS-DX-128-1	0.62			
AS-DX-129-1	0.70			
AS-DX-130-1	0.94			
AS-DX-131-1	0.84			
AS-DX-132-1	0.63			
AS-DX-133-1	0.56			
AS-DX-133-2	0.75			
AS-DX-134-1	0.74			

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

AS-DX-134-2	0.77			
AS-DX-135-1	0.88			
AS-DX-137-1	0.52			
AS-DX-045-2	0.91			
AS-DX-139-1	0.76			
AS-DX-106-2	0.82			
AS-DX-140-1	0.53			
AS-DX-033-4	0.69			
AS-DX-141-1	0.59			
AS-DX-112-2	0.54			
AS-DX-142-1	0.72			
MRC-2107	0.71			

【0157】

図 8 A を参照すると、この図は、治療用 A S O が F S H D 筋管において D U X 4 の強力なノックダウンを有することを示す。不死化 F S H D 筋芽細胞を 8 0 % コンフルエンスでプレーティングし、2 4 時間後に l i p o f e c t a m i n e R N A i m a x (T h e r m o) を用いて 5 0 n M もしくは 2 5 n M の対照または抗 D U X 4 A S O をトランスフェクトし、これに続いて 2 4 時間インキュベートした。次いで、細胞を 9 6 時間にわたり D U X 4 陽性 F S H D 筋管へ分化させ、その後、総 R N A 採取および q R T - P C R を実行した。G A P D H を内部対照として使用した。値は、それぞれ 3 回の技術的繰返しの条件で 2 回の実験の平均値を表し、エラーバーは S E M を表す (* 両方の用量についてスチューデントの t 検定による、 $p < 0.05$) 。

【0158】

図 8 B および表 7 を参照すると、これらは、F S H D 筋芽細胞における、D U X 4 ならびに D U X 4 誘導性遺伝子 Z S C A N 4 および S L C 3 4 A 2 のノックダウンを表示する。1 5 A b i c 細胞または C 6 細胞を、1 2 枚の 2 4 ウェル細胞培養プレートのウェル毎に 1 5 0 , 0 0 0 個の細胞の密度でヒト M y o g e n i c P r e c u r s o r C e l l (h M P C) 培地にプレーティングした。h M P C 培地は、R o o s t e r B a s a l (商標) - M S C 5 0 0 m L 、 R o o s t e r B o o s t e r (商標) - M S C (K T - 0 0 1 、 R o o s t e r B i o) 1 0 m L 、ウシ胎児血清 (1 0 0 8 2 1 4 7 、 T h e r m o F i s h e r) 9 1 m L 、および 1 0 0 m M ピルビン酸ナトリウム (1 1 3 6 0 0 7 0 、 T h e r m o F i s h e r) 5 0 m L から構成された。h M P C 培地に細胞をプレーティングして 3 日後、培地を、R o o s t e r B a s a l (商標) - M S C 5 0 0 m L 、 R o o s t e r B o o s t e r (商標) - M S C 1 0 m L 、ウマ血清 (1 6 0 5 0 1 3 0 、 T h e r m o F i s h e r) 1 1 . 4 m L 、および 1 0 0 m M ピルビン酸ナトリウム 5 0 m L から構成される h M P C 分化培地と交換した。h M P C 培地に細胞をプレーティングして 1 0 日後 (h M P C 分化培地に細胞をプレーティングして 7 日後) に、製造業者の指示に従って、ウェル体積 1 m L に含まれる L i p o f e c t a m i n e (商標) R N A i M A X T r a n s f e c t i o n R e a g e n t (1 3 7 7 8 0 7 5

、Thermo Fisher) 0.875 μ L および 3.125 nM または 6.5 nM ASO を使用して、細胞へのフォワードトランスフェクションを行った。トランスフェクションの5日後、細胞を、緩衝剤 RLT (79216、Qiagen) 350 μ L に溶解させた。RNA を、製造業者の指示に従って Direct-zol-96 RNA キット (R2056、Zymo Research) を使用して抽出した。精製 RNA 濃度を、製造業者の指示に従って NanoDrop 1000 (Thermo Fisher) を使用して決定した。cDNA は、以下の改変の条件で、ezDNase (商標) Enzyme kit (18091150、Thermo Fisher) を用いて SuperScript (商標) IV First-Strand Synthesis System に関する製造業者の指示に従うことによって、生成した。ゲノム DNA の消化後、110 μ M ジチオスレイトール 1 μ L を添加した。50 μ M アンカー Oligo d(T) 20 1 μ L を逆転写過程のプライマーとして使用した。cDNA 生成の後、qPCR を実行して3つの標的遺伝子：DUX4-fl (DUX4-完全長)、SLC34A2、および ZSCAN4、ならびに1つの対照遺伝子：RPL13A を定量化した。デュアルクエンチの PrimeTime qPCR プローブおよびプライマーを使用して、多重化の、プローブベースの qPCR 反応を行った (フォワードプライマー、リバースプライマー、およびプローブがアッセイを構成する)。手短に説明すると、96 ウェルプレートの各ウェルで、PrimeTime (登録商標) Gene Expression Master Mix (1055772、Integrated DNA Technologies) 10 μ L を、cDNA 100 ng および各 20 $\times$ アッセイ (DUX4-fl、SLC34A2、ZSCAN4、RPL13A) 0.25 μ L と、それぞれの総体積が 20 μ L となるような体積の水とともに、混合した。熱サイクリングおよびプレート読取りを、LightCycler 96 (Roche Diagnostics) を使用して行った。サイクル条件は以下の通りとした：95 $^{\circ}$ C で 180 秒間のポリメラーゼ活性化、変性およびアニーリング／伸長のステップを 40 サイクル繰り返す条件で、95 $^{\circ}$ C で 15 秒間の変性、および 60 $^{\circ}$ C で 60 秒間のアニーリング／伸長。各サイクル後のアニーリング／伸長ステップの終了時に蛍光を読み取った。サイクル閾値は、LightCycler 96 ソフトウェアを使用して自動で決定した。標的遺伝子の正規化相対発現を、Taylorら、2019 (「The Ultimate qPCR Experiment: Producing Publication Quality, Reproducible Data the First Time」) により記載の方法に従って算出した。次いで、3つの標的遺伝子の発現を合計し、ネガティブ対照 ASO と比較した標的遺伝子の正規化、相対的、複合性ノックダウンを記載する棒グラフを作成した。
【0159】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表7. DUX4が標的のODNによる3.125nM処理の後の、DUX4ならびにDUX4調節性遺伝子 ZSCAN4およびSLC34A2のノックダウンに関するqRT-PCR.

ASO名	DUX4fl 発現	DUX4fl 誤差
Neg. Con. ASO	1.00	0.66
AS-DX-001-1	0.03	0.01
AS-DX-002-1	0.24	0.19
AS-DX-003-1	0.05	0.01
AS-DX-004-1	0.32	0.25
AS-DX-005-1	0.06	0.00
AS-DX-006-1	0.15	0.09
AS-DX-007-1	0.14	0.09
AS-DX-008-1	0.10	0.05
AS-DX-010-1	0.19	0.16
AS-DX-011-1	0.22	0.17
AS-DX-012-1	0.18	0.12
AS-DX-015-1	0.28	0.17
AS-DX-015-3	0.04	0.00
AS-DX-018-1	0.05	0.00
AS-DX-019-1	0.03	0.00
AS-DX-021-1	0.87	0.87
AS-DX-022-1	0.18	0.14
AS-DX-023-1	0.21	0.17
AS-DX-025-1	0.07	0.01
AS-DX-026-1	0.07	0.01
AS-DX-027-1	0.05	0.00
AS-DX-028-1	0.22	0.18
AS-DX-029-1	0.06	0.00
AS-DX-030-1	0.04	0.00
AS-DX-032-1	0.13	0.01
AS-DX-033-1	0.11	0.03
AS-DX-034-1	0.09	0.03
AS-DX-035-1	0.12	0.03
AS-DX-036-1	0.04	0.01
AS-DX-037-1	0.06	0.00
AS-DX-038-1	0.06	0.00
AS-DX-040-1	0.06	0.01
AS-DX-041-1	0.07	0.00
AS-DX-043-1	0.09	0.00
AS-DX-044-1	0.07	0.00
AS-DX-045-1	0.07	0.01
AS-DX-046-1	0.06	0.00
AS-DX-018-2	0.22	0.06
AS-DX-048-1	0.12	0.02
AS-DX-049-1	0.08	0.00
AS-DX-050-1	0.08	0.02
AS-DX-051-1	0.07	0.01
AS-DX-052-1	0.07	0.00

ASO名	ZSCA N4発現	ZSCA N4誤差	SLC34 A2発現	SLC34 A2誤差
Neg. Con. ASO	1.00	0.41	1.00	0.75
AS-DX-002-1	0.83	0.09	0.51	0.14
AS-DX-008-1	1.11	0.24	0.65	0.29
AS-DX-015-1	0.93	0.09	0.07	0.12
AS-DX-015-3	0.77	0.13	0.72	0.41
AS-DX-018-1	1.11	0.04	0.86	0.44
AS-DX-025-1	2.08	0.28	0.30	0.08
AS-DX-028-1	1.31	0.13	0.42	0.25
AS-DX-029-1	1.55	0.45	0.83	0.44
AS-DX-030-1	0.69	0.08	0.33	0.17
AS-DX-033-1	1.28	0.06	0.52	0.05
AS-DX-038-1	1.52	0.04	0.37	0.14
AS-DX-041-1	1.04	0.03	0.09	0.03
AS-DX-048-1	0.66	0.03	0.35	0.09
AS-DX-050-1	0.87	0.16	0.18	0.09
AS-DX-051-1	0.90	0.07	0.81	0.16
AS-DX-052-1	1.21	0.07	0.41	0.07
AS-DX-056-1	0.67	0.05	0.51	0.13
AS-DX-059-1	1.04	0.04	1.24	0.30
AS-DX-023-2	1.28	0.38	0.92	0.81
AS-DX-023-3	1.54	0.19	1.73	0.19
AS-DX-027-2	1.21	0.11	0.31	0.15
AS-DX-027-4	0.78	0.12	0.18	0.09
AS-DX-104-1	0.63	0.10	0.63	0.42
AS-DX-033-3	0.47	0.05	0.09	0.01
AS-DX-105-1	0.58	0.09	0.24	0.03
AS-DX-050-4	0.73	0.14	1.00	0.37
AS-DX-109-1	0.61	0.09	0.44	0.26
AS-DX-112-1	0.84	0.14	0.30	0.24
AS-DX-113-1	0.55	0.03	0.25	0.10

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

AS-DX-053-1	0.18	0.08
AS-DX-054-1	0.08	0.01
AS-DX-055-1	0.08	0.00
AS-DX-056-1	0.08	0.02
AS-DX-057-1	0.09	0.02
AS-DX-058-1	0.06	0.01
AS-DX-059-1	0.06	0.00
AS-DX-023-2	0.05	0.00
AS-DX-023-3	0.20	0.19
AS-DX-098-1	0.06	0.00
AS-DX-027-2	0.07	0.01
AS-DX-027-3	0.08	0.00
AS-DX-027-4	0.23	0.17
AS-DX-100-1	0.40	0.30
AS-DX-101-1	0.27	0.22
AS-DX-094-1	0.17	0.09
AS-DX-104-1	0.06	0.02
AS-DX-033-2	0.15	0.09
AS-DX-033-3	0.03	0.00
AS-DX-105-1	0.14	0.08
AS-DX-106-1	0.16	0.07
AS-DX-107-1	0.06	N/A
AS-DX-108-1	0.09	0.01
AS-DX-050-2	0.06	0.02
AS-DX-050-3	0.25	0.28
AS-DX-050-4	0.05	0.00
AS-DX-109-1	0.05	0.00
AS-DX-007-3	0.12	0.04
AS-DX-111-1	0.08	0.02
AS-DX-059-2	0.06	0.02
AS-DX-112-1	0.08	0.02
AS-DX-113-1	0.33	0.22

10

20

30

【0160】

表8を参照すると、この表は、DUX4が標的のASOのHepG2肝臓細胞におけるLD-50値を表示する。HEPG2細胞（HB-8065、ATCC、Manassas、VA）を、10%FBS（FBS、16000044、Thermo Fisher Scientific）および1×ペニシリン-ストレプトマイシン（15140122、Thermo Fisher Scientific）を補充したDMEM（10-013-CV、Corning Inc.）中で増殖させた。細胞を、加湿インキュベーター内で5%CO₂で37℃で増殖させた。96ウェルプレートに、5,000個の細胞を、抗生物質不含培地180μLにプレーティングした。プレーティングの直後に、Lipofectamine（商標）RNAiMAX Transfection Reagent（13778075、Thermo Fisher Scientific）を使用して細胞へのトランスフェクションを行った。ASOの100nMトランスフェクションの場合、RNAiMAX 0.4μL/ウェルをOpti-MEM 10μLに希釈し、次いでOpti-MEMの1μM ASO（10×最終培養体積）10μLと一緒にし、室温で15分間インキュベートした。より低い用量のASOを、100nM複合体の1:2連続希釈によって作製した。より高い濃度については、ASOの濃度を高めることにより、しかし細胞毒性を引き起こすことなく使用することができる最高用量であるRNAiMAX 0.4μL/ウェルを維持することにより、調製した。次いで、適当な希釈ASO/RNAiMAX複合体20μLを、複合体形成の30分以内に各ウェルに添加した。

40

50

プレートを手で優しく振動させてトランスフェクション試薬をウェル内に均等に分散させ、次いでインキュベーターに戻した。細胞を37℃で72～96時間処理した。処理後、トランスフェクション培地を除去し、新鮮培地100μLを各ウェルに添加し、WST-8アッセイを実行して、細胞生存率／細胞数を測定した。細胞生存率の測定は製造業者のプロトコルに従った。手短に説明すると、WST-8 (ab228554、Abcam) 10μLを各ウェルに添加し、プレートを振動させて試薬を均等に分散させた。次いで、プレートをインキュベーターに90分間戻した。次に、460nmでの吸光度をCytation 5で測定した。データを、細胞を含有するウェルから無細胞ウェル（ウェル中、培地とWST8試薬のみのウェル）の平均バックグラウンド細胞生存率測定値を差し引くことによって解析した。細胞生存率を、Opti-memのみをモックトランスフェクトしたウェルに正規化することによって算出した。致死量50（LD50）濃度値は、この目的のために設計されたカスタムExcelマクロを使用して用量曲線から外挿した。

10

【0161】

【表8】

表8: DUX4が標的のASOに関するHepG2肝臓細胞における致死量50値			
ASO名	IC50	ASO名	IC50
Neg. Con. ASO	>300	AS-DX-059-1	283.17
AS-DX-007-1	>300	AS-DX-027-2	38.66
AS-DX-015-1	>300	AS-DX-027-4	38.91
AS-DX-015-3	153.17	AS-DX-100-1	96.77
AS-DX-018-1	67.84	AS-DX-033-2	177.65
AS-DX-023-1	31.11	AS-DX-033-3	52.43
AS-DX-025-1	53.00	AS-DX-105-1	51.96
AS-DX-027-1	10.30	AS-DX-106-1	60.38
AS-DX-028-1	50.22	AS-DX-107-1	88.52
AS-DX-029-1	42.15	AS-DX-108-1	112.89
AS-DX-030-1	>300	AS-DX-050-2	113.08
AS-DX-033-1	53.84	AS-DX-050-3	>300
AS-DX-038-1	>300	AS-DX-050-4	>300
AS-DX-040-1	68.18	AS-DX-109-1	105.82
AS-DX-041-1	40.99	AS-DX-007-3	>300
AS-DX-050-1	96.11	AS-DX-111-1	>300
AS-DX-052-1	>300	AS-DX-059-2	>300
AS-DX-057-1	42.42	AS-DX-112-1	>300
AS-DX-058-1	14.50	AS-DX-059-3	>300

20

30

40

【0162】

図9を参照すると、この図は、多重標的のアンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）によるF5HD患者筋芽細胞におけるDUX4転写物およびDBET RNA転写物の同時ノックダウンを示す。AS-DX-10はDUX4転写物のみを標的とするが、一方、AS-DX-25、-37、および-55はDUX4とDBETの両転写物を標的とする

50

。不死化15Abic筋芽細胞を12ウェルプレートにプレーティングし、翌日、トランスフェクション剤RNAiMAXを使用して、50nMの対照または標的化ASOをトランスフェクトした。プレーティングの1日後、筋芽細胞形成およびDUX4発現を誘導するために分化培地を添加した。トランスフェクションの72時間後、細胞を溶解し、ウェルから総RNAを採取し、RT-qPCRを実行してDUX4転写物またはDBET転写物の発現を決定した。ASO AS-DX-25、-37、および-55はDUX4とDBETの両転写物をノックダウンしたが、一方、AS-DX-10はDUX4のみをノックダウンした。

【実施例4】

【0163】

ASO標的配列のMC-DX4オフターゲット解析および検証
オフターゲット転写物の特定

DUX4コード遺伝子(ENSG00000258389.2)内の15bpから20bpまでの可能性のあるすべての逆相補ASO位を、DUX4領域chr4:190,173,774~190,185,942にわたる参照配列内で1bpスライドして作製した。GGGenome(<https://gggenome.dbcls.jp/>)の改変スクリプトを、ヒトトランスクリプトームに本発明者らのオリゴヌクレオチド配列の迅速アライメント向けに使用した(Human RNA Refseq release 205、2021年3月)。このスクリプトによって、DUX4を標的とする可能性のある各ASOに部分的に相補性であるすべての転写物が特定された。次いで、本発明者らは、これらのヒットをアルゴリズムで解析して、オフターゲットの可能性がより高いものを特定した。これらは、最大3つのミスマッチ、ギャップ、またはバルジを含有することができる(WO2021203043)が、構造立体配座、親和性、および転写物の発現に関連する一連の他の原則に従う必要がある。こういったフィルターを用いても、偽陽性の可能性が高いかまたは状況依存性である予測された多くのオフターゲット転写物が依然として存在し、in vitroおよびin vivoでの実験的試験を通して検証する必要がある。

【0164】

潜在的陽性のFSHD関連標的に対するオフターゲット相互作用のフィルタリング

患者の分離と遺伝子発現解析は、疾患生物学を理解するのに開示されたデータの解析戦略の極めて重要な部分である。これは、筋肉組織および患者の細胞からのRNA発現パターンを報告する文献から利用可能なデータセットを集めることで始まる。本発明者らは、サンプルの取り扱い、マイクロアレイおよびRNAseqによるトランスクリプトームプロファイリング、ならびに重要な患者情報について厳格な基準を持って10例の研究に関するデータベースを組み立てた。これら10例の研究には以下が含まれていた：DUX4を過剰発現する筋芽細胞で発現上昇を伴う遺伝子(Tsumagariら2011(31)、Pakulaら2013、(32)Gengら2012(33)、およびMitsuhashiら2021(34))；ヒト筋生検のマイクロアレイ研究(Winokurら2003(35)、およびRahimovら2012(36))；およびRNAseqプロファイル(Yaoら2014(28)、Wongら2020(17)、およびWangら2019(29))。これら研究の欠点の1つは、これらの研究には患者数が低いことが含まれ、その結果、統計的検出力を欠いていることが多いことである。この問題を克服するために、本発明者らは、利用可能なデータを用いて3つのRNAseq研究から新規のデータセットを創り出して、統計的検出力および患者の臨床的属性との相関関係を導出する能力を改善した。図10に、本発明者らのデータセットおよび本発明者らの解析の概要を示す。

【0165】

まず、本発明者らは、公開されているデータセットの中で、または本発明者ら自身のRNAseq解析を使用して、FSHD筋対対照筋で一般に上方制御されている遺伝子を特定した。本発明者らはまた、主成分解析および階層的クラスタリングを利用して患

10

20

30

40

50

者をグループに分離し、対照サンプルとこれらのグループとの間の発現パターンを比較した。興味深いことに、クラスターは臨床重症度スコア（すなわち、軽度、中等度、または重度の疾患）と良好に合致する。本解析を支持して、図11に表示するように、より大規模なメタ解析に含まれるサンプルのサブセットからの同様の解析より同様の結果が得られた。この解析から、本発明者らは、この調節不全に関する裏付け証拠、およびあらゆる関連する臨床相関を各遺伝子とともに維持しつつ、F S H Dにおける上方制御された遺伝子のデータベースを創り出した。このデータベースから、次に、本発明者らは、G Oパスウェイ解析を利用してパスウェイエンリッチメント解析を実行した（37）。最も上方制御されるパスウェイには、炎症応答およびその他の免疫調節パスウェイ、細胞増殖、細胞周期調節および線維症が含まれる。

10

【0166】

本発明者らは、F S H D関連遺伝子とパスウェイの本データベースを組み立て、次いで、このリストに対して本発明者らが特定した潜在的なオフターゲット相互作用をフィルタリングした。F S H D関連遺伝子または共標的に一致する潜在的なオフターゲット相互作用を、表2の右端列に表示する。例えば、A S - D X - 0 0 7は、F S H Dに関連する3つの共標的、例えば、D B E T、M K I 6 7、およびI R F 5を標的とすることが予測される。D B E Tは、D 4 Z 4リピートのオープニングおよびD U X 4の発現に関連する非コードRNAである（38）。M K I 6 7は、本発明者らが上方制御されたF S H D筋組織において検出したK i - 6 7タンパク質をコードしており、かつ筋線維細胞の増殖と損傷のD U X 4誘導に関与している可能性がある。（図12A）。I R F 5（インターフェロン制御因子5）は、いくつかの炎症性シグナルによって上方制御される転写因子をコードし、かつ、T N Fのようないくつかのサイトカインの発現および細胞内インターフェロン応答の誘導をもたらす（図12B）。本発明者らの解析はまた、軽度および重度のF S H Dにおいてこれらの遺伝子の発現が上昇することを実証した（図13）。

20

【0167】

潜在的な負の毒性関連相互作用に対するオフターゲット相互作用のフィルタリング

回避するのが望ましいと思われる毒性に関連するおそれのある潜在的なオフターゲット相互作用を特定するために、本発明者らは、ピアレビューの刊行物を蓄積するI n g e n u i t y知識データベースと、T o x n e tおよびその他のデータベースからの毒性関連遺伝子発現データセットを利用して、潜在的な毒性とオフターゲット遺伝子に関連付けた。本発明者らはまた、ゴーパスウェイ解析により、筋肉の分化、発達および機能に関連する遺伝子を特定した。本発明者らは、オリゴヌクレオチド配列をフィルタリングし、I P A s T o x i c i t y知識ベースまたはゴーパスウェイへの一致についてオフターゲット相互作用を特定した。例えば、N R 4 A 1は、肝臓および腎臓の細胞死ならびに線維化、ならびに筋細胞の分化に関連する。

30

【0168】

q R T - P C Rによる共標的相互作用の検証

オフターゲット相互作用を検証するために、F S H D筋芽細胞株1 5 A b i cを使用した。2 . 5 e 5 1 5 a b i c筋芽細胞を6ウェルプレートにプレーティングした。24時間後、複製培地を除去し、各A S Oの最終濃度が5 0 n Mとなるように、分化培地2 m Lおよび適当なA S O R N A i m a x複合体含有の最適条件2 5 0 μ Lを添加した。A S O処理には、蛍光ネガティブ対照A S O、ポジティブ対照としてD U X 4のみを標的とするA S - D X - 0 1 5 - 1、またはD B E T、I R F 5、およびM K I 6 7を共標的とすることができるA S - D X - 0 0 7 - 1もしくはA S - D X - 0 5 0 - 1が含まれた。トランスフェクションの開始時に、分化培地を細胞に添加して筋管への融合およびD U X 4発現を誘導した。図14Aを参照すると、トランスフェクションの48時間後、最適化された条件下で、蛍光A S Oのほぼ100%のトランスフェクション効率を表示する。トランスフェクションの96時間後、筋管融合が細胞形態によって観察され、総RNAを採取した。c D N Aを作製し、q R T - P C RをD U X 4および共標的遺伝子について実行した。図14Bを参照すると、グラフは3回生物学的繰返しのウェルの平均値を表示し、

40

50

エラーバーは平均値の標準誤差を表す。*は両側のスチューデントt検定によるp値<0.05を図示する。DUX4の確固たるノックダウンがすべてのASOについて観察され、共標的の有意なノックダウンがAS-DX-007-1およびAS-DX-050-1で観察された。

【0169】

本明細書では、本開示の好ましい態様を示し、説明してきたが、そのような態様は、一例としてのみ提供されるものである。多数の変形、変更、および置換を行うことができる。本明細書に記載の開示の態様に対する種々の代替案を、本開示を実施する上で用いることができることを理解されたい。以下の特許請求の範囲によって本開示の範囲が定義され、これらの特許請求の範囲内の方法および構造物ならびにそれらの均等物がそれによってカバーされることが意図される。

10

【0170】

参考文献

1. Hamel J, Tawil R. Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy: Update on Pathogenesis and Future Treatments. *Neurotherapeutics*. 2018;15(4):863-71. doi: 10.1007/s13311-018-00675-3. PubMed PMID: 30361930; PMCID: PMC6277282.
2. Do TN, Street N, Donnelly J, Adams MM, Cunniff C, Fox DJ, Weinert RO, Oleszek J, Romitti PA, Westfield CP, Bolen J, Muscular Dystrophy Surveillance T, Research N. Muscular Dystrophy Surveillance, Tracking, and Research Network pilot: Population-based surveillance of major muscular dystrophies at four U.S. sites, 2007-2011. *Birth Defects Res*. 2018;110(19):1404-11. doi: 10.1002/bdr2.1371. PubMed PMID: 30070776; PMCID: PMC6265066.
3. Richards M, Coppee F, Thomas N, Belayew A, Upadhyaya M. Facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD): an enigma unravelled? *Hum Genet*. 2012;131(3):325-40. doi: 10.1007/s00439-011-1100-z. PubMed PMID: 21984394.
4. Kowaljow V, Marcowycz A, Ansseau E, Conde CB, Sauvage S, Matteotti C, Arias C, Corona ED, Nunez NG, Leo O, Wattiez R, Figlewicz D, Laoudj-Chenivresse D, Belayew A, Coppee F, Rosa AL. The DUX4 gene at the FSHD1A locus encodes a pro-apoptotic protein. *Neuromuscul Disord*. 2007;17(8):611-23. doi: 10.1016/j.nmd.2007.04.002. PubMed PMID: 17588759.
5. Celegato B, Capitanio D, Pescatori M, Romualdi C, Pacchioni B, Cagnin S, Vigano A, Colantoni L, Begum S, Ricci E, Wait R, Lanfranchi G, Gelfi C. Parallel protein and transcript profiles of FSHD patient muscles correlate to the D4Z4 arrangement and reveal a common impairment of slow to fast fibre differentiation and a general deregulation of MyoD-dependent genes. *Proteomics*. 2006;6(19):5303-21. doi: 10.1002/pmic.200600056. PubMed PMID: 17013991.
6. A prospective, quantitative study of the natural history of facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD): implications for therapeutic trials. The FSH-DY Group. *Neurology*. 1997;48(1):38-46. doi: 10.1212/wnl.48.1.38. PubMed PMID: 9008491.
7. Tawil R, Forrester J, Griggs RC, Mendell J, Kissel J, McDermott M, King W, Weiffenbach B, Figlewicz D. Evidence for anticipation and association of deletion size with severity in facioscapulohumeral muscular dystrophy. The FSH-DY Group. *Ann Neurol*. 1996;39(6):744-8. doi: 10.1002/ana.410390610. PubMed PMID: 8651646.
8. Mah JK, Chen YW. A Pediatric Review of Facioscapulohumeral Muscul

20

30

40

50

- ar Dystrophy. *J Pediatr Neurol*. 2018;16(4):222-31. doi: 10.1055/s-0037-1604197. PubMed PMID: 30923442; PMCID: PMC6435288.
9. Padberg GW, Brouwer OF, de Keizer RJ, Dijkman G, Wijmenga C, Grote JJ, Frants RR. On the significance of retinal vascular disease and hearing loss in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve Suppl*. 1995(2):S73-80. PubMed PMID: 23573590.
10. Anseau E, Vanderplanck C, Wauters A, Harper SQ, Coppee F, Belayew A. Antisense Oligonucleotides Used to Target the DUX4 mRNA as Therapeutic Approaches in Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy (FSHD). *Genes (Basel)*. 2017;8(3). doi: 10.3390/genes8030093. PubMed PMID: 28273791; PMCID: PMC5368697. 10
11. Bao B, Maruyama R, Yokota T. Targeting mRNA for the treatment of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Intractable Rare Dis Res*. 2016;5(3):168-76. doi: 10.5582/iridr.2016.01056. PubMed PMID: 27672539; PMCID: PMC4995414.
12. Wallace LM, Garwick SE, Mei W, Belayew A, Coppee F, Ladner KJ, Guttridge D, Yang J, Harper SQ. DUX4, a candidate gene for facioscapulohumeral muscular dystrophy, causes p53-dependent myopathy in vivo. *Ann Neurol*. 2011;69(3):540-52. doi: 10.1002/ana.22275. PubMed PMID: 21446026; PMCID: PMC4098764. 20
13. Chen JC, King OD, Zhang Y, Clayton NP, Spencer C, Wentworth BM, Emerson CP, Jr., Wagner KR. Morpholino-mediated Knockdown of DUX4 Toward Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Therapeutics. *Mol Ther*. 2016;24(8):1405-11. doi: 10.1038/mt.2016.111. PubMed PMID: 27378237; PMCID: PMC5023379.
14. Wallace LM, Saad NY, Pyne NK, Fowler AM, Eidahl JO, Domire JS, Griffin DA, Herman AC, Sahenk Z, Rodino-Klapac LR, Harper SQ. Pre-clinical Safety and Off-Target Studies to Support Translation of AAV-Mediated RNAi Therapy for FSHD. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018;8:121-30. doi: 10.1016/j.omtm.2017.12.005. PubMed PMID: 29387734; PMCID: PMC5787672. 30
15. Wallace LM, Liu J, Domire JS, Garwick-Coppens SE, Guckes SM, Mendell JR, Flanigan KM, Harper SQ. RNA interference inhibits DUX4-induced muscle toxicity in vivo: implications for a targeted FSHD therapy. *Mol Ther*. 2012;20(7):1417-23. doi: 10.1038/mt.2012.68. PubMed PMID: 22508491; PMCID: PMC3392971.
16. Pandey SN, Lee YC, Yokota T, Chen YW. Morpholino treatment improves muscle function and pathology of Pitx1 transgenic mice. *Mol Ther*. 2014;22(2):390-6. doi: 10.1038/mt.2013.263. PubMed PMID: 24232919; PMCID: PMC3916049. 40
17. Wong CJ, Wang LH, Friedman SD, Shaw D, Campbell AE, Budech CB, Lewis LM, Lemmers R, Statland JM, van der Maarel SM, Tawil RN, Tapscott SJ. Longitudinal measures of RNA expression and disease activity in FSHD muscle biopsies. *Hum Mol Genet*. 2020;29(6):1030-43. doi: 10.1093/hmg/ddaa031. PubMed PMID: 32083293; PMCID: PMC7158378.
18. Xie S, Xiang Y, Wang X, Ren H, Yin T, Ren J, Liu W. Acquired cholesteatoma epithelial hyperproliferation: Roles of cell proliferation signal pathways. *Laryngoscope*. 2016;126(8):1923-30. doi: 10.1002/lary.25834. PubMed PMID: 26989841.
19. Elkon KB, Briggs TA. The (Orf)ull truth about IRF5 and type I interf 50

- erons in SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(10):543-4. doi: 10.1038/s41584-020-0472-7. PubMed PMID: 32709997.
20. S.T. C. *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications*, Second Edition 2008.
21. Reinert K, Langmead B, Weese D, Evers DJ. Alignment of Next-Generation Sequencing Reads. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2015;16:133-51. doi: 10.1146/annurev-genom-090413-025358. PubMed PMID: 25939052.
22. van der Maarel SM, Frants RR. The D4Z4 repeat-mediated pathogenesis of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Am J Hum Genet*. 2005;76(3):375-86. doi: 10.1086/428361. PubMed PMID: 15674778; PMCID: PMC1196390.
23. Ballarati L, Piccini I, Carbone L, Archidiacono N, Rollier A, Marozzi A, Meneveri R, Ginelli E. Human genome dispersal and evolution of 4q35 duplications and interspersed LSau repeats. *Gene*. 2002;296(1-2):21-7. doi: 10.1016/s0378-1119(02)00858-2. PubMed PMID: 12383499.
24. Das S, Chadwick BP. Influence of Repressive Histone and DNA Methylation upon D4Z4 Transcription in Non-Myogenic Cells. *PLoS One*. 2016;11(7):e0160022. doi: 10.1371/journal.pone.0160022. PubMed PMID: 27467759; PMCID: PMC4965136.
25. Snider L, Asawachaicharn A, Tyler AE, Geng LN, Petek LM, Maves L, Miller DG, Lemmers RJ, Winokur ST, Tawil R, van der Maarel SM, Filippova GN, Tapscott SJ. RNA transcripts, miRNA-sized fragments and proteins produced from D4Z4 units: new candidates for the pathophysiology of facioscapulohumeral dystrophy. *Hum Mol Genet*. 2009;18(13):2414-30. doi: 10.1093/hmg/ddp180. PubMed PMID: 19359275; PMCID: PMC2694690.
26. Hagedorn PH, Pontoppidan M, Bisgaard TS, Berrera M, Dieckmann A, Ebeling M, Moller MR, Hudlebusch H, Jensen ML, Hansen HF, Koch T, Lindow M. Identifying and avoiding off-target effects of RNase H-dependent antisense oligonucleotides in mice. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(11):5366-80. doi: 10.1093/nar/gky397. PubMed PMID: 29790953; PMCID: PMC6009603.
27. Scharner J, Ma WK, Zhang Q, Lin KT, Rigo F, Bennett CF, Krainer AR. Hybridization-mediated off-target effects of splice-switching antisense oligonucleotides. *Nucleic Acids Res*. 2020;48(2):802-16. doi: 10.1093/nar/gkz1132. PubMed PMID: 31802121; PMCID: PMC6954394.
28. Yao Z, Snider L, Balog J, Lemmers RJ, Van Der Maarel SM, Tawil R, Tapscott SJ. DUX4-induced gene expression is the major molecular signature in FSHD skeletal muscle. *Hum Mol Genet*. 2014;23(20):5342-52. doi: 10.1093/hmg/ddu251. PubMed PMID: 24861551; PMCID: PMC4168822.
29. Wang LH, Friedman SD, Shaw D, Snider L, Wong CJ, Budech CB, Poliak SL, Gove NE, Lewis LM, Campbell AE, Lemmers R, Maarel SM, Tapscott SJ, Tawil RN. MRI-informed muscle biopsies correlate MRI with pathology and DUX4 target gene expression in FSHD. *Hum Mol Genet*. 2019;28(3):476-86. doi: 10.1093/hmg/ddy364. PubMed PMID: 30312408; PMCID: PMC6337697.
30. Consortium GT. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. *Nat Genet*. 2013;45(6):580-5. doi: 10.1038/ng.2653. PubMed PMID: 23715323; PMCID: PMC4010069.

31. Tsumagari K, Chang SC, Lacey M, Baribault C, Chittur SV, Sowden J, Tawil R, Crawford GE, Ehrlich M. Gene expression during normal and FS HD myogenesis. *BMC Med Genomics*. 2011;4:67. doi: 10.1186/1755-8794-4-67. PubMed PMID: 21951698; PMCID: PMC3204225.
32. Pakula A, Schneider J, Janke J, Zacharias U, Schulz H, Hubner N, Mahler A, Spuler A, Spuler S, Carlier P, Boschmann M. Altered expression of cyclin A 1 in muscle of patients with facioscapulohumeral muscle dystrophy (FSHD-1). *PLoS One*. 2013;8(9):e73573. doi: 10.1371/journal.pone.0073573. PubMed PMID: 24019929; PMCID: PMC3760810.
33. Geng LN, Yao Z, Snider L, Fong AP, Cech JN, Young JM, van der Maarel SM, Ruzzo WL, Gentleman RC, Tawil R, Tapscott SJ. DUX4 activates germline genes, retroelements, and immune mediators: implications for facioscapulohumeral dystrophy. *Dev Cell*. 2012;22(1):38-51. doi: 10.1016/j.devcel.2011.11.013. PubMed PMID: 22209328; PMCID: PMC3264808.
34. Mitsuhashi S, Nakagawa S, Sasaki-Honda M, Sakurai H, Frith MC, Mitsuhashi H. Nanopore direct RNA sequencing detects DUX4-activated repeats and isoforms in human muscle cells. *Hum Mol Genet*. 2021;30(7):552-63. doi: 10.1093/hmg/ddab063. PubMed PMID: 33693705; PMCID: PMC8120133.
35. Winokur ST, Chen YW, Masny PS, Martin JH, Ehmsen JT, Tapscott SJ, van der Maarel SM, Hayashi Y, Flanigan KM. Expression profiling of FS HD muscle supports a defect in specific stages of myogenic differentiation. *Hum Mol Genet*. 2003;12(22):2895-907. doi: 10.1093/hmg/ddg327. PubMed PMID: 14519683.
36. Rahimov F, King OD, Leung DG, Bibat GM, Emerson CP, Jr., Kunkel LM, Wagner KR. Transcriptional profiling in facioscapulohumeral muscular dystrophy to identify candidate biomarkers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(40):16234-9. doi: 10.1073/pnas.1209508109. PubMed PMID: 22988124; PMCID: PMC3479603.
37. Gene Ontology C. Gene Ontology Consortium: going forward. *Nucleic Acids Res*. 2015;43(Database issue):D1049-56. doi: 10.1093/nar/gku1179. PubMed PMID: 25428369; PMCID: PMC4383973.
38. Cabianca DS, Casa V, Bodega B, Xynos A, Ginelli E, Tanaka Y, Gabellini D. A long ncRNA links copy number variation to a polycomb/trithorax epigenetic switch in FSHD muscular dystrophy. *Cell*. 2012;149(4):819-31. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.035. PubMed PMID: 22541069; PMCID: PMC3350859.
39. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG. Primer3--new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res*. 2012 Aug;40(15):e115. doi: 10.1093/nar/gks596. Epub 2012 Jun 22. PMID: 22730293; PMCID: PMC3424584.
40. SantaLucia J Jr. A unified view of polymer, dumbbell, and oligonucleotide DNA nearest-neighbor thermodynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Feb 17;95(4):1460-5. doi: 10.1073/pnas.95.4.1460. PMID: 9465037; PMCID: PMC19045.
41. Owczarzy R, You Y, Moreira BG, Manthey JA, Huang L, Behlke MA, Walder JA. Effects of sodium ions on DNA duplex oligomers: improved predictions of melting temperatures. *Biochemistry*. 2004 Mar 30;43(12):3537-54. doi: 10.1021/bi034621r. PMID: 15035624.

【図 5】

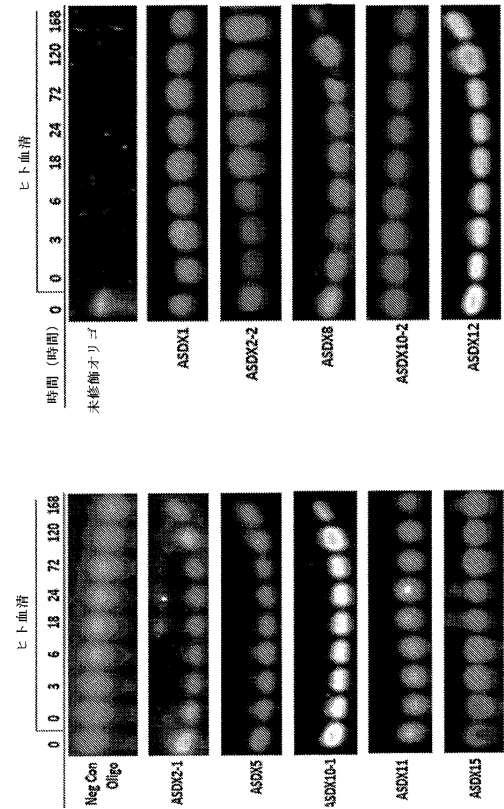


FIG. 5

【図 6 A】

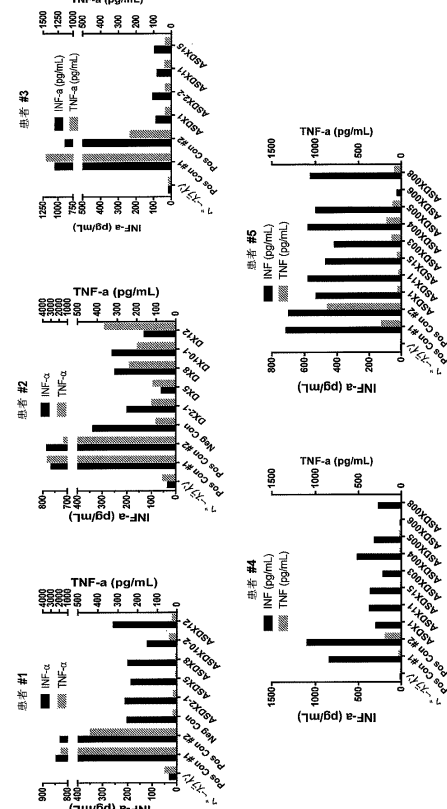


FIG. 6A

【図 6 B】

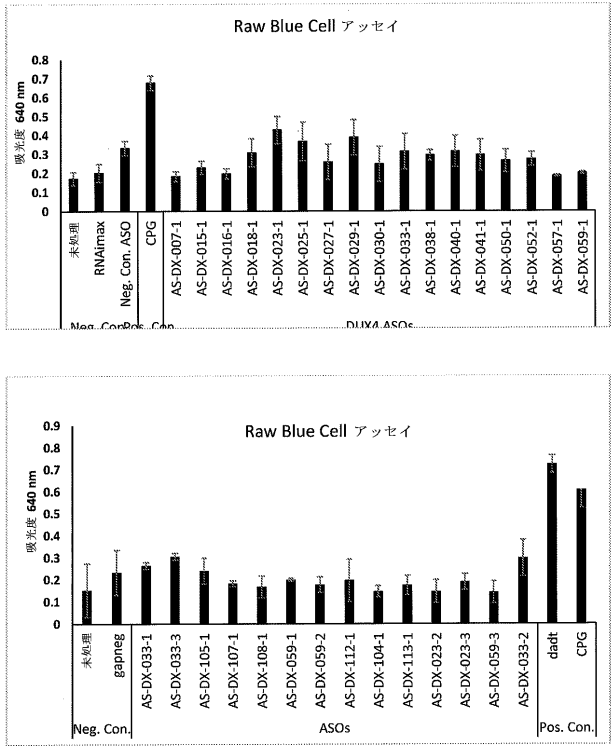


FIG. 6B

【図 7】

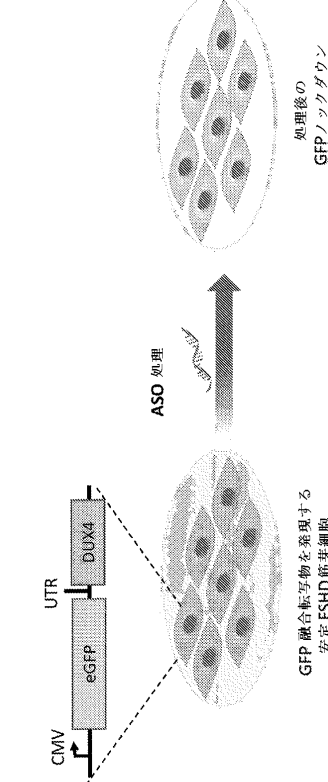


FIG. 7

10

20

30

40

50

【図 8 A】

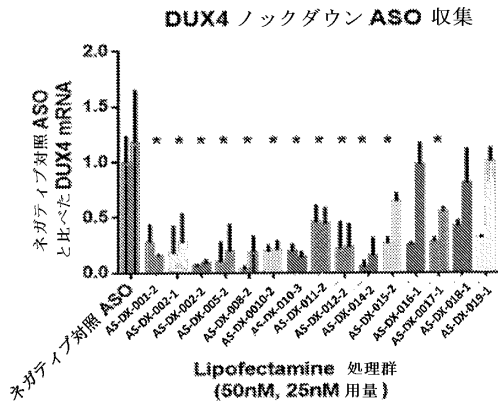


FIG. 8A

【図 8 B】

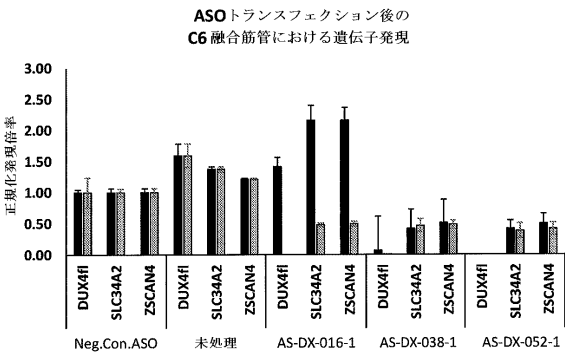
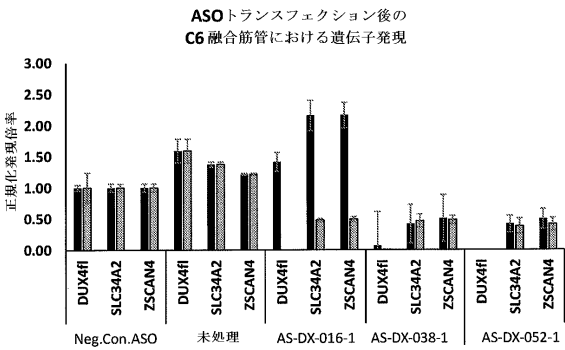


FIG8B

【図 9】

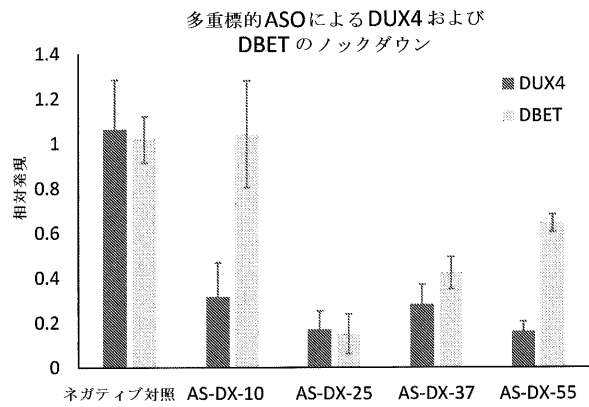


FIG. 9

【図 10】

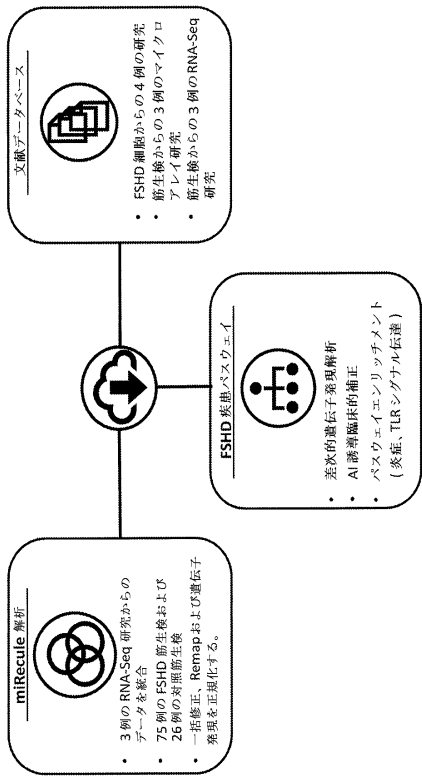


FIG. 10

【図 1 4 A】

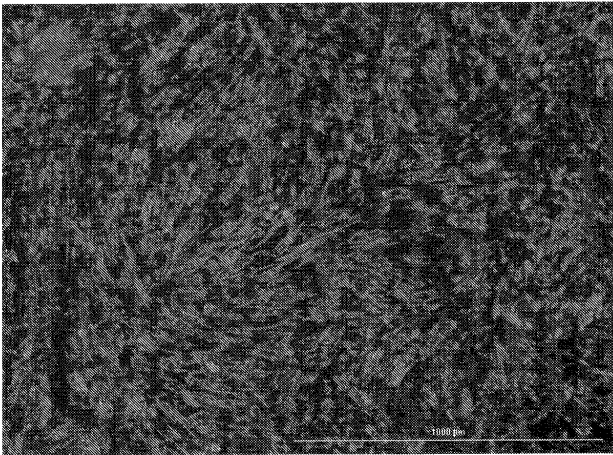


FIG. 14A

【図 1 4 B】

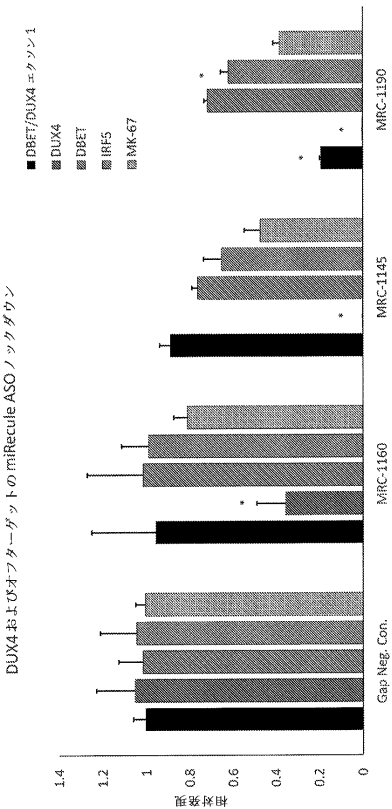


FIG. 14B

【図 1 5】

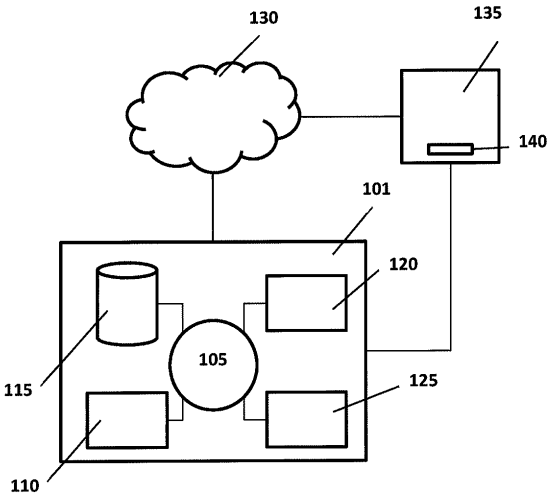


FIG. 15

【図 1 6】

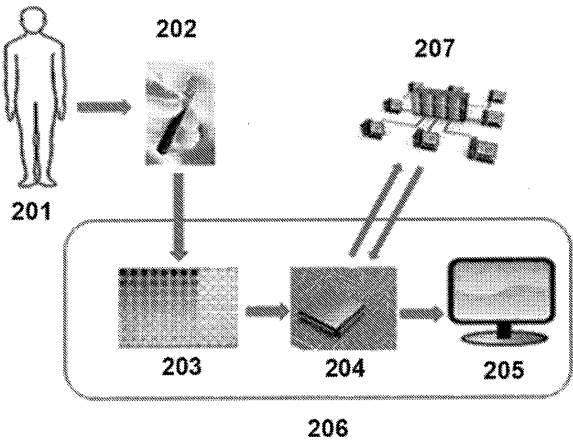


FIG. 16

10

20

30

40

50

【配列表】

2024529875000001.xml

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和6年4月10日(2024.4.10)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0078

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0078】

【表2-1】

表 2: さらなる疾患関連 RNA とハイブリダイズする DUX4-標的指向性オリゴヌクレオチド			
オリゴ	配列 (5'-3')	配列番号	さらなる標的化 RNA 配列番号
AS-DX-001	GCCATCGCGGGTAGCC	41923	
AS-DX-002	TGTCGGGAGGGCCATC	23534	42274; 42482; 42169; 42566
AS-DX-003	TCCAAACGAGTCTCCG	41924	42885
AS-DX-004	GATTCTGAAACCAGAT	41925	42331; 42600
AS-DX-005	GCGGGCGCCCTGCCAC	41926	42178; 42790; 42711; 42539; 42406; 42161; 42507; 42817; 42196; 42390; 42563; 42167; 42504; 42426; 42464
AS-DX-006	TCATCCAGCAGCAGGC	41927	42694; 42734; 42493; 42284; 42481; 42636; 42352; 42705; 42147; 42235; 42775; 42219; 42752; 42633; 42758; 42166; 42559; 42733; 42651; 42413; 42581; 42479; 42827; 42595; 42365; 42260; 42230; 42866; 42144; 42725; 42143; 42678; 42362; 42172; 42206; 42173; 42884; 42832; 42141; 42480; 42590; 42151; 42168; 42236; 42321; 42248; 42586; 42767; 42485
AS-DX-007	TAGCCAGCCAGGTGTT	23789	42287; 42359; 42577; 42157; 42728; 42856; 42848; 42443; 42524; 42202
AS-DX-008	CAGCGTCGGAAGGTGG	23942	42154; 42244; 42676
AS-DX-009	TAGACAGCGTCGGAAG	23946	

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

AS-DX-010	ATAGGATCCACAGGGA	23981	42214; 42806; 42215; 42432; 42813; 42412; 42392; 42502
AS-DX-011	TCTATAGGATCCACAG	41928	42689
AS-DX-012	GCACTAATCATCCAGG	25364	42841; 42774; 42176; 42746
AS-DX-014	CAGCGTCGGAAGGTG	21509	42429; 42210; 42619; 42617; 42153; 42242; 42675
AS-DX-015	CCTAGACAGCGTCGGAAGGT	38051	
AS-DX-018	ATAGGATCCACAGGGAGG	30389	42760; 42492
AS-DX-019	CGGCTCTGGGATCCCCGG	41929	42310; 42826; 42744
AS-DX-020	GCAGTTCTCCGCGGAG	41930	42290; 42707; 42250; 42343; 42171; 42148
AS-DX-021	GGGGCGGAGACACGCC	41931	42295; 42648; 42715; 42717
AS-DX-022	AGAAGGCAGGAATCCCAG	30245	42688; 42687; 42685; 42686; 42307; 42592; 42275; 42584; 42663; 42188
AS-DX-023	GCAGGAATCCCAGGCCGG	41932	42386; 42306; 42421
AS-DX-024	CTCCGCGGAGTGGAGT	41933	42289; 42149; 42878; 42783; 42661; 42423
AS-DX-025	GGAGTCTCTACCGGGCC	41934	42308
AS-DX-026	AGAGGCCAGCGAGCTCCC	41935	42221; 42329; 42773; 42197; 42621
AS-DX-027	GGCTCTGGGATCCCCGGG	41936	42309; 42454; 42824; 42743; 42763
AS-DX-028	CAGAGAGGCCAGCGAGCT	30302	42811; 42672; 42330; 42340; 42175; 42371
AS-DX-029	GACAGCGTCGGAAGGTGG	30341	
AS-DX-030	GTAACCTAATCCAGGTT	30365	
AS-DX-031	GACATTCAGCCAGAAT	23921	42401; 42703; 42770; 42568; 42508; 42328; 42450
AS-DX-032	ACAAGGGCACAGAGAGGC	30310	42868; 42254; 42194; 42554

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

AS-DX-033	GAGCTCCCTTGCACGTCA	41937	
AS-DX-034	CCGTCCAACCCCGCGTC	41938	
AS-DX-035	CCTAAAGCTCCTCCAGCA	30205	42253; 42302; 42536
AS-DX-036	GCGAGGCGGCCTCTCCG	41939	42297
AS-DX-037	GCCTCCAGCTCCCCCGGG	41940	42296; 42793; 42472; 42785; 42348; 42189; 42673; 42227; 42203; 42851; 42198
AS-DX-038	GGTGTCTGGGAGGGCCAT	41941	42483; 42589; 42394
AS-DX-039	GCCTCAGCTGGCGTGA	23626	42797; 42666; 42427; 42357; 42660; 42653; 42858; 42531
AS-DX-040	CTGGGCCAGCCGTTCTCT	41942	42370
AS-DX-041	GGGCCAGCCGTTCTCTGG	41943	42269
AS-DX-042	GCTCCGGAATGCCGAT	41944	42538; 42548
AS-DX-043	CAATTTTCAGGCTTTTTCT	30435	
AS-DX-044	TGCCTACAGAAGGCTTTG	31124	
AS-DX-045	ATCTCTGCACTCATCACA	30402	42276
AS-DX-046	CTGATCACCGAAGTTCTG	41945	
AS-DX-048	CCAGGAGATGTAACTCTA	30368	42761; 42518
AS-DX-049	GAAAGAGAGGCCACCGCC	30221	42303
AS-DX-050	GTAGCCAGCCAGGTGTTC	41946	42304; 42579; 42778; 42490
AS-DX-051	GCCCCTCCGTAGCCAGCC	41947	42305; 42265; 42762; 42231
AS-DX-052	TGCTGTCCGAGGGTGTCG	30092	
AS-DX-053	AGGGGTGCTTCCAGCGAG	30179	42298; 42342
AS-DX-054	TTCTTCCTCGCTGAGGGG	30183	42299; 42894
AS-DX-055	CGGTATTCTTCCTCGCTG	30188	42300; 42789
AS-DX-056	TCCTCCAGCAGAGCCCGG	41948	42301; 42588; 42140; 42842; 42810; 42614

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

AS-DX-057	CCTGGGCCGGCTCTGGGA	41949	42311; 42540; 42545; 42513
AS-DX-058	TGCTGGTACCTGGGCCGG	41950	42312; 42350
AS-DX-059	TCTATAGGATCCACAGGG	30392	
AS-DX-060	GGGCATTTTAATATATCTCTGAACT	41951	
AS-DX-061	TATCTTCTGAACTAATCATCCA	41952	
AS-DX-062	CAGGAGATGTAACTCTAATCCAG	41953	
AS-DX-063	CTCTCACCGGGCCTAGACCTAGAAG	41954	
AS-DX-064	TGCGCACTGCGCGCAGGTCTAGCCA	41955	
AS-DX-065	ACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAG	41956	
AS-DX-066	CGGGGTGCGCACTGCGCGCAGGTCT	41957	
AS-DX-067	TGCGCACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAG	41958	
AS-DX-068	ACTGCGCGCAGGTCTAGCCAGGAAGCGGGC	41959	
AS-DX-069	ACCCGACCCCGTCCCAACCCCGCGT	41960	
AS-DX-070	TGGGCTGGTGGAGAGGCAG	41961	42521; 42185; 42246; 42313; 42765; 42186; 42658; 42434; 42505; 42501; 42551; 42478; 42320; 42821; 42585; 42809; 42187; 42745; 42356; 42456; 42247; 42256; 42615; 42682; 42668; 42451; 42835; 42557; 42662; 42691; 42537; 42820; 42861; 42876; 42611; 42634; 42748; 42530
AS-DX-071	TTCCTCTCTCCATCTCTGC	41962	
AS-DX-072	TTGTCCCGGAGGAAACCGC	41963	
AS-DX-073	AATCACGCCTCCGTCGTCC	41964	
AS-DX-074	TTCCCTGCATGTTCCGGGTGCCCG	41965	

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

AS-DX-075	CTTCCCTGCATGTTTCCGG	41966	
AS-DX-076	TGTGGCTCTCGTTCATTTC	41967	
AS-DX-077	CTCCGTGGGAGTCTTGAGTGTGCCA	41968	
AS-DX-078	TGGAAGTGAACCTCCGTGG	41969	
AS-DX-079	TGGTGGTGGTGGTGGTGGT	41970	
AS-DX-080	CACCCCTTCATGAATGGCGCC	41971	
AS-DX-081	ACAGGCTCCACCCCTTCATG	41972	
AS-DX-082	TTCCGCTCAAAGCAGGCCTC	41973	
AS-DX-083	AAAGCGATCCTTCTCAAAGGCTCGG	41974	
AS-DX-084	CCTGCGCGGGCGCCCTGCCGC	41975	
AS-DX-085	TATCTCTGAACTAATCATC	41976	
AS-DX-086	AGCGCCTGGCGGCGGAACGCAGACC	41977	
AS-DX-087	ATCTCTGCCCCGCTTCCCTCCCGCC	41978	
AS-DX-088	AAACCAGATCTGAATCCTGGAC	41979	
AS-DX-089	TTTCTAGGAGAGGTTGCGCCTG	41980	
AS-DX-090	AGCGTCGGAAGGTGG	21508	42228; 42428; 42495; 42332; 42462; 42420; 42152; 42241; 42860; 42674
AS-DX-091	AGATCCCCTCTGCC	41981	
AS-DX-094	ACAGCGTCGGAAGGTG	23943	42620; 42618; 42677
AS-DX-095	GACAGCGTCGGAAGGT	23944	42596
AS-DX-096	AGACAGCGTCGGAAGG	23945	
AS-DX-097	CCTAGACAGCGTCGGAAGGTAG	41982	
AS-DX-098	CAGGAATCCCAGGCCG	41983	42875; 42288; 42460; 42572; 42608; 42833; 42630; 42437; 42262; 42598; 42338; 42323

10

20

30

40

50

【表 2 - 6】

AS-DX-099	CAGGAATCCCAGGCC	21371	42389; 42874; 42280; 42207; 42459; 42318; 42637; 42327; 42607; 42533; 42560; 42251; 42799; 42881; 42629; 42436; 42532; 42337; 42553; 42739; 42322; 42571; 42155
AS-DX-100	CGGCTCTGGGATCCCCGGGA	41984	42316
AS-DX-101	GGCTCTGGGATCCCCG	41985	42655; 42291; 42453; 42425; 42837; 42681; 42731; 42679; 42801; 42823; 42335; 42603; 42218; 42825; 42379; 42604; 42610; 42742; 42385; 42486
AS-DX-102	GGCTCTGGGATCCCC	41986	42654; 42282; 42520; 42452; 42836; 42680; 42730; 42461; 42510; 42587; 42800; 42822; 42334; 42580; 42602; 42258; 42529; 42474; 42270; 42264; 42351; 42766; 42764; 42399; 42377; 42609; 42622; 42718; 42484
AS-DX-104	TAGACAGCGTCGGAAGGTGG	38049	42732; 42333; 42245; 42564; 42339; 42419
AS-DX-105	GAGCTCCCTTGACGTCAGC	41987	
AS-DX-106	AGCTCCCTTGACGTC	23896	42447; 42830
AS-DX-107	GAGCTCCCTTGACGT	23897	42448; 42494; 42180; 42388; 42150
AS-DX-108	GAGCTCCCTTGACG	21469	42445; 42782; 42852; 42867; 42179; 42387; 42569; 42525; 42380; 42383

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

AS-DX-109	CGTAGCCAGCCAGGTGTTCC	41988	42314
AS-DX-111	TAGCCAGCCAGGTGT	21339	42565; 42854; 42279; 42819; 42528; 42358; 42719; 42326; 42818; 42403; 42576; 42794; 42628; 42156; 42407; 42416; 42727; 42366; 42798; 42855; 42871; 42641; 42325; 42415; 42888; 42847; 42164; 42408; 42142; 42205; 42638; 42526; 42442; 42729; 42523; 42201; 42575
AS-DX-112	CTTCTATAGGATCCACAGGG	38106	42594
AS-DX-113	ATGCCCAGGAAAGAATGGCA	41989	
AS-DX-114	CAAAGACAGACAGAGGTA	41990	42704; 42768; 42240; 42163; 42441
AS-DX-116	GTCCTAAAGCTCCTCCA	26770	42294; 42623; 42336; 42803; 42431; 42583; 42750
AS-DX-117	TCCTAAAGCTCCTCCAG	26769	42293; 42162; 42535; 42780; 42467; 42430; 42582; 42183; 42208
AS-DX-118	GGGATGCCTTGCATCTG	26720	42292; 42578; 42324; 42349; 42395
AS-DX-119	GAAACCAGATCTGAATC	41991	42368; 42547; 42400
AS-DX-120	GGGTCCAAACGAGTCTC	41992	42542; 42268; 42747
AS-DX-121	GCTGCAGAAACTCCGG	41993	42285; 42519; 42190; 42723; 42319; 42192; 42616
AS-DX-122	TGTTCCCCGCGAAAGA	23783	42286; 42220
AS-DX-123	GTGACATATCTCTGCA	23998	42807; 42804; 42409
AS-DX-124	CATATCTCTGCACTCA	23994	42740; 42229; 42889; 42652

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

AS-DX-125	GACATATCTCTGCACT	23996	42373; 42487; 42139
AS-DX-126	GGGGTCCAAACGAGTC	41994	42466; 42541; 42438; 42165; 42266; 42522
AS-DX-127	TACAGGGGATATTGTG	41995	42708; 42457; 42828
AS-DX-128	AGCAGGGCGGTCTGG	41996	42814; 42211; 42515; 42701; 42381; 42422; 42642; 42497; 42665; 42839; 42639; 42859; 42720; 42831; 42690; 42433; 42702; 42375; 42272; 42781
AS-DX-129	AGCTGCCCCGGCTTG	41997	42864; 42517; 42277; 42791; 42367; 42751; 42237; 42612; 42393; 42439; 42382; 42862; 42458; 42887; 42863; 42573; 42417; 42396; 42667; 42543; 42405; 42613; 42391; 42722; 42670; 42372; 42170
AS-DX-130	CCCAGGAAAGAAAGG	41998	42659; 42815; 42281; 42212; 42769; 42374; 42599; 42354; 42880; 42632; 42700; 42200; 42886; 42656; 42753; 42857; 42488; 42759; 42625; 42273; 42344; 42816; 42204
AS-DX-131	GGTGAGCCCCGGCCGG	41999	42754; 42812; 42402; 42506; 42222; 42404; 42471; 42341; 42145; 42469; 42850; 42556; 42883; 42840; 42756; 42873; 42195; 42893; 42671

10

20

30

40

50

【表 2 - 9】

AS-DX-132	GCAGACCAGGGCGCC	42000	42435; 42278; 42411; 42792; 42749; 42591; 42397; 42737; 42199; 42721; 42193; 42347; 42870; 42346; 42552; 42424; 42500; 42364; 42259; 42146; 42624; 42779; 42473; 42263; 42738; 42360; 42355; 42626; 42503; 42414; 42217; 42475; 42890; 42605; 42845; 42555; 42834; 42440; 42788; 42376; 42879; 42697; 42249; 42786; 42261; 42849
AS-DX-133	CCTGGGCCGGCTCTG	42001	42516; 42699; 42891; 42664; 42213; 42283; 42574; 42239; 42398; 42713; 42544; 42838; 42224; 42511; 42514; 42477; 42378; 42877; 42882; 42706; 42496; 42561; 42698; 42449; 42787; 42635; 42512; 42191; 42209; 42363; 42361; 42683; 42869; 42692; 42550; 42892; 42232
AS-DX-134	AGAAGGCAGGAATCCCAGGC	37973	42315
AS-DX-135	CGGGTGCCTGGCCCTTC	42002	42772; 42795; 42509; 42796; 42468; 42865; 42716; 42606; 42418

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 0】

AS-DX-136	CCAGCTCCTCCCGGGC	42003	42724; 42736; 42696; 42695; 42177; 42498; 42712; 42465; 42225; 42234; 42646; 42643; 42345; 42843; 42741; 42567; 42714; 42238; 42872; 42353; 42784; 42647; 42649; 42601; 42223; 42369; 42755; 42657; 42562; 42257; 42463; 42455; 42627; 42771; 42645; 42777; 42846; 42158; 42226; 42255; 42243; 42159; 42776; 42499; 42593; 42631; 42644; 42470; 42735; 42489; 42233; 42640; 42597; 42384; 42491; 42710; 42669; 42252; 42527; 42549; 42267; 42476; 42684; 42216; 42174; 42184; 42853; 42693; 42271; 42709
AS-DX-137	TTGTGACATATCTCTGCA	30411	42808; 42805; 42410; 42844
AS-DX-138	CTCCCTTGCACGTCA	21466	42444; 42160; 42317; 42726; 42757
AS-DX-139	GCTCCCTTGCACGTCA	23895	42446; 42181; 42829; 42570
AS-DX-140	AGCTCCCTTGCACGTCA	26881	42182
AS-DX-141	CGAGCTCCCTTGCACGTCAG	42004	
AS-DX-142	AAGCGATCCTTCTCAA	42005	42650; 42546; 42534; 42558; 42802
AS-DX-001-1	{G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*t*a*g*{C}*{C}	42006	
AS-DX-001-2	アミノ C6- {G}*{C}*c*a*t*c*g*c*g*g*t*a*g*{C}*{C}	42007	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 1】

AS-DX-002-1	{T}*{G}*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*{T}*{C}	42008	
AS-DX-002-2	アミノ C6- {T}*{G}*t*5mec*g*g*g*a*g*g*g*5mec*5mec*a*{T}*{C}	42009	
AS-DX-002-3	アミノ C6- {T}*mp{G}*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*{T}*mp{C}	42010	
AS-DX-002-4	アミノ C6- {T}*{G}*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*c*a*{T}*{C}	42011	
AS-DX-003-1	{T}*{C}*c*a*a*a*c*g*a*g*t*c*t*c*{C}*{G}	42012	
AS-DX-003-2	アミノ C6- {T}*{C}*c*a*a*a*c*g*a*g*t*c*t*c*{C}*{G}	42013	
AS-DX-004-1	{G}*{A}*t*t*c*t*g*a*a*a*c*c*a*g*{A}*{T}	42014	
AS-DX-004-2	アミノ C6- {G}*{A}*t*t*c*t*g*a*a*a*c*c*a*g*{A}*{T}	42015	
AS-DX-005-1	{G}*{C}*g*g*g*c*g*c*c*c*t*g*c*c*{A}*{C}	42016	
AS-DX-005-2	アミノ C6- {G}*{C}*g*g*g*c*g*c*c*c*t*g*c*c*{A}*{C}	42017	
AS-DX-006-1	{T}*{C}*a*t*c*c*a*g*c*a*g*c*a*g*{G}*{C}	42018	
AS-DX-006-2	アミノ C6- {T}*{C}*a*t*c*c*a*g*c*a*g*c*a*g*{G}*{C}	42019	
AS-DX-007-1	{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}	42020	
AS-DX-007-2	アミノ C6- {T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}	42021	
AS-DX-007-3	{T}*mA*{G}*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*{G}*mU*{T}	42022	
AS-DX-008-1	{C}*{A}*g*c*g*t*c*g*g*a*a*g*g*t*{G}*{G}	42023	
AS-DX-008-2	アミノ C6- {C}*{A}*g*c*g*t*c*g*g*a*a*g*g*t*{G}*{G}	42024	
AS-DX-009-1	{T}*{A}*g*a*c*a*g*c*g*t*c*g*g*a*{A}*{G}	42025	
AS-DX-009-2	アミノ C6- {T}*{A}*g*a*c*a*g*c*g*t*c*g*g*a*{A}*{G}	42026	
AS-DX-010-1	{A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*{A}	42027	
AS-DX-010-2	アミノ C6- {A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*{A}	42028	
AS-DX-010-3	アミノ C6- {A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*{A}	42029	
AS-DX-011-1	{T}*{C}*t*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*{A}*{G}	42030	
AS-DX-011-2	アミノ C6- {T}*{C}*t*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*{A}*{G}	42031	
AS-DX-012-1	{G}*{C}*a*c*t*a*a*t*c*a*t*c*c*a*{G}*{G}	42032	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 2】

AS-DX-012-2	アミノ C6- {G}*{C}*a*c*t*a*a*t*c*a*t*c*c*a*{G}*{G}	42033	
AS-DX-014-1	{C}*{A}*{G}*c*g*t*c*g*g*a*a*g*{G}*{T}*{G}	42034	
AS-DX-014-2	アミノ C6- {C}*{A}*{G}*c*g*t*c*g*g*a*a*g*{G}*{T}*{G}	42035	
AS-DX-015-1	(C)*(C)*(T)*(A)*(G)*a*c*a*g*c*g*t*c*g*g*(A) *(A)*(G)*(G)*(T)	42036	
AS-DX-015-2	アミノ C6- (C)*(C)*(T)*(A)*(G)*a*c*a*g*c*g*t*c*g*g*(A) *(A)*(G)*(G)*(T)	42037	
AS-DX-015-3	{C}*{C}*t*{A}*g*a*c*a*g*c*g*t*c*g*{G}*{A} *a*g*{G}*{T}	42038	
AS-DX-018-1	{A}*{T}*{A}*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*g*{A}*{G} *{G}	42039	
AS-DX-018-2	{A}*{T}*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*g*{G}*a*{G} *{G}	42040	
AS-DX-019-1	{C}*{G}*{G}*c*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*{C}*{G} *{G}	42041	
AS-DX-021-1	{G}*{G}*{G}*g*c*g*g*a*g*a*c*a*c*g*{C}*{C} *{C}	42042	
AS-DX-022-1	{A}*{G}*{A}*a*g*g*c*a*g*g*a*a*t*c*c*{C}*{A} *{G}	42043	
AS-DX-023-1	{G}*{C}*{A}*g*g*a*a*t*c*c*c*a*g*g*c*{C}*{G} *{G}	42044	
AS-DX-023-2	{G}*{C}*a*{G}*g*a*a*t*c*c*c*a*g*g*c*c*mG *{G}	42045	
AS-DX-023-3	{G}*{C}*mA*g*g*a*a*t*c*c*c*a*g*g*c*{C}*mG *{G}	42046	
AS-DX-025-1	{G}*{G}*{A}*g*t*c*t*c*t*c*a*c*c*g*{G}*{C} *{C}	42047	
AS-DX-026-1	{A}*{G}*{A}*g*g*c*c*a*g*c*g*a*g*c*t*{C}*{C} *{C}	42048	
AS-DX-027-1	{G}*{G}*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*{G}*{G} *{G}	42049	
AS-DX-027-2	{G}*mG*c*{T}*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*c*g*{G} *{G}	42050	
AS-DX-027-3	{G}*mG*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*c*mG*mG *{G}	42051	
AS-DX-027-4	{G}*{G}*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*c*{G}*{G}*{G}	42052	
AS-DX-028-1	{C}*{A}*{G}*a*g*a*g*g*c*c*a*g*c*g*a*{G}*{C} *{T}	42053	
AS-DX-029-1	{G}*{A}*{C}*a*g*c*g*t*c*g*g*a*a*g*g*{T}*{G} *{G}	42054	
AS-DX-029-2	アミノ C6- {G}*{A}*{C}*a*g*5mec*g*t*5mec*g*g*a*a*g* g*{T}*{G}*{G}	42055	
AS-DX-030-1	{G}*{T}*{A}*a*c*t*c*t*a*a*t*c*c*a*g*{G}*{T} *{T}	42056	
AS-DX-031-1	{G}*mA*{C}*a*t*t*c*a*g*c*c*a*g*{A}*mA*{T}	42057	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 3】

AS-DX-032-1	{A}*{C}*{A}*a*g*g*g*c*a*c*a*g*a*{G}*{G}*{C}	42058	
AS-DX-033-1	{G}*{A}*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*{C}*{A}	42059	
AS-DX-033-2	アミノ C6- {G}*{A}*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*5mec*g*{T}*{C}*{A}	42060	
AS-DX-033-3	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42061	
AS-DX-033-4	{G}*{A}*g*{C}*{T}*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*t*mC*{A}	42062	
AS-DX-034-1	{C}*{C}*{G}*t*c*c*a*a*c*c*c*g*c*{G}*{T}*{C}	42063	
AS-DX-035-1	{C}*{C}*{T}*a*a*a*g*c*t*c*c*t*c*c*a*{G}*{C}*{A}	42064	
AS-DX-036-1	{G}*{C}*{G}*a*g*g*c*g*g*c*c*t*t*t*{C}*{C}*{G}	42065	
AS-DX-037-1	{G}*{C}*{C}*t*c*c*a*g*c*t*c*c*c*c*c*{G}*{G}*{G}	42066	
AS-DX-038-1	{G}*{G}*{T}*g*t*c*g*g*g*a*g*g*g*c*{C}*{A}*{T}	42067	
AS-DX-040-1	{C}*{T}*{G}*g*g*c*c*a*g*c*c*g*t*t*c*{T}*{C}*{T}	42068	
AS-DX-041-1	{G}*{G}*{G}*c*c*a*g*c*c*g*t*t*c*t*c*{T}*{G}*{G}	42069	
AS-DX-043-1	{C}*{A}*a*t*t*t*c*a*g*c*t*t*t*{T}*t*{C}*{T}	42070	
AS-DX-044-1	{T}*{G}*{C}*c*t*a*c*a*g*a*a*g*g*c*t*{T}*{T}*{G}	42071	
AS-DX-045-1	{A}*{T}*c*t*c*t*g*c*a*c*t*c*a*t*{C}*a*{C}*{A}	42072	
AS-DX-045-2	{A}*mU*{C}*t*c*t*g*c*a*c*t*c*a*t*c*{A}*mC*{A}	42073	
AS-DX-046-1	{C}*{T}*g*a*t*c*a*c*c*g*a*a*g*t*{T}*c*{T}*{G}	42074	
AS-DX-048-1	{C}*{C}*a*g*g*a*g*a*t*g*t*a*a*c*{T}*c*{T}*{A}	42075	
AS-DX-049-1	{G}*{A}*{A}*a*g*a*g*a*g*g*c*a*c*c*{G}*{C}*{C}	42076	
AS-DX-050-1	{G}*{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}*{C}	42077	
AS-DX-050-2	{G}*mU*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*mU*{T}*{C}	42078	
AS-DX-050-3	{G}*mU*a*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*mG*t*{T}*{C}	42079	
AS-DX-050-4	{G}*{T}*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*t*g*{T}*{T}*{C}	42080	
AS-DX-051-1	{G}*{C}*{C}*c*c*t*c*c*g*t*a*g*c*c*a*{G}*{C}*{C}	42081	
AS-DX-052-1	{T}*{G}*{C}*t*g*t*c*c*g*a*g*g*t*g*{T}*{C}*{G}	42082	
AS-DX-053-1	{A}*{G}*{G}*g*g*t*g*c*t*t*c*a*g*c*{G}*{A}*{G}	42083	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 4】

AS-DX-054-1	{T}*{T}*{C}*t*t*c*c*t*c*g*c*t*g*a*g*{G}*{G}*{G}	42084	
AS-DX-055-1	{C}*{G}*{G}*t*a*t*t*c*t*t*c*c*t*c*g*{C}*{T}*{G}	42085	
AS-DX-056-1	{T}*{C}*{C}*t*c*c*a*g*c*a*g*a*g*c*c*{C}*{G}*{G}	42086	
AS-DX-057-1	{C}*{C}*{T}*g*g*g*c*c*g*g*c*t*c*t*g*{G}*{G}*{A}	42087	
AS-DX-058-1	{T}*{G}*{C}*t*g*g*t*a*c*c*t*g*g*g*c*{C}*{G}*{G}	42088	
AS-DX-059-1	{T}*{C}*{T}*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}	42089	
AS-DX-059-2	{T}*{C}*t*{A}*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*g*{G}*{G}	42090	
AS-DX-059-3	[アミノC6-]{T}*{C}*{T}*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}	42091	
AS-DX-094-1	{A}*mC*{A}*g*c*g*t*c*g*g*a*a*g*{G}*mU*{G}	42092	
AS-DX-098-1	{C}*mA*{G}*g*a*a*t*c*c*a*g*g*{C}*mC*{G}	42093	
AS-DX-099-1	{C}*mA*{G}*g*a*a*t*c*c*a*g*{G}*mC*{C}	42094	
AS-DX-100-1	{C}*mG*g*{C}*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*{C}*{C}*g*g*{G}*{A}	42095	
AS-DX-101-1	{G}*{G}*c*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*mC*mC*{G}	42096	
AS-DX-102-1	{G}*{G}*c*t*c*t*g*g*g*a*t*c*c*mC*mC*{C}	42097	
AS-DX-104-1	{T}*{A}*g*{A}*c*a*g*c*g*t*c*g*g*a*a*{G}*{G}*t*{G}*{G}	42098	
AS-DX-105-1	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*{C}*a*{G}*{C}	42099	
AS-DX-106-1	{A}*mG*{C}*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*{G}*mU*{C}	42100	
AS-DX-106-2	{A}*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*{C}	42101	
AS-DX-107-1	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*a*{C}*mG*{T}	42102	
AS-DX-108-1	{G}*mA*{G}*c*t*c*c*c*t*t*g*c*{A}*mC*{G}	42103	
AS-DX-109-1	{C}*{G}*t*{A}*g*c*c*a*g*c*c*a*g*g*{T}*mG*t*t*{C}*{C}	42104	
AS-DX-111-1	{T}*mA*{G}*c*c*a*g*c*c*a*g*g*{T}*mG*{T}	42105	
AS-DX-112-1	{C}*{T}*t*c*{T}*{A}*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*{G}*{G}*{G}	42106	
AS-DX-112-2	(T)*(T)*(C)*(T)*a*t*a*g*g*a*t*c*c*a*c*a*(G)*(G)*(G)*(C)	42107	
AS-DX-113-1	{A}*{T}*g*c*c*c*a*g*g*a*a*a*g*a*{A}*mU*g*g*{C}*{A}	42108	
AS-DX-114-1	{C}*mA*{A}*a*g*a*c*a*g*a*c*a*g*a*{G}*G*{T}*{A}	42109	

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 5】

AS-DX-116-1	{G}*mU*c*{C}*t*a*a*a*g*c*t*c*c*t*mC*{C}*{A}	42110	
AS-DX-117-1	t*{C}*c*t*a*a*a*g*c*t*c*c*t*c*{C}*mA*{G}	42111	
AS-DX-118-1	{G}*{G}*g*{A}*{T}*g*c*c*t*t*g*c*a*t*c*{T}*{G}	42112	
AS-DX-119-1	{G}*{A}*{A}*a*c*c*a*g*a*t*c*t*g*{A}*a*{T}*{C}	42113	
AS-DX-120-1	{G}*{G}*{G}*t*c*c*a*a*a*c*g*a*g*{T}*c*{T}*{C}	42114	
AS-DX-121-1	{G}*mC*{T}*g*c*a*g*a*a*a*c*t*c*{C}*mG*{G}	42115	
AS-DX-122-1	{T}*mG*{T}*t*c*c*c*c*g*c*g*a*a*{A}*{G}*{A}	42116	
AS-DX-123-1	{G}*{T}*{G}*a*c*a*t*a*t*c*t*c*t*{G}*{C}*{A}	42117	
AS-DX-124-1	{C}*{A}*mU*a*t*c*t*c*t*g*c*a*c*mU*{C}*{A}	42118	
AS-DX-125-1	{G}*{A}*c*a*t*a*t*c*t*c*t*g*{C}*a*{C}*{T}	42119	
AS-DX-126-1	{G}*{G}*{G}*g*t*c*c*a*a*a*c*g*a*mG*{T}*{C}	42120	
AS-DX-127-1	{T}*mA*{C}*a*g*g*g*a*t*a*t*t*{G}*mU*{G}	42121	
AS-DX-128-1	{A}*mG*mC*a*g*g*g*c*g*g*t*c*mU*mG*{G}	42122	
AS-DX-129-1	{A}*mG*{C}*t*g*c*c*c*c*g*g*c*t*mU*{G}	42123	
AS-DX-130-1	{C}*mC*{C}*a*g*g*a*a*a*g*a*a*{A}*mG*{G}	42124	
AS-DX-131-1	{G}*{G}*mU*g*a*g*c*c*c*c*g*g*c*c*{G}*{G}	42125	
AS-DX-132-1	{G}*{C}*a*g*a*c*c*a*g*g*g*c*g*{C}*{C}	42126	
AS-DX-133-1	{C}*{C}*mU*g*g*g*c*c*g*g*c*t*{C}*mU*{G}	42127	
AS-DX-133-2	{C}*{C}*t*g*g*g*c*c*g*g*c*t*c*{T}*{G}	42128	
AS-DX-134-1	(A)*(G)*(A)*(A)*g*g*c*a*g*a*a*t*c*c*c*(A)*(G)*(G)*(C)	42129	
AS-DX-134-2	{A}*{G}*{A}*a*g*g*c*a*g*a*a*t*c*c*c*mA*{G}*mG*{C}	42130	
AS-DX-135-1	{C}*{G}*g*g*t*g*c*c*t*g*g*c*c*mC*t*{T}*{C}	42131	
AS-DX-136-1	{C}*{C}*a*g*c*t*c*c*t*c*c*c*g*g*mG*{C}	42132	
AS-DX-137-1	{T}*{T}*g*t*g*a*c*a*t*a*t*c*t*c*t*{G}*mC*{A}	42133	
AS-DX-138-1	{C}*mU*{C}*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42134	
AS-DX-139-1	{G}*mC*{T}*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42135	
AS-DX-140-1	{A}*{G}*c*{T}*c*c*c*t*t*g*c*a*c*g*{T}*mC*{A}	42136	

10

20

30

40

50

【表 2－16】

AS-DX-141-1	(C)*(G)*(A)*(G)*c*t*c*c*t*t*g*c*a*c*g*(T)* (C)*(A)*(G)	42137	
AS-DX-142-1	{A}*mA*{G}*c*g*a*t*c*c*t*t*c*t*{C}*mA*{A }	42138	

{N} はLNAとすることができる； [N] はBNAとすることができる；
(N) は、2′－メチルオキシエチル修飾のウラシル、グアニン、アデニン、
またはシトシンとすることができる； *は、ホスホチオネートで修飾された
骨格とすることができる； mpはメチルホスホネート修飾された骨格とする
ことができる； アミノC6－は5′－アミノ－炭素6鎖とすることができる；
5mecは5－メチルデオキシシトシンとすることができる。

10

【手続補正2】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0082

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0082】

20

30

40

50

【表 3 - 1】

遺伝子名	部位	配列	配列 番号	遺伝子名	部位	配列	配列 番号
A4GNT	1	AGTGCAGGATAT GTT	42139	LINC00661	1	CAGCCGGGGCA GCA	42517
ABCA7	1	CCTGGCTCTGCT GGAGGA	42140	LINC01275	1	TACAGTCACAT CTCCTGG	42518
ABCB1	1	TCCTCCTGCTGG ATGA	42141	LINC01602	1	CCGGAGTTTCT GCC	42519
ABCB9	1	ACCCCTGGCTG GCA	42142	LINC01605	1	GGGGATCCCAT AACC	42520
ABCB9	2	GCCTGCTGCTGG GA	42143	LINC01615	1	CTGCCTCTCCT CCATCCAA	42521
ABCD2	1	GCCTTGCTGGAT GA	42144	LINC02391	1	GCCTGTTTGGA CCCC	42522
ABHD15	1	CCCGCCGGGGC TCTCC	42145	LINC02725	1	ACACCTGGGCTC CTA	42523
ABHD2	1	GGAGCCTGGTC TGC	42146	LINC02725	2	AACACCTGGCT CCTA	42524
ABTB1	1	GCCCTGCTGGAT GA	42147	LINC02802	1	GGGGCAAGGG AGCTC	42525
ACE	1	CACCGCGGAGA ATGC	42148	LINC02904	1	AACCTGGCTGG CTT	42526
ACOT6	1	ACTGACTCCGC GGAG	42149	LINGO3	1	GCGCTGGAGGA GCTGG	42527
ACOXL	1	ACATGAAGGGA GCTC	42150	LMF1	1	CCACCTGGCTG GCAA	42528
ACP3	1	GGCTGCTGCTG GATGA	42151	LMX1A	1	AGGGATCCCAG AGTC	42529
ACTL10	1	CCACCTTCCGAC T	42152	LOC100507 403	1	CTCCCTCTCCA CCCCCA	42530
ACTL10	2	CACCTTCCGACT G	42153	LOC101927 533	1	TCAGCAGCTGA GGC	42531
ACTL10	3	CCACCTTCCGAC TG	42154	LOXL2	1	GGCCTGGGATT CG	42532
ADAM28	1	AGCCTGGGATTA CTG	42155	LPIN2	1	GGCCTGGGATC CCTC	42533
ADAM32	1	ACACCTGGCTTC TA	42156	LPIN2	2	TTGAGAAGGAT GCTT	42534
ADAM32	2	AACACCTGGCTT CTA	42157	LRP10	1	CAGGAGGAGCT TTAGGG	42535
ADAMT S12	1	GCCCAGAGGAG CTGG	42158	LRP10	2	TCAGGAGGAGC TTTAGG	42536
ADAMT S8	1	GCGCGGGAGGA GCGGG	42159	LRRC8A	1	CTGCCTCTCCA CGCACA	42537
ADAMT SL3	1	TGACGTGCAAG CGG	42160	LRRN2	1	CTCGGCATTCC GAAGC	42538
ADCY3	1	GCGGCCGGGGCG CCCCG	42161	LRRN2	2	GGGGAGGGGCG CCCCG	42539
ADGRA1	1	CTGGAGGAGCT	42162	LRRN4	1	TCCCAGACCCG	42540

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

		TCAGA				CCCAGG	
ADGRA2	1	GACCTCTGCTGT CTTTG	42163	LUZP1	1	GACTGTTTGGA CCCA	42541
ADGRD1	1	ACACCTGGCTG CTG	42164	LUZP1	2	GTGACTGTTTG GACCC	42542
ADGRD1	2	GCCTCTTTGGAC CCC	42165	LYPD1	1	CAGCCGGGGCA GCC	42543
ADGRE5	1	GCCTTCTGCTGG ATGA	42166	LZTS1	1	CAGGCCGGCCC AGA	42544
ADGRL3	1	GCGGCCGGGCG CCCGC	42167	LZTS1	2	TCCCAGGCCGG CCCAGA	42545
ADGRL3	2	GGCTGCTGCTG GAGA	42168	MAB21L4	1	TTGAGAAGGAT CCTC	42546
AFAP1L2	1	GAGGCCCTCCC GGCA	42169	MAFB	1	TATTCAGACTG GTTTC	42547
AFF3	1	CAAGCCGGGGA GCG	42170	MAN1C1	1	AACGCATTCCG GAGC	42548
AFF3	2	CCCGCGGAGAA CGC	42171	MANSC4	1	GCCCGGGAGG AGCGG	42549
AJUBA	1	GCCTGCTGCTGG ACGG	42172	MAP3K12	1	CTGGGCCGGCC CAGG	42550
ALPP	1	GCTGCTGCTGG AGA	42173	MAP3K12	2	CTGGCTCCACC AGCCCA	42551
ANGPTL 6	1	GCCCGGGAGGC GCGGG	42174	MAP3K8	1	GGCGCCCTGGT TCC	42552
ANKRD5 0	1	CGCTCGTGGCCT CTCTG	42175	MAP3K8	2	TGCCTGGGATT CTG	42553
ANKS1B	1	CCTGATGATTAG TGA	42176	MARCHF4	1	TCCTTCTGTGC CCTTGT	42554
ANKS3	1	GCGGGGAGGAG CTGG	42177	MAST3	1	CGCGCCCTGGT CGGC	42555
ANKS3	2	CTGGAGGGCGC CCGC	42178	MAST3	2	CCGGCCGGGGC CGCC	42556
ANTXR2	1	AGTGCAAGGGA CTC	42179	MAST3	3	CAGCCTCTCCC CCAGCCCC	42557
ANTXR2	1	AGTGCAAGGGA CTC	42180	MAST4	1	TTGAGAAGGAT GCTA	42558
ANXA4	1	TGACGTGCAAG AGC	42181	MBD2	1	TCCTGCTGGTG GATGA	42559
ANXA4	2	TGACGTGCAAG AGCT	42182	MCEMP1	1	GGCTGGGATTC CG	42560
APLP1	1	CTGGAGGAGCG TAGGA	42183	MCTP1	1	CAGAGCCGGCG CGG	42561
ARAP1	1	GCCCCGGAGGA GCTGC	42184	MEFV	1	ACCCTGGAGGA GCTGG	42562
ARHGEF 34P	1	GTGCTCTACCA GCCCA	42185	MEG3	1	GGGGCAGGGC GCCAC	42563
ARHGEF 35	1	ATGCTCTACCA GCCCA	42186	MEG3	2	CCACCTTCCGA GCCTCCA	42564
ARHGEF 5	1	GTGCTCTACCA GCCCA	42187	MEGF11	1	ACTCCTGGCTG GCTG	42565
ARID3C	1	TTTGGATTCCTG CCTTCT	42188	MEGF11	2	GATGGCCCTCC CTAA	42566

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

ARL5C	1	CCCGGGGGAGC GGAGC	42189	MFHAS1	1	GCCCTGGAGGA GCTGG	42567
ARSJ	1	CCGGAGTTTCTG CGGA	42190	MGAM	1	TTTCTGCTGAA TGTC	42568
ASAP1	1	CAGAGCCGGCA AGG	42191	MGAT1	1	CGGGCAAGGG AGCC	42569
ASB7	1	CTGGAGTTTCTG CAC	42192	MGAT1	2	TGCGGGCAAGG GAGC	42570
ASCL5	1	GGCGCCCTGGC TGA	42193	MICALL2	1	GGCCTGGGATT CTC	42571
ASF1B	1	CCCTCTCTGTGC CCTGGT	42194	MICALL2	2	CGGCCTGGGAG CCTG	42572
ASIC2	1	CCGGCCGGGGC CGCC	42195	MINK1	1	CAAGACGGGG CAGCT	42573
ASIC2	2	GGGCGGGCGCC CGC	42196	MIR9-3HG	1	CAGCGCCGGCC CAGC	42574
ASIC2	3	GGGAGCTGCTG GCCCT	42197	MIS18A	1	ACACCTGGCTG GTTC	42575
ATG16L2	1	CTCAGGGGAGC TGGAGGC	42198	MKI67	1	AGACCTGGCTG GCTT	42576
ATL3	1	GGGGCCTGGTC TGC	42199	MKI67	2	AAGACCTGGCT GGCTT	42577
ATP2A3	1	GCTTCTTTCCTG GG	42200	MKI67	3	CAGTTGAAGGC ATCCC	42578
ATP8A2	1	ACACCTGGCTG CTA	42201	MKI67	4	GAAGACCTGGC TGGCTTC	42579
ATP8A2	2	CACACCTGGCT GCTA	42202	MMEL1	1	AGGGATCCCAG AGGC	42580
ATP8B2	1	CCCGGGGGAGC GGGGC	42203	MMEL1	2	GCTGCTGCTGG TGA	42581
ATXN7L 1	1	CCTTTCTGTCCT GGG	42204	MMRN2	1	CTGGAGGAGCT TTAA	42582
B3GNT3	1	ACCCTGGCTGG CCA	42205	MMRN2	2	TGGAGGAGCTT TAAC	42583
B3GNT3	2	TCCTGCTGCTGG TGA	42206	MRTFA	1	CTGGGATTCCT GCTTGT	42584
BARX1	1	GGCCTGGGATG CCCG	42207	MST1R	1	CTGCCTCTTCT CAGCCCA	42585
BCAS4	1	CTGGAGGAGCA TTAGA	42208	MTUS2	1	GCCTGCTGCTG ATTA	42586
BCL11A	1	CAGGCCGGCCC AGC	42209	MUC16	1	GGGGATCCCAC AGTC	42587
BOC	1	CACCTTCCGAAC TG	42210	MX1	1	CAGGGATCTGC TGGAGGA	42588
BTG3-AS 1	1	GCAGCCGCCCT GCT	42211	MYEOV	1	ATGGCCCTCCC AACC	42589
C1orf52	1	TCTCTCTTTCCT GGG	42212	MYH10	1	GCGCTGCTGGA TGA	42590
C2CD4D- AS1	1	CGGCGCCGGCC CAGG	42213	MYO1F	1	GGGCCCTGGTC TTC	42591
C2CD4D- AS1	2	TCCCTGTGGATT CTCT	42214	MYO1F	2	CTGGGATACTG CCTTCT	42592
C9orf47	1	TCCCTGTGGATT CAT	42215	MYO3A	1	GCCCGGGAGG GGTGG	42593

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

CA9	1	GCCCCGGGAGGC CTGG	42216	MYOCD	1	CCCTGGGTTCC TATAGAAG	42594
CACNA1 I	1	GGCGCCCGGGT CTGC	42217	NCCRP1	1	GCTGCTGCTGG AGGA	42595
CADPS2	1	CGGGGATCCCC GAGCA	42218	NCOA7	1	ACCTTCCGACA CTTC	42596
CALHM3	1	GCCTGCTGCTGG CTGC	42219	NDN	1	GCCCCGAGGAGC TGG	42597
CAMK1 D	1	TCTTTCGCGGGG AAGA	42220	NDOR1	1	CGGCCTGGGAG TCTG	42598
CAPN5	1	GGGAGCTGCTG GCCTCA	42221	NEAT1	1	CCCTCCTTTCC TGGG	42599
CBLB	1	CCAGCCGGGGC TCCCC	42222	NEK11	1	ATCTGGTTTCA GAC	42600
CCDC11 5	1	GACCTGGAGGA GCTGG	42223	NEUROG2	1	GCCCCGGGAGG AGCCAG	42601
CCDC16 0	1	CGGAGCCGGCC CGG	42224	NFATC2	1	GGGGTCCCAGA GCC	42602
CCDC18 5	1	GCCCCGGAGGA GCTGG	42225	NFATC2	2	AGGGGTCCCAG AGCC	42603
CCDC88 C	1	GCTCCGGAGGA GCTGG	42226	NHS	1	CGGGGATCCCG GAGGC	42604
CCDC88 C	2	TCCGGAGGAGC TGGAGGC	42227	NIBAN2	1	GGCACCCTGGT CTGT	42605
CCNJL	1	CCACCTTCCGAG CC	42228	NINL	1	GGAGGGCCAG CACCCG	42606
CD101	1	TGAGTGCAGAG TATC	42229	NIPAL4	1	GGCCTGGCATT CCTG	42607
CD93	1	TCCGGCTGCTGG ATGA	42230	NIPAL4	2	GGGCCTGGCAT TCCTG	42608
CDC14B	1	GGCTGGCTCAG AGGGC	42231	NLRC5	1	GGGGATCCCAC AGCC	42609
CDCA2	1	CAAGCCGGCCC AGC	42232	NLRC5	2	GGGGGATCCCA CAGCC	42610
CDK5R2	1	GCCCCGGGCGAG CTGG	42233	NOD2	1	CTGCCTCCCAC CAGTCTA	42611
CELSR3	1	GCCAGGAGGAG CTGG	42234	NOL4L	1	CAACGGGGCA GCT	42612
CELSR3	2	GTCTGCTGCTGG ATGG	42235	NOLC1	1	GAAGCGGGGC AGCT	42613
CENATA C-DT	1	GCCTGCTGCTGA TGC	42236	NOS3	1	CAGGGCTCTGC TGGAGCA	42614
CEP170B	1	CAAGCCGGGGA CT	42237	NOS3	2	CTGCCTCTGCT CCAGCCCC	42615
CEP170B	2	GCCCCGGGAGGA GCAGA	42238	NOTCH3	1	CCGACTTTCTG CAGC	42616
CFAP157	1	GAGAGCCGGCC CAGC	42239	NPIPA7	1	CACCTTCCGAG TG	42617
CFAP300	1	TACCTCTTCTGT CTTTA	42240	NPIPA7	2	CACCTTCCGAG TGT	42618
CHD5	1	CCACCTTCCGAA GCT	42241	NPIPA8	1	CACCTTCCGAG TG	42619
CHD5	2	CACCTTCCGAA GCTC	42242	NPIPA8	2	CACCTTCCGAG TGT	42620

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

CHD5	3	GCCCCGGGAGGG GTGG	42243	NRP2	1	GGGAGCTGTGG CCTCT	42621
CHD5	4	CCACCTTCCGAA GCTC	42244	NTRK3	1	GTGAATCCCAG AGCC	42622
CHD5	5	CCACCTTCCGAA GTCCTG	42245	NUPR2	1	AGGAGGAGCTT TACGAC	42623
CHP1P2	1	CTCCTGTCCACC AGCCCT	42246	NYNRIN	1	GGGGCCCTGGT CTGG	42624
CHRN4	1	CTGCCTCTCCAT CACCA	42247	NYNRIN	2	GCTTCTTTCT GGT	42625
CHST11	1	GCCTGCTGCTGG GTA	42248	OAS3	1	GGCGCCCTGGC CGC	42626
CHST15	1	GGCTCCTGGTCT GC	42249	ODAD1	1	GCGGGAGGAG CTGG	42627
CHST8	1	CGCCGCGGAGA ACCGC	42250	OR13J1	1	ACACCTGGCTG TA	42628
CIITA	1	GGCTGGGATTCC TA	42251	OS9	1	GGCCTGGGATC CCTG	42629
CLIP2	1	GCCCAGGAGGA GCTGG	42252	OS9	2	GGGCTGGGAT CCCTG	42630
CMAHP	1	TGCTGGAGGAG CATCAGG	42253	OSBPL5	1	GTCCAGGAGGA GCTGG	42631
CNDP2	1	CCCTCTCTGAGC CCTTGT	42254	OSBPL8	1	CCGTTCTTTCC TGGA	42632
CNKS3	1	GACCTGGAGGA GCTGG	42255	OTOG	1	GCCTGCTGCTG GGA	42633
CNTNAP 1	1	CTGCCTCTCCCC CATCCTA	42256	P2RX1	1	CCACCCCTCCA CCAGCCA	42634
CNTROB	1	GCCCTGGAGGA GCTGT	42257	P3H1	1	CAGCCCGGCC AGG	42635
COL12A 1	1	GGGGATCCCAG AACA	42258	PABPC1L	1	GCATGCTGCTG GAGA	42636
COL23A 1	1	GGCGCCCTGGA CGC	42259	PAK3	1	GGCCTGGGATT TG	42637
COL23A 1	2	GCCTGCTGCTGG GTGT	42260	PALS2	1	ACACCTGGCTG CTG	42638
COL4A1	1	GGGCCCTGGTCT TC	42261	PAPPA	1	CCAGACCGCCC GGT	42639
COL4A1	2	CTCCTGGGATTC CTG	42262	PAQR5	1	GCCCCGGGAGG AGTGT	42640
COL5A3	1	GCCTCCCTGGTC TGC	42263	PAQR8	1	TCACCTGGCTG GCTG	42641
COL5A3	2	TGGGATCCCAG GGCC	42264	PATL2	1	CCACCGCCCTG CT	42642
COL5A3	3	GGCTGGCGAGG AGGGC	42265	PCDHA2	1	GACCGGGAGG AGCTGT	42643
COL6A3	1	AACTCGTTTGA CCCT	42266	PCDHA4	1	GACCGGGAGG AGCTGT	42644
COL6A3	2	GACCAGGAGGA GCTGG	42267	PCDHA5	1	GACCGGGAGG AGCTGT	42645
COL6A3	3	GAACCTCGTTTG ACCC	42268	PCDHB2	1	GACCGGGAGG AGCTGT	42646
COL6A5	1	CCAGAGAACGG TGGCAC	42269	PCDHB6	1	GACCGGGAGG AGCTGT	42647

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

COL8A1	1	TGGGATCCCAG GCC	42270	PCDHB6	2	TGGCGGGTCTC CGCCCC	42648
CORO1A	1	GCCAGGGAGGA GCTGG	42271	PCDHGA5	1	GCCGGAGGAG CTGG	42649
CPNE4	1	CCAGACCGCCG GCT	42272	PCED1B-A S1	1	GTGGAAGGATC GCTT	42650
CPNE9	1	CCCTCTTTCCTG GG	42273	PCOLCE2	1	GCCTGCTGCTG GCTGC	42651
CREB3L 1	1	GATGCCCTCCCG AA	42274	PCSK5	1	GGAGTGCAGA GATTG	42652
CRX	1	CTGGGTCCCTGC CTTCT	42275	PCSK9	1	TCCACCAGCTG AGGC	42653
CYP4F3	1	TGTGATGAGTCT GAGAT	42276	PDCD4-AS 1	1	TGGGATCCCAG AACC	42654
DBET	1	CAAGCCGGGGC AGCT	42277	PDCD4-AS 1	2	CTGGGATCCCA GAACC	42655
DBET	2	GGCGCCCTGGT CTGC	42278	PDK3	1	TCTTCTTTCCT GAG	42656
DBET	3	ACACCTGGCTG GCTA	42279	PDZD4	1	GGCCTGGAGGA GCTGG	42657
DBET	4	GGCCTGGGATTC CTG	42280	PEAK3	1	GTCCCTCTCCA CCAACCCA	42658
DBET	5	CCATTCTTTCCT GGG	42281	PEG3	1	GCTTCTTTCCT GGG	42659
DBET	6	GGGGATCCCAG AGCC	42282	PFN1	1	TCACGCCAGCT GAGGT	42660
DBET	7	CAGAGCCGGCC CAGG	42283	PGR	1	ACTCCACTCCT GGAG	42661
DBET	8	GCCTGCTGCTGG ATGA	42284	PIK3R5	1	CTGCTCTCCAC CAGCTCT	42662
DBET	9	CCGGAGTTTCTG CAGC	42285	PIK3R5-DT	1	ATGGGATGCCT GCCTTCT	42663
DBET	10	TCTTTCGCGGGG AACA	42286	PIK3R6	1	CAGGCCGGCCC AGT	42664
DBET	11	AACACCTGGCT GGCTA	42287	PIRT	1	CCAGACCGCCA GCT	42665
DBET	12	CGGCCTGGGATT CCTG	42288	PKHD1	1	TAGCCAGCTGA GGC	42666
DBET	13	ACTCCACACCG CGGAG	42289	PLA2G6	1	CAGCGGGGCA GCT	42667
DBET	14	CACCGCGGAGA ACTGC	42290	PLA2G6	2	CTGCCTCTGCC CCAGCCCC	42668
DBET	15	CGGGGATCCCA GAGCC	42291	PLCB3	1	CCCCGGGAGAG CTGG	42669
DBET	16	CAGATGCAAGG CATCCC	42292	PLEKHA6	1	CAGGTCGGGGC AGCT	42670
DBET	17	CTGGAGGAGCT TTAGGA	42293	PLEKHB2	1	CCGGCCGGGGC CCGCC	42671
DBET	18	TGGAGGAGCTT TAGGAC	42294	PLEKHD1	1	AGTCCTGGCC TCTCTG	42672
DBET	19	GGGCGTGTCTCC GCCCC	42295	PLEKHG3	1	CCAGGGGGAG CTGGTGCC	42673
DBET	20	CCCGGGGGAGC TGGAGGC	42296	PLPP4	1	ACACCTTCCGA CACT	42674

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

DBET	21	CGGAAGAGGCG CCTCGC	42297	PLPP4	2	CACCTTCCGAC ACTG	42675
DBET	22	CTCGCTGGAAG CACCCCT	42298	PLPP4	3	ACACCTTCCGA CACTG	42676
DBET	23	CCCCTCAGCGA GGAAGAA	42299	PLPP4	4	CACCTTCCGAC ACTGG	42677
DBET	24	CAGCGAGGAAG AATACCG	42300	PLXDC2	1	ACCTGCTGCTG GATGA	42678
DBET	25	CCGGGCTCTGCT GGAGGA	42301	PMEL	1	CGGGGATCCCG GAGCT	42679
DBET	26	TGCTGGAGGAG CTTAGG	42302	PMEPA1	1	CGGAATCCCAG AGCC	42680
DBET	27	GGCGGTGGCCT CTCTTC	42303	PMEPA1	1	CGGAATCCCAG AGCC	42681
DBET	28	GAACACCTGGC TGGCTAC	42304	PML	1	CTGCCTCCTCC AGCCCA	42682
DBET	29	GGCTGGCTACG GAGGGGC	42305	POLR2H	1	CCGAGCCGGCC CAGG	42683
DBET	30	CCGGCCTGGGAT TCCTGC	42306	POLR2H	2	GCCCGGGAGG GGCGGG	42684
DBET	31	CTGGGATTCCTG CCTTCT	42307	POM121L1 0P	1	CTGGGATCCTG CCTTCA	42685
DBET	32	GGCCGGTGAGA GACTCC	42308	POM121L1 P	1	CTGGGATCCTG CCTTCA	42686
DBET	33	CCCGGGATCCC AGAGCC	42309	POM121L4 P	1	CTGGGATCCTG CCTTCA	42687
DBET	34	CCGGGGATCCC AGAGCCG	42310	POM121L8 P	1	CTGGGATCCTG CCTTCA	42688
DBET	35	TCCCAGAGCCG GCCCAGG	42311	PON1	1	CTGTGGATCCT GAGA	42689
DBET	36	CCGGCCCAGGT ACCAGCA	42312	PPAN-P2RY 11	1	CCTGGCCGCC TGCT	42690
DBET	37	CTGCCTCTCCAC CAGCCCA	42313	PPOX	1	CTGTTCCACCA GCCCA	42691
DBET	38	GGAACACCTGG CTGGCTACG	42314	PPP1R15A	1	CAGGGCCGGCC CAGG	42692
DBET	39	GCCTGGGATTCC TGCCTTCT	42315	PPP1R15A	2	GCCCAGGAGG AGCTGA	42693
DBET	40	TCCCGGGGATCC CAGAGCCG	42316	PPT2-EGFL 8	1	GCTGCTGCTGG AGGA	42694
DBH-AS 1	1	GGACTGCAAGG GAG	42317	PRAMEF34 P	1	GCCCTGGAGGA GCTGC	42695
DCAKD	1	GGCCTGGGATAC CTT	42318	PRAMEF36 P	1	GCCCTGGAGGA GCTGC	42696
DDR2	1	ACTGAGTTTCTG CAGC	42319	PRDM16	1	GGCGCCCTGGG CTGC	42697
DDR2	2	GTGCCTCTCCAC CACCGA	42320	PRKCB	1	CAGAGCCGGCG CAGG	42698
DDX11	1	TCCTGTGCTGGA TGA	42321	PRKY	1	CCGGGCCGGCC CAGG	42699
DENND2 A	1	GGCCTGGGATTC TG	42322	PROK1	1	GCTCTCTTTC TGGG	42700
DENND2 A	2	AGGCCTGGGATT CTG	42323	PROSER3	1	CCAGGCCGCC TGCT	42701

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

DGKI	1	CAGTCAAGGCA TCCC	42324	PRR3	1	CCGACCGCCCT GT	42702
DGKQ	1	ACCCTGGCTGG CTC	42325	PRR5L	1	GTTCTGGCTGA AGTC	42703
DIPK2B	1	ACAACCTGGCTG GCTT	42326	PRSS23	1	TAACTTGTCTG TCTTTG	42704
DLG2	1	GGCCTGGGATTC AG	42327	PRUNE2	1	GTCTGCTGCTG GTGA	42705
DLGAP2	1	ATTCGGCTGAAT GTC	42328	PTPN9	1	CGAGCCGGCCC CGG	42706
DLX1	1	CGGAGCTCGCG GCCTCT	42329	PTPRN2	1	CTCGCGGAGAA CGGC	42707
DLX1	2	AGCTCGCGGCC TCTTTG	42330	PYHIN1	1	CACAATATCCC CTGTG	42708
DLX4	1	ATCTGGTTTCAG AAC	42331	RAB31	1	GCCCGGGAGG AGCCGG	42709
DNAAF1 1	1	CCACCTTCGTC CT	42332	RAB37	1	ACCAGGGAGG AGCTGG	42710
DNAH1	1	CCACCTCAAGC TGTCTT	42333	RAB39A	1	GGGCGGGCGCC CGC	42711
DNAH10	1	GGGGATCCCAG GGCC	42334	RAPGEF4	1	GTCCGGGAGGA GCGGG	42712
DNAH10	2	TGGGGATCCCA GGGCC	42335	RASAL3	1	CGGGCCGGCCC AGG	42713
DNAH14	1	TGGAGGAGCTT TAAAC	42336	RASAL3	2	GCGCTGGAGGA GCTGG	42714
DNAH2	1	CGCCTGGGATTC TG	42337	RASGRP2	1	GGGCGTGCCCG CCCC	42715
DNAH2	1	CGCCTGGGATTC TG	42338	RASSF1	1	GAAGGGCCGC ACCCG	42716
DNAH2	2	CCACACCTACGC TGTCTA	42339	RASSF1	2	GTGCGTGTCCC CGCCCC	42717
DOCK11	1	AGCTCACTGGC CTCTCAG	42340	RBP1	1	GGCGGTCCCAG AGCC	42718
DPF1	1	CCGGCCGGGGC TCAGC	42341	RCVRN	1	CCACCTGGCTG GCTG	42719
DPP9-AS 1	1	CTCGCTGGAAG CCCCCT	42342	RELB	1	CCAGACCGCCG GCT	42720
DSCAML 1	1	CACCGCGGAGA ACGC	42343	RELL2	1	GGCGCCCTGGC CCGC	42721
DZIP1L	1	TCTTCCTTTCCT GGG	42344	RGPD6	1	CAAGCCGGGG AGCG	42722
ECEL1	1	GCCTGGAGGAG CTGG	42345	RGS11	1	CCTGAGTTTCT GCGGC	42723
EDNRB	1	CGCGCCCTGGT GC	42346	RHCG	1	GCCCAGAGGA GCTGG	42724
EFCC1	1	GGCGCCCTGGC TGC	42347	RHPN2	1	ACCTGCTGCTG GAGA	42725
EFCC1	2	CCTGGGGGAGC TGGAGGC	42348	RIMS4	1	TGCATGCAAGG GAG	42726
EGFL6	1	CAGTGCAAGGC ATCAC	42349	RIPK4	1	AGACCTGGCTG GCCA	42727
EGR1	1	CCGGCCCAGGT CAGCA	42350	RIPK4	2	AAGACCTGGCT GGCCA	42728

10

20

30

40

50

【表 3 - 9】

ELF3	1	GGGGATCCCAA GCA	42351	RNASE10	1	AACCTGGCTGG CCA	42729
ENC1	1	GCTGCTGCTGG AGA	42352	RNF212	1	GGCGGTCCCAG AGCC	42730
ENOX1	1	GCCCGGAGGA GCGG	42353	RNF212	2	CGGCGGTCCCA GAGCC	42731
EPHA2	1	CCTTGCTTTCCT GGG	42354	RPS2P32	1	CCACCTGGAT GCTGTCTC	42732
EPHB4	1	GGCGCCCTGGA CTCC	42355	RTEL1	1	GCTGCTGCTGG AGA	42733
EPHB4	2	CTCCCTCCACCA GCTCA	42356	RTEL1-TNF RSF6B	1	GCTGCTGCTGG AGA	42734
EPSTI1	1	TCCGCCAGCTG AAGC	42357	RTN1	1	GCCCTGAGGAG CTGG	42735
ERICH3	1	ACACCTGGCTG GGTA	42358	RTN4RL2	1	GCCCTGGAGGA GCTGG	42736
ERICH3	2	AACACCTGGCT GGGTA	42359	RUSC1	1	GGACCCTGGTC TGC	42737
ESPN	1	GGCGCCCTGGC AGC	42360	S1PR5	1	TGCGCCTGGTC TGC	42738
EVC2	1	CCGGGCCGGCC CAGG	42361	SAMD3	1	GGCAGGGATTC CTG	42739
EXOC3L 1	1	GCTGCTGCTGG TGA	42362	SASH1	1	TGGTGCAGAGA TACG	42740
EXOC3L 2	1	CGAGCCGGCCC GGG	42363	SBNO2	1	GCCCGAGAGG AGCTGG	42741
EZR	1	GGCGCCCTGGT TGT	42364	SCN5A	1	CGGGGATCCAG AGCC	42742
EZR	2	GCTGCTGCTGG ATA	42365	SCN5A	2	CCCGGGGATCC AGAGCC	42743
F11R	1	CCACCTGGCTG GCA	42366	SCN5A	3	CCGGGGATCCA GAGCCC	42744
FAM171 A2	1	CCAGGCGGGGC AGCT	42367	SDC3	1	CTGGCCCCACC AGCCCA	42745
FAM205 A	1	GATTCAGATGGT TTC	42368	SDK1-AS1	1	CCTGGATAATT AGTGC	42746
FAM83D	1	GCTCTGGAGGA GCTGG	42369	SDK1-AS1	2	GAGACTCTTTT GGACCA	42747
FAM83G	1	AGAAACGCTGG CCCAG	42370	SEMA4C	1	GTCCCTCTCCC CAGCCCA	42748
FANCB	1	AGCTCGCGGGC TCTCTG	42371	SEMA5B	1	GTCGCCCTGGT CTGA	42749
FAS	1	CAGGCGGGGCA GCT	42372	SERPINE1	1	TGGAGGACCTT TAGGTC	42750
FAT1	1	AGTGCAGAGAT TGC	42373	SEZ6	1	CAGCGGGGCA GCT	42751
FAT2	1	CCTGCTTTCCTG GG	42374	SH3TC1	1	GCCTGCTGCTG GGA	42752
FAT3	1	CCGCCGCCCTGC T	42375	SHANK1	1	TCTGTCTTTCCT GGG	42753
FAT3	2	GGCGCCCTGGT GC	42376	SHE	1	CCGGCCGGGGC CCCC	42754
FBLIM1	1	GCGGATCCCAG AGCC	42377	SHISA7	1	GCCCAGAGGA GCTGG	42755

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 0】

FBLIM1	2	CAAGCCGGCCCC AGC	42378	SHROOM1	1	CCGGCCGGGGT CCCC	42756
FBLIM1	3	GGCGGATCCCA GAGCC	42379	SIGLEC5	1	TGCTGCAAGGG AG	42757
FBXO24	1	CGGAAGGGAGC TC	42380	SIRPB1	1	GCCTGCTGCTG GAAA	42758
FBXO41	1	CCCGCCGCCCTG CT	42381	SKI	1	CCTCTTTCCTG GG	42759
FCGBP	1	CAAGCCGGGGC AGGT	42382	SKI	2	CCTCCCTGTGG GTCCGAT	42760
FER1L6	1	CTGCAAGGGAG CC	42383	SLA	1	GAGAGTTACAT CCCTGG	42761
FGD5	1	GCCCGGGAGGA GCTGA	42384	SLC12A3	1	GGCTGGCAGGG AGGGGC	42762
FGF2	1	CGGGGATCCCG GCC	42385	SLC18B1	1	CCCGGGGACCC AGAGTC	42763
FKBP9P1	1	CCGGCCTGATTC CTGC	42386	SLC26A8	1	TGGGATCCCAG CGCC	42764
FKBPL	1	CGTGCAAGGGG CAC	42387	SLC28A3	1	CTCCCTCCCA CCAGCCCC	42765
FKBPL	2	ACGTGCAAGGG GCAC	42388	SLC36A1	1	GAGGATCCCAG ACCC	42766
FLG-AS1	1	GGCCTGGGATTT G	42389	SLC39A11	1	GCCTGCTGCTG ATCA	42767
FLI1	1	GGGCAGGGCGC TCGC	42390	SLC41A2	1	TACGTCTGTCT GTCTTTG	42768
FLNB	1	CAAGCCGGGGG CT	42391	SLC46A2	1	GCTTTCTTTCCT GAG	42769
FLNB	2	TCACTGTGGATC CTAA	42392	SLC7A14	1	ATTCTGGCTGA CTGTG	42770
FLRT1	1	CAACCGGGGCA GCA	42393	SLC8A2	1	TCCCGGGAGGA GCGG	42771
FOSL2	1	ATGGCCCTCCCA AGACC	42394	SLC8B1	1	TAAGGGCCAGG CCCCG	42772
FOXF1	1	GAGCTGCAAGG CATCCC	42395	SLC9B2	1	GGGAGCTCGCT GGTCCT	42773
FRAT2	1	CAAGCCGGGGC ACG	42396	SLCO1C1	1	CCTGGATGATT TTGC	42774
FRMD8	1	GGCGCCCTGGT GTGC	42397	SMAP2	1	ACCTGCTGCTG GAGGA	42775
FRMD8	2	CAAGCCGGGCC AAG	42398	SMPD3	1	GCCGGGAGGA GCGGG	42776
GAL3ST 1	1	GAGGGTCCCAG AGCC	42399	SORCS3	1	GGCCGGAGGA GCTGG	42777
GALNS	1	CATTCAGATTGG TTTC	42400	SORCS3	2	GAAATCTGGCT GGCTAC	42778
GANC	1	TTTCTGGCTGAA TGCC	42401	SOWAHD	1	GGCGCCCTGGG TGC	42779
GAS6-AS 1	1	CCGGCCGGGGC CCC	42402	SOX17	1	CTGGAGGAGCT AAGGA	42780
GAS7	1	CCACCTGGCTG GCA	42403	SOX4	1	CCGCCGCCCTG CT	42781
GASK1A	1	CCGGCCGGGGC ACC	42404	SPATA6L	1	CTCAAGGGAGC TC	42782

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 1】

GASK1B	1	CAAGCCGGGGC AGCT	42405	SPATC1	1	AGCCACTCCGC GGAG	42783
GASK1B	2	GTGGCAGGGCT CCGGC	42406	SPOCD1	1	GACCAGGAGG AGCTGG	42784
GCK	1	ACACCTGGCTG GA	42407	SPOCD1	2	CCAGGAGGAG CTGGAGGC	42785
GCKR	1	ACACCTGGCTG CA	42408	SPTBN2	1	GGCCCCCTGGTC TGC	42786
GDF11	1	TGCAGAGAATG TCAC	42409	SPTBN2	2	GAGAGCCGGCC CAGC	42787
GDF11	2	TGCAGAGAATG TCACAG	42410	SRGAP2	1	GGCGCCCTGGC TTC	42788
GFOD2	1	GGCGCCCTGGA CTCC	42411	SRP19	1	CAGCGAGGAA GAAACCT	42789
GJA1	1	TCCCTGTGTATC CTAT	42412	SSBP4	1	GGGCAGGGCG CCGGC	42790
GJA3	1	CCCTGCTGCTGG ATGG	42413	SSPOP	1	CCAGCCGGGGC AGCT	42791
GJD4	1	GCCGACCTGGT CTGC	42414	SSPOP	2	GGCCCCCTGGT CTGT	42792
GLB1	1	ATACTGGCTGGC TA	42415	SSPOP	3	CCCGGGGGAGC TGGGGC	42793
GNAI3	1	GCACCTGGCTG GCAA	42416	SSTR2	1	ACACCTGGCTT CTA	42794
GNAO1	1	CAAGCCGGGGA GCC	42417	ST20-AS1	1	GCAGGGCCAG GCCCG	42795
GNAZ	1	CAAGGGCAGGC ACCCG	42418	STAC2	1	GAAGGGCCAG GACCAG	42796
GNAZ	2	CCACCTTGAGCT GTCTC	42419	STARD5	1	TGACGCCAGCT GATGC	42797
GPC2	1	CCACCTCCGAG GCC	42420	STARD9	1	AGACCTGGCTG GCCA	42798
GPC6	1	TCGGCCTAGGAT TCCTGC	42421	STARD9	2	GGCCTGGGATG CTG	42799
GPR146	1	CCACCGCCCTGC T	42422	STRC	1	TGGGATCCCAG ACC	42800
GPR146	2	ACTCCACTCCGA GAG	42423	STRC	2	CTGGGATCCCA GACC	42801
GPR150	1	AGCGCCCTGGT CGGC	42424	STX2	1	GTGGAAGGATC GCTT	42802
GPR158	1	CGGAGATCCCA GAGAC	42425	SV2B	1	GGGAGGAGCTT AGGAC	42803
GPR160	1	GTGGAGGGCGC CCGG	42426	SYNDIG1L	1	TGCAGAGAATG TCAC	42804
GPR37	1	TCCGCCAGCTG AGC	42427	SYNDIG1L	2	TGCAGAGAATG TCACCA	42805
GPX2	1	GCCCTCCGACG CT	42428	SYNE3	1	TCCCATGGATC CTAT	42806
GPX2	2	CCCTTCCGACGC TA	42429	SYNGAP1	1	TGCAGAGTATG TCAC	42807
GRHL1	1	CTGGGAAGCTTT AGGA	42430	SYNGAP1	2	TGCAGAGTATG TCACCA	42808
GRHL1	2	TGGGAAGCTTTA GGAC	42431	SYNGR3	1	CTGCCTCTCCA CCTGCACC	42809

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 2】

GRIA1	1	TCACTGTGGATC CAT	42432	TAF5	1	CCGGGCTGCTG GAGGA	42810
H2BC8	1	CCAGACCGCCG TGCG	42433	TAL1	1	AGCCGCTGGCC TCTCTC	42811
HAL	1	CTCCCTCTCCAC CAGCGCA	42434	TAPT1-AS1	1	CCGGCCGGGGC ACC	42812
HECW2- AS1	1	AGGCCCTGGTCT GC	42435	TBC1D32	1	TCCAGTGGATC CTAT	42813
HHAT	1	GTCCTGGGATTC CTG	42436	TCAM1P	1	CCAGACCTCCC TGCT	42814
HHAT	2	TGTCCTGGGATT CCTG	42437	TCAM1P	2	CCTTCCTTTCCT GGG	42815
HIP1R	1	GACGTTTGGAC CCC	42438	TCF7	1	CCTTTCTTTCCT TGG	42816
HMX1	1	CCACCCGGGGC AGCT	42439	TEAD2	1	ATGGCAGGGCG CCCC	42817
HOMER3	1	GGAGCCCTGGT CTCC	42440	TEKT4	1	GCAGCTGGCTG GCTA	42818
HOXC11	1	TCCTCTTTCTGT CTTTG	42441	TEKT4P2	1	GCAGCTGGCTG GCTA	42819
HPGD	1	AAACCTGGCTG GCA	42442	TEPSIN	1	CTTCCTCTCCA CCATCCA	42820
HPGD	2	AAAACCTGGCT GGCA	42443	TESK2	1	CTGCCTCCCAC CAGACCC	42821
HRAT92	1	GGACGTGCAAG GGG	42444	TESMIN	1	CGGGATCCCAG AGCT	42822
HRAT92	2	CGTGCAAGGGG CGC	42445	TESMIN	2	CCGGGATCCCA GAGCT	42823
HRAT92	3	GGACGTGCAAG GGGC	42446	TESMIN	3	CCCCGGGATCC CAGAGCT	42824
HRAT92	4	GACGTGCAAGG GGCG	42447	TFAP2B	1	CGGGGATCCAG AGCT	42825
HRAT92	5	ACGTGCAAGGG GCGC	42448	TFAP2B	2	CCGGGGATCCA GAGCTG	42826
HS6ST2	1	CGAGCCGGCCC GGG	42449	TFR2	1	GCCTGCTGCTG GTGC	42827
HSF2BP	1	GTTCTGGCTGAA GTC	42450	TGFB2	1	GACAGTATCCC CTGTA	42828
HTR3C	1	CTCCACTGCACC AGCCCA	42451	TGFBR3	1	AGAGGTGCAA GGGAGC	42829
ICAM2	1	CGGGATCCCAG AGCT	42452	TGFBR3	2	GAGGTGCAAG GGAGCG	42830
ICAM2	2	CCGGGATCCCA GAGCT	42453	TGM5	1	CCAGACCGCCC AGCT	42831
ICAM2	3	CCCGGGATCCCA GAGCT	42454	TIE1	1	CCCTGCTGCTG GAGA	42832
IFFO1	1	GCCAGGAGGAG CTGG	42455	TINAGL1	1	CGGCCTGGGAT CCAG	42833
IFFO2	1	CTGCCTCTCCAC CACA	42456	TLE3	1	GGCGCCCTGGG CAGC	42834
IFI16	1	CACAATATCCCC TGTG	42457	TLNRD1	1	GTGTCTCTCCA CCAGCCCC	42835
IGFBP7	1	AAAGCCGGGGC AGCA	42458	TMEM106A	1	TGGGATCCCAG ACC	42836

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 3】

IGFBPL1	1	GGCCTGGGATTC TG	42459	TMEM106A	2	CTGGGATCCCA GACC	42837
IGFBPL1	2	TGGCCTGGGATT CTG	42460	TMEM165	1	CCGAGCCGGCC CGGG	42838
IGSF10	1	GGGGATCCCAA ACC	42461	TMPRSS13	1	CCAGACCCCCT GCT	42839
IGSF3	1	CCACCTTCGCGC T	42462	TNFRSF12 A	1	CCAGCCGGGGC TCGCC	42840
IGSF8	1	GCCCCGGGAGGT GCTGG	42463	TNFRSF21	1	CCTGGATGATT GTGC	42841
IKZF1	1	GTGGCAGGGCG CGCGC	42464	TNKS1BP1	1	CAGGGCCTGCT GGAGGA	42842
IL1R1	1	GGCCGGGAGGA GCCGG	42465	TOR4A	1	GCCGCGAGGA GCTGG	42843
ILDR2	1	GTCTGTTGGAC CCC	42466	TPK1	1	TGCAGTGATAT GTCACAA	42844
INAVA	1	CTGGAGGAGCT GAGGA	42467	TPSD1	1	GGCCCCTGGTC TGC	42845
INKA2	1	GAAGGGCCAGG CAGCAG	42468	TRAF1	1	GCCAGGAGGA GCTGG	42846
INSRR	1	CCGCGGGGCTC ACC	42469	TRAF5	1	ACACCTGGCTG TA	42847
INSRR	2	GTCCTGGAGGA GCTGG	42470	TRAF5	2	AACACCTGGCT GTA	42848
INSYN1	1	CCGGCCGGGGC CCCC	42471	TRERF1	1	AGCACCTGGT CTGC	42849
IQGAP3	1	CCCGGTGGAGC TGGAGGA	42472	TRIM56	1	CCGGCCGGGGC TCAGC	42850
IRS2	1	GGCGCCCTGGG CGGC	42473	TRIM56	2	CCTGGTGGAGC TGGAGGC	42851
ITGA6	1	GGTGCTCCCAG AGCC	42474	TRIM62	1	CTGCAAGGAG TC	42852
ITGAL	1	GGCGCCCTGGTT TTC	42475	TRIM67	1	GCCCGGGAGGC GCGGG	42853
ITGAX	1	GTCCAGGAGGA GCTGG	42476	TSPAN10	1	AGCCTGGCTGG CTA	42854
ITIH5	1	CAGAGCCGGCT CAGA	42477	TSPAN13	1	ACACCTGTCTG GCTA	42855
ITIH5	2	CTGCCTCTCCCC ACCCT	42478	TSPAN13	2	GACACCTGTCT GGCTA	42856
KANK4	1	GCTGCTGCTGG AGA	42479	TSPAN14	1	CCTTTCTTTCCC AGG	42857
KCNC3	1	GCCTGCTGCTGG ATGA	42480	TTC22	1	CCAGCCAGCTG AGGC	42858
KCNC4	1	CCCTGCTGCTGG ATGA	42481	TTC34	1	CGAGCCGCCCT GCT	42859
KCNF1	1	GAAGGCCCTCC CGGCA	42482	TTC6	1	CCACCTTCCGA GCG	42860
KCNF1	2	AAGGCCCTCCC GGCACC	42483	TLL10-AS 1	1	CAGCCTCTCCA CCTGCACA	42861
KCNG2	1	GGGAATCCCAG AGCC	42484	TUBB2A	1	CCAGCCGGGGC AGCC	42862
KCNG2	2	GCCTGCTGTGG ATGA	42485	TUBB2B	1	CCAGCCGGGGC AGCC	42863

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 4】

KCNG2	3	GGGGAATCCCA GAGCC	42486	TUBBP5	1	CCAGCCGGGGC AGCC	42864
KCNJ15	1	TGTGCAGAATAT GTC	42487	TULP1	1	GAGGGCCAGG CACCCA	42865
KCNK10	1	TCTTTCTTTCCT TGG	42488	UBXN10	1	GCTGCTGCTGG TGA	42866
KCTD1	1	GCCGGGGAGGA GCTGG	42489	UCK2	1	CTGAAGGGAGC TC	42867
KCTD1	2	GAACACCCGGC TGGCCAC	42490	UCK2	2	ACCTCTCTTGC CCTTGT	42868
KCTD15	1	GCCGGGAGGAG CGG	42491	UNC13A	1	CAGAGCCGGCC CGG	42869
KCTD15	2	CCTCCCTTGGAT CCTT	42492	UNC45A	1	GGCGCCCTGGC GGC	42870
KIAA031 9	1	GCTGCTGCTGGT GA	42493	VANGL1	1	CCACCTGGCTG GCA	42871
KIAA089 5L	1	AGGCAAGGGAG CTC	42494	VAV2	1	GCCTGGAGGAG CTGG	42872
KIAA152 2	1	CCACCTCCGAC CCC	42495	VAV3	1	CCGGCCGGGGC GCACG	42873
KIAA154 9L	1	CAGGAGCCGGC CCGGG	42496	VSTM4	1	GGCCTGGGATT CCTT	42874
KIF26A	1	GCAGCCGCCCT GCT	42497	VSTM4	2	AGGCCTGGGAT TCCTT	42875
KIF5C	1	GCCCTGGAGGA GCTGG	42498	VSTM4	3	CGCCTCTCCAC CAGCACC	42876
KLC3	1	GCCCTGAGGAG CTGG	42499	VWC2	1	CCGGCCGGCCC AGG	42877
KLF16	1	GGCGCCCTGGT GC	42500	VWC2	2	ACCCCTCCGCG GAG	42878
KLF16	2	CTCCTCTCCACC ACCCCC	42501	VWF	1	GGCGCCCTGGC CAGC	42879
KLHL14	1	TCCCTGTGGACC GAT	42502	WASF2	1	CCTTCTTTCCT GGA	42880
KLK10	1	GGCCCCCTGGTC TGT	42503	WDR43	1	TGCCTGGGATT CCTG	42881
KRT86	1	GTGGCAGGGCG CCAC	42504	WNT7A	1	CAGAGCCGGCC CGA	42882
KRTAP2- 1	1	CTCCTCTCCACA GCCCA	42505	WWC1	1	CCAGCCGGGGC TCCC	42883
LAMA4	1	CTGGCGGGGCT CACC	42506	WWC1	2	GCCTGCTGCTG AGGA	42884
LAMA5	1	GTGGCAGGGCC ACGC	42507	WWOX	1	CGGGTCTCGTT TGGA	42885
LAMC2	1	ATTCTGGCTGAT GTG	42508	XCR1	1	CCTTTCTTTCCT AGT	42886
LCNL1	1	GGAGGGCCAGG CCCCG	42509	YEATS2	1	CAGCCGGGGCA GGT	42887
LDLR	1	TGGGATCCCAG GCC	42510	YPEL2	1	AACCTGGCTGG TA	42888
LEFTY2	1	CTGAGCCGGCC CCGG	42511	ZC3H12B	1	CGAGTGCAGAG CTATG	42889
LIMK1	1	CAGAGCCGGCC CAGC	42512	ZC3H12D	1	AGCGCCTGGTC TGC	42890

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 5】

LIMK1	2	GCCCAGAGCCG GCCCAGC	42513	ZDHC8P1	1	CTGGCCGGCCC AGG	42891
LINC003 19	1	CACAGCCGGCC CAGC	42514	ZFP14	1	CAGAGCCGGCC AGG	42892
LINC005 28	1	GCAGGCCGGCC TGCT	42515	ZFP69	1	GCGGCCGGGGC TCACA	42893
LINC005 40	1	CGGGCCGGGCC AGG	42516	ZNF831	1	CCCCTCAGAGA GGAAGAA	42894

10

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2024529875000001.xml

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/073754

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12N15/113 A61K31/7125 A61K31/712 G16B30/00 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 G06F G16B A61K		
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, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2013/016352 A1 (NATIONWIDE CHILDREN S HOSPITAL INC [US] ET AL.) 31 January 2013 (2013-01-31) the whole document -----	1-42
A	WO 2017/007886 A2 (IDERA PHARMACEUTICALS INC [US]) 12 January 2017 (2017-01-12) the whole document ----- -/--	1-42
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 January 2023		Date of mailing of the international search report 14/03/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Andres, Serge

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/073754

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LU-NGUYEN NGOC ET AL: "Systemic antisense therapeutics inhibiting DUX4 expression ameliorates FSHD-like pathology in an FSHD mouse model", HUMAN MOLECULAR GENETICS, vol. 30, no. 15, 13 May 2021 (2021-05-13), pages 1398-1412, XP055944226, GB ISSN: 0964-6906, DOI: 10.1093/hmg/ddab136 Retrieved from the Internet: URL:https://academic.oup.com/hmg/article-pdf/30/15/1398/38888978/ddab136.pdf> the whole document -----	1-42
A	ANSSEAU ET AL: "Antisense Oligonucleotides Used to Target the DUX4 mRNA as Therapeutic Approaches in FaciosScapuloHumeral Muscular Dystrophy (FSHD)", GENES, vol. 8, no. 93, 3 March 2017 (2017-03-03), pages 1-21, XP055684651, DOI: 10.3390/genes8030093 the whole document -----	1-42
A	LE GALL LAURA ET AL: "Therapeutic Strategies Targeting DUX4 in FSHD", JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE, vol. 9, no. 9, 2886, 7 September 2020 (2020-09-07), pages 1-20, XP055865265, DOI: 10.3390/jcm9092886 the whole document -----	1-42
T	WO 2021/203043 A2 (MIRECULE INC [US]) 7 October 2021 (2021-10-07) the whole document -----	
E	WO 2022/159712 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS INC [US]) 28 July 2022 (2022-07-28) the whole document -----	1-42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/073754

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 13ter.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:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/073754

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: **1, 3, 5-8, 10-42 (all partially)**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-42 (partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2022 /073754

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-42(partially)

DUX4-targeting oligonucleotide

1.1. claims: 1, 3, 5-8, 10-42(all partially)

DUX4-targeting oligonucleotide characterised by SEQ ID 20962. Conjugate, vector, composition or kit containing it, and its use in therapy.

1.2. claims: 1-42(partially)

DUX4-targeting oligonucleotide corresponding to AS-DX-001 in Table 2 (e.g. SEQ IDs 42006, 41923 and 42007). Conjugate, vector, composition or kit containing it, and its use in therapy.

2. claims: 1-42(partially)

DUX4-targeting oligonucleotide corresponding to AS-DX-002 or AS-DX-038 in Table 2 (e.g. SEQ IDs 23534, 41941, 42008-42011 and 42067). Conjugate, vector, composition or kit containing it, and its use in therapy.

3. claims: 1-42(partially)

DUX4-targeting oligonucleotide corresponding to AS-DX-003, AS-DX-120 or AS-DX-126 in Table 2 (e.g. SEQ IDs 41924, 41992, 41994, 42012 and 42013). Conjugate, vector, composition or kit containing it, and its use in therapy.

4. claims: 1-42(partially)

DUX4-targeting oligonucleotide corresponding to AS-DX-004 in Table 2 (e.g. SEQ IDs 41925, 42014 and 42015). Conjugate, vector, composition or kit containing it, and its use in therapy.

5. claims: 1-42(partially)

DUX4-targeting oligonucleotide corresponding to AS-DX-005, AS-DX-084 in Table 2 (e.g. SEQ IDs 41926, 41975, 42016 and 42017). Conjugate, vector, composition or kit containing it, and its use in therapy.

6-133. claims: 1-42(partially)

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022/073754

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

As for subjects 2. to 5., but with regard to all other
compounds defined in Table 2, as far as applicable.

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022 /073754

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1, 3, 5-8, 10-42 (all partially)

SEQ ID 20962 does not form part of the application as filed, and can therefore not be searched.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) PCT declaration be overcome.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/073754

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013016352 A1	31-01-2013	AU 2012286994 A1	13-02-2014
		AU 2017258945 A1	04-01-2018
		AU 2020200323 A1	06-02-2020
		AU 2022201820 A1	07-04-2022
		CA 2842798 A1	31-01-2013
		CA 3106285 A1	31-01-2013
		EP 2736539 A1	04-06-2014
		EP 3290055 A2	07-03-2018
		ES 2648169 T3	28-12-2017
		HK 1252157 A1	17-05-2019
		US 2014322169 A1	30-10-2014
		US 2017029849 A1	02-02-2017
		US 2019300903 A1	03-10-2019
		WO 2013016352 A1	31-01-2013
WO 2017007886 A2	12-01-2017	US 2017009230 A1	12-01-2017
		WO 2017007886 A2	12-01-2017
WO 2021203043 A2	07-10-2021	AU 2021246530 A1	03-11-2022
		CA 3174286 A1	07-10-2021
		CO 2022015141 A2	30-12-2022
		EP 4127175 A2	08-02-2023
		IL 296957 A	01-12-2022
		KR 20230023612 A	17-02-2023
		US 2022213480 A1	07-07-2022
		US 2022213481 A1	07-07-2022
		WO 2021203043 A2	07-10-2021
WO 2022159712 A1	28-07-2022	NONE	

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

F I

A 6 1 P 21/00

テーマコード (参考)

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,N
E,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,J
M,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,T
H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. PYTHON

2. アンドロイド

アメリカ合衆国フロリダ州 3 2 7 7 1. サンフォード. ベラ・フォレスタ・プレイス 7 3 7 6

(72)発明者 マートン・ムンズ

スペイン王国バルセロナ. バルセロナ. ペ 0 2 ペテア 1. ヴェンタロヘ 7 5

(72)発明者 チャールズ・マルサク

アメリカ合衆国メリーランド州 2 0 8 7 8. ゲイザーズバーク. クインス・オーチャード・ロード
7 0 4. スイート 1 4 0. ミレキユール インコーポレイテッド

(72)発明者 ロバート・プレイス

アメリカ合衆国メリーランド州 2 0 8 7 8. ゲイザーズバーク. クインス・オーチャード・ロード
7 0 4. スイート 1 4 0. ミレキユール インコーポレイテッドF ターム (参考) 4C084 AA13 MA17 MA24 MA34 MA52 MA56 MA58 MA59 MA60 MA63
MA65 NA14 ZA941 ZA9424C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA17 MA24 MA34 MA52 MA56
MA58 MA59 MA60 MA63 MA65 NA14 ZA94