

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7036723号

(P7036723)

(45)発行日 令和4年3月15日(2022.3.15)

(24)登録日 令和4年3月7日(2022.3.7)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 15/113

Z N A

C 1 2 N 15/33 (2006.01)

C 1 2 N 15/33

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7105(2006.01)

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 P 27/06 (2006.01)

A 6 1 P 27/06

請求項の数 12 (全134頁)

(21)出願番号 特願2018-529249(P2018-529249)

(86)(22)出願日 平成28年12月14日(2016.12.14)

(65)公表番号 特表2019-500348(P2019-500348  
A)

(43)公表日 平成31年1月10日(2019.1.10)

(86)国際出願番号 PCT/US2016/066691

(87)国際公開番号 WO2017/106370

(87)国際公開日 平成29年6月22日(2017.6.22)

審査請求日 令和1年12月13日(2019.12.13)

(31)優先権主張番号 62/267,259

(32)優先日 平成27年12月14日(2015.12.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/318,958

(32)優先日 平成28年4月6日(2016.4.6)

最終頁に続く

(73)特許権者 504278156

コールド スプリング ハーバー ラボラ  
トリーアメリカ合衆国 1 1 7 2 4 ニューヨー  
ク、コールド スプリング ハーバー、ワ  
ン バングタウン ロード

(73)特許権者 518195690

ストーク セラピューティクス, インク.  
アメリカ合衆国 0 1 7 3 0 マサチュー  
セッツ州 ベドフォード ウィギンズ・ア  
ヴェニュー 4 5

(74)代理人 100118902

弁理士 山本 修

(74)代理人 100106208

弁理士 宮前 徹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 眼疾患の処置のための組成物および方法

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

OPTNタンパク質をコードする保持されたイントロン含有mRNA前駆体(RIC mRNA前駆体)の標的部分に相補的なアンチセンスオリゴマー(ASO)であって、RIC mRNA前駆体は保持されたイントロンを含み、ASOのRIC mRNA前駆体の標的部分との結合が、RIC mRNA前駆体を発現する細胞内で、保持されたイントロンをRIC mRNA前駆体から構成的にスプライシングさせることにより、細胞内で、OPTNタンパク質をコードする成熟mRNAのレベルを増加させ、RIC mRNA前駆体の標的部分は保持されたイントロン内にあり、保持されたイントロンはイントロン7であり、RIC mRNA前駆体の標的部分は：

(a) 保持されたイントロン7の5'スプライス部位に対して+6から+31；

(b) 保持されたイントロン7の5'スプライス部位に対して+41から+51；または

(c) 保持されたイントロン7の3'スプライス部位に対して-61から-16、

から選択される領域内である、前記ASO。

## 【請求項 2】

RIC mRNA前駆体が、SEQ ID NO: 34、35、36、又は37に少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む、請求項1に記載のASO。

## 【請求項 3】

RIC mRNA前駆体の標的部分が、SEQ ID NO: 26714の少なくとも8つ

の隣接する核酸を含む領域に少なくとも 80%、85%、90%、95%、97%、あるいは 100% の配列同一性を備えた配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の A S O。

【請求項 4】

O P T N タンパク質が：

i ) 同等の野性型タンパク質と比較して、機能が低下した形態；又は

i i ) 同等の野性型タンパク質と比較して、十分に機能的な形態、

で生成される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の A S O。

【請求項 5】

A S O が、ホスホロチオエート結合若しくはホスホロジアミデート結合を含む骨格修飾；又は修飾された糖部若しくは糖アナログを含み、該修飾された糖部若しくは糖アナログが、必要に応じて、ホスホロジアミデートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2' - O - メチル、2' - フルオロ、又は 2' - O - メトキシエチル部分を含む、請求項 1 4 のいずれか 1 項に記載の A S O。

10

【請求項 6】

A S O が、8 ~ 50 の核酸塩基から成る、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の A S O。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の A S O を含むポリヌクレオチドを結合させたウイルスベクター。

【請求項 8】

被験体において O P T N タンパク質の量又は機能が不足していることを特徴とする疾患又は疾病を処置するための医薬組成物であって、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の A S O 又は請求項 7 に記載のウイルスベクターを含む、前記医薬組成物。

20

【請求項 9】

処置される被験体において O P T N タンパク質の量又は活性が不足している、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

O P T N タンパク質の量の不足は、O P T N タンパク質のハプロ不全によって引き起こされ、ここで被験体は、機能的な O P T N タンパク質をコードする第 1 の対立遺伝子、及び O P T N タンパク質が生成されない第 2 の対立遺伝子又は非機能的な O P T N タンパク質をコードする第 2 の対立遺伝子を有し、A S O は、第 1 の対立遺伝子から転写された R I C m R N A 前駆体の標的部分に結合する、請求項 8 又は 9 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 11】

被験体は、

( a )

( i ) O P T N タンパク質が野生型対立遺伝子からの生成と比較して、減少したレベルで生成される、

( i i ) O P T N タンパク質が同等の野性型タンパク質と比較して機能が低下した形態で生成される、あるいは、

( i i i ) O P T N タンパク質が生成されない、

第 1 の変異対立遺伝子と、

40

( b )

( i ) O P T N タンパク質が野生型対立遺伝子からの生成と比較して、減少したレベルで生成される、

( i i ) O P T N タンパク質が同等の野性型タンパク質と比較して機能が低下した形態で生成される、あるいは、

( i i i ) O P T N タンパク質が生成されない、

第 2 の変異対立遺伝子とを有し、

ここで、被験体が第 1 の変異対立遺伝子 ( a ) ( i i i ) を有するとき、第 2 の変異対立遺伝子は ( b ) ( i ) あるいは ( b ) ( i i ) であり、被験体が第 2 の変異対立遺伝子 ( b ) ( i i i ) を有するとき、第 1 の変異対立遺伝子は ( a ) ( i ) あるいは ( a ) ( i

50

i) であり、ここで、RIC mRNA前駆体は、(a)(i)あるいは(a)(ii)である第1の変異対立遺伝子、又は(b)(i)あるいは(b)(ii)である第2の変異対立遺伝子から転写される、請求項8～10のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項12】

くも膜下腔内注射、脳室内注射、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、あるいは静脈内注射による投与用である、請求項8～11のいずれかに記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

10

本出願は、2015年12月14日出願の米国仮特許出願第62/267,259号、および2016年4月6日出願の米国仮特許出願第62/318,958号の利益を主張するものであり、該出願は全体として参照によって本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列リストへの言及

本出願は配列表を包含しており、これは、EFS-Webを介してASCIIフォーマットで提出され、その全体が引用により本明細書に組み込まれる。2016年12月12日に作成されたASCIIのコピーは、47991-713\_\_601\_\_SL.txtのファイル名であり、15,418,644バイトのサイズである。

【背景技術】

20

【0003】

眼機能に影響を与える特定の疾患は、遺伝子の発現における欠失、および遺伝子産物における欠失に関連付けられる。眼の疾患または疾病において発現の増加が利点をもたらす遺伝子産物の例としては、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、およびIDUAが挙げられる。

【発明の概要】

【0004】

本明細書には、いくつかの実施形態において、被験体の細胞により標的タンパク質または機能的RNAの発現を増加させることによって被験体の眼疾患を処置する方法が開示され、ここで、該細胞は、保持されたイントロン含有mRNA前駆体(RIC mRNA前駆体)を有し、該RIC mRNA前駆体は、保持されたイントロン、5'スプライス部位に隣接しているエクソン、および3'スプライス部位に隣接しているエクソンを含み、ここで、RIC mRNA前駆体は、標的タンパク質または機能的RNAをコードし、該方法は、被験体の細胞を、標的タンパク質または機能的RNAをコードするRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的なアンチセンスオリゴマー(ASO)と接触させる工程を含み、それによって、保持されたイントロンは、標的タンパク質または機能的RNAをコードするRIC mRNA前駆体から構成的にスプライシングされ、それにより、被験体の細胞内で、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAのレベルを増加させ、標的タンパク質または機能的RNAの発現を増加させる。いくつかの実施形態では、眼疾患は、網膜色素変性症-7、Sveinsson網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症37、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全-1、両側性視神経低形成、錐体杆体ジストロフィー-2、レーバー先天黒内障-7、網膜色素変性症30、シュタルガルト病-1、網膜色素変性症-19、加齢黄斑変性-2、錐体杆体ジストロフィー-3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症12、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障2、網膜色素変性症20、レーバー先天黒内障14、網膜色素変性症、オール-トランスレチナール(例えばSTGD1)の遅いクリアランスまた

30

40

50

は蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障 13、網膜色素変性症 44、色覚異常 - 2、時差ぼけ、アルストレム症候群、弱毒化 MPS - 1（ハーラー - シャイエ症候群およびシャイエ症候群）、またはバルデービードル症候群である。

【0005】

さらに、標的タンパク質の発現を増加させる方法も本明細書に開示され、ここで、標的タンパク質は、保持されたイントロン含有 mRNA 前駆体（RIC mRNA 前駆体）を有する細胞により、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA のスプライシング効率を改善することによる、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA の発現であり、RIC mRNA 前駆体は、保持されたイントロン、保持されたイントロンの 5' スプライス部位に隣接するエクソン、保持されたイントロンの 3' スプライス部位に隣接するエクソンを含み、ここで、RIC mRNA 前駆体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA のタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA の発現をコードし、ここで、上記方法は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA のタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA の発現をコードする RIC mRNA 前駆体の標的部分に相補的なアンチセンスオリゴマー（ASO）に細胞を接触させる工程を含み、それにより、保持されたイントロンは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA のタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA の発現をコードする RIC mRNA 前駆体から構成的にスプライシングされ、それによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA のタンパク質をコードする mRNA のレベルを増加させ、および、細胞中の ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA のタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX

10

20

30

40

50

6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの発現を増加させ、ここで、標的タンパク質は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAである。

#### 【0006】

前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態では、標的タンパク質は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAである。いくつかの実施形態において、標的タンパク質または機能的RNAは、被験体において量あるいは活性が不足している標的タンパク質あるいは機能的RNAを機能的に増大させるか、これに取って代わる、補償タンパク質あるいは補償機能的RNAである。いくつかの実施形態において、細胞は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、あるいはIDUAのタンパク質の不足している量または活性によって引き起こされる疾病を抱える被験体中にある、または上記被験体からのものである。

#### 【0007】

前述の方法のいくつかの実施形態では、標的タンパク質の量の不足は、標的タンパク質のハプロ不全によって引き起こされ、ここで、被験体は、機能的な標的タンパク質をコードする第1の対立遺伝子、標的タンパク質が産生されない第2の対立遺伝子、または非機能的な標的タンパク質をコードする第2の対立遺伝子を有し、アンチセンスオリゴマーは、第1の対立遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の標的部分に結合する。いくつかの実施形態において、被験体は、標的タンパク質の量または機能の不足に起因する障害により引き起こされた疾病を抱えており、ここで、被験体は、(a)(i)標的タンパク質が野生型対立遺伝子からの生成と比較して、減少したレベルで生成され、(ii)標的タンパク質が同等の野生型タンパク質と比較して機能が低下した形態で生成され、あるいは、(iii)標的タンパク質が生成されない、第1の変異対立遺伝子と、(b)(i)標的タンパク質が野生型対立遺伝子からの生成と比較して、減少したレベルで生成され、(ii)標的タンパク質が同等の野生型タンパク質と比較して機能が低下した形態で生成され、あるいは、(iii)標的タンパク質が生成されない、第2の変異対立遺伝子とを有し、ここで、被験体が第1の変異対立遺伝子(a)(iii)を有するとき、第2の変異対立遺伝子は(b)(i)あるいは(b)(ii)であり、ここで、被験体が第2の変異対立遺伝子(b)(iii)を有するとき、第1の変異対立遺伝子は(a)(i)あるいは(a)(ii)であり、ここで、RIC mRNA前駆体は、(a)(i)あるいは(a)(ii)である第1の変異対立遺伝子、および/または、(b)(i)あるいは(b)(ii)である第2の変異対立遺伝子から転写される。いくつかの実施形態において、標的タンパク質は、同等の野生型タンパク質と比較して、機能が低下した形態で生成される。いくつかの実施形態において、標的タンパク質は、同等の野生型タンパク質と比較して、十分に機能的な形態で生成される。

#### 【0008】

前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対して+6～保持されたイントロンの3'スプライス部位に対して-16までの領域内の保持されたイントロンにある。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対して+69～保持されたイントロンの3'スプライス部位に対して-7

10

20

30

40

50

9までの領域内の保持されたイントロンにある。

【0009】

前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、標的タンパク質は、(a) ABCA4、(b) RPE65、(c) MYOC、(d) CNGA3、(e) MFSD8、(f) IDUA、(g) LRAT、(h) OPTN、(i) RGR、(j) TEAD1、(k) PAX6、(l) ROM1、(m) RDH5、(n) RDH12、(o) NR2E3、(p) RLBP1、(q) CTNS、(r) PER1、(s) FSCN2、(t) TCF4、(u) RDH8、(v) NXNL1、あるいは(w) CRXである。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、(a) SEQ ID NO84-1126のいずれか1つ、(b) SEQ ID NO1127-1528のいずれか1つ、(c) SEQ ID NO1529-2318のいずれか1つ、(d) SEQ ID NO2319-2770のいずれか1つ、(e) SEQ ID NO2771-3631のいずれか1つ、(f) SEQ ID NO3632-4443のいずれか1つ、(g) SEQ ID NO4444-6647のいずれか1つ、(h) SEQ ID NO6648-7579のいずれか1つ、(i) SEQ ID NO7580-8958のいずれか1つ、(j) SEQ ID NO8959-9163のいずれか1つ、(k) SEQ ID NO9164-15179のいずれか1つ、(l) SEQ ID NO15180-15486のいずれか1つ、(m) SEQ ID NO15487-16202のいずれか1つ、(n) SEQ ID NO16203-16458のいずれか1つ、(o) SEQ ID NO16459-18209のいずれか1つ、(p) SEQ ID NO18210-18638のいずれか1つ、(q) any one of SEQ ID NOs 18639-19534のいずれか1つ、(r) SEQ ID NO19535-19845のいずれか1つ、(s) SEQ ID NO19846-20849のいずれか1つ、(t) SEQ ID NO20850-24737のいずれか1つ、(u) SEQ ID NO24738-24873のいずれか1つ、(v) SEQ ID NO24874-25231、または(w) SEQ ID NO25232-26654のいずれか1つに対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、または100%相補的な配列を含む。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、(a) SEQ ID NO26674、SEQ ID NO26706、SEQ ID NO26656、SEQ ID NO26681あるいは、SEQ ID NO26664、(b) SEQ ID NO26691あるいはSEQ ID NO26671、(c) SEQ ID NO26669あるいはSEQ ID NO26696、(d) SEQ ID NO26711、(e) SEQ ID NO26703あるいはSEQ ID NO26708、(f) SEQ ID NO26668、SEQ ID NO26679、SEQ ID NO26700、SEQ ID NO26655、あるいは、SEQ ID NO26663、(g) SEQ ID NO26685、(h) SEQ ID NO26714、(i) SEQ ID NO26657、SEQ ID NO26687、あるいはSEQ ID NO26683、(j) SEQ ID NO26672、(k) SEQ ID NO26697、SEQ ID NO26677、SEQ ID NO26707、SEQ ID NO26678、SEQ ID NO26713、SEQ ID NO26694、あるいは、SEQ ID NO26659、(l) SEQ ID NO26665、(m) SEQ ID NO26704、SEQ ID NO26666、SEQ ID NO26709、あるいはSEQ ID NO26684、(n) SEQ ID NO26693、(o) SEQ ID NO26702、SEQ ID NO26660、SEQ ID NO26705、SEQ ID NO26698、SEQ ID NO26658、SEQ ID NO26676、SEQ ID NO26712、SEQ ID NO26701、(p) SEQ ID NO26673、あるいは、SEQ ID NO26667、(q) SEQ ID NO26690、あるいは、SEQ ID NO26692、(r) SEQ ID NO26682、あるいは、SEQ ID NO26710、(s) SEQ ID NO26670、SEQ ID NO26662、あるいはSEQ ID NO26661、(t) SEQ ID NO26688、SEQ ID N

10

20

30

40

50

O26689、(u) SEQ ID NO26680、(v) SEQ ID NO26699、または(w) SEQ ID NO26695、あるいは、SEQ ID NO26686の少なくとも8つの隣接する核酸を含む領域に対する少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態において、ASOは、(a) SEQ ID NO84-1126のいずれか1つ、(b) SEQ ID NO1127-1528のいずれか1つ、(c) SEQ ID NO1529-2318のいずれか1つ、(d) SEQ ID NO2319-2770のいずれか1つ、(e) SEQ ID NO2771-3631のいずれか1つ、(f) SEQ ID NO3632-4443のいずれか1つ、(g) SEQ ID NO4444-6647のいずれか1つ、(h) SEQ ID NO6648-7579のいずれか1つ、(i) SEQ ID NO7580-8958のいずれか1つ、(j) SEQ ID NO8959-9163のいずれか1つ、(k) SEQ ID NO9164-15179のいずれか1つ、(l) SEQ ID NO15180-15486のいずれか1つ、(m) SEQ ID NO15487-16202のいずれか1つ、(n) SEQ ID NO16203-16458のいずれか1つ、(o) SEQ ID NO16459-18209のいずれか1つ、(p) SEQ ID NO18210-18638のいずれか1つ、(q) SEQ ID NO18639-19534のいずれか1つ、(r) SEQ ID NO19535-19845のいずれか1つ、(s) SEQ ID NO19846-20849のいずれか1つ、(t) SEQ ID NO20850-24737のいずれか1つ、(u) SEQ ID NO24738-24873のいずれか1つ、(v) SEQ ID NO24874-25231のいずれか1つ、あるいは(w) SEQ ID NO25232-26654のいずれか1つに対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体は、(a) SEQ ID NO24、(b) SEQ ID NO25、(c) SEQ ID NO26、(d) SEQ ID NO27あるいはSEQ ID NO28、(e) SEQ ID NO29、(f) SEQ ID NO30あるいはSEQ ID NO31、(g) SEQ ID NO32あるいはSEQ ID NO33、(h) SEQ ID NO34、SEQ ID NO35、SEQ ID NO36、あるいはSEQ ID NO37、(i) SEQ ID NO38、SEQ ID NO39、あるいはSEQ ID NO40、(j) SEQ ID NO41、(k) SEQ ID NO42、SEQ ID NO43、SEQ ID NO44、SEQ ID NO45、SEQ ID NO46、SEQ ID NO47、SEQ ID NO48、SEQ ID NO49、SEQ ID NO50、SEQ ID NO51、or SEQ ID NO52、(l) SEQ ID NO53、(m) SEQ ID NO54あるいはSEQ ID NO55、(n) SEQ ID NO56、(o) SEQ ID NO57あるいはSEQ ID NO58、(p) SEQ ID NO59、(q) SEQ ID NO60あるいはSEQ ID NO61、(r) SEQ ID NO62、(s) SEQ ID NO63あるいはSEQ ID NO64、(t) SEQ ID NO65、SEQ ID NO66、SEQ ID NO67、SEQ ID NO68、SEQ ID NO69、SEQ ID NO70、SEQ ID NO71、SEQ ID NO72、SEQ ID NO73、SEQ ID NO74、SEQ ID NO75、SEQ ID NO76、SEQ ID NO77、SEQ ID NO78、SEQ ID NO79、あるいはSEQ ID NO80、(u) SEQ ID NO81、(v) SEQ ID NO82、または(w) SEQ ID NO83に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体は、(a) SEQ ID NO1、(b) SEQ ID NO2、(c) SEQ ID NO3、(d) SEQ ID NO4、(e) SEQ ID NO5、(f) SEQ ID NO6、(g) SEQ ID NO7、(h) SEQ ID NO8、(i) SEQ ID NO9、(j) SEQ ID NO10、(k) SEQ ID NO11、(l) SEQ ID NO12

、(m) SEQ ID NO 13、(n) SEQ ID NO 14、(o) SEQ ID NO 15、(p) SEQ ID NO 16、(q) SEQ ID NO 17、(r) SEQ ID NO 18、(s) SEQ ID NO 19、(t) SEQ ID NO 20、(u) SEQ ID NO 21、(v) SEQ ID NO 22、(w) SEQ ID NO 23に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた遺伝子配列によってコードされる。

#### 【0010】

前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、以下の内部の保持されたイントロンにある：(a)保持されたイントロンの5'スプライス部位に対する+6から+100の領域；(b)保持されたイントロンの3'スプライス部位に対する-16から-100の領域。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも1つの保持されたイントロンの5'スプライス部位の約100ヌクレオチド下流から、少なくとも1つの保持されたイントロンの3'スプライス部位の約100ヌクレオチド上流までの領域内にあるRIC mRNA前駆体の一部を標的とする。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、以下の内部にある：(a)保持されたイントロンの5'スプライス部位に隣接するエクソン中の+2e~-4eの領域；あるいは(b)保持されたイントロンの3'スプライス部位に隣接するエクソン中の+2e~-4eの領域。

#### 【0011】

前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、機能的RNAまたは標的タンパク質をコードする遺伝子から転写されたmRNA前駆体の選択的スプライシングを調節することにより、標的タンパク質または機能的RNAの量を増加させない。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子の突然変異に起因する異常なスプライシングを調節することにより、標的タンパク質または機能的RNAの量を増加させない。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体は、全長のmRNA前駆体の部分的なスプライシング、または野生型のmRNA前駆体の部分的なスプライシングによって生成された。いくつかの実施形態において、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAは、全長の成熟mRNA、あるいは野生型の成熟mRNAである。いくつかの実施形態において、生成された標的タンパク質は全長のタンパク質あるいは野生型のタンパク質である。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーと接触させた細胞において生成された標的タンパク質あるいは機能的RNAをコードするmRNAの総量は、対照細胞において生成された標的タンパク質あるいは機能的RNAをコードするmRNAの総量と比較して、約1.1~約10倍、約1.5~約10倍、約2~約10倍、約3~約10倍、約4~約10倍、約1.1~約5倍、約1.1~約6倍、約1.1~約7倍、約1.1~約8倍、約1.1~約9倍、約2~約5倍、約2~約6倍、約2~約7倍、約2~約8倍、約2~約9倍、約3~約6倍、約3~約7倍、約3~約8倍、約3~約9倍、約4~約7倍、約4~約8倍、約4~約9倍、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約3.5倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、あるいは少なくとも約10倍増加する。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーと接触させた細胞によって生成された標的タンパク質の総量は、対照細胞によって生成された標的タンパク質の総量と比較して、約1.1~約10倍、約1.5~約10倍、約2~約10倍、約3~約10倍、約4~約10倍、約1.1~約5倍、約1.1~約6倍、約1.1~約7倍、約1.1~約8倍、約1.1~約9倍、約2~約5倍、約2~約6倍、約2~約7倍、約2~約8倍、約2~約9倍、約3~約6倍、約3~約7倍、約3~約8倍、約3~約9倍、約4~約7倍、約4~約8倍、約4~約9倍、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約3.5倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、あるいは少なくとも約10倍増加する。

#### 【0012】

10

20

30

40

50



前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、ホスホロチオエート結合またはホスホロジアミデート結合を含む骨格修飾を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーはホスホロジアミデートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2'-O-メチル、2'-フルオロ、あるいは2'-O-メトキシエチル部分を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは少なくとも1つの修飾された糖部を含む。いくつかの実施形態において、それぞれの糖部は修飾された糖部である。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、8~50の核酸塩基、8~40の核酸塩基、8~35の核酸塩基、8~30の核酸塩基、8~25の核酸塩基、8~20の核酸塩基、8~15の核酸塩基、9~50の核酸塩基、9~40の核酸塩基、9~35の核酸塩基、9~30の核酸塩基、9~25の核酸塩基、9~20の核酸塩基、9~15の核酸塩基、10~50の核酸塩基、10~40の核酸塩基、10~35の核酸塩基、10~30の核酸塩基、10~25の核酸塩基、10~20の核酸塩基、10~15の核酸塩基、11~50の核酸塩基、11~40の核酸塩基、11~35の核酸塩基、11~30の核酸塩基、11~25の核酸塩基、11~20の核酸塩基、11~15の核酸塩基、12~50の核酸塩基、12~40の核酸塩基、12~35の核酸塩基、12~30の核酸塩基、12~25の核酸塩基、12~20の核酸塩基、あるいは12~15の核酸塩基からなる。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体の標的部分に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは100%相補的である。

#### 【0013】

前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、細胞は、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の集団を含み、ここで、RIC mRNA前駆体の集団は2つ以上の保持されたイントロンを含み、および、ここで、アンチセンスオリゴマーは、RIC mRNA前駆体の集団で最も豊富な保持されたイントロンに結合する。いくつかの実施形態において、最も豊富な保持されたイントロンに対するアンチセンスオリゴマーの結合は、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAを生成するRIC mRNA前駆体の集団からの2つ以上の保持されたイントロンのスプライシングアウトを誘発する。幾つかの実施形態では、細胞は、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の集団を含み、ここでRIC mRNA前駆体の集団は、2つ以上の保持されたイントロンを含み、アンチセンスオリゴマーは、RIC mRNA前駆体の集団において2番目に豊富な保持されたイントロンに結合する。いくつかの実施形態において、2番目に豊富な保持されたイントロンに対するアンチセンスオリゴマーの結合は、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAを生成するRIC mRNA前駆体の集団からの2つ以上の保持されたイントロンのスプライシングアウトを誘発する。いくつかの実施形態では、疾病は疾患または障害である。いくつかの実施形態において、疾患または障害は、網膜色素変性症-7、Sveinsson網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症37、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全-1、両側性視神経低形成、錐体杆体ジストロフィー-2、レーバー先天黒内障-7、網膜色素変性症30、シュタルガルト病-1、網膜色素変性症-19、加齢黄斑変性-2、錐体杆体ジストロフィー-3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症12、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障2、網膜色素変性症20、レーバー先天黒内障14、網膜色素変性症、オール-トランスレチナール(例えばSTGD1)の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障13、網膜色素変性症44、色覚異常-2、時差ぼけ、アルストレム症候群、弱毒化MPS-1(ハーラー-シャイエ症候群およびシャイエ症候群)、またはバルデービードル症候群である。いくつかの実施形態では、標的タンパク質とRIC mRNA前駆体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PA

X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、またはI D U Aの遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、当該方法はタンパク質発現を評価する工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、またはI D U AのR I C m R N A前駆体の標的部分に結合する。いくつかの実施形態では、被験体はヒトである。いくつかの実施形態では、被験体はヒト以外の動物である。いくつかの実施形態において、被験体は胎児、胚、あるいは子供である。いくつかの実施形態では、細胞はエキスピボである。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、被験体の硝子体内注射、網膜下注射、局所投与、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、あるいは静脈内注射によって投与される。いくつかの実施形態において、5'スプライス部位に隣接するエクソンの-3e~-1eと、保持されたイントロンの+1~+6にある9つのヌクレオチドは、対応する野性型配列と同一である。いくつかの実施形態において、保持されたイントロンの-15~-1と3'スプライス部位に隣接するエクソンの+1eにある16のヌクレオチドは、対応する野性型配列と同一である。

10

#### 【0014】

本明細書には、いくつかの実施形態において、本明細書に記載される方法で使用されるアンチセンスオリゴマーが開示されている。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、S E Q I D N O : 8 4 - 2 6 6 5 4のいずれか1つに対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む。

20

#### 【0015】

さらにいくつかの実施形態では、前述のアンチセンスオリゴマーのいずれかと賦形剤を含む医薬組成物が本明細書で開示される。

#### 【0016】

いくつかの実施形態では、硝子体内注射、網膜下注射、局所投与、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、あるいは静脈内注射によって前述の医薬組成物のいずれかを投与することにより、必要としている被験体を処置する方法が本明細書で開示される。

30

#### 【0017】

いくつかの実施形態では、網膜色素変性症-7、S v e i n s s o n網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症37、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全-1、両側性視神経低形成、錐体杆体ジストロフィー-2、レーバー先天黒内障-7、網膜色素変性症30、シュタルガルト病-1、網膜色素変性症-19、加齢黄斑変性-2、錐体杆体ジストロフィー-3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー-3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症12、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障2、網膜色素変性症20、レーバー先天黒内障14、網膜色素変性症、オール-トランスレチナール(例えばS T G D 1)の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障13、網膜色素変性症44、色覚異常-2、時差ぼけ、アルストレム症候群、弱毒化M P S - 1(ハーラー-シャイエ症候群およびシャイエ症候群)、またはバルデービードル症候群を処置するために、細胞によって標的タンパク質あるいは機能的なRNAの発現を増加させる方法で使用されるアンチセンスのオリゴマーを含む組成物が本明細書で開示され、ここで、不足しているタンパク質または機能的RNAは、被験体において量あるいは活性が不足しており、ここで、アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的RNAをコードする、保持されたイントロン含有mRNA前駆体(R I C m R N A前駆体)の構成的スプライシングを増強し、ここで、標的タンパク質は：(a)不足しているタンパク質；あるいは(

40

50

b) 被験体において不足しているタンパク質を機能的に増大させるか、これに取って代わる、補償タンパク質であり、ここで、機能的RNAは：(a) 不足したRNA；または(b) 被験体において不足した機能的RNAを機能的に増強または交換する、補償する機能的RNAであり、ここでRIC mRNA前駆体は、保持されたイントロン、5' スプライス部位に隣接しているエクソン、および3' スプライス部位に隣接しているエクソンを含み、保持されたイントロンは、標的タンパク質または機能的RNAをコードするRIC mRNA前駆体からスプライシングされ、それによって、被験体において標的タンパク質または機能的RNAの産生または活性を増加させる。

#### 【0018】

いくつかの実施形態では、被験体におけるROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質に関連する疾病を処置する方法で使用されるアンチセンスオリゴマーを含む組成物が本明細書で開示され、上記方法は、被験体の細胞によって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の発現を増加させる工程を含み、ここで、細胞は、保持されたイントロン、保持されたイントロンの5' スプライス部位に隣接するエクソン、保持されたイントロンの3' スプライス部位に隣接するエクソンを含む、保持されたイントロン含有mRNA前駆体を有し、ここで、RIC mRNA前駆体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードし、上記方法は、アンチセンスオリゴマーに細胞を接触させる工程を含み、それにより、保持されたイントロンは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするRIC mRNA前駆体から構造的にスプライシングされ、それにより、標的タンパク質または機能的なRNAをコードするmRNAのレベルを増加させ、および、被験体の細胞において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の発現を増加させる。いくつかの実施形態では、標的タンパク質は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAである。いくつかの実施形態では、疾病は疾患または障害である。いくつかの実施形態において、疾患または障害は、網膜色素変性症 - 7、Sveinsson網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症37、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全 - 1、両側性視神経低形成、錐体杆体ジストロフィー - 2、レーバー先天黒内障 - 7、網膜色素変性症30、シュタルガルト病 - 1、網膜色素変性症 - 19、加齢黄斑変性 - 2、錐体杆体ジストロフィー - 3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症12、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障2、網膜色素変性症20、レーバー先天黒内障14、網膜色素変性症、オール - トランスレチナール（例えばSTGD1）の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先

10

20

30

40

50

天黒内障 13、網膜色素変性症 44、色覚異常 - 2、時差ぼけ、アルストレム症候群、弱毒化 MPS - 1（ハーラー - シャイエ症候群およびシャイエ症候群）、またはバルデービードル症候群である。いくつかの実施形態では、標的タンパク質と RIC mRNA 前駆体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA の遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、保持されたイントロンの 5' スプライス部位に対して + 6 から、保持されたイントロンの 3' スプライス部位に対して - 16 までの領域内の保持されたイントロンにある RIC mRNA 前駆体の一部を標的とする。いくつかの実施形態において、RIC mRNA 前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの 5' スプライス部位に対して + 69 ~ 保持されたイントロンの 3' スプライス部位に対して - 79 までの領域内の保持されたイントロンにある。いくつかの実施形態において、標的タンパク質は、

(a) ABCA4、(b) RPE65、(c) MYOC、(d) CNGA3、(e) MFSD8、(f) IDUA、(g) LRAT、(h) OPTN、(i) RGR、(j) TEAD1、(k) PAX6、(l) ROM1、(m) RDH5、(n) RDH12、(o) NR2E3、(p) RLBP1、(q) CTNS、(r) PER1、(s) FSCN2、(t) TCF4、(u) RDH8、(v) NXNL1、あるいは (w) CRX である。いくつかの実施形態において、RIC mRNA 前駆体の標的部分は、(a) SEQ ID NO 84 - 1126 のいずれか 1 つ、(b) SEQ ID NO 1127 - 1528 のいずれか 1 つ、(c) SEQ ID NO 1529 - 2318 のいずれか 1 つ、(d) SEQ ID NO 2319 - 2770 のいずれか 1 つ、(e) SEQ ID NO 2771 - 3631 のいずれか 1 つ、(f) SEQ ID NO 3632 - 4443 のいずれか 1 つ、(g) SEQ ID NO 4444 - 6647 のいずれか 1 つ、(h) SEQ ID NO 6648 - 7579 のいずれか 1 つ、(i) SEQ ID NO 7580 - 8958 のいずれか 1 つ、(j) SEQ ID NO 8959 - 9163 のいずれか 1 つ、(k) SEQ ID NO 9164 - 15179 のいずれか 1 つ、(l) SEQ ID NO 15180 - 15486 のいずれか 1 つ、(m) SEQ ID NO 15487 - 16202 のいずれか 1 つ、(n) SEQ ID NO 16203 - 16458 のいずれか 1 つ、(o) SEQ ID NO 16459 - 18209 のいずれか 1 つ、(p) SEQ ID NO 18210 - 18638 のいずれか 1 つ、(q) SEQ ID NO 18639 - 19534 のいずれか 1 つ、(r) SEQ ID NO 19535 - 19845 のいずれか 1 つ、(s) SEQ ID NO 19846 - 20849 のいずれか 1 つ、(t) SEQ ID NO 20850 - 24737 のいずれか 1 つ、(u) SEQ ID NO 24738 - 24873 のいずれか 1 つ、(v) SEQ ID NO 24874 - 25231 のいずれか 1 つ、あるいは (w) SEQ ID NO 25232 - 26654 のいずれか 1 つに対して、少なくとも約 80%、85%、90%、95%、97%、あるいは 100% の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態において、RIC mRNA 前駆体の標的部分は、(a) SEQ ID NO 26674、SEQ ID NO 26706、SEQ ID NO 26656、SEQ ID NO 26681、あるいは、SEQ ID NO 26664、(b) SEQ ID NO 26691 あるいは SEQ ID NO 26671、(c) SEQ ID NO 26669 あるいは SEQ ID NO 26696、(d) SEQ ID NO 26711、(e) SEQ ID NO 26703 あるいは SEQ ID NO 26708、(f) SEQ ID NO 26668、SEQ ID NO 26679、SEQ ID NO 26700、SEQ ID NO 26655、あるいは、SEQ ID NO 26663、(g) SEQ ID NO 26685、(h) SEQ ID NO 26714、(i) SEQ ID NO 26657、SEQ ID NO 26687、あるいは SEQ ID NO 26683、(j) SEQ ID NO 26672、(k) SEQ ID NO 26697、SEQ ID NO 26677、SEQ ID NO 26707、SEQ ID NO 26678、SEQ ID NO 26713、SEQ ID NO 26694、あるいは、SEQ ID NO 2

10

20

30

40

50

6659、(l) SEQ ID NO26665、(m) SEQ ID NO26704、  
SEQ ID NO26666、SEQ ID NO26709、あるいはSEQ ID N  
O26684、(n) SEQ ID NO26693、(o) SEQ ID NO2670  
2、SEQ ID NO26660、SEQ ID NO26705、SEQ ID NO2  
6698、SEQ ID NO26658、SEQ ID NO26676、SEQ ID  
NO26712、SEQ ID NO26701、(p) SEQ ID NO26673、  
あるいは、SEQ ID NO26667、(q) SEQ ID NO26690、ある  
いは、SEQ ID NO26692、(r) SEQ ID NO26682、あるいは、S  
EQ ID NO26710、(s) SEQ ID NO26670、SEQ ID NO2  
6662、あるいはSEQ ID NO26661、(t) SEQ ID NO26688  
、SEQ ID NO26689、(u) SEQ ID NO26680、(v) SEQ  
ID NO26699、または(w) SEQ ID NO26695、あるいは、SEQ  
ID NO26686の少なくとも8つの隣接する核酸を含む領域に対する少なくとも8  
0%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を  
含む。いくつかの実施形態では、ASOは、(a) SEQ ID NO84-1126のい  
ずれか1つ、(b) SEQ ID NO1127-1528のいずれか1つ、(c) SEQ  
ID NO1529-2318のいずれか1つ、(d) SEQ ID NO2319-27  
70のいずれか1つ、(e) SEQ ID NO2771-3631のいずれか1つ、(f  
) SEQ ID NO3632-4443のいずれか1つ、(g) SEQ ID NO44  
44-6647のいずれか1つ、(h) SEQ ID NO6648-7579のいずれか  
1つ、(i) SEQ ID NO7580-8958のいずれか1つ、(j) SEQ ID  
NO8959-9163のいずれか1つ、(k) SEQ ID NO9164-15179  
のいずれか1つ、(l) SEQ ID NO15180-15486のいずれか1つ、(m  
) SEQ ID NO15487-16202のいずれか1つ、(n) SEQ ID NO  
16203-16458のいずれか1つ、(o) SEQ ID NO16459-1820  
9のいずれか1つ、(p) SEQ ID NO18210-18638のいずれか1つ、(  
q) SEQ ID NO18639-19534のいずれか1つ、(r) SEQ ID N  
O19535-19845のいずれか1つ、(s) SEQ ID NO19846-208  
49のいずれか1つ、(t) SEQ ID NO20850-24737のいずれか1つ、  
(u) SEQ ID NO24738-24873のいずれか1つ、(v) SEQ ID  
NO24874-25231のいずれか1つ、あるいは(w) SEQ ID NO2523  
2-26654のいずれか1つに対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%  
、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態では  
、RIC mRNA前駆体は、(a) SEQ ID NO24、(b) SEQ ID NO  
25、(c) SEQ ID NO26、(d) SEQ ID NO27あるいはSEQ ID  
NO28、(e) SEQ ID NO29、(f) SEQ ID NO30あるいはSEQ  
ID NO31、(g) SEQ ID NO 32あるいはSEQ ID NO 33、(h  
) SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 35、SEQ ID NO 36、ある  
いはSEQ ID NO 37、(i) SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 3  
9、あるいはSEQ ID NO 40、(j) SEQ ID NO 41、(k) SEQ  
ID NO 42、SEQ ID NO 43、SEQ ID NO 44、SEQ ID  
NO 45、SEQ ID NO 46、SEQ ID NO 47、SEQ ID NO  
48、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 50、SEQ ID NO 51、  
あるいはSEQ ID NO 52、(l) SEQ ID NO 53、(m) SEQ ID  
NO 54あるいはSEQ ID NO 55、(n) SEQ ID NO 56、(o) S  
EQ ID NO 57あるいはSEQ ID NO 58、(p) SEQ ID NO 5  
9、(q) SEQ ID NO 60あるいはSEQ ID NO 61、(r) SEQ I  
D NO62、(s) SEQ ID NO63あるいはSEQ ID NO64、(t) S  
EQ ID NO65、SEQ ID NO66、SEQ ID NO67、SEQ ID  
NO68、SEQ ID NO69、SEQ ID NO70、SEQ ID NO71、S

10

20

30

40

50

EQ ID NO72、SEQ ID NO73、SEQ ID NO74、SEQ ID NO75、SEQ ID NO76、SEQ ID NO77、SEQ ID NO78、SEQ ID NO79、あるいはSEQ ID NO80、(u)SEQ ID NO81、(v)SEQ ID NO82、または(w)SEQ ID NO83に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体は、(a)SEQ ID NO1、(b)SEQ ID NO2、(c)SEQ ID NO3、(d)SEQ ID NO4、(e)SEQ ID NO5、(f)SEQ ID NO6、(g)SEQ ID NO7、(h)SEQ ID NO8、(i)SEQ ID NO9、(j)SEQ ID NO10、(k)SEQ ID NO11、(l)SEQ ID NO12、(m)SEQ ID NO13、(n)SEQ ID NO14、(o)SEQ ID NO15、(p)SEQ ID NO16、(q)SEQ ID NO17、(r)SEQ ID NO18、(s)SEQ ID NO19、(t)SEQ ID NO20、(u)SEQ ID NO21、(v)SEQ ID NO22、(w)SEQ ID NO23に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の配列同一性を備えた遺伝子配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーはRIC mRNA前駆体の一部を標的とし、これは、以下の内部の保持されたイントロンにある：(a)保持されたイントロンの5'スプライス部位に対する+6から+100の領域；(b)保持されたイントロンの3'スプライス部位に対する-16から-100の領域。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、少なくとも1つの保持されたイントロンの5'スプライス部位の約100ヌクレオチド下流から、少なくとも1つの保持されたイントロンの3'スプライス部位の約100ヌクレオチド上流までの領域内にあるRIC mRNA前駆体の一部を標的とする。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、以下の内部にある：(a)保持されたイントロンの5'スプライス部位に隣接するエクソン中の+2e~-4eの領域；あるいは(b)保持されたイントロンの3'スプライス部位に隣接するエクソン中の+2e~-4eの領域。

#### 【0019】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子から転写されたmRNA前駆体の選択的スプライシングを調節することにより標的タンパク質または機能的RNAの量を増加させない。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子の突然変異に起因する異常なスプライシングを調節することにより、機能的RNAまたは機能的タンパク質の量を増加させない。いくつかの実施形態において、RIC mRNA前駆体は、全長のmRNA前駆体、または野生型のmRNA前駆体の部分的なスプライシングによって生成された。いくつかの実施形態において、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAは、全長の成熟mRNA、あるいは野生型の成熟mRNAである。いくつかの実施形態において、生成された標的タンパク質は全長のタンパク質あるいは野生型のタンパク質である。いくつかの実施形態において、保持されたイントロンは律速イントロンである。いくつかの実施形態では、保持されたイントロンは、RIC mRNA前駆体において最も豊富な保持されたイントロンである。いくつかの実施形態では、保持されたイントロンは、RIC mRNA前駆体において2番目に豊富な保持されたイントロンである。

#### 【0020】

前述の組成物のいずれかのいくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、ホスホロチオエート結合またはホスホロジアミデート結合を含む骨格修飾を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーはアンチセンスオリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーはホスホロジアミデートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2'-O-メチル、2'-フルオロ、あるいは2'-O-メトキシエチル部分を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは少な

10

20

30

40

50

くとも1つの修飾された糖部を含む。いくつかの実施形態において、それぞれの糖部は修飾された糖部である。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、8～50の核酸塩基、8～40の核酸塩基、8～35の核酸塩基、8～30の核酸塩基、8～25の核酸塩基、8～20の核酸塩基、8～15の核酸塩基、9～50の核酸塩基、9～40の核酸塩基、9～35の核酸塩基、9～30の核酸塩基、9～25の核酸塩基、9～20の核酸塩基、9～15の核酸塩基、10～50の核酸塩基、10～40の核酸塩基、10～35の核酸塩基、10～30の核酸塩基、10～25の核酸塩基、10～20の核酸塩基、10～15の核酸塩基、11～50の核酸塩基、11～40の核酸塩基、11～35の核酸塩基、11～30の核酸塩基、11～25の核酸塩基、11～20の核酸塩基、11～15の核酸塩基、12～50の核酸塩基、12～40の核酸塩基、12～35の核酸塩基、12～30の核酸塩基、12～25の核酸塩基、12～20の核酸塩基、あるいは12～15の核酸塩基からなる。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体の標的部分に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは100%相補的である。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に結合する。

10

#### 【0021】

20

いくつかの実施形態では、前述の組成物のいずれかのアンチセンスオリゴマーと賦形剤を含む医薬組成物が本明細書で開示される。

#### 【0022】

いくつかの実施形態では、硝子体内注射、網膜下注射、局所投与、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、あるいは静脈内注射によって前述の医薬組成物のいずれかを投与することにより、必要としている被験体を処置する方法が本明細書で開示される。

#### 【0023】

いくつかの実施形態では、医薬組成物が開示され、該医薬組成物は、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物の標的配列にハイブリダイズするアンチセンスオリゴマーであって、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物が保持されたイントロンを含み、アンチセンスオリゴマーが、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物から保持されたイントロンのスプライシングを誘発する、アンチセンスオリゴマーと、薬学的に許容可能な賦形剤とを含む。いくつかの実施形態では、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体転写産物。いくつかの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体転写産物の標的部分は、保持

30

40

50

されたイントロンの5' スプライス部位に対して+500～保持されたイントロンの3' ス  
 プライス部位に対して-500までの領域内にある保持されたイントロンにある。いくつ  
 かの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1  
 、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体転写産物は、SEQ ID NO: 1-23のいずれか1つに対して少なくとも約80%、85%、90  
 %、95%、97%、98%、99%、あるいは100%の配列同一性を備えた遺伝子配  
 列によってコードされる。いくつかの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH  
 5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、M  
 FSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RD  
 H8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体転写産物は、SEQ ID NO: 24-83のいずれか1つに対して  
 少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、あるいは10  
 0%の配列同一性を備えた配列を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリ  
 ゴマーは、ホスホロチオエート結合またはホスホロジアミデート結合を含む骨格修飾を含  
 む。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーはアンチセンスオリゴヌクレオチ  
 ドである。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴマーはホスホロジアミデ  
 ートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2'-O-メチル、2'-フルオロ、あるい  
 は2'-O-メトキシエチル部分を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリ  
 ゴマーは少なくとも1つの修飾された糖部を含む。いくつかの実施形態において、アンチ  
 センスオリゴマーは、8～50の核酸塩基、8～40の核酸塩基、8～35の核酸塩基、  
 8～30の核酸塩基、8～25の核酸塩基、8～20の核酸塩基、8～15の核酸塩基、  
 9～50の核酸塩基、9～40の核酸塩基、9～35の核酸塩基、9～30の核酸塩基、  
 9～25の核酸塩基、9～20の核酸塩基、9～15の核酸塩基、10～50の核酸塩基  
 、10～40の核酸塩基、10～35の核酸塩基、10～30の核酸塩基、10～25の  
 核酸塩基、10～20の核酸塩基、10～15の核酸塩基、11～50の核酸塩基、11  
 ～40の核酸塩基、11～35の核酸塩基、11～30の核酸塩基、11～25の核酸塩  
 基、11～20の核酸塩基、11～15の核酸塩基、12～50の核酸塩基、12～40  
 の核酸塩基、12～35の核酸塩基、12～30の核酸塩基、12～25の核酸塩基、1  
 2～20の核酸塩基、あるいは12～15の核酸塩基を含む。いくつかの実施形態におい  
 て、アンチセンスオリゴマーは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX  
 6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、N  
 XNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RG  
 R、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体転写  
 産物の標的部分に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも  
 95%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは100%相補的である。いくつ  
 かの実施形態では、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、  
 FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、O  
 PTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA  
 3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体転写産物の標的部分  
 は、SEQ ID NO: 26655-26714から選択される配列内にある。いくつ  
 かの実施形態において、アンチセンスオリゴマーは、SEQ ID NO: 84-2665  
 4のいずれか1つに対して少なくとも約80%、85%、90%、91%、92%、93  
 %、94%、95%、96%、97%、98%、あるいは99%の配列同一性を備えるヌ  
 クレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、SEQ  
 ID NO: 84-26654から選択されたヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施  
 形態において、医薬組成物は、髄腔内注射、脳室内注射、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下  
 注射、あるいは静脈内注射のために製剤される。

【0024】

10

20

30

40

50



いくつかの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的な形態をコードする十分に処理されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物を生成するために、保持されたイントロンの除去を促すべく、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物の処理を誘発する方法が本明細書で開示され、該方法は：(a)被験体の標的細胞へアンチセンスオリゴマーを接触させる工程と、(b)不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物にアンチセンスオリゴマーをハイブリダイズする工程であって、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的な形態をコードすることができ、かつ、少なくとも1つの保持されたイントロンを含む、工程と、(c)ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的な形態をコードする十分に処理されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物を生成するために、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA転写産物から少なくとも1つの保持されたイントロンを取り除く工程と、(d)十分に処理されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的な形態を翻訳する工程を含む。いくつかの実施形態において、保持されたイントロンは保持されたイントロン全体である。いくつかの実施形態において、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LR

10

20

30

40

50

A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、または I D U A の m R N A 転写産物は、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、または I D U A の m R N A 転写産物である。

#### 【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態において、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、または I D U A のタンパク質の不足している量または活性によって引き起こされる疾病を抱える被験体を処置する方法が本明細書で開示され、該方法は、S E Q I D N O : 8 4 - 2 6 6 5 4 のいずれか 1 つに対して少なくとも約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、あるいは 9 9 % の配列同一性を備えるヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴマーを被験体に投与する工程を含む。

10

#### 【 0 0 2 6 】

引用による組み込み

本明細書で言及されるすべての公報、特許、および特許出願は、個々の公報、特許、特許出願が引用によって組み込まれるように具体的且つ個別に示される程度まで、引用によって本明細書に組み込まれる。

20

#### 【 図面の簡単な説明 】

#### 【 0 0 2 7 】

本発明の新規な特徴は、とりわけ添付の特許請求の範囲において記載される。本発明の諸原則が利用される例示的な実施形態について説明する以下の詳細な記載と、添付の図面を参照することで、本発明の特徴および利点についてのよりよい理解が得られるであろう。

#### 【 0 0 2 8 】

【 図 1 】例示的な保持されたイントロン含有 ( R I C ) m R N A 前駆体の転写産物の概略図を表す。5' スプライス部位コンセンサス配列は、- 3 e ~ - 1 e および + 1 ~ + 6 (「e」のついた数字はエクソンであり、付いていない数字はイントロンである) の、下線部の文字 ( 文字はヌクレオチド、大文字はエクソン部分、小文字はイントロン部分 ) で示される。3' スプライス部位コンセンサス配列は、- 1 5 ~ - 1 および + 1 e (「e」のついた数字はエクソンであり、付いていない数字はイントロンである) の、下線部の文字 ( 文字はヌクレオチド、大文字はエクソン部分、小文字はイントロン部分 ) で示される。A S O スクリーニングのイントロンの標的部位は、保持されたイントロンの 5' スプライス部位 ( 左の矢印 ) に対する + 6 から、保持されたイントロンの 3' スプライス部位 ( 右の矢印 ) に対する - 1 6 までのヌクレオチドを含む。実施形態では、A S O スクリーニングのイントロンの標的部位は、保持されたイントロンの 5' スプライス部位に対する + 6 ~ + 1 0 0、および保持されたイントロンの 3' スプライス部位に対する - 1 6 ~ - 1 0 0 のヌクレオチドを含む。エクソンの標的部位は、保持されたイントロンの 5' スプライス部位に隣接するエクソンの + 2 e ~ - 4 e、および保持されたイントロンの 3' スプライス部位に隣接するエクソンの + 2 e ~ - 4 e のヌクレオチドを含む。「n」または「N」はヌクレオチドを表し、「y」はピリミジンを表す。図示された配列は、哺乳動物のスプライス部位のコンセンサス配列を表し、個々のイントロンおよびエクソンはすべての位置でコンセンサス配列にマッチングする必要はない。

30

40

【 図 2 A 】核内遺伝子出力の標的とされた増強 ( T a r g e t e d A u g m e n t a t i o n o f N u c l e a r G e n e O u t p u t ) ( T A N G O ) アプローチの例示的な概略図を表す。図 2 A は、核と細胞質区画に分割された細胞を示す。核では、エクソン ( 長方形 ) およびイントロン ( 接続線 ) からなる標的遺伝子の m R N A 前駆体の転写産物は、m R N A を生成するためにスプライシングを受け、この m R N A は細胞質に輸送され、標的タンパク質へと翻訳される。この標的遺伝子については、イントロン 1 のスプ

50

ライシングは非効率的であり、保持されたイントロン含有 (RIC) mRNA 前駆体は、主として核に蓄積し、細胞質に輸送された場合は標的タンパク質産生に至ることなく分解する。

【図 2 B】核内遺伝子出力の標的とされた増強 (Targeted Augmentation of Nuclear Gene Output) (TANGO) アプローチの例示的な概略図を示す。図 2 B は、核と細胞質の区画に分割された図 2 A と同様の細胞の一例を示す。アンチセンスオリゴマー (ASO) の処置は、イントロン 1 のスプライシングを促進し、mRNA の増加をもたらす。それは順に、より高いレベルの標的タンパク質に翻訳される。

【図 3】NM\_\_012418 および NM\_\_001077182 に対応する FSCN2 に関する RefSeq 遺伝子の概略図を表す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

10

【図 4】偽処理した細胞に対する、80 nM の指示された ASO を用いて 24 時間処置した ARPE-19 細胞におけるイントロン 1 を含まない FSCN2 mRNA の発現レベルにおける倍率変化を示す例示的なグラフを表す。データは RPL32 発現に正規化される。

【図 5】NM\_\_012418 および NM\_\_001077182 に対応する FSCN2 に関する RefSeq 遺伝子の概略図を表す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 6】偽処理した細胞に対する、80 nM の指示された ASO を用いて 24 時間処置した ARPE-19 細胞におけるイントロン 3 を含まない FSCN2 mRNA の発現レベルにおける倍率変化を示す例示的なグラフを表す。データは RPL32 発現に正規化される。

20

【図 7】偽処理した細胞に対する、80 nM の指示された ASO を用いて 24 時間処置した ARPE-19 細胞におけるイントロン 3 を含まない FSCN2 mRNA の発現レベルにおける倍率変化を示す例示的なグラフを表す。データは RPL32 発現に正規化される。

【図 8】NM\_\_152778 に対応する MFSD8 の RefSeq 遺伝子の概略図を表す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 9】NM\_\_152778 に対応する MFSD8 の RefSeq 遺伝子の概略図を表す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

30

【図 10】偽処理した細胞に対する、80 nM の指示された ASO を用いて 24 時間処置した ARPE-19 細胞におけるイントロン 12 を含まない MFSD8 mRNA の発現レベルにおける倍率変化を示す例示的なグラフを表す。データは RPL32 発現に正規化される。

【図 11】NM\_\_001008211、NM\_\_00100212、NM\_\_001008213、および NM\_\_021980 に対応する OPTN に関して RefSeq 遺伝子の概略図を描く。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 12】偽処理した細胞に対する、80 nM の指示された ASO を用いて 24 時間処置した ARPE-19 細胞におけるイントロン 7 を含まない OPTN mRNA の発現レベルにおける倍率変化を示す例示的なグラフを表す。データは RPL32 発現に正規化される。

40

【図 13】NM\_\_002905 および NM\_\_001199771 に対応する RDH5 に関する RefSeq 遺伝子の概略図を表す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 14】偽処理した細胞に対する、80 nM の指示された ASO を用いて 24 時間処置した ARPE-19 細胞におけるイントロン 1 を含まない RDH5 mRNA の発現レベルにおける倍率変化を示す例示的なグラフを表す。データは RPL32 発現に正規化される。

【図 15】NM\_\_002905 および NM\_\_001199771 に対応する RDH5 に関

50

する R e f S e q 遺伝子の概略図を表す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 1 6】図 1 6 は、NM\_\_000326 に対応する R L B P 1 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 1 7】図 1 7 は、偽処理した細胞と比較した、80 nM の示された A S O で 2 4 時間処置された A R P E - 1 9 細胞におけるイントロン 2 なしでの R L B P 1 m R N A の発現レベルの倍率変化を示す典型的なグラフを示す。データは R P L 3 2 発現に正規化される。

【図 1 8】図 1 8 は、NM\_\_001243236、NM\_\_00123235、NM\_\_001243234、NM\_\_001243233、NM\_\_001243232、NM\_\_001243231、NM\_\_003199、NM\_\_001306207、NM\_\_001306208、NM\_\_001243227、NM\_\_001243228、NM\_\_001243230、NM\_\_001243226、NM\_\_001083962、NM\_\_001330605、および NM\_\_001330604 に対応する T C F 4 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

10

【図 1 9】図 1 9 は、NM\_\_000327 に対応する R O M 1 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 0】図 2 0 は、NM\_\_001298 および NM\_\_001079878 に対応する C N G A 3 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 1】図 2 1 は、NM\_\_002921、NM\_\_001012722、および NM\_\_001012720 に対応する R G R に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

20

【図 2 2】図 2 2 は、NM\_\_002921、NM\_\_001012722、および NM\_\_001012720 に対応する R G R に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 3】図 2 3 は、NM\_\_000329 に対応する R P E 6 5 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 4】図 2 4 は、NM\_\_000329 に対応する R P E 6 5 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 5】図 2 5 は、NM\_\_015725 に対応する R D H 8 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

30

【図 2 6】図 2 6 は、NM\_\_138454 に対応する N X N L 1 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 7】図 2 7 は、NM\_\_000350 に対応する A B C A 4 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 8】図 2 8 は、NM\_\_000350 に対応する A B C A 4 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 2 9】図 2 9 は、偽処理した細胞と比較した、80 nM の示された A S O で 2 4 時間処置された A R P E - 1 9 細胞におけるイントロン 3 8 なしでの A B C A 4 m R N A の発現レベルの倍率変化を示す典型的なグラフを示す。データは R P L 3 2 発現に正規化される。

40

【図 3 0】図 3 0 は、NM\_\_000350 に対応する A B C A 4 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 3 1】図 3 1 は、NM\_\_000350 に対応する A B C A 4 に対する R e f S e q 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 ( P I R ) が示される。

【図 3 2】図 3 2 は、偽処理した細胞と比較した、80 nM の示された A S O で 2 4 時間処置された A R P E - 1 9 細胞におけるイントロン 4 0 なしでの A B C A 4 m R N A の発現レベルの倍率変化を示す典型的なグラフを示す。データは R P L 3 2 発現に正規化される。

【図 3 3】図 3 3 は、NM\_\_000350 に対応する A B C A 4 に対する R e f S e q 遺

50

伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 3 4】図 3 4 は、NM\_152443 に対応する RDH12 に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 3 5】図 3 5 は、NM\_000203 および NR\_110313 に対応する IDUA に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 3 6】図 3 6 は、偽処理した細胞と比較した、80 nM の示された ASO で 24 時間処置された ARPE-19 細胞におけるイントロン 3 なしでの IDUA mRNA の発現レベルの倍率変化を示す典型的なグラフを示す。データは RPL32 発現に正規化される。

【図 3 7】図 3 7 は、NM\_000203 および NR\_110313 に対応する IDUA に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

10

【図 3 8】図 3 8 は、NM\_000203 および NR\_110313 に対応する IDUA に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 3 9】図 3 9 は、NM\_000203 および NR\_110313 に対応する IDUA に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 4 0】図 4 0 は、NM\_000203 および NR\_110313 に対応する IDUA に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

20

【図 4 1】図 4 1 は、NM\_004937 および NM\_001031681 に対応する CTNS に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 4 2】図 4 2 は、NM\_004937 および NM\_001031681 に対応する CTNS に対する RefSeq 遺伝子の概略を示す。円で囲んだイントロンのイントロン保持率 (PIR) が示される。

【図 4 3】図 4 3 は、偽処理した細胞と比較した、80 nM の示された ASO で 24 時間処置された ARPE-19 細胞におけるイントロン 10 なしでの CTNS mRNA の発現レベルの倍率変化を示す典型的なグラフを示す。データは RPL32 発現に正規化される。

30

【発明を実施するための形態】

【0029】

1 つを超えるイントロンを有するタンパク質コード遺伝子の一次転写産物における個々のイントロンは、異なる効率性を有する一次転写産物からスプライシングされる。ほとんどの場合、完全にスプライシングされた mRNA だけが、続く細胞質での翻訳のために核膜孔を通して輸送される。スプライシングされていない及び部分的にスプライシングされた転写産物は、核内で検出可能である。完全にスプライシングされていない転写産物の核内蓄積が、タンパク質に翻訳され得る細胞質中の有害である可能性のある mRNA の蓄積を防ぐメカニズムであると一般的に考えられる。幾つかの遺伝子に関して、最も効率性の低いイントロンのスプライシングは、細胞質中での翻訳に先立つ、遺伝子発現における転写後の律速の工程である。

40

【0030】

以下をコードする相当なレベルの部分的にスプライシングされた転写産物が、ヒト細胞の核内で発見された：網膜色素変性 - 7 を欠いた、ROM1 タンパク質；Sveinsson 網脈絡膜萎縮を欠いた、TEAD1 タンパク質；白点状眼底を欠いた、RDH5 タンパク質；網膜色素変性 37 を欠いた、NR2E3 タンパク質；無虹彩、視神経のコロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全 - 1、および両側性視神経形成不全を欠いた、PAX6 タンパク質；錐体杆体ジストロフィー - 2、レーバー先天黒内障 - 7 を欠いた、CRX タンパク質；網膜色素変性 30 を欠いた、FSCN2 タンパク質；シュタルガルト病 - 1、網膜色素変性 - 19、加齢黄斑変性 - 2、錐体杆体ジストロフィー - 3 を欠いた、ABC

50

A 4 タンパク質；原発開放隅角緑内障を欠いた、MYOC タンパク質；フックス角膜内皮ジストロフィー - 3 を欠いた、TCF 4 タンパク質；中央錐体が関係する黄斑ジストロフィーを欠いた、MFSD 8 タンパク質；眼性非腎症性シスチン症を欠いた、タンパク質 CTNS；レーバー先天黒内障およびバルデー・ビードル症候群を欠いた、NXNL 1 タンパク質；原発開放隅角緑内障および筋萎縮性側索硬化症 1 2 を欠いた、OPTN タンパク質；ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底および白点状網膜炎を欠いた、RLBP 1 タンパク質；レーバー先天黒内障 2 および網膜色素変性 2 0 を欠いた、RPE 6 5 タンパク質；レーバー先天黒内障 1 4 および網膜色素変性を欠いた、LRAT タンパク質；すべてのトランスレチナルの遅いクリアランスまたは蓄積を有する眼疾患における RDH 8 タンパク質；レーバー先天黒内障 1 3 および網膜色素変性を欠いた、RDH 1 2 タンパク質；網膜色素変性 4 4 を欠いた、RGR タンパク質；色覚異常 2 を欠いた、CNGA 3 タンパク質；時差ぼけにおける PER 1 タンパク質、アルストレーム症候群を欠いた、ALMS 1 タンパク質、および弱毒化した MPS 1（ハーラー - シャイエ症候群およびシャイエ症候群）を欠いた、IDUA タンパク質。これらの ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 および IDU の mRNA 前駆体の種は、少なくとも 1 つの保持されたイントロンを含む。本発明は、完全にスプライシングされた成熟 mRNA の定常状態の産生を増加させる、およびそれ故、翻訳された ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 または IDUA のタンパク質レベルを増加させるために、遺伝子発現の核ステージに対して律速的である 1 つ以上の保持された ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 または IDUA のイントロンのスプライシングをアップレギュレートするための方法および組成物を提供する。これらの組成物および方法は、核内に蓄積する保持されたイントロン含有 ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 または IDUA の mRNA 前駆体（RIC mRNA 前駆体）のイントロンスプライス部位で構成的スプライシングを促進するアンチセンスオリゴマー（ASO）を利用することができる。したがって、実施形態では、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 または IDUA のタンパク質は、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1 または IDUA の不足によって引き起こされる疾病を処置するために本発明の方法を使用して増加され得る。実施形態では、疾病は、標的タンパク質の不足によって引き起こされないが、それにもかかわらず、本発明の方法を使用して、標的タンパク質の産生を増加させることによって処置される。特定の実施形態では、標的タンパク質の不足によって引き起こされないが、それにもかかわらず、本発明の方法を使用して標的タンパク質の産生を増加させることによって処置される疾病において、標的タンパク質は、RDH 8、NXNL 1、または PER 1 である。関連する実施形態では、処置される疾病は、すべてのトランスレチナルの遅いクリアランスまたは蓄積を有する眼疾患であり、標的タンパク質は RDH 8 であるか、あるいは疾病は時差ぼけであり、標的タンパク質は PER 1 である。

10

20

30

40

50

## 【0031】

他の実施形態では、本発明の方法は、必要としている被験体の疾病を処置するべく、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAの産生を増加させるために使用され得る。実施形態では、被験体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAが、野生型と比べて必ずしも不足してはいないが、それにもかかわらず、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAの増加は、疾病を軽減する。実施形態では、疾病は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのハプロ不全によって引き起こされ得る。

10

## 【0032】

&lt;ROM1&gt;

20

ROM1 (網膜外節膜タンパク質 (retinal outer segment membrane protein) 1) は、杆体細胞外節膜タンパク質1をコードする。この遺伝子は、光受容体に特異的な遺伝子ファミリーのメンバーであり、眼の光受容体の円板縁 (disk rim) に見られる内在性膜タンパク質をコードする。このタンパク質は、ホモ二量体を形成することができるか、または別の光受容体とヘテロ二量体化することができる (retinal degeneration slow (RDS))。ROM1は、円板形態形成 (disk morphogenesis) にとって不可欠であり、外節円板 (outer segment disks) の安定化および圧縮またはリムの湾曲の維持に関係する接着分子としても機能し得る。この遺伝子における特定の欠損は、変性眼疾患網膜色素変性に関係している。

30

## 【0033】

&lt;網膜色素変性 - 7 (RP7)&gt;

網膜色素変性7 (RP7) は、色素性網膜症のグループに属する網膜ジストロフィーである。網膜色素変性は、眼底検査で目に見える網膜色素沈着物、および杆体光受容細胞の一次損失と、続く錐体光受容体の二次損失を特徴とする。患者は、典型的に、夜間視力の失明および中間周辺視野の損失を有している。罹患した個体は、疾病を進行させるにつれ、遠周辺視野を失い、最終的に中心視力も失う。この疾患は、ROM1を含む別々の遺伝子座に影響を与える突然変異によって引き起こされ得る。網膜色素変性7の2遺伝子形態は、PRPH2遺伝子の突然変異に起因し、ROM1遺伝子のヌル突然変異が報告された。

## 【0034】

40

&lt;TEAD1&gt;

TEAD1は、転写エンハンサー因子TEF-1をコードする。転写エンハンサー因子TEF-1は、増殖の制限およびアポトーシスの促進による臓器サイズの調整および腫瘍抑制に関係する経路である、Hippoシグナル伝達経路において重要な役割を果たす転写因子である。この経路のコアはキナーゼカスケードで構成され、ここで調節タンパク質SAV1と複合したMST1/MST2は、YAP1腫瘍性タンパク質およびWWTR1/TAZを順にリン酸化および不活性化する、調節タンパク質MOB1と複合したLATS1/2をリン酸化および活性化する。TEAD1は、YAP1およびWWTR1/TAZの遺伝子発現を媒介することにより作用し、それによって、細胞増殖、遊走および上皮間葉転換 (EMT) の誘発を調節する。TEAD1は、特異的且つ協働的にSPHおよびG

50

T - I I C 「 e n h a n s o n s 」 ( 5 ' - G T G G A A T G T - 3 ' ) に結合し、細胞特異的な方法でインビボでの転写を活性化する。活性化機能は、限定する細胞特異的な転写仲介因子 ( T I F ) によって媒介されるように見える。T E A D 1 はまた、心臓発達に関係し、M - C A T モチーフに結合する。

#### 【 0 0 3 5 】

< S v e i n s s o n 網脈絡膜萎縮 >

S v e i n s s o n 網脈絡膜萎縮は、T E A ドメインファミリーメンバー - 1 遺伝子 T E A D 1 の突然変異によって引き起こされる。らせん状乳頭周囲脈絡網膜変性または優性限局性萎縮 ( a t r o p h i a a r e a t a ) ととも呼ばれる、S v e i n s s o n 網脈絡膜萎縮 ( S C R A ) は、網膜および脈絡膜に関係する視神経円板から放散する左右対称性の病変を特徴とする、常染色体優性眼疾患である。

10

#### 【 0 0 3 6 】

< R D H 5 >

R D H 5 は、1 1 - シスレチノールデヒドロゲナーゼをコードする。この酵素は、短鎖デヒドロゲナーゼ / 還元酵素 ( S D R ) ファミリーに属している。このレチノールデヒドロゲナーゼは、視覚色素の普遍的な発色団である、1 1 - シスレチンアルデヒドの生成における最終工程を触媒するように機能する。この遺伝子の突然変異は、錐体および杆体の光色素の再生の遅延を特徴とする夜盲のまれな形態である、常染色体劣性白点状眼底を引き起こす。選択的スプライシングは、結果として複数の転写変異体をもたらす。この遺伝子と隣接する上流の B L O C 1 S 1 ( リソソーム細胞小器官複合体 - 1、サブユニット 1 の新生 ) 遺伝子との間に、読み越し転写も存在する。

20

#### 【 0 0 3 7 】

< 白点状眼底 >

白点状眼底は、錐体および杆体の光色素の再生の遅延を特徴とする夜盲のまれな形態である。神鳥斑点網膜疾患のこの形態は、中間周辺部 ( m i d p e r i p h e r y ) における最大の密度を有する且つ黄斑とは無関係の眼底全体にわたる離散的な一様の白点を特徴とする。夜盲が生じる。常染色体優性遺伝および常染色体劣性遺伝の両方が示唆されてきた。

#### 【 0 0 3 8 】

< N R 2 E 3 >

N R 2 E 3 は、N R 2 E 3 ( 核受容体サブファミリー 2、グループ E、メンバー 3 ) としても知られる、光受容細胞に特異的な核受容体 ( P N R ) をコードする。N R 2 E 3 は、網膜の光受容細胞の核受容体である。N R 2 E 3 は、杆体発達の活性化因子および錐体発達の抑制因子である転写因子である。N R 2 E 3 は、ロドプシン、M - オプシン、S - オプシンおよび杆体に特異的なホスホジエステラーゼ サブユニットを含む、多くの杆体および錐体に特異的な遺伝子のプロモーター領域に結合する。N R 2 E 3 は、ロドプシン発現を増強し、M - 錐体オプシン発現および S 錐体オプシン発現を抑制する。

30

#### 【 0 0 3 9 】

< 網膜色素変性 3 7 >

網膜色素変性 3 7 は、N R 2 E 3 遺伝子のホモ接合型またはヘテロ接合の突然変異によって引き起こされる。網膜色素変性 3 7 ( R P 3 7 ) は、色素性網膜症のグループに属する網膜ジストロフィーである。網膜色素変性は、網膜における杆体光受容細胞の進行性変性が原因で重度の視覚障害を引き起こす、遺伝性の変性眼疾患である。網膜ジストロフィーのこの形態は、年齢とは無関係の初期症状を明らかにし、それ故、網膜色素変性の診断が、早期乳児期から後期成人期までのどこかで下される。網膜色素変性の初期段階の患者はまず、杆体光受容体の衰弱によって周辺および暗所視が損なわれたことに気づく。進行性の杆体変性に続いて、隣接した網膜色素上皮 ( R P E ) の異常および錐体光受容細胞の悪化が生じる。辺縁視が漸増的に損なわれるにつれ、患者は、進行性の「トンネル状視野」を経験し、最終的に失明する。罹患した個体はさらに、欠陥のある明暗順応、夜盲症 ( 夜盲 )、および眼底における骨棘の蓄積を経験し得る。

40

#### 【 0 0 4 0 】

50



## &lt; P A X 6 &gt;

P A X 6 は、無虹彩タイプ I I タンパク質 ( A N 2 ) または *o c u l o r h o m b i n* としても知られている、ペアードボックスタンパク質 *P a x - 6* をコードする。ペアードボックス遺伝子ファミリーのメンバーである、P A X 6 は、眼発生 ( *o c u l o g e n e s i s* ) および他の進行プロセスに関係する転写制御因子をコードする。P a x 6 は、胚発生の間に存在する転写因子である。コードされたタンパク質は、D N A に結合する及び遺伝子転写の制御因子とし機能すると知られている、2 つの異なる結合部位を含んでいる。P A X 6 は、眼および脳の発達の重要な調節遺伝子である。脳内では、タンパク質は、臭い処理する専門の細胞の進行に関係している。転写因子として、P a x 6 は、組織の適切な発達を確かなものとするために遺伝子発現パターンを活性化及び / 又は非活性化する。

10

## 【 0 0 4 1 】

## &lt; 無虹彩 &gt;

無虹彩は、染色体 1 1 p 1 3 上の P A X 6 遺伝子のヘテロ接合突然変異によって引き起こされる。P A X 6 遺伝子の 2 8 0 を超える突然変異が、虹彩の欠如である無虹彩を引き起こすことが分かった。これらの突然変異のほとんどは、異常に短い、非機能性 P A X 6 タンパク質の産生につながる。結果として、他の遺伝子の活性を調節する P A X 6 タンパク質はより少なくなる。

## 【 0 0 4 2 】

無虹彩を引き起こす突然変異の大多数は、P A X 6 遺伝子内で生じるが、調節領域として知られている P A X 6 遺伝子の発現を通常調節する D N A の近隣領域において、疾患を引き起こす突然変異が生じる場合もある。P A X 6 遺伝子の調節領域における突然変異は、P A X 6 遺伝子の発現を低減する。これらの突然変異は、機能性 P A X 6 タンパク質の不足につながり、これによって、進行の間に眼の形成が妨害される。

20

## 【 0 0 4 3 】

無虹彩は、虹彩の着色部の完全または部分的な欠如を特徴とする眼障害である。これらの虹彩異常によって、瞳孔に異常をきたすか、瞳孔は変形し得る。無虹彩は、視力の低下および光に対する感受症 ( 羞明 ) の増大をもたらす。無虹彩を有する個体はまた、他の眼の問題を有し得る。典型的に、小児期後期または青年期早期に、眼内の圧上昇 ( 緑内障 ) が現われる。無虹彩を有する人の 5 0 パーセントから 8 5 パーセントにおいて、眼の水晶体の混濁 ( 白内障 ) が生じる。罹患した人の約 1 0 パーセントにおいて、視神経は未発達である。無虹彩を有する個体はまた、固視微動 ( 眼振 ) を有するか、または鋭い中心視の原因で眼の後ろの領域が未発達であり得る ( 中心窩形成不全 )。これらの目の問題の多くは、罹患した個体の進行性の視力損失の一因となる。症状の重症度は、典型的に両方の眼で同じである。まれに、無虹彩を有する人は、行動上の問題、発達遅延、および匂いを検出する問題を有している。無虹彩は、常染色体優性のパターンで遺伝性であり得る。事例のおよそ 3 分の 2 において、罹患した人は、1 人の罹患した親から突然変異を遺伝している。事例の残りの 3 分の 1 は、遺伝子の新しい突然変異に起因し、家族に該障害の病歴のない人において生じる。

30

## 【 0 0 4 4 】

## &lt; 視神経のコロボーマ &gt;

視神経のコロボーマは、P A X 6 遺伝子の突然変異によって引き起こされる。視神経のコロボーマは、視神経の下面に欠陥がある視神経円板の先天異常である。罹患した眼の視力は損なわれ、その程度は、欠陥のサイズに左右され、典型的に視力よりも視野に影響する。さらに、患者の 3 分の 1 に現われる漿液性網膜剥離のリスクが増加する。網膜剥離が生じた場合、それは、通常治療可能ではなく、すべて視界が眼の罹患した領域において失われる、これは黄斑に関係するかもしれないし、関係しないかもしれない。

40

## 【 0 0 4 5 】

## &lt; 眼コロボーマ &gt;

眼コロボーマは、染色体 1 1 p 1 3 上の P A X 6 遺伝子のヘテロ接合突然変異によって引き起こされる。コロボーマは、胚発生中の眼の発達異常に起因する眼の先天性欠損である

50

。それは、あらゆる眼組織の先天的欠陥として定義され、典型的に眼裂の異常閉鎖と一致した部位で組織または間隙が存在しないことを示している。融合不全は、眼の下部分の1つ又は複数の領域のコロボーマにつながりかねず、これは、毛様体、網膜、および脈絡膜を含む、虹彩から視神経までの、亀裂が横切った眼球の部分に影響を与える。コロボーマはまた、発達の眼の異常の関連したスペクトルの一部として小さな（小眼球（microphthalmic））眼または欠損した（無眼球（anophthalmic））眼に頻繁に関連付けられ、片眼または両眼の眼に影響を与えかねない。

#### 【0046】

##### <中心窩形成不全 - 1>

前上葉異常及び/又は白内障（FVH1）を伴う又は伴わない中心窩形成不全 - 1は、染色体11p13上のPAX6遺伝子のヘテロ接合突然変異によって引き起こされる。中心窩形成不全は、推定される中心窩領域の連続した（continuity of）すべての神経感覚網膜層を有する中心窩陥凹の欠如として定義される。分離された主体（isolated entity）としての中心窩形成不全は、まれな現象であり、通常、無虹彩、小眼球、白皮症、または色覚異常などの、他の視覚障害に関連して記載される。報告された中心窩形成不全のすべてのケースには、視力の低下および眼振が伴う。

10

#### 【0047】

##### <両側性視神経形成不全>

両側性視神経形成不全は、PAX6遺伝子の突然変異によって引き起こされ得る。視神経形成不全は、視神経の未発達から生じる病状である。この疾病は、最も一般的な先天性視神経異常である。すべての視神経軸索が適切に発達するとは限らないため、視神経円板は異常に小さく見える。それは、しばしば、内分泌障害（ホルモン欠乏症）、発達遅延、および脳奇形に関連付けられる。網膜から脳への視覚信号の伝達の要因である視神経には、平均的な人においておよそ120万の神経線維がある。しかしながら、視神経形成不全と診断された人においては、神経は顕著により少ない。視神経形成不全は、一側性（片眼）または両側性（両眼）であり得るが、ほとんどの場合、両側性を示す（80%）。一側性の場合、より良い視力を有する傾向があるため、典型的に、両側性視神経形成不全の人より遅い年齢で診断される。視力は、光覚弁なしからほぼ正常な視力までの範囲であり得る。

20

#### 【0048】

##### <CRX>

CRXは、錐体杆体ホメオボックスタンパク質をコードする。錐体杆体ホメオボックスタンパク質は、光受容細胞の分化において役割を果たす、光受容体に特異的な転写因子である。このホメオドメインタンパク質は、正常な錐体および杆体の機能の維持に必要である。錐体杆体ホメオボックスタンパク質は、オブシン遺伝子を含む幾つかの光受容体に特異的な遺伝子上流で見られる配列5'-TAATC[CA]-3'を結合する及びトランス活性化する転写因子である。CRXは、NRL、RORBおよびRAXなどの他の転写因子と相乗的に、光受容体に特異的な遺伝子の転写を調節するように作用し、哺乳動物の光受容体の維持にとって不可欠である。

30

#### 【0049】

##### <錐体杆体ジストロフィー - 2 (CORD2)>

錐体杆体ジストロフィー - 2 (CORD2)は、染色体19q13上のCRX遺伝子のヘテロ接合突然変異によって引き起こされる。錐体杆体ジストロフィー2 (CORD2)は、優位に黄斑領域にある眼底検査で目に見える網膜色素沈着物、および錐体光受容体の初期欠損に続く杆体変性を特徴とする、遺伝性網膜ジストロフィーである。これは、視力および中心視野における感受性の低下につながり、その後、辺縁視が損失する。視力の深刻な損失が、網膜色素変性よりも早く生じる。

40

#### 【0050】

##### <レーバー先天黒内障 - 7>

レーバー先天黒内障 - 7は、染色体19q13上のCRX遺伝子のヘテロ接合またはホモ

50

接合の突然変異によって引き起こされ得る。レーバー先天黒内障は、視力損失、眼振、および重度の網膜機能不全を特徴とする、早発性の小児期の網膜ジストロフィーのグループを含む。患者は、通常出生時に深刻な視力損失および振子様眼振を示す。網膜電図 (ERG) 応答は、通常記録不可能である。他の臨床所見は、高い遠視、光不快 (photodysporia)、眼指兆候 (oculodigital sign)、円錐角膜、白内障、および眼底に対する可変性外観 (variable appearance to the fundus) を含み得る。

#### 【0051】

##### <FSCN2>

FSCN2 はファスシン - 2 をコードする。この遺伝子は、ファスシンタンパク質ファミリーのメンバーをコードする。ファスシンは、アクチンを動的細胞伸長 (dynamic cell extensions) 内の糸状束 (filamentous bundles) へと架橋する。このファミリーは、光受容体円板の形態形成において役割を果たすと提案されている。この遺伝子の突然変異は、結果として、常染色体優性の網膜色素変性および黄斑変性の 1 つの形態をもたらす。異なるアイソフォームをコードする複数の転写変異体も発見された。

10

#### 【0052】

##### <網膜色素変性30>

網膜色素変性30は、染色体17q25上の網膜ファスシン遺伝子 (FSCN2) の突然変異によって引き起こされる。網膜色素変性30 (RP30) は、色素性網膜症のグループに属する網膜ジストロフィーである。網膜色素変性は、眼底検査で目に見える網膜色素沈着物および続く錐体光受容体の二次損失を特徴とする。患者は、典型的に夜間視力の失明および中間周辺視野の損失を有している。患者の疾病が進行するにつれ、患者は遠周辺視野を失い、最終的に中心視力も失う。

20

#### 【0053】

##### <ABCA4>

ABCA4 は、ABCA4 または ABCR としても知られるサブファミリー A (ABC1)、メンバー4である、ATP 結合カセットをコードする。ABCA4 は、多細胞真核生物に独占的に見られる ATP 結合カセット輸送体遺伝子のサブファミリー A (ABC1) のメンバーである。ABCA4 タンパク質は、光受容体において産生される。ABCA4 タンパク質は、眼に入る光が脳に伝達される電気信号に変換されるプロセスである、光伝達後に活性である。光伝達は、有毒物質の形成につながる可能性がある。ABCA4 タンパク質は、光受容細胞から、N - レチニリデン - PE と呼ばれる、これらの物質のうちの 1 つを除去する。

30

#### 【0054】

##### <シュタルガルト病 - 1 (STGD1)>

シュタルガルト病 - 1 (STGD1) は、染色体1p22上のABCA4遺伝子 (601691) のホモ接合または複合ヘテロ接合の突然変異によって引き起こされる。シュタルガルト黄斑変性は、進行性の視力損失を引き起こす遺伝性の眼障害である。この障害は網膜に影響を与える。具体的には、シュタルガルト黄斑変性は、黄斑と呼ばれる網膜の中心近くの小さな領域に影響を与える。黄斑は、読書、運転、および顔認識などの詳細なタスクに必要とされる鋭い中心視の原因である。シュタルガルト黄斑変性を有する人のほとんどにおいて、脂肪性の黄色色素 (リポフスチン) が黄斑の基礎となる細胞に蓄積される。経時的に、この物質の異常な蓄積は、はっきりとした中心視にとって重要な細胞を損傷させかねない。中心視損失に加えて、シュタルガルト黄斑変性を有する人は、少ない光で誘導することを困難にし得る夜間視力の問題を有している。罹患した個体の中には色覚を損なったものもいた。シュタルガルト黄斑変性の徴候および症状は、典型的に小児期後期から成人早期に現われ、経時的に悪化する。

40

#### 【0055】

ABCA4 遺伝子の500を超える突然変異が、シュタルガルト黄斑変性を引き起こすこ

50

とが分かった。これらの突然変異のほとんどは、A B C A 4 タンパク質において単一のアミノ酸を変更する。機能不全のA B C A 4 タンパク質は、N - レチニリデン - P E を光受容細胞から除去することができない。結果として、N - レチニリデン - P E は別の物質と組み合わせさせて、リポフスチンと呼ばれる脂肪性の黄色色素を産生し、これは網膜細胞に蓄積する。リポフスチンの蓄積は、網膜の細胞に対して毒性であり、シュタルガルト黄斑変性を有する人の進行性の視力損失を引き起こす。ほとんどの場合、シュタルガルト黄斑変性はA B C A 4 遺伝子の突然変異によって引き起こされる。

#### 【 0 0 5 6 】

<網膜色素変性 - 1 9 ( R P 1 9 ) >

網膜色素変性 - 1 9 ( R P 1 9 ) は、染色体 1 p 2 2 上の A B C R 遺伝子 ( A B C A 4 ) のホモ接合または複合ヘテロ接合の突然変異によって引き起こされ得る。網膜色素変性は、辺縁視の進行性の損失および中心視損失を引き起こしかねない夜間視力の困難性を特徴とする遺伝性の眼障害である。網膜色素変性に関連付けられた多くの遺伝子がある。タイプ 1 9 は、染色体 1 p 2 1 - p 1 3 上の遺伝的欠陥に関連付けられる。網膜色素変性 - 1 9 は、夜盲、辺縁視の損失、進行性の網膜変性、トンネル状視野、進行性の視力損失、夜間または少ない光での視力減退、進行した段階での中心視の損失、および網膜色素上皮の斑点を特徴とする。

#### 【 0 0 5 7 】

<加齢黄斑変性 - 2 ( A R M D 2 ) >

加齢黄斑変性 - 2 ( A R M D 2 ) は、染色体 1 p 2 2 上の A B C A 4 遺伝子における変更によって与えられる。加齢黄斑変性は、先進国の高齢者の視力損失の主要原因である眼疾患である。視力損失は、通常、6 0 年代または 7 0 年代の人において顕著となり、経時的に悪化する傾向がある。加齢黄斑変性は、主として、読書、運転、および顔認識などの詳細なタスクに必要とされる中心視に影響を与える。この状態での視力損失は、光および色を検出する眼の後ろの組織（網膜）における光感知細胞の段階的な悪化に起因する。具体的には、加齢黄斑変性は、中心視の原因である、黄斑と呼ばれる網膜の中心近くの小さな領域に影響を与える。側（辺縁）視および夜間視力は、一般に影響を受けない。研究者は、乾燥型および湿潤型として知られる、2 つの主要なタイプの加齢黄斑変性について記載した。乾燥型は、はるかにより一般的であり、加齢黄斑変性のすべての症例の 8 5 ~ 9 0 パーセントを占めている。それは、網膜下のドルーゼンと呼ばれる黄色がかった沈着物の蓄積およびゆっくり進行する視力損失を特徴とする。その状態は、典型的には両眼の視力に影響を与えるが、視力損失は、しばしば片眼ずつ生じる。加齢黄斑変性の湿潤型は、急速に悪化しかねない重度の視力損失に関係している。その状態のこの湿潤型は、黄斑の真下の異常で脆弱な血管の成長を特徴とする。これらの血管は血液および体液を漏出し、これによって黄斑が損傷し、中心視は、ぼやけて、歪んだように見える。

#### 【 0 0 5 8 】

<錐体杆体ジストロフィー - 3 ( C O R D 3 ) >

錐体杆体ジストロフィー - 3 ( C O R D 3 ) は、染色体 1 p 2 2 上の A B C A 4 のホモ接合または複合ヘテロ接合の突然変異によって引き起こされる。錐体杆体ジストロフィーは、色素性網膜症のグループに属する遺伝性網膜ジストロフィーである。錐体杆体ジストロフィーの有病率は、4 0 , 0 0 0 分の 1 と推定される。錐体杆体ジストロフィーは、黄斑領域に優位に局在化された、眼底検査で目に見える、網膜色素沈着物を特徴とする。杆体光受容体の一次損失およびその後の錐体光受容体における二次損失に起因する、杆体錐体ジストロフィー ( R C D ) ととも呼ばれる典型的な網膜色素変性 ( R P ) とは対照的に、錐体杆体ジストロフィーは、反対の一連の事象 ( o p p o s i t e s e q u e n c e o f e v e n t s ) を反映している。錐体杆体ジストロフィーは、一次的な錐体の関与、または時に錐体および杆体両方の同時の損失を特徴とし、これは、錐体杆体ジストロフィーの以下の主症状を説明するものである：視力の低下、色覚異常、光嫌悪 ( p h o t o a v e r s i o n ) および中心視野の感受性の低下、その後の辺縁視の進行性の損失および夜盲。錐体杆体ジストロフィーの臨床経過は、一般により深刻なものであって、R C D の臨床

10

20

30

40

50

経過より急速であり、初期の法的盲および無能力につながる。しかしながら、末期では、錐体杆体ジストロフィーはRCDと変わらない。錐体杆体ジストロフィーは、最も頻繁に非症候性であるが、バルデー - ビードル症候群および脊髄小脳失調症7型(SCA7)などの、幾つかの症候群の一部であり得る。非症候性の錐体杆体ジストロフィーは、遺伝学的に異質である(10のクローン化遺伝子および3つの遺伝子座がこれまでに同定されている)。錐体杆体ジストロフィーの病態形成に関係している4つの主要な原因となる遺伝子は、ABCA4(これはシュタルガルト病および常染色体劣性の錐体杆体ジストロフィーの30~60%も引き起こす)、CRXおよびGUCY2D(これは常染色体優性の錐体杆体ジストロフィーの多くの報告された症例の要因である)、およびRPGR(これはX連鎖性RPの約2/3およびX連鎖性錐体杆体ジストロフィーの未決定のパーセンテージを引き起こす)である。RPまたは黄斑ジストロフィーを引き起こし得る、遺伝子の高度に有害な突然変異はまた、錐体杆体ジストロフィーにつながり得る。錐体杆体ジストロフィーの診断は、病歴、眼底検査および網膜電図に基づいている。幾つかの遺伝子に対して分子診断が行われ得、遺伝相談が常に勧められる。現在、その疾患の進化を止める又は視力を回復させる治療はなく、視力予後は乏しい。管理は、変性プロセスを遅らせること、合併症を処置すること、および患者が失明の社会学的および心理学的な効果に対処するのを助けることに向けられている。

10

#### <MYOC>

MYOC遺伝子はミオシリンをコードする。ミオシリンは、小柱網および毛様体に見られ、眼内圧を調節する。それはまた、様々なタイプの筋肉に見られる。ミオシリンの機能は、十分に理解されていないが、毛様体の筋組織におけるその作用によって眼内圧を制御する助けとなり得る。研究者は、ミオシリンが、タンパク質複合体の部分として他のタンパク質と一緒に機能すると考えている。ミオシリンは、CYP1B1遺伝子の産物である、シトクロムP450タンパク質の形態を含む多くの他のタンパク質と相互作用し得る。

20

#### 【0059】

#### <原発開放隅角緑内障>

GLC1Aと指定される原発開放隅角緑内障(POAG)は、染色体1q上のMYOC遺伝子のヘテロ接合の突然変異によって引き起こされる。POAGに関連する症状はない。眼内の圧力はゆっくり上昇し、角膜は腫脹なしで適合する。角膜が腫脹した場合には、症状が現れ、角膜の腫脹は、通常、何かが調子悪いという信号である。しかし、そうではないため、この疾患はしばしば検出されない。これは無痛であり、患者は、しばしば、ゆっくり視力を失っていることをその疾患の後期段階まで気づかない。しかしながら、視力が損なわれときには、損傷が回復不能となっている。緑内障は、眼と脳をつなぐ視神経が進行的に損傷される眼障害のグループである。この損傷は、側(辺縁)視の低下および最終的な失明につながりかねない。他の徴候および症状は、眼球突出、涙の過剰分泌、および光に対する異常な感受性(羞明)を含み得る。用語「早発性の緑内障」は、障害が40歳より前に現われるときに使用され得る。緑内障を有する人のほとんどにおいて、視神経に対する損傷は、眼内の圧力(眼内圧)の上昇によって引き起こされる。眼内圧は、眼に入る体液と眼を出す体液との間のバランスに左右される。通常、緑内障は、高齢者において進行し、障害を進行させるリスクは、高血圧(高血圧症)および真性糖尿病の他に、家族歴を含む、様々な病状による影響を受け得る。早発性の緑内障のリスクは、主として遺伝に左右される。眼内の体液の排出を妨害する構造的異常は、出生時に存在し、通常、生後1年の間に明らかになり得る。そのような異常は、症候群と呼ばれる、多くの体組織に影響を与える遺伝病の一部であり得る。緑内障は、他の関連する異常なしで5歳よりも前に現われる場合、原発先天緑内障と呼ばれる。他の個体は、最も一般的な緑内障の成体形である、原発開放隅角緑内障の早発を経験する。原発開放隅角緑内障は、小児期または成人早期の間に発症する場合、若年性解放隅角緑内障と呼ばれる。

30

40

#### 【0060】

#### <TCF4>

TCF4は、TCF4をコードするか、または時に免疫グロブリン転写因子2と呼ばれる

50

。TCF4は、ホモ二量体または他のbHLHタンパク質を有するヘテロ二量体として機能する、広く発現されたベーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス（bHLH）タンパク質である。これらの二量体は、エフリュッシ（E）ボックス配列でDNAを結合する。選択的スプライシングは、それらの細胞内局在性およびトランス活性化能力が異なる多数のN末端で別々のTCF4アイソフォームを産生する。TCF4タンパク質は、免疫グロブリンエンハンサーのミュー-E5 / カッパ-E2モチーフに結合する転写因子として作用する。TCF4は、STR2-INR、またはソマトスタチン受容体2イニシエーター要素上で通常見られる、E-ボックス（5'-CANNTG-3'）に結合することによって転写を活性化する。TCF4は、主として、DNAへの結合によって神経の分化を開始することによる妊娠中の胎児の神経学的発達に関係している。それは、初期発生中に中枢神経系、体節、および生殖隆起において見られる。発生の後期に、それは、甲状腺、胸腺、および腎臓において見られ、成人期には、リンパ球、筋肉、および胃腸系において見られる。

10

#### 【0061】

<フックス角膜内皮ジストロフィー-3（FEC D3）>

フックス角膜内皮ジストロフィー-3（FEC D3）は、染色体18q22上のTCF4遺伝子におけるヘテロ接合のイントロン性の三塩基反復配列伸長（CTG）*n*によって引き起こされる。遅発性フックス角膜内皮ジストロフィー（FEC D）は、40年を超える人口のおよそ4%に影響を与える変性障害である。それは、角膜内皮によって分泌されたコラーゲンに富んだ基底層であるデスメ膜のごく小さい屈折性の突起物（microscopic refractile excrescences）である、グッター（guttae）の進行性の形成による他の角膜疾患とは区別される。通常、FEC Dが内皮細胞機能を深刻に損なわせるのに、発症から20年間かかり、これは、実質浮腫および視覚障害につながる。この疾病の第1の症状は、典型的に、通常その日におさまる朝の霧視である。経時的に、罹患した個体は視力を失っていく。フックス内皮ジストロフィーを有する人はまた、明るい光に敏感になる。フックス内皮ジストロフィーは、角膜と呼ばれる眼の最前面に特異的に影響を与える。眼の検査中に検出可能である、グッターと呼ばれる沈着物、角膜の真中に形成され、最終的に広がる。これらのグッターは、角膜における細胞の損失の一因となり、視力の問題につながる。小水疱が角膜上で発達し、これは、破裂して眼痛を引き起こし得る。フックス内皮ジストロフィーの徴候および症状は、通常、40代または50代の人において始まる。この疾病の非常にまれな早発性の異型は、20代の人の視力に影響を与え始める。

20

30

#### 【0062】

<MFSD8>

MFSD8は、MFSD8としても知られている主要促進物質スーパーファミリドメイン含有8（Major facilitator superfamily domain containing 8）をコードする。MFSD8タンパク質は、細胞リソソームにおいて見られる。MFSD8タンパク質は、第2次能動輸送タンパク質の主要促進物質スーパーファミリーと呼ばれる、関連するタンパク質の大きなグループに属する。このファミリーにおけるタンパク質は、特定の分子を細胞内の構造間で、または細胞内および細胞外へと移動させる。MFSD8タンパク質は分子を輸送する傾向にあるが、それが移動させる特有の分子は知られていない。MFSD8タンパク質は、恐らくリソソームの膜にわたって物質を輸送する。

40

#### 【0063】

<中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー（CCMD）>

中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー（CCMD）は、染色体4q28上のMFSD8遺伝子の複合ヘテロ接合の突然変異によって引き起こされる。これは、主として錐体ジストロフィーであるが、高齢患者においては杆体損傷の証拠がある。中心視力の軽度の減少は、30代から60代の個体において顕著である。わずかな色素の変化および色覚異常が、これらの症状の発症で文書化され、標的黃斑症および中心窩の重度の萎縮が存在し得る

50

。辺縁が正常である末梢で拡張する中心暗点 (enlarging central scotoma with normal periphery) が、時に識別され得る。他の患者は、蒼白な (pale) 視神経円板を有する乳頭周囲の領域に対して萎縮性の様相 (atrophic appearance) を有している。MFS D8 遺伝子 (4q28.2) のミスセンス突然変異およびナンセンス突然変異に対する複合ヘテロ接合性が、常染色体劣性遺伝を示唆する Dutch 同胞群のメンバーの中から見つげられた。

#### 【0064】

##### <CTNS>

CTNS 遺伝子は、通称シスチノシン (cystinosin) をコードする。このタンパク質は、物質を消化し再利用する細胞の区画であるリソソームの膜内に位置する。リソソームの内部で消化されたタンパク質は、より小さなアミノ酸に分割される。その後、アミノ酸は、輸送タンパク質によってリソソームから除去される。シスチノシンは、アミノ酸シスチンをリソソームから特異的に移動させる輸送タンパク質である。

#### 【0065】

##### <眼性非腎症性シスチン症>

眼性非腎症性シスチン症は、染色体 17p13 にマッピングするシスチノシン (CTNS) をコードする遺伝子の突然変異によって引き起こされる。古典的な腎症性タイプのシスチン症の異型である、眼性非腎症性シスチン症は、腎臓病ではないが角膜のシスチン結晶による羞明を特徴とする常染色体劣性のリソソーム蓄積症である。シスチン症を引き起こす原因である 80 を超える異なる突然変異が、CTNS 遺伝子において特定された。最も一般的な突然変異は、CTNS 遺伝子の大部分の欠失 (時に 57 - kb 欠失と呼ばれる) であり、結果としてシスチノシンの完全な損失をもたらす。この欠失は、ヨーロッパ系の人におけるシスチン症の症例のおよそ 50 パーセントの原因である。他の突然変異は、結果として、その正常な輸送機能を実行することができない異常に短いタンパク質の産生をもたらす。CTNS 遺伝子の非常に小さな領域を変化させる突然変異によって、輸送タンパク質は、その通常の活性のいくらかを保持することが可能になり、結果としてシスチン症のより軽度な形態がもたらされ得る。

#### 【0066】

##### <NXNL1>

NXNL1 は、ヌクレオレドキシン様 1 (NXNL1) をコードする。NXNL1 は、錐体細胞の生存率に役割を果たし、錐体変性を遅らせ得る。NXNL1 は、杆体の変性には役割を果たさないようである。NXNL1 に関連する疾患は、レーバー先天黒内障およびバルデー・ビードル症候群を含む。レーバー先天黒内障は、主として網膜に影響を与える眼障害である。この疾病を有する個体は、典型的に乳児期に開始する重度の視力障害を有している。他の特徴は、羞明、眼の不随意運動 (眼振)、および極端な遠眼を含む。瞳孔はまた通常光に反応しない。さらに、角膜は、円錐形であり得、異常に薄い (円錐角膜)。フランスシェッティの眼指兆候 (Franceschetti's oculo-digital sign) は、レーバー先天黒内障の特性である。この徴候は、指関節または指での眼のつつき、圧迫、およびこすりから成る。この疾病の少なくとも 13 のタイプが記載され、これらは、それらの遺伝子的原因、視力損失のパターン、および関連する眼異常によって判別される。

#### 【0067】

バルデー・ビードル症候群は、身体の多くの部分に影響を与える遺伝性の疾病である。この疾病を有する個体は、錐体杆体ジストロフィーによる進行性の視力障害、多指症 (多趾症)、体幹肥満、男性生殖腺の機能の低下 (性腺機能低下症)、腎臓異常、および学習困難を有する。少なくとも 14 の遺伝子が、バルデー・ビードル症候群に関係していると知られている。この疾病は、通常、常染色体劣性のパターンで遺伝性である。

#### 【0068】

##### <OPTN>

OPTN 遺伝子は、コイルドコイル含有タンパク質オプチニューリンをコードする。オブ

10

20

30

40

50

チニューリンは、正常眼圧緑内障および成人発症の原発開放隅角緑内障において役割を果たし得る。オプチニューリンは、アデノウイルス E 3 - 14 . 7 K タンパク質と相互作用し、腫瘍壊死因子 または Fas リガンド経路を利用して、アポトーシス、炎症または血管収縮を媒介し得る。オプチニューリンはまた、細胞の形態形成および膜輸送、小胞輸送、並びに RAB8、ハンチンチン、および転写因子 I I I A タンパク質とのその相互作用による転写活性化において機能し得る。選択的スプライシングは、結果として同じタンパク質をコードする複数の転写変異体をもたらす。

#### 【 0 0 6 9 】

オプチニューリンは、ミオシン V I および R a b 8 とのその相互作用によって、ゴルジ複合体の維持、膜輸送、エキソサイトーシスにおいて重要な役割を果たす。オプチニューリンは、ミオシン V I をゴルジ複合体に関連付け、ゴルジリボン形成に重要な役割を果たす。オプチニューリンは、RNA ウイルス感染に応じて I F N B の誘発を負に調節する。オプチニューリンは、眼および視神経において神経保護の役割を果たす。オプチニューリンは、平衡を細胞死の誘発の方へとシフトし得る T N F シグナル伝達経路の一部として示される。オプチニューリンは、R a b 8 およびハンチンチン ( H D ) を含有する複合体を介して、膜輸送および細胞形態形成を調節することによって作用し得る。オプチニューリンは、トランスフェリン受容体 ( T F R C / T f R ) などの、R a b 8 媒介性の細胞内輸送中の R a b 8 の G T P アーゼ活性化タンパク質 T B C 1 D 1 7 との相互作用を媒介し、細胞内の再利用区画から出る尿細管に対する R a b 8 動員を調節する。分解されるカーゴと M A P 1 L C 3 ファミリーのオートファジー修飾因子 ( a u t o p h a g y m o d i f i e r ) の両方と直接相互作用するオートファジー受容体は、細胞質のサルモネラ菌 ( S a l m o n e l l a e n t e r i c a ) などのユビキチンコーティングした細菌 ( ゼノファジー ) を標的とし、S Q S T M 1 および C A L C O C O 2 / N D P 5 2 と同じ経路において機能するようである。オプチニューリンは、T N F 機能の阻害剤である、アデノウイルス E 3 14 . 7 に対する細胞標的を構成し、それによって細胞死に影響を与え得る。

#### 【 0 0 7 0 】

##### < 原発開放隅角緑内障 >

原発開放隅角緑内障 ( P O A G ) は、視神経および視野の欠陥の特定パターンを特徴とする。前眼房の角は解放しており、通常、眼内圧は上昇する。しかしながら、緑内障は、どれほどの眼内圧であっても生じ得る。該疾患は、後期まで一般に無症候性であり、それまでには相当且つ回復不能な視神経損傷が既に生じている。該疾患は、O P T N 遺伝子に影響を与える突然変異によって引き起こされる。

#### 【 0 0 7 1 】

##### < 筋萎縮性側索硬化症 1 2 >

筋萎縮性側索硬化症 1 2 ( A L S 1 2 ) は、脳における上位運動ニューロンおよび脳幹および脊髄における下位運動ニューロンに影響を与える神経変性障害であり、結果として致命的な麻痺につながる。感覚異常は存在しない。該疾患の病理学的特徴は、運動性ニューロンの損失による皮質脊髄路の蒼白、残存する運動性ニューロン内のユビキチン陽性の封入体の存在、および病理学的凝集体の沈着を含む。筋萎縮性側索硬化症の病因は、多因子性の傾向があり、遺伝的および環境的な要因の両方を含む。該疾患は、症例の 5 - 1 0 % において遺伝性である。

#### 【 0 0 7 2 】

幾つかの場合では、筋萎縮性側索硬化症 1 2 の患者において、O P T N ( G 5 3 8 E f s X 2 7 ) および T B K 1 ( R 1 1 7 X ) 遺伝子のヘテロ接合の突然変異は特定され得る。幾つかの場合では、筋萎縮性側索硬化症 1 2 の患者において、エクソン 5 の欠失は特定され得る。幾つかの場合では、筋萎縮性側索硬化症 1 2 の患者において、ナンセンス突然変異 ( Q 3 9 8 X ) は特定され得る。幾つかの場合では、筋萎縮性側索硬化症 1 2 の患者において、O P T N ユビキチン結合ドメイン内のミスセンス突然変異 ( E 4 7 8 G ) に対するヘテロ接合性は特定され得る。

10

20

30

40

50



## 【 0 0 7 3 】

## &lt; R L B P 1 &gt;

R L B P 1 遺伝子は、生理学的リガンドとしての 1 1 - シス - レチナルデヒドまたは 1 1 - シス - レチナールを運ぶ 3 6 - k D 水溶性タンパク質をコードする。R L B P 1 タンパク質は、視覚サイクルの機能性成分であり得る。この遺伝子の突然変異は、重度の杆体錐体ジストロフィー、ボスニア型ジストロフィー（非症候性の常染色体劣性の網膜色素変性）および白点状網膜炎に関係している。

## 【 0 0 7 4 】

## &lt; ボスニア型の網膜ジストロフィー &gt;

ボスニア型の網膜ジストロフィー（B R D）は、白点状網膜炎の一種である。罹患した個体は、白点状網膜炎および黄斑変性と一致した特徴を有する幼児期早期からの夜盲を示す。該疾患は、R L B P 1 遺伝子に影響を与える突然変異によって引き起こされる。

10

## 【 0 0 7 5 】

## &lt; 白点状眼底 &gt;

白点状眼底は、典型的に幼児期早期に現れる、夜盲および明るい光に対する暴露後の暗順応の遅れを特徴とする網膜障害である。罹患した個体の眼底は、網膜色素上皮における複数の小さい、白い又は浅黄色の点を含み、これは黄斑を含んでいるかもしれないし、含んでいないかもしれない。これらの点は変わらないままであることができ、より顕著になるか、あるいは老化中に消え、新しい点はまだ現われ得る。罹患した個体の暗順応曲線は、錐体および杆体の感受性の回復の延長を特色とし、網膜電図の錐体および杆体の振幅は、暗順応の 3 0 - 4 0 分後に著しく低減されるが、長時間の適応後に正常または正常に近いレベルになり、白点状眼底を有する個体のおよそ 3 8 % が広範囲な錐体機能不全であることが示された。白点状眼底の患者において、R L B P 1 遺伝子の突然変異も報告された。

20

## 【 0 0 7 6 】

## &lt; 白点状網膜炎 &gt;

白点状網膜炎（R P A）は、夜盲および暗順応の遅れを引き起こす、網膜の後側の白い斑点（white flecks）の凝集を特徴とする神鳥斑点網膜疾患の形態である。これは、進行性である及び網膜の一般化された萎縮に進化する白点状眼底とは異なる。該疾患は、R L B P 1 遺伝子に影響を与える突然変異によって引き起こされる。

## 【 0 0 7 7 】

## &lt; R P E 6 5 &gt;

R P E 6 5 遺伝子は「網膜色素上皮に特異的なタンパク質 6 5 k D a」とも呼ばれる。R P E 6 5 遺伝子は、正視にとって不可欠な R P E 6 5 タンパク質をコードする。R P E 6 5 タンパク質は、網膜色素上皮（R P E）において産生される。R P E は、眼の後部に並び光感受性組織である網膜を支持し、それに栄養を与える。R P E 6 5 タンパク質は、視覚サイクルと呼ばれる多段階プロセスに関係し、これによって、眼に入る光を脳に伝達される電気信号へと変換する。光は、網膜における感光色素に当たると、1 1 - シス - レチナール（ビタミン A の形態）をオール - トランスレチナールに変化させる。この転換は、電気信号を生成する一連の化学反応を引き起こす。その後、R P E 6 5 タンパク質は、視覚サイクルを再び始めることができるように、オール - トランスレチナールを 1 1 - シス - レチナールに変換するのを助ける。

30

40

## 【 0 0 7 8 】

## &lt; レーバー先天黒内障 2 &gt;

レーバー先天黒内障は、主として、光および色を検出する眼の後ろの特殊な組織である網膜に影響を与える眼障害である。この障害を有する人は、典型的に、乳児期に開始する重度の視力障害を有している。視力障害は、安定する傾向があるが、経時的に非常にゆっくりと悪化し得る。

## 【 0 0 7 9 】

レーバー先天黒内障はまた、光に対する感受性の増大（羞明）、眼の不随意運動（眼振）、および極端な遠眼（遠視）を含む、他の視力の問題に関係している。通常、眼に入る光

50

の量に応じて拡張および収縮する、瞳孔は、光に正常に反応しない。代わりに、瞳孔は、正常よりもゆっくり拡張および収縮し、光にまったく反応しないかもしれない。さらに、眼の透明な前被覆部（角膜）は、円錐形であり、異常に薄く円錐角膜として知られている状態であり得る。

#### 【 0 0 8 0 】

フランスシェッティの眼指兆候と呼ばれる特異的行動は、レーバー先天黒内障に特徴的である。この徴候は、指関節または指での眼のつつき、圧迫、およびこすりから成る。研究者は、この行動が、罹患した小児におけるくぼんだ目および円錐角膜の一因となり得ると考えている。

#### 【 0 0 8 1 】

まれな場合では、レーバー先天黒内障の特徴を有する人において、発達遅延および知的障害が報告された。しかしながら、これらの個体が、実際にレーバー先天黒内障を有しているか、または類似した徴候および症状を有する別の症候群を有しているかどうかは不確かである。少なくとも 13 のタイプのレーバー先天黒内障が記載されてきた。これらのタイプは、それらの遺伝子的原因、視力損失のパターン、および関連する眼異常によって判別される。レーバー先天黒内障 2 は、成年期中期から後期までに全盲に進行する乳児期での中程度の視力障害によって判別される。レーバー先天黒内障 2 の特有の質の 1 つは、深刻な初期の視力障害でさえ、網膜細胞が比較的保存されるということである。

#### 【 0 0 8 2 】

場合によっては、レーバー先天黒内障 2 の患者において、R P E 6 5 遺伝子中の突然変異のための複合ヘテロ結合性、1 b p の欠失、および / またはナンセンス変異は識別されうる。

#### 【 0 0 8 3 】

##### < 網膜色素変性症 2 0 >

網膜色素変性症 2 0 は色素性網膜炎の群に属する網膜ジストロフィーである。網膜色素変性症は、眼底検査で目視可能な網膜色素沈着物、および杆体光受容細胞の一次損失と続く錐体光受容体の二次損失によって特徴づけられる。患者は、典型的には夜間視力の失明、および中間周辺視野の損失を有する。それらの疾患の進行で、彼らは遠方の周辺視野、そして最終的には中心視覚を同様に失う。

#### 【 0 0 8 4 】

##### < L R A T >

L R A T 遺伝子、すなわちレシチンレチノールアシルトランスフェラーゼ（ホスファチジルコリン - レチノール O - アシルトランスフェラーゼ）は、小胞体に局所化した L R A T タンパク質をコードし、触媒作用でエステル化のオール - トランス - レチノールをオール - トランス - レチニルエステルへと変える。この反応は、視覚系でのビタミン A 物質代謝の重要な工程である。この遺伝子における突然変異は、早発性の重度の網膜ジストロフィーおよびレーバー先天黒内障 1 4 に関係してきた。選択的スプライシングは、結果として多数の転写変異体をもたらす。L R A T タンパク質は、ホスファチジルコリンの s n - 1 の位置からオール - トランス - レチノールまでアシル基を転移させ、オール - トランス - レチニルエステルを産生する。レチニルエステルはビタミン A の貯蔵形態である。L R A T は視覚において重大な役割を果たす。L R A T は、網膜色素上皮においてオール - トランス - レチニルエステルを 1 1 - シス - レチノールへと処理するイソメロヒドロラーゼのための、そのエステルの基質を提供し；その処理では、膜結合性のアルコールデヒドロゲナーゼにより、1 1 - シス - レチノールは酸化され、かつロドプシンおよび錐体光色素に関する発色団である 1 1 - シス - レチンアルデヒドに転換される。

#### 【 0 0 8 5 】

##### < レーバー先天黒内障 1 4 >

レーバー先天黒内障 1 4 ( L C A 1 4 ) は網膜の重度のジストロフィーであり、典型的には生後 1 年で明らかとなる。視覚機能は通常貧弱であり、かつしばしば眼振、不活発な瞳孔反応またはほぼ存在しない瞳孔反応、羞明、高遠視、および円錐角膜を伴う。その疾患

10

20

30

40

50

は、LRAT遺伝子に影響を与える突然変異によって引き起こされる。

【0086】

<網膜色素変性症>

網膜色素変性症は進行性の視力喪失を引き起こす関連する眼科疾患の群である。これらの疾患は、目の後部にある光に敏感な組織の層である網膜に影響を与える。網膜色素変性症の人々において、網膜の光を感知する細胞が徐々に悪化するとともに、視力喪失が生じる。網膜色素変性症の初発症候は、通常夜間視力の損失であり、それは幼年期において明白となる。夜間視力の問題は、弱光における運転を困難にする可能性がある。その後、その疾患は盲点が側視（周辺視野）内で発展する原因となる。経時的に、これらの盲点はトンネル状視野を生成するように統合する。その疾患は、数年または数十年間にわたって進行し、読書、運動、および顔を認識することなどの細かい作業のために必要である中心視覚に影響を与える。成年期において、網膜色素変性症の多くの人々が法的盲（legally blind）となる。

10

【0087】

網膜色素変性症の徴候および症状は、ほとんどの場合視力喪失に限定される。障害が単独で生じるとき、それは非症候性と記載される。研究者は、常染色体優性、常染色体劣性、またはX連鎖の遺伝のパターンによって通常識別される非症候性の網膜色素変性症のいくつかの主なタイプを識別する。一般的ではないが、網膜色素変性症は、本体の他の器官および組織に影響を与える症候群の一部として生じる。疾患のこれらの形態は症候群と記載される。症候群の網膜色素変性症の最も一般的な形態はアッシャー症候群であり、それは、幼い頃に発生する視力喪失と聴覚消失の組み合わせによって特徴づけられる。網膜色素変性症は、さらにバルデー・ビードル症候群；レフサム病；ならびにニューロパチー、運動失調、および網膜色素変性症（NARP）を含む、他のいくつかの遺伝的症候群の機能である。

20

【0088】

<RDH8>

レチノールデヒドロゲナーゼ8（オール・トランス・）はRDH8遺伝子によってコードされた酵素である。オール・トランス・レチノールデヒドロゲナーゼ（RDH8）は、オール・トランス・レチノールをNADPHの存在下においてオール・トランス・レチノールへ還元する視覚サイクル酵素である。その酵素は、短連鎖デヒドロゲナーゼ/還元酵素のファミリーのメンバーで、光受容体の外節に位置し；従って、光受容体レチノールデヒドロゲナーゼとしても公知である。これは、漂白され加水分解されたロドプシンの産生物であるオール・トランス・レチノールを減少させることにより、ロドプシン再生経路を開始することによる視覚サイクルにおいて重要である。

30

【0089】

<RDH12>

RDH12遺伝子、すなわちレチノールデヒドロゲナーゼ12（オール・トランス・/9-シス/11-シス）は、最も高い活性が9-シスおよびオール・トランス・レチノールに対するNADPH依存のレチノールレダクターゼである、RDH12タンパク質をコードする。コードされた酵素は、さらに短連鎖アルデヒドの代謝において役割を果たすが、ステロイドデヒドロゲナーゼ活性を示さない。この遺伝子の欠損は、レーバー先天黒内障13型および網膜色素変性症53の原因となる。

40

【0090】

<レーバー先天黒内障13>

レーバー先天黒内障13（LCA13）は、網膜の重度のジストロフィーであり、典型的には生後1年で明らかになる。視覚機能は通常貧弱であり、かつしばしば眼振、不活発な瞳孔反応またはほぼ存在しない瞳孔反応、羞明、高遠視、および円錐角膜を伴う。場合によっては、レーバー先天黒内障13は、染色体14q23.3の、光受容体に特異的なレチノールデヒドロゲナーゼ遺伝子RDH12におけるホモ接合または複合ヘテロ接合の突然変異によって引き起こされうる。

50

## 【 0 0 9 1 】

## &lt; 網膜色素変性症 5 3 &gt;

網膜色素変性症 5 3 ( R P 5 3 ) は色素性網膜炎の群に属する網膜ジストロフィーである。網膜色素変性症は、眼底検査で目視可能な網膜色素沈着物、および杆体光受容細胞の一次損失と続く錐体光受容体の二次損失によって特徴づけられる。患者は、典型的には夜間視力の失明、および中間周辺視野の損失を有する。それらの疾患の進行で、彼らは遠方の周辺視野、そして最終的には中心視覚を同様に失う。

## 【 0 0 9 2 】

## &lt; R G R &gt;

R G R 遺伝子は、推定網膜の G タンパク質共役受容体をコードする。その遺伝子は、7つの膜貫通型の G タンパク質共役受容体の 1 ファミリーのオプシンサブファミリーのメンバーである。レチナルデヒドと結合する他のオプシンのように、それは 7 番目の膜貫通ドメイン中に保存されたリシン残基を含む。そのタンパク質は、オール - トランス - レチナールが 1 1 - シス - レチナールとなる転換を触媒するように、フォトイソメラーゼ ( p h o t o i s o m e r a s e ) として作用する。逆異性化が、網膜の光受容細胞においてロドプシンにより生じる。タンパク質は、網膜の光受容細胞、網膜色素上皮、およびミュラー細胞に隣接している組織において排他的に発現する。この遺伝子は、常染色体劣性および常染色体優性の網膜色素変性症 ( それぞれ a r R P および a d R P ) に関係することもある。選択的スプライシングは、結果として様々なアイソフォームをコードする多数の転写変異体をもたらす。網膜の G タンパク質共役受容体 ( R G R ) は、網膜の光受容細胞 ( すなわち網膜色素上皮とミュラー細胞 ) に隣接している細胞において排他的に見られるロドプシンホモログである。それは、1 1 - シス - レチナールではなくオール - トランス - レチナールに優先的に結合し、通常ロドプシンにおいて見られる。哺乳動物において、光の光子は、R G R 内のオール - トランス - レチナールを 1 1 - シス - レチナールに転換するが、光受容細胞において逆異性化反応がロドプシン内で生じる。

## 【 0 0 9 3 】

## &lt; 網膜色素変性症 4 4 &gt;

網膜色素変性症 4 4 ( R P 4 4 ) は色素性網膜炎の群に属する網膜ジストロフィーである。網膜色素変性症は、眼底検査で目視可能な網膜色素沈着物、および杆体光受容細胞の一次損失と続く錐体光受容体の二次損失によって特徴づけられる。患者は、典型的には夜間視力の失明、および中間周辺視野の損失を有する。それらの疾患の進行で、彼らは遠方の周辺視野、そして最終的には中心視覚を同様に失う。その疾患は、R G R 遺伝子に影響を与える突然変異によって引き起こされる。

## 【 0 0 9 4 】

## &lt; C N G A 3 &gt;

C N G A 3 または環状ヌクレオチドゲートチャネル 3 遺伝子は、錐体光受容体の環状ヌクレオチドゲート ( C N G ) チャネルの 1 部分 ( サブユニット ) をコードする。これらのチャネルは排他的に錐体中で見られ、網膜内に位置する。錐体は、色覚を含む明るい光 ( 明所視 ) 中の視覚を提供する。

## 【 0 0 9 5 】

C N G チャネルはカチオンを細胞へと輸送する細胞膜中の穴である。錐体において、C N G チャネルは暗状態下では開いたままであり、カチオンが中へ流れることを可能とする。光が目に入るとき、これらのチャネルの閉鎖の引き金となり、カチオンの内部の流れを止める。カチオン輸送の変化は錐体の電荷を変動させ、最終的に光伝達を引き起こす。C N G A 3 遺伝子中の 1 0 0 を超える突然変異が、視覚障害や色覚異常を引き起こすことが分かってきた。これらの突然変異は、乳児期早期から存在する色覚および他の視力障害の完全な欠如によって特徴づけられる障害の形態である完全色盲の症例の約 2 5 パーセントの原因となる。C N G A 3 遺伝子の突然変異は、限定された色覚に関連する障害のより軽症な形態である不完全色盲の数人の個体において識別された。

## 【 0 0 9 6 】

完全色盲の原因となる C N G A 3 遺伝子の突然変異は、サブユニットの産生または機能に影響を与える。場合によっては、タンパク質は産生されない。他のものでは、タンパク質は変更され、正常に機能しない。サブユニットなしに組み立てられた、または異常なサブユニットにより組み立てられた C N G チャンネルは、非機能的であり；それらは、錐体が光伝達を行なうのを妨げる。場合によっては、不完全なチャンネルは、錐体へのカチオンの莫大な流入を可能とし、最終的にこれらの細胞に対してアポトーシスを起こさせる。錐体機能の欠損は、完全色盲の人々における色覚および他の視力障害の欠如の原因となる。

【 0 0 9 7 】

C N G A 3 遺伝子におけるいくつかの突然変異が、錐体中の C N G チャンネルの機能を弱めるが、除きはない。部分的に機能する錐体が脳にある程度の視覚情報を伝送する可能性があるため、これらの突然変異は不完全色盲を引き起こす。これらの C N G チャンネルが錐体に特異的であるため、杆体は一般的にはこの障害に影響されない。

10

【 0 0 9 8 】

C N G A 3 遺伝子における突然変異はまた、進行性の錐体ジストロフィーの症例の少ない割合において識別されてきた。しかしながら、色覚異常とは異なり、進行性の錐体ジストロフィーは、出産時に通常作用するが、幼児期または青年期においてうまく機能しなくなる錐体に関係する。経時的に、進行性の錐体ジストロフィーの人々では、不明瞭性が増し色覚が欠損する。なぜ若干の C N G A 3 遺伝子の突然変異が色覚異常を引き起こすのか、およびなぜ他のものが進行性の錐体ジストロフィーを結果としてもたらすのかはわかっていない。

20

【 0 0 9 9 】

< 色覚異常 - 2 >

色覚異常 - 2 は常染色体劣性の障害であり、かつ杆体の一色型色覚異常または完全色盲とも呼ばれる完全な色覚障害であって、羞明、視力低下、眼振、および色を区別する能力が完全に無いこと ( *the complete inability to discriminate between colors* ) によって特徴づけられる珍しい先天性の常染色体劣性の障害である。網膜電図検査の記録は、色覚異常において、杆体光受容体の機能は正常であり、錐体光受容体の応答が存在しないことを示す。

【 0 1 0 0 】

< P E R 1 >

P E R 1 遺伝子は、ヒトにおけるピリオド概日性タンパク質ホモログ 1 のタンパク質をコードする。P E R 1 は、中枢の概日時計遺伝子 (例えば C L O C K) の発現を抑制する核中の概日リズムおよび機能の主要制御因子である。P E R 1 の存在量、核移行、および転写抑制の周期性は、P E R 1 のリン酸化、ユビキチン化およびプロテアソーム分解によって調整される。

30

【 0 1 0 1 】

P E R 1 タンパク質は細胞の概日リズムの維持にとって重要であり、さらに癌の進行において役割を果たすこともある。この遺伝子は、遺伝子の周期ファミリーのメンバーである。これは、日々の変動する概日リズム、またはおよそ 24 時間の周期で繰り返される変動により発現する。P E R 1 は、視交叉上核 ( S C N ) と呼ばれる脳の領域において最も顕著に発現し、哺乳類の脳における第 1 の概日ペースメーカーである。P E R 1 はまた、哺乳類の末梢組織の全体にわたって発現する。このファミリーの遺伝子は、自発運動活性、代謝、および行動の概日リズムの成分をコードする。視交叉上核内の P E R 1 の概日発現は恒暗においてフリーランする ( *free-run* )、すなわち 24 時間周期のサイクルが外部の光の合図に助けられることなく持続することを意味する。その後、明暗周期のシフトは、視交叉上核内の遺伝子発現の相対的な変化を誘発する。哺乳動物の主観的夜中の光は、結果として 1 発現当たりの急激な増加をもたらし、したがって視交叉上核における段階のシフトをもたらすので、遺伝子発現の時間は光に敏感である。選択的スプライシングは、この遺伝子において観察された。場合によっては、P E R 1 は、時差ぼけの影響に関係しうる。

40

50

## 【 0 1 0 2 】

## &lt; I D U A &gt;

I D U A 遺伝子は、 - L - イズロニダーゼと呼ばれる酵素をコードし、この酵素は大きな糖分子（例えばグリコサミノグリカン）（G A G）の分解にとって不可欠である。加水分解を通して、 - L - イズロニダーゼは、硫酸化されていない - L - イズロン酸分解するために水分子を使用し、その水分子はヘパラン硫酸およびデルマトン硫酸中に存在する。 - L - イズロニダーゼはリソソーム中に位置しうる。I D U A 遺伝子中の 1 0 0 を超える突然変異が、ムコ多糖症 I 型（M P S I）を引き起こすと分かっていた。M P S I を引き起こすたいていの突然変異は、 - L - イズロニダーゼの機能を弱めるか、または完全に除く。ある突然変異が重度か弱毒化した M P S I を引き起こしたかどうかは、通常測定することができないが；しかしながら、 - L - イズロニダーゼも生成しない人々は、重症のこの障害を有する。

10

## 【 0 1 0 3 】

- L - イズロニダーゼの酵素活性の欠如は、リソソーム内のヘパラン硫酸およびデルマトン硫酸の蓄積を引き起こす。G A G の蓄積は、リソソームのサイズを増大させる。蓄積した G A G は、さらにリソソームの内部の他のタンパク質の機能に干渉し、細胞の内部の分子の移動を混乱させることもある。

## 【 0 1 0 4 】

## &lt; 弱毒化 M P S - 1 &gt;

ムコ多糖症 I 型（M P S I）は多くの身体各部に影響を与える疾病である。この障害は、一旦、以下の 3 つの独立した症候群に分けられた：重度のものから軽度なものの順に表記して、ハーラー症候群（M P S I - H）、ハーラー - シャイエ症候群（M P S I - H / S）、およびシャイエ症候群（M P S I - S）。これら 3 つの症候群のそれぞれの間に多くの重複が存在するため、M P S I は現在重度のタイプおよび弱毒化したタイプに分類される。

20

## 【 0 1 0 5 】

M P S I の子供は、しばしば出産時において疾病の徴候や症状を示さないが、若干名は、臍（臍ヘルニア）または下腹部（兎径ヘルニア）周囲に柔らかい嚢（soft out-pouching）を有する。重度の M P S I の人々は、一般的には生後 1 年以内に他の徴候および障害の症状を示し始める一方で、弱毒化した形態の人々は、幼児期後に発達するより軽症の特徴を有する。

30

## 【 0 1 0 6 】

M P S I の個体は、大きな頭部（巨頭症）、脳中の流体の蓄積（水頭症）、心臓弁の異常、「粗大」と記載される独特に見える顔面特徴、拡大した肝臓および脾臓（肝脾腫）、および、大きな舌（巨舌症）を有することもある。声帯もまた拡大する可能性があり、深い嚙声を結果としてもたらす。気道は、M P S I のある程度の人々において狭くなりこともあり、その結果、頻繁な上気道感染症および睡眠中の呼吸時における短い休止（睡眠無呼吸）を引き起こす。

## 【 0 1 0 7 】

M P S I を持った人々は、しばしば眼（角膜）の透き通ったカバーの混濁を発現させ、このことは著しい視力喪失の原因となりうる。影響を受けた個体は、聴覚消失および再発性の耳感染症も有することもある。

40

## 【 0 1 0 8 】

M P S I のある程度の個体は、低身長と移動性に影響を与える関節の変形（拘縮）を有する。重症の障害の大抵の人々は多発異骨症であり、この症状は X 線で見える多数の骨格異常を指す。手根管症候群は、この障害の多くの子供において発達し、手と指におけるしびれ感、ピリピリ感、および脱力感によって特徴づけられる。頸部における脊柱管の狭小化（脊柱管狭窄症）は、脊髄を圧搾し損傷させる可能性がある。

## 【 0 1 0 9 】

M P S I の両方の形態が様々な器官および組織に影響を与える可能性がある一方で、重度

50

のM P S Iの人々は知的機能の低下、およびより急速な疾患進行を経験する。発達遅延は通常1歳までに示され、また、厳しく影響を受けた個体は、最終的には基本的な職務能力を失う（発達の後退）。障害のこの形態の子供は通常寿命が短く、時には、小児期後期までしか生きない。弱毒化M P S Iの個体は典型的には成年期まで生き、寿命が短かったり、短くなかったりすることもある。弱毒化したタイプのある程度の人々は、学習障害を持つ一方、他の人々は知的機能障害を持たない。心臓病と気道閉塞は、両方のタイプのM P S Iの人々における主な死因である。

#### 【0110】

<ハーラー - シャイエ症候群>

ハーラー - シャイエ症候群は、2つの両極のハーラー症候群およびシャイエ症候群との間の、ムコ多糖症1型（M P S 1）の中間形であり、珍しいリソソーム蓄積症であり、骨格変形および運動発達の遅延によって特徴づけられる。M P S Iの罹患率は1 / 100,000と見積もられており、ハーラー - シャイエ症候群は症例の23%、すなわちおよそ1 / 435,000の罹患率である。ハーラー - シャイエ症候群の患者は、正常な又はほとんど正常な知能有するが、様々な度合いの物理的な機能障害を示す。患者は、低身長、多発異骨症（multiple dysostosis）、胸部の腰椎後彎、様々な度合いの進行性の粗大化顔貌、心筋症および弁異常、脳感覚の（neurosensorial）聴覚消失、扁桃腺肥大および咽頭扁桃肥大、ならびに鼻汁を含む、様々な度合いに筋骨格の変質を生後1年で示す。水頭症は、2歳の後に生じる場合がある。角膜混濁は2～4歳の間で見られ、視力を回復するためには角膜移植が必要である。他の徴候は、臓器肥大、ヘルニア、および多毛症を含むこともある。

#### 【0111】

ハーラー - シャイエ症候群は、IDUA遺伝子（4p16.3）の突然変異によりもたらされ、-L-イズロニダーゼ酵素の部分的な不足、ならびにデルマタン硫酸およびヘパラン硫酸のリソソームの蓄積を引き起こす。第1の臨床的症状が特有ではないので、早期診断は困難である。診断は、1,9-ジメチルメチレン青色（DMB）テストおよびグリコサミノグリカン（GAG）電気泳動を介する、ヘパラン硫酸およびデルマタン硫酸の尿分泌の増加の検出、ならびに白血球または線維芽細胞の酵素の不足の実証に基づきうる。遺伝子検査は利用可能である。\*鑑別診断は、より軽症かつより重症の、ムコ多糖症1型（シャイエ症候群およびハーラー症候群のそれぞれ）、ムコ多糖症VI型、ならびにムコ多糖症II型を含む。出生前診断は、培養された絨毛膜絨毛または羊膜細胞の酵素活性の測定によって、および疾患を引き起こす突然変異が公知であるかどうかの遺伝子検査によって可能である。伝染（Transmission）は常染色体劣性である。骨髄または臍帯血の移植が成功してきており、神経認知（neurocognition）を維持し、体性疾患のいくつかの態様を改善し、かつ生存者を増加させうる。しかしながら、それは多くの危険に関連し、かつほとんどの正の効果は、外科手術が産後2年以内に実施された場合にのみ生じる。

#### 【0112】

酵素の代用品（ラロニダーゼ）は、2003年にオーファンドラッグとしてEUの販売許可を得た。それは、一週一回の注入を介して与えられ、肺機能および関節可動性の改善を導く。酵素補充療法（ERT）は診断時に開始でき、造血幹細胞移植（HSCT）を待つ患者において有益でありうる。早期処置は疾患の進行を遅らせることができる。中間の重症度のM P S 1の個体患者において、適切なドナーがいれば、HSCTが検討されることもある。しかしながら、その疾患のこの形態の患者におけるHSCTの有効性に関するデータは存在しない。

#### 【0113】

ハーラー - シャイエ症候群に対する平均寿命は低下することもあり、重い心臓血管および呼吸器系の合併症により青年期の前に死亡することもある。

#### 【0114】

場合によっては、ハーラー - シャイエ症候群の患者において、ヌクレオチド1943にお

けるCからGへのトランスポージョンによるarg619からgly(R619G)の突然変異に対する同型接合性は識別されうる。場合によっては、ハーラー-シャイエ症候群の患者において、IDUA遺伝子におけるthr364からmet(T364M)の突然変異に対するホモ接合性は識別されうる。

#### 【0115】

##### <ALMS1>

ALMS1遺伝子はALMS1タンパク質をコードする。ALMS1遺伝子は、位置13における染色体2の短(p)腕に位置付けられる。ALMS1タンパク質は、聴力、視力、体重の調節、ならびに心臓、腎臓、肺、および肝臓の機能において役割を果たすかもしれない。膵臓が、血糖レベルを制御するのを助けるホルモンであるインスリンをどのように調整するかに影響しうる。

10

#### 【0116】

ALMS1タンパク質は、通常低レベルの本体の組織の大部分に存在する。細胞内において、このタンパク質は中心体に位置する。中心体は、細胞分裂および微小管の構築において役割を果たす。ALMS1タンパク質は繊毛の基部でも発見される。細胞内のその位置に基づいて、ALMS1タンパク質は、微小管の構成、様々な材料の輸送、および繊毛の通常の機能に関係することもある。

#### 【0117】

##### <アルストレーム症候群>

アルストレーム症候群は、多くの体組織に影響を与える珍しい疾病である。この疾病の徴候および症状の多くは幼児期あるいは幼児期早期に始まるが、いくらかは年取ってから現われる。アルストレーム症候群は、進行性の視力および聴力の喪失、心筋(拡張型心筋症)を拡大させ弱める心臓病の形態、肥満、2型真性糖尿病、および低身長によって特徴づけられる。この障害はまた、肝臓、腎臓、膀胱、および肺に関する重いまたは生命を脅かす医学的問題を引き起こす場合がある。アルストレーム症候群のある程度の個体は、黒色表皮腫と呼ばれる皮膚疾病を持ち、その疾病は、本体の皮膚の重なりおよびしわをもたらす、皮膚が厚く、浅黒く、手ざわりがよくなる。アルストレーム症候群の徴候および症状は重症度が異なり、かつ全ての影響を受けた個体は、障害の特長の全てを有する。

20

#### 【0118】

ALMS1遺伝子の80を超える突然変異がアルストレーム症候群の人々において識別されてきた。エクソン16の32の突然変異、エクソン10の19の突然変異、およびエクソン8の17の突然変異が、アルストレーム症候群患者において識別された。最も一般的な対立遺伝子は、突然変異した対立遺伝子の12%において識別された1-bp欠失(10775delC)であった。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、ALMS1遺伝子のエクソン16への新しい333-bpAluYa5SINEレトロトランスポゾン挿入するためのホモ接合性が識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、コドン3530での早期終止を結果としてもたらすフレームシフトを引き起こすALMS1遺伝子のエクソン16の19bpの挿入は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、glu2795からter(G2795X)のナンセンス変異を引き起こす、ホモ接合状態のALMS1遺伝子の8383C-T遷移は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、ALMS1遺伝子における10775delCの突然変異は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、エクソン8における2bpの欠失(2141delCT)は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、10775delCの突然変異に関する複合ヘテロ接合性、およびALMS1遺伝子におけるtrp3664からterの突然変異は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、arg2722からter(R2722X)置換を結果としてもたらす、ALMS1遺伝子におけるホモ接合8164C-Tの遷移は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、ALMS1遺伝子のエクソン16における333-bpAluYa5成分を挿入するためのホモ接合性は識別されう

30

40

50



る。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、g l u 3 6 4 9 から t e r ( E 3 6 4 9 X ) の置換を結果としてもたらす、A L M S 1 遺伝子のエクソン 1 6 における 1 0 9 4 5 G - T のトランスバージョンを伝える 2 つの対立遺伝子は識別されうる。場合によっては、アルストレーム症候群の患者において、A L M S 1 遺伝子における E 3 6 4 9 X の突然変異に対するホモ接合性は識別されうる。これらの突然変異の大部分は、適切に機能しない A L M S 1 タンパク質の異常に小さなバージョンの産生を導く。脳内の通常機能する A L M S 1 タンパク質の欠如は過食を導く可能性がある。膵臓内のこのタンパク質の欠損はインスリン抵抗性を引き起こすこともある。過食とインスリン抵抗性の合併効果は過剰な砂糖を対応するための身体的能力を損なわせ、糖尿病および肥満（アルストレーム症候群の 2 つの共通の特徴）を導く。

10

#### 【 0 1 1 9 】

< 保持されたイントロン含有 mRNA 前駆体 ( R I C mRNA 前駆体 ) >

実施形態では、本明細書の方法は、細胞核中で、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の遺伝子から転写され、かつ ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA のタンパク質をコードする保持されたイントロン含有 mRNA 前駆体 ( R I C mRNA 前駆体 ) の存在を活用する。成熟し完全にスプライシングされた ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の mRNA を産生するための ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の R I C mRNA 種のスプライシングは、保持されたイントロンのスプライシングアウトを刺激する ASO を使用して誘発させることができる。結果としてもたらされる成熟した ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の mRNA は、細胞質へ輸送され、そして翻訳され、それによって、患者の細胞において、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 または IDUA タンパク質を増加させ、かつ ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の不足によって引き起こる眼の疾患または疾病の症状を緩和させることができる。この方法は、以下で更に説明され、核内遺伝子出力の標的化増大 ( T A N G O ) として知られる。

20

30

40

#### 【 0 1 2 0 】

< 核の転写産物 >

ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の遺伝子は、イントロン保持事象に対して分析されうる。RNA

50

配列決定 (RNA seq) は、UCSC ゲノムブラウザにおいて視覚化することができ、ARPE-19 において発現され、細胞質または核分画のいずれかにおいて局在化された ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、または IDUA の転写産物を示す。保持されたイントロン含有 mRNA 前駆体の転写産物は、核に保持され、細胞質には輸送されない。

#### 【0121】

実施形態では、保持されたイントロンは、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 % あるいは少なくとも約 50 % の保定の保持率に基づき、保持されたイントロンとして特定されたイントロンである。実施形態では、保持されたイントロンはすなわち、約 5 % から約 100 %、約 5 % から約 95 %、約 5 % から約 90 %、約 5 % から約 85 %、約 5 % から約 80 %、約 5 % から約 75 %、約 5 % から約 70 %、約 5 % から約 65 %、約 5 % から約 60 %、約 5 % から約 55 %、約 5 % から約 50 %、約 5 % から約 45 %、約 5 % から約 40 %、約 5 % から約 35 %、約 5 % から約 30 %、約 5 % から約 25 %、約 5 % から約 20 %、約 5 % から約 15 %、約 10 % から約 100 %、約 10 % から約 95 %、約 10 % から約 90 %、約 10 % から約 85 %、約 10 % から約 80 %、約 10 % から約 75 %、約 10 % から約 70 %、約 10 % から約 65 %、約 10 % から約 60 %、約 10 % から約 55 %、約 10 % から約 50 %、約 10 % から約 45 %、約 10 % から約 40 %、約 10 % から約 35 %、約 10 % から約 30 %、約 10 % から約 25 %、約 10 % から約 20 %、約 15 % から約 100 %、約 15 % から約 95 %、約 15 % から約 90 %、約 15 % から約 85 %、約 15 % から約 80 %、約 15 % から約 75 %、約 15 % から約 70 %、約 15 % から約 65 %、約 15 % から約 60 %、約 15 % から約 55 %、約 15 % から約 50 %、約 15 % から約 45 %、約 15 % から約 40 %、約 15 % から約 35 %、約 15 % から約 30 %、約 15 % から約 25 %、約 20 % から約 100 %、約 20 % から約 95 %、約 20 % から約 90 %、約 20 % から約 85 %、約 20 % から約 80 %、約 20 % から約 75 %、約 20 % から約 70 %、約 20 % から約 65 %、約 20 % から約 60 %、約 20 % から約 55 %、約 20 % から約 50 %、約 20 % から約 45 %、約 20 % から約 40 %、約 20 % から約 35 %、約 20 % から約 30 %、約 25 % から約 100 %、約 25 % から約 95 %、約 25 % から約 90 %、約 25 % から約 85 %、約 25 % から約 80 %、約 25 % から約 75 %、約 25 % から約 70 %、約 25 % から約 65 %、約 25 % から約 60 %、約 25 % から約 55 %、約 25 % から約 50 %、約 25 % から約 45 %、約 25 % から約 40 %、あるいは約 25 % から約 35 % の保定の保持率に基づき、保持されたイントロンとして特定されたイントロンである。複数の実施形態では、この目的に有用な他の ASO は、例えば、本明細書に記載の方法を用いて特定される。

#### 【0122】

いくつかの実施形態では、ROM1 イントロンの番号付けは NM\_00327 における mRNA 配列に対応する。実施形態では、ROM1 RIC mRNA 前駆体の標的部分はイントロン 1 にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは 32 であり得る。実施形態では、RIC mRNA 前駆体の標的部位への ASO のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 1 のスプライス部位 (5' スプライス部位あるいは 3' スプライス部位) におけるスプライシングの増強をもたらし、その後の ROM1 タンパク質産生を増大させた。異なる ROM1 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_00327 における mRNA 配列を参照して得られる番

10

20

30

40

50

号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000327におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意のROM1アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

#### 【0123】

いくつかの実施形態では、TEAD1イントロンの番号付けはNM\_\_021961におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、TEAD1 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン4内にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン4の少なくとも1つのスプライス部位（5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位）におけるスプライシングの増強をもたらし、その後のTEAD1タンパク質産生を増大させた。異なるTEAD1アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_021961におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_021961におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意のTEAD1アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

#### 【0124】

いくつかの実施形態では、CYP24A1イントロンの番号付けは、NM\_\_002905またはNM\_\_001199771におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、RDH5 RIC mRNA前駆体の標的部位はイントロン1および/または2内にある。実施形態では、保持されたイントロンのパーセントは5%でありうる。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン1および/または2のスプライス部位（5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位）におけるスプライシングの増強と、その後のRDH5タンパク質産生の増大をもたらした。異なるRDH5アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_002905またはNM\_\_001199771におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_002905またはNM\_\_001199771におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意のRDH5アイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

#### 【0125】

いくつかの実施形態では、PAX6イントロンの番号付けは、NM\_\_001310160、NM\_\_001310161、NM\_\_001258465、NM\_\_000280、NM\_\_001258464、NM\_\_000280、NM\_\_001258464、NM\_\_001604、NM\_\_001127612、NM\_\_001258462、NM\_\_001310159、NM\_\_001310158、またはNM\_\_001258462におけるmRNA配列に対応する。実施形態において、PAX6 RIC mRNA前駆体の標的部分は、イントロン2および/または3、1および/または3および/または4、3および/または4および/または5、4および/または5および/または6、4および/または6および/または7、もしくは2および/または3および/または4内にある。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の標的部位はイントロン2および/または3内にある。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の標的部位はイントロン1および/または3および/または4内にある。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の標的部位はイントロン3および/または4および/または5内にある。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の標的部位はイントロン

4 および / または 5 および / または 6 内にある。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA 前駆体の標的部位はイントロン 4 および / または 6 および / または 7 内にある。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA 前駆体の標的部位はイントロン 2 および / または 3 および / または 4 内にある。実施形態では、RIC mRNA 前駆体の標的部分に対する ASO のハイブリダイゼーションは、保持されたイントロンのスプライス部位 (5' スプライス部位または 3' スプライス部位) における増強されたスプライシングを結果としてもたらし、その後 PAX6 タンパク質産生を増大させる。異なる PAX6 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書において提供されるイントロン配列に基づいて、または NM\_001310160、NM\_001310161、NM\_001258465、NM\_000280、NM\_001258464、NM\_000280、NM\_001258464、NM\_001604、NM\_001127612、NM\_001258462、NM\_001310159、NM\_001310158、または NM\_001258462 における mRNA 配列に関連して提供された番号を使用して、任意のアイソフォーム内の対応するイントロン番号を判定しうる。当業者はまた、本発明の方法を使用して、本明細書で提供されたイントロン配列に基づいて、または NM\_001310160、NM\_001310161、NM\_001258465、NM\_000280、NM\_001258464、NM\_000280、NM\_001258464、NM\_001604、NM\_001127612、NM\_001258462、NM\_001310159、NM\_001310158、または NM\_001258462 における mRNA 配列に関連して提供されたイントロン番号を使用して、標的とするための任意の PAX6 アイソフォーム内の隣接するエクソンの配列を判定しうる。

#### 【0126】

いくつかの実施形態では、FSCN2 イントロンの番号付けは、NM\_012418 または NM\_001077182 における mRNA 配列に対応する。実施形態では、FSCN2 RIC mRNA 前駆体の標的部位はイントロン 1 および / または 3 内にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは 12 又は 17 であり得る。実施形態では、RIC mRNA 前駆体の標的部位への ASO のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 1 および / または 3 のスプライス部位 (5' スプライス部位あるいは 3' スプライス部位) におけるスプライシングの増強と、その後の FSCN2 タンパク質産生の増大をもたらした。異なる FSCN2 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_012418 または NM\_001077182 における mRNA 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_012418 または NM\_001077182 における mRNA 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意の FSCN2 アイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

#### 【0127】

実施形態において、TCF4 イントロンの番号付けは、NM\_001243236、NM\_00123235、NM\_001243234、NM\_001243233、NM\_001243232、NM\_001243231、NM\_003199、NM\_001306207、NM\_001306208、NM\_001243227、NM\_001243228、NM\_001243230、NM\_001243226、NM\_001083962、NM\_001330605 および NM\_001330604 における mRNA 配列に対応する。実施形態では、TCF4 RIC mRNA 前駆体の標的部分は、イントロン 9、11、12、14、15、16、又は 17 内にある。実施形態では、TCF4 RIC mRNA 前駆体の標的部位はイントロン 9 内にある。実施形態では、TCF4 RIC mRNA 前駆体の標的部位はイントロン 11 内にある。実施形態では、TCF4 RIC m

10

20

30

40

50

R N A 前駆体の標的部位はイントロン 1 2 内にある。実施形態では、T C F 4 R I C m R N A 前駆体の標的部位はイントロン 1 4 内にある。実施形態では、T C F 4 R I C m R N A 前駆体の標的部位はイントロン 1 5 内にある。実施形態では、T C F 4 R I C m R N A 前駆体の標的部位はイントロン 1 6 内にある。実施形態では、T C F 4 R I C m R N A 前駆体の標的部位はイントロン 1 7 内にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは 9 であり得る。実施形態では、R I C m R N A 前駆体の標的部分に対する A S O のハイブリダイゼーションは、保持されたイントロンのスプライス部位（5' スプライス部位または 3' スプライス部位）における増強されたスプライシングを結果としてもたらし、その後 T C F 4 タンパク質産生を増大させる。異なる T C F 4 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、または NM\_\_001243236、NM\_\_00123235、NM\_\_001243234、NM\_\_001243233、NM\_\_001243232、NM\_\_001243231、NM\_\_003199、NM\_\_001306207、NM\_\_001306208、NM\_\_001243227、NM\_\_001243228、NM\_\_001243230、NM\_\_001243226、NM\_\_001083962、NM\_\_001330605、および NM\_\_001330604 における m R N A 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はまた、本発明の方法を使用して、本明細書で提供される配列に基づき、または NM\_\_001243236、NM\_\_00123235、NM\_\_001243234、NM\_\_001243233、NM\_\_001243232、NM\_\_001243231、NM\_\_003199、NM\_\_001306207、NM\_\_001306208、NM\_\_001243227、NM\_\_001243228、NM\_\_001243230、NM\_\_001243226、NM\_\_001083962、NM\_\_001330605、および NM\_\_001330604 における m R N A 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、標的とするための任意の T C F 4 アイソフォーム内の隣接するエクソンの配列を判定しうる。

#### 【0128】

実施形態では、M F S D 8 イントロンの番号付けは NM\_\_152778 における m R N A 配列に対応する。実施形態では、M F S D 8 R I C m R N A 前駆体の標的部分はイントロン 1 1 および / または 1 2 内にある。実施形態では、保持されたイントロンのパーセントは 1 5 または 6 2 でありうる。実施形態では、R I C m R N A 前駆体の標的部分への A S O のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 1 1 および / または 1 2 のスプライス部位（5' スプライス部位あるいは 3' スプライス部位）におけるスプライシングの増強と、その後の M F S D 8 タンパク質産生を増大をもたらした。異なる M F S D 8 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_152778 における m R N A 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_152778 における m R N A 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意の M F S D 8 アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

#### 【0129】

実施形態では、C T N S イントロンの番号付けは、NM\_\_004937 または NM\_\_001031681 における m R N A 配列に対応する。実施形態では、C T N S R I C m R N A 前駆体の標的部分はイントロン 9 および / または 1 0 内にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは 1 0 または 1 8 でありうる。実施形態では、R I C m R N A 前駆体の標的部分への A S O のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 9 および / または 1 0 のスプライス部位（5' スプライス部位あるいは 3' スプライス部位）におけるスプライシングの増強と、その後の C T N S タンパク質産生の増大をもたらした。異なる C T N S アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの

番号付けは変化しうると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_004937またはNM\_\_001031681におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_004937またはNM\_\_001031681におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意のCTNSアイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

【0130】

実施形態では、OPTNイントロンの番号はNM\_\_001008211、NM\_\_001008212、NM\_\_001008213、またはNM\_\_021980におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン7、8または9にある。実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン7にある。実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン8にある。実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン9にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは24であり得る。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン7または8または9のスプライス部位（5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位）におけるスプライシングの増強と、その後のOPTNタンパク質産生の増大をもたらした。異なるOPTNアイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書において提供されるイントロン配列に基づくか、またはNM\_\_001008211、NM\_\_001008212、NM\_\_001008213、もしくはNM\_\_021980におけるmRNA配列に関して提供される番号を使用して、任意のアイソフォーム中の対応するイントロン番号を判定することができる。当業者は、本明細書において提供されるイントロン配列に基づくか、またはNM\_\_001008211、NM\_\_001008212、NM\_\_001008213、もしくはNM\_\_021980におけるmRNA配列に関して提供されたイントロン番号を使用する本発明の方法を使用して、標的とするための任意のOPTNアイソフォーム中の隣接するエクソンの配列を判定することもできる。

【0131】

実施形態では、RLBP1イントロンの番号付けはNM\_\_000326におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、RLBP1 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン5および/または2にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは49であり得る。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン5および/または2のスプライス部位（5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位）におけるスプライシングの増強と、その後のRLBP1タンパク質産生の増大をもたらした。異なるRLBP1アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000326におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000326におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意のRLBP1アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

【0132】

実施形態では、RPE65イントロン番号付けはNM\_\_000329におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、RPE65 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン10および/または9にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは11または10でありうる。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン10および/または9のスプライス部位（5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位）におけるスプライ

10

20

30

40

50

シングの増強と、その後の R P E 6 5 タンパク質産生の増大をもたらした。異なる R P E 6 5 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_000329 における m R N A 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_000329 における m R N A 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意の R P E 6 5 アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

【0133】

実施形態では、L R A T イントロンの番号付けは、NM\_\_004937 または NM\_\_001031681 における m R N A 配列に対応する。実施形態では、L R A T R I C m R N A 前駆体の標的部分はイントロン 2 内にある。実施形態では、R I C m R N A 前駆体の標的部分への A S O のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 2 のスプライス部位 ( 5 ' スプライス部位あるいは 3 ' スプライス部位 ) におけるスプライシングの増強をもたらし、その後の L R A T タンパク質産生を増大させた。異なる L R A T アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_001301645 または NM\_\_004744 における m R N A 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_001301645 または NM\_\_004744 における m R N A 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意の L R A T アイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

【0134】

実施形態では、R D H 8 イントロン番号付けは NM\_\_015725 における m R N A 配列に対応する。実施形態では、R D H 8 R I C m R N A 前駆体の標的部分はイントロン 4 内にある。実施形態では、R I C m R N A 前駆体の標的部分への A S O のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 4 のスプライス部位 ( 5 ' スプライス部位あるいは 3 ' スプライス部位 ) におけるスプライシングの増強をもたらし、その後の R D H 8 タンパク質産生を増大させた。異なる R D H 8 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_015725 における m R N A 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_015725 における m R N A 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意の R D H 8 アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

【0135】

実施形態では、R D H 1 2 イントロン番号付けは NM\_\_0152443 における m R N A 配列に対応する。実施形態では、R D H 1 2 R I C m R N A 前駆体の標的部分はイントロン 7 内にある。実施形態では、R I C m R N A 前駆体の標的部分への A S O のハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン 7 のスプライス部位 ( 5 ' スプライス部位あるいは 3 ' スプライス部位 ) におけるスプライシングの増強をもたらし、その後の R D H 1 2 タンパク質産生を増大させた。異なる R D H 1 2 アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_152443 における m R N A 配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいは NM\_\_152443 における m R N A 配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意の R D H 1 2 アイソフォームの隣接する

エクソンの配列を判定することができる。

【0136】

実施形態では、RGRイントロンの番号付けはNM\_\_002921、NM\_\_001012722、またはNM\_\_001012720におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン1および/または2にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは46または61でありうる。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン1および/または2のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のRGRタンパク質産生の増大をもたらした。異なるRGRアイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_002921、NM\_\_001012722、またはNM\_\_001012720におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_002921、NM\_\_001012722、またはNM\_\_001012720におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意のRGRアイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

10

【0137】

実施形態では、CNGA3イントロンの番号付けは、NM\_\_001298またはNM\_\_001079878におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の標的部位はイントロン6または5内にある。実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン6内にある。実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン5内にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは27であり得る。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン6または5のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のCNGA3タンパク質産生の増大をもたらした。異なるCNGA3アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_001298またはNM\_\_001079878におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_001298またはNM\_\_001079878におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意のCNGA3アイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

20

30

【0138】

実施形態では、RDH12イントロン番号付けはNM\_\_002616におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、PER1 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン1および/または14にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部位へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン1および/または14のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のPER1タンパク質産生の増大をもたらした。異なるPER1アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_002616におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_002616におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意のPER1アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

40

50



## 【0139】

実施形態では、CNGA3イントロンの番号付けは、NM\_\_000203またはNR\_\_110313におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、IDUA RIC mRNA前駆体の標的部分は、イントロン3および/または4および/または5および/または6および/または7にある。実施形態において、保持されたイントロンのパーセントは28、29、18、20、または12であり得る。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン3および/または4および/または5および/または6および/または7のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のIDUAタンパク質産生の増加をもたらした。異なるIDUAアイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_000203またはNR\_\_110313におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_000203またはNR\_\_110313におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意のIDUAアイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

10

## 【0140】

実施形態では、ABCA4イントロン番号はNM\_\_000350におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、IDUA RIC mRNA前駆体の標的部分は、イントロン40および/または38および/または36および/または44および/または39にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン40および/または38および/または36および/または44および/または39のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のABCA4タンパク質産生の増加をもたらした。異なるABCA4アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000350におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000350におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意のABCA4アイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

20

30

## 【0141】

実施形態では、MYOCイントロン番号はNM\_\_000261におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、MYOC RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン1および/または2にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持された1および/または2のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のMYOCタンパク質産生の増大をもたらした。異なるMYOCアイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者は、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000261におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームに対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、あるいはNM\_\_000261におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的とする任意のMYOCアイソフォームの隣接するエクソンの配列を判定することができる。

40

## 【0142】

実施形態では、NR2E3イントロンの番号は、NM\_\_014249またはNM\_\_016

50

3 4 6におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の標的部分は、イントロン1および/または2および/または3および/または4および/または5および/または6および/または7にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持された1および/または2および/または3および/または4および/または5および/または6および/または7のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のNR2E3タンパク質産生の増加をもたらした。異なるNR2E3アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変化し得ると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_014249またはNM\_\_016346におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応する番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、NM\_\_014249またはNM\_\_016346におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用して標的化のための任意のNR2E3アイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

10

#### 【0143】

実施形態では、NXNL1イントロン番号はNM\_\_138454におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、NXNL1 RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン1にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン1のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のNXNL1タンパク質産生の増加をもたらす。異なるNXNL1アイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変更しうると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、またはNM\_\_138454におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応するイントロンの番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、またはNM\_\_138454におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用した標的化のための任意のNXNL1アイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

20

#### 【0144】

実施形態では、CRXイントロンの番号はNM\_\_000554におけるmRNA配列に対応する。実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体の標的部分はイントロン1、および/または2、および/または3にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン1、および/または2、および/または3のスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)におけるスプライシングの増強と、その後のCRXタンパク質産生の増加をもたらす。異なるCRXアイソフォーム配列を参照することで、イントロンの番号付けは変更しうると解される。当業者であれば、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、またはNM\_\_000554におけるmRNA配列を参照して得られる番号を使用することで、任意のアイソフォームにおける対応するイントロンの番号を判定することができる。当業者はさらに、本明細書で提供されるイントロン配列に基づき、またはNM\_\_000554におけるmRNA配列を参照して得られるイントロン番号を使用することで、本発明の方法を使用した標的化のための任意のCRXアイソフォームにおける隣接するエクソンの配列を判定することができる。

30

40

#### 【0145】

##### ABCA4

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、ABCA4ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(ABCA4 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、ABCA4ゲノム配列はSEQ ID NO: 1である。いくつかの実施形態では、ABCA4 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 24で

50

ある。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物は、保持されたイントロン 4 0、および / または 3 8、および / または 3 6、および / または 4 4、および / または 3 9 を含む。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 4 0 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 7 4 を標的とする。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 8 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 7 0 6 を標的とする。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 6 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 5 6 を標的とする。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 4 4 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 8 1 を標的とする。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 9 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 6 4 を標的とする。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 4 0 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 8 4 - 3 1 5 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 8 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 3 1 6 - 5 4 3 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 6 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 5 4 4 - 7 7 4 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 4 4 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 7 7 5 - 1 0 1 6 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 9 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 1 0 1 7 - 1 1 2 6 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S O は、A B C A 4 R I C m R N A 前駆体の配列を標的とする。

【 0 1 4 6 】

R P E 6 5

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S O は、R P E 6 5 ゲノム配列から転写された R I C m R N A 前駆体 ( R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 ゲノム配列は S E Q I D N O : 2 である。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体は、S E Q I D N O : 2 5 である。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体の転写産物は、保持されたイントロン 9 および / または 1 0 を含む。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 9 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 9 1 を標的とする。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 0 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 7 1 を標的とする。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 9 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 1 1 2 7 - 1 2 9 3 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、R P E 6 5 R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 0 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 1 2 9 4 - 1 5 2 8 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S O は、P R E 6 5 R I C m R N A 前駆体の配列を標的とする。

【 0 1 4 7 】

M Y O C

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S O は、M Y O C ゲノム配列から転写された R I C m R N A 前駆体 ( M Y O C R I C m R N A 前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、M Y O C ゲノム配列は S E Q I D N O : 3 である。いくつかの実施形態では、M Y O C R I C m R N A 前駆体は、S E Q I D N O : 2 6 である。い

くつかの実施形態では、MYOC RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン1および/または2を含む。いくつかの実施形態では、MYOC RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOは、SEQ ID NO: 26669を標的とする。いくつかの実施形態では、MYOC RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるASOは、SEQ ID NO: 26696を標的とする。いくつかの実施形態では、MYOC RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 1529 - 1855のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、MYOC RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 1856 - 2318のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、MYOC RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

10

## 【0148】

## CNGA3

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、CNGA3ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(CNGA3 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、CNGA3ゲノム配列はSEQ ID NO: 4である。いくつかの実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 27または28である。いくつかの実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン6および/または5を含む。いくつかの実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン6を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26711を標的とする。いくつかの実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン5を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26711を標的とする。いくつかの実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン6を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 2319 - 2544のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、CNGA3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン5を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 2545 - 2770のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、CNGA3 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

20

30

## 【0149】

## MFSD8

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、MFSD8ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(MFSD8 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、MFSD8ゲノム配列はSEQ ID NO: 5である。いくつかの実施形態では、MFSD8 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 29である。いくつかの実施形態では、MFSD8 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン11および/または12を含む。いくつかの実施形態では、MFSD8 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン11を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26703を標的とする。いくつかの実施形態では、MFSD8 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン12を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26708を標的とする。いくつかの実施形態では、MFSD8 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン11を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 2771 - 2852のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、MFSD8 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン12を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 2853 - 3631のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、MFSD8 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

40

## 【0150】

## IDUA

50

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S O は、I D U A ゲノム配列から転写された R I C m R N A 前駆体 ( I D U A R I C m R N A 前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、I D U A ゲノム配列は S E Q I D N O : 6 である。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体は、S E Q I D N O : 3 0 または 3 1 である。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物は保持されたイントロン 3、および / または 4、および / または 5、および / または 6、および / または 7 を含む。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 を含むとき、本明細書に開示される A S O は、S E Q I D N O : 2 6 6 6 8 を標的とする。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 4 を含むとき、本明細書に開示される A S O は、S E Q I D N O : 2 6 6 7 9 を標的とする。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 5 を含むとき、本明細書に開示される A S O は、S E Q I D N O : 2 6 7 0 0 を標的とする。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 6 を含むとき、本明細書に開示される A S O は、S E Q I D N O : 2 6 6 5 5 を標的とする。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 7 を含むとき、本明細書に開示される A S O は、S E Q I D N O : 2 6 6 6 3 を標的とする。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 3 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 3 6 3 2 - 3 6 9 7 または 4 0 3 8 - 4 1 0 3 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 4 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 3 6 9 8 - 3 8 1 3 または 4 1 0 4 - 4 2 1 9 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 5 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 3 8 1 4 - 3 8 7 9 または 4 2 2 0 - 4 2 8 5 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 6 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 3 8 8 0 - 3 9 5 2 または 4 2 8 6 - 4 3 5 8 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、I D U A R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 7 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 3 9 5 3 - 4 0 3 7 または 4 3 5 9 - 4 4 4 3 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S O は、I D U A R I C m R N A 前駆体の配列を標的とする。

#### 【 0 1 5 1 】

##### L R A T

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S O は、L R A T ゲノム配列から転写された R I C m R N A 前駆体 ( L R A T R I C m R N A 前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、L R A T ゲノム配列は S E Q I D N O : 7 である。いくつかの実施形態では、L R A T R I C m R N A 前駆体は、S E Q I D N O : 3 2 または 3 3 である。いくつかの実施形態では、L R A T R I C m R N A 前駆体の転写産物は、保持されたイントロン 2 を含む。いくつかの実施形態では、L R A T R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 2 を含むとき、本明細書に開示される A S O は S E Q I D N O : 2 6 6 8 5 を標的とする。いくつかの実施形態では、L R A T R I C m R N A 前駆体の転写産物が保持されたイントロン 2 を含むとき、A S O は S E Q I D N O : 4 4 4 4 - 6 6 4 7 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S O は、L R A T R I C m R N A 前駆体の配列を標的とする。

#### 【 0 1 5 2 】

##### O P T N

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S O は、O P T N ゲノム配列から転写された R I C m R N A 前駆体 ( O P T N R I C m R N A 前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、O P T N ゲノム配列は S E Q I D N O : 8 である。いくつかの実施形態では、O P T N R I C m R N A 前駆体は S E Q I D N O : 3 4、3 5、3 6

10

20

30

40

50

、または37である。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン9または8または7を含む。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン9を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26714を標的とする。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン8を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26714を標的とする。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26714を標的とする。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン9を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 6648 - 6880または7114 - 7346のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン8を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 6881 - 7113のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、OPTN RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 7347 - 7579のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、OPTN RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

#### 【0153】

##### RGR

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、RGRゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(RGR RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、RGRゲノム配列はSEQ ID NO: 9である。いくつかの実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体はSEQ ID NO: 38、39、または40である。いくつかの実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン1および/または2を含む。いくつかの実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26657を標的とする。いくつかの実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26687または26683を標的とする。いくつかの実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 7580 - 7806、8041 - 8267、または8500 - 8726のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、RGR RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 7807 - 8040、8268 - 8499、または8727 - 8958のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、RGR RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

#### 【0154】

##### TEAD1

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、TEAD1ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(TEAD1 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、TEAD1ゲノム配列はSEQ ID NO: 10である。いくつかの実施形態では、TEAD1 RIC mRNA前駆体はSEQ ID NO: 41である。いくつかの実施形態では、TEAD1 RIC mRNA前駆体の転写産物は、保持されたイントロン4を含む。いくつかの実施形態では、TEAD1 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26672を標的とする。いくつかの実施形態では、TEAD1 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 8959 - 9163のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、TEAD1 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

#### 【0155】

10

20

30

40

50

## PAX6

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、PAX6ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(PAX6 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6ゲノム配列はSEQ ID NO: 11である。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、または52である。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン2および/または3、または、1および/または3および/または4、または、3および/または4および/または5、または、4および/または5および/または6、または、4および/または6および/または7、または、2および/または3および/または4を含む。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26707を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26697または26694を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26677、26678、26694、または26659を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26713、26659、または26694を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン5を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26713または26659を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン6を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26713または26678を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26713を標的とする。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 9508 - 9774のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 9164 - 9296または13581 - 13780のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 9297 - 9507、9775 - 9841、10053 - 10252、または13781 - 14012のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC前駆体mRNAの転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、ASOは、SEQ ID NO: 9842 - 10052、10253 - 10484、10696 - 10895、11339 - 11538、11982 - 12181、12460 - 12659、13103 - 13302、14013 - 14423、または14702 - 14901のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン5を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 10485 - 10695、10896 - 11127、11539 - 11770、または12660 - 12891のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン6を含むとき、ASOは、SEQ ID NO: 11128 - 11338、11771 - 11981、12182 - 12248、12892 - 13102、13303 - 13369、14424 - 14490、または14902 - 14968のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、PAX6 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 12249 - 12459、13370 - 13580、14491 - 14701、または14969 - 15179のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では

10

20

30

40

50

、A S Oは、P A X 6 R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

【 0 1 5 6 】

R O M 1

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるA S Oは、R O M 1ゲノム配列から転写されたR I C m R N A前駆体(R O M 1 R I C m R N A前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、R O M 1ゲノム配列はS E Q I D N O : 1 2である。いくつかの実施形態では、R O M 1 R I C m R N A前駆体はS E Q I D N O : 5 3である。いくつかの実施形態では、R O M 1 R I C m R N A前駆体の転写産物は保持されたイントロン1を含む。いくつかの実施形態では、R O M 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるA S OはS E Q I D N O : 2 6 6 6 5を標的とする。いくつかの実施形態では、R O M 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、A S OはS E Q I D N O : 1 5 1 8 0 - 1 5 4 8 6のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、R O M 1 R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

10

【 0 1 5 7 】

R D H 5

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるA S Oは、R D H 5ゲノム配列から転写されたR I C m R N A前駆体(R D H 5 R I C m R N A前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、R D H 5ゲノム配列はS E Q I D N O : 1 3である。いくつかの実施形態では、R D H 5 R I C m R N A前駆体はS E Q I D N O : 5 4または5 5である。いくつかの実施形態では、R D H 5 R I C m R N A前駆体の転写産物は保持されたイントロン1および/または2を含む。いくつかの実施形態では、R D H 5 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるA S OはS E Q I D N O : 2 6 7 0 4または2 6 7 0 9を標的とする。いくつかの実施形態では、R D H 5 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるA S OはS E Q I D N O : 2 6 6 6 6または2 6 6 8 4を標的とする。いくつかの実施形態では、R D H 5 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、A S OはS E Q I D N O : 1 5 4 8 7 - 1 5 7 0 0または1 5 8 4 5 - 1 6 0 5 7のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、R D H 5 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、A S OはS E Q I D N O : 1 5 7 0 1 - 1 5 8 4 4または1 6 0 5 8 - 1 6 2 0 2のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、R D H 5 R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

20

30

【 0 1 5 8 】

R D H 1 2

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるA S Oは、R D H 1 2ゲノム配列から転写されたR I C m R N A前駆体(R D H 1 2 R I C m R N A前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、R D H 1 2ゲノム配列はS E Q I D N O : 1 4である。いくつかの実施形態では、R D H 1 2 R I C m R N A前駆体はS E Q I D N O : 5 6である。いくつかの実施形態では、R D H 1 2 R I C m R N A前駆体の転写産物は、保持されたイントロン7を含む。いくつかの実施形態では、R D H 1 2 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、本明細書に開示されるA S OはS E Q I D N O : 2 6 6 9 3を標的とする。いくつかの実施形態では、R D H 1 2 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、A S OはS E Q I D N O : 1 6 2 0 3 - 1 6 4 5 8のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、R D H 1 2 R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

40

【 0 1 5 9 】

N R 2 E 3

幾つかの実施形態では、本明細書に開示されるA S Oは、N R 2 E 3ゲノム配列から転写されたR I C m R N A前駆体(N R 2 E 3 R I C m R N A前駆体)を標的とする。い

50



くつかの実施形態では、NR2E3 ゲノム配列はSEQ ID NO: 15である。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 57または58である。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン1、および/または2、および/または3、および/または4、および/または5、および/または6、および/または7を含む。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26702を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26660を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26705を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26698を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン5を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26658を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン6を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26676を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26712または26701を標的とする。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 16459 - 1661または17255 - 17457のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 16662 - 16272または17458 - 17523のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 16728 - 16798または17524 - 17594のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 16799 - 16890または17595 - 17686のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン5を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 16891 - 17127または17687 - 17923のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン6を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 17128 - 17169または17924 - 17965のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、NR2E3 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン7を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 17170 - 17254または17966 - 18209のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、NR2E3 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

#### 【0160】

##### R L B P 1

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、RLBP1 ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(RLBP1 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、RLBP1 ゲノム配列はSEQ ID NO: 16である。いくつかの実施形態では、RLBP1 RIC mRNA前駆体はSEQ ID NO: 59である。いくつかの実施形態では、RLBP1 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2および/または5を含む。いくつかの実施形態では、RLBP1 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26673を標的とする。いくつかの実施形態では、RLB

P 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 5 を含むとき、本明細書に開示される A S Oは S E Q I D N O : 2 6 6 6 7 を標的とする。いくつかの実施形態では、R L B P 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 2 を含むとき、A S Oは S E Q I D N O : 1 8 2 1 0 - 1 8 3 8 3 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、R L B P 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 5 を含むとき、A S Oは S E Q I D N O : 1 8 3 8 4 - 1 8 6 3 8 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、R L B P 1 R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

【 0 1 6 1 】

C T N S

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S Oは、C T N S ゲノム配列から転写された R I C m R N A前駆体 ( C T N S R I C m R N A前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、C T N S ゲノム配列は S E Q I D N O : 1 7 である。いくつかの実施形態では、C T N S R I C m R N A前駆体は S E Q I D N O : 6 0 または 6 1 である。いくつかの実施形態では、C T N S R I C m R N A前駆体の転写産物は保持されたイントロン 9 および / または 1 0 を含む。いくつかの実施形態では、C T N S R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 9 を含むとき、本明細書に開示される A S Oは S E Q I D N O : 2 6 6 9 0 を標的とする。いくつかの実施形態では、C T N S R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 0 を含むとき、本明細書に開示される A S Oは S E Q I D N O : 2 6 6 9 2 を標的とする。いくつかの実施形態では、C T N S R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 9 を含むとき、A S Oは S E Q I D N O : 1 8 6 3 9 - 1 8 8 6 1 または 1 9 0 8 7 - 1 9 3 0 9 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、C T N S R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 0 を含むとき、A S Oは S E Q I D N O : 1 8 8 6 2 - 1 9 0 8 6 または 1 9 3 1 0 - 1 9 5 3 4 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、C T N S R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

【 0 1 6 2 】

P E R 1

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S Oは、P E R 1 ゲノム配列から転写された R I C m R N A前駆体 ( P E R 1 R I C m R N A前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、P E R 1 ゲノム配列は S E Q I D N O : 1 8 である。いくつかの実施形態では、P E R 1 R I C m R N A前駆体は S E Q I D N O : 6 2 である。いくつかの実施形態では、P E R 1 R I C m R N A前駆体の転写産物は保持されたイントロン 1 および / または 1 4 を含む。いくつかの実施形態では、P E R 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 を含むとき、本明細書に開示される A S Oは S E Q I D N O : 2 6 6 8 2 を標的とする。いくつかの実施形態では、P E R 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 4 を含むとき、本明細書に開示される A S Oは S E Q I D N O : 2 6 7 1 0 を標的とする。いくつかの実施形態では、P E R 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 を含むとき、A S Oは S E Q I D N O : 1 9 5 3 5 - 1 9 7 8 2 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、P E R 1 R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン 1 4 を含むとき、A S Oは S E Q I D N O : 1 9 7 8 3 - 1 9 8 4 5 のいずれか 1 つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、P E R 1 R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

【 0 1 6 3 】

F S C N 2

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される A S Oは、F S C N 2 ゲノム配列から転写された R I C m R N A前駆体 ( F S C N 2 R I C m R N A前駆体 ) を標的とする。いくつかの実施形態では、F S C N 2 ゲノム配列は S E Q I D N O : 1 9 である。いく

10

20

30

40

50

つかの実施形態では、FSCN2 RIC mRNA前駆体はSEQ ID NO: 63または64である。いくつかの実施形態では、FSCN2 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン1および/または3を含む。いくつかの実施形態では、FSCN2 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26670を標的とする。いくつかの実施形態では、FSCN2 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26662または26661を標的とする。いくつかの実施形態では、FSCN2 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 19846 - 20232または20348 - 20734のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、FSCN2 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 20233 - 20347または20735 - 20849のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、FSCN2 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

【0164】

TCF4

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、TCF4ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(TCF4 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4ゲノム配列はSEQ ID NO: 20である。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、または80である。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン9、12、14、16、15、17、または11を含む。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン9を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26688を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン12を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26688または26689を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン14を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26688を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン16を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26688または26689を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン15を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26688または26689を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン17を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26689を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン11を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26689を標的とする。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン9を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 20860 - 21577のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン12を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 21578 - 22063または22790 - 23031のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン14を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 22064 - 22305のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン16を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 22306 - 22547、23276 - 23519、24006 - 24249、または24494 - 24737のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持された

10

20

30

40

50

イントロン15を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 22548 - 22789、23032 - 23275、または23510 - 23761のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン17を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 23762 - 24005のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、TCF4 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン11を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 24250 - 24493のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、TCF4 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

【0165】

RDH8

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、RDH8ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(RDH8 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、RDH8ゲノム配列はSEQ ID NO: 21である。いくつかの実施形態では、RDH8 RIC mRNA前駆体は、SEQ ID NO: 81である。いくつかの実施形態では、RDH8 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン4を含む。いくつかの実施形態では、RDH8 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26680を標的とする。いくつかの実施形態では、RDH8 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン4を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 24738 - 24873のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、RDH8 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

【0166】

NXNL1

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、NXNL1ゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(NXNL1 RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、NXNL1ゲノム配列はSEQ ID NO: 22である。いくつかの実施形態では、NXNL1 RIC mRNA前駆体はSEQ ID NO: 82である。いくつかの実施形態では、NXNL1 RIC mRNA前駆体の転写産物は保持されたイントロン1を含む。いくつかの実施形態では、NXNL1 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26699を標的とする。いくつかの実施形態では、NXNL1 RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 24874 - 25231のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、ASOは、NXNL1 RIC mRNA前駆体の配列を標的とする。

【0167】

CRX

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるASOは、CRXゲノム配列から転写されたRIC mRNA前駆体(CRX RIC mRNA前駆体)を標的とする。いくつかの実施形態では、CRXゲノム配列はSEQ ID NO: 23である。いくつかの実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体はSEQ ID NO: 83である。いくつかの実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体の転写産物は、保持されたイントロン1、および/または2、および/または3を含む。いくつかの実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26675を標的とする。いくつかの実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26695を標的とする。いくつかの実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、本明細書に開示されるASOはSEQ ID NO: 26686を標的とする。いくつかの実施形態では、CRX RIC mRNA前駆体の転写産物が保持されたイントロン1を含むとき、ASOはSEQ ID NO: 25232 - 25465のいずれか1つに係る配列を有

10

20

30

40

50

する。いくつかの実施形態では、C R X R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン2を含むとき、A S OはS E Q I D N O : 2 5 4 6 6 - 2 5 6 9 5のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、C R X R I C m R N A前駆体の転写産物が保持されたイントロン3を含むとき、A S OはS E Q I D N O : 2 5 6 9 6 - 2 6 6 5 4のいずれか1つに係る配列を有する。いくつかの実施形態では、A S Oは、C R X R I C m R N A前駆体の配列を標的とする。

#### 【0168】

いくつかの実施形態では、R I C m R N A前駆体の転写産物は保持されたイントロンを含む。いくつかの実施形態では、A S Oは、5'スプライス部位に隣接するエクソンを標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは保持されたイントロンを標的にする。いくつかの実施形態では、A S Oは、3'スプライス部位に隣接するエクソンを標的にする。続くA S Oの標的の実施例は、T E A D 1を用いて以下に示される。

10

#### 【0169】

いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体のエクソン4を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D R I C m R N A前駆体の5'スプライス部位から上流（あるいは5'）のエクソン4配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の5'スプライス部位よりも約4から約4ヌクレオチド上流（あるいは5'）のエクソン配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、S E Q I D N O : 8 9 5 9 - 8 9 6 7のいずれか1つに係る配列を有する。

20

#### 【0170】

いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体中のイントロン4を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の5'スプライス部位から下流（あるいは3'）のイントロン4配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の5'スプライス部位よりも約6から約4ヌクレオチド下流（あるいは3'）のイントロン4配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、S E Q I D N O : 8 9 6 8 - 9 0 6 4のいずれか1つに係る配列を有する。

30

#### 【0171】

いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の3'スプライス部位から上流（または5'）のイントロン4配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の3'スプライス部位よりも約16から約49ヌクレオチド上流（あるいは5'）の、イントロン4配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、S E Q I D N O 9 0 6 5 - 9 1 5 4のいずれか1つに係る配列を有する。

#### 【0172】

いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体中のエクソン5を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の3'スプライス部位から下流（あるいは3'）のエクソン5配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、保持されたイントロン4を含むT E A D 1 R I C m R N A前駆体の3'スプライス部位よりも約2から約4ヌクレオチド下流（あるいは3'）のエクソン5配列を標的とする。いくつかの実施形態では、A S Oは、S E Q I D N O : 9 2 5 5 - 9 1 6 3のいずれか1つに係る配列を有する。

40

#### 【0173】

実施形態では、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、

50

ALMS1、PER1またはIDUA mRNA前駆体の標的部分は、イントロン1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25にある。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分に対するASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロン1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25の少なくとも1つのスプライス部位（5'スプライス部位または3'スプライス部位）におけるスプライシングを増強し、続いて、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質産生を増加させる。

10

#### 【0174】

イントロン保持の程度は、パーセントイントロン保持（PIR）、すなわち所与のイントロンが保持される転写産物のパーセンテージとして表すことができる。手短に言えば、エクソン-イントロン連結の読み取りとエクソン-エクソン連結の読み取りの平均の合計に対して、エクソン-イントロン連結にマッピングする平均読み取り数のパーセンテージとして、PIRを算出することができる。

#### 【0175】

SCN1Aに関するPIR値は、例えば、Braunschweig, et al., 2014（例えば、Supplemental Table S9を参照）によって報告されており、その全体が引用により本明細書に組み込まれる。

20

#### 【0176】

実施形態では、本明細書に記載の方法は、機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の産生を増加させるために使用される。本明細書において使用される用語「機能的」は、処置される疾病の1つ以上の症状を除去するのに必要な、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の活性または機能の量を指す。実施形態では、該方法は、部分的機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の産生を増加させるために使用される。本明細書において使用される用語「部分的機能的」は、疾患または疾病の1つ以上の症状を除去または予防するのに必要な活性または機能の量未満の、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の活性または機能の量を指す。いくつかの実施形態では、部分的機能的タンパク質またはRNAは、完全な機能的タンパク質またはRNAに比して、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、85%、少なくとも90%、または少なくとも95%少ない活性をもつだろう。

30

40

#### 【0177】

実施形態では、該方法はROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CN

50

50

T、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする成熟mRNAのレベルの増加と、被験体の細胞中のROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の発現の増加をもたらす。

#### 【0178】

実施形態では、被験体は、機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする第1の対立遺伝子、および、部分的機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする第2の対立遺伝子を有し、アンチセンスオリゴマーは、（機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする）第1の対立遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の標的部分、または、（部分的機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする）第2の対立遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の標的部分と結合し、それによってRIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンの構成的スプライシングを誘発し、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする成熟mRNAのレベルの増加と、被験体の細胞における機能的または部分的機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質発現の増加をもたらす。

#### 【0179】

関連する実施形態では、前記方法は、タンパク質あるいは機能的RNAの発現を増大させるためにASOを用いる方法である。実施形態では、ASOは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードするRIC mRNA前駆体を有する被験体の細胞における、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の発現を増加させるために使用され、該被験体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の量または機能の欠失を有する。

#### 【0180】

10

20

30

40

50



実施形態では、疾患または疾病の原因となる、タンパク質をコードする R I C m R N A 前駆体の転写産物は、本明細書に記載される A S O によって標的化される。いくつかの実施形態では、疾患の原因ではない、タンパク質をコードする R I C m R N A 前駆体の転写産物は、A S O によって標的化される。例えば、特定の経路における第 1 のタンパク質の突然変異または不足の結果として生じる疾患は、第 2 のタンパク質をコードする R I C m R N A 前駆体を標的とすることによって改善され得、それによって第 2 のタンパク質産生は増加する。いくつかの実施形態では、第 2 のタンパク質の活性は、第 1 のタンパク質の突然変異または不足（それは疾患または疾病の原因である）を補うことができる。

#### 【 0 1 8 1 】

実施形態では、被験体は：

a . 第 1 の変異対立遺伝子であって、

i ) R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質が、野生型対立遺伝子からの産生と比較して、減少したレベルで産生され、

i i ) R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質が、同等の野生型タンパク質と比較して機能が低下した形態で産生され、または

i i i ) R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質、または機能的 R N A が産生されない、第 1 の変異対立遺伝子；および

b . 第 2 の変異対立遺伝子であって、

i ) R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質が、野生型対立遺伝子からの産生と比較して減少したレベルで産生され、

i i ) R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質が、同等の野生型タンパク質と比較して機能が低下した形態で産生され、または

i i i ) R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質が産生されない、第 2 の変異対立遺伝子を有し；

ここで、R I C m R N A 前駆体は、第 1 の対立遺伝子および / または第 2 の対立遺伝子から転写される。これらの実施形態では、A S O は、第 1 の対立遺伝子または第 2 の対立遺伝子から転写された R I C m R N A 前駆体の標的部分に結合することで、R I C m R N A 前駆体からの保持されたイントロンの構成的スプライシングを誘導し、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A タンパク質をコードする m R N A レベルの増加を引き起こし、被験体の細胞における標的タンパク質または機能的 R N A の発現の増加をもたらす。これらの実施形態では

10

20

30

40

50

、RIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンの構成的スプライシングの結果として生じる、発現レベルの増加を有する標的タンパク質あるいは機能的RNAは、同等の野生型タンパク質と比較して機能性の低い形態（部分的機能的）、あるいは同等の野生型タンパク質と比較して完全な機能性を有する形態（完全機能的）、のいずれかであり得る。

#### 【0182】

実施形態では、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードするmRNAのレベルは、例えば、アンチセンスオリゴマーで処置されない、あるいはROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUA RIC mRNA前駆体の標的部分に結合しないアンチセンスオリゴマーで処置された対照細胞で産生された、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAをコードするmRNAの量と比較した場合、1.1倍から10倍に増加する。

#### 【0183】

実施形態では、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の量または活性の不足に起因する疾病は、ASOが標的とされる保持されたイントロンの選択的スプライシングまたは異常スプライシングに起因する疾病ではない。実施形態では、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の量または活性の不足に起因する疾病は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードするRIC mRNA前駆体中の、保持されたイントロンの選択的スプライシングまたは異常スプライシングに起因する疾病ではない。実施形態では、選択的スプライシングあるいは異常スプライシングが、遺伝子から転写されたmRNA前駆体に生じうる。しかしながら、本発明の組成物および方法は、この選択的スプライシングあるいは異常スプライシングを予防しないし、修正しない。

#### 【0184】

実施形態では、本発明の方法を使用して処置された被験体は、部分的に機能的なROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質を、1つの対立遺伝子から発現し、ここで前記の部分的に機能的なROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質は、フレームシフト変異、ナンセンス変異、ミスセンス変異、または部分的な遺伝子欠失に起因する。実施形態では、本発明の方法を使用して処置された被験体は、非機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6

、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質を、1つの対立遺伝子から発現し、ここで前記の非機能的ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質は、1つの対立遺伝子におけるフレームシフト変異、ナンセンス変異、ミスセンス変異、部分的な遺伝子欠失に起因する。実施形態では、本発明の方法を使用して処置された被験体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAの全遺伝子欠失を、1つの対立遺伝子に有する。

10

#### 【0185】

タンパク質発現を増加させるためのTANGOの使用

前述したように、実施形態では、核内遺伝子出力の標的とされた増強(TANGO)は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の発現を増加させるために、本発明の方法において使用され得る。これらの実施形態では、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする、保持されたイントロン含有mRNA前駆体(RIC mRNA前駆体)は、細胞の核内にある。保持されたイントロン、5'スプライス部位に隣接するエクソン、および3'スプライス部位に隣接するエクソンを含み、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質をコードする、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUA mRNA前駆体を有する細胞は、RIC mRNA前駆体の標的部分に相補的なアンチセンスオリゴマー(ASO)と接触させることができる。RIC mRNA前駆体の標的部分へのASOのハイブリダイゼーションは、結果として、保持されたイントロンのスプライス部位(5'スプライス部位あるいは3'スプライス部位)のスプライシングを増強することができ、その後に標的タンパク質産生を増加させる。

20

30

#### 【0186】

「mRNA前駆体」と「mRNA前駆体の転写産物」の用語は、交換可能に使用され、少なくとも1つのイントロンを含む任意のmRNA前駆体種を指す。実施形態では、mRNA前駆体またはmRNA前駆体の転写産物は、5'-7-メチルグアノシン・キャップ、および/またはポリA末端を含む。実施形態では、mRNA前駆体またはmRNA前駆体の転写産物は、5'-7-メチルグアノシン・キャップおよびポリA末端の両方を含む。幾つかの実施形態では、mRNA前駆体の転写産物は、5'-7-メチルグアノシン・キャップ、および/またはポリA末端を含まない。タンパク質に翻訳されない場合(あるいは核から細胞質へと輸送された場合)、mRNA前駆体の転写産物は非増殖性のメッセンジャーRNA(mRNA)分子である。

40

#### 【0187】

本明細書で使用されるように、「保持されたイントロン含有mRNA前駆体」(「RIC

50

mRNA前駆体」)は、少なくとも1つの保持されたイントロンを含むmRNA前駆体の転写産物である。RIC mRNA前駆体は、保持されたイントロン、保持されたイントロンの5'スプライス部位に隣接するエクソン、保持されたイントロンの3'スプライス部位に隣接するエクソンを含み、標的タンパク質をコードする。「標的タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体」は、完全にスプライシングされた時、標的タンパク質をコードすると解される。「保持されたイントロン」は、同じ遺伝子によってコードされた、例えば隣接するイントロンのような1つ以上の他のイントロンが、同じmRNA前駆体の転写産物からスプライシングアウトされた時に、mRNA前駆体の転写産物に存在する任意のイントロンである。幾つかの実施形態では、保持されたイントロンは、標的タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体中で最も豊富なイントロンである。実施形態では、保持されたイントロンは、細胞中の標的タンパク質をコードする遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の集団中で最も豊富なイントロンであり、そのRIC mRNA前駆体の集団は2つ以上の保持されたイントロンを含む。実施形態では、標的タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体の集団中で最も豊富なイントロンに対し標的とされるアンチセンスオリゴマーは、アンチセンスオリゴマーが標的にする或いは結合する、保持されたイントロンを含む集団中で、2つ以上の保持されたイントロンのスプライシングアウトを誘導する。実施形態では、それにより標的タンパク質をコードする成熟mRNAが生成される。「成熟mRNA」および「完全にスプライシングされたmRNA」の用語は、標的タンパク質をコードする完全にプロセシングされたmRNA(例えば、核から細胞質へと輸送され、標的タンパク質に翻訳されたmRNA)、あるいは完全にプロセシングされた機能的RNAを説明するために、本明細書で交換可能に使用される。「増殖性mRNA」の用語も、標的タンパク質をコードする完全にプロセシングされたmRNAを説明するために使用することができる。実施形態において、標的領域は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするRIC mRNA前駆体において最も豊富なイントロンである、保持されたイントロンにある。

#### 【0188】

本明細書で使用されるように、用語「含む(comprise)」、あるいは「含む(contains)」または「含んでいる(comprising)」等の変化形は、詳細に言及された特徴(例えば、アンチセンスオリゴマーの場合は、定義された核酸塩基配列)を含むが、他のいかなる特徴をも排除するものではないと解される。したがって、本明細書で使用されるように、用語「含んでいる」は包括的であり、詳細に言及されていない追加の特徴(例えば、アンチセンスオリゴマーの場合、詳細に言及されていない追加の核酸塩基の存在)を除外しない。

#### 【0189】

本明細書で提供される組成物及び方法の何れかの実施形態において、「含んでいる」は、「～から実質的に成る(consisting essentially of)」または「～から成る(consisting of)」と置き換えられ得る。「～から実質的に成る」という句は、請求項に係る発明の形質や機能に実質的に影響しない特徴と同様、特定の特徴(例えば核酸塩基配列)を要するように本明細書において使用される。本明細書で使用されるように、「成る」という用語は、詳細に言及された特徴(例えば核酸塩基配列)のみの存在を示すために使用される(よって、特定の核酸塩基配列から成るアンチセンスオリゴマーの場合には、詳細に言及されていない追加の核酸塩基の存在は除外される)。

#### 【0190】

実施形態において、標的領域は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RG

10

20

30

40

50

R、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするRIC mRNA前駆体において2番目に豊富なイントロンである、保持されたイントロンにある。例えば、2番目に豊富な保持されたイントロンのヌクレオチド配列の独自性、特定のヌクレオチド配列を標的とするASO設計の容易さ、及び/又はASOを持つイントロンの標的化から結果として生じるタンパク質生成の増加の量により、最も豊富な保持されたイントロンではなく、2番目に豊富な保持されたイントロンが標的とされ得る。実施形態では、保持されたイントロンは、細胞中の標的タンパク質をコードする遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の集団中において2番目に豊富なイントロンであり、RIC mRNA前駆体の集団は2つ以上の保持されたイントロンを含む。実施形態では、標的タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体の集団において2番目に豊富なアンチセンスオリゴマーに標的とされるアンチセンスオリゴマーは、アンチセンスオリゴマーが標的とされるまたは結合する保持されたイントロンを含む集団において、2つ以上の保持されたイントロンのスプライシングアウトを誘導する。実施形態では、それにより標的タンパク質をコードする完全にスプライシングされた(成熟)RNAが生成される。

10

#### 【0191】

実施形態において、ASOは、RIC mRNA前駆体中の保持されていないイントロン内にある、標的とされた領域に相補的である。実施形態では、RIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されていないイントロンの5'スプライス部位に対する+6~+100の領域；または保持されていないイントロンの3'スプライス部位に対する-16~-100の領域内にある。実施形態において、RIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されていないイントロンの5'スプライス部位に対して+100から、保持されていないイントロンの3'スプライス部位に対して-100までの領域内にある。領域または配列の場所を特定するために使用されるように、「内(within)」は、列挙される位置で残基を含むように理解される。例えば、+6~+100の領域は、+6および+100の位置で残基を含む。実施形態では、それにより標的タンパク質をコードする完全にスプライシングされた(成熟)RNAが生成される。

20

#### 【0192】

実施形態では、RIC mRNA前駆体の保持されたイントロンは非効率的にスプライシングされたイントロンである。本明細書で使用されるように「非効率的にスプライシングされた」は、RIC mRNA前駆体における別のスプライス部位でのスプライシングの頻度と比較して、保持されたイントロン(5'スプライス部位または3'スプライス部位)に隣接しているスプライス部位での比較的少ない頻度のスプライシングを指し得る。用語「非効率的にスプライシングされた」はまた、スプライス部位でのスプライシングの相対速度または動力学を指し、ここでは、「非効率的にスプライシングされた」イントロンは、RIC mRNA前駆体における別のイントロンと比較して遅い速度でスプライシングまたは除去され得る。

30

#### 【0193】

実施形態において、5'スプライス部位、および保持されたイントロンの+1~+6に隣接するエクソンの-3e~-1eでの9つのヌクレオチド配列は、対応する野生型の配列と同一である。実施形態において、保持されたイントロンの-15~-1、及び3'スプライス部位に隣接するエクソンの+1eでの16のヌクレオチド配列は、対応する野生型の配列と同一である。本明細書で使用されるように、「野生型配列」は、NCBIのレポジットに堆積される公開された参照ゲノムにおけるROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの遺伝子のヌクレオチド配列を指す(National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD USA 20894により操作される)。本明細書で使用されるように、「野生型配列」はNCB

40

50

I 遺伝子IDを指す：(ROM1:6094;TEAD1:7003;RDH5:5959;NR2E3:10002;PAX6:5080;CRX:1406;FSCN2:25794;ABCA4:24;MYOC:4653;TCF4:6925;MFSD8:256471;CTNS:1497;NXNL1:115861)。本明細書で使用されるように、「e」で表わされたヌクレオチド位置は、ヌクレオチドがエクソン(例えば5'スプライス部位に隣接するエクソンまたは3'スプライス部位に隣接するエクソン)の配列に存在することを示す。

#### 【0194】

前記方法は、細胞を、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするmRNA前駆体の一部に相補的であるASOと接触させる工程を含み、その結果、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、又はIDUAの発現の増加がもたらされる。本明細書で使用されるように、細胞に「接触させること」または投与することは、ASOと細胞が相互に作用するように細胞に最も近づいた状態でASOを提供する方法を指す。ASOと接触される細胞は、細胞を取り入れ、または細胞にASOを運ぶ。該方法は、疾病または疾患に関係する又は疾病または疾患に関連する細胞を、本明細書に記載されるASOのいずれかと接触させる工程を含む。幾つかの実施形態では、ASOは、ASOを細胞型に対して標的とする、ASOと疾病または疾患に関係する又は疾病または疾患に関連する細胞との間の接触を増強する、またはASOの取り込みを増強するために、さらに修飾され得るか又は別の分子に結合され得る(例えば、共有結合される)。

#### 【0195】

本明細書で使用されるように、用語「タンパク質生成を増加させる」または「標的タンパク質の発現を増加させる」は、細胞中のmRNAから翻訳されるタンパク質の量を増強させることを意味する。「標的タンパク質」は発現/生成の増加が望まれる任意のタンパク質でもよい。

#### 【0196】

実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体を発現する細胞を、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物の標的部分に相補的なASOと接触させた結果、mRNA前駆体によりコードされるROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質(例えば標的タンパク質)の量の増加がもたらされる。タンパク質の生成を測定または検出する方法は、当業者に明白であり、例えば、ウェスタンブロッティング、フローサイトメトリー、免疫蛍光顕微鏡検査、及びELISAといった既知の方法を含む。

#### 【0197】

実施形態において、細胞を、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、

CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物の標的部分に相補的であるASOと接触させた結果、ASOの欠如/処置の欠如の状態  
で細胞により生成されるタンパク質の量と比較して、少なくとも10、20、30、40  
、50、60、80、100、150、200、250、300、350、400、450、500、または1000%の、生成されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の量の増加がもたらされる。実施形態において、アンチセンスオリゴマーが接触された細胞により生成される、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の総量は、対照の化合物により生成された標的タンパク質の量と比較して、約1.1から約10倍、約1.5から約10倍、約2から約10倍、約3から約10倍、約4から約10倍、約1.1から約5倍、約1.1から約6倍、約1.1から約7倍、約1.1から約8倍、約1.1から約9倍、約2から約5倍、約2から約6倍、約2から約7倍、2から約8倍、約2から約9倍、約3から約6倍、約3から約7倍、約3から約8倍、約3から約9倍、約4から約7倍、約4から約8倍、約4から約9倍、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約3.5倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、または少なくとも10倍増加される。対照の化合物は、例えば、RIC mRNA前駆体の標的部分に相補的でないオリゴヌクレオチドでもよい。

10

20

#### 【0198】

幾つかの実施形態において、細胞を、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物の標的部分に相補的であるASOと接触させた結果、標的タンパク質をコードする成熟mRNAを含む、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質それぞれをコードするmRNAの量の増加がもたらされる。幾つかの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするmRNA、又は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする成熟mRNAの量は、ASOの欠如/処置の欠如における細胞により生成されたタンパク質の量と比較して、少なくとも10、20、30、40、50、60、80、100、150、200、250、300、350、400、450、500、または1000%増加される。幾つかの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするmRNA、又は、アンチセンスオリゴマーが接触された細胞において生成されるROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1

30

40

50

、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする成熟mRNAの総量は、約1.1から約10倍、約1.5から約10倍、約2から約10倍、約3から約10倍、約4から約10倍、約1.1から約5倍、約1.1から約6倍、約1.1から約7倍、約1.1から約8倍、約1.1から約9倍、約2から約5倍、約2から約6倍、約2から約7倍、約2から約8倍、約2から約9倍、約3から約6倍、約3から約7倍、約3から約8倍、約3から約9倍、約4から約7倍、約4から約8倍、約4から約9倍、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約3.5倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍増加される。対照の化合物は、例えば、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的でないオリゴヌクレオチドでもよい。

10

#### 【0199】

RIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンの構成的スプライシング

本明細書に提供される方法とアンチセンスオリゴヌクレオチド組成物は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするmRNAのレベル、またはROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする成熟mRNAのレベルを増加させることにより、細胞における、例えば、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の量又は活性が不足している被験体における、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の発現を増加させるのに有用である。特に、本明細書に記載されるような方法と組成物は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする成熟mRNAのレベル、或いはROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質を増加させ、および、ROM1、TEAD1、RDH

20

30

40

50



5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の発現を増加させる。

#### 【0200】

RIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンの構成的なスプライシングは、RIC mRNA前駆体から保持されたイントロンを正確に取り除き、ここで、保持されたイントロンには野生型スプライス配列がある。本明細書で使用されるように、構成的なスプライシングは、遺伝子または対立遺伝子から転写されたmRNA前駆体の選択的スプライシング或いは異常なスプライシングを引き起こす突然変異を伴う、遺伝子または対立遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体からの、保持されたイントロンのスプライシングを包含しない。例えば、保持されたイントロンの構成的なスプライシングは、本明細書で提供される方法とアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して誘発されるように、mRNA前駆体の異常なスプライシングを調整せず、又はその選択的スプライシングに影響せず、その結果、標的タンパク質または機能的RNAの発現の増加がもたらされる。

10

#### 【0201】

実施形態において、構成的スプライシングは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンを正確に取り除くことができ、ここで、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体は、完全に機能的な標的タンパク質または機能的RNAをコードする、野生型遺伝子または対立遺伝子、あるいは多型遺伝子または対立遺伝子であり、遺伝子または対立遺伝子には、保持されたイントロンの選択的スプライシングまたは異常なスプライシングを引き起こす突然変異が無い。

20

#### 【0202】

幾つかの実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンの構成的スプライシングは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードする、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体は、野生型対立遺伝子からの生成と比較して減少したレベルで標的遺伝子または機能的RNAが生成される、遺伝子または対立遺

30

40

50

伝子から転写され、遺伝子または対立遺伝子には、保持されたイントロンの選択的スプライシングまたは異常なスプライシングを引き起こす突然変異が無い。これら実施形態では、構成的にスプライシングされた保持されたイントロンの正確な除去の結果、同等の野生型タンパク質または機能的RNAと比較した時に機能的である標的タンパク質または機能的RNAの生成がもたらされる。

#### 【0203】

他の実施形態において、構成的スプライシングは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体からの保持されたイントロンを正確に取り除くことができ、ここで、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体は、同等な野生型タンパク質または機能的RNAと比較して機能性が減少している形態で生成される標的タンパク質または機能的RNAをコードする、遺伝子または対立遺伝子から転写され、遺伝子または対立遺伝子には、保持されたイントロンの選択的スプライシングまたは異常なスプライシングを引き起こす突然変異が無い。これら実施形態では、構成的にスプライシングされた保持されたイントロンの正確な除去の結果、部分的に機能的な標的タンパク質、または、同等の野生型タンパク質または機能的RNAと比較した時に部分的に機能的である機能的RNAの生成がもたらされる。

#### 【0204】

構成的スプライシングによる保持されたイントロンの「正確な除去」は、エクソンの任意の部分の除去を行わない、イントロン全体の除去を指す。

#### 【0205】

実施形態において、本明細書に提供されるような、或いは本明細書に記載される方法に使用されるアンチセンスオリゴマーは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの遺伝子から転写されるmRNA前駆体の選択的スプライシングまたは異常なスプライシングを調節することにより、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするmRNAの量、または、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の量を増加しない。選択的スプライシングまたは異常なスプライシングの調節は、例えばRT-PCRによりRNA種の配列と長さを分析する既知の方法により、および本明細書と文献の中で別記された方法を使用して、測定され得る。実施形態では、選択的または異常なスプライシングの調節は、少なくとも10%または1.1倍の対象のスプライシングされた種の量の増加或いは減少に基づいて決定される。実施形態において、調節は、本発明の方法における、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質をコードするmRNAの増加の判定に関して、本明細書に記載されるように、少なくとも10%から100%、あるいは1.1から10倍であるレベルの増加または減少に基づいて、判

定される。

#### 【0206】

実施形態において、前記方法は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体が、野生型のROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の部分的スプライシングにより生成され得る方法である。実施形態において、前記方法は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体が、全長の野生型のROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の部分的スプライシングにより生成され得る方法である。実施形態において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体は、全長のROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の部分的スプライシングにより生成され得る。これら実施形態では、全長のROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNA前駆体は、野生型スプライス部位配列を持つ保持されたイントロンのスプライシングと比較して、保持されたイントロンの正確なスプライシングを損なわない、保持されたイントロンのスプライス部位に多型を有し得る。

#### 【0207】

実施形態では、mRNAのコードするROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質は、全長の成熟mRNA、または野生型の成熟mRNAである。これらの実施形態では、野生型の成熟mRNAによりコードされたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAタンパク質の活性と比較して、全長の成熟mRNAには成熟mRNAによりコードされた標的タンパク質または機能的RNAの活性に影響を与えない多型があるかもしれない。

#### 【0208】

<アンチセンスオリゴマー>

本開示の1つの態様は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CN

10

20

30

40

50

G A 3、A L M S 1、P E R 1、またはI D U AのR I C m R N A前駆体の標的部分に結合することによりスプライシングを増強するアンチセンスオリゴマーを含む組成物である。本明細書で使用されるように、用語「A S O」と「アンチセンスオリゴマー」は、交換可能に使用され、且つ、ワトソン - クリック型塩基対またはゆらぎ塩基対 ( G - U ) により、標的核酸 (例えばR O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、またはI D U AのR I C m R N A前駆体) 配列にハイブリダイズする、核酸塩基を含むポリヌクレオチドなどのオリゴマーを指す。A S Oは、標的配列に相補的な又はほぼ相補的 (例えば、標的配列に結合し、スプライス部位でスプライシングを増強させるのに十分な相補性) である正確な配列を有し得る。A S Oは、標的核酸 (例えば、m R N A前駆体の転写産物の標的部分) に結合し (ハイブリダイズし)、生理学的条件下でハイブリダイズされたままであるように設計されている。典型的に、A S Oは、意図した (標的とされた) 核酸配列以外の部位にハイブリダイズする場合、標的核酸でない限られた数の配列に (標的核酸以外の少数の部位に) ハイブリダイズする。A S Oの設計は、m R N A前駆体の転写産物の標的部分の核酸配列、或いはゲノムまたは細胞のm R N A前駆体またはトランスクリプトームにおける他の場所での十分に類似した核酸配列の発生を考慮に入れることができ、その結果、A S Oが他の部位に結合し「オフターゲット」効果を引き起こす可能性は限定される。例えば、発明の名称「R e d u c i n g N o n s e n s e - M e d i a t e d m R N A D e c a y」のW O 2 0 1 5 / 0 3 5 0 9 1として公開されたP C T国際出願番号P C T / U S 2 0 1 4 / 0 5 4 1 5 1におけるものなどの、当業者に既知のアンチセンスオリゴマーは、本明細書に記載される方法を実施するために使用され得る。

#### 【0209】

幾つかの実施形態では、A S Oは、標的核酸またはR I C m R N A前駆体の標的部分に「特異的にハイブリダイズする」または「特異的である」。典型的に、そのようなハイブリダイゼーションは、3 7 より実質的に高い融解温度 ( T m ) で、好ましくは少なくとも5 0 で、および典型的に6 0 からおよそ9 0 の間で生じる。そのようなハイブリダイゼーションは、好ましくは、厳しいハイブリダイゼーション条件に対応している。与えられたイオン強度およびp Hで、T mは、標的配列の5 0 %が相補的オリゴヌクレオチドにハイブリダイズする温度である。

#### 【0210】

オリゴヌクレオチドなどのオリゴマーは、ハイブリダイゼーションが2つの一本鎖ポリヌクレオチド間の逆平行構成で生じるときに、互いに「相補的」である。二本鎖ポリヌクレオチドは、ハイブリダイゼーションが第1のポリヌクレオチドの鎖の1つと第2のポリヌクレオチドの鎖の1つとの間に生じる場合に、別のポリヌクレオチドに「相補的」であり得る。相補性 (1つのポリヌクレオチドが別のポリヌクレオチドと相補的である程度) は、一般に容認された塩基対合則に従って、互いに水素結合を形成すると予期される対向する鎖における塩基の割合 (例えばパーセンテージ) の点から数量化できる。アンチセンスオリゴマー ( A S O ) の配列は、ハイブリダイズするその標的核酸の配列に1 0 0 %相補的である必要はない。特定の実施形態では、A S Oは、標的とされる標的核酸配列内の標的部位に対する、少なくとも7 0 %、少なくとも7 5 %、少なくとも8 0 %、少なくとも8 5 %、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 6 %、少なくとも9 7 %、少なくとも9 8 %、または少なくとも9 9 %の配列相補性を含むことができる。例えば、オリゴマー化合物の2 0の核酸塩基のうちの1 8が標的部位に相補的であり、それ故、特異的にハイブリダイズするA S Oは、9 0パーセントの相補性を表わす。この例において、残りの相補的でない核酸塩基は、ともにクラスター化され得るか、または相補的な核酸塩基と共に分散され ( i n t e r s p e r s e d )、互いに又は相補的な核酸塩基に隣接している必要はない。A S Oの標的核酸の領域とのパーセント相補性は、B L A S Tプログラム (基礎的なローカルアライメント検索ツール) および当該技術分野で既知のP o w

erBLASTプログラム(Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403-410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649-656)を慣例的に使用して判定され得る。

#### 【0211】

ASOは、標的配列におけるすべての核酸塩基にハイブリダイズする必要はなく、それがハイブリダイズする核酸塩基は、隣接しているか又は隣接していないかもしれない。ASOは、mRNA前駆体の転写産物の1つ以上のセグメントにわたってハイブリダイズし得、その結果、介在する又は隣接するセグメントは、ハイブリダイゼーション事象に関係しない(例えば、ループ構造またはヘアピン構造が形成され得る)。特定の実施形態では、ASOは、標的mRNA前駆体の転写産物において隣接していない核酸塩基にハイブリダイズする。例えば、ASOは、ASOがハイブリダイズしない1つ以上の核酸塩基によって分離される、mRNA前駆体の転写産物における核酸塩基にハイブリダイズすることができる。

10

#### 【0212】

本明細書に記載されるASOは、RIC mRNA前駆体の標的部分に存在する核酸塩基に相補的である核酸塩基を含む。用語「ASO」は、オリゴヌクレオチド、および標的mRNA上の相補的な核酸塩基にハイブリダイズすることができる核酸塩基を含むが、ペプチド核酸(PNA)などの糖部を含まない、他のオリゴマー分子を具体化する。ASOは、自然発生のヌクレオチド、ヌクレオチドアナログ、修飾されたヌクレオチド、またはそれらの2つ又は3つの任意の組み合わせを含み得る。用語「自然発生のヌクレオチド」は、デオキシリボヌクレオチドおよびリボヌクレオチドを含む。用語「修飾されたヌクレオチド」は、修飾された又は置換された糖類及び/又は修飾された骨格を有するヌクレオチドを含む。幾つかの実施形態では、ASOのヌクレオチドのすべてが、修飾されたヌクレオチドである。本明細書に記載される方法および組成物と適合性のあるASOの化学修飾およびASOの成分は、当業者に明白であり、例えば、米国特許第8,258,109号B2、米国特許第5,656,612号、米国特許公開番号2012/0190728、およびDias and Stein, Mol. Cancer Ther. 2002, 347-355で見ることができ、それら全体が引用によって本明細書に組み込まれる。

20

#### 【0213】

ASOの核酸塩基は、アデニン、グアニン、シトシン、チミンおよびウラシルなどの自然発生の未修飾の核酸塩基、または標的mRNA前駆体上に存在する核酸塩基との水素結合が可能であるように未修飾の核酸塩基に十分に類似している合成または修飾された核酸塩基であり得る。修飾された核酸塩基の例としては、限定されないが、ヒポキサンチン、キサンチン、7-メチルグアニン、5,6-ジヒドロウラシル、5-メチルシトシン、および5-ヒドロキシメチルシトシンが挙げられる。

30

#### 【0214】

本明細書に記載されるASOはまた、オリゴマーの成分に結合する骨格構造を含む。用語「骨格構造」および「オリゴマー結合」は、交換可能に使用され、ASOの単量体間の結合を指し得る。自然発生のオリゴヌクレオチドでは、骨格は、オリゴマーの糖部を結合する3'-5'ホスホジエステル結合を含む。本明細書に記載されるASOの骨格構造またはオリゴマー結合は、(限定されないが)ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホロジセレノエート、ホスホロアニロチオエート、ホスホラニラデート(phosphoranyl adate)、ホスホラミデート(phosphoramidate)などを含む。例えば、LaPlanche et al., Nucleic Acids Res. 14:9081 (1986); Stec et al., J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984), Stein et al., Nucleic Acids Res. 16:3209 (1988), Zon et al., Anti Cancer Drug Design 6:539 1991; Zon et al., Oligonucleotides and Ana

40

50

logues: A Practical Approach, pp. 87 - 108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stec et al., 米国特許第5,151,510号; Uhlmann and Peyman, Chemical Reviews 90:543 (1990)を参照。幾つかの実施形態では、ASOの骨格構造は、亜リン酸を含有していないが、例えば、ペプチド核酸(PNA)、またはカルバミン酸塩、アミド、および直鎖および環式の炭化水素基を含む連結基において、ペプチド結合を含有している。幾つかの実施形態では、骨格修飾は、ホスホロチオエート結合である。幾つかの実施形態では、骨格修飾は、ホスホラミデート結合である。

#### 【0215】

実施形態では、ASO骨格のリンヌクレオチド間の結合の各々での立体化学は、ランダムである。実施形態では、ASO骨格のリンヌクレオチド間の結合の各々での立体化学は、制御され、ランダムではない。例えば、引用によって本明細書に組み込まれた米国特許公開番号2014/0194610、「Methods for the Synthesis of Functionalized Nucleic Acids」は、核酸オリゴマーにおいて各リン原子でキラリティーの対掌性(handedness)を独立して選択する方法について記載している。実施形態において、本発明の方法において使用されるASOは、ランダムではないリンヌクレオチド間の結合を持つASOを含む。実施形態では、本発明の方法に使用される組成物は、純粋なジアステレオマーASOを含む。実施形態では、本発明の方法に使用される組成物は、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、約100%、約90%～約100%、約91%～約100%、約92%～約100%、約93%～約100%、約94%～約100%、約95%～約100%、約96%～約100%、約97%～約100%、約98%～約100%、または約99%～約100%のジアステレオマー純度を有するASOを含む。

#### 【0216】

実施形態では、ASOは、そのリンヌクレオチド間の結合でRpおよびSpの構成のランダムでない混合物を有している。例えば、RpとSpの混合物が、アンチセンスオリゴヌクレオチドにおいて、優れた活性とヌクレアーゼ安定性との間のバランスを達成する必要があることが示唆されてきた(Wan, et al., 2014, 「Synthesis, biophysical properties and biological activity of second generation antisense oligonucleotides containing chiral phosphorothioate linkages,」Nucleic Acids Research 42(22): 13456 - 13468、これは引用によって本明細書に組み込まれる)。実施形態では、本発明の方法に使用されるASOは、約5 - 100%のRp、少なくとも約5%のRp、少なくとも約10%のRp、少なくとも約15%のRp、少なくとも約20%のRp、少なくとも約25%のRp、少なくとも約30%のRp、少なくとも約35%のRp、少なくとも約40%のRp、少なくとも約45%のRp、少なくとも約50%のRp、少なくとも約55%のRp、少なくとも約60%のRp、少なくとも約65%のRp、少なくとも約70%のRp、少なくとも約75%のRp、少なくとも約80%のRp、少なくとも約85%のRp、少なくとも約90%のRp、または少なくとも約95%のRpと、残りのSp、または約100%のRpを含む。実施形態では、本発明の方法に使用されるASOは、約10%～約100%のRp、約15%～約100%のRp、約20%～約100%のRp、約25%～約100%のRp、約30%～約100%のRp、約35%～約100%のRp、約40%～約100%のRp、約45%～約100%のRp、約50%～約100%のRp、約55%～約100%のRp、約60%～約100%のRp、約65%～約100%のRp、約70%～約100%のRp、約75%～約100%のRp、約80%～約100%のRp、約85%～約100%のRp、約90%～

約 100% の R p、または約 95% ~ 約 100% の R p、約 20% ~ 約 80% の R p、約 25% ~ 約 75% の R p、約 30% ~ 約 70% の R p、約 40% ~ 約 60% の R p、または約 45% ~ 約 55% の R p と、残りの S p を含む。

#### 【0217】

実施形態では、本発明の方法に使用される A S O は、約 5 - 100% の S p、少なくとも約 5% の S p、少なくとも約 10% の S p、少なくとも約 15% の S p、少なくとも約 20% の S p、少なくとも約 25% の S p、少なくとも約 30% の S p、少なくとも約 35% の S p、少なくとも約 40% の S p、少なくとも約 45% の S p、少なくとも約 50% の S p、少なくとも約 55% の S p、少なくとも約 60% の S p、少なくとも約 65% の S p、少なくとも約 70% の S p、少なくとも約 75% の S p、少なくとも約 80% の S p、少なくとも約 85% の S p、少なくとも約 90% の S p、または少なくとも約 95% の S p と、残りの R p、あるいは約 100% の S p を含む。実施形態では、本発明の方法に使用される A S O は、約 10% ~ 約 100% の S p、約 15% ~ 約 100% の S p、約 20% ~ 約 100% の S p、約 25% ~ 約 100% の S p、約 30% ~ 約 100% の S p、約 35% ~ 約 100% の S p、約 40% ~ 約 100% の S p、約 45% ~ 約 100% の S p、約 50% ~ 約 100% の S p、約 55% ~ 約 100% の S p、約 60% ~ 約 100% の S p、約 65% ~ 約 100% の S p、約 70% ~ 約 100% の S p、約 75% ~ 約 100% の S p、約 80% ~ 約 100% の S p、約 85% ~ 約 100% の S p、約 90% ~ 約 100% の S p、または約 95% ~ 約 100% の S p、約 20% ~ 約 80% の S p、約 25% ~ 約 75% の S p、約 30% ~ 約 70% の S p、約 40% ~ 約 60% の S p、または約 45% ~ 約 55% の S p と、残りの R p を含む。

#### 【0218】

本明細書に記載される A S O のいずれかは、自然発生のヌクレオチド中に存在するような、リボースまたはデオキシリボースを含む糖部、あるいはモルホリン環を含む、修飾された糖部または糖アナログを含有し得る。修飾された糖部の限定しない例は、2' - O - メチル (2' - O - Me)、2' - O - メトキシエチル (2' MOE)、2' - O - アミノエチル、2' F ; N 3' - > P 5' ホスホラミデート、2' ジメチルアミノオキシエトキシ、2' ジメチルアミノエトキシエトキシ、2' - グアニジニウム (guanidinium)、2' - O - グアニジニウムエチル、カルバミン酸塩修飾した糖、および二環式修飾した糖などの、2' 置換基が挙げられる。幾つかの実施形態では、糖部修飾は、2' - O - Me、2' F、および 2' MOE から選択される。幾つかの実施形態では、糖部修飾は、ロックド核酸 (LNA) におけるような追加の架橋結合である。幾つかの実施形態では、糖アナログは、ホスホロジアミデートモルホリノ (PMO) などのモルホリン環を含有している。幾つかの実施形態では、糖部は、リボフラノシルまたは 2' デオキシリボフラノシルの修飾を含む。幾つかの実施形態では、糖部は、2' 4' 抑制された (constrained) 2' O - メチルオキシエチル (cMOE) 修飾を含む。幾つかの実施形態では、糖部は、cEt 2' , 4' 抑制された 2' - O エチル BNA 修飾を含む。幾つかの実施形態では、糖部は、トリシクロ DNA (tcDNA) 修飾を含む。幾つかの実施形態では、糖部は、エチレン核酸 (ENA) 修飾を含む。幾つかの実施形態では、糖部は、MCE 修飾を含む。修飾は当該技術分野で既知であり、文献、例えば、Jarver, et al., 2014, 「A Chemical View of Oligonucleotides for Exon Skipping and Related Drug Applications」, Nucleic Acid Therapeutics 24(1): 37-47 に記載され、これは、この目的のための引用によって本明細書に組み込まれる。

#### 【0219】

幾つかの例では、A S O の各モノマーは、同じ方法で修飾され、例えば、A S O の骨格の各結合はホスホロチオエート結合を含み、または各リボース糖部は 2' O - メチル修飾を含む。A S O の単量体成分の各々の上に存在する、そのような修飾は、「均一な修飾」と呼ばれる。幾つかの例では、異なる修飾の組み合わせが望まれ得、例えば、A S O は、ホスホロジアミデート結合とモルホリン環を含む糖部 (モルホリノ) との組み合わせを含み得

る。ASOへの異なる修飾の組み合わせは、「混合修飾」または「混合化学作用」と呼ばれる。

#### 【0220】

幾つかの実施形態では、ASOは、1つ以上の骨格修飾を含む。幾つかの実施形態では、ASOは、1つ以上の糖部修飾を含む。幾つかの実施形態では、ASOは、1つ以上の骨格修飾および1つ以上の糖部修飾を含む。幾つかの実施形態では、ASOは、2' MOE修飾およびホスホロチオエート骨格を含む。幾つかの実施形態では、ASOは、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)を含む。幾つかの実施形態では、ASOは、ペプチド核酸(PNA)を含む。本明細書に記載されるASOのいずれか又はASOの成分(例えば、核酸塩基、糖部、骨格)は、ASOの望ましい特性または活性を達成するために或いはASOの望ましくない特性または活性を減少させるために修飾されてもよい。例えば、ASOまたはASOの1つ以上の成分は、mRNA前駆体の転写産物上の標的配列への結合親和性を増強する；非標的配列への結合を減少させる；細胞のヌクレアーゼ(つまり、RNase H)による分解を減少させる；細胞及び/又は細胞の核へのASOの取り込みを改善する；ASOの薬物動態(pharmacokinetics)または薬力(pharmacodynamics)を変更する；およびASOの半減期を調節するために修飾され得る。

10

#### 【0221】

幾つかの実施形態では、ASOは、2'-O-(2-メトキシエチル)(MOE)ホスホロチオエート修飾されたヌクレオチドで構成される。そのようなヌクレオチドで構成されたASOは、特に、本明細書で開示される方法によく適しており、そのような修飾を有しているオリゴマーは、ヌクレアーゼ分解に対する著しく増強された耐性および増加したバイオアベイラビリティを有すると示されており、これによって、例えば、本明細書に記載される幾つかの実施形態における経口送達に適するようになる。例えば、Geary et al., J Pharmacol Exp Ther. 2001; 296(3):890-7; Geary et al., J Pharmacol Exp Ther. 2001; 296(3):898-904を参照。

20

#### 【0222】

ASOを合成する方法は当業者に既知である。代替的に又は加えて、ASOは商用源から得てもよい。

30

#### 【0223】

他に明記されない限り、一本鎖核酸(例えば、mRNA前駆体の転写産物、オリゴヌクレオチド、ASOなど)配列の左端は、5'末端であり、一本鎖または二本鎖の核酸配列の左方向は、5'方向と呼ばれる。同様に、核酸配列(一本鎖または二本鎖)の右端または右方向は、3'末端または3'方向である。一般に、核酸中の基準点に対する5'にある領域または配列は、「上流」として言及され、核酸中の基準点に対する3'にある領域または配列は、「下流」として言及される。一般に、mRNAの5'方向または5'末端は、開始コドン(initiation or start codon)が位置する場所であり、一方で、3'末端または3'方向は、終止コドンが位置する場所である。幾つかの態様では、核酸中の基準点の上流にあるヌクレオチドは、負の数によって指定され、基準点の下流にあるヌクレオチドは、正の数によって指定され得る。例えば、基準点(例えば、mRNA中のエクソン-エクソン連結)は「ゼロ」部位として指定され得、基準点に直接隣接し且つその上流にあるヌクレオチドは、「マイナス1」、例えば「-1」と指定され、一方で、基準点に直接隣接し且つその下流にあるヌクレオチドは、「プラス1」、例えば「+1」と指定される。

40

#### 【0224】

他の実施形態において、ASOは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体に

50



おける保持されたイントロンの5'スプライス部位の下流(3'方向)にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分(例えば、5'スプライス部位に対して正の数により指定される方向)に相補的である(及び、それに結合する)(図1)。幾つかの実施形態において、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対して+6~+100の領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。幾つかの実施形態では、ASOは、5'スプライス部位に対して、+1~+5までのヌクレオチド(5'スプライス部位の下流に位置付けられた最初の5つのヌクレオチド)に対して相補的ではない。幾つかの実施形態において、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対してヌクレオチド+6と+50の間の領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的であり得る。幾つかの態様では、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対する+6~+90、+6~+80、+6~+70、+6~+60、+6~+50、+6~+40、+6~+30、または+6~+20の領域内にある標的部分に相補的である。

#### 【0225】

幾つかの実施形態では、ASOは、ROM1、TEAD1、RDH3、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体における保持されたイントロンの5'スプライス部位の上流(5'方向)にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA5、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的領域(例えば、負の数により指定される方向)に相補的である(図1)。幾つかの実施形態において、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位に対して-16~-100の領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。幾つかの実施形態では、ASOは、3'スプライス部位に対して、-1~-15までのヌクレオチド(3'スプライス部位の上流に位置付けられた最初の15のヌクレオチド)には相補的ではない。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位に対して-16~-50の領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。幾つかの態様では、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位に対する-16~-90、-16~-80、-16~-70、-16~-60、-16~-50、-16~-40、または-16~-30の領域内にある、標的部分に相補的である。

#### 【0226】

実施形態では、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FS

CN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対し+100から、保持されたイントロンの3'スプライス部位に対し-100までの領域内にある。

#### 【0227】

幾つかの実施形態において、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位（上流）に隣接するエクソン内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である（図1）。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に隣接する+2e~-4eの領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対するヌクレオチド-1e~-3eに相補的ではない。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対して-4e~-100e、-4e~-90e、-4e~-80e、-4e~-70e、-4e~-60e、-4e~-50e、-4e~-40e、-4e~-30e、または-4e~-20eの領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。

#### 【0228】

幾つかの実施形態において、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位（下流）に隣接するエクソン内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である（図1）。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位に隣接するエクソンにおける+2e~-4eの領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位に対するヌクレオチド+1eに相補的ではない。幾つかの実施形態では、ASOは、保持されたイントロンの3'スプライス部位に対して+2e~+100e、+2e~+90e、+2e~+80e、+2e~+70e、+2e~+60e、+2e~+50e、+2e~+40e、の+2e~+30e、または+2e~+20eの領域内にある、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分に相補的である。ASOは、スプライシングの特異的結合および効果的な増強作用に適する任意の長さでもよい。幾つかの実施形態では、ASOは8から50の核酸塩基から成る。例えば、ASOは、長さが、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、45または50の核酸塩基でもよい。幾つかの実施形態では、ASOは50より多くの核酸塩基から成る。幾つかの実施形態では、ASOは、長さが8~50の核酸塩基、8~40の核酸塩基、8~35の核酸塩基、8~30の核酸塩基、8~25の核酸塩基、8~20の核酸塩基、8~15の核酸塩基、9~50の核酸塩基、9~40の核酸塩基、9~35の核酸塩基、9~30の核酸塩基、9~25の核酸塩基、9~20の核酸塩基、9~15の核酸塩基、10~50の核酸塩基、10~40の核酸塩基、10~35の核酸塩基、10~30の核酸塩基、10~25の核酸塩基、10~20の核酸塩基、10~15の核酸塩基、11~50の核酸塩基、11~40の核酸塩基、11~35の核酸塩基、11~30の核酸塩基、11~25の核酸塩基、11~20の核酸塩基、11~15の核酸塩基、12~50の核酸塩基、12~40の核酸塩基、12~35の核酸塩基、12~30の核酸塩基、12~25の核酸塩基、12~20の核酸塩基、12~15の核酸塩基、13~50の核酸塩基、13~40の核酸塩基、13~35の核酸塩基、13~30の核酸塩基、13~25の核酸塩基、13~20の核酸塩基、14~50の核酸塩基、14~40の核酸塩基、14~35の核酸塩基、14~30の核酸塩基、14~25の核酸塩基、14~20の核酸塩基、15~50の核酸塩基、15~40の核酸塩基、15~35の核酸塩基、15~30の核酸塩基、15~25の核酸塩基、15~20の核酸塩基、20~50の核酸塩基、20~40の核酸塩基、20~35の核酸塩基、20~30の核酸塩基、20~25の核酸塩基、25~50の核酸塩基、25~40の核酸塩基、25~35の核酸塩基、または25~30の核酸塩基である。幾つかの実施形態では、ASOは長さが18のヌクレオチドである。幾つかの実施形態では、ASOは長さが15のヌクレオチドである。幾つかの実施形態では、ASOは長さが25のヌクレオチドである。

10

20

#### 【0229】

幾つかの実施形態では、異なる化学的性質を有するが、RIC mRNA前駆体の同じ標的部分に対して相補的である2つ以上のASOが使用される。幾つかの実施形態では、RIC mRNA前駆体の異なる標的部分に対して相補的である2つ以上のASOが使用される。

#### 【0230】

実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、1つ以上の部分または抱合体、例えば、オリゴヌクレオチドの活性または細胞取り込みを増強する標的部分または他の抱合体に化学的に連結される。そのような部分には、限定されないが、例えば、コレステロール部分、コレステリル部分、例えばドデカンジオールまたはウンデシル残基などの脂肪族鎖、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖、または、アダマンタン酢酸として、脂質部分が含まれる。親油性部分を含むオリゴヌクレオチドおよび調製方法は、公開された文献に記載されている。実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、限定されないが、脱塩基ヌクレオチド、ポリエーテル、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、炭水化物、例えばN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、N-Ac-グルコサミン(GlucNAc)、またはマンノース(例えばマンノース6-リン酸)、脂質、またはポリ炭化水素化合物を含む部分と抱合する。抱合体は、例えばリンカーを使用して、当技術分野において理解され且つ文献中に記載されるように、砂糖、塩基またはリン酸基上のいかなる様々な位置においても、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む任意のヌクレオチドの1つ以上に連結され得る。リンカーは二価または三価の分枝したリンカーを含むことができる。実施形態では、抱合体はアンチセンスオリゴヌクレオチドの3'末端に付けられている。オリゴヌクレオチド抱合体を調製する方法は、例えば、米国特許第8,450,467号「Carbohydrate conjugates as delivery agents for oligonucleotides」に記載され、これは参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

#### 【0231】

幾つかの実施形態では、ASOにより標的とされる核酸は、真核細胞などの細胞に発現される、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、

50

A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1、または I D U A の R I C mRNA 前駆体である。幾つかの実施形態では、用語「細胞」は、細胞の集団を指すこともある。幾つかの実施形態では、細胞は被験体内に存在する。幾つかの実施形態では、細胞は被験体から単離されている。幾つかの実施形態では、細胞はエクスピボである。幾つかの実施形態では、細胞は疾病関連細胞もしくは疾患関連の細胞、または細胞株である。幾つかの実施形態では、細胞はインビトロである（例えば細胞培養液中にある）。

#### 【0232】

##### 医薬組成物

記載された組成物のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含み、上記方法のいずれかにおいて使用するための医薬組成物または医薬製剤は、医薬品産業において周知の従来技術に従って調製することができ、且つ公開文献においても記載されている。実施形態において、被験体を処置するための医薬組成物または医薬製剤は、上記のような任意のアンチセンスオリゴマー、またはその薬学的に許容可能な塩、溶媒和物、水和物、またはエステルの有効量、および薬学的に許容可能な希釈剤を含む。医薬製剤のアンチセンスオリゴマーはさらに、薬学的に許容可能な賦形剤、希釈剤または担体を含み得る。

#### 【0233】

薬学的に許容可能な塩は、過度の毒性反応、刺激反応、アレルギー反応等を持たないヒトおよび下等動物の組織に接する使用に適しており、かつ適切なベネフィット・リスク比に見合う。（例えば、この目的のための参照によって本明細書に組み込まれる S. M. Berge, et al., J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977) を参照）。塩は、化合物の最終的な分離および精製中にインサイチュで、または遊離基機能を適切な有機酸と反応させることによって別々に調製され得る。薬学的に許容可能で無毒な酸付加塩の例は、塩化水素、臭化水素酸、リン酸、硫酸、および過塩素酸などの無機酸か、酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸もしくはマロン酸などの有機酸か、またはイオン交換などの他の文書で立証された方法を用いることによって形成されたアミノ基の塩である。他の薬学的に許容可能な塩は、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサノ酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシ-エタンスルホン酸塩、ラクチン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸、チオシアン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などを含む。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属の塩は、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどを含む。さらに薬学的に許容可能な塩は、適切な場合、ハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルのスルホン酸塩、およびアリアルスルホン酸塩などの対イオンを使用して形成された、無毒なアンモニウム、第四級アンモニウム、およびアミンのカチオンを含む。

#### 【0234】

実施形態において、組成物は、限定されないが、錠剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、液体シロップ剤、ソフトゲル剤、坐薬および浣腸剤などの多くの可能な剤形のいずれかへと製剤される。実施形態において、組成物は、水性媒体、非水性媒体、または混合媒体状の懸濁液として製剤される。水性懸濁液は、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、および/またはデキストランを含む、懸濁液の粘度を増加させる物質を

10

20

30

40

50

さらに含むこともある。その懸濁液は、安定化剤も含むこともある。実施形態において、本発明の医薬製剤または組成物は、限定されないが、溶液、エマルジョン、マイクロエマルジョン、発泡体またはリボソーム含有製剤（例えばカチオンリボソームまたは非カチオンリボソーム）を含む。

#### 【0235】

本発明の医薬組成物または製剤は、適切かつ当業者に周知なように、または公開文献において記載されているように、1つ以上の浸透促進剤、担体、賦形剤、または他の活性成分もしくは不活性成分を含むこともある。実施形態において、リボソームは立体的に安定したリボソーム、例えば1つ以上の特定の脂質を含むリボソームも含む。これらの特定の脂質は、高められた循環寿命を有するリボソームを結果としてもたらす。実施形態において、立体的に安定したリボソームは、1つ以上の糖脂質を含むか、またはポリエチレングリコール（PEG）部分などの1つ以上の親油性高分子を用いて誘導体化される。実施形態において、界面活性剤は医薬製剤または組成物中に含まれる。薬物製品、製剤およびエマルジョンにおける界面活性剤の使用は、当技術分野においてよく知られている。複数の実施形態では、本発明は、例えば、細胞膜を通る拡散を助け、および/または親油性薬物の浸透性を増強するために、アンチセンスオリゴヌクレオチドの効率的な送達をもたらす促進剤を利用する。実施形態において、浸透促進剤は、界面活性剤、脂肪酸、胆汁塩、キレート剤、または非キレート非界面活性剤である。

10

#### 【0236】

実施形態において、医薬製剤は複数のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは他の薬物または治療剤と組み合わせて投与される。実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、当技術分野において知られている任意の方法によって、血液脳関門を介する被験体のアンチセンスオリゴヌクレオチドの浸透を促進することができる1つ以上の薬剤と共に投与される。例えば、筋組織内の運動ニューロンへアデノウイルスベクターを投与することによる薬剤の送達は、引用によって本明細書に組み込まれる、米国特許第6,632,427号「Adenoviral-vector-mediated gene transfer into medullary motor neurons」に記載されている。脳、例えば線条体、視床、海馬、黒質へのベクターの直接的な送達は、例えば、引用によって本明細書に組み込まれる米国特許第6,756,523号「Adenovirus vectors for the transfer of foreign genes into cells of the central nervous system particularly in brain」に記載されている。

20

30

#### 【0237】

実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、望ましい薬理学的性質または薬力学的性質を提供する薬剤に結合されるか抱合される。実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、血液脳関門を介する浸透または輸送を促進するために当技術分野において知られている物質、例えばトランスフェリン受容体の抗体に連結される。実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、アンチセンス化合物をより効果的にするために、または血液脳関門を通る輸送を増加させるために、ウイルスベクターに結合される。実施形態において、浸透性の血液脳関門の破壊は、砂糖、例えばメソエリスリトール、キシリトール、D(+)ガラクトース、D(+)ラクトース、D(+)キシロース、ズルシトール、ミオ-イノシトール、L(-)フルクトース、D(-)マンニトール、D(+)グルコース、D(+)アラビノース、D(-)アラビノース、セロビオース、D(+)マルトース、D(+)ラフィノース、L(+)ラムノース、D(+)メリビオース、D(-)リボース、アドニトール、D(+)アラビトール、L(-)アラビトール、D(+)フコース、L(-)フコース、D(-)リキソース、L(+)リキソース、およびL(-)リキソース、またはアミノ酸、例えばグルタミン、リジン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、チロシン

40

50

、バリリン、およびタウリンを注入することにより促進される。脳血液関門浸透を増強する方法と材料は、例えば、米国特許第4,866,042号「Method for the delivery of genetic material across the blood brain barrier」、米国特許第6,294,520号「Material for passage through the blood-brain barrier」および米国特許第6,936,589号「Parenteral delivery systems」に記載され、参照により各々が本明細書に組込まれる。

#### 【0238】

実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、1つ以上の部分または抱合体、例えば、オリゴヌクレオチドの活性または細胞取り込みを増強する標的部分または他の抱合体、に化学的に連結される。そのような部分には、限定されないが、例えば、コレステロール部分、コレステリル部分などのような脂質部分、例えばドデカンジオールまたはウンデシルの残基、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖などの脂肪族鎖、または、アダマンタン酢酸が含まれる。親油性部分を含むオリゴヌクレオチドおよび調製方法は、公開された文献に記載されている。複数の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、限定されないが、脱塩基ヌクレオチド、ポリエーテル、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、例えばN-アセチルガラクトサミン(GluNAc)、N-Acグルコサミン(GalNAc)などの炭水化物、もしくはマンノース(例えばマンノース-6-リン酸)、脂質、またはポリ炭化水素化合物を含む部分で抱合される。当該技術分野で理解され文献に記載されるように、例えばリンカーを用いて、抱合体は、糖、塩基またはリン酸基上のいくつかの位置のうちのいずれかでアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む任意のヌクレオチドの1つ以上に結合することができる。リンカーは二価または三価の分枝リンカーを含むことができる。実施形態では、抱合体はアンチセンスオリゴヌクレオチドの3'末端に結合されている。オリゴヌクレオチド抱合体を調製する方法は、例えば、米国特許第8,450,467号「Carbohydrate conjugates as delivery agents for oligonucleotides」に記載され、参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0239】

##### 被験体の処置

本明細書に提供される組成物のうちのいずれかが個体に投与されうる。「個体」は、「被験体」または「患者」と交換可能に使用されてもよい。個体は哺乳動物でもよく、例えば人間、または、人類以外の霊長類、げっ歯類、ウサギ、ラット、マウス、馬、ロバ、ヤギ、猫、犬、雌牛、ブタ、あるいは羊などの動物である。実施形態では、個体はヒトである。実施形態では、個体は胎児、胚、または小児である。他の実施形態では、個体は植物などの別の真核生物であってもよい。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される化合物は細胞にエキスピボで投与される。

#### 【0240】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される組成物は、疾患または障害を処置する方法として個体に投与される。いくつかの実施形態では、個体は、本明細書に記述された疾病のいずれかなどの遺伝病を有する。いくつかの実施形態では、個体は、本明細書に記述された疾病のいずれかなどの疾病を有するリスクがある。いくつかの実施形態では、個体は、不十分な量のタンパク質または不十分な活性のタンパク質により引き起こされる疾病または障害を有するリスクが増大している。個体が、不十分な量のタンパク質または不十分な活性のタンパク質により引き起こされる疾病または障害を有するリスクが増大している場合、方法は防止的または予防的な処置を含む。例えば、個体は、その疾病の家族健康歴のために、そのような疾病または障害を有するリスクが増大している場合がある。典型的には、そのような疾病または障害を有するリスクが増大している個体は、予防的処置(例えば、疾病または障害の発症または悪化を予防するかまたは遅らせることによる)から利益を受ける。

#### 【0241】

本発明のASOの投与に適切な経路は、ASOの送達が所望される細胞型に応じて変わってくる。本発明のASOは、例えば、硝子体内注入、網膜下注入、局所適用、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射または静脈内注射によって、患者に非経口的に投与されてもよい。複数の実施形態では、送達は心臓または肝臓に行われる。実施形態では、胎児は、例えば胎児にASO組成物を直接的または間接的に（例えば母親を介して）投与することによって、子宮内で処置される。

#### 【0242】

本発明の組成物は任意の適切な手段により筋細胞に提供されてもよく、これらの手段には、直接的な投与（例えば、治療部位での注射または局所投与による局所的）、または全身性（例えば非経口または経口）、鼻腔内、経口、または、硝子体内、網膜下、移植、吸入、腸内、局所、子宮内、膈内、舌下、直腸、筋肉内、胸膜内、脳室内、腹腔内、目、静脈内、皮下の手段が含まれる。

#### 【0243】

スプライシングを増強する追加のASOを特定する方法

標的イントロンにおいて特異的にROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGFR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUARIIC mRNA前駆体のスプライシングを増強する付加的なASOを特定する（判定する）方法も本発明の範囲内である。mRNA前駆体の標的領域内で様々なヌクレオチドに特異的にハイブリダイズするASOは、標的イントロンのスプライシングの速度および/または程度を改善するASOを特定する（判定する）ためにスクリーニングされてもよい。いくつかの実施形態では、ASOはスプライシング抑制因子/サイレンサーの結合部位をブロックまたは妨害することがある。当該技術分野において既知の任意の方法が、イントロンの標的領域にハイブリダイズされた時に所望の効果（例えばスプライシング、タンパク質または機能的なRNA生産の向上）をもたらすASOを特定する（判定する）ために使用されてもよい。これらの方法はまた、保持されたイントロンに隣接するエクソン中、または保持されていないイントロン中の標的領域へ結合することにより、保持されたイントロンのスプライシングを増強するASOの特定のために使用することができる。使用されうる方法の一例が下記に提供される。

#### 【0244】

mRNA前駆体の標的領域にハイブリダイズするように設計されたASOを用いて、ASO「ウォーク」(walk)と呼ばれる、一ラウンドのスクリーニングを行いうる。例えば、ASOウォークに使用されるASOは、保持されたイントロンの5'スプライス部位のおよそ100ヌクレオチド上流（例えば、標的とされた/保持されたイントロンの上流に位置するエクソンの配列の一部）から、標的とされた/保持されたイントロンの5'スプライス部位のおよそ100ヌクレオチド下流まで、および/または、保持されたイントロンの3'スプライス部位のおよそ100ヌクレオチド上流から、標的とされた/保持されたイントロンの3'スプライス部位のおよそ100ヌクレオチド下流（例えば、標的とされた/保持されたイントロンの下流に位置するエクソンの配列の一部）まで、5つのヌクレオチドごとに敷き詰められ得る。例えば、15ヌクレオチドの長さの第1のASOは、標的とされた/保持されたイントロンの5'スプライス部位に対しヌクレオチド+6から+20に特異的にハイブリダイズするように設計され得る。第2のASOは、標的とされた/保持されたイントロンの5'スプライス部位に対するヌクレオチド+11から+25に特異的にハイブリダイズするように設計されている。ASOは、mRNA前駆体の標的領域に及ぶように設計されている。実施形態では、ASOは、より密に、例えば、1、2、3、または4つのヌクレオチドごとに敷き詰められ得る。さらに、ASOは、5'スプライス部位の100ヌクレオチド下流から、3'スプライス部位の100ヌクレオチド上流まで敷き詰められ得る。

#### 【0245】

10

20

30

40

50

1つ以上のASO、または1つの対照ASO（標的領域にハイブリダイズするとは预期されていない配列である、スクランブル配列を有するASO）は、例えばトランスフェクションによって、標的mRNA前駆体（例えば、本明細書で別記されるRIC mRNA前駆体）を発現する疾患関連細胞株へと送達される。ASOの各々のスプライシングを誘発する効果は、本明細書で記載されるように、当該技術分野で既知の方法、例えば、スプライスジャンクションに及ぶプライマーを使用する逆転写酵素（RT）-PCRによって評価され得る（「イントロン保持事象の特定」を参照）。対照ASO処理された細胞と比較して、ASO処理された細胞におけるスプライスジャンクションに及ぶプライマーを使用して生成されたRT-PCR産物が減少または欠如することは、標的イントロンのスプライシングが増強されたことを示している。いくつかの実施形態では、スプライシング効率、スプライシングされていないmRNA前駆体に対するスプライシングされたmRNA前駆体の割合、スプライシングの速度、またはスプライシングの程度は、本明細書に記載されるASOを使用して改善され得る。標的mRNA前駆体によってコードされるタンパク質または機能RNAの量も、各ASOが所望の効果（例えば、タンパク質産生の増強）を達成したかどうかを判定するために評価され得る。ウェスタンブロッティング、フローサイトメトリー、免疫蛍光顕微鏡検査法、およびELISAなどの、タンパク質産生を評価し及び/又は定量するための、当該技術分野で既知の方法も使用することができる。

10

#### 【0246】

ASO「マイクロウォーク」（micro-walk）と呼ばれる第2ラウンドのスクリーニングは、mRNA前駆体の標的領域にハイブリダイズするように設計されたASOを使用して実行され得る。ASOマイクロウォークに使用されるASOは、ASOでハイブリダイズされたときに結果的にスプライシングを増強させるmRNA前駆体のヌクレオチド酸配列をさらに改良する（refine）ために、1つのヌクレオチドごとに敷き詰められる。

20

#### 【0247】

標的イントロンのスプライシングを促進するASOによって定義される領域は、1-ntステップ（1-nt steps）で配置されたASO、ならびに、典型的には18-25ntである、より長いASOを含む、ASO「マイクロウォーク」によって、より詳細に調査される。

#### 【0248】

上記でASOウォークに関して記載されたように、1つ以上のASO、または対照ASO（標的領域にハイブリダイズすると预期されていない配列である、スクランブル配列を有するASO）を、例えばトランスフェクションによって、標的mRNA前駆体を発現する疾患関連細胞株へと送達することにより、ASOマイクロウォークが実行されうる。ASOの各々のスプライシングを誘発する効果は、本明細書で記載されるように、当該技術分野で既知の方法、例えば、スプライスジャンクションに及ぶプライマーを使用する逆転写酵素（RT）-PCRによって評価され得る（「イントロン保持事象の特定」を参照）。対照ASO処理された細胞と比較して、ASO処理された細胞におけるスプライスジャンクションに及ぶプライマーを使用して生成されたRT-PCR産物が減少または欠如することは、標的イントロンのスプライシングが増強されたことを示している。いくつかの実施形態では、スプライシング効率、スプライシングされていないmRNA前駆体に対するスプライシングされたmRNA前駆体の割合、スプライシングの速度、またはスプライシングの程度は、本明細書に記載されるASOを使用して改善され得る。標的mRNA前駆体によってコードされるタンパク質または機能RNAの量も、各ASOが所望の効果（例えば、タンパク質産生の増強）を達成したかどうかを判定するために評価され得る。ウェスタンブロッティング、フローサイトメトリー、免疫蛍光顕微鏡検査法、およびELISAなどの、タンパク質産生を評価し及び/又は定量するための、当該技術分野で既知の方法も使用することができる。

30

40

#### 【0249】

mRNA前駆体の領域にハイブリダイズされたときに、結果的にスプライシングを増強さ

50



せ、タンパク質産生を増加させる A S O は、動物モデル、例えば、全長ヒト遺伝子がノックインされたトランスジェニックマウスモデルまたは疾患のヒト化マウスモデルを使用して、インビボで試験され得る。A S O の投与に適した経路は、A S O の送達が望まれる疾患及び/又は細胞型に応じて変化し得る。A S O は、例えば、腹腔内注射、筋肉注射、皮下注射、または静脈注射によって投与され得る。投与後に、モデル動物の細胞、組織、及び/又は臓器は、当該技術分野に既知の方法および本明細書に記載される方法によって、例えば、スプライシング（効率、速度、程度）およびタンパク質産生を評価することにより、A S O 処置の効果を判定するために評価され得る。動物モデルはまた、疾患または疾患重症度の表現型の徴候または行動的な徴候であり得る。

【 0 2 5 0 】

本発明の好ましい実施形態が本明細書に示され記載された一方、そのような実施形態が一例としてのみ提供されていることは当業者にとって明白である。多くの変更、変化および置換が、本発明から逸脱することなく、当業者の心に思い浮かぶであろう。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代案が、本発明の実施において利用されるかもしれないことを理解されたい。以下の請求項は本発明の範囲を定義するものであり、この請求項とその均等物の範囲内の方法および構造体がそれによって包含されるものであるということが意図されている。

本明細書は以下の発明の態様を包含する。

[ 1 ]

被験体の細胞により標的タンパク質または機能的 R N A の発現を増加させることによって、必要としている被験体の眼疾患を処置する方法であって、該細胞は、保持されたイントロン含有 m R N A 前駆体（ R I C m R N A 前駆体）を有し、該 R I C m R N A 前駆体は、保持されたイントロン、5' スプライス部位に隣接しているエクソン、および 3' スプライス部位に隣接しているエクソンを含み、ここで、R I C m R N A 前駆体は、標的タンパク質または機能的 R N A をコードし、該方法は、被験体の細胞を、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする R I C m R N A 前駆体の標的部分に相補的なアンチセンスオリゴマー（ A S O ）と接触させる工程を含み、それによって、保持されたイントロンは、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする R I C m R N A 前駆体から構成的にスプライシングされ、それにより、被験体の細胞内で、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする m R N A のレベルを増加させ、標的タンパク質または機能的 R N A の発現を増加させる、方法。

[ 2 ]

眼疾患は、網膜色素変性症 - 7、S v e i n s s o n 網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症 3 7、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全 - 1、両側性視神経形成不全、錐体杆体ジストロフィー - 2、レーバー先天黒内障 - 7、網膜色素変性症 3 0、シュタルガルト病 - 1、網膜色素変性症 - 1 9、加齢黄斑変性 - 2、錐体杆体ジストロフィー - 3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー - 3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン蓄積症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症 1 2、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障 2、網膜色素変性症 2 0、レーバー先天黒内障 1 4、網膜色素変性症、オール - トランスレチナール（例えば S T G D 1）の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障 1 3、網膜色素変性症 4 4、色覚異常 - 2、時差ぼけ、アルストレーム症候群、弱毒化 M P S - 1（ハーラー - シャイエ症候群およびシャイエ症候群）、またはバルデー・ビードル症候群である、[ 1 ]に記載の方法。

[ 3 ]

標的タンパク質の発現を増加させる方法であって、ここで、該標的タンパク質は、保持されたイントロン含有 m R N A 前駆体（ R I C m R N A 前駆体）を有する細胞によって R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1

、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのスプライシング効率を改善し、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの発現であり、RIC mRNA前駆体は、保持されたイントロン、保持されたイントロンの5'スプライス部位に隣接するエクソン、保持されたイントロンの3'スプライス部位に隣接するエクソンを含み、該RIC mRNA前駆体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの発現をコードし、該方法は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの発現をコードするRIC mRNA前駆体の標的部分へ相補的なアンチセンスオリゴマー(ASO)と、細胞とを接触させ、それによって、保持されたイントロンは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAタンパク質のスプライシング効率の改善によって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUA発現をコードするRIC mRNA前駆体から構成的にスプライシングされ、それにより、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAタンパク質をコードするmRNAのレベルを増加させる工程と、細胞において、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAタンパク質のスプライシング効率を改善することによって、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAの発現を増加させる工程と、を含み、ここで、標的タンパク質は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAである、方法。

[ 4 ]

標的タンパク質は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX

10

20

30

40

50

、 F S C N 2、 A B C A 4、 M Y O C、 T C F 4、 M F S D 8、 C T N S、 N X N L 1、  
O P T N、 R L B P 1、 R P E 6 5、 L R A T、 R D H 8、 R D H 1 2、 R G R、 C N G  
A 3、 A L M S 1、 P E R 1、 または I D U A である、 [ 1 ] または [ 2 ] に記載の方法。  
[ 5 ]

標的タンパク質または機能的 R N A は、被験体において量または活性が不足している標  
的タンパク質または機能的 R N A を機能的に増強または交換する、補償タンパク質または  
補償する機能的 R N A である、 [ 1 ] または [ 2 ] に記載の方法。

[ 6 ]

細胞は、不足した量または活性の R O M 1、 T E A D 1、 R D H 5、 N R 2 E 3、 P A  
X 6、 C R X、 F S C N 2、 A B C A 4、 M Y O C、 T C F 4、 M F S D 8、 C T N S、  
N X N L 1、 O P T N、 R L B P 1、 R P E 6 5、 L R A T、 R D H 8、 R D H 1 2、 R  
G R、 C N G A 3、 A L M S 1、 P E R 1、 または I D U A タンパク質によって引き起こ  
された疾病を有する被験体内にある、またはその被験体由来である、 [ 3 ] に記載の方法。

[ 7 ]

標的タンパク質の量の不足は標的タンパク質のハプロ不全によって引き起こされ、ここ  
で被験体は、機能的な標的タンパク質をコードする第 1 の対立遺伝子、および標的タンパ  
ク質が産生されない第 2 の対立遺伝子、または非機能的な標的タンパク質をコードする第  
2 の対立遺伝子を有し、アンチセンスオリゴマーは、第 1 の対立遺伝子から転写された R  
I C m R N A 前駆体の標的部分に結合する、 [ 1 ] から [ 6 ] のいずれか 1 つに記載の  
方法。

[ 8 ]

被験体は、標的タンパク質の量または機能の不足に起因する障害により引き起こされた  
疾病を有し、ここで被験体は、

( a ) 第 1 の変異対立遺伝子であって、そこから、

( i ) 標的タンパク質が野生型対立遺伝子からの産生と比較して低下したレベルで産生  
されるか、

( i i ) 標的タンパク質が同等の野生型タンパク質と比較して低下した機能を有する形  
態で産生されるか、または

( i i i ) 標的タンパク質が産生されない、第 1 の変異対立遺伝子と、

( b ) 第 2 の変異対立遺伝子であって、そこから、

( i ) 標的タンパク質が野生型対立遺伝子からの産生と比較して低下したレベルで産生  
されるか、

( i i ) 標的タンパク質が同等の野生型タンパク質と比較して低下した機能を有する形  
態で産生されるか、または

( i i i ) 標的タンパク質が産生されない、第 2 の変異対立遺伝子と、を有し、

ここで、被験体は、第 1 の変異対立遺伝子 ( a ) ( i i i ) を有するとき、第 2 の変異対  
立遺伝子は ( b ) ( i ) または ( b ) ( i i ) であり、かつ被験体が第 2 の変異対立遺伝  
子 ( b ) ( i i i ) を有するとき、第 1 の変異対立遺伝子は ( a ) ( i ) あるいは ( a )  
( i i ) であり、およびここで、 R I C m R N A 前駆体は、 ( a ) ( i ) もしくは ( a )  
( i i ) である第 1 の変異対立遺伝子から、および / または ( b ) ( i ) もしくは ( b )  
( i i ) である第 2 の変異対立遺伝子から転写される、 [ 1 ] から [ 6 ] のいずれか 1  
つに記載の方法。

[ 9 ]

標的タンパク質が、同等の野生型タンパク質と比較して機能が低下した形態で産生され  
る、 [ 8 ] に記載の方法。

[ 1 0 ]

標的タンパク質が、同等の野生型タンパク質と比較して完全に機能的である形態で産生  
される、 [ 8 ] に記載の方法。

[ 1 1 ]

R I C m R N A 前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位に対

10

20

30

40

50

$$\underline{[1\ 2]}$$
$$\underline{\quad 1 \quad 3 \quad}$$

10

$$\underline{\underline{[1\ 4]}}$$

20

- 30

40

[ 1 5 ]

50

- (a) SEQ ID NO 26674、SEQ ID NO 26706、SEQ ID NO 26656、SEQ ID NO 26681、もしくはSEQ ID NO 26664、  
(b) SEQ ID NO 26691、もしくはSEQ ID NO 26671、  
(c) SEQ ID NO 26669、もしくはSEQ ID NO 26696、  
(d) SEQ ID NO 26711、  
(e) SEQ ID NO 26703、もしくはSEQ ID NO 26708、  
(f) SEQ ID NO 26668、SEQ ID NO 26679、SEQ ID NO 26700、SEQ ID NO 26655、もしくはSEQ ID NO 26663、

(g) SEQ ID NO 26685、  
(h) SEQ ID NO 26714、  
(i) SEQ ID NO 26657、SEQ ID NO 26687、もしくはSEQ ID NO 26683、  
(j) SEQ ID NO 26672、  
(k) SEQ ID NO 26697、SEQ ID NO 26677、SEQ ID NO 26707、SEQ ID NO 26678、SEQ ID NO 26713、SEQ ID NO 26694、もしくはSEQ ID NO 26659、  
(l) SEQ ID NO 26665、  
(m) SEQ ID NO 26704、SEQ ID NO 26666、SEQ ID NO 26709、もしくはSEQ ID NO 26684、  
(n) SEQ ID NO 26693、  
(o) SEQ ID NO 26702、SEQ ID NO 26660、SEQ ID NO 26705、SEQ ID NO 26698、SEQ ID NO 26658、SEQ ID NO 26676、SEQ ID NO 26712、もしくはSEQ ID NO 26701、  
(p) SEQ ID NO 26673、もしくはSEQ ID NO 26667、  
(q) SEQ ID NO 26690、もしくはSEQ ID NO 26692、  
(r) SEQ ID NO 26682、もしくはSEQ ID NO 26710、  
(s) SEQ ID NO 26670、SEQ ID NO 26662、もしくはSEQ ID NO 26661、  
(t) SEQ ID NO 26688、もしくはSEQ ID NO 26689、  
(u) SEQ ID NO 26680、  
(v) SEQ ID NO 26699、もしくは、  
(w) SEQ ID NO 26695、もしくはSEQ ID NO 26686  
 の少なくとも8つの近接する核酸を含む領域に対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、もしくは100%の配列同一性を備えた配列を含む、[13]または[14]に記載の方法。

[16]

ASOは、

(a) SEQ ID NO 84 - 1126のいずれか1つ、  
(b) SEQ ID NO 1127 - 1528のいずれか1つ、  
(c) SEQ ID NO 1529 - 2318のいずれか1つ、  
(d) SEQ ID NO 2319 - 2770のいずれか1つ、  
(e) SEQ ID NO 2771 - 3631のいずれか1つ、  
(f) SEQ ID NO 3632 - 4443のいずれか1つ、  
(g) SEQ ID NO 4444 - 6647のいずれか1つ、  
(h) SEQ ID NO 6648 - 7579のいずれか1つ、  
(i) SEQ ID NO 7580 - 8958のいずれか1つ、  
(j) SEQ ID NO 8959 - 9163のいずれか1つ、  
(k) SEQ ID NO 9164 - 15179のいずれか1つ、  
(l) SEQ ID NO 15180 - 15486のいずれか1つ、  
(m) SEQ ID NO 15487 - 16202のいずれか1つ、  
(n) SEQ ID NO 16203 - 16458のいずれか1つ、  
(o) SEQ ID NO 16459 - 18209のいずれか1つ、  
(p) SEQ ID NO 18210 - 18638のいずれか1つ、  
(q) SEQ ID NO 18639 - 19534のいずれか1つ、  
(r) SEQ ID NO 19535 - 19845のいずれか1つ、  
(s) SEQ ID NO 19846 - 20849のいずれか1つ、  
(t) SEQ ID NO 20850 - 24737のいずれか1つ、

(u) SEQ ID NO 24738 - 24873のいずれか1つ、  
 (v) SEQ ID NO 24874 - 25231のいずれか1つ、または  
 (w) SEQ ID NO 25232 - 26654のいずれか1つ  
 に対する、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の  
 配列同一性を備えた配列を含む、[13]から[15]のいずれか1つに記載の方法。  
 [17]

RIC mRNA前駆体は、

(a) SEQ ID NO 24、  
 (b) SEQ ID NO 25、  
 (c) SEQ ID NO 26、  
 (d) SEQ ID NO 27、もしくはSEQ ID NO 28、  
 (e) SEQ ID NO 29、  
 (f) SEQ ID NO 30、もしくはSEQ ID NO 31、  
 (g) SEQ ID NO 32、もしくはSEQ ID NO 33、  
 (h) SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 35、SEQ ID NO 36、  
 もしくはSEQ ID NO 37、  
 (i) SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、もしくはSEQ ID NO 40、  
 (j) SEQ ID NO 41、  
 (k) SEQ ID NO 42、SEQ ID NO 43、SEQ ID NO 44、  
 SEQ ID NO 45、SEQ ID NO 46、SEQ ID NO 47、SEQ  
 ID NO 48、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 50、SEQ ID  
 NO 51、もしくはSEQ ID NO 52、  
 (l) SEQ ID NO 53、  
 (m) SEQ ID NO 54、もしくはSEQ ID NO 55、  
 (n) SEQ ID NO 56、  
 (o) SEQ ID NO 57、またはSEQ ID NO 58、  
 (p) SEQ ID NO 59、  
 (q) SEQ ID NO 60、もしくはSEQ ID NO 61、  
 (r) SEQ ID NO 62、  
 (s) SEQ ID NO 63、もしくはSEQ ID NO 64、  
 (t) SEQ ID NO 65、SEQ ID NO 66、SEQ ID NO 67、  
 SEQ ID NO 68、SEQ ID NO 69、SEQ ID NO 70、SEQ  
 ID NO 71、SEQ ID NO 72、SEQ ID NO 73、SEQ ID  
 NO 74、SEQ ID NO 75、SEQ ID NO 76、SEQ ID NO  
 77、SEQ ID NO 78、SEQ ID NO 79、もしくはSEQ ID NO 80、  
 (u) SEQ ID NO 81、  
 (v) SEQ ID NO 82、または、  
 (w) SEQ ID NO 83

に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、もしくは100%の  
 配列同一性を備えた配列を含む、[13]から[16]のいずれか1つに記載の方法。

[18]

RIC mRNA前駆体は、

(a) SEQ ID NO 1、  
 (b) SEQ ID NO 2、  
 (c) SEQ ID NO 3、  
 (d) SEQ ID NO 4、  
 (e) SEQ ID NO 5、  
 (f) SEQ ID NO 6、  
 (g) SEQ ID NO 7、  
 (h) SEQ ID NO 8、

( i ) S E Q I D N O 9、  
( j ) S E Q I D N O 10、  
( k ) S E Q I D N O 11、  
( l ) S E Q I D N O 12、  
( m ) S E Q I D N O 13、  
( n ) S E Q I D N O 14、  
( o ) S E Q I D N O 15、  
( p ) S E Q I D N O 16、  
( q ) S E Q I D N O 17、  
( r ) S E Q I D N O 18、  
( s ) S E Q I D N O 19、  
( t ) S E Q I D N O 20、  
( u ) S E Q I D N O 21、  
( v ) S E Q I D N O 22、  
( w ) S E Q I D N O 23

に対して、少なくとも約 80 %、85 %、90 %、95 %、97 %、もしくは 100 % の配列同一性を備えた遺伝子配列によりコードされる、[ 13 ] から [ 17 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 19 ]

R I C m R N A 前駆体の標的部分は、

( a ) 保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位に対する + 6 から + 100 の領域内；または

( b ) 保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位に対する - 16 から - 100 の領域内の保持されたイントロンにある、[ 1 ] から [ 18 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 20 ]

アンチセンスオリゴマーが、少なくとも 1 つの保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位の約 100 ヌクレオチド下流から、少なくとも 1 つの保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位の約 100 ヌクレオチド上流の領域内にある、R I C m R N A 前駆体の一部を標的とする、[ 1 ] から [ 18 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 21 ]

R I C m R N A 前駆体の標的部分は、( a ) 保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位に隣接しているエクソンにおける + 2 e から - 4 e の領域内；

または ( b ) 保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位に隣接しているエクソンにおける + 2 e から - 4 e の領域内にある、[ 1 ] から [ 18 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 22 ]

アンチセンスオリゴマーは、機能的 R N A または標的タンパク質をコードする遺伝子から転写された m R N A 前駆体の選択的スプライシングを調節することにより、標的タンパク質または機能的 R N A の量を増加させない、[ 1 ] から [ 20 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 23 ]

アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする遺伝子の変異から結果として生じる異常スプライシングを調節することにより、標的タンパク質または機能的 R N A の量を増加させない、[ 1 ] から [ 22 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 24 ]

R I C m R N A 前駆体は、全長 m R N A 前駆体の部分的スプライシングまたは野生型 m R N A 前駆体の部分的スプライシングによって産生された、[ 1 ] から [ 23 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 25 ]

標的タンパク質または機能的 R N A をコードする m R N A は、全長成熟 m R N A または野生型成熟 m R N A である、[ 1 ] から [ 24 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

30

40

50

[ 2 6 ]

生産される標的タンパク質は全長タンパク質または野生型タンパク質である、[ 1 ] から [ 2 5 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 2 7 ]

アンチセンスオリゴマーと接触させられた細胞内で生産された標的タンパク質または機能的 RNA をコードする mRNA の総量は、対照細胞内で生産された標的タンパク質または機能的 RNA をコードする mRNA の総量と比較して、約 1 . 1 倍から約 1 0 倍、約 1 . 5 倍から約 1 0 倍、約 2 倍から約 1 0 倍、約 3 倍から約 1 0 倍、約 4 倍から約 1 0 倍、約 1 . 1 倍から約 5 倍、約 1 . 1 倍から約 6 倍、約 1 . 1 倍から約 7 倍、約 1 . 1 倍から約 8 倍、約 1 . 1 倍から約 9 倍、約 2 倍から約 5 倍、約 2 倍から約 6 倍、約 2 倍から約 7 倍、約 2 倍から約 8 倍、約 2 倍から約 9 倍、約 3 倍から約 6 倍、約 3 倍から約 7 倍、約 3 倍から約 8 倍、約 3 倍から約 9 倍、約 4 倍から約 7 倍、約 4 倍から約 8 倍、約 4 倍から約 9 倍、少なくとも約 1 . 1 倍、少なくとも約 1 . 5 倍、少なくとも約 2 倍、少なくとも約 2 . 5 倍、少なくとも約 3 倍、少なくとも約 3 . 5 倍、少なくとも約 4 倍、少なくとも約 5 倍、または少なくとも約 1 0 倍増加する、[ 1 ] から [ 2 6 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

10

[ 2 8 ]

アンチセンスオリゴマーと接触させられた細胞によって生産された標的タンパク質の総量は、対照細胞内で生産された標的タンパク質の総量と比較して、約 1 . 1 倍から約 1 0 倍、約 1 . 5 倍から約 1 0 倍、約 2 倍から約 1 0 倍、約 3 倍から約 1 0 倍、約 4 倍から約 1 0 倍、約 1 . 1 倍から約 5 倍、約 1 . 1 倍から約 6 倍、約 1 . 1 倍から約 7 倍、約 1 . 1 倍から約 8 倍、約 1 . 1 倍から約 9 倍、約 2 倍から約 5 倍、約 2 倍から約 6 倍、約 2 倍から約 7 倍、約 2 倍から約 8 倍、約 2 倍から約 9 倍、約 3 倍から約 6 倍、約 3 倍から約 7 倍、約 3 倍から約 8 倍、約 3 倍から約 9 倍、約 4 倍から約 7 倍、約 4 倍から約 8 倍、約 4 倍から約 9 倍、少なくとも約 1 . 1 倍、少なくとも約 1 . 5 倍、少なくとも約 2 倍、少なくとも約 2 . 5 倍、少なくとも約 3 倍、少なくとも約 3 . 5 倍、少なくとも約 4 倍、少なくとも約 5 倍、または少なくとも約 1 0 倍増加する、[ 1 ] から [ 2 7 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

20

[ 2 9 ]

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロチオエート結合またはホスホロジアミデート結合を含む骨格修飾を含む、[ 1 ] から [ 2 8 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

30

[ 3 0 ]

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロジアミデートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2' - O メチル部分、2' - フルオロ部分、または 2' - O - メトキシエチル部分を含む、[ 1 ] から [ 2 9 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 3 1 ]

アンチセンスオリゴマーは、少なくとも 1 つの修飾された糖部を含む、[ 1 ] から [ 3 0 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

[ 3 2 ]

各糖部は修飾された糖部である、[ 3 1 ] のいずれか 1 つに記載の方法。

40

[ 3 3 ]

アンチセンスオリゴマーは、8 から 5 0 の核酸塩基、8 から 4 0 の核酸塩基、8 から 3 5 の核酸塩基、8 から 3 0 の核酸塩基、8 から 2 5 の核酸塩基、8 から 2 0 の核酸塩基、8 から 1 5 の核酸塩基、9 から 5 0 の核酸塩基、9 から 4 0 の核酸塩基、9 から 3 5 の核酸塩基、9 から 3 0 の核酸塩基、9 から 2 5 の核酸塩基、9 から 2 0 の核酸塩基、9 から 1 5 の核酸塩基、1 0 から 5 0 の核酸塩基、1 0 から 4 0 の核酸塩基、1 0 から 3 5 の核酸塩基、1 0 から 3 0 の核酸塩基、1 0 から 2 5 の核酸塩基、1 0 から 2 0 の核酸塩基、1 0 から 1 5 の核酸塩基、1 1 から 5 0 の核酸塩基、1 1 から 4 0 の核酸塩基、1 1 から 3 5 の核酸塩基、1 1 から 3 0 の核酸塩基、1 1 から 2 5 の核酸塩基、1 1 から 2 0 の核酸塩基、1 1 から 1 5 の核酸塩基、1 2 から 5 0 の核酸塩基、1 2 から 4 0 の核酸塩基、

50



12から35の核酸塩基、12から30の核酸塩基、12から25の核酸塩基、12から20の核酸塩基、または12から15の核酸塩基から成る、[1]から[32]のいずれか1つに記載の方法。

[34]

アンチセンスオリゴマーは、タンパク質をコードするRIC mRNA前駆体の標的部分に、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%相補的である、[1]から[33]のいずれか1つに記載の方法。

[35]

細胞は、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の集団を含み、ここでRIC mRNA前駆体の集団は、2つ以上の保持されたイントロンを含み、アンチセンスオリゴマーは、RIC mRNA前駆体の集団において最も豊富な保持されたイントロンに結合する、[1]から[34]のいずれか1つに記載の方法。

10

[36]

最も豊富な保持されたイントロンに対するアンチセンスオリゴマーの結合は、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAを産生するために、RIC mRNA前駆体の集団からの2つ以上の保持されたイントロンからのスプライシングアウトを誘発する、[35]に記載の方法。

[37]

20

細胞は、標的タンパク質または機能的RNAをコードする遺伝子から転写されたRIC mRNA前駆体の集団を含み、ここでRIC mRNA前駆体の集団は、2つ以上の保持されたイントロンを含み、アンチセンスオリゴマーは、RIC mRNA前駆体の集団において2番目に豊富な保持されたイントロンに結合する、[1]から[34]のいずれか1つに記載の方法。

[38]

2番目に豊富な保持されたイントロンに対するアンチセンスオリゴマーの結合は、標的タンパク質または機能的RNAをコードするmRNAを産生するために、RIC mRNA前駆体の集団からの2つ以上の保持されたイントロンからのスプライシングアウトを誘発する、[37]に記載の方法。

30

[39]

疾病は疾患また障害である、[6]から[38]のいずれか1つに記載の方法。

[40]

疾患または障害は、網膜色素変性症-7、Sveinsson網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症37、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全-1、両側性視神経形成不全、錐体杆体ジストロフィー-2、レーバー先天黒内障-7、網膜色素変性症30、シュタルガルト病-1、網膜色素変性症-19、加齢黄斑変性-2、錐体杆体ジストロフィー-3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー-3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン蓄積症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症12、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障2、網膜色素変性症20、レーバー先天黒内障14、網膜色素変性症、オール-トランスレチナール(例えばSTGD1)の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障13、網膜色素変性症44、色覚異常-2、時差ぼけ、アルストレーム症候群、弱毒化MPS-1(ハーラー-シャイエ症候群およびシャイエ症候群)、またはバルデー・ビードル症候群である、[39]に記載の方法。

40

[41]

標的タンパク質およびRIC mRNA前駆体は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、

50

R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1またはI D U Aの遺伝子によってコードされる、[ 4 0 ]に記載の方法。

[ 4 2 ]

タンパク質の発現を評価する工程をさらに含む、[ 1 ]から[ 4 1 ]のいずれか1つに記載の方法。

[ 4 3 ]

アンチセンスオリゴマーは、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1またはI D U AのR I C m R N A前駆体の標的部分へ結合する、[ 1 ]から[ 4 2 ]のいずれか1つに記載の方法。

10

[ 4 4 ]

被験体はヒトである、[ 1 ]から[ 4 3 ]のいずれか1つに記載の方法。

[ 4 5 ]

被験体はヒト以外の動物である、[ 1 ]から[ 4 3 ]のいずれか1つに記載の方法。

[ 4 6 ]

被験体は胎児、胚、または小児である、[ 1 ]から[ 4 4 ]のいずれか1つに記載の方法。

[ 4 7 ]

細胞はエスキボにある、[ 1 ]から[ 4 5 ]のいずれか1つに記載の方法。

20

[ 4 8 ]

アンチセンスオリゴマーは、被験体の硝子体内注射、網膜下注射、局所投与、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、または静脈内注射によって投与される、[ 1 ]から[ 4 5 ]のいずれか1つに記載の方法。

[ 4 9 ]

5'スプライス部位に隣接しているエクソンの-3eから-1eおよび保持されたイントロンの+1から+6における9つのヌクレオチドは、対応する野生型配列と同一である、[ 1 ]から[ 4 8 ]のいずれか1つに記載の方法。

[ 5 0 ]

保持されたイントロンの-15から-1および3'スプライス部位に隣接しているエクソンの+1eにおける16のヌクレオチドは、対応する野生型配列と同一である、[ 1 ]から[ 4 9 ]のいずれか1つに記載の方法。

30

[ 5 1 ]

[ 1 ]から[ 5 0 ]のいずれか1つの方法で使用される、アンチセンスオリゴマー。

[ 5 2 ]

S E Q I D N O 8 4 - 2 6 [ 6 5 4 ]のいずれか1つに対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、または100%の配列同一性を有する配列を含む、アンチセンスオリゴマー。

[ 5 3 ]

[ 5 1 ]または[ 5 2 ]のアンチセンスオリゴマーおよび賦形剤を含む、医薬組成物。

40

[ 5 4 ]

硝子体内注射、網膜下注射、局所投与、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、または静脈内注射によって[ 5 3 ]の医薬組成物を投与することにより、それらを必要としている被験体を処置する方法。

[ 5 5 ]

不足しているタンパク質または不足している機能的RNAに関連する、処置を必要としている被験体における、網膜色素変性症-7、S v e i n s s o n網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症37、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全-1、両側性視神経形成不全、錐体杆体ジストロフィー-2、レーバー先天黒内障-7、網膜色素変性症30、シュタルガルト病-1、網膜色素変性症-19、加齢黄斑変性-

50

2、錐体杆体ジストロフィー - 3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー - 3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン蓄積症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症 1 2、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障 2、網膜色素変性症 2 0、レーバー先天黒内障 1 4、網膜色素変性症、オール - トランスレチナル（例えば S T G D 1）の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障 1 3、網膜色素変性症 4 4、色覚異常 - 2、時差ぼけ、アルストレーム症候群、弱毒化 M P S - 1（ハーラー - シャイエ症候群およびシャイエ症候群）、またはバルデー・ビードル症候群を処置するための細胞により、標的タンパク質または機能的 R N A の発現を増加させる方法で使用されるためのアンチセンスオリゴマーを含む組成物であって、ここで、不足しているタンパク質または不足している機能的 R N A は、被験体において量あるいは活性が不足しており、ここで、アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする、保持されたイントロン含有 m R N A 前駆体（R I C m R N A 前駆体）の構成的のスプライシングを増強し、ここで、標的タンパク質は：

（ a ）不足しているタンパク質；または

（ b ）被験体において不足しているタンパク質を機能的に増強または交換する、補償タンパク質であり、

ここで、機能的 R N A は：

（ a ）不足している R N A ；または

（ b ）被験体において不足している機能的 R N A を機能的に増強または交換する、補償する機能的 R N A であり、

ここで、R I C m R N A 前駆体は、保持されたイントロン、5 ' スプライス部位に隣接しているエクソン、および 3 ' スプライス部位に隣接しているエクソンを含み、保持されたイントロンは、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする R I C m R N A 前駆体からスプライシングされ、それによって、被験体において標的タンパク質または機能的 R N A の産生または活性を増加させる、組成物。

[ 5 6 ]

処置を必要とする被験体における R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A のタンパク質に関連する疾病を処置する方法で使用されるアンチセンスオリゴマーを含む組成物であって、該方法は、被験体の細胞によって、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A のタンパク質の発現を増加させる工程を含み、ここで、細胞は、保持されたイントロン、保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位に隣接するエクソン、保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位に隣接するエクソンを含む保持されたイントロン含有 m R N A 前駆体を有し、および R I C m R N A 前駆体は、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A のタンパク質をコードし、該方法は、細胞をアンチセンスオリゴマーと接触させる工程であって、それによって、保持されたイントロンは、R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2 E 3、P A X 6、C R X、F S C N 2、A B C A 4、M Y O C、T C F 4、M F S D 8、C T N S、N X N L 1、O P T N、R L B P 1、R P E 6 5、L R A T、R D H 8、R D H 1 2、R G R、C N G A 3、A L M S 1、P E R 1 または I D U A のタンパク質をコードする R I C m R N A 前駆体の転写産物から構成的にスプライシングされ、それにより標的タンパク質または機能的 R N A をコードする m R N A のレベルを増加させる工程と、被験体の細胞において R O M 1、T E A D 1、R D H 5、N R 2

10

20

30

40

50

E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、またはIDUAのタンパク質の発現を増加させる工程を含む、組成物。

[ 5 7 ]

標的タンパク質は、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、またはIDUAである、[ 5 6 ]に記載の組成物。

[ 5 8 ]

疾病は疾患また障害である、[ 5 6 ]または[ 5 7 ]に記載の組成物。

[ 5 9 ]

疾患または障害は、網膜色素変性症 - 7、Sveinsson網脈絡膜萎縮、白点状眼底、網膜色素変性症 3 7、無虹彩症、視神経コロボーマ、眼コロボーマ、中心窩形成不全 - 1、両側性視神経形成不全、錐体杆体ジストロフィー - 2、レーバー先天黒内障 - 7、網膜色素変性症 3 0、シュタルガルト病 - 1、網膜色素変性症 - 1 9、加齢黄斑変性 - 2、錐体杆体ジストロフィー - 3、原発開放隅角緑内障、フックス角膜内皮ジストロフィー - 3、中央錐体が関係する黄斑ジストロフィー、眼性非腎症性シスチン蓄積症、レーバー先天黒内障、原発開放隅角緑内障、筋萎縮性側索硬化症 1 2、ボスニア型の網膜ジストロフィー、白点状眼底、白点状網膜炎、レーバー先天黒内障 2、網膜色素変性症 2 0、レーバー先天黒内障 1 4、網膜色素変性症、オール - トランスレチナル (例えばSTGD 1) の遅いクリアランスまたは蓄積による眼疾患、レーバー先天黒内障 1 3、網膜色素変性症 4 4、色覚異常 - 2、時差ぼけ、アルストレーム症候群、弱毒化MPS - 1 (ハーラー - シャイエ症候群およびシャイエ症候群)、またはバルデー・ビードル症候群である、[ 5 8 ]に記載の組成物。

[ 6 0 ]

標的タンパク質およびRIC mRNA前駆体は、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1またはIDUAの遺伝子によってコードされる、[ 5 9 ]に記載の組成物。

[ 6 1 ]

アンチセンスオリゴマーは、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対する+ 6から保持されたイントロンの3'スプライス部位に対する- 1 6の領域内の保持されたイントロンにあるRIC mRNA前駆体の一部を標的とする、[ 5 5 ]から[ 6 0 ]のいずれか1つに記載の組成物。

[ 6 2 ]

RIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対する+ 6 9から保持されたイントロンの3'スプライス部位に対する- 7 9の領域内の保持されたイントロンにある、[ 5 5 ]から[ 6 0 ]のいずれか1つに記載の組成物。

[ 6 3 ]

標的タンパク質は、( a ) ABCA 4、( b ) RPE 6 5、( c ) MYOC、( d ) CNGA 3、( e ) MFSD 8、( f ) IDUA、( g ) LRAT、( h ) OPTN、( i ) RGR、( j ) TEAD 1、( k ) PAX 6、( l ) ROM 1、( m ) RDH 5、( n ) RDH 1 2、( o ) NR 2 E 3、( p ) RLBP 1、( q ) CTNS、( r ) PER 1、( s ) FSCN 2、( t ) TCF 4、( u ) RDH 8、( v ) NXNL 1、または( w ) CRXである、[ 5 5 ]から[ 6 2 ]のいずれか1つに記載の組成物。

[ 6 4 ]

RIC mRNA前駆体の標的部分は、

( a ) SEQ ID NO 8 4 - 1 1 2 6のいずれか1つ、

10

20

30

40

50

(b) SEQ ID NO 1127 - 1528のいずれか1つ、  
 (c) SEQ ID NO 1529 - 2318のいずれか1つ、  
 (d) SEQ ID NO 2319 - 2770のいずれか1つ、  
 (e) SEQ ID NO 2771 - 3631のいずれか1つ、  
 (f) SEQ ID NO 3632 - 4443のいずれか1つ、  
 (g) SEQ ID NO 4444 - 6647のいずれか1つ、  
 (h) SEQ ID NO 6648 - 7579のいずれか1つ、  
 (i) SEQ ID NO 7580 - 8958のいずれか1つ、  
 (j) SEQ ID NO 8959 - 9163のいずれか1つ、  
 (k) SEQ ID NO 9164 - 15179のいずれか1つ、  
 (l) SEQ ID NO 15180 - 15486のいずれか1つ、  
 (m) SEQ ID NO 15487 - 16202のいずれか1つ、  
 (n) SEQ ID NO 16203 - 16458のいずれか1つ、  
 (o) SEQ ID NO 16459 - 18209のいずれか1つ、  
 (p) SEQ ID NO 18210 - 18638のいずれか1つ、  
 (q) SEQ ID NO 18639 - 19534のいずれか1つ、  
 (r) SEQ ID NO 19535 - 19845のいずれか1つ、  
 (s) SEQ ID NO 19846 - 20849のいずれか1つ、  
 (t) SEQ ID NO 20850 - 24737のいずれか1つ、  
 (u) SEQ ID NO 24738 - 24873のいずれか1つ、  
 (v) SEQ ID NO 24874 - 25231のいずれか1つ、または  
 (w) SEQ ID NO 25232 - 26654のいずれか1つに  
 少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、または100%相補的な配列を  
 含む、[63]に記載の組成物。

10

20

[65]

RIC mRNA前駆体の標的部分は、

(a) SEQ ID NO 26674、SEQ ID NO 26706、SEQ ID NO 26656、SEQ ID NO 26681、もしくはSEQ ID NO 26664、  
 (b) SEQ ID NO 26691、もしくはSEQ ID NO 26671、  
 (c) SEQ ID NO 26669、もしくはSEQ ID NO 26696、  
 (d) SEQ ID NO 26711、  
 (e) SEQ ID NO 26703、もしくはSEQ ID NO 26708、  
 (f) SEQ ID NO 26668、SEQ ID NO 26679、SEQ ID NO 26700、SEQ ID NO 26655、もしくはSEQ ID NO 26663、  
 (g) SEQ ID NO 26685、  
 (h) SEQ ID NO 26714、  
 (i) SEQ ID NO 26657、SEQ ID NO 26687、もしくはSEQ ID NO 26683、  
 (j) SEQ ID NO 26672、  
 (k) SEQ ID NO 26697、SEQ ID NO 26677、SEQ ID NO 26707、SEQ ID NO 26678、SEQ ID NO 26713、SEQ ID NO 26694、もしくはSEQ ID NO 26659、  
 (l) SEQ ID NO 26665、  
 (m) SEQ ID NO 26704、SEQ ID NO 26666、SEQ ID NO 26709、もしくはSEQ ID NO 26684、  
 (n) SEQ ID NO 26693、  
 (o) SEQ ID NO 26702、SEQ ID NO 26660、SEQ ID NO 26705、SEQ ID NO 26698、SEQ ID NO 26658、SEQ ID NO 26676、SEQ ID NO 26712、もしくはSEQ ID NO 26701、

30

40

50

(p) SEQ ID NO 26673、もしくはSEQ ID NO 26667、  
 (q) SEQ ID NO 26690、もしくはSEQ ID NO 26692、  
 (r) SEQ ID NO 26682、もしくはSEQ ID NO 26710、  
 (s) SEQ ID NO 26670、SEQ ID NO 26662、もしくはSEQ  
 ID NO 26661、  
 (t) SEQ ID NO 26688、もしくはSEQ ID NO 26689、  
 (u) SEQ ID NO 26680、  
 (v) SEQ ID NO 26699、もしくは、  
 (w) SEQ ID NO 26695、もしくはSEQ ID NO 26686  
 の少なくとも8つの近接する核酸を含む領域に対して、少なくとも80%、85%、90  
 %、95%、97%、もしくは100%の配列同一性を備えた配列を含む、[63]また  
 は[64]に記載の組成物。

10

[66]

ASOは、

(a) SEQ ID NO 84 - 1126のいずれか1つ、  
 (b) SEQ ID NO 1127 - 1528のいずれか1つ、  
 (c) SEQ ID NO 1529 - 2318のいずれか1つ、  
 (d) SEQ ID NO 2319 - 2770のいずれか1つ、  
 (e) SEQ ID NO 2771 - 3631のいずれか1つ、  
 (f) SEQ ID NO 3632 - 4443のいずれか1つ、  
 (g) SEQ ID NO 4444 - 6647のいずれか1つ、  
 (h) SEQ ID NO 6648 - 7579のいずれか1つ、  
 (i) SEQ ID NO 7580 - 8958のいずれか1つ、  
 (j) SEQ ID NO 8959 - 9163のいずれか1つ、  
 (k) SEQ ID NO 9164 - 15179のいずれか1つ、  
 (l) SEQ ID NO 15180 - 15486のいずれか1つ、  
 (m) SEQ ID NO 15487 - 16202のいずれか1つ、  
 (n) SEQ ID NO 16203 - 16458のいずれか1つ、  
 (o) SEQ ID NO 16459 - 18209のいずれか1つ、  
 (p) SEQ ID NO 18210 - 18638のいずれか1つ、  
 (q) SEQ ID NO 18639 - 19534のいずれか1つ、  
 (r) SEQ ID NO 19535 - 19845のいずれか1つ、  
 (s) SEQ ID NO 19846 - 20849のいずれか1つ、  
 (t) SEQ ID NO 20850 - 24737のいずれか1つ、  
 (u) SEQ ID NO 24738 - 24873のいずれか1つ、  
 (v) SEQ ID NO 24874 - 25231のいずれか1つ、または  
 (w) SEQ ID NO 25232 - 26654のいずれか1つ

20

に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、もしくは100%の  
 配列同一性を備えた配列を含む、[63]から[65]のいずれか1つに記載の組成物。

30

[67]

RIC mRNA前駆体は、

(a) SEQ ID NO 24、  
 (b) SEQ ID NO 25、  
 (c) SEQ ID NO 26、  
 (d) SEQ ID NO 27、もしくはSEQ ID NO 28、  
 (e) SEQ ID NO 29、  
 (f) SEQ ID NO 30、もしくはSEQ ID NO 31、  
 (g) SEQ ID NO 32、もしくはSEQ ID NO 33、  
 (h) SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 35、SEQ ID NO 36、  
 もしくはSEQ ID NO 37、

40

50

( i ) SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、もしくはSEQ ID NO 40、  
 ( j ) SEQ ID NO 41、  
 ( k ) SEQ ID NO 42、SEQ ID NO 43、SEQ ID NO 44、  
 SEQ ID NO 45、SEQ ID NO 46、SEQ ID NO 47、SEQ  
 ID NO 48、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 50、SEQ ID  
 NO 51、もしくはSEQ ID NO 52、  
 ( l ) SEQ ID NO 53、  
 ( m ) SEQ ID NO 54、もしくはSEQ ID NO 55、  
 ( n ) SEQ ID NO 56、  
 ( o ) SEQ ID NO 57、またはSEQ ID NO 58、  
 ( p ) SEQ ID NO 59、  
 ( q ) SEQ ID NO 60、もしくはSEQ ID NO 61、  
 ( r ) SEQ ID NO 62、  
 ( s ) SEQ ID NO 63、もしくはSEQ ID NO 64、  
 ( t ) SEQ ID NO 65、SEQ ID NO 66、SEQ ID NO 67、  
 SEQ ID NO 68、SEQ ID NO 69、SEQ ID NO 70、SEQ  
 ID NO 71、SEQ ID NO 72、SEQ ID NO 73、SEQ ID  
 NO 74、SEQ ID NO 75、SEQ ID NO 76、SEQ ID NO  
 77、SEQ ID NO 78、SEQ ID NO 79、もしくはSEQ ID NO 80、  
 ( u ) SEQ ID NO 81、  
 ( v ) SEQ ID NO 82、または、  
 ( w ) SEQ ID NO 83

10

20

に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、もしくは100%の  
 配列同一性を備えた配列を含む、[ 63 ] から [ 66 ] のいずれか1つに記載の組成物。

[ 68 ]

RIC mRNA前駆体は、

( a ) SEQ ID NO 1、  
 ( b ) SEQ ID NO 2、  
 ( c ) SEQ ID NO 3、  
 ( d ) SEQ ID NO 4、  
 ( e ) SEQ ID NO 5、  
 ( f ) SEQ ID NO 6、  
 ( g ) SEQ ID NO 7、  
 ( h ) SEQ ID NO 8、  
 ( i ) SEQ ID NO 9、  
 ( j ) SEQ ID NO 10、  
 ( k ) SEQ ID NO 11、  
 ( l ) SEQ ID NO 12、  
 ( m ) SEQ ID NO 13、  
 ( n ) SEQ ID NO 14、  
 ( o ) SEQ ID NO 15、  
 ( p ) SEQ ID NO 16、  
 ( q ) SEQ ID NO 17、  
 ( r ) SEQ ID NO 18、  
 ( s ) SEQ ID NO 19、  
 ( t ) SEQ ID NO 20、  
 ( u ) SEQ ID NO 21、  
 ( v ) SEQ ID NO 22、  
 ( w ) SEQ ID NO 23

30

40

に対して、少なくとも約80%、85%、90%、95%、97%、あるいは100%の

50

配列同一性を備えた遺伝子配列によってコードされる、[ 6 3 ] から [ 6 7 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 6 9 ]

アンチセンスオリゴマーは、( a ) 保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位に対する + 6 から + 1 0 0 の領域内；

または ( b ) 保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位に対する - 1 6 から - 1 0 0 の領域内の保持されたイントロンにある R I C m R N A 前駆体の一部を標的とする、[ 5 5 ] から [ 6 8 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 0 ]

アンチセンスオリゴマーは、少なくとも 1 つの保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位の約 1 0 0 ヌクレオチド下流から少なくとも 1 つの保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位の約 1 0 0 ヌクレオチド上流の領域内にある R I C m R N A 前駆体の一部を標的とする、[ 5 5 ] から [ 6 8 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 1 ]

R I C m R N A 前駆体の標的部分は、( a ) 保持されたイントロンの 5 ' スプライス部位に隣接しているエクソンにおける + 2 e から - 4 e の領域内；

または ( b ) 保持されたイントロンの 3 ' スプライス部位に隣接しているエクソンにおける + 2 e から - 4 e の領域内にある、[ 5 5 ] から [ 6 8 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 2 ]

アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする遺伝子から転写された m R N A 前駆体の選択的スプライシングを調節することにより標的タンパク質または機能的 R N A の量を増加させない、[ 5 5 ] から [ 7 1 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 3 ]

アンチセンスオリゴマーは、標的タンパク質または機能的 R N A をコードする遺伝子の変異から結果として生じる異常スプライシングを調節することにより標的タンパク質または機能的 R N A の量を増加させない、[ 5 5 ] から [ 7 2 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 4 ]

R I C m R N A 前駆体は、全長 m R N A 前駆体または野生型 m R N A 前駆体からの部分的スプライシングによって産生された、[ 5 5 ] から [ 7 3 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 5 ]

標的タンパク質または機能的 R N A をコードする m R N A は、全長成熟 m R N A または野生型成熟 m R N A である、[ 5 5 ] から [ 7 4 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 6 ]

産生される標的タンパク質は、全長タンパク質または野生型タンパク質である、[ 5 5 ] から [ 7 5 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 7 ]

保持されたイントロンは律速イントロンである、[ 5 5 ] から [ 7 6 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 8 ]

保持されたイントロンは、R I C m R N A 前駆体において最も豊富な保持されたイントロンである、[ 5 5 ] から [ 7 7 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 7 9 ]

保持されたイントロンは、R I C m R N A 前駆体において 2 番目に豊富な保持されたイントロンである、[ 5 5 ] から [ 7 7 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 8 0 ]

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロチオエート結合またはホスホロジアミデート結合

10

20

30

40

50



を含む骨格修飾を含む、[ 5 5 ] から [ 7 9 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 8 1 ]

アンチセンスオリゴマーはアンチセンスオリゴヌクレオチドである、[ 5 5 ] から [ 8 0 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 8 2 ]

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロジアミデートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2' - O - メチル部分、2' - フルオロ部分、または 2' - O - メトキシエチル部分を含む、[ 5 5 ] から [ 8 1 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 8 3 ]

アンチセンスオリゴマーは少なくとも 1 つの修飾された糖部を含む、[ 5 5 ] から [ 8 2 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

10

[ 8 4 ]

各糖部は修飾された糖部である、[ 8 3 ] に記載の組成物。

[ 8 5 ]

アンチセンスオリゴマーは、8 から 5 0 の核酸塩基、8 から 4 0 の核酸塩基、8 から 3 5 の核酸塩基、8 から 3 0 の核酸塩基、8 から 2 5 の核酸塩基、8 から 2 0 の核酸塩基、8 から 1 5 の核酸塩基、9 から 5 0 の核酸塩基、9 から 4 0 の核酸塩基、9 から 3 5 の核酸塩基、9 から 3 0 の核酸塩基、9 から 2 5 の核酸塩基、9 から 2 0 の核酸塩基、9 から 1 5 の核酸塩基、1 0 から 5 0 の核酸塩基、1 0 から 4 0 の核酸塩基、1 0 から 3 5 の核酸塩基、1 0 から 3 0 の核酸塩基、1 0 から 2 5 の核酸塩基、1 0 から 2 0 の核酸塩基、1 0 から 1 5 の核酸塩基、1 1 から 5 0 の核酸塩基、1 1 から 4 0 の核酸塩基、1 1 から 3 5 の核酸塩基、1 1 から 3 0 の核酸塩基、1 1 から 2 5 の核酸塩基、1 1 から 2 0 の核酸塩基、1 1 から 1 5 の核酸塩基、1 2 から 5 0 の核酸塩基、1 2 から 4 0 の核酸塩基、1 2 から 3 5 の核酸塩基、1 2 から 3 0 の核酸塩基、1 2 から 2 5 の核酸塩基、1 2 から 2 0 の核酸塩基、または 1 2 から 1 5 の核酸塩基から成る、[ 5 5 ] から [ 8 4 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

20

[ 8 6 ]

アンチセンスオリゴマーは、タンパク質をコードする R I C mRNA 前駆体の標的部分に、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % 相補的である、[ 5 5 ] から [ 8 5 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

30

[ 8 7 ]

アンチセンスオリゴマーは、ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1 または IDUA の R I C mRNA 前駆体の標的部分へ結合する、[ 5 5 ] から [ 8 6 ] のいずれか 1 つに記載の組成物。

[ 8 8 ]

[ 5 5 ] から [ 8 7 ] の組成物のいずれかのアンチセンスオリゴマー、および賦形剤を含む、医薬組成物。

40

[ 8 9 ]

硝子体内注射、網膜下注射、局所投与、移植、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、または静脈内注射によって [ 8 8 ] の医薬組成物を投与することにより、必要としている被験体を処置する方法。

[ 9 0 ]

医薬組成物であって、該医薬組成物は：不足している ROM 1、TEAD 1、RDH 5、NR 2 E 3、PAX 6、CRX、FSCN 2、ABCA 4、MYOC、TCF 4、MFSD 8、CTNS、NXNL 1、OPTN、RLBP 1、RPE 6 5、LRAT、RDH 8、RDH 1 2、RGR、CNGA 3、ALMS 1、PER 1、または IDUA の mRNA の転写産物の標的配列にハイブリダイズするアンチセンスオリゴマーであって、ここで

50

、該不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNAの転写産物は、保持されたイントロンを含み、該アンチセンスオリゴマーは、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNAの転写産物からの保持されたイントロンのスプライシングアウトを誘発する、アンチセンスオリゴマーと、薬学的に許容可能な賦形剤と、を含む、医薬組成物。

10

[ 9 1 ]

不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物である、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

[ 9 2 ]

ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の標的部分は、保持されたイントロンの5'スプライス部位に対する+500から保持されたイントロンの3'スプライス部位に対する-500の領域内の保持されたイントロンにある、[ 9 0 ]または[ 9 1 ]に記載の医薬組成物。

20

[ 9 3 ]

ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物は、SEQ ID NO: 1 - [ 2 3 ]のいずれか1つに対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、あるいは100%の配列同一性を備えた遺伝子配列によってコードされる、[ 9 0 ]または[ 9 1 ]に記載の医薬組成物。

30

[ 9 4 ]

ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物は、SEQ ID NO: 24 - [ 8 3 ]のいずれか1つに対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、あるいは100%の配列同一性を備えた配列を含む、[ 9 0 ]または[ 9 1 ]に記載の医薬組成物。

40

[ 9 5 ]

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロチオエート結合またはホスホロジアミデート結合を含む骨格修飾を含む、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

[ 9 6 ]

アンチセンスオリゴマーはアンチセンスオリゴヌクレオチドである、[ 9 0 ]に記載の医薬化合物。

[ 9 7 ]

アンチセンスオリゴマーは、ホスホロジアミデートモルホリノ、ロックド核酸、ペプチド核酸、2'-O-メチル部分、2'-フルオ部分口、または2'-O-メトキシエチル部分を含む、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

50

## [ 9 8 ]

アンチセンスオリゴマーは少なくとも1つの修飾された糖部を含む、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

## [ 9 9 ]

アンチセンスオリゴマーは、8から50の核酸塩基、8から40の核酸塩基、8から35の核酸塩基、8から30の核酸塩基、8から25の核酸塩基、8から20の核酸塩基、8から15の核酸塩基、9から50の核酸塩基、9から40の核酸塩基、9から35の核酸塩基、9から30の核酸塩基、9から25の核酸塩基、9から20の核酸塩基、9から15の核酸塩基、10から50の核酸塩基、10から40の核酸塩基、10から35の核酸塩基、10から30の核酸塩基、10から25の核酸塩基、10から20の核酸塩基、10から15の核酸塩基、11から50の核酸塩基、11から40の核酸塩基、11から35の核酸塩基、11から30の核酸塩基、11から25の核酸塩基、11から20の核酸塩基、11から15の核酸塩基、12から50の核酸塩基、12から40の核酸塩基、12から35の核酸塩基、12から30の核酸塩基、12から25の核酸塩基、12から20の核酸塩基、または12から15の核酸塩基を含む、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

10

## [ 1 0 0 ]

アンチセンスオリゴマーは、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物の標的部分に、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%相補的である、[ 9 0 ]または[ 9 1 ]に記載の医薬組成物。

20

## [ 1 0 1 ]

ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物の標的部分は、SEQ ID NO: 26655 - 26714から選択される配列内にある、[ 9 0 ]または[ 9 1 ]に記載の医薬組成物。

30

## [ 1 0 2 ]

アンチセンスオリゴマーは、SEQ ID NO: 84 - 26[ 6 5 4 ]のいずれか1つに対して、少なくとも約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性であるヌクレオチド配列を含む、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

## [ 1 0 3 ]

アンチセンスオリゴマーは、SEQ ID NO: 84 - 26654から選択されるヌクレオチド配列を含む、[ 9 0 ]に記載の医薬組成物。

## [ 1 0 4 ]

医薬組成物は、髄腔内注射、脳室内注射、腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、または静脈内注射のために製剤される、[ 9 0 ]から[ 1 0 3 ]のいずれか1つに記載の医薬組成物。

40

## [ 1 0 5 ]

保持されたイントロンの除去を促進するために、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのmRNAの転写産物の処理を誘発し、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、

50

RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的形態をコードする、完全に処理されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのmRNAの転写産物を産生する方法であって、該方法は：

(a) アンチセンスオリゴマーを被験体の標的細胞と接触させる工程と；

(b) アンチセンスオリゴマーを、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのmRNAの転写産物にハイブリダイズする工程であって、ここで、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNAの転写産物は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的形態をコード可能であり、少なくとも1つの保持されたイントロンを含む、工程と；

(c) ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的形態をコードする、完全に処理されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのmRNAの転写産物を産生するために、不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのmRNAの転写産物から少なくとも1つの保持されたイントロンを取り除く工程と；

(d) 完全に処理されたROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1またはIDUAのmRNAの転写産物から、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのタンパク質の機能的形態を翻訳する工程と；を含む、方法。

[ 106 ]

保持されたイントロンは保持されたイントロン全体である、[ 105 ]に記載の方法。

[ 107 ]

不足しているROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのmRNAの転写産物は、ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TC

10

20

30

40

50

F4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAのRIC mRNA前駆体の転写産物である、[105]または[106]に記載の方法。

[108]

ROM1、TEAD1、RDH5、NR2E3、PAX6、CRX、FSCN2、ABCA4、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、NXNL1、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、またはIDUAタンパク質の量または活性の不足によって引き起こされた疾病を抱える被験体を処置する方法であって、該方法は、SEQ ID NO: 84 - 26 [654]のいずれか1つに対して、少なくとも約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を備えるヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴマーを、被験体へ投与する工程を含む、方法。

【0251】

<実施例>

本発明は、以下の実施例によってより具体的に例示されるだろう。しかしながら、本発明がどんな方法でもこれらの実施例によって制限されていないことが理解されるべきである。

実施例1：次世代配列決定を用いるRNAseqによるROM1、TEAD1、RDH5、PAX6、FSCN2、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、およびIDUA転写産物におけるイントロン保持事象の特定

イントロン保持事象を特定するための、ROM1、TEAD1、RDH5、PAX6、FSCN2、MYOC、TCF4、MFSD8、CTNS、OPTN、RLBP1、RPE65、LRAT、RDH8、RDH12、RGR、CNGA3、ALMS1、PER1、およびIDUA遺伝子により産生される転写産物のスナップショットを明らかにするために次世代配列決定を用いて全トランスクリプトームショットガン配列を実行した。このために、細胞の核および細胞質の分画からのpolyA<sup>+</sup> RNAを、IlluminaのTruSeq Stranded mRNAライブラリPrepキットを用いて構築されたcDNAライブラリから分離した。ARPE-19細胞または星状細胞がほとんどの分析に使用され、(RDH8とRDH12についての)あるケースでは、ヒト網膜トランスクリプトームデータが使用された(Farkas, et al., 2013, "Transcriptome analyses of the human retina identify unprecedented transcript diversity and 3.5 Mb of novel transcribed sequence via significant alternative splicing and novel genes," BMC Genomics 14:486、該文献は参照により本明細書に組み込まれる)。ライブラリを対末端配列決定(pair-end sequenced)し、結果として、ヒトゲノムにマッピングされうる100ヌクレオチドの読み取りをもたらした。マッピングされた読み取りは(UCSC Genome Informatics Group (Center for Biomolecular Science & Engineering, University of California, Santa Cruz, 1156 High Street, Santa Cruz, CA 95064)によって操作され、かつ、例えばRosenbloom, et al., 2015, "The UCSC Genome Browser database: 2015 update," Nucleic Acids Research 43, Database Issue doi: 10.1093/nar/gku1177に記載された)UCSCのゲノムブラウザを使用して視覚化され、読み取りの範囲および数はピーク信号によって推論される。ピークの高さは、特定の領域における読取密度によって与えられた発現のレベルを示している。ピークをエクソ

10

20

30

40

50

ン領域およびイントロン領域に一致させられるように、（読み取りシグナルの下に）UCSCゲノムブラウザによってP遺伝子の模式図（縮尺通りに描かれている）が提供される。このディスプレイに基づいて、細胞の核分画においては高い読取密度を有するが、細胞質分画においては読み取りが非常に低いかまったく無いイントロンを特定した。これは、これらのイントロンが保持されたこと、および、イントロンを含む転写産物が核内に残っていることを示し、かつ、この保持されたRIC mRNA前駆体が、細胞質に排出されないで、非生産的であることを示唆している。

#### 【0252】

実施例2：次世代配列決定を用いたRNAseqによるCRX、ABCA4、MYOC、およびNXNL1転写産物のイントロン保持事象の特定

イントロン保持事象を特定するために本明細書に記載されたCRX、ABCA4、MYOC、およびNXNL1遺伝子によって生成された転写産物のスナップショットを明らかにするために、次世代配列決定を使用して、全トランスクリプトームのショットガン配列決定を実行した。このために、THLE-3（ヒト肝上皮）細胞の核および細胞質の分画からのpolyA<sup>+</sup> RNAを分離し、IlluminaのTruSeq Stranded mRNAライブラリPrepキットを用いてcDNAライブラリを構築した。ライブラリは対末端配列形成され、ヒトゲノムにマッピングされた100ヌクレオチドの読み取りをもたらす。マッピングされた読み取りは（UCSC Genome Informatics Group（Center for Biomolecular Science & Engineering, University of California, Santa Cruz, 1156 High Street, Santa Cruz, CA 95064）によって操作され、かつ、例えばRosenbloom, et al., 2015, "The UCSC Genome Browser database: 2015 update," Nucleic Acids Research 43, Database Issue doi: 10.1093/nar/gku1177に記載された）UCSCのゲノムブラウザを使用して視覚化され、読み取りの範囲および数はピーク信号によって推論される。ピークの高さは、特定の領域における読取密度によって与えられた発現のレベルを示している。ピークをエクソン領域およびイントロン領域に一致させられるように、UCSCゲノムブラウザによって遺伝子の模式図が提供される。このディスプレイに基づいて、THLE-3細胞の核分画においては高い読取密度を有するが、これらの細胞の細胞質分画においては読み取りが非常に低いかまったく無いイントロンを特定した。これは、これらのイントロンが保持されたこと、および、イントロン含有転写産物が核内に残っていることを示し、かつ、この保持されたRIC mRNA前駆体が細胞質に排出されないで、非生産的であることを示唆している。

#### 【0253】

実施例3：ASOウォーク標的化の設計

ASOウォークは、本明細書に記述された方法を使用して、保持されたイントロンを標的とするように設計された。例えばヌクレオチド+6から+69に及ぶイントロン5'スプライス部位のすぐ下流の領域と、例えばイントロンのヌクレオチド-16から-79に及ぶイントロン3'スプライス部位すぐ上流の領域とが、2'-O-Me RNA、PS骨格、5'ヌクレオチド間隔でシフトした18mer ASOで標的とされた。表1は、設計された例示的なASOおよびそれらの標的配列を列挙する。

#### 【0254】

10

20

30

40

## 【表 1 - 1】

表 1

遺伝子 SEQ ID NO.	m R N A 前駆体 SEQ ID NO.	ASOs SEQ ID NO.	保持された イントロン	標的配列 SEQ ID NO.
ABCA4 SEQ ID NO. 1	ABCA4:NM_000350 SEQ ID NO. 24	84-315	40	26674
		316-543	38	26706
		544-774	36	26656
		775-1016	44	26681
		1017-1126	39	26664
RPE65 SEQ ID NO. 2	RPE65:NM_000329 SEQ ID NO. 25	1127-1293	9	26691
		1294-1528	10	26671
MYOC SEQ ID NO. 3	MYOC:NM_000261 SEQ ID NO. 26	1529-1855	1	26669
		1856-2318	2	26696
CNGA3 SEQ ID NO. 4	CNGA3:NM_001298 SEQ ID NO. 27	2319-2544	6	26711
	CNGA3:NM_001079878 SEQ ID NO. 28	2545-2770	5	26711
MFSD8 SEQ ID NO. 5	MFSD8:NM_152778 SEQ ID NO. 29	2771-2852	11	26703
		2853-3631	12	26708
IDUA SEQ ID NO. 6	IDUA:NM_000203 SEQ ID NO. 30	3632-3697	3	26668
		3698-3813	4	26679
		3814-3879	5	26700

【 0 2 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

		3880-3952	6	26655
		3953-4037	7	26663
	IDUA:NR_110313 SEQ ID NO. 31	4038-4103	3	26668
		4104-4219	4	26679
		4220-4285	5	26700
		4286-4358	6	26655
		4359-4443	7	26663
LRAT SEQ ID NO. 7	LRAT:NM_001301645 SEQ ID NO. 32	4444-5545	2	26685
	LRAT:NM_004744 SEQ ID NO. 33	5546-6647	2	26685
OPTN SEQ ID NO. 8	OPTN:NM_001008211 SEQ ID NO. 34	6648-6880	9	26714
	OPTN:NM_001008212 SEQ ID NO. 35	6881-7113	8	26714
	OPTN:NM_001008213 SEQ ID NO. 36	7114-7346	9	26714
	OPTN:NM_021980 SEQ ID NO. 37	7347-7579	7	26714
RGR SEQ ID NO. 9	RGR:NM_002921 SEQ ID No. 38	7580-7806	1	26657
		7807-8040	2	26687
	RGR:NM_001012722 SEQ ID NO. 39	8041-8267	1	26657
		8268-8499	2	26683

10

20

30

40

【 0 2 5 6 】

50



【表 1 - 3】

	RGR:NМ_001012720 SEQ ID NO. 40	8500-8726	1	26657
		8727-8958	2	26683
TEAD1 SEQ ID NO. 10	TEAD1:NМ_021961 SEQ ID NO. 41	8959-9163	4	26672
PAX6 SEQ ID NO. 11	PAX6:NМ_001310160 SEQ ID NO. 42	9164-9296	2	26697
		9297-9507	3	26677
	PAX6:NМ_001310161 SEQ ID NO. 43	9508-9774	1	26707
		9775-9841	3	26678
		9842-10052	4	26713
	PAX6:NМ_001258465 SEQ ID NO. 44	10053-10252	3	26694
		10253-10484	4	26659
		10485-10695	5	26713
	PAX6:NМ_000280 SEQ ID NO. 45	10696-10895	4	26694
		10896-11127	5	26659
		11128-11338	6	26713
	PAX6:NМ_001258464 SEQ ID NO. 46	11339-11538	4	26694
		11539-11770	5	26659
		11771-11981	6	26713
	PAX6:NМ_001604	11982-12181	4	26694

【 0 2 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

	SEQ ID NO. 47	12182-12248	6	26678
		12249-12459	7	26713
	PAX6:NМ_001127612 SEQ ID NO. 48	12460-12659	4	26694
		12660-12891	5	26659
		12892-13102	6	26713
	PAX6:NМ_001258462 SEQ ID NO. 49	13103-13302	4	26694
		13303-13369	6	26678
		13370-13580	7	26713
	PAX6:NМ_001310159 SEQ ID NO. 50	13581-13780	2	26694
		13781-14012	3	26659
		14013-14223	4	26713
	PAX6:NМ_001310158 SEQ ID NO. 51	14224-14423	4	26694
		14424-14490	6	26678
		14491-14701	7	26713
	PAX6:NМ_001258463 SEQ ID NO. 52	14702-14901	4	26694
		14902-14968	6	26678
		14969-15179	7	26713
ROM1 SEQ ID NO. 12	ROM1:NМ_000327 SEQ ID NO. 53	15180-15486	1	26665

【 0 2 5 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

RDH5 SEQ ID NO. 13	RDH5:NM_002905 SEQ ID NO. 54	15487-15700	1	26704
		15701-15844	2	26666
	RDH5:NM_001199771 SEQ ID NO. 55	15845-16057	1	26709
		16058-16202	2	26684
RDH12 SEQ ID NO. 14	RDH12:NM_152443 SEQ ID NO. 56	16203-16458	7	26693
NR2E3 SEQ ID NO. 15	NR2E3:NM_014249 SEQ ID NO. 57	16459-16661	1	26702
		16662-16272	2	26660
		16728-16798	3	26705
		16799-16890	4	26698
		16891-17127	5	26658
		17128-17169	6	26676
		17170-17254	7	26712
	NR2E3:NM_016346 SEQ ID NO. 58	17255-17457	1	26702
		17458-17523	2	26660
		17524-17594	3	26705
		17595-17686	4	26698
		17687-17923	5	26658
		17924-17965	6	26676

【 0 2 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

		17966-18209	7	26701
RLBP1 SEQ ID NO. 16	RLBP1:NM_000326 SEQ ID NO. 59	18210-18383	2	26673
		18384-18638	5	26667
CTNS SEQ ID NO. 17	CTNS:NM_004937 SEQ ID NO. 60	18639-18861	9	26690
		18862-19086	10	26692
	CTNS:NM_001031681 SEQ ID NO. 61	19087-19309	9	26690
		19310-19534	10	26692
PER1 SEQ ID NO. 18	PER1:NM_002616 SEQ ID NO. 62	19535-19782	1	26682
		19783-19845	14	26710
FSCN2 SEQ ID NO. 19	FSCN2:NM_012418 SEQ ID NO. 63	19846-20232	1	26670
		20233-20347	3	26662
	FSCN2:NM_001077182 SEQ ID NO. 64	20348-20734	1	26670
		20735-20849	3	26661
TCF4 SEQ ID NO. 20	TCF4:NM_001243236 SEQ ID NO. 65	20850-21091	9	26688
	TCF4:NM_001243235 SEQ ID NO. 66	21092-21333	9	26688
	TCF4:NM_001243234 SEQ ID NO.67	21334-21577	9	26689
	TCF4:NM_001243233 SEQ ID NO. 68	21578-21819	12	26688
	TCF4:NM_001243232 SEQ ID NO. 69	21820-22063	12	26689

【 0 2 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

	TCF4:NM_001243231 SEQ ID NO.70	22064-22305	14	26688
	TCF4:NM_003199 SEQ ID NO. 71	22306-22547	16	26688
	TCF4:NM_001306207 SEQ ID NO. 72	22548-22789	15	26688
	TCF4:NM_001306208 SEQ ID NO. 73	22790-23031	12	26688
	TCF4:NM_001243227 SEQ ID NO. 74	23032-23275	15	26689
	TCF4:NM_001243228 SEQ ID NO.75	23276-23519	16	26689
	TCF4:NM_001243230 SEQ ID NO. 76	23520-23761	15	26688
	TCF4:NM_001243226 SEQ ID NO. 77	23762-24005	17	26689
	TCF4:NM_001083962 SEQ ID NO. 78	24006-24249	16	26689
	TCF4:NM_001330605 SEQ ID NO. 79	24250-24493	11	26689
	TCF4:NM_001330604 SEQ ID NO. 80	24494-24737	16	26689
RDH8 SEQ ID NO. 21	RDH8:NM_015725 SEQ ID NO. 81	24738-24873	4	26680
NXNL1 SEQ ID NO. 22	NXNL1:NM_138454 SEQ ID NO. 82	24874-25231	1	26699
CRX SEQ ID NO. 23	CRX:NM_000554 SEQ ID NO. 83	25232-25465	1	26675
		25466-25695	2	26695

【 0 2 6 1 】

【表 1 - 8】

		25696-26654	3	26686
--	--	-------------	---	-------

【 0 2 6 2 】

実施例 4：保持されたイントロンの A S O 標的化による改善したスプライシング効率は F S C N 2 転写レベルを増加させる

A S Oを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE - 19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株 (American Type Culture Collection (ATCC), USA) を偽トランスフェクトし、または表1に記載の標的化ASOでトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMaxトランスフェクション試薬 (Thermo Fisher) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASOを96ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEMで希釈したRNAiMaxと組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約25,000個の細胞をASOトランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的なASO濃度は80nMであった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの6時間後に交換し、細胞をCells-to-Ct溶解試薬を用い、DNase (Thermo Fisher) で試薬を補充し、24時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNAをCells-to-Ct RT試薬 (Thermo Fisher) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン - エクソンジャンクション (Thermo Fisher) に及ぶプローブでTaqmanアッセイを用いて、定量PCRが実行される。Taqmanアッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCRシステム (Thermo Fisher) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 (delta Ct) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル (delta - delta Ct) に対して正規化し、モック定量 ( $2^{-\text{(delta - delta Ct)}}$ ) に対して倍率変化を生成する。3つのプレート複製のモック (mock) に対する平均倍率変化をプロットする (図4、図6および図7)。標的遺伝子発現を増加させるいくつかのASOが特定され、図4、図6および図7に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。標的イントロンの保持を確認する全トランスクリプトームデータ (図3および図5) と共に、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善し得ることを確認する。

#### 【0263】

実施例5：保持されたイントロンのASO標的化による改善したスプライシング効率はMFS D8転写レベルを増加させる

ASOを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE - 19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株 (American Type Culture Collection (ATCC), USA) を偽トランスフェクトし、または表1に記載の標的化ASOでトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMaxトランスフェクション試薬 (Thermo Fisher) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASOを96ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEMで希釈したRNAiMaxと組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約25,000個の細胞をASOトランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的なASO濃度は80nMであった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの6時間後に交換し、細胞をCells-to-Ct溶解試薬を用い、DNase (Thermo Fisher) で試薬を補充し、24時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNAをCells-to-Ct RT試薬 (Thermo Fisher) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン - エクソンジャンクション (Thermo Fisher) に及ぶプローブでTaqmanアッセイを用いて、定量PCRが実行される。Taqmanアッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCRシステム (Thermo Fisher) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 (delta Ct) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル (delta - delta C

t) に対して正規化し、モック定量 ( $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ) に対して倍率変化を生成する。3つのプレート複製のモック (mock) に対する平均倍率変化をプロットする (図10)。標的遺伝子発現を増加させるいくつかのASOが特定され、図10に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。標的イントロンの保持を確認する全トランスクリプトームデータ (図8および図9) と共に、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善し得ることを確認する。

#### 【0264】

実施例6：保持されたイントロンのASO標的化による改善したスプライシング効率はOPTN転写レベルを増加させる

ASOを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE-19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株 (American Type Culture Collection (ATCC), USA) を偽トランスフェクトし、または表1に記載の標的化ASOでトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMaxトランスフェクション試薬 (Thermo Fisher) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASOを96ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEMで希釈したRNAiMaxと組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約25,000個の細胞をASOトランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的なASO濃度は80nMであった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの6時間後に交換し、細胞をCells-to-Ct溶解試薬を用い、DNase (Thermo Fisher) で試薬を補充し、24時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNAをCells-to-Ct RT試薬 (Thermo Fisher) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン-エクソンジャンクション (Thermo Fisher) に及ぶプローブでTaqmanアッセイを用いて、定量PCRが実行される。Taqmanアッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCRシステム (Thermo Fisher) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 ( $\Delta Ct$ ) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル ( $\Delta\Delta Ct$ ) に対して正規化し、モック定量 ( $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ) に対して倍率変化を生成する。3つのプレート複製のモック (mock) に対する平均倍率変化をプロットする (図12)。標的遺伝子発現を増加させるいくつかのASOが特定され、図12に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。標的イントロンの保持を確認する全トランスクリプトームデータ (図11) と共に、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善し得ることを確認する。

#### 【0265】

実施例7：保持されたイントロンのASO標的化による改善したスプライシング効率はRDH5転写レベルを増加させる

ASOを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE-19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株 (American Type Culture Collection (ATCC), USA) を偽トランスフェクトし、または表1に記載の標的化ASOでトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMaxトランスフェクション試薬 (Thermo Fisher) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASOを96ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEMで希釈したRNAiMaxと組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約25,000個の細胞をASOトランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的なASO濃度は80nMであった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの6時間

10

20

30

40

50

後に交換し、細胞をCells-to-Ct溶解試薬を用い、DNAse (Thermo Fisher) で試薬を補充し、24時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNAをCells-to-Ct RT試薬 (Thermo Fisher) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン-エクソンジャンクション (Thermo Fisher) に及ぶプローブでTaqmanアッセイを用いて、定量PCRが実行される。Taqmanアッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCRシステム (Thermo Fisher) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 ( $\Delta\Delta Ct$ ) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル ( $\Delta\Delta Ct$ ) に対して正規化し、モック定量 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) に対して倍率変化を生成する。3つのプレート複製のモック (mock) に対する平均倍率変化をプロットする (図14)。標的遺伝子発現を増加させるいくつかのASOが特定され、図14に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。標的イントロンの保持を確認する全トランスクリプトームデータ (図13および図15) と共に、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善し得ることを確認する。

10

#### 【0266】

実施例8：保持されたイントロンのASO標的化による改善したスプライシング効率はRLBP1転写レベルを増加させる

ASOを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE-19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株 (American Type Culture Collection (ATCC), USA) を偽トランスフェクトし、または表1に記載の標的化ASOでトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMaxトランスフェクション試薬 (Thermo Fisher) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASOを96ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEMで希釈したRNAiMaxと組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約25,000個の細胞をASOトランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的なASO濃度は80nMであった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの6時間後に交換し、細胞をCells-to-Ct溶解試薬を用い、DNAse (Thermo Fisher) で試薬を補充し、24時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNAをCells-to-Ct RT試薬 (Thermo Fisher) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン-エクソンジャンクション (Thermo Fisher) に及ぶプローブでTaqmanアッセイを用いて、定量PCRが実行される。Taqmanアッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCRシステム (Thermo Fisher) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 ( $\Delta\Delta Ct$ ) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル ( $\Delta\Delta Ct$ ) に対して正規化し、モック定量 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) に対して倍率変化を生成する。3つのプレート複製のモック (mock) に対する平均倍率変化をプロットする (図17)。標的遺伝子発現を増加させるいくつかのASOが特定され、図17に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。標的イントロンの保持を確認する全トランスクリプトームデータ (図16) と共に、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善し得ることを確認する。

20

30

40

#### 【0267】

実施例9：保持されたイントロンのASO標的化による改善したスプライシング効率はABC4転写レベルを増加させる

ASOを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE-19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株

50



( American Type Culture Collection ( ATCC ) , USA ) を偽トランスフェクトし、または表 1 に記載の標的化 ASO でトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMax トランスフェクション試薬 ( Thermo Fisher ) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASO を 96 ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEM で希釈した RNAiMax と組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約 25 , 000 個の細胞を ASO トランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的な ASO 濃度は 80 nM であった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの 6 時間後に交換し、細胞を Cells-to-Ct 溶解試薬を用い、DNase ( Thermo Fisher ) で試薬を補充し、24 時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNA を Cells-to-Ct RT 試薬 ( Thermo Fisher ) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン - エクソンジャンクション ( Thermo Fisher ) に及ぶプローブで Taqman アッセイを用いて、定量 PCR が実行される。Taqman アッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR システム ( Thermo Fisher ) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 ( delta Ct ) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル ( delta - delta Ct ) に対して正規化し、モック定量 (  $2^{-\text{(delta - delta Ct)}}$  ) に対して倍率変化を生成する。3 つのプレート複製のモック ( mock ) に対する平均倍率変化をプロットする ( 図 29 および図 32 )。標的遺伝子発現を増加させるいくつかの ASO が特定され、図 29 および図 32 に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。これらの結果は、ASO が律速イントロンのスプライシング効率を改善しうることを確認する。

#### 【 0268 】

実施例 10 : 保持されたイントロンの ASO 標的化による改善したスプライシング効率は IDUA 転写レベルを増加させる

ASO を用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE-19 細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株 ( American Type Culture Collection ( ATCC ) , USA ) を偽トランスフェクトし、または表 1 に記載の標的化 ASO でトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMax トランスフェクション試薬 ( Thermo Fisher ) を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASO を 96 ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEM で希釈した RNAiMax と組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約 25 , 000 個の細胞を ASO トランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的な ASO 濃度は 80 nM であった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの 6 時間後に交換し、細胞を Cells-to-Ct 溶解試薬を用い、DNase ( Thermo Fisher ) で試薬を補充し、24 時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNA を Cells-to-Ct RT 試薬 ( Thermo Fisher ) で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン - エクソンジャンクション ( Thermo Fisher ) に及ぶプローブで Taqman アッセイを用いて、定量 PCR が実行された。Taqman アッセイは、QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR システム ( Thermo Fisher ) 上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32 ( delta Ct ) およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル ( delta - delta Ct ) に対して正規化し、モック定量 (  $2^{-\text{(delta - delta Ct)}}$  ) に対して倍率変化を生成する。3 つのプレート複製のモック ( mock ) に対する平均倍率変化をプロットする ( 図 36 )。標的遺伝子発現を増加させるいくつかの ASO が特定され、図

10

20

30

40

50

36に示されるように、その標的イントロンでのスプライシングの増加が示唆された。標的イントロンの保持を確認する全体のトランスクリプトームデータ(図35、図37、図38、図39および図40)とともに、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善しうることを確認する。

#### 【0269】

実施例11: 保持されたイントロンのASO標的化による改善したスプライシング効率はCTNS転写レベルを増加させる

ASOを用いた標的遺伝子イントロンスプライシング効率の増加を判定するために、本明細書に記述された方法を使用した。ARPE-19細胞、すなわちヒトの網膜上皮細胞株(American Type Culture Collection (ATCC), USA)を偽トランスフェクトし、または表1に記載の標的化ASOでトランスフェクトした。細胞を、供給元の仕様書に従って、Lipofectamine RNAiMaxトランスフェクション試薬(Thermo Fisher)を用いてトランスフェクトする。簡潔に述べると、ASOを96ウェル組織培養プレートに播種し、Opti-MEMで希釈したRNAiMaxと組み合わせる。トリプシンを用いて細胞を剥離し、完全培地に再懸濁し、約25,000個の細胞をASOトランスフェクション混合物に加える。トランスフェクション実験は三通りのプレート複製において実行される。最終的なASO濃度は80nMであった。供給元の仕様書に従って、培地をトランスフェクションの6時間後に交換し、細胞をCells-to-Ct溶解試薬を用い、DNase(Thermo Fisher)で試薬を補充し、24時間で採取する。供給元の仕様書に従い、cDNAをCells-to-Ct RT試薬(Thermo Fisher)で生成される。対象のイントロンでのスプライシングの量を定量化するために、対応するエクソン-エクソンジャンクション(Thermo Fisher)に及ぶプローブでTaqmanアッセイを用いて、定量PCRが実行される。Taqmanアッセイは、QuantStudio 7Flex Real-Time PCRシステム(Thermo Fisher)上で、供給元の仕様書に従い実行される。標的遺伝子アッセイ値を、RPL32(delta Ct)およびプレート一致偽トランスフェクションサンプル(delta-delta Ct)に対して正規化し、モック定量( $2^{-\text{(delta-delta Ct)}}$ )に対して倍率変化を生成する。3つのプレート複製のモックの平均倍率変化がプロットされる(図43)。いくつかのASOが標的遺伝子の発現を増加させると特定され、図43に示されるように、標的イントロンにおけるスプライシングの増加が示された。標的イントロン(図41および図42)の保持を確認する全トランスクリプトームデータと共に、これらの結果は、ASOが律速イントロンのスプライシング効率を改善し得ることを確認する。

10

20

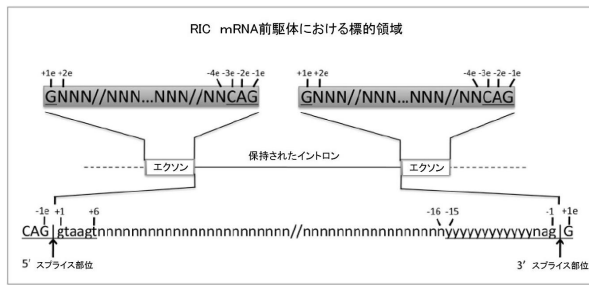
30

40

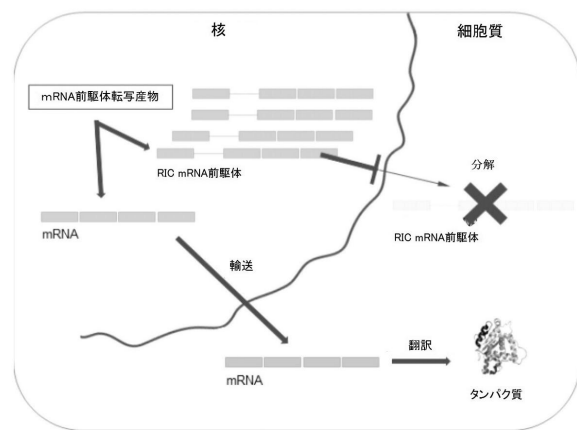
50

【図面】

【図 1】

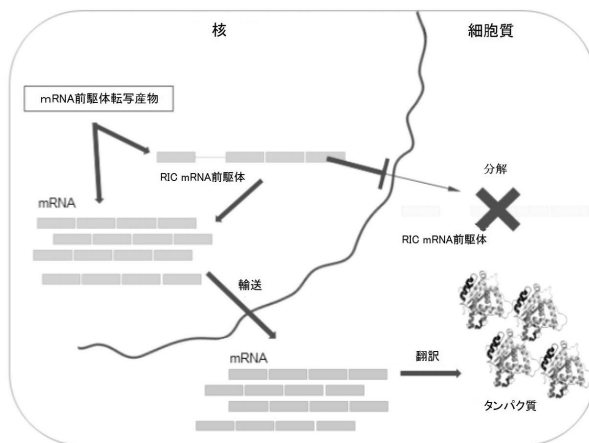


【図 2 A】

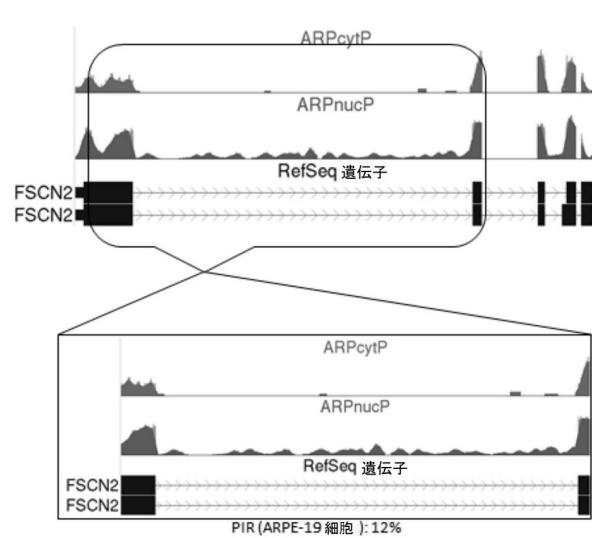


10

【図 2 B】



【図 3】



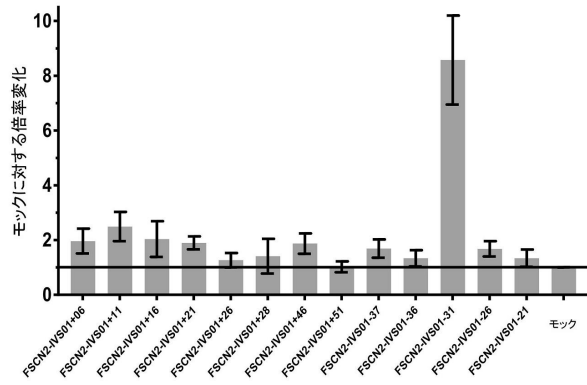
20

30

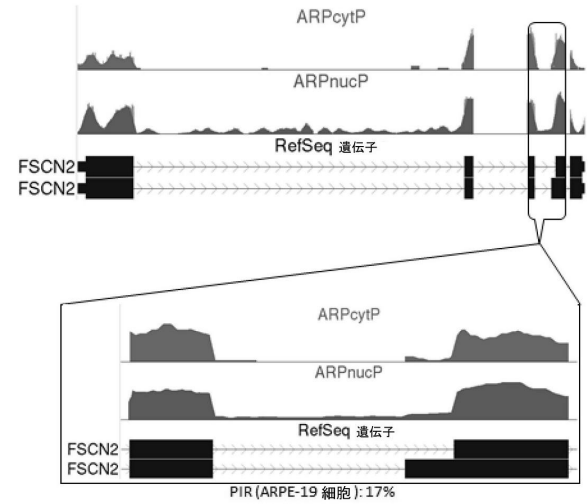
40

50

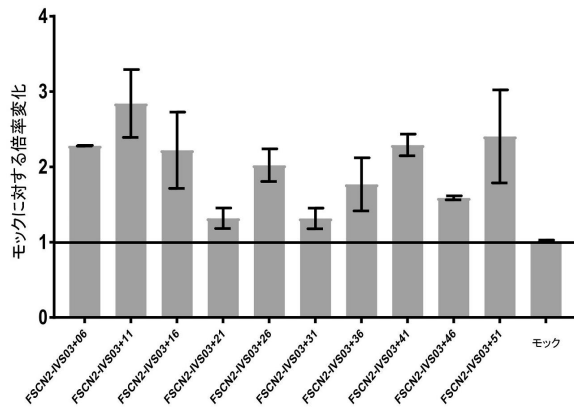
【図 4】



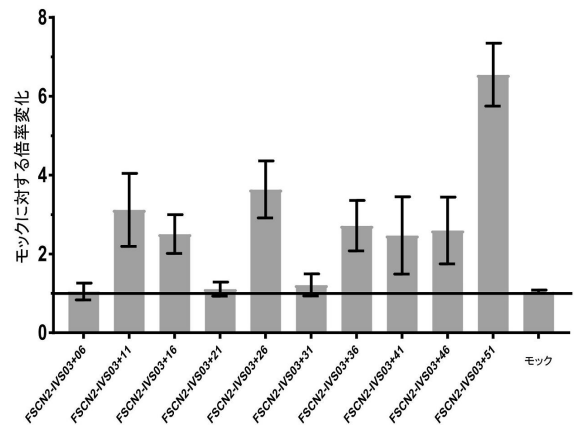
【図 5】



【図 6】



【図 7】



10

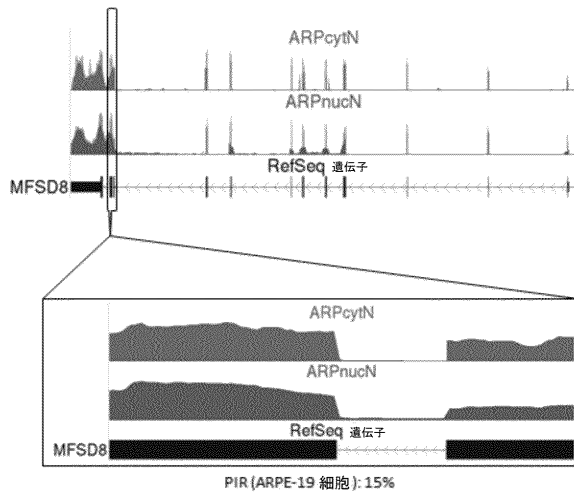
20

30

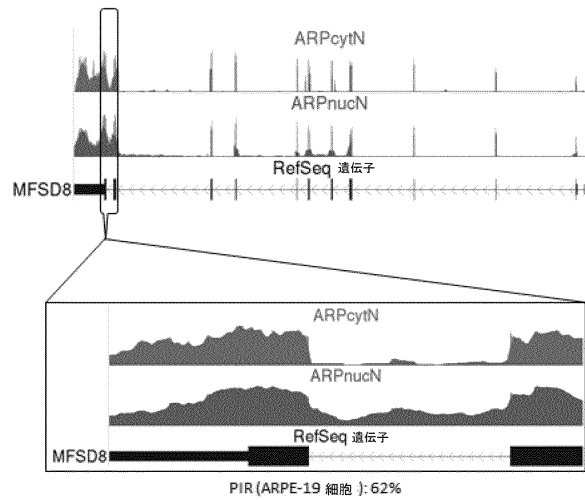
40

50

【図 8】

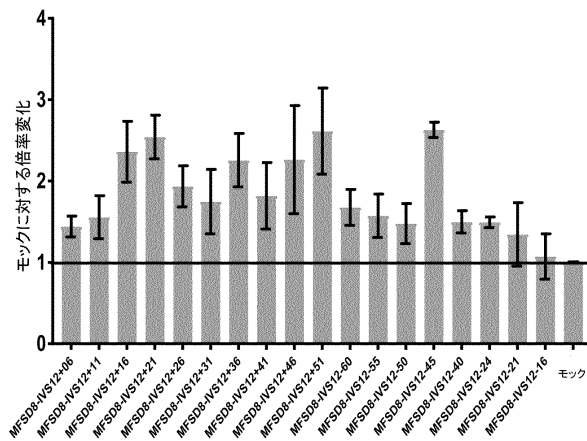


【図 9】

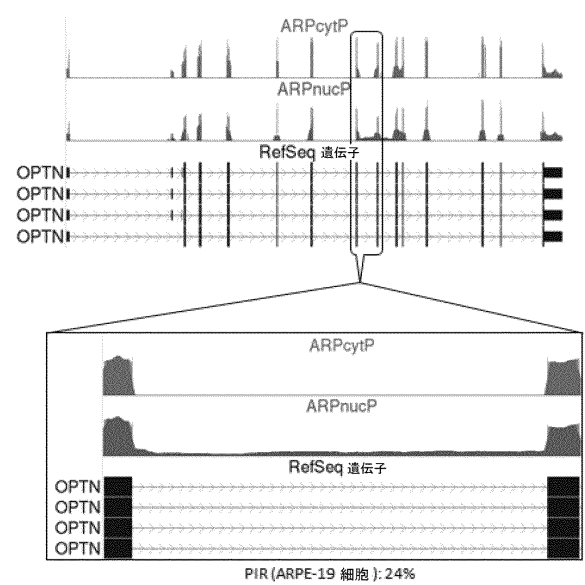


10

【図 10】



【図 11】



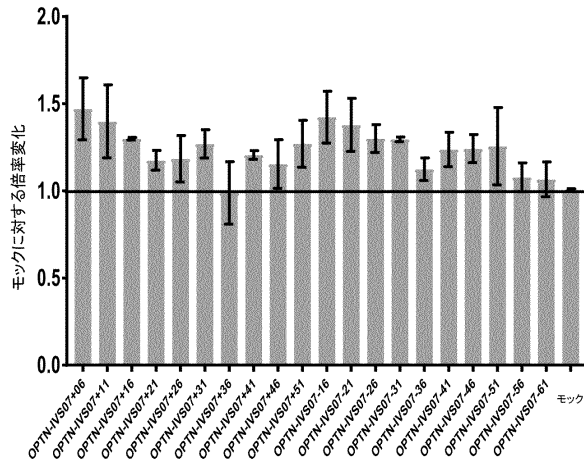
20

30

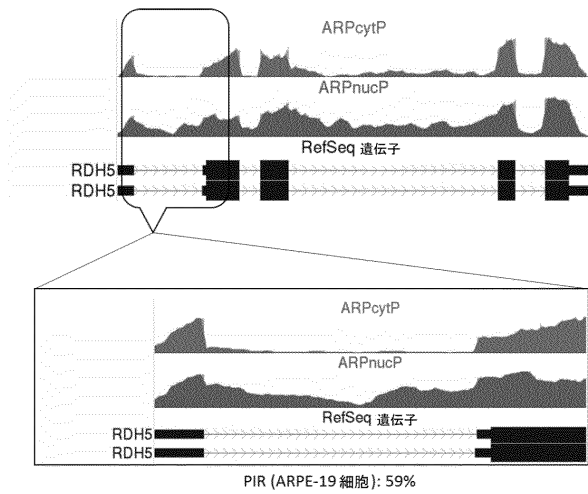
40

50

【図 1 2】

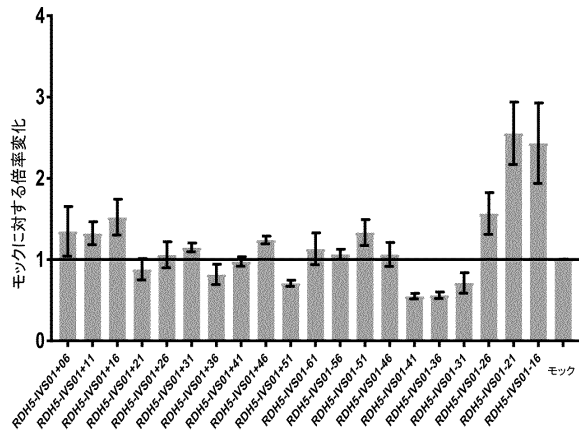


【図 1 3】

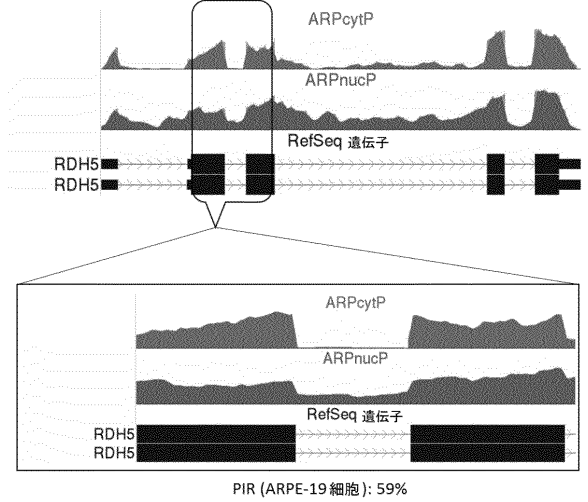


10

【図 1 4】



【図 1 5】



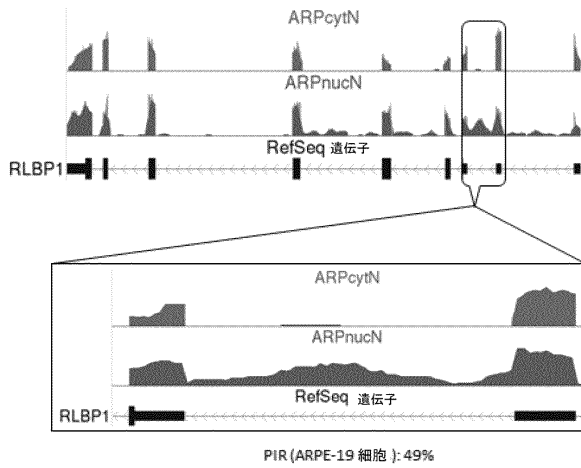
20

30

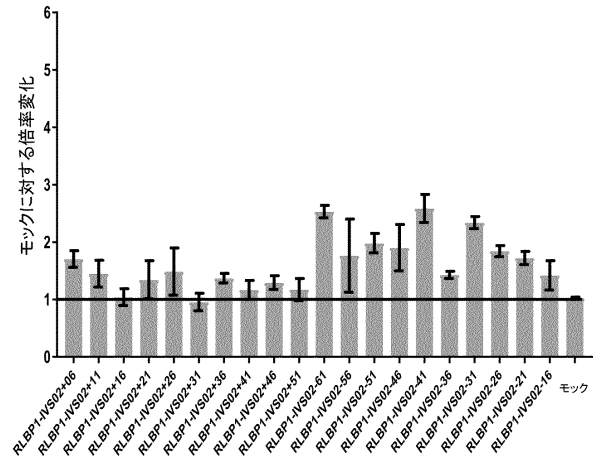
40

50

【図 16】

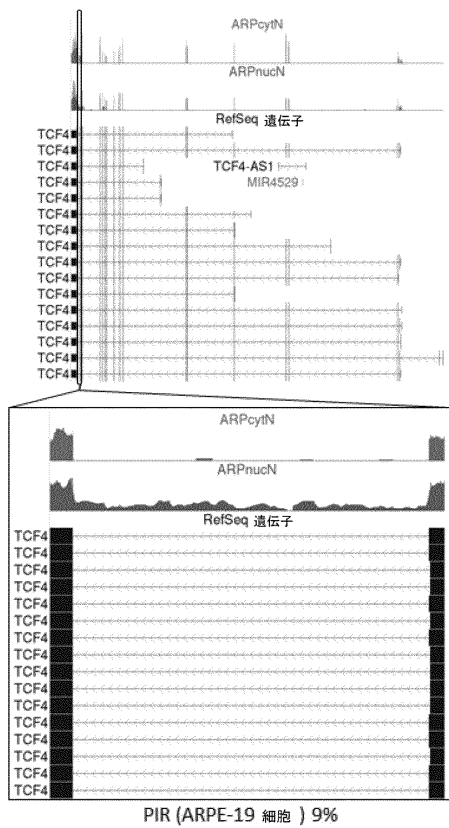


【図 17】

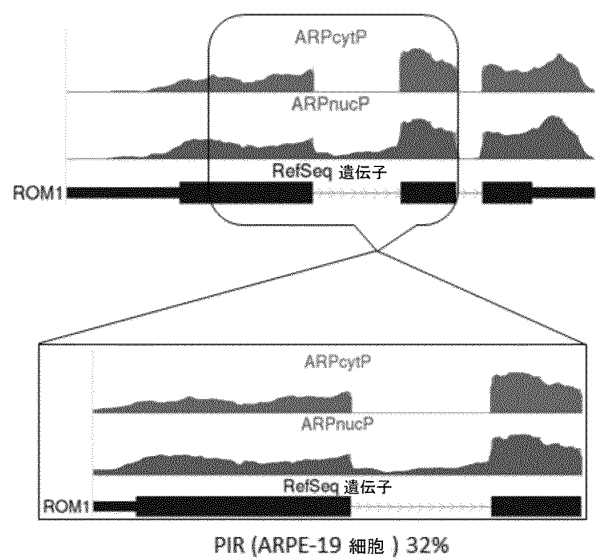


10

【図 18】



【図 19】



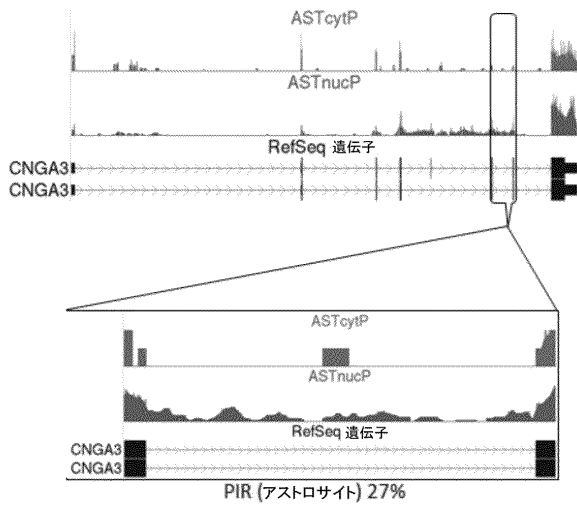
20

30

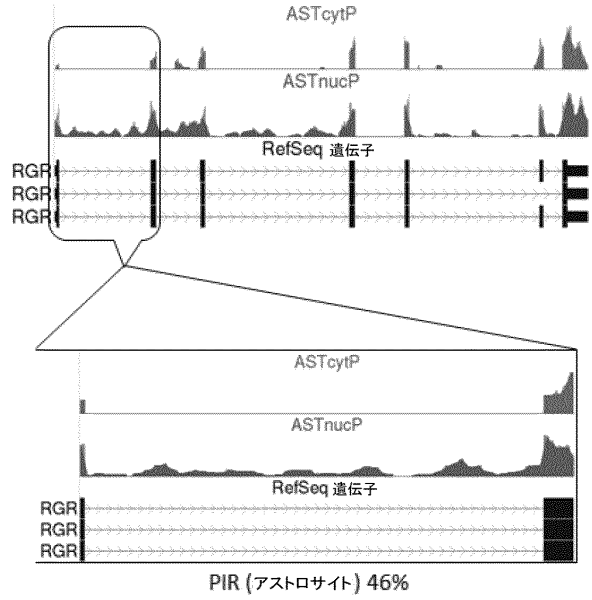
40

50

【図 2 0】



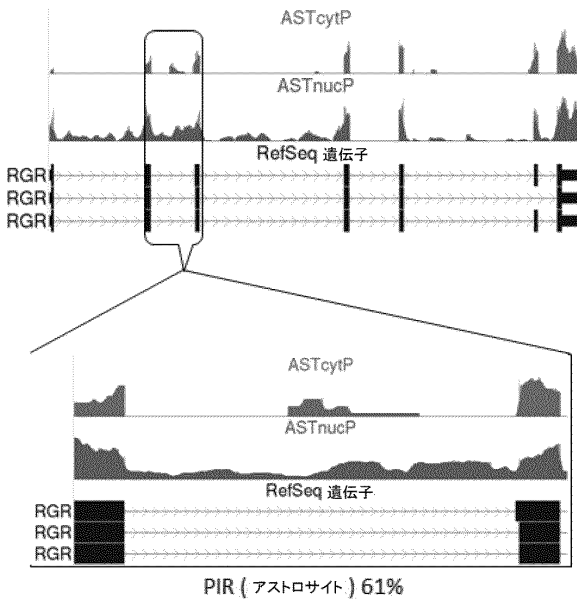
【図 2 1】



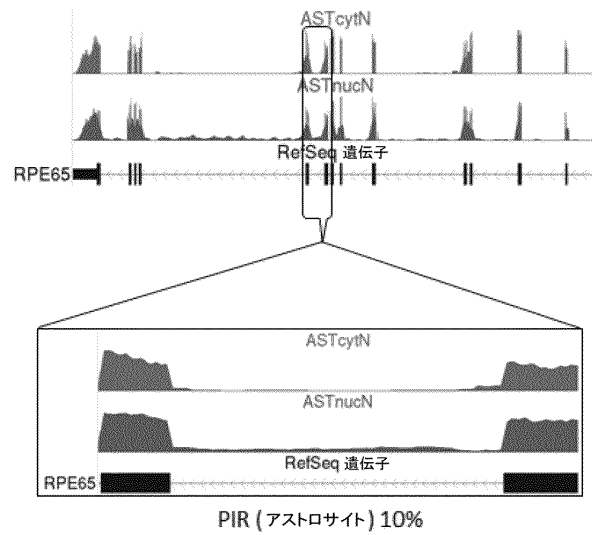
10

20

【図 2 2】



【図 2 3】



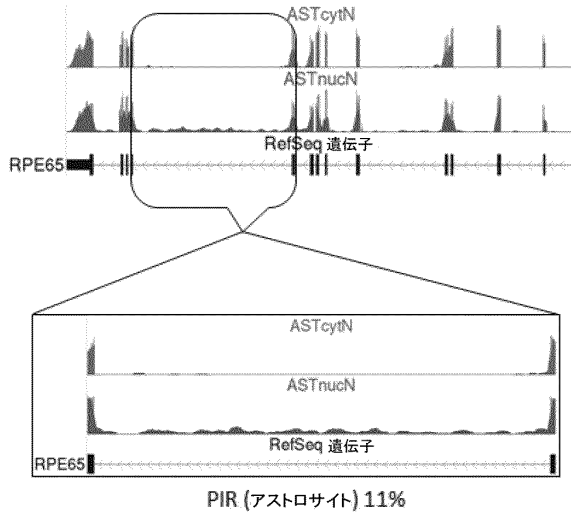
30

40

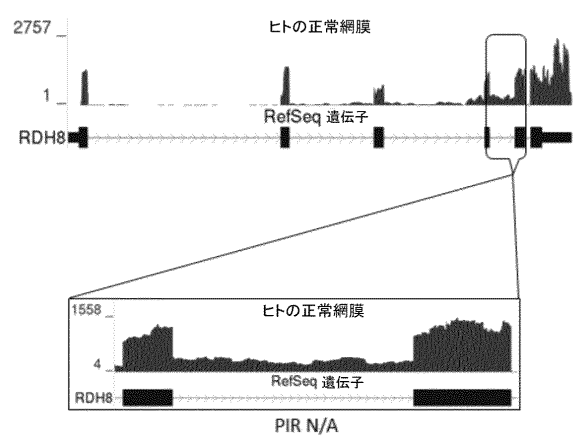
50



【図 2 4】

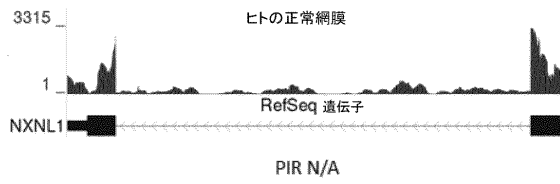


【図 2 5】

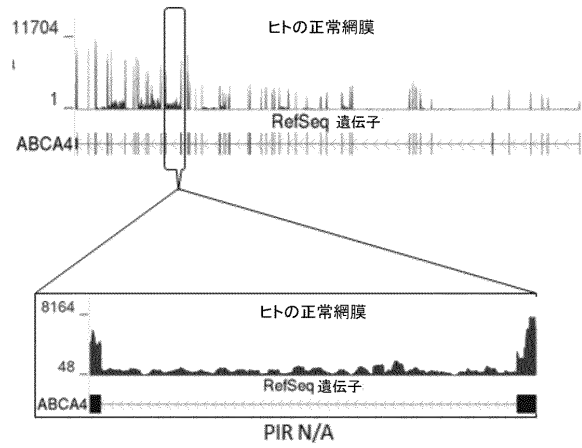


10

【図 2 6】



【図 2 7】



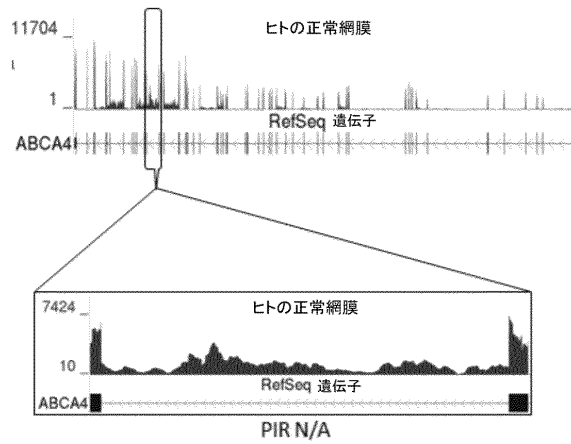
20

30

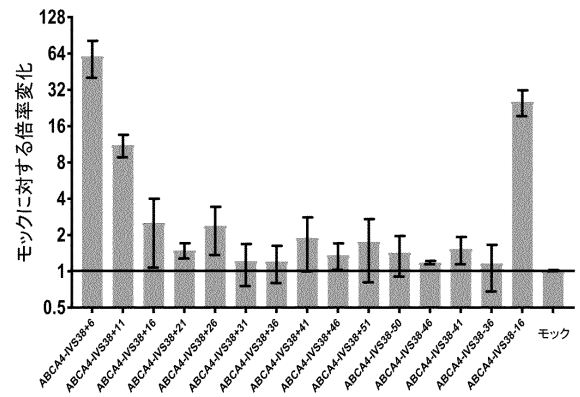
40

50

【図 28】

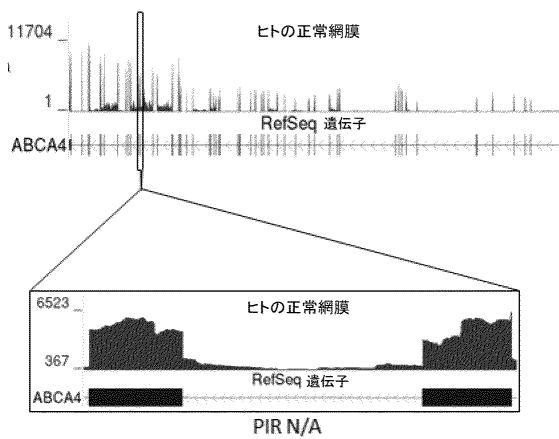


【図 29】

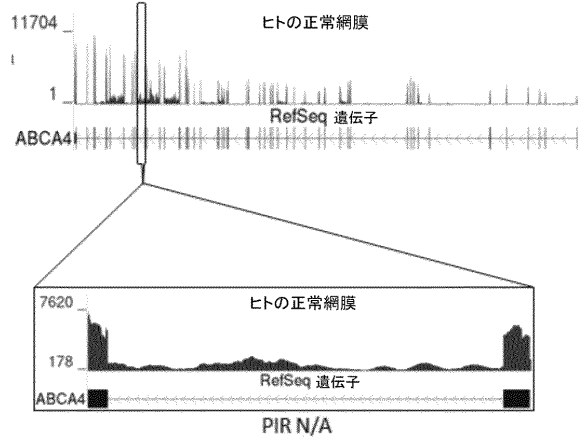


10

【図 30】



【図 31】



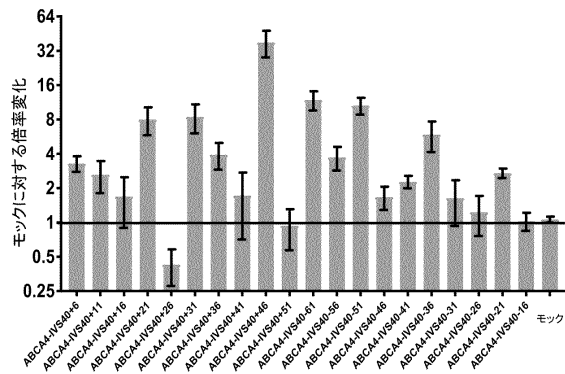
20

30

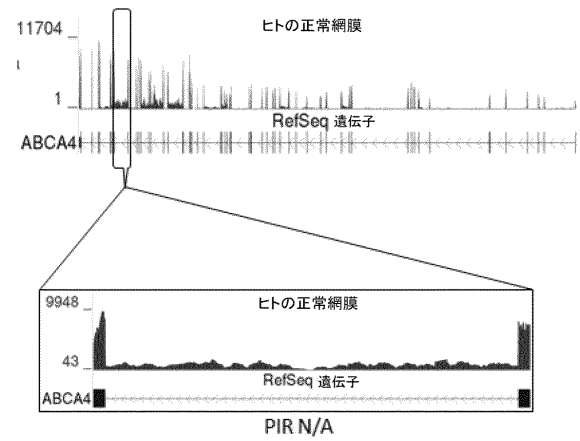
40

50

【 図 3 2 】

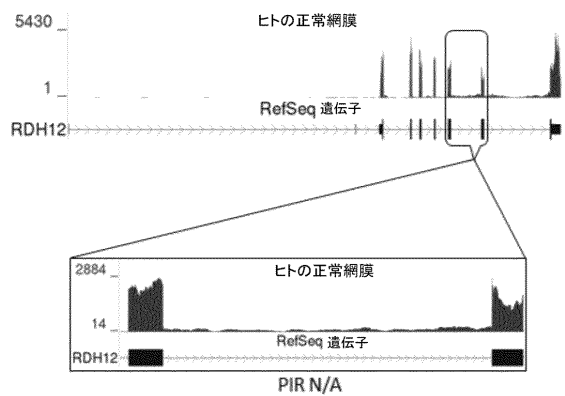


【 図 3 3 】

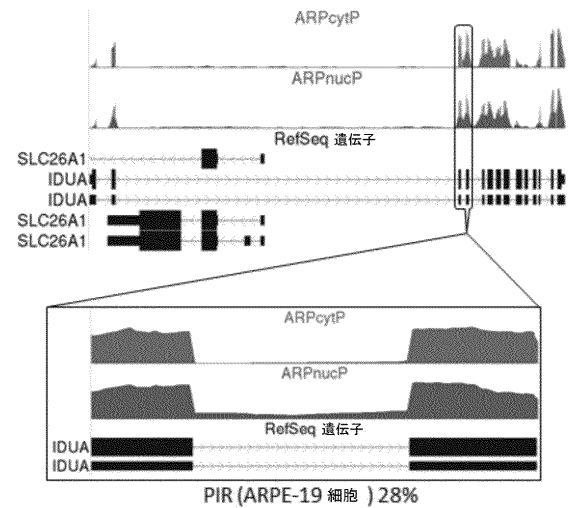


10

【 図 3 4 】



【 図 3 5 】



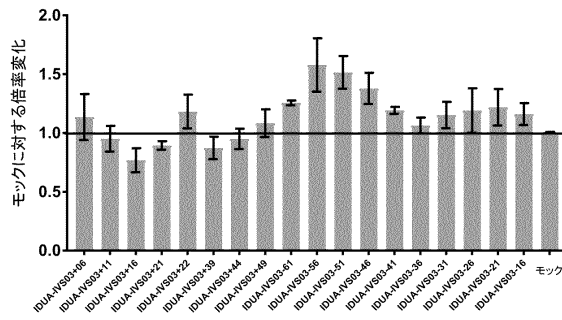
20

30

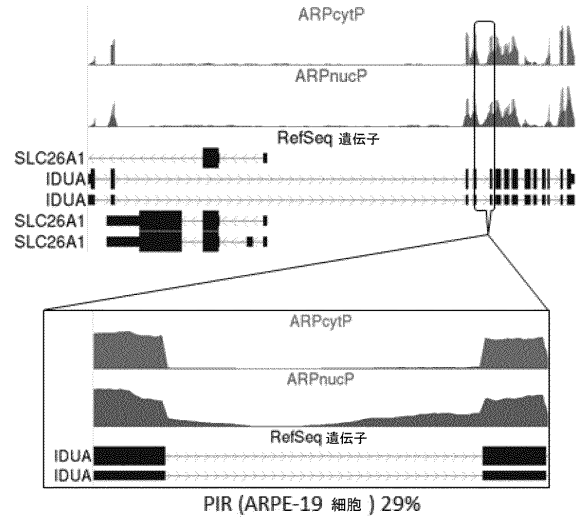
40

50

【図 36】

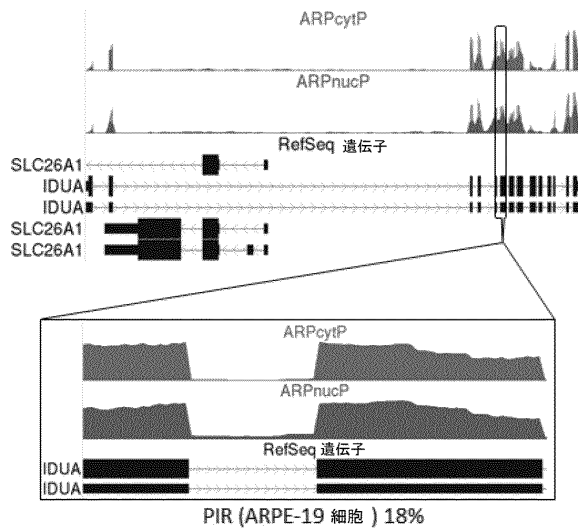


【図 37】

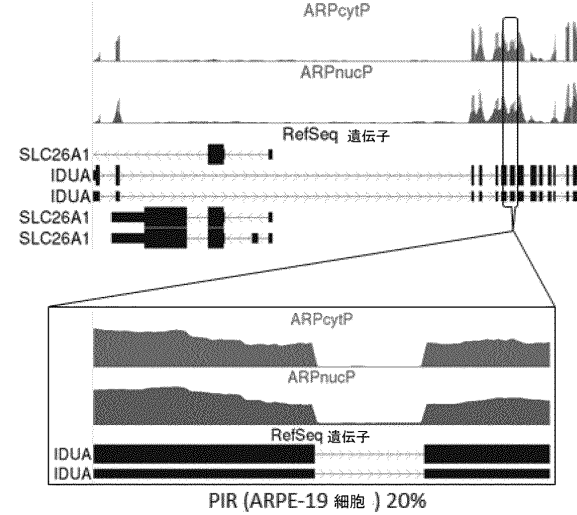


10

【図 38】



【図 39】



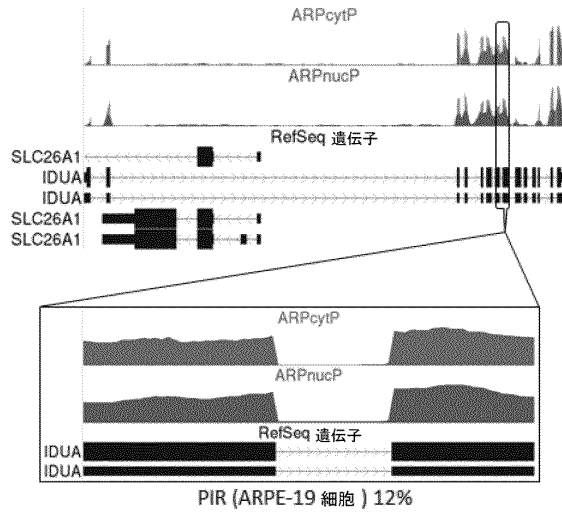
20

30

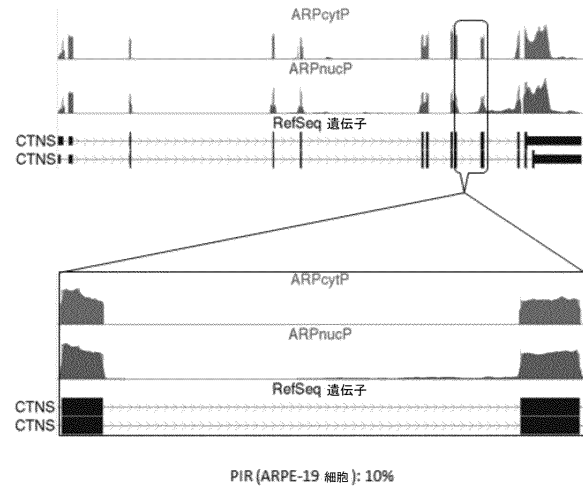
40

50

【図 4 0】

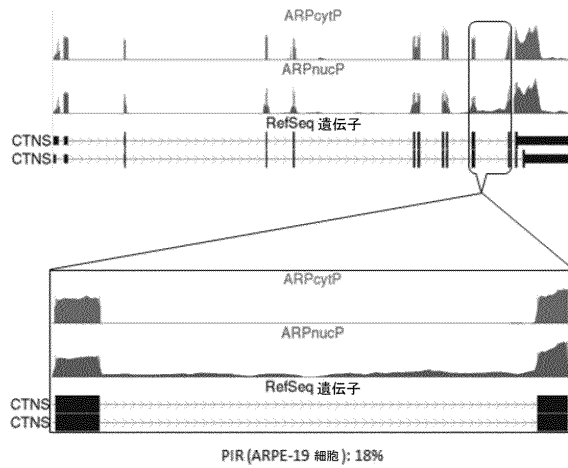


【図 4 1】

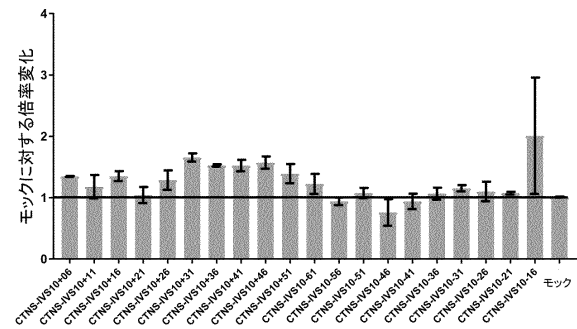


10

【図 4 2】



【図 4 3】



20

【配列表】

0007036723000001.app

30

40

50

## フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

(74)代理人 100122644

弁理士 寺地 拓己

(72)発明者 アズナレズ, イザベル

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ マガジン・ストリート 5 5 ア  
パートメント 1 2 エー

(72)発明者 ナッシュ, ヒュー エム.

アメリカ合衆国 0 2 4 2 1 マサチューセッツ州 レキシントン ワシントン・ストリート 4

(72)発明者 アゼアリアン, サッサン

アメリカ合衆国 0 1 7 3 0 マサチューセッツ州 ベッドフォード プレストン・コート 3

(72)発明者 ホール, サミュエル ダブリュ.

アメリカ合衆国 0 1 7 3 0 マサチューセッツ州 ベッドフォード プレストン・コート 3

(72)発明者 クライナー, エイドリアン

アメリカ合衆国 1 1 7 3 1 ニューヨーク州 イースト・ノースポート デイリー・ロード 2 5 6

審査官 古閑 一実

(56)参考文献 NATURE, 2010年, Vol 465, p.223-227

Journal of the Neurological Sciences, Vol.309, 2011年, p.16-17

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4

A 6 1 K 4 8 / 0 0

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )