

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-508959
(P2025-508959A)

(43)公表日 令和7年4月10日(2025.4.10)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		4 B 0 6 3
C 1 2 N	15/113(2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 C 0 7 6
C 1 2 Q	1/686(2018.01)	C 1 2 Q	1/686	Z	4 C 0 8 4
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/7115(2006.01)	A 6 1 K	31/7115		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全172頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-552157(P2024-552157)			(71)出願人	522468319
(86)(22)出願日	令和5年3月1日(2023.3.1)				タケダ ファーマシューティカルズ ユー
(85)翻訳文提出日	令和6年11月1日(2024.11.1)				エスエー インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2023/063531				TAKEDA PHARMACEUTI
(87)国際公開番号	WO2023/168304				CALS U. S. A., INC.
(87)国際公開日	令和5年9月7日(2023.9.7)				アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(31)優先権主張番号	63/315,707				2 4 2 1 レキシントン ハイデン アヴ
(32)優先日	令和4年3月2日(2022.3.2)				エニュー 9 5
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100136629
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ				弁理士 鎌田 光宜
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),			(74)代理人	100080791
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(				弁理士 高島 一
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,			(74)代理人	100125070
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV				弁理士 土井 京子
	最終頁に続く			(74)代理人	100121212
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 M S H 3 活性と関連するヌクレオチドリピート伸長障害の治療方法

(57)【要約】

本開示は、ヌクレオチドリピート伸長障害を治療するための、例えば、それを必要とする対象における有用な組成物及び方法の特徴とする。いくつかの態様では、本明細書に記載される組成物及び方法は、M S H 3 活性と関連する障害の治療に有用である。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヌクレオチドリビート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記方法が、MSH3を標的とする一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含み、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約2mg～約300mgの用量で投与される、方法。

【請求項 2】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも95%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約2mg～約300mgの用量で投与される、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも98%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも99%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1または2に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に100%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 6】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における17～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 7】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号614の2543～2573位における17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項 8】

前記17～20個の隣接する核酸塩基が、配列番号614、またはその薬学的に許容される塩の、2543位、2544位、2545位、2546位、2547位、2548位、2549位、2550位、2551位、2552位、2553位、2554位、2555位、2556位、または2557位から始まる、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記オリゴヌクレオチドが、17～20の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

前記20～23個の隣接する核酸塩基が、配列番号614、またはその薬学的に許容される塩の、2543位、2544位、2545位、2546位、2547位、2548位、2549位、2550位、2551位、2552位、2553位、または2554位から始まる、請求項10に記載の方法。

50

【請求項 12】

前記オリゴヌクレオチドが、20～23の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 13】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2570位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記方法が、15～30の連結ヌクレオチド長の一本鎖オリゴヌクレオチドを脳室内投与することを含み、前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも95%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約2mg～約300mgの用量で投与される、前記方法。

10

【請求項 15】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも98%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14に記載の方法。

【請求項 16】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも99%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14に記載の方法。

20

【請求項 17】

前記オリゴヌクレオチドまたはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に100%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14に記載の方法。

【請求項 18】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における17～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～17のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項 19】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 20】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685位、2686位、2687位、2688位、2689位、2690位、2691位、2692位、2693位、2694位、2695位、2696位、2697位、もしくは2698位から始まる17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項19に記載の方法。

40

【請求項 21】

前記オリゴヌクレオチドが、17～20の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 22】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～21のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 23】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号614の2685位、2686位、2687位、

50

2688位、2689位、2690位、2691位、2692位、2693位、2694位、もしくは2695位から始まる20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項21に記載の方法。

【請求項24】

前記オリゴヌクレオチドが、20～23の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～23のいずれか1項に記載の方法。

【請求項25】

前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～24のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項26】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号1、97、193、または289のいずれか1つではない、請求項14～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項27】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1、97、193、または289のいずれか1つからなる核酸塩基配列を有しない、請求項14～26のいずれか1項に記載の方法。

【請求項28】

請求項431～27のいずれか1項に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが、

(a) 連結デオキシリボヌクレオシドを含むDNAコア配列、

20

(b) 連結ヌクレオシドを含む5'フランキング配列、及び

(c) 連結ヌクレオシドを含む3'フランキング配列

を含み、

前記DNAコアが、前記5'フランキング配列と前記3'フランキング配列との間に位置する少なくとも10個の隣接する核酸塩基の領域を含み、前記5'フランキング配列及び前記3'フランキング配列が各々、少なくとも2個の連結ヌクレオシドを含み、各フランキング配列の少なくとも1個のヌクレオシドが、代替ヌクレオシドを含むか、またはその薬学的に許容される塩である、前記方法。

【請求項29】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項1～28のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項30】

前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、2'-アルコキシヌクレオシド間結合である、請求項29に記載の方法。

【請求項32】

前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である、請求項29に記載の方法。

40

【請求項33】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替核酸塩基を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～32のいずれか1項に記載の方法。

【請求項34】

前記代替核酸塩基が、5'-メチルシトシン、シュードウリジン、または5-メトキシウリジンである、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替糖部分を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～34のいずれか1項に記載の方法。

【請求項36】

50

前記代替糖部分が、2'-OMeまたは二環式核酸である、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

前記オリゴヌクレオチドが、一価もしくは分岐二価もしくは三価リンカーを介して前記オリゴヌクレオチドの5'末端もしくは3'末端に複合化したリガンドをさらに含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～36のいずれか1項に記載の方法。

【請求項38】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1～384及び390～613のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項14～37のいずれか1項に記載の方法。

【請求項39】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2～96、98～192、194～288、290～384、及び390～613のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1～384のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項41】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2～96、98～192、194～288、及び290～384のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項42】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1～96のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項43】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2～96のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項44】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号97～192のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項45】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号98～192のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項46】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号193～288のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項47】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号194～288のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項48】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号289～384のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項49】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 288～384 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 50】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 390～613 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 51】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 390～480 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

10

【請求項 52】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 481～571 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 53】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 572～662 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 54】

20

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 663～613 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 55】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 56】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

30

【請求項 57】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 58】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 6 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 59】

40

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 60】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～16

50

5、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項61】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号97である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項62】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号145である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項63】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号163である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項64】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項65】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項66】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号193である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項67】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号226～227、234、240、もしくは243～244のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項68】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号227、234、240、もしくは243～244のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項69】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号226である前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項70】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項71】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項72】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号289である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項38に記載の方法。

【請求項73】

10

20

30

40

50

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 2 9 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 4 6 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 ～ 3 8 4 及び 3 9 0 ～ 6 1 3 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 m g ～ 約 3 0 0 m g の用量で投与される、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 7 6】

前記オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 2 ～ 9 6、9 8 ～ 1 9 2、1 9 4 ～ 2 8 8、2 9 0 ～ 3 8 4、及び 3 9 0 ～ 6 1 3 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 1 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 2 ～ 9 6、9 8 ～ 1 9 2、1 9 4 ～ 2 8 8、もしくは 2 9 0 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

20

【請求項 7 9】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 ～ 9 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 0】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 ～ 9 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 9 7 ～ 1 9 2 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

30

【請求項 8 2】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 9 6 ～ 1 9 2 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 3 ～ 2 8 8 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 4 ～ 2 8 8 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 8 9 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

40

【請求項 8 6】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 9 0 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 9 0 ～ 6 1 3 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 9 0 ～ 4 8 0 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配

50

列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 89】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 481～571 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 90】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 572～662 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 91】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 663～613 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

10

【請求項 92】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 93】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

20

【請求項 94】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 95】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 6 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 96】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

30

【請求項 97】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

40

【請求項 98】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 97 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 99】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 145 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 100】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 163 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 101】

50

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは 285～286 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 102】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは 285～286 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 103】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 193 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 104】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 226～227、234、240、もしくは 243～244 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 105】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 227、234、240、もしくは 243～244 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 106】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 226 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 107】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは 346 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 108】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは 346 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 109】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 289 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 110】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 329 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 111】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 346 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 112】

ヌクレオチドリビート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記方法が、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1～384 もしくは表 4 の 390～613 からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含み、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 mg～約 300 mg の用量で投与される、前記方法。

【請求項 113】

10

20

30

40

50

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 2 ～ 96、98 ～ 192、194 ～ 288、290 ～ 384、及び表 4 の 390 ～ 613 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 114】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 ～ 384 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 115】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 2 ～ 96、98 ～ 192、194 ～ 288、及び 290 ～ 384 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 116】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 ～ 96 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 117】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 2 ～ 96 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 118】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 97 ～ 192 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 119】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 98 ～ 192 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 120】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 193 ～ 288 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 121】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 194 ～ 288 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 122】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 289 ～ 384 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 123】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 290 ～ 384 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 124】

前記オリゴヌクレオチドが、表 4 のアンチセンスオリゴ番号 390 ～ 613 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 125】

前記オリゴヌクレオチドが、表 4 のアンチセンスオリゴ番号 390 ～ 480 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 126】

前記オリゴヌクレオチドが、表 4 のアンチセンスオリゴ番号 481 ～ 571 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 112 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2 7】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

10

【請求項 1 2 9】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 6、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

20

【請求項 1 3 2】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

30

【請求項 1 3 3】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 97、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 145、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 163、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 6】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは 285～286 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

40

【請求項 1 3 7】

前記オリゴヌクレオチドが、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは 285～286 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 1 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 3 8】

50

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号193、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項139】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号226～227、234、240、もしくは243～244からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項140】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号227、234、240、もしくは243～244からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項141】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号226、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項142】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項143】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項144】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号289、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項145】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号329、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項146】

前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号346、またはその薬学的に許容される塩である、請求項112に記載の方法。

【請求項147】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる、請求項1～146のいずれか1項に記載の方法。

【請求項148】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる、請求項1～146のいずれか1項に記載の方法。

【請求項149】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる、請求項1～146のいずれか1項に記載の方法。

【請求項150】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも80%減少させる、請求項1～146のいずれか1項に記載の方法。

【請求項151】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1 nMのオリゴヌクレ

10

20

30

40

50

オチド濃度で M S H 3 m R N A 発現を少なくとも 5 0 % 減少させる、請求項 1 ~ 1 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5 2】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1 n M のオリゴヌクレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現を少なくとも 6 0 % 減少させる、請求項 1 ~ 1 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5 3】

前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1 n M のオリゴヌクレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現を少なくとも 7 0 % 減少させる、請求項 1 ~ 1 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5 4】

前記 M S H 3 m R N A 発現がインビトロで評価される、請求項 1 4 7 ~ 1 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5 5】

前記 M S H 3 m R N A 発現が、細胞ベースのアッセイで評価される、請求項 1 5 4 に記載の方法。

【請求項 1 5 6】

前記 M S H 3 m R N A 発現が、H e L a 細胞で評価される、請求項 1 5 5 に記載の方法。

【請求項 1 5 7】

前記 M S H 3 m R N A 発現が、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (R T - q P C R) によって決定される、請求項 1 4 7 ~ 1 5 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5 8】

前記 M S H 3 m R N A 発現が、参照遺伝子の m R N A 発現を基準として正規化される、請求項 1 4 7 ~ 1 5 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5 9】

前記 M S H 3 m R N A 発現が、ベータグルクロニダーゼ (G U S B) の m R N A 発現を基準として正規化される、請求項 1 5 8 に記載の方法。

【請求項 1 6 0】

前記 M S H 3 m R N A 発現の減少が、対照に対するものである、請求項 1 4 7 ~ 1 5 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6 1】

前記対照が、前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下における M S H 3 m R N A 発現である、請求項 1 6 0 に記載の方法。

【請求項 1 6 2】

前記対照が、前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下における M S H 3 m R N A 発現である、請求項 1 6 1 に記載の方法。

【請求項 1 6 3】

前記対照オリゴヌクレオチド、またはその塩が、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである、請求項 1 6 2 に記載の方法。

【請求項 1 6 4】

前記 M S H 3 m R N A 発現の減少が、デルターデルタ C t ($\Delta \Delta C t$) 法によって算出される、請求項 1 4 7 ~ 1 6 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6 5】

前記デルターデルタ C t ($\Delta \Delta C t$) 法が、前記 M S H 3 m R N A 発現を、参照遺伝子の前記 m R N A 発現を基準として、かつ、前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下における前記 M S H 3 m R N A 発現を基準として正規化することを含む、請求項 1 6 4 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 6 6】

前記参照遺伝子が、ベータ-グルクロニダーゼ（G U S B）であり、及び／または前記対照オリゴヌクレオチド、もしくはその塩が、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである、請求項 1 6 5 に記載の方法。

【請求項 1 6 7】

前記 M S H 3 m R N A 発現の減少が、実施例 1 の方法によって決定される、請求項 1 4 7 ～ 1 6 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6 8】

同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号 1 が、1 0 n M のオリゴヌクレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現をおよそ 5 8 % 減少させる、請求項 1 4 7 ～ 1 5 0 及び 1 5 2 ～ 1 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6 9】

同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号 1 が、1 n M のオリゴヌクレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現をおよそ 1 4 % 減少させる、請求項 1 5 4 ～ 1 6 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7 0】

前記オリゴヌクレオチドが遊離塩基型である、請求項 1 ～ 1 6 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7 1】

前記オリゴヌクレオチドが、その薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 1 6 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7 2】

前記オリゴヌクレオチドがナトリウム塩である、請求項 1 7 1 に記載の方法。

【請求項 1 7 3】

1 つ以上の前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、前記オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つ以上、及び薬学的に許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物として脳室内投与される、請求項 1 ～ 1 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7 4】

前記医薬組成物が、人工脳脊髄液をさらに含む、請求項 1 7 3 に記載の方法。

【請求項 1 7 5】

前記対象が、霊長類である、請求項 1 ～ 1 7 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7 6】

前記霊長類が、ヒトである、請求項 1 7 5 に記載の方法。

【請求項 1 7 7】

前記霊長類が、非ヒト霊長類である、請求項 1 7 5 に記載の方法。

【請求項 1 7 8】

前記ヌクレオチドリピート伸長障害が、脊髄小脳失調症 3 6 型または前頭側頭型認知症である、請求項 1 ～ 1 7 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7 9】

前記ヌクレオチドリピート伸長障害が、トリヌクレオチドリピート伸長障害である、請求項 1 ～ 1 7 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8 0】

前記トリヌクレオチドリピート伸長障害が、ポリグルタミン病である、請求項 1 7 9 に記載の方法。

【請求項 1 8 1】

前記ポリグルタミン病が、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、ハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調症 1 型、脊髄小脳失調症 2 型、脊髄小脳失調症 3 型、脊髄小脳失調症 6 型、脊髄小脳失調症 7 型、脊髄小脳失調症 1 7 型、及びハンチントン病類縁疾患 2 型からなる群から選択される、請求項 1 8 0 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 182】

前記トリヌクレオチドリピート伸長障害が、非ポリグルタミン病である、請求項 179 に記載の方法。

【請求項 183】

前記非ポリグルタミン病が、脆弱 X 症候群、脆弱 X 関連振戦／運動失調症候群、脆弱 X E 精神遅滞、フリードライヒ失調症、筋強直性ジストロフィー 1 型、脊髄小脳失調症 8 型、脊髄小脳失調症 12 型、眼咽頭型筋ジストロフィー、脆弱 X 関連早発卵巣不全、FRA 2A 症候群、FRA 7A 症候群、及び早期乳児てんかん性脳症からなる群から選択される、請求項 182 に記載の方法。

【請求項 184】

追加の治療剤を投与することをさらに含む、請求項 1～183 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 185】

前記追加の治療剤が、ハンチンチン遺伝子をコードする mRNA にハイブリダイズする別のオリゴヌクレオチドである、請求項 184 に記載の方法。

【請求項 186】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 10 mg～約 250 mg の用量で投与される、請求項 1～185 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 187】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 15 mg～約 200 mg の用量で投与される、請求項 186 に記載の方法。

【請求項 188】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 25 mg～約 200 mg の用量で投与される、請求項 186 に記載の方法。

【請求項 189】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 50 mg～約 200 mg の用量で投与される、請求項 186 に記載の方法。

【請求項 190】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 100 mg～約 150 mg の用量で投与される、請求項 186 に記載の方法。

【請求項 191】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、週 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 192】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、2 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 193】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、3 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 194】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、4 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 195】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1 か月に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 196】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、6 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 197】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、8 週間に 1 回投

10

20

30

40

50

与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 198】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、2 か月に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 199】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 200】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、12 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 201】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、3 か月に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 202】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、16 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 203】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、4 か月に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 204】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、20 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 205】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、5 か月に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 206】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、24 週間に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 207】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、6 か月に 1 回投与される、請求項 1～190 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 208】

前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の投与が、前記ヌクレオチドリビート伸長障害の発症及び／または進行を、予測される発症及び／または進行と比較した場合に少なくとも 120 日、少なくとも 6 か月、少なくとも 12 か月、少なくとも 2 年、少なくとも 3 年、少なくとも 4 年、少なくとも 5 年、少なくとも 10 年またはそれを超えて遅延させる、請求項 1～207 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 209】

追加の治療剤を投与することをさらに含む、請求項 1～208 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 210】

前記追加の治療剤が、ハンチンチン遺伝子をコードする mRNA にハイブリダイズする別のオリゴヌクレオチドである、請求項 209 に記載の方法。

【請求項 211】

請求項 75～110 のいずれか 1 項に記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが、

- (a) 連結デオキシリボヌクレオシドを含む DNA コア配列、
- (b) 連結ヌクレオシドを含む 5' フランキング配列、及び
- (c) 連結ヌクレオシドを含む 3' フランキング配列

を含み、

10

20

30

40

50

前記DNAコアが、前記5'フランキング配列と前記3'フランキング配列との間に位置する少なくとも10個の隣接する核酸塩基の領域を含み、前記5'フランキング配列及び前記3'フランキング配列が各々、少なくとも2個の連結ヌクレオシドを含み、各フランキング配列の少なくとも1個のヌクレオシドが、代替ヌクレオシドを含むか、またはその薬学的に許容される塩である、前記方法。

【請求項212】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項75～111のいずれか1項に記載の方法。

【請求項213】

前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項212に記載の方法。

【請求項214】

前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、2'-アルコキシヌクレオシド間結合である、請求項212に記載の方法。

【請求項215】

前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である、請求項212に記載の方法。

【請求項216】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替核酸塩基を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項211～215のいずれか1項に記載の方法。

【請求項217】

前記代替核酸塩基が、5'-メチルシトシン、シュードウリジン、または5'-メトキシウリジンである、請求項216に記載の方法。

【請求項218】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替糖部分を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項211～217のいずれか1項に記載の方法。

【請求項219】

前記代替糖部分が、2'-OMeまたは二環式核酸である、請求項218に記載の方法。

【請求項220】

前記オリゴヌクレオチドが、一価もしくは分岐二価もしくは三価リンカーを介して前記オリゴヌクレオチドの5'末端もしくは3'末端に複合化したリガンドをさらに含むか、またはその薬学的に許容される塩である、請求項211～219のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本国際出願は、2022年3月2日出願の米国仮出願第63/315,707号の優先権の利益を主張し、当該仮出願は、ここで参照することにより全体として本明細書に援用される。

【背景技術】

【0002】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は、ヌクレオチドリピート伸長（例えば、トリヌクレオチドリピート）によって引き起こされる遺伝的障害である。ヌクレオチドリピート伸長（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長）は、ある特定の遺伝子またはイントロン内のヌクレオチドリピートが、その遺伝子の正常で安定した閾値を超える遺伝子変異の一種である。ヌクレオチドリピート（例えば、トリヌクレオチドリピート）は、欠損もしくは毒性遺伝子産物をもたらし、RNA転写を障害し、及び／または毒性mRNA転写物を形成することによって毒性作用を引き起こし得る。

10

20

30

40

50

【0003】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は一般に、リピート伸長の種類によって分類される。例えば、ハンチントン病などの1型障害は、ポリグルタミン鎖として知られる一連のグルタミン残基をもたらしCAGリピートによって引き起こされ、2型障害は、一般に大きさが小さい不均一な伸長によって引き起こされ、脆弱X症候群などの3型障害は、一般に遺伝子のタンパク質コード領域の外側に位置する大きなリピート伸長を特徴とする。ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は、1型障害に共通する神経細胞の進行性変性などの多様な症状を特徴とする。

【0004】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を有する対象またはヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を発症するリスクがあると見なされる対象は、疾患と関連する遺伝子内に構成的ヌクレオチド伸長を有する（すなわち、ヌクレオチドリピート伸長が胚形成中に遺伝子内に存在する）。構成的ヌクレオチドリピート伸長（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長）は、胚形成後に伸長（すなわち、体細胞ヌクレオチドリピート伸長）を受け得る。構成的ヌクレオチドリピート伸長及び体細胞ヌクレオチドリピート伸長は両方とも、疾患の存在、疾患の発症年齢、及び／または疾患の進行速度と関連し得る。

【図面の簡単な説明】

【0005】

【図1】Aは、アンチセンスオリゴ番号289の髄腔内（「IT」）投与後の非ヒト霊長類の尾状核におけるMSH3 mRNA応答を示す。Bは、アンチセンスオリゴ番号289のIT投与後の被殻におけるMSH3 mRNA応答を示す。Cは、アンチセンスオリゴ番号289のIT投与後の皮質におけるMSH3 mRNA応答を示す。Dは、アンチセンスオリゴ番号289のIT投与後の腰部におけるMSH3 mRNA応答を示す。

【図2】Aは、アンチセンスオリゴ番号289の脳室内（「ICV」）投与後の非ヒト霊長類の尾状核におけるMSH3 mRNA応答を示す。Bは、アンチセンスオリゴ番号289のICV投与後の被殻におけるMSH3 mRNA応答を示す。Cは、アンチセンスオリゴ番号289のIT投与後の皮質におけるMSH3 mRNA応答を示す。Dは、アンチセンスオリゴ番号289のIT投与後の腰部におけるMSH3 mRNA応答を示す。

【図3】非ヒト霊長類における、配列番号617のオリゴヌクレオチドのIT、ICM、及び静脈内（「IV」）投与後に得られたMSH3の相対的発現を示す。

【図4A】同側の尾状核、同側の前頭皮質及び側頭皮質、ならびに同側の側座核におけるアンチセンスオリゴ番号289のICV投与後、t=0、t=15日、及びt=29日のMSH3 mRNA応答を示す。

【図4B】対側の尾状核、対側の前頭皮質及び側頭皮質、ならびに対側の側座核におけるアンチセンスオリゴ番号289のICV投与後、t=0、t=15日、及びt=29日のMSH3 mRNA応答を示す。

【図5A】同側及び対側の尾状核におけるアンチセンスオリゴ番号289のICV投与後、t=0、t=24時間、t=48時間、t=8日、t=15日、及びt=29日のMSH3 mRNA応答を示す。

【図5B】同側及び対側の被殻におけるアンチセンスオリゴ番号289のICV投与後、t=0、t=24時間、t=48時間、t=8日、t=15日、及びt=29日のMSH3 mRNA応答を示す。

【図5C】同側及び対側の側座核におけるアンチセンスオリゴ番号289のICV投与後、t=0、t=24時間、t=48時間、t=8日、t=15日、及びt=29日のMSH3 mRNA応答を示す。

【図5D】同側及び対側の前頭皮質におけるアンチセンスオリゴ番号289のICV投与後、t=0、t=24時間、t=48時間、t=8日、t=15日、及びt=29日のMSH3 mRNA応答を示す。

10

20

30

40

50

【図 5 E】同側及び対側の側頭皮質におけるアンチセンスオリゴ番号 289 の I C V 投与後、 $t = 0$ 、 $t = 24$ 時間、 $t = 48$ 時間、 $t = 8$ 日、 $t = 15$ 日、及び $t = 29$ 日の M S H 3 m R N A 応答を示す。

【図 6】非ヒト霊長類における反復髄腔内（「I T」）投薬後の前頭皮質における M S H 3 m R N A ノックダウン（「K D」）を示す。X 軸は、試験したアンチセンスオリゴを示す。左から右へ：人工 C S F 対照、アンチセンスオリゴ番号 1、アンチセンスオリゴ番号 97、アンチセンスオリゴ番号 193、アンチセンスオリゴ番号 289、及びアンチセンスオリゴ番号 617。Y 軸は、5 つのハウスキーピング遺伝子を基準として正規化し、a C S F 群と比較した残存 M S H 3 m R N A を示す。

【図 7】非ヒト霊長類における反復 I T 投薬後の前頭皮質における M S H 3 タンパク質ノックダウンを示す。X 軸は、独占権下の抗体及びウェスタンブロットを使用した、反復 I T 投薬 15 日後の A S O 処置群（アンチセンスオリゴ番号 289 で処置）に対する a C S F 処置群の皮質における M S H 3 タンパク質量（ β -チューブリンを基準として正規化）を示す。

【図 8】リン酸緩衝食塩水（P B S）と比較した $50 \mu\text{g}$ 及び $100 \mu\text{g}$ の投与量での 3 つの実験群の網膜におけるマウス M S H 3 遺伝子の m R N A の Q R T - P C R 結果を示す。

【図 9】A ~ D は、アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 12 週までの皮質における M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。A は、同側の前頭皮質で達成された結果を示す。B は、対側の前頭皮質で達成された結果を示す。C は、同側の側頭皮質で達成された結果を示す。D は、対側の側頭皮質で達成された結果を示す。

【図 10】A ~ B は、アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 12 週までの尾状核における M S H 3 ノックダウンを示す。A は、同側の尾状核で達成された結果を示す。B は、対側の尾状核で達成された結果を示す。

【図 11】A ~ B は、アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 12 週までの側座核における M S H 3 ノックダウンを示す。A は、同側の側座核で達成された結果を示す。B は、対側の側座核で達成された結果を示す。

【図 12】A ~ B は、アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 8 週及び 12 週の被殻における M S H 3 ノックダウンを示す。A は、同側の被殻で達成された結果を示す。B は、対側の被殻で達成された結果を示す。

【図 13】A ~ B は、アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの皮質における M S H 3 ノックダウンを示す。A は、同側及び対側の運動皮質で達成された結果を示す。B は、同側及び対側の後頭皮質で達成された結果を示す。

【図 14 A】アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の尾状核体で達成された結果を示す。

【図 14 B】アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の淡蒼球体（body of globus pallidus）で達成された結果を示す。

【図 14 C】アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の扁桃体で達成された結果を示す。

【図 14 D】アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の視床下部で達成された結果を示す。

【図 14 E】アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の視床下部で達成された結果を示す。

【図 14 F】アンチセンスオリゴ番号 289 の単回 10 mg の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の

10

20

30

40

50

視床で達成された結果を示す。

【図 1 4 G】アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 1 0 m g の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の黒質で達成された結果を示す。

【図 1 4 H】アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 1 0 m g の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び対側の脳橋で達成された結果を示す。

【図 1 4 I】アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 1 0 m g の I C V 投薬後 4 週までの同側の尾状核体、扁桃体、及び視床における M S H 3 ノックダウンを示す。同側及び反対側の延髄で達成された結果を示す。

【図 1 5】A ～ B は、アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 1 0 m g の I C V 投薬後 4 週までの注射部位周囲の同側白質における M S H 3 ノックダウンを示す。A は、扁桃体のレベルにおける白質で達成された結果を示す。B は、注射領域付近の白質で達成された結果を示す。

【図 1 6 A】示されている投与量での人工脳脊髄液（a C S F）またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 1 2 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。尾状核で達成された結果を示す。

【図 1 6 B】示されている投与量での人工脳脊髄液（a C S F）またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 1 2 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。被殻で達成された結果を示す。

【図 1 6 C】示されている投与量での人工脳脊髄液（a C S F）またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 1 2 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。側座核で達成された結果を示す。

【図 1 6 D】示されている投与量での人工脳脊髄液（a C S F）またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 1 2 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。前頭皮質で達成された結果を示す。

【図 1 7 A】示されている投与量での a C S F またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 2 4 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。尾状核で達成された結果を示す。

【図 1 7 B】示されている投与量での a C S F またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 2 4 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。被殻で達成された結果を示す。

【図 1 7 C】示されている投与量での a C S F またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 2 4 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。前頭皮質で達成された結果を示す。

【図 1 7 D】示されている投与量での a C S F またはアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の単回 I C V 注射後の 2 4 週間にわたる N H P における持続的な両側性 M S H 3 m R N A ノックダウンを示す。側座核で達成された結果を示す。

【発明の概要】

【0 0 0 6】

本開示は、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を治療するための、例えば、それを必要とする対象における有用な方法の特徴とする。いくつかの態様では、本明細書に記載される方法は、M S H 3 活性と関連する障害の治療に有用である。

【0 0 0 7】

脳室内投与及び投与量

本開示のいくつかの態様は、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、当該方法が、M S H 3 を標的とする一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含み、当該一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容

10

20

30

40

50

される塩が、約 2 mg ～ 約 300 mg の用量で投与される、当該方法に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2543 ～ 2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 95 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 2 mg ～ 約 300 mg の用量で投与される。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2543 ～ 2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 98 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2543 ～ 2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 99 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2543 ～ 2573 位における 17 ～ 23 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 614 の 2543 ～ 2573 位における 17 ～ 20 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、17 ～ 20 個の隣接する核酸塩基は、配列番号 614、またはその薬学的に許容される塩の、2543 位、2544 位、2545 位、2546 位、2547 位、2548 位、2549 位、2550 位、2551 位、2552 位、2553 位、2554 位、2555 位、2556 位、または 2557 位から始まる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、17 ～ 20 の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2543 ～ 2573 位における 20 ～ 23 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、20 ～ 23 個の隣接する核酸塩基は、配列番号 614、またはその薬学的に許容される塩の、2543 位、2544 位、2545 位、2546 位、2547 位、2548 位、2549 位、2550 位、2551 位、2552 位、2553 位、または 2554 位から始まる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、20 ～ 23 の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2543 ～ 2570 位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

10

20

30

【0008】

本開示のいくつかの態様は、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、当該方法が、15 ～ 30 の連結ヌクレオチド長の一本鎖オリゴヌクレオチドを脳室内投与することを含み、当該オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2685 ～ 2714 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 95 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、当該一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 mg ～ 約 300 mg の用量で投与される、当該方法に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2685 ～ 2714 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 98 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2685 ～ 2714 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 99 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドまたはその一部は、配列番号 614 の 2685 ～ 2714 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に 100 % 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 614 の 2685 ～ 2714 位における 17 ～ 23 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩で

40

50

ある。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 6 1 4 の 2 6 8 5 ~ 2 7 1 4 位における 1 7 ~ 2 0 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 6 1 4 の 2 6 8 5 位、2 6 8 6 位、2 6 8 7 位、2 6 8 8 位、2 6 8 9 位、2 6 9 0 位、2 6 9 1 位、2 6 9 2 位、2 6 9 3 位、2 6 9 4 位、2 6 9 5 位、2 6 9 6 位、2 6 9 7 位、もしくは 2 6 9 8 位から始まる 1 7 ~ 2 0 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、1 7 ~ 2 0 の連結ヌクレオチド長であり、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 6 1 4 の 2 6 8 5 ~ 2 7 1 4 位における 2 0 ~ 2 3 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 6 1 4 の 2 6 8 5 位、2 6 8 6 位、2 6 8 7 位、2 6 8 8 位、2 6 8 9 位、2 6 9 0 位、2 6 9 1 位、2 6 9 2 位、2 6 9 3 位、2 6 9 4 位、もしくは 2 6 9 5 位から始まる 2 0 ~ 2 3 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、2 0 ~ 2 3 の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号 6 1 4 の 2 6 8 5 ~ 2 7 1 4 位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1、9 7、1 9 3、または 2 8 9 のいずれか 1 つではない。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1、9 7、1 9 3、または 2 8 9 のいずれか 1 つからなる核酸塩基配列を有しない。

10

20

【0 0 0 9】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 ~ 3 8 4 及び 3 9 0 ~ 6 1 3 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 ~ 9 6、9 8 ~ 1 9 2、1 9 4 ~ 2 8 8、2 9 0 ~ 3 8 4、及び 3 9 0 ~ 6 1 3 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 ~ 9 6、9 8 ~ 1 9 2、1 9 4 ~ 2 8 8、及び 2 9 0 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 ~ 9 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 ~ 9 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 9 7 ~ 1 9 2 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 9 8 ~ 1 9 2 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 3 ~ 2 8 8 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 4 ~ 2 8 8 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 8 9 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 8 8 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 3 9 0 ~ 6 1 3 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 3 9 0 ~ 4 8 0 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に

30

40

50

許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 4 8 1 ~ 5 7 1 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 5 7 2 ~ 6 6 2 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 6 6 3 ~ 6 1 3 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1、6、1 3、1 7、2 1、2 4、2 6、2 9、3 3 ~ 3 4、3 7、4 4、4 9 ~ 5 5、5 7、6 0 ~ 7 3、7 5 ~ 7 6、7 9 ~ 8 2、8 4 ~ 8 6、8 8 ~ 9 2、もしくは 9 4 ~ 9 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 6、1 3、1 7、2 1、2 4、2 6、2 9、3 3 ~ 3 4、3 7、4 4、4 9 ~ 5 5、5 7、6 0 ~ 7 3、7 5 ~ 7 6、7 9 ~ 8 2、8 4 ~ 8 6、8 8 ~ 9 2、もしくは 9 4 ~ 9 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 6 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 9 7、1 0 0、1 0 3、1 0 5、1 0 8、1 1 0 ~ 1 1 1、1 1 3 ~ 1 1 7、1 2 2 ~ 1 2 3、1 2 7、1 2 9 ~ 1 3 0、1 3 3 ~ 1 3 6、1 3 8 ~ 1 3 9、1 4 1、1 4 3 ~ 1 4 5、1 4 7 ~ 1 4 8、1 5 4 ~ 1 5 5、1 5 7 ~ 1 6 5、1 6 8 ~ 1 7 0、1 7 2、1 7 4 ~ 1 8 0、1 8 4、1 8 7、もしくは 1 9 1 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 0 0、1 0 3、1 0 5、1 0 8、1 1 0 ~ 1 1 1、1 1 3 ~ 1 1 7、1 2 2 ~ 1 2 3、1 2 7、1 2 9 ~ 1 3 0、1 3 3 ~ 1 3 6、1 3 8 ~ 1 3 9、1 4 1、1 4 3 ~ 1 4 5、1 4 7 ~ 1 4 8、1 5 4 ~ 1 5 5、1 5 7 ~ 1 6 5、1 6 8 ~ 1 7 0、1 7 2、1 7 4 ~ 1 8 0、1 8 4、1 8 7、もしくは 1 9 1 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 9 7 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 4 5 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 6 3 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 3 ~ 2 0 0、2 0 2 ~ 2 3 0、2 3 2 ~ 2 4 6、2 4 8 ~ 2 5 3、2 5 5、2 5 8 ~ 2 6 1、2 6 5、2 7 0、2 7 4 ~ 2 7 6、もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 4 ~ 2 0 0、2 0 2 ~ 2 3 0、2 3 2 ~ 2 4 6、2 4 8 ~ 2 5 3、2 5 5、2 5 8 ~ 2 6 1、2 6 5、2 7 0、2 7 4 ~ 2 7 6、もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 3 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 2 6 ~ 2 2 7、2 3 4、2 4 0、もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 2 7、2 3 4、2 4 0、もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 2 6 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 8 9 ~ 2 9 0、2 9 2、3 0 5、3 0 7、3 1 3、3 1 8、3 2 3 ~ 3 2 4、3 2 6、3 2 9 ~ 3 3 0、3 3 2、3 3 8 ~ 3 3 9、3 4 1、3 4 4、もしくは 3 4 6 のい

10

20

30

40

50

ずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号289である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号329である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号346である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。

10

【0010】

いくつかの態様では、本開示は、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、当該方法が、一本鎖オリゴヌクレオチドを脳室内投与することを含み、当該オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1～384及び390～613のいずれか1つからなるか、またはその薬学的に許容される塩であり、当該一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約2mg～約300mgの用量で投与される、当該方法に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号2～96、98～192、194～288、290～384、及び390～613のいずれか1つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号1～384のいずれか1つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号2～96、98～192、194～288、もしくは290～384のいずれか1つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号2～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号97～192のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号96～192のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号193～288のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号194～288のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号289～384のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号290～384のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号390～613のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号390～480のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号481～571のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号572～662のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号663～613のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容

20

30

40

50

される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号6の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号97の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。

10

【0011】

20

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号145である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号163である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号193のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号226～227、234、240、もしくは243～244のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号227、234、240、もしくは243～244のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号226の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号289の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号329の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号346の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。

30

40

【0012】

50

いくつかの態様では、本開示は、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、当該方法が、表3のアンチセンスオリゴ番号1～384もしくは表4の390～613からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含み、当該一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約2mg～約300mgの用量で投与される、当該方法に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号2～96、98～192、194～288、290～384及び表4の390～613からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号2～96、98～192、194～288、及び290～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号2～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号97～192からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号98～192からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号193～288からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号194～288からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号289～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号290～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号390～613からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号390～480からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号481～571からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号6、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号100、103、105、108、110～1

10

20

30

40

50

1 1、1 1 3～1 1 7、1 2 2～1 2 3、1 2 7、1 2 9～1 3 0、1 3 3～1 3 6、1 3 8～1 3 9、1 4 1、1 4 3～1 4 5、1 4 7～1 4 8、1 5 4～1 5 5、1 5 7～1 6 5、1 6 8～1 7 0、1 7 2、1 7 4～1 8 0、1 8 4、1 8 7、もしくは1 9 1からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号97、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号145、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号163、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号193、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号226～227、234、240、もしくは243～244からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号227、234、240、もしくは243～244からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号289、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号329、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号346、またはその薬学的に許容される塩である。

【0013】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも80%減少させる。

【0014】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる。

【0015】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、(a) 連結デオキシリボヌクレオシドを含むDNAコア配列、(b) 連結ヌクレオシドを含む5'フランキング配列、及び(c) 連結ヌクレオシドを含む3'フランキング配列を含み、DNAコアが、5'フランキング配列と3'フランキング配列との間に位置する少なくとも10個の隣接する核酸塩基の領域を含み、5'フランキング配列及び3'フランキング配列が各々、少なくとも2個の連結ヌクレオシドを含み、各フランキング配列の少なくとも1個のヌクレオシドが、代替ヌクレオシドを含むか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0016】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合を含むか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合は、2'-アルコキシヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合は、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1個の代替核酸塩基、またはその薬学的に許容される塩を含む。いくつかの態様では、代替核酸塩基は、5'-メチルシトシン、シュードウリジン、または5-メトキシウリジンである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの代替糖部分、またはその薬学的に許容される塩を含む。いくつかの態様では、代替糖部分は、2'-OMeまたは二環式核酸である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、一価もしくは分岐二価もしくは三価リンカーを介してオリゴヌクレオチドの5'末端もしくは3'末端に複合化したリガンド、またはその薬学的に許容される塩をさらに含む。

【0017】

本開示のいくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、インビトロで評価される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、細胞ベースのアッセイで評価される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、HeLa細胞で評価される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)によって決定される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、参照遺伝子のmRNA発現を基準として正規化される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、ベータグルクロニダーゼ(GUSB)のmRNA発現を基準として正規化される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現の減少は、対照に対するものである。いくつかの態様では、対照は、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下におけるMSH3 mRNA発現である。いくつかの態様では、対照は、オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下におけるMSH3 mRNA発現である。いくつかの態様では、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩は、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現の減少は、デルターデルタCt($\Delta\Delta Ct$)法によって算出される。いくつかの態様では、デルターデルタCt($\Delta\Delta Ct$)法は、MSH3 mRNA発現を、参照遺伝子のmRNA発現を基準として、かつ、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下におけるMSH3 mRNA発現を基準として正規化することを含む。いくつかの態様では、参照遺伝子は、ベータグルクロニダーゼ(GUSB)であり、及び／または対照オリゴヌクレオチド、もしくはその塩は、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現の減少は、実施例1の方法によって決定される。

【0018】

いくつかの態様では、同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号1が、10nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現をおよそ58%減少させる。いくつかの態様では、同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号1が、1nMのオリゴヌ

クレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現をおよそ 1 4 % 減少させる。いくつかの態様において、

【0019】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、遊離塩基型である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、その薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、ナトリウム塩である。いくつかの態様では、1つ以上のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩のうちの1つ以上、及び薬学的に許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物として脳室内投与される。いくつかの態様では、医薬組成物は、人工脳脊髄液を含む。

【0020】

本開示のいくつかの態様では、対象は、霊長類である。いくつかの態様では、霊長類は、ヒトである。いくつかの態様では、霊長類は、非ヒト霊長類である。

【0021】

いくつかの態様では、ヌクレオチドリピート伸長障害は、脊髄小脳失調症 3 6 型または前頭側頭型認知症である。いくつかの態様では、ヌクレオチドリピート伸長障害は、トリヌクレオチドリピート伸長障害である。いくつかの態様では、トリヌクレオチドリピート伸長障害は、ポリグルタミン病である。いくつかの態様では、ポリグルタミン病は、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、ハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調症 1 型、脊髄小脳失調症 2 型、脊髄小脳失調症 3 型、脊髄小脳失調症 6 型、脊髄小脳失調症 7 型、脊髄小脳失調症 1 7 型、及びハンチントン病類縁疾患 2 型からなる群から選択される。いくつかの態様では、トリヌクレオチドリピート伸長障害は、非ポリグルタミン病である。いくつかの態様では、非ポリグルタミン病は、脆弱 X 症候群、脆弱 X 関連振戦／運動失調症候群、脆弱 X E 精神遅滞、フリードライヒ失調症、筋強直性ジストロフィー 1 型、脊髄小脳失調症 8 型、脊髄小脳失調症 1 2 型、眼咽頭型筋ジストロフィー、脆弱 X 関連早発卵巣不全、F R A 2 A 症候群、F R A 7 A 症候群、及び早期乳児てんかん性脳症からなる群から選択される。

【0022】

いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 1 0 m g ～ 約 2 5 0 m g の用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 1 5 m g ～ 約 2 0 0 m g の用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 2 5 m g ～ 約 2 0 0 m g の用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 5 0 m g ～ 約 2 0 0 m g の用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 1 0 0 m g ～ 約 1 5 0 m g の用量で投与される。

【0023】

本開示のいくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、週 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、2 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、3 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、4 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、6 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、8 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、2 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 0 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 2 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容され

10

20

30

40

50

る塩は、3 か月に1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 6 週間に1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、4 か月に1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、2 0 週間に1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、5 か月に1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、2 4 週間に1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、6 か月に1 回投与される。

【0 0 2 4】

10

いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の投与は、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行を、予測される発症及び／または進行と比較した場合に少なくとも1 2 0 日、少なくとも6 か月、少なくとも1 2 か月、少なくとも2 年、少なくとも3 年、少なくとも4 年、少なくとも5 年、少なくとも1 0 年またはそれを超えて遅延させる。

【0 0 2 5】

いくつかの態様では、本開示は、追加の治療剤を投与することをさらに含む。いくつかの態様では、追加の治療剤は、ハンチンチン遺伝子をコードするm R N A にハイブリダイズする別のオリゴヌクレオチドである。

【0 0 2 6】

20

いくつかの態様では、本開示は、

(a) 連結デオキシリボヌクレオシドを含むD N A コア配列、

(b) 連結ヌクレオシドを含む5 ' フランキング配列、及び

(c) 連結ヌクレオシドを含む3 ' フランキング配列

を含むオリゴヌクレオチドであって、

D N A コアが、5 ' フランキング配列と3 ' フランキング配列との間に位置する少なくとも1 0 個の隣接する核酸塩基の領域を含み、5 ' フランキング配列及び3 ' フランキング配列が各々、少なくとも2 個の連結ヌクレオシドを含み、各フランキング配列の少なくとも1 個のヌクレオシドが、代替ヌクレオシドを含む、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1 つの代替ヌクレオシド間結合を含むか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、いくつかの態様では、少なくとも1 つの代替ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、少なくとも1 つの代替ヌクレオシド間結合は、2 ' - アルコキシヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、少なくとも1 つの代替ヌクレオシド間結合は、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1 個の代替核酸塩基、またはその薬学的に許容される塩を含む。いくつかの態様では、代替核酸塩基は、5 ' - メチルシトシン、シュードウリジン、または5 - メトキシウリジンである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1 つの代替糖部分、またはその薬学的に許容される塩を含む。いくつかの態様では、代替糖部分は、2 ' - O M e または二環式核酸である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、一価もしくは分岐二価もしくは三価リンカーを介してオリゴヌクレオチドの5 ' 末端もしくは3 ' 末端に複合化したリガンド、またはその薬学的に許容される塩をさらに含む。

30

40

【0 0 2 7】

定義

便宜上、本明細書、実施例、及び添付の特許請求の範囲に使用されるいくつかの用語及び語句の意味が、以下に提供される。別段の記載がない限り、または文脈から暗に示されていない限り、以下の用語及び語句は、以下に提供される意味を含む。定義は、特定の態様について記載することを助けるために提供され、技術の範囲は特許請求の範囲によってのみ限定されるため、請求される技術の限定を意図するものではない。別段の規定がない

50

限り、本明細書で使用される全ての専門用語及び科学用語は、本技術が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。当該技術分野における用語の使用方法と本明細書で提供されるその定義との間に明らかな矛盾がある場合、本明細書内で提供される定義が優先されることとする。

【0028】

本出願では、文脈から特に明らかな限り、(i)「a」という用語は「少なくとも1つ」を意味すると理解され得、(ii)「または」という用語は、「及び／または」を意味すると理解され得、(iii)「含む(including)」及び「含む(comprising)」という用語は、それ自体で提示されるか、または1つ以上の追加の構成要素もしくはステップと共に提示されるかにかかわらず、箇条書きにされている構成要素またはステップを包含すると理解され得る。

10

【0029】

本明細書で使用される場合、「約」及び「およそ」という用語は、記載されている値の10%以内で上下する値を指す。例えば、「約5 nM」という用語は、4.5～5.5 nMの範囲を示す。

【0030】

数または一連の数の前の「少なくとも」という用語は、文脈から明かなように、「少なくとも」という用語に隣接する数、及び論理的に含まれ得る後続の全ての数または整数を含むと理解される。例えば、核酸分子のヌクレオチド数は整数でなければならない。例えば、「21個のヌクレオチド核酸分子のうち少なくとも18個のヌクレオチド」は、18個、19個、20個、または21個のヌクレオチドが示された特性を有することを意味する。少なくともが、一連の数または範囲の前に存在する場合、「少なくとも」は、一連の数または範囲内の数の各々を変更し得ると理解される。「少なくとも」はまた、整数に限定されない(例えば、「少なくとも5%」は、有効数字の数を考慮することなく5.0%、5.1%、及び5.18%を含む)。

20

【0031】

本明細書で使用される場合、「以下」または「未満」は、語句に隣接する値及び論理的に下回る値または整数から、文脈から論理的である通り、ゼロまでとして理解される。例えば、「標的配列に対するミスマッチが3つ以下」のオリゴヌクレオチドは、標的配列に対するミスマッチが3つ、2つ、1つ、または0である。「以下」が一連の数または範囲の前に存在する場合、「以下」は、一連の数または範囲内の数の各々を修飾し得ると理解される。

30

【0032】

本明細書で使用される場合、「投与」という用語は、対象またはシステムへの組成物(例えば、化合物または本明細書に記載されるような化合物を含む調製物)の投与を指す。動物対象への(例えば、ヒトへの)投与は、本明細書に記載される経路などの任意の適切な経路によるものであり得る。

【0033】

本明細書で使用される場合、「併用療法」または「組み合わせて投与される」とは、2つ(以上)の異なる薬剤または治療が、特定の疾患または状態に対して定義された治療レジメンの一部として対象に投与されることを意味する。治療レジメンは、対象に対する別個の薬剤の効果が重なるように、各薬剤の用量及び投与の周期を規定する。いくつかの態様では、2つ以上の薬剤の送達は同時または並行であり、薬剤は共製剤化され得る。いくつかの態様では、2つ以上の薬剤が共製剤化されず、所定のレジメンの一部として逐次的手法で投与される。いくつかの態様では、2つ以上の薬剤または治療を組み合わせて投与することは、症状、または障害に関連する他のパラメータの減少が、単独で、または他のものが存在しない場合に送達される1つの薬剤または治療によって観察されるものよりも大きくなるようなものである。2つの治療の効果は、部分的に相加的、完全に相加的、または相加的を超えるもの(例えば、相乗的)であり得る。各治療剤の逐次的投与または実質的に同時投与は、任意の適切な経路、例えば、経口経路、眼内経路、皮下経路、大槽内

40

50

経路、静脈内経路、筋肉内経路、及び粘膜組織を介する直接吸収を含むが、これらに限定されない経路によって行われ得る。治療剤は、同じ経路によって、または異なる経路によって投与され得る。例えば、組合せのある治療剤が静脈内注射によって投与され得る一方で、組合せの追加の治療剤は経口投与され得る。

【0034】

本明細書で使用される場合、「MSH3」という用語は、DNAミスマッチ修復タンパク質であるMutSホモログ3を指し、別段の指定がない限り、例えば、ヒト、ウシ、ニワトリ、げっ歯類、マウス、ラット、ブタ、ヒツジ、霊長類、サル、及びモルモットを含むが、これらに限定されない任意の脊椎動物または哺乳動物源からのアミノ酸配列を有する。本用語はまた、天然MSH3の少なくとも1つのインビボまたはインビトロ活性を維持する天然MSH3の断片及びバリエーションも指す。本用語は、MSH3の非プロセッシング全長前駆体形態に加えて、シグナルペプチドの翻訳後切断から生じる成熟形態を包含する。MSH3は、MSH3遺伝子によってコードされる。例示的なHomo sapiens（ヒト）MSH3遺伝子の核酸配列は、NCBI参照NM_002439.4または配列番号385に記載されている。「MSH3」という用語はまた、野生型MSH3タンパク質の天然バリエーション、例えば、野生型ヒトMSH3のアミノ酸配列（NCBI参照番号NP_002430.3または配列番号386に記載される）に対して少なくとも85%の同一性（例えば、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%の同一性、またはそれを超える同一性）を有するタンパク質なども指す。例示的なMus musculus（マウス）MSH3遺伝子の核酸配列は、NCBI参照番号NM_010829.2または配列番号387に記載されている。例示的なRattus norvegicus（ラット）MSH3遺伝子の核酸配列は、NCBI参照番号NM_001191957.1または配列番号388に記載されている。例示的なMacaca fascicularis（カニクイザル）MSH3遺伝子の核酸配列は、NCBI参照番号XM_005557283.2または配列番号389に記載されている。

【0035】

「MSH3」という用語は、本明細書で使用される場合、MSH3遺伝子の天然に存在するDNA配列変異、例えば、MSH3遺伝子の一塩基多型などによって細胞内で発現される特定のポリペプチドも指す。MSH3遺伝子内の多数のSNPが同定されていて、例えば、NCBI dbSNPに見出され得る（例えば、www.ncbi.nlm.nih.gov/snpを参照のこと）。MSH3遺伝子内のSNPの非限定的な例は、NCBI dbSNPアクセッション番号：rs1650697、rs70991108、rs10168、rs26279、rs26282、rs26779、rs26784、rs32989、rs33003、rs33008、rs33013、rs40139、rs181747、rs184967、rs245346、rs245397、rs249633、rs380691、rs408626、rs442767、rs836802、rs836808、rs863221、rs1105525、rs1428030、rs1478834、rs1650694、rs1650737、rs1677626、rs1677658、rs1805355、rs2897298、rs3045983、rs3797897、rs4703819、rs6151627、rs6151640、rs6151662、rs6151670、rs6151735、rs6151838、rs7709909、rs7712332、rs10079641、rs12513549、及びrs12522132に見出され得る。本明細書で使用される場合、「標的配列」は、一次転写物のRNAプロセッシングの産物であるmRNAを含む、MSH3遺伝子の転写中に形成されるmRNA分子のヌクレオチド配列の連続した部分を指す。一態様では、配列の標的部分は、MSH3遺伝子の転写中に形成されるmRNA分子のヌクレオチド配列の一部で、またはその近傍で少なくともオリゴヌクレオチド指向性（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）指向性）切断のための基質として機能するのに十分な長さとなる。標的配列は、例えば、約9～36ヌクレオチド長、例えば、約15～30ヌク

レオチド長であり得る。例えば、標的配列は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30個、または約15～30個のヌクレオチド、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、もしくは21～22ヌクレオチド長であり得る。上に列挙される範囲及び長さに対して中間の範囲及び長さも企図される。

10

【0036】

「G」、「C」、「A」、「T」、及び「U」は各々、それぞれグアニン、シトシン、アデニン、チミジン、及びウラシルを塩基として含有する天然に存在するヌクレオチドを一般に表す。しかしながら、「ヌクレオチド」という用語は、以下でさらに詳述されるような、代替ヌクレオチド、または代用置換部分を指し得ると理解されることになる。当業者は、グアニン、シトシン、アデニン、及びウラシルが、そのような置換部分を持つヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドの塩基対合特性を実質的に変化させることなく、他の部分で置換され得ると十分に認識している。例えば、限定されないが、イノシンをその塩基として含むヌクレオチドは、アデニン、シトシン、またはウラシルを含有するヌクレオチドと塩基対合し得る。したがって、ウラシル、グアニン、またはアデニンを含有するヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド配列中において、例えば、イノシンを含有するヌクレオチドで置き換えられ得る。別の例では、オリゴヌクレオチド中におけるいずれかの箇所のアデニン及びシトシンが、それぞれグアニン及びウラシルで置き換えられ、標的mRNAとG-Uゆらぎ塩基対合を形成し得る。そのような置換部分を含有する配列は、本明細書で注目される組成物及び方法に好適である。

20

【0037】

「核酸塩基」及び「塩基」という用語は、核酸ハイブリダイゼーションにおいて水素結合を形成するヌクレオシド及びヌクレオチド中に存在するプリン（例えば、アデニン及びグアニン）ならびにピリミジン（例えば、ウラシル、チミン、及びシトシン）部分を含む。核酸塩基という用語はまた、天然に存在する核酸塩基とは異なり得るが、核酸ハイブリダイゼーション中に機能する代替核酸塩基も包含する。この文脈においては、「核酸塩基」は、天然に存在する核酸塩基、例えば、アデニン、グアニン、シトシン、チミジン、ウラシル、キサンチン、及びヒポキサンチンなどに加えて、代替核酸塩基の両方を指す。そのようなバリエーションは、例えば、Hirao et al (2012) Accounts of Chemical Research vol 45 page 2055及びBergstrom (2009) Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl. 37 1.4.1に記載されている。

30

【0038】

「ヌクレオシド」という用語は、核酸塩基及び糖部分を有するオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのモノマー単位を指す。ヌクレオシドは、天然に存在するものに加えて、本明細書に記載されるものなどの代替ヌクレオシドを含み得る。ヌクレオシドの核酸塩基は、天然に存在する核酸塩基または代替核酸塩基であり得る。同様に、ヌクレオシドの糖部分は、天然に存在する糖または代替糖であり得る。

40

【0039】

「代替ヌクレオシド」という用語は、代替糖または代替核酸塩基、例えば、本明細書に記載されるものなどを有するヌクレオシドを指す。

【0040】

いくつかの態様では、核酸塩基部分は、プリンまたはピリミジンを、修飾プリンまたは

50

ピリミジン、例えば、置換プリンまたは置換ピリミジンなど、例えば、イソシトシン、シュードイソシトシン、5-メチルシトシン、5-チオゾローシトシン、5-プロピニルシトシン、5-プロピニルウリジン、5-プロモウリジン、5-チアゾローウリジン、2-チオウリジン、シュードウリジン、1-メチルシュードウリジン、5-メトキシウリジン、2'-チオチミン、イノシン、ジアミノプリン、6-アミノプリン、2-アミノプリン、2, 6-ジアミノプリン、及び2-クロロ-6-アミノプリンから選択される「代替核酸塩基」などに変化させることによって修飾される。

【0041】

核酸塩基部分は、対応する各核酸塩基、例えば、A、T、G、C、またはUの文字コードによって示され得、各文字は、同等の機能を持つ代替核酸塩基を含み得る。いくつかの態様では、例えば、ギャップマーについては、5-メチルシトシンLNAヌクレオシドが使用され得る。

10

【0042】

「糖」または「糖部分」は、フラノース環を有する天然に存在する糖を含む。糖は、ヌクレオシドのフラノース環を置き換えできる構造として定義される「代替糖」も含む。いくつかの態様では、代替糖は、非フラノース（もしくは4'-置換フラノース）環または環系もしくは開放系である。そのような構造は、6員環などの天然のフラノース環と比較して単純な変化を含むか、またはペプチド核酸に使用される非環系の場合と同様により複雑であり得る。代替糖は、フラノース環が、例えば、モルホリノまたはヘキシトール環系などの別の環系で置き換えられている糖代用物を含み得る。モチーフを有するオリゴヌクレオチドの調製に有用な糖部分としては、 β -D-リボース、 β -D-2'-デオキシリボース、置換糖（2'、5'及びビス置換糖など）、4'-S-糖（4'-S-リボース、4'-S-2'-デオキシリボース及び4'-S-2'-置換リボースなど）、二環式代替糖（2'-O-CH₂-4'または2'-O-(CH₂)₂-4'架橋リボース由来の二環式糖など）ならびに糖代用物（リボース環がモルホリノまたはヘキシトール環系で置き換えられている場合など）が挙げられるが、これらに限定されない。各位置で使用される複素環式塩基及びヌクレオシド間結合の種類は多様であり、モチーフを決定する要因ではない。代替糖部分を有する大半のヌクレオシドでは、複素環式核酸塩基は、一般にハイブリダイゼーションを可能にするために維持される。

20

【0043】

「ヌクレオチド」は、本明細書で使用される場合、ヌクレオシド及びヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのモノマー単位を指す。ヌクレオシド間結合はリン酸結合を含み得る。同様に、「連結ヌクレオシド」は、リン酸結合によって連結され得る。多くの「代替ヌクレオシド間結合」が当該技術分野において既知であり、ホスフェート、ホスホロチオエート及びボロノホスフェート結合を含むが、これらに限定されない。代替ヌクレオシドとしては、二環式ヌクレオシド（BNA）（例えば、ロックドヌクレオシド（LNA（例えば、A-LNA、5mC-LNA、G-LNA、T-LNA））及び拘束エチル（cEt）ヌクレオシド）、ペプチドヌクレオシド（PNA）、ホスホトリエステル、ホスホロチオネート、ホスホルアミデート、ならびに本明細書に記載されるものを含む、天然ヌクレオシドのリン酸骨格に関する他のバリエーションが挙げられる。

30

40

【0044】

「代替ヌクレオチド」は、本明細書で使用される場合、代替ヌクレオシドまたは代替糖、及びヌクレオシド間結合を有するヌクレオチドを指し、その結合は代替ヌクレオシド結合を含み得る。

【0045】

「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」という用語は、本明細書で使用される場合、2つ以上の共有結合ヌクレオシドを含む分子として当業者によって一般に理解されるように定義される。そのような共有結合ヌクレオシドは、核酸分子またはオリゴマーと称され得る。オリゴヌクレオチドは通常、実験室において固相化学合成と、それに続く

50

精製によって作製される。オリゴヌクレオチドの配列に言及する場合、共有結合ヌクレオチドまたはヌクレオシドの核酸塩基部分、またはその修飾物の配列または順序を参照する。オリゴヌクレオチドは人工物であり得る。例えば、オリゴヌクレオチドは化学的に合成され、精製または単離され得る。オリゴヌクレオチドはまた、(i) フラノース誘導体によって、もしくは塩基部分の共有結合点として使用され得る環式もしくは非環式の任意の構造によって置き換えられている1つ以上のフラノース部分を有する化合物、(ii) ホスホルアミデートもしくはホスホロチオエート結合の場合と同様に修飾されているか、もしくはホルムアセタールもしくはリボアセタール結合の場合と同様に好適な結合部分で完全に置き換えられているかのいずれかである1つ以上のホスホジエステル結合を有する化合物、及び／または(iii) 塩基部分の共有結合点として使用され得る環式もしくは非環式の任意の構造によって置き換えられている1つ以上の連結フラノース-ホスホジエステル結合部分を有する化合物を含むことを意図する。オリゴヌクレオチドは、1つ以上の代替ヌクレオシドまたはヌクレオチド（例えば、本明細書に記載されるものを含む）を含み得る。オリゴヌクレオチドが、糖部分または核酸塩基を欠く組成物を含むが、依然として標的配列と対合を形成できるか、またはそれにハイブリダイズできるとさらに理解される。「オリゴヌクレオチド」は、短いポリヌクレオチド（例えば、100個以下の連結ヌクレオシド）を指す。

10

【0046】

本明細書で使用される場合、「核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチド」という用語は、標準的なヌクレオチド命名法を使用して言及される配列によって記載されるヌクレオチドまたはヌクレオシドの鎖を含むオリゴヌクレオチドを指す。

20

【0047】

「隣接する核酸塩基領域」という用語は、標的核酸に相補的なオリゴヌクレオチドの領域を指す。本用語は、本明細書では「隣接するヌクレオチド配列」または「隣接する核酸塩基配列」という用語と交換可能に使用され得る。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの全てのヌクレオチドは、隣接するヌクレオチドまたはヌクレオシド領域内に存在する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、隣接するヌクレオチド領域を含み、ヌクレオチド（複数可）またはヌクレオシド（複数可）、例えば、隣接するヌクレオチド配列に官能基を結合させるために使用され得るヌクレオチドリンカー領域をさらに含み得る。ヌクレオチドリンカー領域は、標的核酸に相補的であり得る。いくつかの態様では、隣接するヌクレオチド領域のヌクレオチド間に存在するヌクレオシド間結合は、全てホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、隣接するヌクレオチド領域は、1つ以上の糖修飾ヌクレオシドを含む。

30

【0048】

「ギャップマー」という用語は、本明細書で使用される場合、1つ以上の親和性増強代替ヌクレオシド（ウイングまたはフランキング配列）を含む領域が、5'側及び3'側に隣接しているRNAse H動員オリゴヌクレオチド（ギャップまたはDNAコア）の領域を含むオリゴヌクレオチドを指す。様々なギャップマー設計が本明細書に記載される。ヘッドマー及びテイルマーは、フランクの一方が欠けている、すなわち、オリゴヌクレオチドの一方の末端のみが親和性増強代替ヌクレオシドを含む、RNAse Hを動員できるオリゴヌクレオチドである。ヘッドマーの場合、3'フランキング配列が欠けていて（すなわち、5'フランキング配列が親和性増強代替ヌクレオシドを含む）、テイルマーの場合、5'フランキング配列が欠けていて（すなわち、3'フランキング配列が親和性増強代替ヌクレオシドを含む）。「混合フランキング配列ギャップマー」は、フランキング配列が、少なくとも1個の代替ヌクレオシド、例えば、少なくとも1個のDNAヌクレオシドあるいは少なくとも1個の2'置換代替ヌクレオシドなど、例えば、2'-O-アルキル-RNA、2'-O-メチル-RNA、2'-アルコキシ-RNA、2'-O-メトキシエチル-RNA (MOE)、2'-アミノ-DNA、2'-フルオロ-RNA、2'-F-ANAヌクレオシド（複数可）、または二環式ヌクレオシド（例えば、ロックドヌクレオシドもしくは拘束エチル (cEt) ヌクレオシド）などを含む、ギャップマーを指す。いくつ

40

50

かの態様では、混合フランキンギン配列ギャップマーは、代替ヌクレオシドを含む一方のフランキンギン配列（例えば、5'側または3'側）を有し、他方のフランキンギン配列（それぞれ3'側または5'側）は、2'置換代替ヌクレオシド（複数可）を含む。

【0049】

「リンカー」または「連結基」は、1つ以上の共有結合によって、1つの目的の化学基またはセグメントを別の目的の化学基またはセグメントに連結する2つの原子間における結合である。本明細書に開示されるオリゴヌクレオチドは、本明細書に開示される1つ以上のオリゴヌクレオチドを、本明細書に開示される1つ以上の他のオリゴヌクレオチドに、及び／または任意の他のオリゴヌクレオチドに、及び／または任意の複合体部分に連結できる1つ以上のリンカーを含み得る。例えば、リンカーは、本明細書に開示されるオリ

10

【0050】

リンカーは切断の影響を受けやすい場合があり（「切断可能なリンカー」）、それによって、本明細書に開示される異なるオリゴヌクレオチド及び／または異なる複合体部分の放出を容易にする。そのような切断可能なリンカーは、例えば、ヌクレアーゼ誘導切断、酸誘導切断、光誘導切断、ペプチダーゼ誘導切断、エステラーゼ誘導切断、及びジスルフィド結合切断に、好適な条件で影響を受けやすい場合がある。切断可能なリンカーに使用するための好適な切断可能な連結基は、細胞の外側で十分に安定しているが、標的細胞中に侵入すると切断されて、リンカーが共に保持している2つの部分を放出する連結基を含む。

20

【0051】

あるいは、リンカーは、実質的に切断に対して抵抗性がある（「切断不可能なリンカー」）。そのような切断不可能なリンカーは、本明細書に開示される1つ以上の異なるオリゴヌクレオチドを、本明細書に開示される1つ以上の他のオリゴヌクレオチドに、及び／または安定に共有結合している任意の複合体部分に連結できる任意の化学部分であり得、切断可能なリンカーについては上に列挙される分類に属さない。したがって、切断不可能なリンカーは、酸誘導切断、ヌクレアーゼ誘導切断、光誘導切断、ペプチダーゼ誘導切断、エステラーゼ誘導切断及びジスルフィド結合切断に、実質的に抵抗性がある。さらに、「切断不可能な」は、本明細書に開示されるオリゴヌクレオチドがそれらの活性または意図される目的を喪失しない条件で、リンカー内の、またはリンカーに隣接する化学結合が、酸、ヌクレアーゼ、光解離性切断剤、ペプチダーゼ、エステラーゼ、またはジスルフィド結合を切断する化学化合物もしくは生理学的化合物によって誘導される切断に抵抗する能力を指す。

30

【0052】

複合体部分は、直接または連結部分（例えば、リンカーもしくはテザー）を介してオリゴヌクレオチドに結合され得る。リンカーは、第3領域、例えば、複合体部分をオリゴヌクレオチド（例えば、領域AまたはCの末端）に共有結合させるのに役立つ。いくつかの態様では、複合体またはオリゴヌクレオチド複合体は、オリゴヌクレオチドと複合体部分との間に配置されるリンカー領域を含み得る。いくつかの態様では、複合体とオリゴヌクレオチドとの間のリンカーは、生化学的に切断可能である。生化学的に切断可能なリンカーを含有するホスホジエステルは、WO2014/076195（参照によって本明細書に組み込まれる）により詳細に記載されている。

40

【0053】

いくつかの態様では、2つ以上のリンカーがタンデムに連結され得る。複数のリンカーが、本明細書に開示される1つ以上のオリゴヌクレオチドを、本明細書に開示される1つ以上の他のオリゴヌクレオチドに、及び／または任意の複合体部分に結合させる場合、リンカーの各々は同じか、または異なり得る。

【0054】

本明細書で使用される場合、別段の指示がない限り、「相補的」という用語は、第1ヌ

50

クレオチドまたはヌクレオシド配列を、第2ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列に関連して記載するために使用される場合、当業者によって理解されることになるように、第1ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドが、第2ヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドと、ある特定の条件下でハイブリダイズして二本鎖構造を形成する能力を指す。そのような条件は、例えば、ストリンジェントな条件であり得、ストリンジェントな条件としては、400 mM NaCl、40 mM PIPES (pH 6.4)、1 mM EDTA、50°C、または70°Cで12~16時間、続いて洗浄が挙げられ得る（例えば、“Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press”を参照のこと）。生物内部で発生し得るような他の条件、例えば、生理学的に関連する条件などが使用され得る。当業者は、ハイブリダイズしたヌクレオチドまたはヌクレオシドの最終的な用途に従って、2つの配列の相補性試験に最適な条件のセットを決定できることになる。

10

20

30

40

50

【0055】

「相補的」配列は、本明細書で使用される場合、ハイブリダイズするそれらの能力に関して上記の要件が満たされる限り、非ワトソン・クリック塩基対及び／または非天然及び代替ヌクレオチドもしくはヌクレオシドから形成される塩基対を含むか、またはそれらから完全に形成され得る。そのような非ワトソン・クリック塩基対としては、G:Uゆらぎ塩基対合またはフーグスティーン型塩基対合が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチドと標的配列との間の相補的配列は、第1ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドと、第2ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドとの、一方または両方のヌクレオチドまたはヌクレオシド配列の全長にわたる塩基対合を含む。そのような配列は、本明細書では互いに対して「完全に相補的」と称され得る。しかしながら、第1配列が本明細書の第2配列に対して「実質的に相補的」と称される場合、それらの最終的な用途、例えば、RNase H媒介経路による遺伝子発現の阻害と最も関連性の高い条件下でハイブリダイズする能力を保持しながら、2つの配列は完全に相補的であり得るか、またはそれらは、最大で30塩基対の二本鎖へのハイブリダイゼーション時に1つ以上であるが、一般に5つ、4つ、3つもしくは2つ以下のミスマッチ塩基対を形成し得る。「実質的に相補的」は、目的のmRNA（例えば、MSH3をコードするmRNA）の隣接部分に実質的に相補的であるポリヌクレオチドを指し得る。例えば、ポリヌクレオチドは、配列がMSH3をコードするmRNAの非中断部分に実質的に相補的である場合、MSH3 mRNAの少なくとも一部に相補的である。

【0056】

本明細書で使用される場合、「相補性の領域」という用語は、遺伝子、一次転写物、配列（例えば、標的配列、例えば、MSH3ヌクレオチド配列）、または内因性遺伝子（例えば、MSH3）の発現に干渉するようにプロセシングされたmRNAの全てまたは一部に実質的に相補的であるオリゴヌクレオチド上の領域を指す。相補性の領域が標的配列に完全に相補的ではない場合、ミスマッチは分子の内部または末端領域中に存在し得る。一般に、最も許容されるミスマッチは、末端領域中、例えば、オリゴヌクレオチドの5'及び／または3'末端の5個、4個、3個、または2個のヌクレオチド内に存在する。

【0057】

本明細書で使用される場合、「MSH3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤」は、細胞または対象におけるMSH3のレベルを減少させるか、またはその発現を阻害する任意のポリヌクレオチド剤（例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、ASO）を指す。

「MSH3の発現を阻害する」という語句は、本明細書で使用される場合、任意のMSH3遺伝子（例えば、マウスMSH3遺伝子、ラットMSH3遺伝子、サルMSH3遺伝子、またはヒトMSH3遺伝子など）に加えて、MSH3タンパク質をコードするMSH3遺伝子のバリエーションまたは変異体の発現の阻害を含む。したがって、MSH3遺伝子は、

遺伝子操作された細胞、細胞群、または生物との関連において、野生型 M S H 3 遺伝子、変異体 M S H 3 遺伝子、またはトランスジェニック M S H 3 遺伝子であり得る。

【0058】

「M S H 3 の活性を減少させる」とは、M S H 3 に関連する活性のレベルを低下させることを意味する（例えば、M S H 3 活性に関連するヌクレオチドリピート伸長障害、例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害と関連する遺伝子におけるヌクレオチドリピートの量を減少させることによって）。M S H 3 の活性レベルは、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して測定され得る（例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害と関連する遺伝子を直接シーケンシングし、ヌクレオチドリピートのレベルを測定することによって）。

10

【0059】

「M S H 3 のレベルを減少させる」とは、例えば、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を細胞または対象に投与することによって、細胞または対象内の M S H 3 のレベルを低下させることを意味する。M S H 3 のレベルは、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して測定され得る（例えば、細胞または対象内の M S H 3 m R N A のレベルまたは M S H 3 タンパク質のレベルを測定することによって）。

【0060】

「M S H 3 を含む M u t S β ヘテロ二量体の活性を調節する」とは、M u t S β ヘテロ二量体に関連する活性、または関連する下流効果のレベルを変化させることを意味する。M u t S β ヘテロ二量体の活性レベルは、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して測定され得る。

20

【0061】

本明細書で使用される場合、「阻害剤」という用語は、タンパク質（例えば、M S H 3）のレベル及び／または活性を減少させる任意の薬剤を指す。阻害剤の非限定的な例としては、ポリヌクレオチド（例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、A S O）が挙げられる。「阻害する」という用語は、本明細書で使用される場合、「減少させる」、「サイレンシングする」、「下方制御する」、「抑制する」、「ノックダウンする」及び他の類似した用語と交換可能に使用され、任意のレベルの阻害を含む。

【0062】

オリゴヌクレオチドなどの「細胞をオリゴヌクレオチドと接触させる」という語句は、本明細書で使用される場合、任意の可能な手段によって細胞を接触させることを含む。細胞をオリゴヌクレオチドと接触させることは、細胞をインビトロでオリゴヌクレオチドと接触させることを含むか、または細胞をインビボでオリゴヌクレオチドと接触させることを含む。接触は、直接的または間接的に行われ得る。したがって、例えば、オリゴヌクレオチドは、本方法を実施する個体によって細胞と物理的に接触し得るか、または代わりに、オリゴヌクレオチド剤は、その後に細胞と接触することを可能にするか、もしくはそれを引き起こすことになる状況となり得る。

30

【0063】

インビトロでの細胞との接触は、例えば、細胞をオリゴヌクレオチドと共にインキュベートすることによって行われ得る。インビボでの細胞との接触は、例えば、細胞が位置する組織中に、もしくはその近傍にオリゴヌクレオチドを注射することによって、またはオリゴヌクレオチド剤を別の領域、例えば、血流もしくは皮下腔に、薬剤がその後、接触する細胞が位置する組織に到達することになるように注射することによって行われ得る。例えば、オリゴヌクレオチドは、目的の部位、例えば、肝臓にオリゴヌクレオチドを誘導するリガンド、例えば、G a l N A c 3 を含有し得、及び／またはそれに結合され得る。インビトロ及びインビボでの接触方法の組合せも可能である。例えば、細胞はインビトロでオリゴヌクレオチドと接触し、その後、対象中に移植され得る。

40

【0064】

一態様では、細胞をオリゴヌクレオチドと接触させることは、細胞中への取込みまたは吸収を促進またはもたらすことによって「オリゴヌクレオチドを細胞中に導入する」また

50

は「送達する」ことを含む。A S Oの吸収または取込みは、補助なしの拡散性もしくは活性な細胞プロセスを通じて、または補助剤もしくはデバイスによって行われ得る。細胞中へのオリゴヌクレオチドの導入は、インビトロ及び／またはインビボであり得る。例えば、インビボ導入では、オリゴヌクレオチドは、組織部位に注射され得るか、または全身投与され得る。細胞中へのインビトロ導入は、当該技術分野において既知の方法、例えば、エレクトロポレーション法及びリポフェクション法などを含む。さらなるアプローチが本明細書で以下に記載され、及び／または当該技術分野において既知である。

【0065】

「アンチセンス」という用語は、本明細書で使用される場合、内因性遺伝子（例えば、M S H 3）の発現に干渉するように、遺伝子、一次転写物、またはプロセシングされたm R N Aの全てまたは一部に十分に相補的であるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドを含む核酸を指す。「相補的」ポリヌクレオチドは、標準的なワトソン・クリック相補性規則に従って塩基対合できるものである。具体的には、プリンはピリミジンと塩基対合し、シトシンと対合したグアニン（G：C）の組合せ及びD N Aの場合にはチミンと対合したアデニン（A：T）、またはR N Aの場合にはウラシルと対合したアデニン（A：U）のいずれかの組合せを形成することになる。2つのポリヌクレオチドは、それらが互いに完全に相補的でなくとも、各々が他方に対して実質的に相補的である少なくとも1つの領域を有することを条件として、互いにハイブリダイズし得ると理解される。

【0066】

本明細書で使用される場合、本明細書に記載される（例えば、細胞または対象内の）M S H 3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤の「有効量」、「治療有効量」、及び「十分な量」という用語は、ヒトを含む対象に投与される場合、臨床結果を含む、有益なまたは所望の結果をもたらすのに十分な量を指し、したがって、「有効量」またはその同義語は、それが適用されている状況に依存する。例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）の治療との関連において、その量は、M S H 3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤を投与することなく得られる応答と比較した場合、治療応答を達成するのに十分な、M S H 3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤の量である。そのような量に相当することになる、本明細書に記載されるM S H 3のレベル及び／または活性を減少させる所与の薬剤の量は、様々な因子、例えば、所与の薬剤、医薬製剤、投与経路、疾患または障害の種類、治療されている対象または宿主の識別情報（例えば、年齢、性別、及び／または体重）などに応じて変動することになるが、それにもかかわらず、当業者によって日常的に決定され得る。また、本明細書で使用される場合、本開示のM S H 3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤の「治療有効量」は、対照と比較した場合に、対象に有益なまたは所望の結果をもたらす量である。本明細書で定義される通り、本開示のM S H 3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤の治療有効量は、当該技術分野において既知の日常的な方法により、当業者によって容易に決定され得る。投与レジメンは、最適な治療応答を提供するために調整され得る。

【0067】

「予防有効量」は、本明細書で使用される場合、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を有する、またはそれを有する素因のある対象に投与される場合、疾患または疾患の1つ以上の症状を予防または改善するのに十分な量のオリゴヌクレオチドを含むことを意図する。疾患の改善は、疾患の経過を遅らせること、または後に発症する疾患の重症度を減少させることを含む。「予防有効量」は、オリゴヌクレオチド、薬剤の投与方法、疾患リスクの程度、ならびに治療される患者の病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、もしあれば、先行治療または併用治療の種類、及び他の個々の特性に応じて変動し得る。予防有効量は、例えば、本明細書に記載される（例えば、細胞もしくは対象内の）M S H 3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤の量を指し得るか、またはヒトを含む対象に投与される場合、本明細書に記載されるヌクレオチドリピート障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）のうち1つ以上の発症を、予測される発症と比較した場合に、少なくとも120日、例えば、少なくとも6か月、少

なくとも12か月、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも10年もしくはそれを超えて遅延させるのに十分な量を指し得る。

【0068】

「治療有効量」または「予防有効量」はまた、任意の治療に適用できる合理的な利益／リスク比で、ある所望の局所的または全身的な効果をもたらすオリゴヌクレオチドの量（単回または複数回用量のいずれかで投与される）を含む。本明細書の方法に用いられるオリゴヌクレオチドは、そのような治療に適用できる合理的な利益／リスク比をもたらすのに十分な量で投与され得る。

【0069】

本明細書で使用される場合、「相補性の領域」という用語は、遺伝子、一次転写物、配列（例えば、標的配列、例えば、MSH3ヌクレオチド配列）、または内因性遺伝子（例えば、MSH3）の発現に干渉するようにプロセシングされたmRNAの全てまたは一部に実質的に相補的であるオリゴヌクレオチド上の領域を指す。相補性の領域が標的配列に完全に相補的ではない場合、ミスマッチは分子の内部または末端領域中に存在し得る。一般に、最も許容されるミスマッチは、末端領域中、例えば、オリゴヌクレオチドの5'及び／または3'末端の5個、4個、3個、または2個のヌクレオチド内に存在する。

【0070】

特定の遺伝子の「ヌクレオチドリピート伸長を減少させるのに有効な量」は、本明細書に記載される（例えば、細胞または対象内の）MSH3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤の量、またはヒトを含む対象に投与される場合、特定の遺伝子（例えば、本明細書に記載されるヌクレオチドリピート伸長障害、例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害と関連する遺伝子）のヌクレオチドリピート伸長を減少させるのに十分な量を指す。

【0071】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオチドリピート伸長障害を有すると同定される対象」という用語は、ヌクレオチドリピート伸長障害の、またはそれと関連する分子状態または病理学的状態の疾患または状態を有すると同定された対象を指し、ヌクレオチドリピート伸長障害もしくはその症状の同定、または特定の治療レジメンから恩恵を受け得る、ヌクレオチドリピート伸長障害を有するか、もしくはそれを有すると疑われる対象の同定などである。

【0072】

本明細書で使用される場合、「トリヌクレオチドリピート伸長障害」は、遺伝子またはイントロンの正常で安定した閾値を超える、対象の遺伝子またはイントロンにおける過剰なトリヌクレオチドリピート（例えば、CAGなどのトリヌクレオチドリピート）を特徴とする遺伝子疾患または障害の分類を指す。ヌクレオチドリピートはヒトゲノムで一般的であり、通常、疾患と関連しない。しかしながら、いくつかの場合には、リピート数が安定した閾値を超えて拡大すると疾患を招き、症状の重症度は一般にリピート数と相関し得る。ヌクレオチドリピート伸長障害としては、「ポリグルタミン」障害及び「非ポリグルタミン」障害が挙げられる。

【0073】

「タンパク質のレベルを決定する」とは、直接的または間接的ないずれかの、当該技術分野における既知の方法によるタンパク質、またはタンパク質をコードするmRNAの検出を意味する。「直接決定する」とは、物理的実体または値を得るためにプロセスを実施すること（例えば、試料でアッセイもしくは試験を実施すること、またはその用語が本明細書で定義されるように「試料を分析すること」）を意味する。「間接的に決定する」は、別の団体または供給源（例えば、物理的実体または値を直接取得した第三者実験室）から物理的実体または値を受け取ることを指す。タンパク質レベルを測定する方法としては一般に、ウェスタンブロッティング、イムノブロッティング、酵素結合免疫吸着法（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、免疫沈降、免疫蛍光法、表面プラズモン共鳴、化学発光、蛍光偏光、リン光、免疫組織化学分析、マトリックス支援レーザー脱離イ

10

20

30

40

50

オン化飛行時間型 (MALDI-TOF) 質量分析、液体クロマトグラフィー (LC) 質量分析、マイクロサイトメトリー、顕微鏡法、蛍光活性化細胞選別 (FACS)、及びフローサイトメトリーに加えて、酵素活性または他のタンパク質パートナーとの相互作用を含むが、これらに限定されないタンパク質の特性に基づくアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。mRNA レベルを測定する方法は、当該技術分野において既知である。

【0074】

参照ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列に関する「配列同一性パーセント (%)」は、配列をアライメントし、最大の配列同一性パーセントを得るために必要であればギャップ (DNA コア配列) を導入した後、参照ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列中における核酸またはアミノ酸と同一である、候補配列中の核酸またはアミノ酸のパーセンテージとして定義される。核酸またはアミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、当業者の能力の範囲内である様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、または Megalign ソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成され得る。当業者であれば、比較されている配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するのに必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするための適切なパラメータを決定し得る。例えば、配列同一性パーセント値は、配列比較コンピュータプログラムの BLAST を使用して生成され得る。実例として、所与の核酸またはアミノ酸配列 A の、所与の核酸またはアミノ酸配列 B への、それとの、またはそれに対する配列同一性パーセント (これは、所与の核酸またはアミノ酸配列 B に、それと、またはそれに対してある特定の配列同一性パーセントを有する所与の核酸またはアミノ酸配列 A と言い換えられ得る) は、以下の通りに算出される：

$$100 \times (\text{分数 } X / Y)$$

式中、X は、配列アラインメントプログラム (例えば、BLAST) によって、A 及び B のそのプログラムのアラインメントにおいて同一であると一致したスコアのヌクレオチドまたはアミノ酸の数であり、Y は B の核酸の総数である。核酸またはアミノ酸配列 A の長さが核酸またはアミノ酸配列 B の長さとは等しくない場合、B に対する A の配列同一性パーセントは、A に対する B の配列同一性パーセントとは等しくなることはないと理解されることになる。

【0075】

「レベル」とは、任意に参照と比較した場合、タンパク質、またはタンパク質 (例えば、MSH3) をコードする mRNA のレベルまたは活性を意味する。参照は、本明細書で定義されるように、任意の有用な参照であり得る。タンパク質の「レベル減少」または「レベル増加」とは、参照と比較した場合に、タンパク質レベルの減少または増加 (例えば、約 5 %、約 10 %、約 15 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 35 %、約 40 %、約 45 %、約 50 %、約 55 %、約 60 %、約 65 %、約 70 %、約 75 %、約 80 %、約 85 %、約 90 %、約 95 %、約 100 %、約 150 %、約 200 %、約 300 %、約 400 %、約 500 %、もしくはそれを超える減少もしくは増加、参照と比較した場合に、10 %、15 %、20 %、50 %、75 %、100 %、もしくは 200 % 超の減少もしくは増加、0.01 倍、0.02 倍、0.1 倍、0.3 倍、0.5 倍、0.8 倍未満、もしくはそれ未満の減少もしくは増加、または 1.2 倍、1.4 倍、1.5 倍、1.8 倍、2.0 倍、3.0 倍、3.5 倍、4.5 倍、5.0 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、100 倍、1000 倍超、もしくはそれを超える増加) を意味する。タンパク質のレベルは、質量/体積 (例えば、g/dL、mg/mL、μg/mL、もしくは ng/mL) または試料中の総タンパク質もしくは mRNA と比較したパーセンテージで表され得る。

【0076】

「医薬組成物」という用語は、本明細書で使用される場合、薬学的に許容される賦形剤と共に製剤化された本明細書に記載の化合物を含有する組成物を表し、政府規制当局の承認を得て、哺乳動物における疾患の治療のための治療レジメンの一部として製造または販

売され得る。医薬組成物は、例えば、脳室内注射用に、または任意の他の薬学的に許容される処方で製剤化され得る。

【0077】

いくつかの態様では、本明細書では、脳室内注射用に製剤化された医薬組成物が提供される。

【0078】

「薬学的に許容される賦形剤」は、本明細書で使用される場合、本明細書に記載される化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁または溶解できるビヒクル）を指し、患者において実質的に非毒性かつ非炎症性であるという性質を有する。賦形剤は、例えば、人工脳脊髄液（a c s f）を含み得る。

10

【0079】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、本明細書に記載される化合物のいずれかに関する化合物の任意の薬学的に許容される塩を意味する。例えば、本明細書に記載される化合物のいずれかの薬学的に許容される塩としては、妥当な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激性、アレルギー応答を引き起こすことなく、ヒト及び動物の組織との接触に使用するのに好適であり、合理的な利益／リスク比に見合うようなものが挙げられる。薬学的に許容される塩は、当該技術分野において周知である。例えば、薬学的に許容される塩は、Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977に、及びPharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P. H. Stahl and C. G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008に記載されている。塩は、本明細書に記載される化合物の最終的な単離及び精製中にインサイチュで、または遊離塩基性基を好適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。

20

【0080】

本明細書に記載される化合物は、薬学的に許容される塩として調製できるように、イオン性基を有し得る。これらの塩は、無機もしくは有機酸を含む酸付加塩であり得るか、または塩は、本明細書に記載される化合物の酸性形態の場合、無機もしくは有機塩基から調製され得る。多くの場合、化合物は、薬学的に許容される酸または塩基の付加生成物として調製される薬学的に許容される塩として調製または使用される。好適な薬学的に許容される酸及び塩基ならびに適切な塩の調製方法は、当該技術分野において周知である。塩は、無機及び有機の酸及び塩基を含む、薬学的に許容される非毒性の酸及び塩基から調製され得る。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、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、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、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、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、及び吉草酸塩が挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムに加えて、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、及びエチルアミンを含むが、これらに限定されない非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオンが挙げられる。

30

40

【0081】

50

「参照」とは、タンパク質またはmRNAのレベルまたは活性を比較するために使用される任意の有用な参照を意味する。参照は、比較目的で使用される任意の試料、標準物、検量線、またはレベルであり得る。参照は、正常参照試料または参照基準もしくはレベルであり得る。「参照試料」は、例えば、対照、例えば、「正常対照」などの所定の陰性対照値もしくは同じ対象から採取した以前の試料、正常で健康な対象、例えば、正常細胞もしくは正常組織などからの試料、疾患を有しない対象からの試料（例えば、細胞もしくは組織）、疾患と診断されているが、本明細書に記載される化合物ではまだ治療されていない対象からの試料、本明細書に記載される化合物によって治療されている対象からの試料、または既知の正常濃度の精製タンパク質（例えば、本明細書に記載されるいずれか）の試料であり得る。「参照基準またはレベル」とは、参照試料から得られる値または数を意味する。「正常対照値」は、非疾患状態を示す所定の値、例えば、健康な対照対象において予想される値である。典型的には、正常対照値は、範囲（「X～Y」）、高閾値（「X以下」）、または低閾値（「X以上」）として表される。特定のバイオマーカーに関する正常対照値内の測定値を有する対象は通常、そのバイオマーカーの「正常範囲内」と称される。正常参照基準またはレベルは、疾患または障害（例えば、ヌクレオチドまたはトリヌクレオチドリピート伸長障害）を有しない正常対象、本明細書に記載される化合物で治療されている対象から得られる値または数値であり得る。いくつかの態様では、参照試料、基準、またはレベルは、以下の基準のうち少なくとも1つによって試料対象試料と一致する：年齢、体重、性別、病期、及び全体的な健康状態。正常参照範囲内の精製タンパク質、例えば、本明細書に記載されるいずれかのレベルの検量線が、参照として使用され得る。

10

20

【0082】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、組成物が、例えば、実験、診断、予防、及び／または治療目的で投与され得る任意の生物を指す。典型的な対象としては、任意の動物（例えば、哺乳動物、例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなど）が挙げられる。対象は、治療を求めるか、もしくは治療の必要があるか、治療を必要としているか、治療を受けているか、将来的に治療を受けているか、または特定の疾患もしくは状態について訓練を受けた専門家によって管理下にあるヒトもしくは動物であり得る。

【0083】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療される」、及び「治療すること」という用語は、治療的処置及び予防または予防的手段の両方を意味し、その目的は、望ましくない生理学的状態、障害、もしくは疾患を予防もしくは鈍化（減少）させるか、または有益なもしくは所望の臨床結果を得ることである。有益なまたは所望の臨床結果としては、症状の軽減、状態、障害、もしくは疾患の程度の縮小、状態、障害、もしくは疾患の状態安定化（すなわち、悪化しない）、状態、障害、もしくは疾患発症の遅延もしくはそれらの進行の鈍化、検出可能もしくは検出不能かどうかにかかわらず、状態、障害、もしくは疾患状態の改善もしくは寛解（部分的もしくは全体的かどうかにかかわらず）、必ずしも患者が認識可能であるとは限らない、少なくとも1つの測定可能な物理的パラメータの改善、または状態、障害、もしくは疾患の向上もしくは改善が挙げられるが、これらに限定されない。治療は、過度のレベルの副作用を引き起こすことなく、臨床的に重要な応答を誘発することを含む。治療はまた、治療を受けない場合の予想される生存期間と比較した場合に生存期間を延長することを含む。

30

40

【0084】

本明細書で使用される場合、「バリエーション」及び「誘導体」という用語は交換可能に使用され、本明細書に記載される化合物、ペプチド、タンパク質、または他の物質の天然に存在する、合成、及び半合成の類似体を指す。本明細書に記載される化合物、ペプチド、タンパク質、または他の物質のバリエーションまたは誘導体は、元の材料の生物活性を保持または改善し得る。

【0085】

50

1つ以上の態様の詳細は、以下の説明で示される。他の特徴、目的、及び利点は記載から、及び特許請求の範囲から明らかとなる。

【発明を実施するための形態】

【0086】

本発明者らは、細胞内でのMSH3レベル及び／または活性の抑制、阻害、または枯渇が、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）の治療に効果的であることを見出した。したがって、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を治療するための、例えば、それを必要とする対象における有用な組成物及び方法が、本明細書で提供される。

【0087】

I. ヌクレオチドリピート伸長障害

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は、ゲノム領域内のリピート領域の病原性伸長を特徴とする遺伝的障害の群である。そのような障害では、リピート数が、遺伝子の正常で安定した閾値の数を超え、疾患範囲まで拡大する。

【0088】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は、一般に「ポリグルタミン」または「非ポリグルタミン」として分類され得る。ハンチントン病（HD）及びいくつかの脊髄小脳失調症を含む、ポリグルタミン障害は、特定の遺伝子のタンパク質コード領域におけるCAG（グルタミン）リピートによって引き起こされる。非ポリグルタミン障害は、より不均一であり、筋強直性ジストロフィーと同様に非コード領域におけるCAGヌクレオチドリピート伸長によって、または脆弱X症候群の原因となるCGGリピート伸長などのコード領域もしくは非コード領域内にあり得るCAG以外のヌクレオチドリピート伸長によって引き起こされ得る。

【0089】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は、リピート数が世代間で、またはさらに同じ個体内の細胞間で異なり得るという意味で動的である。リピート伸長は、DNA複製中のポリメラーゼ「スリップ」によって引き起こされると考えられる。DNA配列中のタンデムリピートは、親鎖と娘鎖との間の相補的塩基対合を維持しながら「ループアウト」し得る。ループ構造が娘鎖から形成される場合、リピート数は増加することになる。

【0090】

逆に、ループ構造が親鎖から形成される場合、リピート数は減少することになる。減少よりも伸長の方がより一般的であると考えられる。概して、リピート伸長の長さは予後と負の相関をし、リピートが長いほど、発症年齢の低下及び疾患重症度の悪化と相関する。したがって、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は「予測」を受け、ある世代から次の世代へのこれらのリピート伸長によって、症状の重症度及び／または発症年齢が、罹患した家族の連続した世代を経ることで悪化することを意味する。

【0091】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）は、当該技術分野において周知である。例えば、前頭側頭型認知症（FTD）は、FTDを有しない個体よりも、個体においてはるかに多く繰り返されるヌクレオチドGGGGCCのヘキサヌクレオチドリピートストリングである。さらに、脊髄小脳失調症36型（SCA36）を有する個体は、SCA36を有しない個体よりも、GGCCCTGリピートをはるかに多く有する。

【0092】

例示的なトリヌクレオチドリピート伸長障害及びそれらと一般的に関連する遺伝子のトリヌクレオチドリピートが、表1に含まれる。

【0093】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1：例示的なトリヌクレオチドリピート伸長障害

疾患	遺伝子	ヌクレオチドリ リピート
ARX 非症候性 X 連鎖精神遅滞 (XLMR)	ARX	GCG
Baratela-Scott 症候群	XYLT1	GCG
瞼裂狭小／眼瞼下垂／逆内眼角贅皮症候群 I I 型	FOXL2	GCG
鎖骨頭蓋異形成症 (CCD)	RUNX2	GCG
先天性中枢性低換気	PHOX-2B	GCG
先天性中枢性低換気症候群 (CCHS)	PHOX2B	GCG
クロイツフェルト・ヤコブ病	PRNP	
歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA)／Haw River 症候群	ATN1	CAG
早期乳児てんかん性脳症 (大田原症候群)	ARX	GCG
FRA2A 症候群	AFF3	CGC
FRA7A 症候群	ZNF713	CGG
脆弱 X 精神遅滞 (FRA-X-E)	AFF2/FMR2	GCC
脆弱 X 症候群 (FXS)	FMR1	CGG
脆弱 X 関連原発性卵巣機能不全 (FXPOI)	FMR1	CGG
脆弱 X 関連振戦運動失調症候群 (FXTAS)	FMR1	CGG
フリードライヒ失調症 (FRDA)	FXN	GAA
フックス角膜内皮ジストロフィー (FECD)	TCF4	CTG
手足性器症候群 (HFGS)	HOXA13	GCG
全前脳胞症障害 (HPE)	ZIC2	GCG
ハンチントン病類縁疾患 2 型 (HDL2)	JPH3	CTG
ハンチントン病 (HD)	HTT	CAG
点頭てんかん症候群／ウエスト症候群 (ISS)	ARX	GCG
ヤコブセン症候群		
KCNN3 関連 (例えば、統合失調症)	KCNN3	CAG
多発性骨異形成	COMP	GAC
筋強直性ジストロフィー 1 型 (DM1)	DMPK	CTG
筋強直性ジストロフィー 2 型 (DM2)	CNBP	CCTG
NCOA3 関連 (例えば、前立腺癌のリスク増加)	NCOA3	CAG
神経核内封入体病 (NIID)	NOTCH2NL C	GCG
眼咽頭型筋ジストロフィー (OPMD)	PABPN1	GCG
シャルルヴォア・サグネ型痙攣性失調症		
球脊髄性筋萎縮症 (SMA)	AR	CAG

【0094】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

脊髄小脳失調症 1 型 (S C A 1)	ATXN1	CAG
脊髄小脳失調症 1 0 型 (S C A 1 0)	ATXN10	ATTCT
脊髄小脳失調症 1 2 型 (S C A 1 2)	PPP2R2B	CAG
脊髄小脳失調症 1 7 型 (S C A 1 7)	TBP/ATXN17	CAG
脊髄小脳失調症 2 型 (S C A 2)	ATXN2	CAG
脊髄小脳失調症 3 型 (S C A 3) / マシヤド・ジョセフ病	ATXN3	CAG
脊髄小脳失調症 4 5 型 (S C A 4 5)	FAT2	CAG
脊髄小脳失調症 6 型 (S C A 6)	CACNA1A	CAG
脊髄小脳失調症 7 型 (S C A 7)	ATXN7	CAG
脊髄小脳失調症 8 型 (S C A 8)	ATXN8	CTG
小脳、眼、頭蓋顔面、及び生殖器の特徴 (C O F G 症候群) を伴う症候性神経発達障害	MAB21L1	CAG
合多指症 (S P D I)	HOXD13	GCG
合多指症 (S P D I I)	HOXD12	GCG

10

20

【0095】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）と関連するタンパク質は、通常、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）と関連するタンパク質と、ヌクレオチドリピート伸長障害との実験的関連性に基づいて選択される。例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）と関連するタンパク質の生成速度または循環濃度は、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を欠く集団と比較して、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を有する集団で上昇または低下し得る。タンパク質レベルの差は、ウェスタンブロット、免疫組織化学染色法、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A)、及び質量分析を含むが、これらに限定されないタンパク質技術を使用して評価され得る。あるいは、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）と関連するタンパク質は、DNA マイクロアレイ分析、遺伝子発現連鎖解析 (S A G E)、及び定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (q P C R) を含むが、これらに限定されないゲノム技術を使用して、タンパク質をコードする遺伝子の遺伝子発現プロファイルを得ることによって同定され得る。

30

40

【0096】

II. ヌクレオチドリピート伸長におけるミスマッチ修復経路の関与に関する証拠

DNA 修復経路、特にミスマッチ修復 (M M R) が、ヌクレオチドリピート（例えば、トリヌクレオチドリピート）の伸長に関与しているという証拠が増えている。最近のゲノムワイド関連 (G W A) 分析によって、ハンチントン病 (H D) の神経学的発症時の年齢を変化させる遺伝的変異を保有する遺伝子座の特定が行われた (G E M - H D C o n s o r t i u m, C e l l. 2015 J u l 30; 162 (3): 516-26)。本試験では、M L H 1 という E . c o l i DNA ミスマッチ修復遺伝子 m u t L のヒトホモログが同定された。続いて、ポリグルタミン病患者における G W A 試験によって、DNA 修復遺伝子を有する全てのポリグルタミン病 (H D 及び S C A) を群として分類した場

50

合、発症年齢の有意な関連に加えて、FAN1及びPMS2における特異的SNPと疾患との有意な関連が認められた(Bettencourt et al., (2016) Ann. Neurol., 79:983-990)。これらの結果は、MLH1及びMLH3をCAG不安定性の新規の重要な変異因子と同等した、ハンチントン病の2つの異なるマウスモデルにおけるリピート伸長の差を比較した以前の試験の結果と一致していた(Pinto et al., (2013) Mismatch Repair Genes MLH1 and MLH3 Modify CAG Instability in Huntington's Disease Mice: Genome-Wide and Candidate Approaches. PLoS Genet 9(10):e1003930)。ミスマッチ修復経路の別のメンバーである8-オキソグアニングリコシラーゼ(OGG1)もまた、OGG1を欠くトランスジェニックマウスでは体細胞伸長の減少が分かったため、伸長に関与している(Kovtun I. V. et al. (2007) Nature 447, 447-452)。しかしながら、別の試験では、hOGG1におけるSer326Cys多型(OGG1活性の減少をもたらす)を含有するヒト対象が、変異体ハンチンチンの増加を引き起こすことが見出された(Coppede et al., (2009) Toxicol., 278:199-203)。同様に、マウスHDモデルにおける、DNA修復経路の別の成分であるFan1の完全な不活性化は、体細胞CAG伸長をもたらす(Long et al. (2018) J. Hum Genet., 103:1-9)。ミスマッチ修復経路の別の成分であるMSH3は、体細胞伸長に関連すると報告されていて、Msh3の多型は、筋強直性ジストロフィー1型(DM1)患者における伸長したCTGトリヌクレオチドリピートの体細胞不安定性と関連していた(Morales et al., (2016) DNA Repair 40:57-66)。さらに、Msh3及びMLH1の天然多型が、CTG・CAGリピート不安定性におけるマウス株特異的相違の媒介因子として明らかになった(Pinto et al. (2013) 同上、Tome et al., (2013) PLoS Genet. 9:e1003280)。Msh2及びMsh3の伸長リピートへの関与に関するさらなる証拠が、MSH2またはMSH3のいずれかの短ヘアピンRNA(shRNA)ノックダウンを遅くし、MSH2またはMSH3のいずれかの異所性発現によって、フリードライヒ失調症(FRDA)患者に由来する線維芽細胞においてFRDA遺伝子のGAATトリヌクレオチドリピート伸長を誘導した試験で報告された(Halabi et al., (2012) J. Biol. Chem. 287, 29958-29967)。上で提供されたいくつかの矛盾した結果にもかかわらず、様々な障害におけるトリヌクレオチドリピートの伸長にMMR経路が何らかの役割を果たしているという強力な証拠が存在する。さらに、それらは、MMR経路の障害がこれらのリピート伸長障害の治療または予防を可能にすることを認識した最初の試験であるが、しかしながら、これらのリピート伸長障害を治療または予防するためにMMRを調節する療法は、現在利用可能なものがないか、または開発中である。

【0097】

III. オリゴヌクレオチド剤

細胞内でのMSH3のレベル及び／または活性を減少させる、本明細書に記載の薬剤は、例えば、ポリヌクレオチド、例えば、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩であり得、本明細書に記載の組成物及び方法において利用される。それらの薬剤は、MSH3に関連する活性、もしくは関連する下流効果のレベルを減少させるか、または細胞もしくは対象内のMSH3のレベルを減少させる。

【0098】

いくつかの態様では、MSH3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤は、ポリヌクレオチドである。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、例えば、RNAse H媒介経路によって作用する一本鎖オリゴヌクレオチドである。オリゴヌクレオチドは、DNA及びDNA/RNAキメラ分子、典型的には約10~30ヌクレオチド長を含み、本分子は、標的配列のヌクレオチド塩基(例えば、MSH3)との水素結合相互作用によっ

てポリヌクレオチド標的配列または配列部分を認識する。オリゴヌクレオチド分子は、M S H 3 の発現レベル（例えば、タンパク質レベルまたはm R N A レベル）を低下させ得る。例えば、オリゴヌクレオチドは、全長M S H 3 を標的とするオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド分子は、標的m R N A 分解をもたらすR N a s e H 酵素を動員する。

【0099】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、機能に関する正の制御因子のレベル及び／または活性を低下させる。他の態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、機能に関する正の制御因子の阻害剤のレベル及び／または活性を増加させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、機能に関する負の制御因子のレベル及び／または活性を増加させる。

10

【0100】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、M S H 3 のレベル及び／または活性または機能を低下させる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、M S H 3 の発現を阻害する。他の態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、M S H 3 の分解を増加させ、及び／またはM S H 3 の安定性（すなわち、半減期）を低下させる。オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、化学的に合成され得る。

【0101】

20

オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、以下でさらに述べられるように当該技術分野において既知の標準的な方法によって、例えば、自動D N A 合成装置、例えば、B i o s e a r c h、A p p l i e d B i o s y s t e m s, I n c から市販されているものなどの使用によって合成され得る。

【0102】

オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、液相もしくは固相有機合成またはその両方を使用して調製され得る。有機合成は、非天然または代替ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が容易に調製され得るという利点を提供する。一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、液相もしくは固相有機合成またはその両方を使用して調製され得る。

30

【0103】

本開示のいくつかの態様は、15～30の連結ヌクレオチド長の一本鎖オリゴヌクレオチド（オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも95%相補的である）、またはその薬学的に許容される塩に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも98%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも99%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2543～2573位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に100%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2543～2573位における17～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号614の2543～2573位における17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、17～20個の隣接する核酸塩基は、配列番号614、またはその薬学的に許容される塩の、2543位、2544位、2545位、2546位、2547位、2548位、2549位、2550位、2551位、2552位、2553位、2554位、2555位、2556

40

50

位、または2557位から始まる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、17～20の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0104】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2543～2573位における20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、20～23個の隣接する核酸塩基は、配列番号614、またはその薬学的に許容される塩の、2543位、2544位、2545位、2546位、2547位、2548位、2549位、2550位、2551位、2552位、2553位、または2554位から始まる。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、20～23の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

10

【0105】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2543～2570位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0106】

本開示はまた、15～30の連結ヌクレオチド長の一本鎖オリゴヌクレオチド（オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも95%相補的である）、またはその薬学的に許容される塩に関する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも98%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも99%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドまたはその一部は、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に100%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685～2714位における17～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685～2714位における17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685位、2686位、2687位、2688位、2689位、2690位、2691位、2692位、2693位、2694位、2695位、2696位、2697位、もしくは2698位から始まる17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、17～20の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

20

30

【0107】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685～2714位における20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号614の2685位、2686位、2687位、2688位、2689位、2690位、2691位、2692位、2693位、2694位、もしくは2695位から始まる20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、20～23の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその一部は、配列番号614の2685～2714位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

40

【0108】

上記のいくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1

50

50

[illegible]

である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 97 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドが配列番号 145 である核酸塩基からなる核酸塩基からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドが配列番号 163 である核酸塩基からなる核酸塩基からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 193 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 226～227、234、240、もしくは243～244のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 227、234、240、もしくは243～244のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 226 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 289 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 329 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 346 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。

10

20

30

40

50

【0110】

本開示のいくつかの態様は、一本鎖オリゴヌクレオチド（オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号 1～384 及び 390～613 のいずれか 1 つからなる）、またはその薬学的に許容される塩を対象とする。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号 2～96、98～192、194～288、290～384、及び 390～613 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である。い

くつかの態様では、オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号1～384のいずれか1つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号2～96、98～192、194～288、もしくは290～384のいずれか1つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号2～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号97～192のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号96～192のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号193～288のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号194～288のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号289～384のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号290～384のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号390～613のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号390～480のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号481～571のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号572～662のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号663～613のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号6の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれか1つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号97の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号145の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学

10

20

30

40

50

的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 6 3 の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 3 ~ 2 0 0、2 0 2 ~ 2 3 0、2 3 2 ~ 2 4 6、2 4 8 ~ 2 5 3、2 5 5、2 5 8 ~ 2 6 1、2 6 5、2 7 0、2 7 4 ~ 2 7 6、もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 4 ~ 2 0 0、2 0 2 ~ 2 3 0、2 3 2 ~ 2 4 6、2 4 8 ~ 2 5 3、2 5 5、2 5 8 ~ 2 6 1、2 6 5、2 7 0、2 7 4 ~ 2 7 6、もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 9 3 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 2 6 ~ 2 2 7、2 3 4、2 4 0、もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 2 7、2 3 4、2 4 0、もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 2 6 の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 8 9 ~ 2 9 0、2 9 2、3 0 5、3 0 7、3 1 3、3 1 8、3 2 3 ~ 3 2 4、3 2 6、3 2 9 ~ 3 3 0、3 3 2、3 3 8 ~ 3 3 9、3 4 1、3 4 4、もしくは 3 4 6 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 9 0、2 9 2、3 0 5、3 0 7、3 1 3、3 1 8、3 2 3 ~ 3 2 4、3 2 6、3 2 9 ~ 3 3 0、3 3 2、3 3 8 ~ 3 3 9、3 4 1、3 4 4、もしくは 3 4 6 のいずれか 1 つの核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 2 8 9 の核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 3 2 9 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号 3 4 6 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である。

10

20

【0111】

本開示のいくつかの態様は、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 ~ 3 8 4 もしくは表 4 の 3 9 0 ~ 6 1 3 からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を対象とする。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 2 ~ 9 6、9 8 ~ 1 9 2、1 9 4 ~ 2 8 8、2 9 0 ~ 3 8 4 及び表 4 の 3 9 0 ~ 6 1 3 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 ~ 3 8 4 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 2 ~ 9 6、9 8 ~ 1 9 2、1 9 4 ~ 2 8 8、及び 2 9 0 ~ 3 8 4 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 ~ 9 6 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 2 ~ 9 6 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 9 7 ~ 1 9 2 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 9 8 ~ 1 9 2 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 9 3 ~ 2 8 8 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 9 4 ~ 2 8 8 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンス

30

40

50

オリゴ番号 289～384 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 290～384 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 4 のアンチセンスオリゴ番号 390～613 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 4 のアンチセンスオリゴ番号 390～480 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 4 のアンチセンスオリゴ番号 481～571 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは 94～96 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 6、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは 191 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 97、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 145、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 163、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは 285～286 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは 285～286 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 193 である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 226～227、234、240、もしくは 243～244 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 227、234、240、もしくは 243～244 からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 226、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～

10

20

30

40

50

339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号289、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号329、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号346、またはその薬学的に許容される塩である。

10

【0112】

いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる。いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる。いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる。いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも80%減少させる。

20

【0113】

いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる。いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる。いくつかの態様では、本明細書に記載のオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる。

【0114】

細胞アッセイは、Lipofectamine 2000 (Invitrogen) を使用して、哺乳動物細胞、例えば、HEK293、NIH3T3、またはHeLa細胞などに所望の濃度のオリゴヌクレオチド（例えば、1 nMまたは10 nM）をトランスフェクトし、トランスフェクト細胞のレベルを対照細胞のレベルと比較すること、例えば、トランスフェクト細胞のMSH3 mRNAレベルを対照細胞のMSH3レベルと比較することを含み得る。対照細胞は、MSH3に特異的ではないオリゴヌクレオチドをトランスフェクトしてもよく、またはモックトランスフェクトしてもよい。mRNAレベルは、RT-qPCRを使用して決定してもよく、MSH3 mRNAレベルは、GAPDH mRNAレベルを基準として正規化してもよい。阻害率は、対照細胞のMSH3濃度に対するMSH3 mRNA濃度の割合として算出され得る。

30

【0115】

いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、インビトロで評価される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、細胞ベースのアッセイで評価される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、HeLa細胞で評価される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-qPCR）によって決定される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、参照遺伝子のmRNA発現を基準として正規化される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現は、ベータグロブリン（GUSB）のmRNA発現を基準として正規化される。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現の減少は、対照に対するものである。いくつかの態様では、対照は、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下におけるMSH3 mRNA発現である。いくつかの態様では、対照は、オリゴヌクレ

40

50

オチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下におけるMSH3 mRNA発現である。いくつかの態様では、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩は、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現の減少は、デルターデルタCt ($\Delta\Delta Ct$) 法によって算出される。いくつかの態様では、デルターデルタCt ($\Delta\Delta Ct$) 法は、MSH3 mRNA発現を、参照遺伝子のmRNA発現を基準として、及びオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下におけるMSH3 mRNA発現を基準として正規化することを含む。いくつかの態様では、参照遺伝子は、ベータグロブリン (β) (GUSB) であり、及び／または対照オリゴヌクレオチド、もしくはその塩は、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、MSH3 mRNA発現の減少は、実施例1の方法によって決定される。いくつかの態様では、同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号1が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現をおよそ58%減少させる。いくつかの態様では、同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号1が、1 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現をおよそ14%減少させる。

10

20

30

40

50

【0116】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその隣接するヌクレオチド領域は、本明細書では単に「ギャップマー」とも称されるギャップマー設計または構造を有する。ギャップマー構造において、オリゴヌクレオチドは、「5'→3'」の配向で少なくとも3つの別個の構造領域、すなわち、5'フランキンク配列 (5' ウィングとしても知られる)、DNAコア配列 (ギャップとしても知られる) 及び3'フランキンク配列 (3' ウィングとしても知られる) を含む。本設計において、5' 及び3' フランキンク配列は、DNAコア配列に隣接する少なくとも1個の代替ヌクレオシドを含み、いくつかの態様では、2〜7個の代替ヌクレオシドの連続ストレッチ、または代替及びDNAヌクレオシドの連続ストレッチ (代替及びDNAヌクレオシドの両方を含む混合フランキンク配列) を含む得る。

【0117】

5' フランキンク配列領域の長さは、少なくとも2のヌクレオシド長 (例えば、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、またはそれを超えるヌクレオシド長) であり得る。3' フランキンク配列領域の長さは、少なくとも2のヌクレオシド長 (例えば、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、またはそれを超えるヌクレオシド長) であり得る。5' 及び3' フランキンク配列は、それらが含むヌクレオシド数に関して対称または非対称であり得る。いくつかの態様では、DNAコア配列は、各々が約5個のヌクレオシドを含む5' 及び3' フランキンク配列に隣接する約10個のヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、DNAコア配列は、各々が約5個または約6個のヌクレオシドを含む5' 及び3' フランキンク配列に隣接する約11個のヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、DNAコア配列は、約5個のヌクレオシドを含む5' 配列、及び約6個のヌクレオシドを含む3' フランキンク配列に隣接する約12個のヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、DNAコア配列は、約6個のヌクレオシドを含む5' 配列、及び約5個のヌクレオシドを含む3' フランキンク配列に隣接する約12個のヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、DNAコア配列は、各々が約6個のヌクレオシドを含む5' 及び3' フランキンク配列に隣接する約12個のヌクレオシドを含む。

【0118】

したがって、DNAコア配列に隣接する5' フランキンク配列及び3' フランキンク配列のヌクレオシドは、2' 代替ヌクレオシドなどの代替ヌクレオシドである。DNAコア配列は、オリゴヌクレオチドがMSH3標的核酸との二本鎖である場合、RNAase Hを動員できるヌクレオチドの連続ストレッチを含む。いくつかの態様では、DNAコア配列は、5〜16個のDNAヌクレオシドの連続ストレッチを含む。他の態様では、DNAコ

ア配列は、MSH3 遺伝子に対して少なくとも80%（例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%）の相補性を有する、少なくとも10個の隣接する核酸塩基の領域を含む。いくつかの態様では、ギャップマーは、MSH3 遺伝子の少なくとも17個の隣接するヌクレオチド、19～23個の隣接するヌクレオチド、または19個の隣接するヌクレオチドに相補的な領域を含む。ギャップマーは、MSH3 標的核酸に相補的であるため、オリゴヌクレオチドの隣接するヌクレオチド領域であり得る。いくつかの態様では、ギャップマーは、MSH3 遺伝子の少なくとも21個の隣接するヌクレオチド、20～25個の隣接するヌクレオチド、または23個の隣接するヌクレオチドに相補的な領域を含む。ギャップマーは、MSH3 標的核酸に相補的であるため、オリゴヌクレオチドの隣接するヌクレオチド領域であり得る。

10

【0119】

DNA コア配列の5'及び3'末端に隣接する5'及び3'フランキンク配列は、1つ以上の親和性増強代替ヌクレオチドを含み得る。いくつかの態様では、5'及び／または3'フランキンク配列は、少なくとも1個の2'-O-メトキシエチル（MOE）ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、5'及び／または3'フランキンク配列は、少なくとも2個のMOEヌクレオチドを含有する。いくつかの態様では、5'フランキンク配列は、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、もしくは少なくとも6個またはそれを超えるMOEヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、5'フランキンク配列は、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、もしくは少なくとも6個またはそれを超えるMOEヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、5'及び3'フランキンク配列の両方が、MOEヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、フランキンク配列中の全てのヌクレオチドが、MOEヌクレオチドである。他の態様では、フランキンク配列は、MOEヌクレオチド及び他のヌクレオチドの両方（混合フランキンク配列）、例えば、DNAヌクレオチド及び／または非MOE代替ヌクレオチド、例えば、二環式ヌクレオチド（BNA）（例えば、LNAヌクレオチド（例えば、A-LNA、5mC-LNA、G-LNA、T-LNA）もしくはcETヌクレオチド）など、または他の2'置換ヌクレオチドなどを含み得る。この場合、DNA コア配列は、MOEヌクレオチドなどの親和性増強代替ヌクレオチドによって5'及び3'末端に隣接する少なくとも5個のRNAase H動員ヌクレオチド（5～16個のDNAヌクレオチドなど）の隣接配列として定義される。

20

30

【0120】

他の態様では、5'及び／または3'フランキンク配列は、少なくとも1個のBNA（例えば、少なくとも1個のLNAヌクレオチド（例えば、A-LNA、5mC-LNA、G-LNA、T-LNA）またはcETヌクレオチド）を含む。いくつかの態様では、5'及び／または3'フランキンク配列は、少なくとも2個の二環式ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、5'フランキンク配列は、少なくとも1個のBNAを含む。いくつかの態様では、5'及び3'フランキンク配列の両方が、BNAを含む。いくつかの態様では、フランキンク配列中の全てのヌクレオチドが、BNAである。他の態様では、フランキンク配列は、BNA及び他のヌクレオチドの両方（混合フランキンク配列）、例えば、DNAヌクレオチド及び／または非BNA代替ヌクレオチドなど、例えば、2'置換ヌクレオチドなどを含み得る。この場合、DNA コア配列は、BNAなど、例えば、LNAなど、例えば、ベーターD-オキシーLNAなどの親和性増強代替ヌクレオチドによって5'及び3'末端に隣接する少なくとも5個のRNAase H動員ヌクレオチド（5～16個のDNAヌクレオチドなど）の隣接配列として定義される。

40

【0121】

DNA コア配列の5'末端に結合した5'フランクは、少なくとも1つの代替糖部分（例えば、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、またはそれを超える代替糖部分）を含むか、それらを含み得るか、またはそれらからなる。いくつかの態様では、フランキンク配列は、1～7個の代替核酸塩基、例えば、2～6個の代替核酸塩基など、例えば、2～5個の代替核酸塩基など、例えば、2～4個

50

の代替核酸塩基など、例えば、1～3個の代替核酸塩基など、例えば、1個、2個、3個または4個の代替核酸塩基などを含むか、またはそれらからなる。いくつかの態様では、フランキング配列は、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合（例えば、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、またはそれを超える代替ヌクレオシド間結合）を含むか、またはそれらからなる。

【0122】

DNAコア配列の3'末端に結合した3'フランクは、少なくとも1つの代替糖部分（例えば、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、またはそれを超える代替糖部分）を含むか、それらを含むか、またはそれらからなる。いくつかの態様では、フランキング配列は、1～7個の代替核酸塩基、例えば、2～6個の代替核酸塩基など、例えば、2～5個の代替核酸塩基など、例えば、2～4個の代替核酸塩基など、例えば、1～3個の代替核酸塩基など、例えば、1個、2個、3個または4個の代替核酸塩基などを含むか、またはそれらからなる。いくつかの態様では、フランキング配列は、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合（例えば、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、またはそれを超える代替ヌクレオシド間結合）を含むか、またはそれらからなる。

10

【0123】

一態様では、フランキング配列中の代替糖部分のうち1つ以上または全てが、2'代替糖部分である。

【0124】

さらなる態様では、ウイング領域中の2'代替糖部分のうち1つ以上が、2'-O-アルキル-糖部分、2'-O-メチル-糖部分、2'-アミノ-糖部分、2'-フルオロ-糖部分、2'-アルコキシ-糖部分、MOE糖部分、LNA糖部分、アラビノ核酸（ANA）糖部分、及び2'-フルオロ-ANA糖部分から選択される。

20

【0125】

一態様では、フランキング配列中の全ての代替ヌクレオシドが、二環式ヌクレオシドである。さらなる態様では、フランキング配列中の二環式ヌクレオシドは、ベター-Dもしくはアルファ-L配置のいずれかにおけるオキシ-LNA、チオ-LNA、アミノ-LNA、cET、及び／またはENAまたはそれらの組合せからなる群から独立して選択される。

30

【0126】

いくつかの態様では、フランキング配列中の1つ以上の代替ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。いくつかの態様では、ホスホロチオエート結合は、立体化学的に純粋なホスホロチオエート結合である。いくつかの態様では、ホスホロチオエート結合は、Spホスホロチオエート結合である。他の態様では、ホスホロチオエート結合は、Rpホスホロチオエート結合である。いくつかの態様では、代替ヌクレオシド間結合は、2'-アルコキシヌクレオシド間結合である。他の態様では、代替ヌクレオシド間結合は、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である。

【0127】

DNAコア配列は、RNAse Hを動員できる少なくとも5～16個の連続したDNAヌクレオシドを含み得るか、それらを含むし得るか、またはそれらからなり得る。いくつかの態様では、DNAコア配列のヌクレオシドは全て、DNA単位である。さらなる態様では、DNAコア領域は、DNAと、RNAse H切断を媒介できる他のヌクレオシドとの混合物からなり得る。いくつかの態様では、DNAコア配列のヌクレオシドの少なくとも50%、例えば、少なくとも60%、少なくとも70%もしくは少なくとも80%などがDNA、または少なくとも90%がDNAである。いくつかの態様では、DNAコア配列のヌクレオシドは全て、RNA単位である。

40

【0128】

オリゴヌクレオチドは、標的核酸に相補的な隣接領域を含む。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、5'及び3'フランキング配列のいずれかに対して5'及び／または

50

3'に位置する追加の連結ヌクレオシドをさらに含み得る。それらの追加の連結ヌクレオシドは、それぞれ5'フランキンク配列の5'末端または3'フランキンク配列の3'末端に結合され得る。追加のヌクレオシドは、いくつかの態様では、標的核酸に相補的な隣接配列の一部を形成し得るか、または他の態様では、標的核酸に非相補的であり得る。

【0129】

5'及び3'フランキンク配列のいずれか、または両方の追加ヌクレオシドの包含は、独立して、1個、2個、3個、4個、または5個の追加ヌクレオチドを含み得、これは標的核酸に相補的または非相補的であり得る。この点に関して、オリゴヌクレオチドは、いくつかの態様では、追加ヌクレオチドに5'及び／または3'末端で隣接する標的を調節できる隣接配列を含み得る。そのような追加ヌクレオシドは、ヌクレアーゼに対して感度が高い生化学的に切断可能なリンカーとして機能し得るため、オリゴヌクレオチドに複合体部分などの官能基を結合させるために使用され得る。いくつかの態様では、5'及び／または3'末端の追加ヌクレオシドは、ホスホジエステル結合と連結し、DNAまたはRNAであり得る。別の態様では、5'及び／または3'末端の追加ヌクレオシドは、例えば、ヌクレアーゼ安定性を増強するために、または合成を容易にするために含まれ得る代替ヌクレオシドである。

10

【0130】

他の態様では、オリゴヌクレオチドは、「アルチマー (altimer)」設計を利用し、これは3つのヌクレオシドごとに交互に配置される2'-フルオロ-ANA及びDNA領域を交互に含む。アルチマーオリゴヌクレオチドは、Min, et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2002, 12(18): 2651-2654及びKalota, et al., Nuc. Acid Res. 2006, 34(2): 451-61 (参照によって本明細書に組み込まれる)により詳細に述べられている。

20

【0131】

他の態様では、オリゴヌクレオチドは「ヘミマー (hemimer)」設計を利用し、これはDNAコア配列 (の5'側または3'側のいずれかの側) に隣接する単一2'修飾フランキンク配列を含む。ヘミマーオリゴヌクレオチドは、Geary et al., 2001, J. Pharm. Exp. Therap., 296: 898-904 (参照によって本明細書に組み込まれる)により詳細に述べられている。

30

【0132】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1~384及び390~613のいずれか1つの核酸配列に対して少なくとも50% (例えば、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%) の配列同一性を有する核酸配列を有する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1~384及び390~613のいずれか1つの核酸配列に対して少なくとも85%の配列同一性を有する核酸配列を有する。

【0133】

オリゴヌクレオチド、例えば、オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、以下で詳細に記載されるような代替ヌクレオシド及び／または複合化もしくは連結されている、配列番号1~384のいずれか1つに記載される配列のいずれか1つを含み得ると理解されることになる。

40

【0134】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1~384または表4のアンチセンスオリゴ番号390~613からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1~384からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1~

50

96のうち1つからなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号97～192からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号193～288からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号289～384からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号390～613からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号390～480からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号481～501からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号502～592からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表4のアンチセンスオリゴ番号593～613からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。

10

20

30

40

50

【0135】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、または94～96からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号1からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号6の核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。

【0136】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、または191からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号97からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号145からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号163からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。

【0137】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、または285～286からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号193からなる群から

選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。

【0138】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号226～227、234、240、または243～244からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号226からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。

【0139】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、または346からなる群から選択される核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3の核酸塩基配列アンチセンスオリゴ番号289の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号329の核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、表3のアンチセンスオリゴ番号346の核酸塩基配列の少なくとも15個の隣接塩基を有するオリゴヌクレオチドである。

【0140】

本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチド剤は、標的配列との1つ以上のミスマッチを含有し得る。一態様では、本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチドは、3つ以下のミスマッチを含有する。オリゴヌクレオチドが標的配列に対してミスマッチを含有する場合、いくつかの態様では、ミスマッチの領域は相補性領域の中央には位置しない。オリゴヌクレオチドが標的配列に対してミスマッチを含有する場合、いくつかの態様では、ミスマッチは、相補性領域の5'末端または3'末端のいずれかの、最後の5ヌクレオチド内に限定されなければならない。例えば、30連結ヌクレオシドオリゴヌクレオチド剤の場合、MSH3遺伝子領域に相補的な隣接する核酸塩基領域は、一般に中央の5～10連結ヌクレオシド内に一切ミスマッチを含有しない。本明細書に記載される方法または当該技術分野において既知の方法は、標的配列にミスマッチを含有するオリゴヌクレオチドが、MSH3遺伝子の発現を阻害するのに効果的であるかどうかを決定するために使用され得る。MSH3遺伝子の発現を阻害する際の、ミスマッチを有するオリゴヌクレオチドの有効性に関する検討は、特にMSH3遺伝子の特定の相補性領域が、集団内で多型配列多様性を有することが知られている場合に重要である。

【0141】

ポリヌクレオチド発現のためのベクター構築は、当業者に対して詳細な説明を要することのない従来技術を使用して達成され得る。効率的な発現ベクターの生成には、ポリヌクレオチドの発現を制御する調節配列を有することが必要である。それらの調節配列は、プロモーター及びエンハンサー配列を含み、それらの配列と相互作用する特定の細胞因子に影響され、当該技術分野において周知である。

【0142】

A. 代替オリゴヌクレオシド

一態様では、オリゴヌクレオチドの連結ヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合のうち1つ以上が天然に存在し、当該技術分野において既知の、かつ本明細書に記載される、例えば、化学修飾及び／または複合化を含まない。別の態様では、オリゴヌクレオチドの連結ヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合のうち1つ以上が、安定性または他の有益な特性を増強するために化学修飾される。理論に束縛されるものではないが、ある特定の修飾がヌクレアーゼ耐性及び／または血清安定性を増加させ得るか、あるいは免疫原性を低下させ得ると考えられている。例えば、オリゴヌクレオチドは、DNAもしくはRNA中において天然に存在することが見出されたヌクレオチド（例えば、アデニン、チミジン、グ

アノシン、シチジン、ウリジン、もしくはイノシン)を含有し得るか、またはヌクレオチドの1つ以上の構成要素(例えば、核酸塩基、糖、もしくはホスホリンカー部分)に対して1つ以上の化学修飾を有する代替ヌクレオシドもしくはヌクレオシド間結合を含有し得る。オリゴヌクレオチドは、天然に存在するホスホジエステル結合を介して互いに連結され得るか、あるいは代替結合(例えば、ホスホロチオエート(例えば、SpホスホロチオエートもしくはRpホスホロチオエート)、3'-メチレンホスホネート、5'-メチレンホスホネート、3'-ホスホアミデート、2'-5'ホスホジエステル、グアニジニウム、S-メチルチオ尿素、2'-アルコキシ、アルキルホスフェート、またはペプチド結合を介して共有結合される)を含有し得る。

【0143】

10

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドのヌクレオシドまたはヌクレオチド間結合の実質的に全てが、代替ヌクレオシドである。他の態様では、オリゴヌクレオチドのヌクレオシドまたはヌクレオチド間結合の全てが、代替ヌクレオシドである。「ヌクレオシドの実質的に全てが代替ヌクレオシドである」オリゴヌクレオチドは、完全にはではないが、大部分が修飾されていて、5個、4個、3個、2個、または1個以下の天然に存在するヌクレオシドを含み得る。さらに他の態様では、オリゴヌクレオチドは、5個、4個、3個、2個、または1個以下の代替ヌクレオシドを含み得る。

【0144】

核酸は、当該技術分野で十分に確立された方法、例えば、“Current protocols in nucleic acid chemistry,” Beaucage, S. L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, N. Y., USA (これは参照によって本明細書に組み込まれる)に記載されているものなどによって合成及び／または修飾され得る。代替ヌクレオチド及びヌクレオシドとしては、修飾、例えば、末端修飾、例えば、5'末端修飾(リン酸化、複合化、逆結合)もしくは3'末端修飾(複合化、DNAヌクレオチド、逆結合など)、塩基修飾、例えば、安定化塩基、不安定化塩基、もしくは広範囲なレパートリーのパートナーと塩基対合する塩基との置換、塩基(脱塩基ヌクレオチド)、もしくは複合化塩基の除去、糖修飾(例えば、2'位もしくは4'位の)もしくは糖の置換、及び／またはホスホジエステル結合の修飾もしくは置換を含む、骨格修飾を含むものが挙げられる。核酸塩基は、核酸塩基が糖部分のC1位から異なる位置(例えば、C2、C3、C4、またはC5)に移動しているイソヌクレオシドであり得る。本明細書に記載される態様に有用なオリゴヌクレオチド化合物の具体例としては、修飾骨格または非天然ヌクレオシド間結合を含有する代替ヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。修飾骨格を有するヌクレオチド及びヌクレオシドは、とりわけ、骨格中にリン原子を有しないものを含む。本明細書の目的のために、及び当該技術分野において言及される時もあるように、RNAのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有しない代替RNAがオリゴヌクレオチドであると見なされ得る。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、そのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有することになる。

【0145】

代替ヌクレオチド間結合としては、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、メチル及び他のアルキルホスホネート、例えば、3'-アルキレンホスホネート及びキラルホスホネートを含むもの、ホスフィナート、ホスホルアミデート、例えば、3'-アミノホスホルアミデート及びアミノアルキルホスホルアミデートを含むもの、チオノホスホルアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびに通常の3'-5'結合を有するボロノホスフェート、これらの2'-5'結合類似体、及びヌクレオシド単位の隣接する対が、3'-5'~5'-3'または2'-5'~5'-2'で連結されている反転極性を有するものが挙げられる。様々な塩、混合塩、及び遊離酸形態も含まれる。

【0146】

50

上記のリン含有結合の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第3,687,808号、同第4,469,863号、同第4,476,301号、同第5,023,243号、同第5,177,195号、同第5,188,897号、同第5,264,423号、同第5,276,019号、同第5,278,302号、同第5,286,717号、同第5,321,131号、同第5,399,676号、同第5,405,939号、同第5,453,496号、同第5,455,233号、同第5,466,677号、同第5,476,925号、同第5,519,126号、同第5,536,821号、同第5,541,316号、同第5,550,111号、同第5,563,253号、同第5,571,799号、同第5,587,361号、同第5,625,050号、同第6,028,188号、同第6,124,445号、同第6,160,109号、同第6,169,170号、同第6,172,209号、同第6,239,265号、同第6,277,603号、同第6,326,199号、同第6,346,614号、同第6,444,423号、同第6,531,590号、同第6,534,639号、同第6,608,035号、同第6,683,167号、同第6,858,715号、同第6,867,294号、同第6,878,805号、同第7,015,315号、同第7,041,816号、同第7,273,933号、同第7,321,029号、及び米国特許第RE39464号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

10

【0147】

結合内にリン原子を含まない代替ヌクレオシド間結合は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合、混合ヘテロ原子及びアルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合、または1つ以上の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環式ヌクレオシド間結合によって形成される骨格を有する。これらとしては、モルホリノ結合（ヌクレオシドの糖部分から一部が形成される）、シロキサン骨格、スルフィド、スルホキシド及びスルホン骨格、ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、アルケン含有骨格、スルファメート骨格、メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格、スルホネート及びスルホンアミド骨格、アミド骨格を有するもの、ならびに混合N、O、S、及びCH₂構成要素部分を有する他のものが挙げられる。

20

【0148】

上記のオリゴヌクレオシドの調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第5,034,506号、同第5,166,315号、同第5,185,444号、同第5,214,134号、同第5,216,141号、同第5,235,033号、同第5,644,562号、同第5,264,564号、同第5,405,938号、同第5,434,257号、同第5,466,677号、同第5,470,967号、同第5,489,677号、同第5,541,307号、同第5,561,225号、同第5,596,086号、同第5,602,240号、同第5,608,046号、同第5,610,289号、同第5,618,704号、同第5,623,070号、同第5,663,312号、同第5,633,360号、同第5,677,437号、及び同第5,677,439号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

30

40

【0149】

他の態様では、好適なオリゴヌクレオチドは、ヌクレオチド単位の糖及びヌクレオシド間結合の両方、すなわち、骨格が置換されているものを含む。塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。1つのそのようなオリゴマー化合物である、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されている模倣物は、ペプチド核酸（PNA）と称される。PNA化合物では、ヌクレオシドの糖は、アミド含有骨格、特にアミノエチルグリシン骨格で置換される。核酸塩基は保持され、骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合される。PNA化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第5,539,082号、同第5,714,331号、及び同第5,719,262号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々

50

の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。オリゴヌクレオチドでの使用に適した追加のPNA化合物は、例えば、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500に記載されている。

【0150】

いくつかの態様は、ホスホロチオエート骨格を有するオリゴヌクレオチド及びヘテロ原子骨格を有するオリゴヌクレオチド、ならびに特に $-CH_2-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$ [メチレン (メチルイミノ) またはMMI骨格として知られる]、上述した米国特許第5,489,677号の $-CH_2-O-N(CH_3)-CH_2-$ 、 $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-CH_2-$ 及び $-N(CH_3)-CH_2-CH_2-$ [式中、天然のホスホジエステル骨格が $-O-P-O-CH_2-$ として表される]、ならびに上述した米国特許第5,602,240号のアミド骨格を含む。いくつかの態様では、本明細書で注目されるオリゴヌクレオチドは、上述した米国特許第5,034,506号のモルホリノ骨格構造を有する。他の態様では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー (PMO) を含み、その場合に、Summerton, et al., Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 1997, 7:63-70に記載されるように、デオキシリボース部分がモルホリン環によって置換され、荷電ホスホジエステルサブユニット間結合が、非荷電ホスホロジアミデート結合によって置換される。

10

【0151】

代替ヌクレオシド及びヌクレオチドは、1つ以上の置換糖部分を含有し得る。オリゴヌクレオチド、例えば、本明細書で注目されるオリゴヌクレオチドは、2'位に以下のうち1つを含み得る：OH、F、O-、S-、もしくはN-アルキル、O-、S-、もしくはN-アルケニル、O-、S-もしくはN-アルキニル、またはO-アルキル-O-アルキル (式中、アルキル、アルケニル及びアルキニルは、置換または非置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキルまたは $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル及びアルキニルであり得る)。例示的で好適な修飾としては、 $-O[(CH_2)_nO]_mCH_3$ 、 $-O(CH_2)_nOCH_3$ 、 $-O(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-O(CH_2)_nCH_3$ 、 $-O(CH_2)_n-ONH_2$ 、及び $-O(CH_2)_n-ON[(CH_2)_nCH_3]_2$ (式中、n及びmが1~約10である) が挙げられる。他の態様では、オリゴヌクレオチドは、2'位に以下のうち1つを含む： $C_1 \sim C_{10}$ 低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリール、アラルキル、O-アルカリールもしくはO-アラルキル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリール、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA切断基、レポーター基、インターカレーター、オリゴヌクレオチドの薬物動態特性を改善するための基、またはオリゴヌクレオチドの薬力学的特性を改善するための基、及び同様の特性を有する他の置換基。いくつかの態様では、修飾は、2'-メトキシエトキシ (2'-O-CH₂CH₂OCH₃であって、2'-O-(2-メトキシエチル) または2'-MOEとしても知られる) (Martin et al., Helv. Chin. Acta, 1995, 78:486-504)、すなわち、アルコキシ-アルコキシ基を含む。MOEヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドに対していくつかの有益な特性を付与し、これらとしては非修飾オリゴヌクレオチドと比較した場合のヌクレアーゼ耐性の増加、薬物動態特性の改善、非特異的タンパク質結合の減少、毒性の減少、免疫賦活特性の減少、及び標的親和性の増強が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

40

【0152】

別の例示的な代替物は、本明細書で以下の実施例に記載されるような、2'-ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、2'-DMAOEとしても知られる $-O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 基、及び2'-ジメチルアミノエトキシエトキシ (当該技術分野において、2'-O-ジメチルアミノエトキシエチルまたは2'-DMAEOEとしても知られる)、すなわち、 $2'-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-N(CH_3)_2$ を含有する。

さらなる例示的な代替物としては、5'-Me-2'-Fヌクレオチド、5'-Me-2'-50

OMeヌクレオチド、5'-Me-2'-デオキシヌクレオチド（これらの3つのファミリーにおけるR及びS異性体の両方）、2'-アルコキシアルキル、ならびに2'-NMA（N-メチルアセトアミド）が挙げられる。

【0153】

他の代替物としては、2'-メトキシ（2'-OC₃H₇）、2'-アミノプロポキシ（2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂）及び2'-フルオロ（2'-F）が挙げられる。同様の修飾が、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド及びヌクレオチド上における他の位置、特に3'末端ヌクレオチド上の、または2'-5'結合オリゴヌクレオチド中の糖の3'位及び5'末端ヌクレオチドの5'位で行われ得る。オリゴヌクレオチドは、ペントフラノシル糖の代わりに、シクロブチル部分などの糖模倣物を有し得る。そのような修飾糖構造の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第4,981,957号、同第5,118,800号、同第5,319,080号、同第5,359,044号、同第5,393,878号、同第5,446,137号、同第5,466,786号、同第5,514,785号、同第5,519,134号、同第5,567,811号、同第5,576,427号、同第5,591,722号、同第5,597,909号、同第5,610,300号、同第5,627,053号、同第5,639,873号、同第5,646,265号、同第5,658,873号、同第5,670,633号、及び同第5,700,920号が挙げられるが、これらに限定されず、そのいくつかが本出願と所有者が共通である。前述した特許の各々の内容全体が、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0154】

オリゴヌクレオチドは、核酸塩基（当該技術分野では単に「塩基」と称されることが多い）代替物（例えば、修飾物または置換物）を含み得る。非修飾または天然核酸塩基としては、プリン塩基のアデニン（A）及びグアニン（G）、ならびにピリミジン塩基のチミン（T）、シトシン（C）及びウラシル（U）が挙げられる。代替核酸塩基としては、他の合成及び天然核酸塩基、例えば、5-メチルシチジン、5-ヒドロキシメチルシチジン、5-ホルミルシチジン、5-カルボキシシチジン、ピロロシチジン、ジデオキシシチジン、ウリジン、5-メトキシウリジン、5-ヒドロキシデオキシウリジン、ジヒドロウリジン、4-チオウリジン、シュードウリジン、1-メチルシュードウリジン、デオキシウリジン、5-ヒドロキシブチニル-2'-デオキシウリジン、キサンチン、ヒポキサンチン、7-デアザキサンチン、チエノグアニン、8-アザ-7-デアザグアノシン、7-メチルグアノシン、7-デアザグアノシン、6-アミノメチル-7-デアザグアノシン、8-アミノグアニン、2,2,7-トリメチルグアノシン、8-メチルアデニン、8-アジドアデニン、7-メチルアデニン、7-デアザアデニン、3-デアザアデニン、2,6-ジアミノプリン、2-アミノプリン、7-デアザ-8-アザアデニン、8-アミノアデニン、チミン、ジデオキシチミン、5-ニトロインドール、2-アミノアデニン、アデニン及びグアニンの6-メチル及び他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの2-プロピル及び他のアルキル誘導体、2-チオウリジン、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-ハロウラシル及びシトシン、5-プロピニルウリジン及びシチジン、6-アゾウリジン、シチジン及びチミン、4-チオウリジン、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル及び他の8-置換アデニン及びグアニン、5-ハロ、特に5-ブロモ、5-トリフルオロメチル及び他の5-置換ウリジン及びシチジン、8-アザグアニン及び8-アザアデニン、ならびに3-デアザグアニンなどが挙げられる。さらなる核酸塩基としては、米国特許第3,687,808号に開示されるもの、Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008に開示されるもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L., ed. John Wiley & Sons, 1990に開示されるもの、Englisch et al., (1991) Angewandte Chemie, International Edi

tion, 30:613によって開示されるもの、及びSanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993によって開示されるものが挙げられる。これらの核酸塩基のいくつかは、オリゴヌクレオチドの結合親和性を増加させるのに特に有用である。これらとしては、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、ならびにN-2、N-6及びO-6置換プリン、例えば、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル、及び5-プロピニルシトシンを含むものが挙げられる。5-メチルシトシン置換は、核酸二本鎖安定性を0.6~1.2℃増加させることが示されていて(Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)、とりわけ、2'-O-メトキシエチル糖修飾と組み合わせられる場合に、例示的な塩基置換である。

10

【0155】

上記した代替核酸塩基のいくつかに加えて、他の代替核酸塩基の調製を教示する代表的な米国特許としては、上記した米国特許第3,687,808号、同第4,845,205号、同第5,130,30号、同第5,134,066号、同第5,175,273号、同第5,367,066号、同第5,432,272号、同第5,457,187号、同第5,459,255号、同第5,484,908号、同第5,502,177号、同第5,525,711号、同第5,552,540号、同第5,587,469号、同第5,594,121号、同第5,596,091号、同第5,614,617号、同第5,681,941号、同第5,750,692号、同第6,015,886号、同第6,147,200号、同第6,166,197号、同第6,222,025号、同第6,235,887号、同第6,380,368号、同第6,528,640号、同第6,639,062号、同第6,617,438号、同第7,045,610号、同第7,427,672号、及び同第7,495,088号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

20

【0156】

他の態様では、ヌクレオチド中の糖部分はリボース分子であり得、2'-O-メチル、2'-O-MOE、2'-F、2'-アミノ、2'-O-プロピル、2'-アミノプロピル、または2'-OH修飾を任意に有する。

【0157】

オリゴヌクレオチドは、1つ以上の二環式糖部分を含み得る。「二環式糖」は、2個の原子の架橋によって修飾されるフラノシル環である。「二環式ヌクレオシド」(「BNA」)は、糖環の2個の炭素原子を連結させる架橋を含む糖部分を有し、それによって二環式環系を形成するヌクレオシドである。いくつかの態様では、架橋は、糖環の4'-炭素と2'-炭素とを連結させる。したがって、いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、1個以上のロックドヌクレオシドを含み得る。ロックドヌクレオシドは修飾リボース部分を有するヌクレオシドであり、その場合にリボース部分は、2'炭素と4'炭素とを連結させる追加の架橋を含む。言い換えれば、ロックドヌクレオシドは、4'-CH₂-O-2'架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオシドである。本構造は、3'-エンド構造立体配座中のリボースを効果的に「ロック」する。オリゴヌクレオチドへのロックドヌクレオシドの付加は、血清中のオリゴヌクレオチド安定性を高め、オフターゲット効果を減少させることが示されている(Grunweller, A. et al., (2003) Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193)。ポリヌクレオチドに使用するための二環式ヌクレオシドの例としては、4'リボシル環原子と2'リボシル環原子との間に架橋を含むヌクレオシドが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの態様では、ポリヌクレオチド剤は、4'~2'架橋を含む1個以上の二環式ヌクレオシドを含む。そのような4'~2'の架橋二環式ヌクレオシドの例としては、4'-(CH₂)-O-2'(LNA)、4'-(CH₂)-S-2'、4'-(CH₂)₂-

40

50

O-2' (ENA)、4'-CH(C₃H)₇-O-2' (「拘束エチル」または「cEt」とも称される)ならびに4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (及びその類似体、例えば、米国特許第7,399,845号を参照のこと)、4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (及びその類似体、例えば、米国特許第8,278,283号を参照のこと)、4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (及びその類似体、例えば、米国特許第8,278,425号を参照のこと)、4'-CH₂-O-N(CH₃)₂-2' (例えば、米国特許公報第2004/0171570号を参照のこと)、4'-CH₂-N(R)-O-2' (式中、RがH、C₁~C₁₂アルキル、または保護基である) (例えば、米国特許第7,427,672号を参照のこと)、4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (例えば、Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134を参照のこと)、ならびに4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (及びその類似体、例えば、米国特許第8,278,426号を参照のこと)が挙げられるが、これらに限定されない。前述した特許の各々の内容全体が、参照によって本明細書に組み込まれる。

10

【0158】

ロックド核酸ヌクレオチドの調製を教示する追加の代表的な米国特許及び米国特許公報としては、次の米国特許第6,268,490号、同第6,525,191号、同第6,670,461号、同第6,770,748号、同第6,794,499号、同第6,998,484号、同第7,053,207号、同第7,034,133号、同第7,084,125号、同第7,399,845号、同第7,427,672号、同第7,569,686号、同第7,741,457号、同第8,022,193号、同第8,030,467号、同第8,278,425号、同第8,278,426号、同第8,278,283号、US2008/0039618、及びUS2009/0012281が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

20

【0159】

前述の二環式ヌクレオシドのいずれも、例えば、α-L-リボフラノース及びβ-D-リボフラノース(WO99/14226を参照のこと)を含む1つ以上の立体化学糖配置を有して調製され得る。

【0160】

オリゴヌクレオチドは、1個以上の拘束エチルヌクレオシドを含むように修飾され得る。本明細書で使用される場合、「拘束エチルヌクレオシド」または「cEt」は、4'-CH(CH₃)-O-2' 架橋を含む二環式糖部分を含むロックドヌクレオシドである。一態様では、拘束エチルヌクレオシドは、本明細書において「S-cEt」と称されるS立体配座である。

30

【0161】

オリゴヌクレオチドは、1個以上の「立体配座的に制限されたヌクレオシド」(「CRN」)を含み得る。CRNは、リボースのC2'及びC4'炭素またはリボースのC3及びC5'炭素を連結させるリンカーを有するヌクレオシド類似体である。CRNは、リボース環を安定した立体配座にロックし、mRNAに対するハイブリダイゼーション親和性を高める。リンカーは、安定性及び親和性を目的として酸素を最適な位置に配置するのに十分な長さのものであり、リボース環のパッカリング低下をもたらす。

40

【0162】

上記したCRNのいくつかの調製を教示する代表的な刊行物としては、米国特許公報第2013/0190383号、及びPCT公開WO2013/036868が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0163】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、UNA(アンロックドヌクレオシド)ヌクレオシドである1つ以上のモノマーを含む。UNAはアンロックド非環式ヌクレオシドであり、糖の結合のいずれかが除去されていて、アンロックされた「糖」残基を形成する

50

。一例では、UNAはまた、C1'～C4'間の結合（すなわち、C1'炭素とC4'炭素との間の共有炭素－酸素－炭素結合）が除去されているモノマーも包含する。別の例では、糖のC2'－C3'結合（すなわち、C2'炭素とC3'炭素との間の共有炭素－炭素結合）が除去されている（Nuc. Acids Symp. Series, 52, 133-134 (2008) 及び Fluiter et al., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039を参照し、参照によって本明細書に組み込まれる）。

【0164】

UNAの調製を教示する代表的な米国公報としては、米国特許第8,314,227号、ならびに米国特許公報第2013/0096289号、同第2013/0011922号、及び同第2011/0313020号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0165】

リボース分子は、シクロプロパン環で修飾されて、トリシクロデオキシ核酸（トリシクロDNA）を生成し得る。リボース部分は、1,5-アンヒドロヘキシトール、トレオスヌクレオシド（TNA）を生成するためのトレオース、またはアラビノヌクレオシドを生成するためのアラビノースなどの別の糖と置換され得る。リボース分子は、シクロヘキセンヌクレオシドを生成するためのシクロヘキセンまたはグリコールヌクレオシドを生成するためのグリコールなどの非糖で置換され得る。

【0166】

ヌクレオシド分子の末端に対する安定化修飾としては、可能性としてN-（アセチルアミノカプロイル）-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-C6-NHAc）、N-（カプロイル-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-C6）、N-（アセチル-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-NHAc）、チミジン-2'-O-デオキシチミジン（エーテル）、N-（アミノカプロイル）-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-C6-アミノ）、2-ドコサノイル-ウリジン-3','-ホスフェート、逆塩基dT（idT）などが挙げられ得る。本修飾の開示は、PCT公開第WO2011/005861号に見出され得る。

【0167】

オリゴヌクレオチドの他の代替化学としては、オリゴヌクレオチドの5'リン酸または5'リン酸模倣物、例えば、5'末端リン酸またはリン酸模倣物が挙げられる。好適なリン酸模倣物は、例えば、米国特許公報第2012/0157511号に開示され、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0168】

例示的なオリゴヌクレオチドは、代替糖部分を有するヌクレオシドを含み、DNAまたはRNAヌクレオシドを含み得る。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、代替糖部分を含むヌクレオシド及びDNAヌクレオシドを含む。オリゴヌクレオチド中への代替ヌクレオシドの組込みは、標的核酸に対するオリゴヌクレオチドの親和性を増強し得る。その場合、代替ヌクレオシドは、親和性増強代替ヌクレオチドと称され得る。

【0169】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1個の代替ヌクレオシド、例えば、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個または少なくとも16個などの代替ヌクレオシドを含む。他の態様では、オリゴヌクレオチドは、1～10個の代替ヌクレオシド、例えば、2～9個の代替ヌクレオシドなど、3～8個の代替

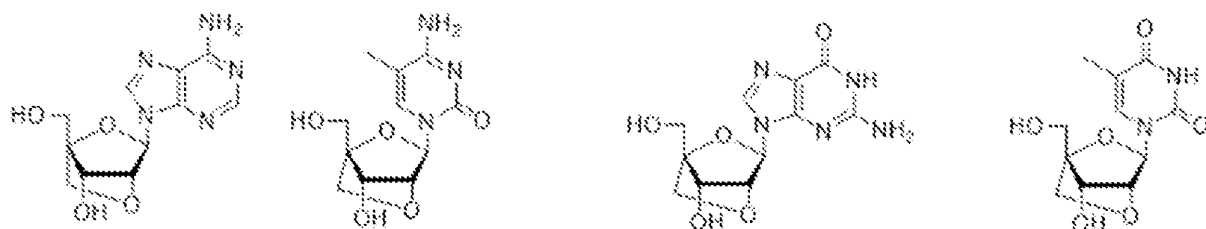
A-LNA 5mC-LNA G-LNA T-LNA

ヌクレオシドなど、4～7個の代替ヌクレオシドなど、6個または7個の代替ヌクレオシドなどを含む。一態様では、オリゴヌクレオチドは代替物を含み得、それらは、これらの3種類の代替物（代替糖部分、代替核酸塩基、及び代替ヌクレオシド間結合）、またはそ

これらの組合せから独立して選択される。一態様では、オリゴヌクレオチドは、代替糖部分を含む1個以上のヌクレオシド、例えば、2'糖代替ヌクレオシドを含む。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、2'-O-アルキル-RNA、2'-O-メチル-RNA、2'-アルコキシ-RNA、2'-O-メトキシエチル-RNA、2'-アミノ-DNA、2'-フルオロ-DNA、アラビノ核酸(ANA)、2'-フルオロ-ANA、及びBNA(例えば、LNA)ヌクレオシドからなる群から独立して選択される1個以上の2'糖代替ヌクレオシドを含む。LNAの例示的な構造は、以下の通りである：

【0170】

【化1】



10

【0171】

いくつかの態様では、1個以上の代替ヌクレオシドがBNAである。

【0172】

いくつかの態様では、代替ヌクレオシドの少なくとも1個がBNA(例えば、LNA(例えば、A-LNA、5mC-LNA、G-LNA、T-LNA))であり、例えば、代替ヌクレオシドの少なくとも2個など、例えば、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、または少なくとも8個などがBNAである。よりさらなる態様では、全ての代替ヌクレオシドがBNAである。

20

【0173】

さらなる態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合を含む。いくつかの態様では、隣接するヌクレオチド配列内のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートまたはボロノホスフェートヌクレオチド間結合である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドの隣接配列中における全てのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である。いくつかの態様では、ホスホロチオエート結合は、立体化学的に純粋なホスホロチオエート結合である。いくつかの態様では、ホスホロチオエート結合は、Spホスホロチオエート結合である。他の態様では、ホスホロチオエート結合は、Rpホスホロチオエート結合である。

30

【0174】

いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、2'-MOE-RNAである少なくとも1個の代替ヌクレオシド、例えば、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個などの2'-MOE-RNAヌクレオチド単位を含む。いくつかの態様では、2'-MOE-RNAヌクレオチド単位は、ホスホロチオエート結合によって連結される。いくつかの態様では、該代替ヌクレオチドの少なくとも1個が、2'-フルオロ-DNA(2'-デオキシ、2'-フルオロ-DNAとしても知られる)、例えば、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個などの2'-フルオロ-DNAヌクレオチド単位である。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1個のBNA単位及び少なくとも1個の2'置換修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、2'糖修飾ヌクレオチド及びDNA単位の両方を含む。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドまたはその隣接するヌクレオチド領域は、ギャップマーオリゴヌクレオチドである。

40

【0175】

B. リガンドに複合化されるオリゴヌクレオチド

オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、または細胞取込みを増

50

強する1つ以上のリガンド、部分、または複合体に化学的に連結され得る。そのような部分としては、脂質部分、例えば、コレステロール部分 (Letsinger et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., (1994) Biorg. Med. Chem. Lett., 4:1053-1060)、チオエーテル、例えば、ベリル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., (1992) Ann. N. Y. Acad. Sci., 660:306-309、Manoharan et al., (1993) Biorg. Med. Chem. Lett., 3:2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., (1992) Nucl. Acids Res., 20:533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., (1991) EMBO J, 10:1111-1118、Kabanov et al., (1990) FEBS Lett., 259:327-330、Svinarchuk et al., (1993) Biochimie, 75:49-54)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチル-アンモニウム1, 2-ジオ-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-ホスホネート (Manoharan et al., (1995) Tetrahedron Lett., 36:3651-3654、Shea et al., (1990) Nucl. Acids Res., 18:3777-3783)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., (1995) Nucleosides & Nucleotides, 14:969-973)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., (1995) Tetrahedron Lett., 36:3651-3654)、パルミチル部分 (Mishra et al., (1995) Biochim. Biophys. Acta 1264:229-237)、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニルオキシコレステロール部分 (Crooke et al., (1996) J. Pharmacol. Exp. Ther., 277:923-937)などが挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0176】

一態様では、リガンドは、それが組み込まれるオリゴヌクレオチド剤の分布、標的化、または寿命を変化させる。いくつかの態様では、リガンドは、例えば、そのようなリガンドが存在しない種と比較した場合に、選択された標的、例えば、分子、細胞もしくは細胞型、コンパートメント、例えば、細胞もしくは器官のコンパートメント、組織、器官、または体の部位に対して親和性増強をもたらす。

【0177】

リガンドとしては、天然に存在する物質、例えば、タンパク質 (例えば、ヒト血清アルブミン (HSA)、低密度リポタンパク質 (LDL)、もしくはグロブリン)、炭水化物 (例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリン、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、もしくはヒアルロン酸)、または脂質などが挙げられ得る。リガンドは、組換えまたは合成分子、例えば、合成ポリマー、例えば、合成ポリアミノ酸などであり得る。ポリアミノ酸の例としては、ポリリジン (PLL)、ポリL-アスパラギン酸、ポリL-グルタミン酸、スチレン-無水マレイン酸コポリマー、ポリ(L-ラクチド-co-グリコリド)コポリマー、ジビニルエーテル-無水マレイン酸コポリマー、N-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミドコポリマー (HMPA)、ポリエチレングリコール (PEG)、ポリビニルアルコール (PVA)、ポリウレタン、ポリ(2-エチルアクリル酸)、N-イソプロピルアクリルアミドポリマー、またはポリホスファジンであるポリアミノ酸が挙げられる。ポリアミンの例としては、ポリエチレンジアミン、ポリリジン (PLL)、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、シュードペプチド-ポリアミン、ペプチド模倣ポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポリフィリン、ポリアミンの第四級塩、またはアルファヘリックスペプチドが挙げられる。

【0178】

リガンドは、腎臓細胞などの特定の細胞型に結合する標的化基、例えば、細胞または組織標的化剤、例えば、レクチン、糖タンパク質、脂質またはタンパク質、例えば、抗体を含み得る。標的化基は、チロトロピン、メラノトロピン、レクチン、糖タンパク、サーファクタントタンパク質A、ムチン炭水化物、多価ラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-グルコサミン多価マンノース、多価フコース、グリコシル化ポリアミノ酸、多価ガラクトース、トランスフェリン、ビスホスホネート、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、脂質、コレステロール、ステロイド、胆汁酸、葉酸、ビタミンB12、ビタミンA、ビオチン、またはRGDペプチドもしくはRGDペプチド模倣物であり得る。

10

【0179】

リガンドの他の例としては、色素、挿入剤（例えば、アクリジン）、架橋剤（例えば、ソラレン、マイトマイシンC）、ポルフィリン（TPPC4、テキサフィリン、サフィリン）、多環芳香族炭化水素（例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン）、人工エンドヌクレアーゼ（例えば、EDTA）、親油性分子、例えば、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、1-ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、1,3-ビス-O（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、1,3-プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、O3-（オレオイル）リトコール酸、O3-（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル、もしくはフェノキサジン）及びペプチド複合体（例えば、アンテナペディペプチド、Tatペプチド）、アルキル化剤、リン酸塩、アミノ、メルカプト、PEG（例えば、PEG-40K）、MPEG、[MPEG]₂、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射性標識マーカー、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進剤（例えば、アスピリン、ビタミンE、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ（例えば、イミダゾール、ビスイミダゾール、ヒスタミン、イミダゾールクラスター、アクリジン-イミダゾール複合体、テトラアザ大環状分子のEu3+錯体）、ジニトロフェニル、HRP、またはAPが挙げられる。

20

【0180】

リガンドは、タンパク質、例えば、糖タンパク質、またはペプチド、例えば、共リガンドに対して特異的親和性を有する分子、または抗体、例えば、肝細胞などの特定の細胞型に結合する抗体であり得る。リガンドとしては、ホルモン及びホルモン受容体が挙げられ得る。それらとしては、非ペプチド種、例えば、脂質、レクチン、炭水化物、ビタミン、補因子、多価ラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-グルコサミン、多価マンノース、または多価フコースなどが挙げられ得る。

30

【0181】

リガンドは物質、例えば、薬物であり得、これは細胞中へのオリゴヌクレオチド剤の取込みを、例えば、細胞の細胞骨格を破壊することによって、例えば、細胞の微小管、マイクロフィラメント、及び／または中間径フィラメントを破壊することによって増加させ得る。薬物は、例えば、タキソン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、サイトカラシン、ノコダゾール、ジャブラキノリド、ラトランクリンA、ファロイジン、スウィンホリドA、インダノシン、またはミオセルビンであり得る。

40

【0182】

いくつかの態様では、本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチドに結合したリガンドは、薬物動態モジュレーター（PKモジュレーター）として機能する。PKモジュレーターとしては、親油性物質、胆汁酸、ステロイド、リン脂質類似体、ペプチド、タンパク質結合剤、PEG、ビタミンなどが挙げられる。例示的なPKモジュレーターとしては、コレステロール、脂肪酸、コール酸、リトコール酸、ジアルキルグリセリド、ジアシルグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、ナプロキセン、イブプロフェン、ビタミンE、ビオチンなどが挙げられるが、これらに限定されない。多数のホスホロチオエート結合を含むオリゴヌクレオチドは、血清タンパク質に結合することも知られていて、それゆえ、

50

骨格中に複数のホスホロチオエート結合を含む、短オリゴヌクレオチド、例えば、約 5 塩基、10 塩基、15 塩基、または 20 塩基のオリゴヌクレオチドも、リガンドとして（例えば、PK 調節リガンドとして）適している。加えて、血清成分（例えば、血清タンパク質）と結合するアプタマーもまた、本明細書に記載される態様において PK 調節リガンドとしての使用に好適である。

【0183】

リガンド複合化オリゴヌクレオチドは、ペンダント反応性官能基を有するオリゴヌクレオチド、例えば、オリゴヌクレオチド上への連結分子の結合から得られるもの（以下に記載される）などの使用によって合成され得る。この反応性オリゴヌクレオチドは、市販のリガンド、様々な保護基のいずれかを有する合成されたリガンド、またはリガンドに結合した連結部分を有するリガンドと直接反応し得る。

10

【0184】

複合体に使用されるオリゴヌクレオチドは、固相合成の周知の技術によって簡便かつ日常的に作製され得る。そのような合成用の装置は、例えば、Applied Biosystems (Foster City, Calif.) を含むいくつかの供給業者によって販売されている。当該技術分野において既知のそのような合成を目的とした任意の他の手段が追加で、または代わりに用いられ得る。同様の技術を使用して、ホスホロチオエート及びアルキル化誘導体などの他のオリゴヌクレオチドを調製することも知られている。

【0185】

リガンド複合化オリゴヌクレオチド、例えば、配列特異的連結ヌクレオシドを有するリガンド分子などでは、オリゴヌクレオチド及びオリゴヌクレオシドは、標準的なヌクレオチドもしくはヌクレオシド前駆体、またはすでに連結部分を有しているヌクレオチドもしくはヌクレオシド複合体前駆体、すでにリガンド分子を有しているリガンドーヌクレオチドもしくはヌクレオシド複合体前駆体、または非ヌクレオシドリガンド担持構成要素を利用して好適な DNA 合成装置上で組み立てられ得る。

20

【0186】

すでに連結部分を有している複合体前駆体を使用する場合、配列特異的連結ヌクレオシドの合成は通常完了し、次いでリガンド分子が連結部分と反応してリガンド複合化オリゴヌクレオチドを形成する。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドまたは連結ヌクレオシドは、市販され、オリゴヌクレオチド合成において日常的に使用されている標準的なホスホロアミダイト及び非標準的なホスホロアミダイトに加えて、リガンドーヌクレオシド複合体から得られるホスホロアミダイトを使用して、自動合成装置によって合成される。

30

【0187】

i. 脂質複合体

一態様では、リガンドまたは複合体は、脂質または脂質ベースの分子である。そのような脂質または脂質ベースの分子は、血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン (HSA) と結合し得る。HSA 結合リガンドは、標的組織、例えば、体内の非腎臓標的組織への複合体の分布を可能にする。脂質または脂質ベースのリガンドは、(a) 複合体の耐分解性を増加させ得る、(b) 標的細胞もしくは細胞膜への標的化もしくは輸送を増加させ得る、及び／または (c) 血清タンパク質、例えば、HSA への結合を調整するために使用され得る。

40

【0188】

別の態様では、リガンドは部分、例えば、ビタミンであり、これは標的細胞、例えば、増殖性細胞によって取り込まれる。例示的なビタミンとしては、ビタミン A、E、及び K が挙げられる。

【0189】

ii. 細胞透過剤

別の態様では、リガンドは、細胞透過剤、例えば、らせん状の細胞透過剤などである。一態様では、薬剤は両親媒性ある。例示的な薬剤は、tat またはアンテナペディアなどのペプチドである。薬剤がペプチドである場合、それは修飾され得、ペプチジル模倣物、

50

逆転異性体、非ペプチドまたはシュードペプチド結合、及びD-アミノ酸の使用を含む。一態様では、ヘリックス剤は、アルファヘリックス剤であり、これは親油性及び疎油性相を有し得る。

【0190】

リガンドは、ペプチドまたはペプチド模倣物であり得る。ペプチド模倣物（本明細書ではオリゴペプチド模倣物とも称される）は、天然ペプチドと同様の定義された3次元構造に折り畳みできる分子である。オリゴヌクレオチド剤へのペプチド及びペプチド模倣物の結合は、細胞の認識及び吸収を増強することなどによって、オリゴヌクレオチドの薬物動態分布に影響を及ぼし得る。ペプチドまたはペプチド模倣物部分は、約5～50個のアミノ酸長、例えば、約5個、10個、15個、20個、25個、30個、35個、40個、45個、または50個のアミノ酸長であり得る。

10

【0191】

ペプチドまたはペプチド模倣物は、例えば、細胞透過性ペプチド、カチオン性ペプチド、両親媒性ペプチド、または疎水性ペプチド（例えば、主にTyr、Trp、もしくはPheからなる）であり得る。ペプチド部分は、デンドリマーペプチド、拘束ペプチドまたは架橋ペプチドであり得る。別の代替案では、ペプチド部分は、疎水性膜移行配列（MTS）を含み得る。例示的な疎水性MTS含有ペプチドは、アミノ酸配列AAVALLPAAVLLALLAPを有するRFGFである。疎水性MTSを含有するRFGF類似体（例えば、アミノ酸配列AALLPVLLAAP）は、標的化部分であり得る。ペプチド部分は「送達」ペプチドであり得、これはペプチド、オリゴヌクレオチド、及びタンパク質を含む大きな極性分子を、細胞膜を横断して運ぶことができる。例えば、HIV Tatタンパク質（GRKKRRQRRRPQ）及びDrosophilaアンテナペディアンパク質（RQIKIWFQNRRMKWKK）に由来する配列が、送達ペプチドとして機能できることが分かっている。ペプチドまたはペプチド模倣物は、DNAのランダム配列によってコードされる、例えば、ファージディスプレイライブラリー、または1ピーズ1化合物（OBOC）コンビナトリアルライブラリー（Lam et al., Nature, 354:82-84, 1991）から同定されるペプチドなどであり得る。細胞標的化の目的で組み込まれたモノマー単位によってオリゴヌクレオチド剤につながれたペプチドまたはペプチド模倣物の例は、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸（RGD）-ペプチド、またはRGD模倣物である。ペプチド部分は、長さが約5個のアミノ酸～約40個のアミノ酸の範囲であり得る。ペプチド部分は、安定性を増加させるか、または立体配座特性を誘導するなどのために構造修飾を有し得る。以下に記載される構造修飾のいずれも、利用され得る。

20

30

【0192】

組成物及び方法に使用するためのRGDペプチドは、直鎖状または環状であり得、特定の組織（複数可）に対する標的化を促進するために修飾、例えば、グリコシル化またはメチル化され得る。RGD含有ペプチド及びペプチド模倣物は、D-アミノ酸に加えて、合成RGD模倣物を含み得る。RGDに加えて、インテグリンリガンドを標的とする他の部分を使用し得る。このリガンドのいくつかの複合体は、PECAM-1またはVEGFを標的とする。

40

【0193】

細胞透過性ペプチドは、細胞、例えば、微生物細胞、例えば、細菌もしくは真菌細胞など、または哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞などを透過できる。微生物細胞透過性ペプチドは、例えば、 α -ヘリックス直鎖ペプチド（例えば、LL-37もしくはセクロピンP1）、ジスルフィド結合含有ペプチド（例えば、 α -デフェンシン、 β -デフェンシン、もしくはバクテネシン）、または1個もしくは2個の主要なアミノ酸のみを含有するペプチド（例えば、PR-39もしくはインドリシジン）であり得る。細胞透過性ペプチドは、核局在化シグナル（NLS）を含み得る。例えば、細胞透過性ペプチドは、MPGなどの2部構成の両親媒性ペプチドであり得、MPGはHIV-1 gp41の融合ペプチドドメイン及びSV40ラージT抗原のNLSから得られる（Simeoni et al.

50

., Nucl. Acids Res. 31: 2717-2724, 2003)。

【0194】

i i i . 炭水化物複合体

本明細書に記載される組成物及び方法のいくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは炭水化物をさらに含む。炭水化物複合化オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載されるように、核酸のインビボ送達に加えて、インビボでの治療用途に好適な組成物に有利である。本明細書で使用される場合、「炭水化物」は、各炭素原子に結合した酸素、窒素もしくは硫黄原子を有する少なくとも6個の炭素原子（これは直鎖状、分岐状もしくは環状であり得る）を有する1つ以上の単糖単位から構成される炭水化物自体である化合物、または各炭素原子に結合した酸素、窒素もしくは硫黄原子を有する、少なくとも6個の炭素原子（これは直鎖状、分岐状もしくは環状であり得る）を有する1つ以上の単糖単位の各々から構成される炭水化物部分を、それらの一部として有する化合物のいずれかを指す。代表的な炭水化物としては、糖（約4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、または9つの単糖単位を含有する単糖、二糖、三糖及びオリゴ糖）、ならびに多糖、例えば、デンプン、グリコーゲン、セルロース及び多糖ゴムなどが挙げられる。特定の単糖としては、C5以上（例えば、C5、C6、C7、またはC8）の糖が挙げられ、二糖及び三糖としては、2つまたは3つの単糖単位を有する糖（例えば、C5、C6、C7、またはC8）が挙げられる。

【0195】

一態様では、本明細書に記載される組成物及び方法に使用するための炭水化物複合体は、単糖である。

【0196】

いくつかの態様では、炭水化物複合体は、上に記載されるような1つ以上の追加のリガンド、例えば、これらに限定されないが、PKモジュレーター及び／または細胞透過性ペプチドなどをさらに含む。

【0197】

使用に好適な追加の炭水化物複合体（及びリンカー）としては、PCT公開第WO2014/179620号及び同第WO2014/179627号に記載されているものが挙げられ、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0198】

i v . リンカー

いくつかの態様では、本明細書に記載される複合体またはリガンドは、切断可能または切断不可能であり得る様々なリンカーを用いてオリゴヌクレオチドに結合され得る。

【0199】

リンカーは通常、直接結合または原子、例えば、酸素または硫黄など、単位、例えば、NR⁸、C(O)、C(O)NH、SO、SO₂、SO₂NHなど、または原子鎖、例えば、これらに限定されないが、置換または非置換アルキル、置換または非置換アルケニル、置換または非置換アルキニル、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールアルキニル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルアルケニル、ヘテロシクリルアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アルキルアリールアルキル、アルキルアリールアルケニル、アルキルアリールアルキニル、アルケニルアリールアルキル、アルケニルアリールアルケニル、アルケニルアリールアルキニル、アルキニルアリールアルキル、アルキニルアリールアルケニル、アルキニルアリールアルキニル、アルキルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロアリールアルケニル、アルキルヘテロアリールアルキニル、アルケニルヘテロアリールアルキル、アルケニルヘテロアリールアルケニル、アルケニルヘテロアリールアルキニル、アルキニルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロシクリルアルキル、アルキルヘテロシクリルアルケニル、アルキルヘテロシクリルアルキニル、アルケニルヘテロシクリルアルキル、アルケニルヘテロシクリルアルケニル、アルケニルヘテロシクリルアルキニル、アルキニルヘテロシクリルアル

キル、アルキニルヘテロシクリルアルケニル、アルキニルヘテロシクリルアルキニル、アルキルアリール、アルケニルアリール、アルキニルアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニルヘテロアリール、アルキニルヘテロアリールなどを含み、その1つ以上のメチレンが、O、S、S(O)、SO₂、N(R⁸)、C(O)、置換または非置換アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換複素環式(式中、R⁸が水素、アシル、脂肪族または置換脂肪族である)によって割り込み、または終結され得る。一態様では、リンカーは、約1~24、2~24、3~24、4~24、5~24、6~24、6~18、7~18、8~18、7~17、8~17、6~16、7~17、8~16個または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、21、22、23、もしくは24個の原子である。
【0200】

10

切断可能な連結基は、細胞の外側で十分に安定しているが、標的細胞中に侵入すると切断されて、リンカーと一緒に保持している2つの部分を放出する連結基である。いくつかの態様では、切断可能な連結基は、対象の血中、または第2参照条件下(これは例えば、血中もしくは血清中で見られる条件を模倣する、もしくは表すように選択され得る)よりも、標的細胞中または第1参照条件下(これは例えば、細胞内条件を模倣する、もしくは表すように選択され得る)で、少なくとも10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、もしくはそれを超えて、または少なくとも100倍速く切断される。

【0201】

20

切断可能な連結基は、切断剤、例えば、pH、酸化還元電位、または分解性分子の存在の影響を受けやすい。一般に、切断剤は、血清または血中よりも細胞内部により行き渡っているか、またはより高いレベルもしくは活性で見られる。そのような分解剤の例としては、特定の基質に対して選択的であるか、または基質特異性を全く有しない酸化還元剤、例えば、酸化もしくは還元酵素または還元剤、例えば、還元によって酸化還元切断可能な連結基を分解し得る、細胞中に存在するメルカプタンなどを含むもの、エステラーゼ、酸性環境を引き起こし得るエンドソームまたは薬剤、例えば、5以下のpHをもたらすもの、一般酸、ペプチダーゼ(これは基質特異的であり得る)、及びホスファターゼとして機能することによって、酸切断可能な連結基を加水分解または分解し得る酵素が挙げられる。

30

【0202】

切断可能な連結基、例えば、ジスルフィド結合などは、pHの影響を受けやすい可能性がある。ヒト血清のpHは7.4である一方で、平均細胞内pHはわずかに低く、約7.1~7.3の範囲である。エンドソームはより酸性のpHを有し、その範囲は5.5~6.0であり、リソソームはおよそ5.0のより一層酸性なpHを有する。いくつかのリンカーは、好ましいpHで切断される切断可能な連結基を有し、切断されることで細胞内部のリガンドから、または細胞の所望のコンパートメント中にカチオン性脂質を放出することになる。

【0203】

リンカーは、特定の酵素によって切断可能である切断可能な連結基を含み得る。リンカー中に組み込まれる切断可能な連結基の種類は、標的とされる細胞に依存し得る。例えば、肝臓を標的とするリガンドは、エステル基を含むリンカーを介してカチオン性脂質に連結され得る。肝臓細胞はエステラーゼが豊富であるため、リンカーはエステラーゼが豊富ではない細胞型におけるよりも、肝臓細胞中でより効率的に切断されることになる。エステラーゼが豊富な他の細胞型としては、肺、腎皮質、及び精巣の細胞が挙げられる。

40

【0204】

ペプチド結合を含有するリンカーは、ペプチダーゼが豊富な細胞型、例えば、肝臓細胞及び滑膜細胞などを標的とする場合に使用され得る。

【0205】

一般に、切断可能な候補連結基の適合性は、候補連結基を切断する分解剤の能力(また

50

は条件)を試験することによって評価され得る。血中で、または他の非標的組織と接触する場合の切断に抵抗する能力について、切断可能な候補連結基を試験することも望ましいことになる。したがって、少なくとも2つの条件間で切断に対する相対的感受性を決定することができ、その場合に、少なくとも1つの条件が標的細胞中における切断を示すように選択され、別の条件が他の組織または生体液、例えば、血液または血清中における切断を示すように選択される。評価は、無細胞系で、細胞中で、細胞培養下で、臓器もしくは組織培養下で、または動物全体で実施され得る。無細胞または培養条件で初期評価を行い、動物全体でさらに評価することによって確認することが有用であり得る。いくつかの態様では、有用な候補化合物は、血液もしくは血清(または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下)と比較した場合に、細胞中(または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下)で少なくとも2倍、4倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍速く切断される。

10

【0206】

a. 酸化還元切断可能な連結基

一態様では、切断可能な連結基は、還元または酸化時に切断される酸化還元切断可能な連結基である。還元的に切断可能な連結基の例は、ジスルフィド連結基(—S—S—)である。切断可能な候補連結基が好適な「還元的に切断可能な連結基」であるか、または例えば、特定のオリゴヌクレオチド部分及び特定の標的化剤と共に使用するのに適しているかどうかを決定するために、本明細書に記載される方法を用いることができる。例えば、候補は、ジチオスレイトール(DTT)との、または細胞、例えば、標的細胞中で観察されることになる切断速度を模倣する、当該技術分野において既知の試薬を使用する他の還元剤とのインキュベーションによって評価され得る。候補は、血液または血清条件を模倣するように選択された条件下で評価され得る。一態様では、候補化合物は、血中において最大で約10%切断される。他の態様では、有用な候補化合物は、血液(または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下)と比較した場合に、細胞中(または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下)で少なくとも2倍、4倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍速く分解される。候補化合物の切断速度は、細胞内媒体を模倣するように選択された条件下で標準的な酵素反応速度論アッセイを使用して決定され、細胞外媒体を模倣するように選択された条件と比較され得る。

20

30

【0207】

b. リン酸ベースの切断可能な連結基

別の態様では、切断可能なリンカーは、リン酸ベースの切断可能な連結基を含む。リン酸ベースの切断可能な連結基は、リン酸基を分解または加水分解する薬剤によって切断される。細胞中のリン酸基を切断する薬剤の例は、細胞中のホスファターゼなどの酵素である。リン酸ベースの連結基の例は、O—P(O)(OR^k)—O—、—O—P(S)(OR^k)—O—、—O—P(S)(SR^k)—O—、—S—P(O)(OR^k)—O—、—O—P(O)(OR^k)—S—、—S—P(O)(OR^k)—S—、—O—P(S)(OR^k)—S—、—S—P(S)(OR^k)—O—、—O—P(O)(R^k)—O—、—O—P(S)(R^k)—O—、—S—P(O)(R^k)—O—、—S—P(S)(R^k)—O—、—S—P(O)(R^k)—S—、—O—P(S)(R^k)—S—である。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。

40

【0208】

c. 酸切断可能な連結基

別の態様では、切断可能なリンカーは、酸切断可能な連結基を含む。酸切断可能な連結基は、酸性条件下で切断される連結基である。いくつかの態様では、酸切断可能な連結基は、約6.5以下(例えば、約6.0、5.75、5.5、5.25、5.0、もしくはそれ未満)のpHを有する酸性環境中において、または一般酸として機能し得る酵素などの薬剤によって切断される。細胞中では、特定の低pH細胞小器官、例えば、エンドソーム及びリソソームなどが、酸切断可能な連結基に切断環境を提供し得る。酸切断可能な連

50

結基の例としては、ヒドラゾン、エステル、及びアミノ酸のエステルが挙げられるが、これらに限定されない。酸切断可能な基は、一般式 $-C \equiv N N-$ 、 $C(O)O$ 、または $-OC(O)$ を有し得る。一態様では、エステルの酸素に結合した炭素（アルコキシ基）が、アリール基、置換アルキル基、または三級アルキル基、例えば、ジメチルペンチルもしくは α -ブチルなどである。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。

【0209】

d. エステルベースの連結基

別の態様では、切断可能なリンカーは、エステルベースの切断可能な連結基を含む。エステルベースの切断可能な連結基は、細胞中のエステラーゼ及びアミダーゼなどの酵素によって切断される。エステルベースの切断可能な連結基の例としては、アルキレン基、アルケニレン基及びアルキニレン基のエステルが挙げられるが、これらに限定されない。エステル切断可能な連結基は、一般式 $-C(O)O-$ 、または $-OC(O)-$ を有する。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。

【0210】

e. ペプチドベースの切断基

さらに別の態様では、切断可能なリンカーは、ペプチドベースの切断可能な連結基を含む。ペプチドベースの切断可能な連結基は、細胞中のペプチダーゼ及びプロテアーゼなどの酵素によって切断される。ペプチドベースの切断可能な連結基は、アミノ酸間で形成されるペプチド結合であり、オリゴペプチド（例えば、ジペプチド、トリペプチドなど）及びポリペプチドを生成する。ペプチドベースの切断可能な基は、アミド基（ $-C(O)NH-$ ）を含まない。アミド基は、任意のアルキレン、アルケニレン、またはアルキニレン間で形成され得る。ペプチド結合は、アミノ酸間で形成される特殊な種類のアミド結合であり、ペプチド及びタンパク質を生成する。ペプチドベースの切断基は一般に、ペプチド及びタンパク質を生成する、アミノ酸間で形成されるペプチド結合（すなわち、アミド結合）に限定され、アミド官能基全体を含む訳ではない。ペプチドベースの切断可能な連結基は、一般式 $-NHCHR^A C(O)NHCHR^B C(O)-$ を有し、式中、 R^A 及び R^B は2個の隣接アミノ酸のR基である。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。

【0211】

一態様では、オリゴヌクレオチドは、リンカーを介して炭水化物に複合化される。リンカーは、二価及び三価の分岐リンカー基を含む。オリゴヌクレオチド炭水化物複合体のリンカーとしては、PCT公開第WO2018/195165号の式24～35に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0212】

オリゴヌクレオチド複合体の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第4,828,979号、同第4,948,882号、同第5,218,105号、同第5,525,465号、同第5,541,313号、同第5,545,730号、同第5,552,538号、同第5,578,717号、同第5,580,731号、同第5,591,584号、同第5,109,124号、同第5,118,802号、同第5,138,045号、同第5,414,077号、同第5,486,603号、同第5,512,439号、同第5,578,718号、同第5,608,046号、同第4,587,044号、同第4,605,735号、同第4,667,025号、同第4,762,779号、同第4,789,737号、同第4,824,941号、同第4,835,263号、同第4,876,335号、同第4,904,582号、同第4,958,013号、同第5,082,830号、同第5,112,963号、同第5,214,136号、同第5,082,830号、同第5,112,963号、同第5,214,136号、同第5,245,022号、同第5,254,469号、同第5,258,506号、同第5,262,536号、同第5,272,250号、同第5,292,873号、同第5,317,098号、同第5,371,241号、同第5,391,723号、同第5,

416, 203号、同第5, 451, 463号、同第5, 510, 475号、同第5, 512, 667号、同第5, 514, 785号、同第5, 565, 552号、同第5, 567, 810号、同第5, 574, 142号、同第5, 585, 481号、同第5, 587, 371号、同第5, 595, 726号、同第5, 597, 696号、同第5, 599, 923号、同第5, 599, 928号及び同第5, 688, 941号、同第6, 294, 664号、同第6, 320, 017号、同第6, 576, 752号、同第6, 783, 931号、同第6, 900, 297号、同第7, 037, 646号、同第8, 106, 022号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0213】

所与の化合物における全ての位置が一様に修飾される必要はなく、実際には上述した修飾のうち2つ以上が、単一化合物内に、またはさらにオリゴヌクレオチド内の単一ヌクレオチドに組み込まれ得る。キメラ化合物であるオリゴヌクレオチド化合物もまた、企図される。キメラオリゴヌクレオチドは通常、ヌクレアーゼ分解に対する抵抗性の増加、細胞取込みの増加、及び／または標的核酸に対する結合親和性の増加をオリゴヌクレオチドに付与するためにRNAが修飾される、少なくとも1つの領域を含有する。オリゴヌクレオチドの追加の領域は、RNA:DNAを切断できる酵素のための基質として機能し得る。例として、RNase Hは、RNA:DNA二本鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼである。したがって、RNase Hの活性化はRNA標的の切断をもたらす、それによって遺伝子発現のオリゴヌクレオチド阻害の効率を大幅に向上させる。結果として、同じ標的領域にハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシオリゴヌクレオチドと比較して、キメラオリゴヌクレオチドが使用される場合、より短いオリゴヌクレオチドで同等の結果が、多くの場合に得られ得る。RNA標的の切断は、ゲル電気泳動及び必要に応じて、当該技術分野において既知の関連する核酸ハイブリダイゼーション技術によって日常的に検出され得る。

【0214】

ある特定の場合では、オリゴヌクレオチドのヌクレオチドは、非リガンド基によって修飾され得る。多数の非リガンド分子が、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、または細胞取込みを増強するためにオリゴヌクレオチドに複合化されていて、そのような複合化を実施するための手順は、科学文献で利用可能である。そのような非リガンド部分としては、脂質部分、例えば、コレステロール (Kubo, T. et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365 (1): 54-61、Letsinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86: 6553)、コール酸 (Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4: 1053)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1992, 660: 306、Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3: 2765)、チオコレステロール (Oberhauser et al., *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20: 533)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., *EMBO J.*, 1991, 10: 111、Kabanov et al., *FEBS Lett.*, 1990, 259: 327、Svinarchuk et al., *Biochimie*, 1993, 75: 49)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム1, 2-ジ-0-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36: 3651、Shea et al., *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18: 3777)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14: 969)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., *Tetrahe*

10

20

30

40

50

dron Lett., 1995, 36:3651)、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229)、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノカルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923) などが挙げられている。そのようなオリゴヌクレオチド複合体の調製を教示する代表的な米国特許は、上に列挙されている。典型的な複合化プロトコルは、配列の1つ以上の位置にアミノリンカーを有するオリゴヌクレオチドの合成を含む。次いで、アミノ基が、適切なカップリングまたは活性化試薬を使用して、複合化されている分子と反応する。複合化反応は、オリゴヌクレオチドが依然として固体支持体に結合している状態で、またはオリゴヌクレオチド切断後の溶液相中におけるいずれかで実施され得る。HPLCによるオリゴヌクレオチド複合体の精製は通常、純粋な複合体を提供する。

10

【0215】

I V . 医薬用途

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩、組成物は、本明細書に記載される方法において有用であり、理論に束縛されるものではないが、例えば、哺乳動物の細胞におけるMSH3タンパク質の活性またはレベルを阻害することによって、MSH3を含むMutSβヘテロ二量体のレベル、状態、及び／または活性を調節するそれらの能力によって、それらの望ましい効果を発揮すると考えられている。

20

【0216】

一態様は、DNAミスマッチ修復に関連する障害、例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）などを、その治療を必要とする対象において治療する方法に関する。別の態様は、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を有すると同定される対象の細胞内でMSH3のレベルを減少させることを含む。さらに、別の態様は、対象の細胞内でMSH3の発現を阻害する方法を含む。さらなる態様は、細胞内のヌクレオチドリピート伸長を減少させる方法を含む。本方法は、細胞と、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩とを、細胞内でMSH3の発現を阻害するのに効果的な量で接触させ、それによって細胞内でのMSH3の発現を阻害することを含む。

30

【0217】

上記方法に基づいて、オリゴヌクレオチド、もしくはその薬学的に許容される塩、またはそのようなオリゴヌクレオチド、もしくはその薬学的に許容される塩を含む組成物が、療法での使用のために、または医薬として使用するために、またはリピート伸長障害などのDNAミスマッチ修復に関連する障害の、その治療を必要とする対象における治療に使用するために、またはヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を有すると同定される対象の細胞内におけるMSH3のレベル減少に使用するために、または対象の細胞内におけるMSH3の発現阻害に使用するために、または細胞内のヌクレオチドリピート伸長（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長）の減少に使用するために企図される。本使用は、細胞と、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩とを、細胞内でMSH3の発現を阻害するのに効果的な量で接触させ、それによって細胞内でのMSH3の発現を阻害することを含む。本明細書に記載される方法に関連する、以下に記載される態様は、それらのさらなる態様にも適用可能である。

40

【0218】

細胞とオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩との接触は、インビトロまたはインビボで行われ得る。細胞をインビボでオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩と接触させることは、対象、例えば、ヒト対象内の細胞または細胞群を、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩と接触させることを含む。細胞と接触するインビトロ及びインビボ方法の組合せも可能である。上で述べられるように、細胞との接触は直接的または間接的であり得る。さらに、細胞との接触は、本明細書に記載される、または当該技術分野において既知の任意のリガンドを含む、標的化リガンドを介

50

して達成され得る。いくつかの態様では、標的化リガンドは、炭水化物部分、例えば、GalNAc₃リガンド、または目的の部位にオリゴヌクレオチドを誘導する任意の他のリガンドである。細胞は、中枢神経系細胞または筋細胞を含み得る。MSH3遺伝子の発現阻害は、MSH3遺伝子の任意のレベルの阻害、例えば、MSH3遺伝子発現の少なくとも部分的な抑制、例えば、少なくとも20%の阻害などを含む。いくつかの態様では、阻害は、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%である。

10

【0219】

MSH3遺伝子の発現は、MSH3遺伝子発現と関連する任意の変数のレベル、例えば、MSH3 mRNAレベルまたはMSH3タンパク質レベルに基づいて評価され得る。

【0220】

阻害は、対照レベルと比較した、それらの変数のうち1つ以上の絶対または相対レベルの低下によって評価され得る。対照レベルは、当該技術分野で利用される任意の種類の対照レベル、例えば、投薬前ベースラインレベル、または未治療もしくは対照（例えば、緩衝液のみの対照もしくは不活性剤対照など）で治療された同様の対象、細胞、もしくは試料から決定されるレベルであり得る。

20

【0221】

いくつかの態様では、MSH3の阻害を検出するために代理マーカーが使用され得る。例えば、MSH3発現を減少させる薬剤を用いた、許容される診断基準及びモニタリング基準によって実証されるような、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）の効果的な治療は、臨床的に関連するMSH3の減少を示すと理解され得る。

【0222】

本方法のいくつかの態様では、MSH3遺伝子の発現は、アッセイの検出レベルの少なくとも20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、もしくは95%、またはそのレベル未満まで阻害される。いくつかの態様では、本方法は、例えば、MSH3の発現を減少させるための薬剤を用いて対象を治療した後の臨床的に関連する結果によって実証されるように、MSH3発現の臨床的に関連する阻害を含む。

30

【0223】

MSH3遺伝子の発現阻害は、第1細胞または細胞群（そのような細胞が、例えば、対象に由来する試料中に存在し得る）によって発現されるmRNA量の減少によって現れ得、その場合にMSH3遺伝子が転写され、細胞（複数可）が処理されていて（例えば、細胞（複数可）をオリゴヌクレオチド、もしくはその薬学的に許容される塩と接触させることによって、または細胞が存在するか、もしくは存在していた対象にオリゴヌクレオチド、もしくはその薬学的に許容される塩を投与することによって）、MSH3遺伝子の発現が、第1細胞または細胞群と実質的に同一であるが、細胞（複数可）がそのように処理されていない第2細胞または細胞群（オリゴヌクレオチド、もしくはその薬学的に許容される塩で処理されていないか、または目的の遺伝子を標的とするオリゴヌクレオチド、もしくはその薬学的に許容される塩で処理されていない対照細胞（複数可））と比較した場合に、阻害されるように行われる。阻害の程度は、以下によって表され得る：

40

×100%

【0224】

他の態様では、MSH3遺伝子の発現阻害は、MSH3遺伝子発現に機能的に関連するパラメータ、例えば、MSH3タンパク質発現またはMSH3シグナル伝達経路の減少という観点から評価され得る。MSH3遺伝子サイレンシングは、発現構築物からの内因性

50

または異種のいずれかの、MSH3を発現する任意の細胞中において、及び当該技術分野において既知の任意のアッセイによって決定され得る。

【0225】

MSH3タンパク質の発現阻害は、細胞または細胞群によって発現されるMSH3タンパク質のレベル（例えば、対象に由来する試料中で発現されるタンパク質のレベル）の減少によって現され得る。上で説明されるように、mRNA抑制の評価を目的として、処理細胞または細胞群におけるタンパク質発現レベルの阻害は、対照細胞または細胞群におけるタンパク質レベルのパーセンテージとして同様に表され得る。

【0226】

MSH3遺伝子の発現阻害を評価するために使用され得る対照細胞または細胞群は、オリゴヌクレオチドとまだ接触していない細胞または細胞群を含む。例えば、対照細胞または細胞群は、オリゴヌクレオチドで対象を治療する前の個々の対象（例えば、ヒトまたは動物対象）に由来し得る。

【0227】

細胞または細胞群によって発現されるMSH3 mRNAのレベルは、mRNA発現を評価するための、当該技術分野における既知の任意の方法を使用して決定され得る。一態様では、試料中におけるMSH3の発現レベルは、転写されたポリヌクレオチド、またはその一部、例えば、MSH3遺伝子のmRNAを検出することによって決定される。RNAは、例えば、酸性フェノール／グアニジンイソチオシアネート抽出（RNAzol B、Biogenesis）、RNEASY（商標）RNA調製キット（Qiagen）またはPAXgene（PreAnalytix, Switzerland）を使用することを含む、RNA抽出技術を使用して細胞から抽出され得る。リボ核酸ハイブリダイゼーションを利用する典型的なアッセイ形式としては、核ランオンアッセイ、RT-PCR、RNase保護アッセイ、ノーザンブロッティング、in situハイブリダイゼーション、及びマイクロアレイ分析が挙げられる。MSH3 mRNAの循環は、PCT公開第WO2012/177906号に記載されている方法を使用して検出され得、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。いくつかの態様では、MSH3の発現レベルは、核酸プローブを使用して決定される。「プローブ」という用語は、本明細書で 사용되는場合、特定のMSH3配列に、例えば、mRNAまたはポリペプチドに選択的に結合できる任意の分子を指す。プローブは当業者によって合成され得るか、または適切な生物学的調製物から得られ得る。プローブは、特に標識されるように設計され得る。プローブとして利用され得る分子の例としては、RNA、DNA、タンパク質、抗体、及び有機分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【0228】

単離mRNAは、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）分析、及びプローブアレイを含むが、これらに限定されないハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイに使用され得る。mRNAレベルを決定する1つの方法は、単離mRNAを、MSH3 mRNAにハイブリダイズし得る核酸分子（プローブ）と接触させることを含む。一態様では、mRNAは、例えば、単離mRNAをアガロースゲル上に泳動させ、mRNAをゲルからニトロセルロースなどの膜に移動させることによって、固体表面上に固定化されてプローブと接触する。代替の態様では、プローブ（複数可）が固体表面上に固定化され、mRNAは、例えば、AFFYMETRIX遺伝子チップアレイ中でプローブ（複数可）と接触する。当業者は、MSH3 mRNAレベルの決定に使用するための、既知のmRNA検出方法を容易に適合させ得る。

【0229】

試料中におけるMSH3の発現レベルを決定する代替方法は、試料中における、例えば、mRNAの核酸増幅及び／または逆転写酵素（cDNAを調製するため）のプロセスを含み、例えば、その手段とは、RT-PCR（Mullis, 1987、米国特許第4,683,202号に記載されている実験的態様）、リガーゼ連鎖反応（Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193）、自

家持続配列複製法 (Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅システム (Kwoh et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-ベータレプリカーゼ (Lizardi et al. (1988) Bio/Technology 6:1197)、ローリングサークル複製 (Lizardi et al.、米国特許第5,854,033号) または任意の他の核酸増幅方法であり、続いて当業者に周知の技術を使用して増幅した分子を検出することを含む。それらの検出スキームは、核酸分子が非常に少ない数で存在する場合、そのような分子の検出に特に有用である。いくつかの態様では、MSH3の発現レベルは、定量的蛍光発生RT-PCR (すなわち、TAQMAN (商標) システム) またはDUAL-GLO (登録商標) ルシフェラーゼアッセイによって決定される。

10

【0230】

MSH3 mRNAの発現レベルは、膜プロット (ノーザン、サザン、ドットなどのハイブリダイゼーション分析に使用されるものなど)、またはマイクロウェル、試料チューブ、ゲル、ビーズもしくは繊維 (もしくは結合した核酸を含む任意の固体支持体) を使用してモニターされ得る。米国特許第5,770,722号、同第5,874,219号、同第5,744,305号、同第5,677,195号、及び同第5,445,934号を参照し、それらは参照によって本明細書に組み込まれる。MSH3発現レベルの決定は、溶液中で核酸プローブを使用することを含み得る。

【0231】

いくつかの態様では、mRNA発現のレベルは、分岐DNA (bDNA) アッセイまたはリアルタイムPCR (qPCR) を使用して評価される。本PCR法の使用は、本明細書に提示される実施例に記載かつ例示されている。そのような方法は、MSH3核酸の検出に使用され得る。

20

【0232】

MSH3タンパク質発現のレベルは、タンパク質レベルを測定するための、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して決定され得る。そのような方法としては、例えば、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、薄層クロマトグラフィー (TLC)、超拡散クロマトグラフィー、流体またはゲル沈降反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法 (単純または二重)、免疫電気泳動、ウェスタンブロッティング、ラジオイムノアッセイ (RIA)、酵素結合免疫吸着法 (ELISA)、免疫蛍光アッセイ、電気化学発光アッセイなどが挙げられる。そのようなアッセイは、MSH3タンパク質の存在または複製を示すタンパク質の検出に使用され得る。

30

【0233】

本明細書に記載される方法のいくつかの態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が対象内の特定の部位に送達されるように、対象に投与される。MSH3の発現阻害は、対象内の特定の部位に由来する試料中におけるMSH3 mRNAまたはMSH3タンパク質のレベルまたはレベル変化の測定値を使用して評価され得る。いくつかの態様では、本方法は、例えば、MSH3の発現を減少させるための薬剤を用いて対象を治療した後の臨床的に関連する結果によって実証されるように、MSH3発現の臨床的に関連する阻害を含む。

40

【0234】

他の態様では、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、以下のうち1つ (またはそれを超えて、例えば、以下のうち2つ以上、3つ以上、4つ以上) をもたらすのに効果的な量及び時間で投与される: (a) リピート数を低下させる、(b) ポリグルタミンのレベルを低下させる、(c) 細胞死 (例えば、CNS細胞死及び/または筋細胞死) の低下、(d) 障害の発症の遅延、(e) 対象の生存率の増加、ならびに (f) 対象の無増悪生存期間の増加。

【0235】

50

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）の治療によって、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩で治療される個体または対象集団の平均生存期間が、未治療の対象集団と比較して増加し得る。例えば、個体の生存期間または集団の平均生存期間は、30日を超えて（60日、90日、または120日を超えて）増加する。個体の生存期間または集団の平均生存期間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定され得る。個体の生存期間の増加は、例えば、本明細書に記載される化合物を用いた治療開始後の生存期間の長さを個体について算出することによって測定され得る。集団の平均生存期間の増加は、例えば、本明細書に記載される化合物を用いた治療開始後の生存期間の平均長さについて算出することによって測定され得る。個体の生存期間の増加は、例えば、本明細書に記載される化合物または化合物の薬学的に許容される塩を用いた治療の第1ラウンド完了後の生存期間の長さを個体について算出することによって測定され得る。集団の平均生存期間の増加は、例えば、本明細書に記載される化合物または化合物の薬学的に許容される塩を用いた治療の第1ラウンド完了後の生存期間の平均長さを集団について算出することによって測定され得る。

10

【0236】

ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）の治療によって、治療された対象集団の死亡率が、未治療集団と比較して低下し得る。例えば、死亡率は、2%を超えて（例えば、5%、10%、または25%を超えて）低下する。治療された対象集団の死亡率の低下は、任意の再現可能な手段によって、例えば、本明細書に記載される化合物または化合物の薬学的に許容される塩を用いた治療開始後の、単位時間あたりの疾患関連死の平均数を集団について算出することによって測定され得る。集団の死亡率の低下は、例えば、本明細書に記載される化合物または化合物の薬学的に許容される塩を用いた治療の第1ラウンド完了後の、単位時間あたりの疾患関連死の平均数を集団について算出することによって測定され得る。

20

【0237】

A. 抗MSH3剤の送達

細胞、例えば、対象、例えば、ヒト対象など、例えば、オリゴヌクレオチドの送達を必要とする対象、例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を有する対象などの細胞にオリゴヌクレオチドを送達することは、脳室内（ICV）投与で達成され得る。

30

【0238】

B. 併用療法

オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、単独で、あるいは少なくとも1つの追加の治療剤、例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）もしくはそれらと関連する症状を治療する他の薬剤と組み合わせ、またはヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）を治療する他の種類の療法と組み合わせ使用され得る。併用治療では、治療用化合物のうち1つ以上の投与量が、単独で投与される場合の標準的な投与量から減少し得る。例えば、用量は、薬物の組合せ及び順列から経験的に決定され得るか、またはアイソボログラム分析によって推定され得る（例えば、Black et al., Neurology 65:S3-S6 (2005)）。この場合に、組み合わせられる場合の化合物の投与量は、治療効果を提供するはずである。

40

【0239】

いくつかの態様では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の薬剤は、ヌクレオチドリピートを有する遺伝子と関連するヌクレオチドリピート伸長障害（例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害）（例えば、表1に列挙されるトリヌクレオチドリピート伸長障害及びヌクレオチドリピートを有する関連遺伝子のいずれか）を治療するための、少なくとも1つの追加の治療剤と組み合わせ使用され得る。いくつかの態様では、追加の治療剤のうち少なくとも1つが、ヌクレオチドまたはトリヌクレオチドリピート伸長障害と関連する遺伝子（例えば、表1に列挙される遺伝子の

50

いずれか)のmRNAとハイブリダイズするオリゴヌクレオチド(例えば、ASO)であり得る。いくつかの態様では、ヌクレオチドリピート伸長障害(例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害)は、ハンチントン病(HD)である。いくつかの態様では、ヌクレオチドリピート伸長障害(例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害)と関連する遺伝子は、ハンチンチン(HTT)である。ハンチンチン遺伝子のいくつかのアレルバリエーションは、ハンチントン病の病因に関与している。いくつかの場合には、これらのバリエーションは、特有のHD関連一塩基多型(SNP)を有することに基づいて同定される。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、当該技術分野において既知のHD関連SNPのいずれか(例えば、Skotte et al., PLoS One 2014, 9(9): e107434、Carroll et al., Mol. Ther. 2011, 19(12): 2178-85、Warby et al., Am. J. Hum. Gen. 2009, 84(3): 351-66(参照によって本明細書に組み込まれる)に記載されるHD関連SNPのいずれか)を含有するハンチンチン遺伝子のmRNAにハイブリダイズする。いくつかの態様では、追加の治療剤であるオリゴヌクレオチドは、HD関連SNPのいずれかを欠くハンチンチン遺伝子のmRNAにハイブリダイズする。いくつかの態様では、追加の治療剤であるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、rs362307及びrs365331の群から選択されるSNPのいずれかを有するハンチンチン遺伝子のmRNAにハイブリダイズする。いくつかの態様では、追加の治療剤であるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、修飾オリゴヌクレオチド(例えば、本明細書に記載される修飾のいずれかを含むオリゴヌクレオチド)であり得る。いくつかの態様では、追加の治療剤である修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。いくつかの態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上の2'-MOE部分を含む。いくつかの態様では、ハンチンチン遺伝子のmRNAにハイブリダイズする追加の治療剤であるオリゴヌクレオチドは、米国特許第9,006,198号の配列番号6~285、米国特許出願公開第2017/0044539号の配列番号6~8、米国特許出願公開第2018/0216108号の配列番号1~1565、及びPCT公開第WO2017/192679号の配列番号1~2432(それらの配列が参照によって本明細書に組み込まれる)から選択される配列を有する。

10

20

30

40

50

【0240】

いくつかの態様では、追加の治療剤のうち少なくとも1つが、化学療法剤(例えば、ヌクレオチドリピート伸長障害、例えば、トリヌクレオチドリピート伸長障害の治療に有用な細胞傷害剤または他の化学化合物)である。

【0241】

いくつかの態様では、追加の治療剤のうち少なくとも1つが、非薬物治療である治療剤であり得る。例えば、追加の治療剤のうち少なくとも1つが、理学療法である。

【0242】

本明細書に記載される混合態様のいずれにおいても、2つ以上の治療剤が、同時にまたは連続していずれかの順序で投与される。例えば、第1治療剤は、追加の治療剤のうち1つ以上の前後で即時に、最大1時間、最大2時間、最大3時間、最大4時間、最大5時間、最大6時間、最大7時間、最大8時間、最大9時間、最大10時間、最大11時間、最大12時間、最大13時間、14時間、最大16時間、最大17時間、最大18時間、最大19時間、最大20時間、最大21時間、最大22時間、最大23時間、最大24時間または最大1~7日、1~14日、1~21日もしくは1~30日で投与され得る。

【0243】

V. 医薬組成物

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、インビボでの投与に好適な生体適合性形態でヒト対象に投与するための医薬組成物に製剤化される。

【0244】

本明細書に記載される化合物は、遊離塩基の形態で、塩、溶媒和物の形態で、及びプロ

ドラッグとして使用され得る。全ての形態が、本明細書に記載される方法の範囲内である。当業者には理解されるであろうが、本明細書に記載される方法によれば、記載されるオリゴヌクレオチドまたはその塩、溶媒和物、もしくはプロドラッグは、選択される投与経路に応じて様々な形態で患者に投与され得る。本明細書に記載される化合物は、例えば、脳室内投与によって投与され得、医薬組成物はそれに応じて製剤化される。

【0245】

脳室内投与用の本明細書に記載される化合物の溶液は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸カリウム、炭酸ナトリウム、グルコース、塩化カルシウム、炭酸水素ナトリウム、及び／または塩化マグネシウムのうちの1つ以上などの好適な緩衝剤及び／またはオスモル濃度調整剤 (osmolarity agent) と好適に混合された人工脳脊髄液または水において調製され得る。好適な製剤の選択及び調製を目的とした従来の手順及び成分は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences (2012, 22nd ed.) に、及び2018年に公開されたThe United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 41 NF 36) に記載されている。注射用途に好適な医薬形態としては、滅菌注射用溶液または分散液を即時調製するための、滅菌水溶液または分散液及び滅菌粉末が挙げられる。いずれの場合にも、本形態は無菌でなければならず、シリンジによって容易に投与され得る程度まで流動性でなければならない。

10

【0246】

本明細書に記載される化合物は、本明細書で述べられるように、動物、例えば、ヒトに単独で、または薬学的に許容される担体と組み合わせて投与され得、その割合は、化合物の溶解度及び化学的性質、選択された投与経路、ならびに標準的な薬務によって決定される。

20

【0247】

VI. 投与量

本明細書に記載される組成物（例えば、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む組成物）の投与量は、多くの因子、例えば、化合物の薬力学的特性、投与方法、レシピエントの年齢、健康状態、及び体重、症状の性質及び程度、治療の頻度、及びもしあれば、併用治療の種類、ならびに治療される動物における化合物のクリアランス速度などに応じて変動し得る。本明細書に記載される組成物は、臨床応答に応じて、適宜調整され得る好適な投与量で最初に投与され得る。いくつかの態様では、組成物（例えば、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む組成物）の投与量は、予防または治療有効量である。

30

【0248】

いくつかの態様では、本明細書では、脳室内注射用に製剤化された医薬組成物が提供される。本明細書に記載される組成物は、臨床応答に応じて、適宜調整され得る好適な投与量で最初に脳室内投与され得る。いくつかの態様では、組成物（例えば、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む組成物）の投与量は、予防または治療有効量である。

【0249】

いくつかの態様では、本明細書で提供されるのは、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、本明細書に記載される一本鎖オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含む、当該方法である。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約1 mg～約300 mgの用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約10 mg～約250 mgの用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約15 mg～約200 mgの用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約25 mg～約200 mgの用量で投与される。いくつかの態様で

40

50

は、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 50 mg ～ 約 200 mg の用量で投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、約 100 mg ～ 約 150 mg の用量で投与される。

【0250】

いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩は、約 1 mg、約 2 mg、約 5 mg、約 10 mg、約 15 mg、約 20 mg、約 25 mg、約 30 mg、約 35 mg、約 40 mg、約 45 mg、約 50 mg、約 55 mg、約 60 mg、約 65 mg、約 70 mg、約 75 mg、約 80 mg、約 85 mg、約 90 mg、約 95 mg、約 100 mg、約 105 mg、約 110 mg、約 115 mg、約 120 mg、約 125 mg、約 130 mg、約 135 mg、約 140 mg、約 145 mg、約 150 mg、約 155 mg、約 160 mg、約 165 mg、約 170 mg、約 175 mg、約 180 mg、約 185 mg、約 190 mg、約 195 mg、約 200 mg、約 205 mg、約 210 mg、約 220 mg、約 225 mg、約 230 mg、約 235 mg、約 240 mg、約 245 mg、約 250 mg、約 255 mg、約 260 mg、約 265 mg、約 270 mg、約 275 mg、約 280 mg、約 285 mg、約 290 mg、約 295 mg、または約 300 mg の用量で投与される。

【0251】

いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、週 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、2 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、3 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、4 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、8 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、16 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、20 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、24 週間に 1 回投与される。

【0252】

いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、28 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、32 週間に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、36 週間に 1 回投与される。

【0253】

いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、1 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、2 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、3 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、4 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、5 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、6 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、7 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、8 か月に 1 回投与される。いくつかの態様では、一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩は、9 か月に 1 回投与される。

【0254】

いくつかの態様では、本明細書に記載される方法は、ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行を、予測される発症及び／または進行と比較した場合に少なくとも 120 日、少なくとも 6 か月、少なくとも 12 か月、少なくとも 2 年、少なくとも 3 年、

少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも10年またはそれを超えて遅延させる。

【0255】

VII. キット

(a) 本明細書に記載される細胞または対象内でMSH3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤である、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物、ならびに(b) 本明細書に記載される方法のいずれかを実行するための説明書を含む添付文書を含むキットが企図される。いくつかの態様では、キットは、(a) 本明細書に記載される細胞または対象内でMSH3のレベル及び／または活性を減少させる薬剤である、オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物、(b) 追加の治療剤、ならびに(c) 本明細書に記載される方法のいずれかを実行するための説明書を含む添付文書を含む。

10

【実施例】

【0256】

実施例1. アンチセンスオリゴヌクレオチド

ASOによるノックダウン

MSH3遺伝子に関する表3の最上位のASOを同定するための、HeLa細胞でのASOスクリーニングを、Horizonによって実施した。

【0257】

要約すると、ASOノックダウン活性を、1nM及び10nMでのトランスフェクションによってHeLaで評価した。mRNAノックダウンを、TaqMan Gene Expressionプローブを使用した定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)によって分析した。mRNA発現をデルターデルタCt($\Delta\Delta Ct$)法によって算出し、その方法では標的発現を、参照遺伝子ベータグルクロニダーゼ(GUSB)の発現を基準として、かつスクランブルシフェラーゼ標的化対照ASOで処理した細胞を基準として正規化した。

20

【0258】

HeLa細胞におけるトランスフェクション

ASOをdH₂O中に再懸濁し、その1000倍の最終アッセイ濃度(10 μ Mまたは1 μ M)にした。HeLa細胞を2,500細胞／ウェルで添加する前に、ASOを4回反復して分注し、5 μ lのLipofectamine 3000(Invitrogen)と20分間複合化した。細胞を標準的な培養条件下で24時間培養した。製造業者の指示に従ってCells-to-CT 1-step TaqMan Kit(Invitrogen)を使用して、RT-qPCR読取りのために細胞を処理した。MSH3のTaqMan Gene Expressionプローブは、Hs00989003_m1(Life Technologies Ltd)であり、QuantStudio 6(Applied Biosystems)で使用した。

30

【0259】

40

【表 2】

表 2：表 3 及び 4 における化学的修飾語の凡例

塩基後の「s」	ホスホロチオエート結合
塩基後の「p」	ホスホジエステル結合
塩基前の「o」	2′－O－メトキシエチル－RNA（「moe」）
塩基前の「d」	デオキシ（DNAヌクレオシド）
塩基前の「L」	ロックド核酸（LNA）
A C T G	コアDNA塩基：アデニン、シトシン、チミン、及びグアニン
U	ウラシル；全てのU（ウラシル）が5－メチルである
「oU」	「oT」と同義
「5m」	核酸塩基上の5位のメチル；全てのC（シトシン）が5－メチルである

10

【0260】

以下の表 3 及び表 4 では、配列番号は、アンチセンスオリゴ番号の核酸塩基配列に対応する。しかしながら、特定のアンチセンスオリゴ番号（例えば、アンチセンスオリゴ番号 1）は、特定の化学修飾を含む。DNA コア内の全ての核酸塩基がデオキシであることは、当該技術分野において周知である。したがって、表 3 及び表 4 において、配列の DNA コア内の核酸塩基が「moe」を表すことが「o」によって断定されない場合、核酸塩基は DNA 核酸塩基（デオキシ）である。

20

【0261】

30

40

50

【表 3－1】

表 3.

アンチセンス オリゴ番号/ 配列番号	化学修飾配列	残存mRNAの 平均 (%)		残存mRNAの SEM (%)	
		1 nM	10 nM	1 nM	10 nM
1	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oA]	86.09785	41.79781	10.956696	1.978577
2	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oA]	102.13406	40.30929	2.5403645	1.368438
3	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oA]	86.89053	37.50409	4.95608	1.237848
4	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oA]	88.21922	46.14382	8.324711	2.068448
5	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oA]	88.06973	44.49033	7.0556625	1.637641
6	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oA]	66.27929	38.82585	7.304814	2.701934
7	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oA]	87.77148	39.91306	3.7650095	1.899814
8	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oA]	93.78302	39.9579	5.800865	2.591389

【 0 2 6 2 】

【表 3 - 2】

9	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oA]	91.70171	46.43532	6.7248825	1.898713
10	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oA]	90.12033	43.42065	11.205575	2.148471
11	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oA]	99.38491	40.8259	7.1537125	4.453034
12	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oA]	92.85072	47.68991	9.7849105	0.732238
13	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oA]	82.76355	44.94987	2.3796215	1.213861
14	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oA]	100.30431	42.47324	7.2137325	3.762178
15	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oA]	90.00654	39.81399	10.431815	2.091189
16	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oA]	93.50777	41.81402	6.027847	2.177984
17	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	78.87919	39.04837	4.3289815	3.888626
18	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	89.8343	37.95063	6.6130055	2.550701
19	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	91.97128	45.99061	1.903787	2.837245
20	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	90.0287	45.36505	7.652128	3.536383
21	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oAs oC]	80.24857	37.65808	8.935247	5.090914
22	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oAs oC]	101.45303	37.27497	23.097582	3.052247
23	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oAs oC]	97.15427	41.07113	12.915649	3.502463
24	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oAs oC]	80.67146	37.30983	3.1350315	4.460652
25	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oAs oC]	90.35424	39.93492	10.3572485	3.866769

【 0 2 6 3 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

26	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oC]	82.80083	43.89603	2.679553	3.062266
27	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oC]	88.08068	46.08224	6.516991	2.883583
28	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oC]	100.38683	42.14532	7.9455835	2.066183
29	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oC]	82.39148	42.89111	4.9474165	1.687775
30	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oC]	92.49721	41.87519	4.286409	1.419928
31	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oC]	88.1524	43.50525	4.0152095	1.165505
32	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oC]	95.59035	44.36914	6.098232	1.947992
33	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oA]	81.5396	46.37686	5.051866	2.340369
34	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oA]	75.50977	37.42608	6.55804	2.427113
35	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oA]	86.89931	38.66673	1.6915285	0.403006
36	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oA]	92.05609	44.46799	6.699515	0.811156
37	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oA]	82.63172	39.09093	8.238769	2.549669
38	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oA]	102.24694	36.96398	14.530799	2.884441
39	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oA]	87.2629	39.3864	12.0735685	1.500768
40	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oA]	96.78945	37.19026	9.535124	1.52692
41	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oA]	95.79925	45.78015	7.062957	5.396491
42	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oA]	87.43444	39.82331	10.1333325	1.186569

10

20

30

40

【 0 2 6 4 】

50

【表 3 - 4】

43	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oA]	93.03859	41.55274	8.5237595	1.542313
44	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oA]	79.29174	41.69657	9.4802245	3.7328
45	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oA]	97.84352	40.24762	4.024119	3.662828
46	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oA]	94.18266	36.69312	3.2339695	2.577563
47	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oA]	97.71451	49.27591	15.6053125	5.231299
48	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oA]	91.5412	44.77662	6.4424815	4.030398
49	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	85.14544	43.97438	5.329607	1.787627
50	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	81.85128	40.2583	5.194841	1.498131
51	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	79.48116	41.09427	2.3949705	1.899097
52	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	82.36726	40.83192	5.178712	3.06104
53	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	73.45186	36.40204	4.508506	2.072795
54	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	83.26679	42.28042	9.2488475	3.422593
55	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	73.0733	44.80567	3.2515675	5.215558
56	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	86.11374	41.79482	6.120118	3.145374
57	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	82.10891	41.5037	10.9839625	2.257748
58	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	89.70608	40.60014	3.8721065	0.87326
59	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	93.23447	43.85248	4.0394125	4.050107

【 0 2 6 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

60	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	80.85138	43.55119	6.949772	3.486459
61	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	77.98907	37.1955	9.4067375	1.362401
62	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCs oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	71.11867	37.22296	7.9519255	2.922158
63	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUs oUs oUs oAs oCs oAs oC]	81.67628	40.47476	2.889408	2.316071
64	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs oCp oUp oUs oUs oAs oCs oAs oC]	79.69746	38.81524	7.742031	0.204948
65	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUs oUs oUs oAs oC]	69.99261	32.0998	5.4826715	3.037028
66	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUs oUs oUs oAs oC]	75.98915	34.73835	3.798421	3.084744
67	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUs oUs oUs oAs oC]	83.04812	42.68424	4.758469	4.679494
68	[oCs oUs oAp oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUs oUs oUs oAs oC]	74.06207	38.55632	9.9099225	7.981079
69	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUp oUs oUs oAs oC]	81.32662	38.51888	1.5401265	2.565575
70	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCp oUs oUs oUs oAs oC]	79.67053	27.90351	2.039101	1.648429
71	[oCs oUs oAs oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCp oUp oUs oUs oAs oC]	72.32385	34.23619	4.994041	3.100586
72	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUp oUs oUs oAs oC]	73.88174	35.08737	3.987852	3.319998
73	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCp oUs oUs oUs oAs oC]	73.84298	39.89966	6.744107	3.444095
74	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCs oUp oUs oUs oAs oC]	87.48091	31.76795	4.7688275	2.561686
75	[oCs oUs oAs oGp oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCp oUs oUs oUs oAs oC]	85.5695	37.95998	7.860177	4.320679
76	[oCs oUs oAp oGs oGs dT dT Gs dAs dT dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT dT Gs 5mCp oUp oUs oUs oAs oC]	82.15887	38.7112	6.4298045	2.851738

【 0 2 6 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

77	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp oUp oUs oUs oAs oC]	92.45412	41.20665	7.931752	5.873654
78	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs oUp oUs oUs oAs oC]	87.20785	34.56143	6.5475275	3.904361
79	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp oUs oUs oUs oAs oC]	77.67484	47.25886	4.025454	9.140193
80	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp oUp oUs oUs oAs oC]	84.26525	44.90753	2.9419125	3.931427
81	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT s oUs oUs oAs oCs oA]	74.15488	28.91957	4.4416545	2.079845
82	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT s oUs oUs oAs oCs oA]	83.52985	34.76393	7.7233095	5.276733
83	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT s oUs oUs oAs oCs oA]	87.34228	34.26426	2.8872435	3.491405
84	[oCs oUs oAp oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT s oUs oUs oAs oCs oA]	85.67873	35.6361	5.8302875	2.544952
85	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT p oUs oUs oAs oCs oA]	75.35312	32.86732	10.951265	3.621277
86	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp dT s oUs oUs oAs oCs oA]	79.96271	34.14079	9.351093	1.427892
87	[oCs oUs oAs oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp dT p oUs oUs oAs oCs oA]	100.34146	32.93465	7.409104	1.965485
88	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT p oUs oUs oAs oCs oA]	76.43184	29.11159	1.9009085	1.712673
89	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp dT s oUs oUs oAs oCs oA]	84.95746	33.1336	6.0100595	0.819655
90	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCs dT p oUs oUs oAs oCs oA]	77.40614	34.79199	2.737082	1.090979
91	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp dT s oUs oUs oAs oCs oA]	75.61531	41.57976	2.6137425	2.594538
92	[oCs oUs oAp oGs oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp dT p oUs oUs oAs oCs oA]	81.40445	36.37792	7.319196	0.14288
93	[oCs oUs oAs oGp oGs dT s dGs dAs dT s dGs 5mCs dAs 5mCs dT s dGs 5mCp dT p oUs oUs oAs oCs oA]	87.14688	41.27511	2.983684	3.624091

10

20

30

40

【 0 2 6 7 】

50

【表 3 - 7】

94	[oCs oUs oAp oGp oGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT Gs 5mCs dT p oUs oUs oAs oCs oA]	83.39023	40.63864	1.431887	1.205991
95	[oCs oUs oAp oGp oGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT Gs 5mCp dT p oUs oUs oAs oCs oA]	78.10296	40.32743	4.682538	1.18152
96	[oCs oUs oAp oGp oGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs dT Gs 5mCp dT p oUs oUs oAs oCs oA]	78.36184	41.53986	3.2471535	4.451705
97	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oU]	73.53306	32.22054	5.7741956	1.828104
98	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oU]	85.30286	28.26088	7.1938475	1.170224
99	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oU]	80.72095	31.14705	6.94178635	0.847079
100	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oU]	68.59723	30.44545	5.6598163	1.925702
101	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oU]	78.30012	29.94689	6.2378524	4.046731
102	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oU]	78.25236	30.06093	5.9663877	1.79938
103	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oU]	69.03511	35.56989	2.59911095	2.403012
104	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oU]	73.74024	30.77626	1.62019145	0.873961
105	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oU]	72.2508	33.81869	4.46870435	3.070223
106	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oU]	80.18669	27.94099	3.6700273	0.683295
107	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oU]	74.09831	34.42556	6.01870395	1.988182
108	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oU]	70.94729	35.1242	1.85488915	3.987895
109	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oU]	78.33754	34.87067	4.7590703	1.027952
110	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dT Gs dAs dT Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oU]	62.32599	33.30946	3.7307496	2.867815

【 0 2 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

111	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oU]	70.12462	35.35927	3.28310255	2.413138
112	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oU]	76.05292	32.20627	7.8049074	3.219622
113	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oU]	65.23498	32.17334	3.72245235	1.859401
114	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oU]	69.29675	32.68384	2.39326015	4.127576
115	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oU]	70.21315	28.19354	5.9917878	1.260233
116	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oU]	61.38246	27.89351	2.31272875	0.940955
117	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oU]	67.38278	29.83921	4.699614	3.62231
118	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oU]	74.8669	33.51358	4.66523895	3.23944
119	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oU]	75.87658	33.86225	3.36764485	2.561053
120	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oU]	74.89974	30.42127	5.3692428	1.390075
121	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oU]	77.25051	35.01204	10.42313865	2.358081
122	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oU]	68.7315	29.79101	4.2400331	3.545545
123	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oU]	71.42427	34.17864	4.1743313	2.028014
124	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oU]	86.14101	31.27527	4.48923135	2.071295
125	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oU]	77.77647	31.7119	4.05551285	1.114638
126	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oU]	78.6535	37.61556	1.55106765	2.362156
127	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oU]	67.14048	33.39059	1.7917388	1.42932

【 0 2 6 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 9】

128	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oA]	86.42336	39.03898	2.597663	2.239799
129	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oA]	68.63405	35.13624	1.53173715	2.451205
130	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oA]	69.38908	31.9245	4.0133836	3.413571
131	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oA]	82.64957	31.6315	10.9520439	1.487167
132	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oA]	76.22312	31.57458	5.88891735	2.253033
133	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oA]	73.47365	27.08401	3.77061195	0.92052
134	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oA]	70.30414	33.09977	4.27095005	3.045878
135	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oA]	72.20899	30.08256	6.4512196	1.841916
136	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oA]	67.44648	31.14491	2.3933433	2.847244
137	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oA]	73.72042	31.65609	3.1864744	1.736871
138	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oA]	67.00788	29.57105	4.13148395	0.996282
139	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oA]	67.67345	29.52463	2.84221865	1.821037
140	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oA]	74.02419	34.75728	4.05854245	2.515477
141	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oA]	70.79225	32.87075	1.72015605	1.818799
142	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oA]	80.55014	28.38316	4.20708315	1.230702
143	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oA]	62.97423	33.06359	2.1320595	3.346436
144	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oA]	70.79163	33.67681	5.18027175	3.32755

【 0 2 7 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 0】

145	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	61.07007	32.76229	1.578968	2.337807
146	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	77.42478	34.61478	7.0884636	3.366066
147	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	67.36325	38.44457	3.158251	2.192247
148	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	69.55673	34.56908	2.1775117	2.805347
149	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	82.73055	33.15298	3.68306915	2.319368
150	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	74.0629	34.61137	4.9070243	1.082019
151	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	86.07845	39.51103	3.76062145	3.134823
152	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	82.2174	29.35929	3.78661745	1.69256
153	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	75.98421	35.81497	2.16191275	2.093193
154	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	68.75699	32.99567	4.0256092	1.228557
155	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	65.0077	33.91453	4.8970901	1.843589
156	[oUs oGs oCp oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	81.28814	36.71857	4.66906275	3.495077
157	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	69.80645	66.34306	2.97949155	17.28836
158	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	68.37275	72.33517	4.17040095	18.58276
159	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGs oCs oUs oUs oUs oAs oC]	72.61681	47.70773	2.2537468	6.897452
160	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs oUp oGp oCs oUs oUs oUs oAs oC]	68.78353	84.24789	3.0864697	31.8067
161	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsdGs 5mCs dAs 5mCs dTsoGs oCs oUs oUs oU]	69.3108	75.14277	5.38158025	25.56809

【 0 2 7 1 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 1】

162	[oUs]oGs]oCp]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	72.9714	69.75189	5.9076121	32.69531
163	[oUs]oGs]oCs]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	59.9413	33.69336	2.7716944	2.300999
164	[oUs]oGs]oCp]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	65.88331	42.9639	6.38280315	2.950032
165	[oUs]oGs]oCs]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	60.39611	41.07525	4.74049725	1.401234
166	[oUs]oGs]oCs]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	75.65893	53.6832	6.7614234	2.709928
167	[oUs]oGs]oCs]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	78.27304	68.71663	3.6412356	20.69837
168	[oUs]oGs]oCp]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	69.66589	40.46645	4.8223807	1.966849
169	[oUs]oGs]oCp]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	65.01222	51.18193	2.0901017	5.432837
170	[oUs]oGs]oCs]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	64.20334	44.9343	3.03968285	2.38631
171	[oUs]oGs]oCs]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	74.50087	46.7009	7.1516196	3.17865
172	[oUs]oGs]oCp]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	66.0219	51.29474	5.5452825	7.02709
173	[oUs]oGs]oCs]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	88.90626	43.66599	7.76517935	4.598041
174	[oUs]oGs]oCp]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	70.63885	81.73461	10.1429891	39.6005
175	[oUs]oGs]oCp]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGs]oCs]oUs]oUs]oU]	69.65344	57.02863	4.09660005	13.08032
176	[oUs]oGs]oCp]oUp]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTp]oGp]oCs]oUs]oUs]oU]	71.0292	88.44799	3.57082955	37.50085
177	[oUs]oGs]oCs]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]dGs]oCs]oUs]oUs]oUs]oA]	66.62139	41.51005	2.37850925	4.804473
178	[oUs]oGs]oCp]oUs]oAs]dGs]dGs]dTs]dGs]dAs]dTs]dGs]5mCs]dAs]5mCs]dTs]dGs]oCs]oUs]oUs]oUs]oA]	72.29763	44.50319	6.87317685	2.677576

【 0 2 7 2 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 2】

179	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gs oCs oUs oUs oUs oA]	68.20743	47.68644	5.01288235	7.92615
180	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gs oCs oUs oUs oUs oA]	68.99648	42.6724	0.11444645	1.915543
181	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	74.55986	75.31866	4.8690439	16.158
182	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gs oCs oUs oUs oUs oA]	90.17217	57.85726	6.4500736	10.25964
183	[oUs oGs oCs oUs oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	79.6849	44.0499	4.4692627	2.659523
184	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	72.7416	46.00267	6.4985466	1.990908
185	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gs oCs oUs oUs oUs oA]	78.36759	57.88874	8.4461547	7.916173
186	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	77.17065	41.09619	4.06900365	5.266146
187	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gs oCs oUs oUs oUs oA]	71.80721	47.54313	4.0522398	4.300292
188	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	83.68087	47.27023	11.6233265	2.662367
189	[oUs oGs oCs oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	90.45532	46.05918	4.6439005	3.872029
190	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	89.19433	34.62675	9.5661226	4.858138
191	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gs oCs oUs oUs oUs oA]	64.72372	43.20547	3.7289791	2.557415
192	[oUs oGs oCp oUp oAs dGs dGs dTsd Gs dAs dTsd Gs 5mCs dAs 5mCs dTsd Gp oCs oUs oUs oUs oA]	92.70258	41.35463	12.14039325	0.531077
193	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsd Gs dTsd Ts 5mCs dTsd 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oA]	41.82279	25.79387	2.85807925	1.785736
194	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsd Gs dTsd Ts 5mCs dTsd 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oA]	34.50835	24.88784	2.37599485	2.49983
195	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsd Gs dTsd Ts 5mCs dTsd 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oA]	34.48394	27.68268	3.0471537	1.050805

10

20

30

40

【 0 2 7 3 】

50

【表 3 - 1 3】

196	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oA]	35.91642	27.09371	0.5861107	3.367908
197	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oA]	40.41755	30.50893	3.2331104	1.618927
198	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oA]	37.18947	26.7628	1.96874185	1.810888
199	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oA]	41.58604	32.4533	2.0955341	3.083019
200	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oA]	41.50165	29.4431	1.99516615	2.336989
201	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oA]	42.01393	23.06252	1.3193855	4.944764
202	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oA]	41.74463	27.31196	3.3971388	1.186669
203	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oA]	40.8989	27.94533	2.5002774	2.019763
204	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oA]	39.77508	30.17107	2.68253975	3.295311
205	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oA]	40.56325	26.69679	1.7302717	0.745227
206	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oA]	39.89604	19.42737	3.86707555	1.982879
207	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oA]	40.47438	25.35393	2.3847392	1.251586
208	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oA]	39.84144	26.46836	2.76645765	1.184643
209	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	36.38624	24.02288	1.92817845	1.780277
210	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	36.27817	23.59247	1.9107749	1.785808
211	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	40.23379	26.02175	3.7752339	0.579919
212	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	38.73671	25.57041	2.1198962	0.563413

10

20

30

40

【 0 2 7 4 】

50

【表 3 - 1 4】

213	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oC]	35.00403	27.29374	0.97998025	2.42817
214	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	35.15246	27.73562	3.7541248	1.408177
215	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oC]	39.43029	24.36535	0.35631305	2.03814
216	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oC]	38.4821	24.80134	2.7737859	0.915852
217	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	38.86511	22.24657	1.93345215	1.178782
218	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oC]	40.69835	26.7572	2.8425562	2.117941
219	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	39.97252	26.31039	1.18627875	1.508108
220	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oC]	40.94544	24.39298	2.69640305	1.085099
221	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oC]	39.59504	26.25572	2.87140485	1.887767
222	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oC]	34.32736	25.9504	1.1160027	1.377325
223	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	40.65856	25.62251	1.38290445	2.322099
224	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oC]	38.35045	24.81935	1.78788745	5.896552
225	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	38.20957	22.48775	0.8970076	2.000011
226	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	33.35769	27.38264	1.58936325	1.493528
227	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	30.72978	24.56478	1.12605755	0.803606
228	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	41.09495	22.65474	2.4141379	1.912592
229	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oA]	36.5236	24.84599	1.6011969	1.293078

【 0 2 7 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 5】

230	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	34.54957	26.61084	1.41653565	1.233035
231	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oA]	46.03036	34.13517	3.10815325	2.788523
232	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oA]	35.25195	23.45108	1.14545295	0.875176
233	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	39.59948	27.15972	1.1364332	1.671372
234	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oA]	29.84471	24.57841	1.1966453	0.580119
235	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	35.45558	25.43503	3.1614937	2.281794
236	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oA]	33.98368	25.36152	2.2232316	0.753668
237	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oA]	35.20734	26.34259	2.31304315	1.232096
238	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oA]	34.15353	22.53496	1.9007468	1.47269
239	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	34.30311	25.10675	3.04473305	1.325174
240	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oA]	32.7831	26.79337	0.780257	1.496388
241	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	36.83221	25.878	1.45957465	1.202151
242	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	35.39125	26.34255	2.0733604	1.939231
243	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	31.25962	26.87411	1.1648233	1.9468
244	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	33.7126	20.71987	2.985748	2.347571
245	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	37.45041	27.92649	2.2914196	1.775925
246	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	37.40703	27.91025	0.37894275	2.801681

【 0 2 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 6】

247	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	44.1762	24.73343	3.02169625	0.96668
248	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	38.30889	23.31712	1.4411529	1.489325
249	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	38.31735	24.56753	2.5346059	1.77217
250	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	35.17502	26.1372	1.8152499	2.083902
251	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	36.24617	24.66592	1.38376155	0.821536
252	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	38.74019	26.77353	1.6343742	1.579313
253	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	38.33121	30.17397	1.0889853	2.797118
254	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAs oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	44.32188	27.49314	2.67802585	1.31818
255	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oAs oC]	38.70488	30.24362	2.4257059	2.598832
256	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs oAp oGp oCs oAs oAs oCs oAs oC]	43.28825	28.25934	3.05476895	1.497906
257	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	45.77041	30.01057	2.41725105	2.688685
258	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	37.50516	29.19368	3.2609215	1.306107
259	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	37.61875	28.41851	4.79014865	1.914106
260	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	39.57219	25.95941	1.0745636	2.611124
261	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAs oGp oCs oAs oAs oC]	40.85794	29.04845	2.10254735	0.910299
262	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAp oGs oCs oAs oAs oC]	48.57987	31.96517	3.30537215	3.77167
263	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dAp oGp oCs oAs oAs oC]	42.44673	32.35736	1.9875946	2.639212

【 0 2 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 7】

264	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	43.82073	27.45321	2.0919192	1.819505
265	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	40.81426	34.44821	3.2274531	3.246932
266	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	44.58453	32.33173	4.3552897	2.179554
267	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	45.58382	28.39511	0.9009167	1.911982
268	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	42.5512	29.79543	1.03173485	1.860662
269	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	44.6866	30.01983	2.5231542	4.434048
270	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	38.02311	32.80756	3.4793287	4.749247
271	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	48.88263	27.15217	3.5851377	1.816405
272	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oC]	46.69598	30.73665	2.0490884	2.855452
273	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	42.70873	30.68745	3.65148505	3.255575
274	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	40.32396	26.35517	3.335113	2.701905
275	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	40.74281	29.94494	0.6334559	2.557136
276	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	40.29221	27.33965	0.8763938	2.574619
277	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	47.44893	29.86629	2.4738361	2.55434
278	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	46.17489	33.16617	3.1173163	1.327764
279	[oUs oGs oAs oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	46.58545	33.39568	3.2287529	1.864188
280	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dTsdTs 5mCs oAs oAs oCs oA]	43.27573	27.28916	2.31554215	1.262593

【 0 2 7 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 8】

281	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAp dGs oCs oAs oAs oCs oA]	47.10235	32.83978	1.53071395	4.229922
282	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGp oCs oAs oAs oCs oA]	47.70091	29.60736	3.7604108	2.052869
283	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAp dGs oCs oAs oAs oCs oA]	49.28544	34.66856	1.59176345	3.017275
284	[oUs oGs oAp oUs oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAp dGp oCs oAs oAs oCs oA]	49.84421	32.28262	4.79490775	5.858741
285	[oUs oGs oAs oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAp dGp oCs oAs oAs oCs oA]	34.59283	22.87145	3.0164757	2.082604
286	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGp oCs oAs oAs oCs oA]	39.38162	26.12473	1.8902058	1.570875
287	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAp dGs oCs oAs oAs oCs oA]	50.21733	30.06642	3.10898985	1.234999
288	[oUs oGs oAp oUp oCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAp dGp oCs oAs oAs oCs oA]	50.69014	32.61033	2.79327395	1.497337
289	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCs oAs oGs oCs oA]	65.03387	39.71818	3.2453458	1.232538
290	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCs oAs oGs oCs oA]	61.89021	44.17769	3.0819054	2.818603
291	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCs oAs oGs oCs oA]	70.81215	39.23055	5.9432651	2.293842
292	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCs oAs oGs oCs oA]	64.28917	35.27306	4.4374966	2.084275
293	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCs oAp oGs oCs oA]	75.30924	41.75287	6.3677188	3.571926
294	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCp oAs oGs oCs oA]	72.21538	40.63977	9.45384065	2.395694
295	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCp oAp oGs oCs oA]	65.43466	40.60514	4.9966345	4.010523
296	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCs oAp oGs oCs oA]	70.68577	41.62804	4.61698135	0.639112
297	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs oCp oAs oGs oCs oA]	68.70839	43.19171	4.0611799	2.66127

【 0 2 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 9】

298	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oA]	68.74235	42.8638	6.63886525	2.69242
299	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oA]	65.56432	41.13655	2.8508521	1.098556
300	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oA]	73.25913	44.19704	0.3218877	3.006132
301	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oA]	66.80031	44.33691	5.58574735	2.190286
302	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oA]	67.79988	43.25911	3.47248465	2.245861
303	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oA]	69.0764	39.9134	2.2580266	2.514186
304	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oA]	68.85722	43.2033	2.66821415	1.577173
305	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oA]	64.32531	36.98857	6.6048679	1.862941
306	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oA]	79.43795	38.19117	10.61625475	3.700974
307	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oA]	65.05429	35.73871	5.07137215	2.026283
308	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oA]	67.69046	37.80261	3.3970135	1.359287
309	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oA]	72.9064	39.22807	2.6173443	1.983172
310	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oA]	65.42524	41.63383	1.64477605	2.287743
311	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oA]	79.57865	47.30341	3.2793354	4.879421
312	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oA]	74.90458	37.7908	7.9156018	2.492285
313	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oA]	64.17809	41.25918	3.60546685	2.451177
314	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oA]	77.79264	36.3895	5.16839925	1.47233

10

20

30

40

【 0 2 8 0 】

50

【表 3 - 2 0】

315	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oA]	69.27439	40.78583	0.70050225	3.765485
316	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oA]	66.79254	41.42264	4.07791885	2.517419
317	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oA]	69.95295	38.70855	5.1765897	1.322
318	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oA]	64.59882	36.2354	1.94088075	2.245535
319	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oA]	71.61855	40.11992	4.8955589	1.16262
320	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oA]	73.74875	40.87392	1.9294505	0.764434
321	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	69.14922	42.64199	6.9911749	2.990965
322	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	68.03041	40.82452	3.81307025	3.211419
323	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	64.06085	38.06864	3.2673432	2.579056
324	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oC]	64.06883	40.38284	2.58838335	2.66873
325	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	73.59074	39.51843	5.5155268	1.608472
326	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oC]	64.14324	38.43417	2.9521007	1.560155
327	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oC]	67.68504	45.94997	5.2482586	2.096218
328	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	74.0999	38.3912	0.5712221	1.732884
329	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oC]	59.85657	40.50332	4.4957246	1.479709
330	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	62.98679	36.72381	9.8570092	0.854923
331	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oC]	66.22289	38.29377	7.80879995	2.702458

10

20

30

40

【 0 2 8 1 】

50

【表 3 - 2 1】

332	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oC]	64.84554	38.62897	2.9279718	1.019158
333	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oC]	72.02838	42.5541	4.6483644	3.24576
334	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oC]	73.13125	37.42697	3.52337675	2.273121
335	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oC]	65.10868	38.41509	2.69335365	3.463081
336	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oC]	74.0986	41.06858	5.59980225	3.735298
337	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	68.10988	33.22407	2.04506795	1.219344
338	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	61.51268	39.42608	3.2210901	1.60843
339	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	61.62901	38.10779	5.0486966	1.469955
340	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	68.70971	37.9342	9.15707545	2.987791
341	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	64.63658	37.92174	8.0800218	2.867291
342	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	71.59294	36.10313	4.23800025	2.212339
343	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	67.77124	42.50938	4.24974715	0.606911
344	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	62.77385	38.9199	1.20627285	2.566854
345	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	65.30274	37.50644	3.3490132	1.120349
346	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	59.99562	43.52686	2.17603655	3.501488
347	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	76.91818	36.71682	5.11543135	1.003503
348	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	74.07843	40.52268	2.68814825	1.670121

【 0 2 8 2 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 2】

349	[oUs]oUs[oGs]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	66.80045	41.82373	5.23486615	1.955829
350	[oUs]oUs[oGp]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cs oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	71.27418	43.95148	3.022233	1.912625
351	[oUs]oUs[oGp]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAs oGs oCs oAs oAs oCs oA]	68.26772	40.87145	1.67750485	1.489503
352	[oUs]oUs[oGp]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs o Cp oAp oGs oCs oAs oAs oCs oA]	74.70355	46.98739	4.10748375	3.361829
353	[oUs]oUs[oGs]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAs oGs oCs oAs oA]	82.69998	45.53944	2.7748001	5.248864
354	[oUs]oUs[oGp]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAs oGs oCs oAs oA]	75.2964	41.58329	4.28755645	1.604165
355	[oUs]oUs[oGs]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAs oGs oCs oAs oA]	78.25078	38.04859	2.1756527	2.812668
356	[oUs]oUs[oGp]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAs oGs oCs oAs oA]	75.66047	46.42479	5.32824395	3.512293
357	[oUs]oUs[oGs]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAp oGs oCs oAs oA]	70.8279	39.60585	4.17139065	1.315399
358	[oUs]oUs[oGs]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAs oGs oCs oAs oA]	88.71474	41.43116	2.63982225	2.837026
359	[oUs]oUs[oGs]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAp oGs oCs oAs oA]	94.02871	55.61287	3.28254665	5.31701
360	[oUs]oUs[oGp]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAp oGs oCs oAs oA]	81.20155	48.93426	2.9797871	3.293206
361	[oUs]oUs[oGp]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAs oGs oCs oAs oA]	81.56161	43.33641	5.9890201	2.745271
362	[oUs]oUs[oGs]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAp oGs oCs oAs oA]	77.46717	40.6332	6.53245465	2.851351
363	[oUs]oUs[oGs]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAs oGs oCs oAs oA]	91.06332	37.09205	6.16485235	1.515162
364	[oUs]oUs[oGp]oAs oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAp oGs oCs oAs oA]	87.55428	42.57427	3.1016107	2.002001
365	[oUs]oUs[oGs]oAp[oUs]5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAp oGs oCs oAs oA]	90.76046	46.77878	4.93885515	3.608661

10

20

30

40

【 0 2 8 3 】

50

【表 3 - 2 3】

366	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs oAp oGs oCs oAs oA]	76.47815	41.28109	4.02130685	3.175797
367	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAs oGs oCs oAs oA]	81.30346	46.78571	5.4938338	2.280535
368	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp oAp oGs oCs oAs oA]	84.12098	44.30416	5.38885525	2.935461
369	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	70.44063	38.60541	6.7004305	3.620983
370	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	74.17394	36.98506	2.4084315	1.467456
371	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	74.77409	37.54156	7.2673398	1.490426
372	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAs oGs oCs oAs oAs oC]	78.93023	38.38505	5.56282815	3.943036
373	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAp oGs oCs oAs oAs oC]	71.77732	36.26151	4.19725075	2.479808
374	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp dAs oGs oCs oAs oAs oC]	75.98736	46.94162	3.67475295	2.387602
375	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp dAp oGs oCs oAs oAs oC]	83.01221	48.4748	1.83557915	3.954731
376	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAp oGs oCs oAs oAs oC]	73.40898	45.08328	1.55749415	2.879961
377	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp dAs oGs oCs oAs oAs oC]	81.18265	43.25494	2.32470145	2.898854
378	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAp oGs oCs oAs oAs oC]	85.8249	35.81711	7.0913574	1.999337
379	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp dAs oGs oCs oAs oAs oC]	85.9207	39.07233	8.2451204	1.716324
380	[oUs oUs oGp oAs oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp dAp oGs oCs oAs oAs oC]	89.28203	44.69979	3.57026875	2.48225
381	[oUs oUs oGs oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCp dAp oGs oCs oAs oAs oC]	80.47781	43.39312	1.49203405	1.667053
382	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT 5mCs 5mCs 5 mCs dAp oGs oCs oAs oAs oC]	84.37027	35.88873	4.3911855	0.578314

【 0 2 8 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 4】

383	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT Ts 5mCs 5mCs 5 mCp dAs oGs oCs oAs oAs oC]	78.04549	35.55957	3.76452225	3.138921
384	[oUs oUs oGp oAp oUs 5mCs 5mCs dT s dGs dT Ts 5mCs dT Ts 5mCs 5mCs 5 mCp dAp oGs oCs oAs oAs oC]	86.50257	42.97401	7.1309543	0.436476

【 0 2 8 5 】

10

【表 4 - 1】

表 4 .

アンチセン スオリゴ 番号/ 配列番号	バリエーション配列
390	[oUs LGs o5mCs oUs oAs oGs oGs oUs dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s 5mCs oUs oU]
391	[oUs oGs L5mCs oUs oAs oGs oGs oUs dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s 5mCs oUs oU]
392	[oUs oGs o5mCs LTs oAs oGs oGs oUs dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s 5mCs oUs oU]
393	[oUs oGs o5mCs oUs LAs oGs oGs oUs dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s 5mCs oUs oU]
394	[oUs oGs o5mCs oUs oAs LGs oGs oUs dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s 5mCs oUs oU]
395	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs LGs oUs dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s 5mCs oUs oU]
396	[oUs oGs 5mCs dT Ts dAs dGs dGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs o5mCs oAs o5mCs oUs o Gs o5mCs LTs oU]
397	[oUs oGs 5mCs dT Ts dAs dGs dGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs o5mCs oAs o5mCs oUs o Gs L5mCs oUs oU]
398	[oUs oGs 5mCs dT Ts dAs dGs dGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs o5mCs oAs o5mCs oUs L Gs o5mCs oUs oU]
399	[oUs oGs 5mCs dT Ts dAs dGs dGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs o5mCs oAs o5mCs LTs o Gs o5mCs oUs oU]
400	[oUs oGs 5mCs dT Ts dAs dGs dGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs o5mCs oAs L5mCs oUs o Gs o5mCs oUs oU]
401	[oUs oGs 5mCs dT Ts dAs dGs dGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs o5mCs LAs o5mCs oUs o Gs o5mCs oUs oU]
402	[oUs LGs o5mCs oUs oAs oGs oGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s o5mCs oUs oU]
403	[oUs oGs L5mCs oUs oAs oGs oGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s o5mCs oUs oU]
404	[oUs oGs o5mCs LTs oAs oGs oGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s o5mCs oUs oU]
405	[oUs oGs o5mCs oUs LAs oGs oGs dT Ts dGs dAs dT Ts dGs 5mCs dAs 5mCs dT Ts dG s o5mCs oUs oU]

20

30

40

【 0 2 8 6 】

50

【表 4 - 2】

406	[oUs oGs o5mCs oUs oAs LGs oGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dGs o5mCs oUs oU]
407	[oUs oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs oGs o5mCs LT oU]
408	[oUs oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
409	[oUs oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
410	[oUs oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs LT oGs o5mCs oUs oU]
411	[oUs oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs L5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
412	[oUs LGs o5mCs oUs oAs oGs oGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dGs 5mCs oUs oU]
413	[oUs oGs L5mCs oUs oAs oGs oGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dGs 5mCs oUs oU]
414	[oUs oGs o5mCs LT oAs oGs oGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dGs 5mCs oUs oU]
415	[oUs oGs o5mCs oUs LAs oGs oGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dGs 5mCs oUs oU]
416	[oUs oGs o5mCs oUs oAs LGs oGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dGs 5mCs oUs oU]
417	[oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs oGs o5mCs LT oU]
418	[oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
419	[oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
420	[oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs o5mCs LT oGs o5mCs oUs oU]
421	[oGs o5mCs dT dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs oAs L5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
422	[oUs LGs o5mCs oUs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oUs oU]
423	[oUs oGs L5mCs oUs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oUs oU]
424	[oUs oGs o5mCs LT oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oUs oU]
425	[oUs oGs o5mCs oUs LAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oUs oU]
426	[oUs oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs o5mCs LT oU]
427	[oUs oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
428	[oUs oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
429	[oUs oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs LT oGs o5mCs oUs oU]

10

20

30

40

【 0 2 8 7 】

50

【表 4 - 3】

430	[oUs LGs o5mCs oUs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oU]
431	[oUs oGs L5mCs oUs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oU]
432	[oUs oGs o5mCs LTs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oU]
433	[oUs oGs o5mCs oUs LAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs oU]
434	[oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs o5mCs LTs oU]
435	[oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
436	[oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
437	[oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs LTs oGs o5mCs oUs oU]
438	[oUs LGs o5mCs oUs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs]
439	[oUs oGs L5mCs oUs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs]
440	[oUs oGs o5mCs LTs oAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs]
441	[oUs oGs o5mCs oUs LAs oGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT oGs o5mCs]
442	[o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs o5mCs LTs oU]
443	[o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
444	[o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
445	[o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs o5mCs LTs oGs o5mCs oUs oU]
446	[oUs LGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
447	[oUs oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
448	[oUs oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
449	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs LTs oU]
450	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
451	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
452	[oUs LGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dGs dAs dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oU]

10

20

30

40

【 0 2 8 8 】

50

【表 4 - 4】

453	[oUs oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG s o5mCs oU]
454	[oUs oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG s o5mCs oU]
455	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5 mCs LTs oU]
456	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs L5 mCs oUs oU]
457	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LGs o5 mCs oUs oU]
458	[oUs LGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG s o5mC]
459	[oUs oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG s o5mC]
460	[oUs oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG s o5mC]
461	[o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs LTs oU]
462	[o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
463	[o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
464	[oUs LGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG]
465	[oUs oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG]
466	[oUs oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG]
467	[oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs LTs oU]
468	[oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs L5mCs oUs oU]
469	[oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LGs o5mCs oUs oU]
470	[oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5 mCs oUs oU]
471	[oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5 mCs oUs oU]
472	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG s L5mCs oU]
473	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LG s o5mCs oU]
474	[oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5 mCs oU]
475	[oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5 mCs oU]
476	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs L5 mCs oU]

10

20

30

40

【 0 2 8 9 】

50

【表 4 - 5】

477	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LGs o5mCs oU]
478	[oGs L5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mC]
479	[oGs o5mCs LTs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mC]
480	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs LGs o5mC]
481	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs oGs oUs dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT dGs 5mCs oUs oU]
482	[oUs oGs o5mCs dT dT dAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs o5mCs oAs o5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
483	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs oGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT dGs o5mCs oUs oU]
484	[oUs oGs o5mCs dT dT dAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
485	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs oGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT dGs 5mCs oUs oU]
486	[oGs o5mCs dT dT dAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs oAs o5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
487	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT oGs o5mCs oUs oU]
488	[oUs oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
489	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT oGs o5mCs oU]
490	[oGs o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
491	[oUs oGs o5mCs oUs oAs oGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs dT dT oGs o5mC]
492	[o5mCs oUs dAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs o5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
493	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
494	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oU]
495	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mC]
496	[o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
497	[oUs oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oG]
498	[oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]
499	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT dGs 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oUs oU]

10

20

30

40

【 0 2 9 0 】

50

【表 4 - 6】

500	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mCs oU]
501	[oGs o5mCs oUs oAs dGs dGs dT dT dGs dAs dT dT 5mCs dAs 5mCs oUs oGs o5mC]
502	[oUs LTs oGs oAs oUs o5mCs o5mCs oUs dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
503	[oUs oUs LGs oAs oUs o5mCs o5mCs oUs dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
504	[oUs oUs oGs LAs oUs o5mCs o5mCs oUs dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
505	[oUs oUs oGs oAs LTs o5mCs o5mCs oUs dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
506	[oUs oUs oGs oAs oUs L5mCs o5mCs oUs dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
507	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs L5mCs oUs dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
508	[oUs oUs dGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs oUs o5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
509	[oUs oUs dGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs oUs o5mCs o5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
510	[oUs oUs dGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs oUs o5mCs o5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
511	[oUs oUs dGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs oUs o5mCs o5mCs L5mCs oAs oGs o5mCs oA]
512	[oUs oUs dGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs oUs o5mCs L5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
513	[oUs oUs dGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs oUs L5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
514	[oUs LTs oGs oAs oUs o5mCs o5mCs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mCs oA]
515	[oUs oUs LGs oAs oUs o5mCs o5mCs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mCs oA]
516	[oUs oUs oGs LAs oUs o5mCs o5mCs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mCs oA]
517	[oUs oUs oGs oAs LTs o5mCs o5mCs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mCs oA]
518	[oUs oUs oGs oAs oUs L5mCs o5mCs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mCs oA]
519	[oUs oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
520	[oUs oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
521	[oUs oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]

10

20

30

40

【 0 2 9 1 】

50

【表 4 - 7】

522	[oUs oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs L5mCs oAs oGs o5mCs oA]
523	[oUs oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs L5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
524	[oUs LT oGs oAs oUs o5mCs o5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mC]
525	[oUs oUs LGs oAs oUs o5mCs o5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mC]
526	[oUs oUs oGs LAs oUs o5mCs o5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mC]
527	[oUs oUs oGs oAs LT o5mCs o5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mC]
528	[oUs oUs oGs oAs oUs L5mCs o5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mC]
529	[oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
530	[oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
531	[oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
532	[oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs o5mCs L5mCs oAs oGs o5mCs oA]
533	[oUs oGs dAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT o5mCs L5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
534	[oUs LT oGs oAs oUs o5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mCs oA]
535	[oUs oUs LGs oAs oUs o5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mCs oA]
536	[oUs oUs oGs LAs oUs o5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mCs oA]
537	[oUs oUs oGs oAs LT o5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mCs oA]
538	[oUs oUs oGs oAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
539	[oUs oUs oGs oAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs o5mCs o5mCs Cs oAs LGs o5mCs oA]
540	[oUs oUs oGs oAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs o5mCs o5mCs Cs LAs oGs o5mCs oA]
541	[oUs oUs oGs oAs dT 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs o5mCs L5mCs oAs oGs o5mCs oA]
542	[oUs LT oGs oAs oUs o5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mC]
543	[oUs oUs LGs oAs oUs o5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mC]

10

20

30

40

【 0 2 9 2 】

50

【表 4 - 8】

544	[oUs oUs oGs LAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mC]
545	[oUs oUs oGs oAs LTs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oGs o5mC]
546	[oUs oUs oGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
547	[oUs oUs oGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
548	[oUs oUs oGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
549	[oUs oUs oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs L5mCs oAs oGs o5mCs oA]
550	[oUs LTs oGs oAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oG]
551	[oUs oUs LGs oAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oG]
552	[oUs oUs oGs LAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oG]
553	[oUs oUs oGs oAs LTs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs oAs oG]
554	[oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
555	[oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
556	[oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
557	[oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs L5mCs oAs oGs o5mCs oA]
558	[oUs LTs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
559	[oUs oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
560	[oUs oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
561	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
562	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
563	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
564	[oUs LTs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mC]
565	[oUs oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mC]

10

20

30

40

【 0 2 9 3 】

50

【表 4 - 9】

566	[oUs oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mC]
567	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
568	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
569	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
570	[oUs LTs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oG]
571	[oUs oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oG]
572	[oUs oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oG]
573	[oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
574	[oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
575	[oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
576	[oUs LTs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oA]
577	[oUs oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oA]
578	[oUs oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oA]
579	[oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs L5mCs oA]
580	[oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs LGs o5mCs oA]
581	[oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs LAs oGs o5mCs oA]
582	[oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
583	[oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
584	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs LGs o5mC]
585	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs LAs oGs o5mC]
586	[oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mC]
587	[oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dT dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mC]

10

20

30

40

【 0 2 9 4 】

50

【表 4 - 1 0】

588	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs LGs o5mC]
589	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs LAs oGs o5mC]
590	[oUs LGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oG]
591	[oUs oGs LAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oG]
592	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs LAs oG]
593	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs o5mCs oUs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dAs dGs o5mCs oA]
594	[oUs oUs dTsdGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs oUs o5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
595	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs o5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mCs oA]
596	[oUs oUs oGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs o5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
597	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs o5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs dAs oGs o5mC]
598	[oUs oGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs o5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
599	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs s oAs oGs o5mCs oA]
600	[oUs oUs oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
601	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs s oAs oGs o5mC]
602	[oUs oUs oGs dAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
603	[oUs oUs oGs oAs oUs o5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs 5mCs s oAs oG]
604	[oGs oAs dTsdTs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs o5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
605	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs s oAs oGs o5mCs oA]
606	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs s oAs oGs o5mC]
607	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs s oAs oG]
608	[oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
609	[oUs oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dTsdGs dTsdTs 5mCs dTsdTs 5mCs 5mCs o5mCs s oA]

10

20

30

40

【 0 2 9 5 】

50

【表 4 - 1 1】

610	[oAs oUs 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
611	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
612	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
613	[oUs oGs oAs oUs 5mCs 5mCs dT dGs dT dT 5mCs dT 5mCs 5mCs o5mCs oAs oGs o5mCs oA]
617	[oCs oGs oGs oGs oCs dAs dT dT dT dAs dT dT dT 5mCs 5mCs oCs oUs oUs oAs oA]
618	[oGs oAs oUs oCs oAs 5mCs dAs dGs dGs 5mCs dT dT 5mCs dT 5mCs oCs oAs oAs oGs oU]
619	[oUs oAs oAs oAs oUs dAs dT dT dGs dAs dGs dT dT 5mCs 5mCs oCs oGs oGs oGs oC]
620	[oUs oGs oUs oCs oUs dT dT 5mCs dT dGs dAs dT dT dAs dGs oCs oCs oUs oGs oA]
621	[oUs oGs oGs oUs oCs dT dT 5mCs dAs dT dT dAs dT 5mCs dAs dGs oUs oCs oUs oGs oA]

10

【0 2 9 6】

20

参照 MSH3 mRNA NM_002439.4 (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NM_002439.4 (参照によって本明細書に援用される)) の mRNA 配列 (配列番号 614) を以下に提供する。

【0 2 9 7】

【化 2 - 1】

```

1 cgcagacgc ctgggaactg cggccgcggg ctgcgcctcc tcgccaggcc ctgcgcgcgg
61 gctgccatcc ttgccctgcc atgtctcgcc ggaagcctgc gtcggggcgcc ctgcctgcct
121 ccagctcagc ccctgcgagg caagcgggtt tgagccgatt ctccagctc acgggaagcc
181 tgaaatccac ctccctcccc acaggtgcag ccgaccagggt ggaccctggc gctgcagcgg
241 ctgcagcggc cgcagcggcc gcagcgcgcc cagcgcgcgc agctcccgcc ttcccgcccc
301 agctgcgcgc gcacatagct acagaaattg acagaagaaa gaagagacca ttggaaaatg
361 atgggcctgt taaaaagaaa gtaaaagaaag tccaacaaaa ggaaggagga agtgatctgg
421 gaatgtctgg caactctgag ccaaagaaat gtctgaggac caggaaatgt tcaaagtctc
481 tggaaaaatt gaaagaattc tgctgcgatt ctgccctccc tcaaagtaga gtccagacag
541 aatctctgca ggagagattt gcagttctgc caaaatgtac tgattttgat gatatcagtc
601 ttctacacgc aaagaatgca gttctctctg aagattcgaa acgtcaaatt aatcaaaagg
661 acacaacact ttttgatctc agtcagtttg gatcatcaaa tacaagtcac gaaaatttac
721 agaaaaactg ttccaaatca gctaacaac ggtccaaaag catctatacg ccgctagaat
781 tacaatacat agaaatgaag cagcagcaca aagatgcagt tttgtgtgtg gaatgtggat
841 ataagtatag attctttggg gaagatgcag agattgcagc ccgagagctc aatatattat
901 gccatttaga tcacaacttt atgacagcaa gtatacctac tcacagactg ttgtttcatg
961 tacgcgcgct ggtggcaaaa ggatataagg tgggagttgt gaagcaaaact gaaactgcag
1021 cattaaaggc cattggagac aacagaagtt cactcttttc ccggaaattg actgcccctt
1081 atacaaaatc tacacttatt ggagaagatg tgaatccctc aatcaagctg gatgatgctg

```

30

40

【0 2 9 8】

50

【化 2 - 2】

1141 taaatgttga tgagataatg actgatactt ctaccagcta tcttctgtgc atctctgaaa
 1201 ataaggaaaa tgtagggac aaaaaaagg gcaacatctt tattggcatt gtgggagtgc
 1261 agcctgccac aggcgaggtt gtgtttgata gtttccagga ctctgcttct cgttcagagc
 1321 tagaaacccg gatgtcaagc ctgcagccag tagagctgct gcttctctcg gccttgtccg
 1381 agcaaacaga ggcgctcatc cacagagcca catctgttag tgtgcaggat gacagaattc
 1441 gagtcgaaag gatggataac atttatcttg aatacagcca tgctttccag gcagttacag
 1501 agtttttatgc aaaagataca gttgacatca aagggttctca aattatctct ggcatgttta
 1561 acttagagaa gcctgtgatt tgctctttgg ctgccatcat aaaatacctc aaagaattca
 1621 acttggaata gatgtctctc aaacctgaga attttaacaa gctatcaagt aaaatggaat
 1681 ttatgacaat taatggaaca acattaagga atctggaaat cctacagaat cagactgata
 1741 tgaaaaccaa aggaagtgtt ctgtgggttt tagaccacac taaaacttca tttgggagac
 1801 ggaagttaaa gaagtgggtg acccagccac tctttaaatt aagggaata aatgcccggc
 1861 ttgatgctgt atcggaagtt ctccattcag aatctagtgt gtttggtcag atagaaaatc
 1921 atctacgtaa attgcccgac atagagaggg gactctgtag catttatcac aaaaaatggt
 1981 ctaccaaga gttcttcttg attgtcaaaa ctttatatca cctaaagtca gaatttcaag
 2041 caataatacc tgctgttaat tcccacattc agtcagactt gctccggacc gttattttag
 2101 aaattcctga actcctcagt ccagtggagc attacttaaa gatactcaat gaacaagctg
 2161 ccaaagtgtg ggataaaact gaattattta aagaccttct tgacttccct ttaataaaaa
 2221 agaggaagga tgaaattcaa ggtgttattg acgagatccg aatgcatttg caagaatac
 2281 gaaaaatact aaaaaatcct tctgcacaat atgtgacagt atcaggacag gagtttatga
 2341 tagaaataaa gaactctgct gtatcttgta taccaactga ttgggttaaag gttggaagca
 2401 caaaagctgt gagccgcttt cactctcctt ttattgtaga aaattacaga catctgaatc
 2461 agctccggga gcagctagtc cttgactgca gtgctgaatg gcttgatttt ctagagaaat
 2521 tcagtgaaca ttatcactcc ttgtgtaaag cagtgcacac cctagcaact gttgactgca
 2581 ttttctccct ggccaaggtc gctaagcaag gagattactg cagaccaact gtacaagaag
 2641 aaagaaaaat tgtaataaaa aatggaaggc accctgtgat tgatgtgttg ctgggagaac
 2701 aggatcaata tgtcccaaat aatacagatt tatcagagga ctacagagaga gtaatgataa
 2761 ttaccggacc aaacatgggt ggaaagagct cctacataaa acaagttgca ttgattacca
 2821 tcatggctca gattggctcc tatgttctct cagaagaagc gacaattggg attgtggatg
 2881 gcattttcac aaggatgggt gctgcagaca atatatataa aggacagagt acatttatgg
 2941 aagaactgac tgacacagca gaaataatca gaaaagcaac atcacagtcc ttggttatct
 3001 tggatgaact aggaagaggg acgagcactc atgatggaat tgccattgcc tatgtacac
 3061 ttgagtattt catcagagat gtgaaatcct taacctgtt tgtcacccat tatccgccag
 3121 tttgtgaact agaaaaaat tactcacacc aggtggggaa ttaccacatg ggattcttgg
 3181 tcagtgagga tgaaagcaaa ctggatccag gcgcagcaga acaagtccct gattttgtca
 3241 ccttctctta ccaaataact agaggaattg cagcaaggag ttatggatta aatgtggcta
 3301 aactagcaga tgttcctgga gaaattttga agaaagcagc tcacaagtca aaagagctgg
 3361 aaggattaat aaatacgaaa agaaagagac tcaagtatct tgcaaaagtt tggacgatgc
 3421 ataatgcaca agacctgcag aagtggacag aggagttaa catggaagaa acacagactt
 3481 ctcttcttca ttaaaatgaa gactacattt gtgaacaaaa aatggagaat taaaaatacc

10

20

30

40

【 0 2 9 9 】

【化 2 - 3】

```

3541 aactgtacaa aataactctc cagtaacagc ctatctttgt gtgacatgtg agdataaaat
3601 tatgaccatg gtatatccct attggaaaca gagagggttt tctgaagaca gtctttttca
3661 agttttctgtc ttcttaactt ttctacgtat aaacactctt gaatagactt ccactttgta
3721 attagaaaaat tttatggaca gtaagtcacg taaagcotta agtggcagaa tataattccc
3781 aagctttttgg agggtgatat aaaaatttac ttgatatttt tatttgtttc agttcagata
3841 attggcaact ggggtgaatc ggcaggaatc tatccattga actaaaataa ttttattatg
3901 caaccagttt atccaccaag aacataagaa ttttttataa gtagaagaa ttggccaggc
3961 atggtggctc atgcctgtaa tcccagcact ttgggaggcc aaggtaggca gatcacctga
4021 ggtcaggagt tcaagaccag cctggccaac atggcaaac cccatcttta ctaaaaatat
4081 aaagtacatc tctactaaaa atacgaaaaa attagctggg catggtggcg cacacctgta
4141 gtccagctc ctccggaggc tgaggcagga gaatctcttg aacctgggag gcggagggtg
4201 caatgagccg agatcacgtc actgcactcc agcttgggca acagagcaag actccatctc
4261 aaaaaaaaaa aaagaaaaaa gaaaagaaat agaattatca agctttttaa aactagagca
4321 cagaaggaaat aagggtcatga aattttaaag gttaaatatt gtcataggat taagcagttt
4381 aaagattgtt ggatgaaatt atttgtcatt cattcaagta ataaatatat aatgaatact
4441 tgctataaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa

```

10

20

【0300】

実施例 2 . 薬物動態プロファイル及び忍容性

目的

本試験の目的は、10mgを超える用量レベルでのアンチセンスオリゴ番号289の投与の薬物動態プロファイル、ならびに単回脳室内（ICV）注射後のその忍容性及びMSH3 mRNAのサイレンシングにおける効果を評価することである。得られたデータは、ファースト・イン・ヒューマン（FIH）試験における投薬の12週間以内にトラフレベルで尾状核において40%超及び50%超のMSH3 mRNAサイレンシングを達成する投薬レジメンを予測するために、薬物動態及び薬力学（PK/PD）のモデリング及びシミュレーションを行うためにも使用される。

30

【0301】

実験デザイン

本試験では、16頭の雌カニクイザル（NHP）をランダム化した。投薬後2時間、8時間、24時間、48時間、8日目、15日目、及び29日目に剖検を計画した（各時点でN=2頭）。用量レベルの忍容性をモニターするために、開始用量レベルとして15mgで用量漸増を開始した。0.1mL/分の注入速度で単回ICV注射により2mLのアンチセンスオリゴ番号289を送達した。最大2頭の歩哨動物に各用量レベルで投薬を行い、2～24時間にわたって臨床徴候をモニターすることとした。15mgの用量レベルが良好に忍容されなければ、単回ICV注射を介して12mgをサルに投薬し、2～24時間にわたって臨床徴候をモニターする。

40

【0302】

様々な中枢神経系（CNS）及び末梢器官からの組織を各剖検時点で収集する。CSF及び血漿試料を生存動物から、また剖検時に収集する。CSF、血漿、脳組織（大脳皮質、尾状核及び被殻、側座核）、肝臓及び腎臓におけるアンチセンスオリゴ番号289の濃度を、LC-MS/MSを使用して測定する。大脳皮質、尾状核、被殻、及び側座核におけるMSH3 mRNA及びタンパク質のノックダウンを、RT-qPCR、及びウェスタンブロットまたはELISAを使用して測定する。

【0303】

50

群 No.	試験 材料	用量レベル (mg) ^a	用量体積 (mL)	用量濃度 (mg/mL) ^a	動物 数	剖検時点
1	アンチセンスオリゴ 番号 289	TBD (最大 25mg)	2	TBD	2	2 時間 (hr)
2	アンチセンスオリゴ 番号 289	TBD (最大 25mg)	2	TBD	2	8 時間 (hr)
3	アンチセンスオリゴ 番号 289	TBD (最大 25mg)	2	TBD	2	24 時間 (hr)
4	アンチセンスオリゴ 番号 289	TBD (最大 25mg)	2	TBD	2	48 時間 (hr)
5	アンチセンスオリゴ 番号 289	TBD (最大 25mg)	2	TBD	2	8 日目
6	アンチセンスオリゴ 番号 289	TBD (最大 25mg)	2	TBD	2	15 日目
7	アンチセンスオリゴ 番号 289	15	2	7.5	2	29 日目
8	ビヒクル (aCSF)	0	2	0	2	27 日目

No.=番号、h/hr=時間

^a 群 7 において初期用量レベル 15mg が直ちに忍容性良好であれば、群 6 について用量レベルを 20mg に増加させる。群 6 において 20mg が直ちに忍容性良好であれば、群 5 の最初の動物について用量レベルを 25mg に増加させる。その動物で 25mg が忍容性良好であれば、残りの試験動物に 25mg を投薬する。

15mg 用量が忍容性不良であれば（例えば、後続群に投薬する前に、重度であるか、介入を必要とするか、悪化するか、または典型的な一過性の処置関連所見ではない、神経学的徴候または他の臨床徴候が生じた場合）、後続の全ての動物に対する用量を 12mg に低下させる。

【 0 3 0 4 】

臨床所見の中間結果

2 頭の雌カニクイザル（29 日目）に単回 I C V 注射を介して 1 5 m g を投薬した。第 1 のサルは投薬後 3 時間あたりで運動失調になり、嘔吐し始め、姿勢が前かがみになった。同被験体は悪心抑制剤（セレンシア）の投与後に安定した。同被験体は 2 4 時間後に回復しており、2 9 日目の剖検まで試験を継続する。第 2 のサルは投薬後およそ 4 時間で運動失調になり、前かがみになり、活動が大幅に減少し、瞳孔反射が減少し、側臥位になった。獣医と相談した後、この動物を投薬のおよそ 4 ～ 5 時間後に安楽死させた。

【 0 3 0 5 】

第 3 のサルに 1 2 m g の単回注射を I C V 投与したところ、投薬は良好に忍容された。さらに 5 頭の N H P に、2 4 時間（n = 2）、4 8 時間（n = 2）、8 日目（n = 1）、1 5 日目（n = 1）の P K / P D 時点に関して、1 2 m g の単回注射を I C V 投与した。合計で 8 頭の N H P に投薬を行った（2 頭は 1 5 m g、6 頭は 1 2 m g）。2 頭の N H P はビヒクル対照用である。5 頭のうち 3 頭の N H P は、運動失調、立ち直り反射の異常、

10

20

30

40

50

振戦を経験し、回復期間中に断続的に側臥位である。しかしながら、全ての動物が介入なしで24～36時間後に正常な状態に回復した。

【0306】

実施例3. 非ヒト霊長類（NHP）における薬物動態／薬力学（PK／PD）調査
髄腔内（IT）注射経路を使用したNHPにおけるアンチセンスオリゴ番号289のPK／PDの調査

実験デザイン

12頭の雄カニクイザルに、10mgのアンチセンスオリゴ番号289（2mL）（人工CSF中）を単回IT注射により投与した。投薬後2時間、8時間、24時間、48時間、168時間（7日）及び672時間（28日）で剖検を実施した（各時点でN=2頭）。脳脊髄液（CSF）ならびに様々な中枢神経系（CNS）領域及び末梢器官からの組織を各剖検時点で収集した。血漿試料を生存動物から、また剖検時に収集した。CSF、血漿、脳組織（大脳皮質、尾状核及び被殻）、肝臓及び腎臓におけるアンチセンスオリゴ番号289の濃度を、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC-MS/MS）を使用して測定した。リアルタイム定量的ポリメラーゼ連鎖反応（RT-qPCR）を使用して、大脳皮質、尾状核、被殻、及び腰髄におけるMSH3のmRNAレベルを測定した。

10

【0307】

実験結果

単回IT注射後のCSF中のアンチセンスオリゴ番号289の濃度－時間プロファイルは、見かけは多相性であり、初期分布が速かった。血漿においても同様の濃度－時間プロファイルが観察された。脳組織（大脳皮質、尾状核及び被殻）及び末梢組織（肝臓及び腎臓）は、アンチセンスオリゴ番号289の様々な曝露レベル、及び遅い見かけの排出相を示した。マルチコンパートメントPKモデルを開発した。これは、測定した全ての組織で観察された濃度－時間プロファイルに十分に適合した。

20

【0308】

別の試験によりビヒクル投薬（人工CSF）対照動物から得られたCNS組織、または本試験の早期時点（2時間）で収集された組織と比較すると、MSH3のmRNAレベルの有意な低下は腰髄でのみ観察され、大脳皮質、尾状核及び被殻では、MSH3のmRNAレベルの有意な低下は観察されなかった（図1A～1D）。

30

【0309】

脳室内（ICV）注射経路を使用したNHPにおけるアンチセンスオリゴ番号289のPK／PDの調査

実験デザイン

15頭の雌カニクイザルに、10mgのアンチセンスオリゴ番号289（2mL、人工CSF中）を単回ICV注射により投与した。アンチセンスオリゴ番号289を側脳室後角に注入した。投薬後2時間、8時間、24時間、48時間、168時間（7日）、336時間（14日）及び672時間（28日）で剖検を実施した（336時間（14日）のN=3を除いて各時点でN=2頭）。注射を与えなかった2頭のナイーブ動物を殺し、対照とした。作用持続時間を84日目までさらに調査した。6頭の雌カニクイザルに、10mgのアンチセンスオリゴ番号289を単回ICV注射により投薬した。剖検を42日目、56日目、及び84日目に実施した（各時点でN=2）。

40

【0310】

様々なCNS領域及び末梢器官からの組織を各剖検時点で収集した。CSF及び血漿試料を選択的生存動物から、また剖検時に収集した。CSF、血漿、脳組織（大脳皮質、尾状核及び被殻）、肝臓及び腎臓におけるアンチセンスオリゴ番号289の濃度を、LC-MS/MSを使用して測定した。RT-qPCRを使用して、大脳皮質、尾状核、被殻、及び腰髄におけるMSH3のmRNAレベルを測定した。

【0311】

実験結果

50

単回 I C V 注射後の C S F 中のアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の濃度－時間プロファイルは、見かけは多相性であり、初期分布が速かった。血漿においても同様の濃度－時間プロファイルが観察された。脳組織（大脳皮質、尾状核及び被殻）及び末梢組織（肝臓及び腎臓）は、アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の様々な曝露レベル、及び遅い見かけの排出相を示した。脳組織では、同じ用量（1 0 m g）での I T 注射後に観察された濃度よりも有意に高いアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の濃度が観察された。マルチコンパートメント P K モデルを開発した。これは、測定した全ての組織で観察された濃度－時間プロファイルに十分に適合した。

【0 3 1 2】

本試験のナীব对照動物から得られた C N S 組織と比較すると、大脳皮質及び尾状核で M S H 3 の m R N A レベルの有意な時間依存的低下が観察され、2 9 日目のノックダウン（K D）はそれぞれ 7 6 % 及び 4 6 % であった（投薬 2 8 日後、図 2 A ～ 2 D）。被殻において有意な M S H 3 m R N A の K D は観察されなかった。

【0 3 1 3】

同側及び対側の両方の皮質（前頭皮質及び側頭皮質）及び側座核で M S H 3 m R N A の有意な K D が観察された（図 4 A ～ 4 B を参照されたい）。8 日目、1 5 日目、及び 2 9 日目の K D 率をそれぞれ以下に示す。

前頭皮質：

- ・ 同側：5 3（**）、6 5（***）及び 6 8 %（***）
- ・ 対側：6 3、6 7（***）及び 8 1 %（***）

側頭皮質

- ・ 同側：2 3、6 4（***）及び 7 7 %（***）
- ・ 対側：3 6（*）、5 1（***）及び 6 6 %（***）

側座核

- ・ 同側：4 3（**）、4 8（***）及び 7 0 %（***）
- ・ 対側：2 0、3 6（*）及び 4 8 %（**）

【0 3 1 4】

同側の尾状核では M S H 3 m R N A のおよそ 4 0 % 以上の K D が 1 5 日目（3 9 % *）及び 2 9 日目（4 6 % *）に観察された。対側の尾状核では有意な K D は検出されなかった。

【0 3 1 5】

被殻では、有意な M S H 3 m R N A の K D は観察されなかった。

【0 3 1 6】

M S H 3 m R N A は、同側小脳において、1 5 日目に 4 7 %（***）、2 9 日目に 3 9 %（**）と、有意にノックダウンされた。

【0 3 1 7】

線形混合効果モデルでのナীবに対するペアワイズ比較からの P 値：M S H 3 倍率変化～（1 | 動物）+ ハウスキーパー + 組織 * 時間。注：2 時間、8 時間、2 4 時間、4 8 時間の時点（効果なし）を分析に含めた（* P < 0 . 0 5、** P < 0 . 0 1、*** P < 0 . 0 0 1）。

【0 3 1 8】

これらの結果は、1 0 m g の用量レベルでのアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の投与が、N H P において側脳室後角への単回 I C V 注射後に M S H 3 m R N A の有意かつ広範囲なノックダウンをもたらすということを実証している。いくつかの脳領域では、半球にかかわらず、同様の m R N A ノックダウン効果が得られた。

【0 3 1 9】

マルチコンパートメント組織 P K 及び間接応答 P D（S h a r m a & J u s k o, B r J C l i n P h a r m a c o l 4 5 : 2 2 9 – 2 3 9（1 9 9 8））に基づいて、統合された P K / P D モデルを開発した。この P K / P D モデルは、大脳皮質、尾状核及び被殻で観察された、観察された時間依存的な M S H 3 m R N A 応答に十分に適合した

10

20

30

40

50

。84日目までの作用持続時間に関する現在のデータに基づき、PK/PDモデルにより、 $S_{max} = 4.7$ (E_{max} 約18%)、 $SC_{50} = 8.6 \mu g/g$ 、及びヒル係数 $\gamma = 1.8$ を用いて、NHPにおけるMSH3 mRNA分解の刺激についてのアンチセンスオリゴ番号289のインビボ効力を推定した。

【0320】

NHPにおけるアンチセンスオリゴ番号289のICV対ITの単回10mg注射後のPK/PDの比較に関する結論

NHPにおいて同じ用量(10mg)では、アンチセンスオリゴ番号289のICV経路による投与は、IT経路よりも、大脳皮質、尾状核及び被殻において有意に高い濃度を示した。ICV投与の際、MSH3 mRNAの有意かつ時間依存的なノックダウンレベルが大脳皮質及び尾状核で観察されたが、被殻では観察されなかった。現在のデータに基づいて、観察されたデータを適切に記述し、MSH3 mRNA分解の刺激におけるアンチセンスオリゴ番号289のインビボ効力を推定するPK/PDモデルを開発できる可能性がある。

10

【0321】

NHPにおけるアンチセンスオリゴ番号289の単回ICV注射による用量漸増PK/PD試験の根拠及びデザイン

PK/PD応答及び忍容性の用量依存性をさらに検証するために、NHPにおける用量漸増試験が進行中である。14頭の雌カニクイザルに、アンチセンスオリゴ番号289(2mL)(人工CSF中)を、15mgから始まる単回ICV注射により投与する。用量レベルは、忍容性の臨床所見に基づいて調整する。投薬後2時間、8時間、24時間、48時間、168時間(7日)、336時間(14日)及び672時間(28日)で剖検を実施する(各時点でN=2頭)。様々なCNS領域及び末梢器官からの組織を各剖検時点で収集する。CSF及び血漿試料を選択的生存動物から、また剖検時に収集することとする。全ての関連する脳組織及び末梢組織ならびにCSF及び血漿を、上記のようにアンチセンスオリゴ番号289の濃度及びMSH3 mRNAレベルについて分析する。

20

【0322】

実施例4. 配列番号617を使用した3つの投与経路(RoA)についての生体内分布の調査

配列番号617のオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を本調査に使用した。配列番号617のオリゴヌクレオチドを7mgのボラスとしてCSF中に配合した。この組成物を使用して、IT、大槽内(「ICM」)、及びICV注射での脳における生体内分布を評価した。全てのRoAで同じ用量を注射し、15日後にKDを評価した。図3に示すように、ICV注射は、全てのRoAで最高の全体KDを達成した。

30

【0323】

実施例5. 用量漸増試験—アンチセンスオリゴ番号289のICV投与

非ヒト霊長類における単回ICV注射後のMSH3 mRNAの低下に対するアンチセンスオリゴ番号289の効果を調査した。

【0324】

動物2頭に与えた15mgの初期用量により有害な臨床徴候が生じ、動物1頭の早期安楽死が必要となった。その後、動物6頭に12mgの耐用量を投薬した。動物6頭のうち4頭は一過性の有害な臨床徴候を示した。次いで、別の群の動物6頭に10mgのICV用量を与え、注射の6週後、8週後、及び12週後(各時点で2頭)にMSH3 mRNAを測定することによって、アンチセンスオリゴ番号289の作用持続時間を評価した。脳の様々な領域でのMSH3 mRNA発現が、単回用量(12mg及び15mg)のICV注射後に用量依存的な低下を示した(図5A~5E)。

40

【0325】

8日目(10mg用量及び12mg用量)及び29日目(10mg用量及び15mg用量)のアンチセンスオリゴ番号289の単回ICV注射後のMSH3 mRNAのノックダウン率を下表5及び6に示す。これらの結果は、アンチセンスオリゴ番号289の単回

50

ICV投薬後にMSH3 mRNA発現が低下することを実証している。

【0326】

【表5】

表5.

脳組織	10mg ICV 後 8 日目の KD% (n=2)		12mg ICV 後 8 日目の KD% (n=1)	
	同側	対側	同側	対側
尾状核	30	-4	45	60
被殻	-11	該当なし	48	54
側座核	43	31	50	44
前頭皮質	54	63	54	43
側頭皮質	23	36	51	65

10

【0327】

【表6】

20

表6.

脳組織	10mg ICV 後 29 日目の KD% (n=2)		15mg ICV 後 29 日目の KD% (n=1)	
	同側	対側	同側	対側
尾状核	46	24	69	47
被殻	-5	該当なし	-5	23
側座核	70	47	68	77
前頭皮質	69	81	87	82
側頭皮質	77	66	86	86

30

【0328】

実施例6. アンチセンスオリゴ番号289のIT投与後のMSH3 mRNA及びタンパク質ノックダウンの調査

アンチセンスオリゴ番号289をNHPに髄腔内投与し、前頭皮質におけるMSH3 mRNA及びタンパク質ノックダウンの結果を調査した。アンチセンスオリゴ番号289を1日目及び15日目に2回注射した。1群あたり3頭の動物を30日目（1回目のIT注射の29日後）に殺した。脳を取り出し、皮質、尾状核及び被殻を含む目的領域からのパンチをRNA及びタンパク質アッセイのために処理した。アンチセンスオリゴ番号289を投与した動物におけるMSH3 mRNAは、他のアンチセンスオリゴまたは対照（aCSF）を投与した動物と比較して抑制された（図6）。アンチセンスオリゴ番号289を投与した動物は、他のアンチセンスオリゴを投与した動物と比較して約67%のMSH3タンパク質を産生した（図7）。

40

【0329】

実施例7：投薬方針－安全性マージン評価

主要な脳組織で所望のMSH3 mRNAノックダウン（KD）を維持しながら、脳脊

50

髄液（CSF）中のアンチセンスオリゴ番号289の予測 C_{max} を前臨床所見閾値未満に維持するための様々な投薬方針を検討した。

【0330】

投薬方針は、NHPにおける以下の臨床所見に関連する：

- ・ 10mgの単回ICV用量では696 μ g/mLのCSF C_0 に達した。投薬は良好に忍容された。
- ・ 線形PKを仮定して、12mgの単回ICV用量では835 μ g/mLのCSF C_0 を外挿した。この用量での有害な臨床所見は可逆であった。

【0331】

ヒトの尾状核及び皮質で50%超、被殻でおよそ30%KDの所望されるKDについて

10

- ・ 150mg Q28D $\times$ 2（28日ごとに150mgのICV用量を2回）とそれに続く150mg Q168D $\times$ n（168日ごとに150mgの維持ICV用量をn回）の投与レジメンでは、610 μ g/mLのCSF C_{max} が予想される。NHP試験によるCSF C_0 値の1.1倍及び1.2倍低い。

- ・ 75mg Q14D $\times$ 2（14日ごとに75mgのICV用量を2回）とそれに続く75mg Q84D $\times$ n（84日ごとに75mgの維持ICV用量をn回）の投与レジメンでは、300 μ g/mLのCSF C_{max} が予想される。NHP試験によるCSF C_0 値の2.3倍及び2.8倍低い。

【0332】

20

実施例8：マウス網膜における単回硝子体内（IVT）注射の忍容性及び有効性

本試験の目的は、単回硝子体内（IVT）注射後の野生型C57BL6マウスの網膜における忍容性及び有効性について、異なる用量でのアンチセンスオリゴ番号617を評価することであった。このプロトコルは、Institutional Animal Care and Use Committee（IACUC）により審査及び承認され、全ての動物福祉上の懸念が対処及び文書化されている。

実験群：

- ・ PBS 1 μ l：n=5
- ・ アンチセンスオリゴ番号617 50 μ g/1 μ l：n=5
- ・ アンチセンスオリゴ番号617 100 μ g/1 μ l：n=5

30

【0333】

試験デザイン

処置溶液：

ドライアイス上のアンチセンスオリゴ番号617ストック溶液（100 μ l、100mg/mL）を受け取り、 -80°C で保管した。ストック溶液をPBS（Gibco 10010-031）で1：1（例えば、10 μ l（ストック）：10 μ l（PBS））に希釈して、50 μ g群用に50mg/mLの最終溶液を作製した。100 μ g群にはストック溶液を使用した。1マイクロリットル（1 μ l）を各動物に与え、最終用量を0 μ g、50 μ g、または100 μ gとした。

【0334】

40

硝子体内注射（IVT）

100% O_2 中で2～3%のイソフルランにより動物に麻酔をかけた。麻酔後、0.5%トロピカミド1滴を使用して瞳孔を拡張させた。IVT注射の前に、局所麻酔としてプロパラカインをマウスの眼に適用した。マウスを外科スコープの下に配置して、眼の上側頭強膜（superior temporal sclera）領域を露出させた。滅菌30ゲージ針を使用して、おおよそ扁平部のレベルで上側頭強膜を穿刺した。眼の筋肉及び血管は避けた。溶液を含有する32ゲージの鈍針を備えた調製済みハミルトンシリンジの先端を、強膜の穿刺孔を通しておおよそ45°の角度で硝子体に挿入した。1マイクロリットルの溶液を硝子体液中にゆっくりと注射し、針を所定の位置に数秒間留置させた後、引き抜いた。水晶体及び網膜と一切接触しないように特に注意を払った。針を完全に引

50

き抜いた後、感染をさらに予防するために、トブラマイシン眼科用抗生物質軟膏を注射部位に適用した。この処置を両眼に行った。次いで、動物を回復チャンバ内の加熱パッド上に置いて麻酔から回復させ、その後、ホームケージに戻した。

【0335】

動物の重量及び観察

I V T 注射後14日目に、マウスをCO₂で安楽死させた。眼全体を収集し、ドライアイスで手短に凍結した。次いで、眼の前房を除去するために、眼を部分的に解凍した。技術的な理由により、硝子体の損失を防ぐために、収集した硝子体液試料に水晶体を含めた。網膜(RPE (網膜色素上皮) 細胞を含む)を収集し、個別に凍結した。

【0336】

Q R T - P C R

組織サイズが小さいため、RPEを含む左及び右の網膜をmRNA分析用にプールした。QRT-PCRを実施して、3つの実験群からの網膜におけるマウスMSH3遺伝子のmRNAを評価した。HPRT遺伝子は、データの正規化のためのハウスキーピング遺伝子として使用した。結果を図8に示す。図8に示すように、野生型マウスの網膜において、単回I V T注射後に有意なMSH3 mRNAノックダウンがあった。

【0337】

実施例9：アンチセンスオリゴ番号289 (10mg) の単回I C V投与後の作用持続時間

NHPにおけるアンチセンスオリゴ番号289の単回I C V投与から6週後、8週後、及び12週後のmRNAノックダウンの作用持続時間を調査した。2頭の人工CSF処置NHP及び2頭のナイーブNHPを対照として使用した。PK/PD I C Vモデリング試験による29日目の組織試料(上記実施例3、N=2)を、全ての異なる時点で比較対象として使用した。本試験では、人工脳脊髄液(等容積ではない)中の2mLのアンチセンスオリゴ番号289を側脳室後角に投与した。本実験の統計分析ペアワイズ比較は、処置群と人工CSF処置対照との間で比較した。

【0338】

結果

アンチセンスオリゴ番号289の単回10mg I C V用量は、最長12週間にわたる持続的で有意なMSH3 mRNAノックダウンをもたらした。特に、最長12週間にわたる持続的で有意なMSH3 mRNAノックダウンは、皮質(図9A~9D)、尾状核(図10A~10B)、及び側座核(図11A~11B)で達成された。同側被殻では、有意なMSH3 mRNAノックダウンが8週及び12週に観察された(図12A~12B)。対側被殻では、有意なノックダウンは検出されなかった。

【0339】

実施例10：アンチセンスオリゴ番号289の単回I C V投与のPK/PDモデリング

単回I C V PK/PDモデリングを使用して、12週間以内に尾状核においてmRNAのKDが50%を超える投薬レジメンを予測した。

試験デザイン：

- ・ I C V 注射：後角(後方側脳室)
- ・ 剖検時点：2時間、8時間、24時間、48時間、8日、15日、及び29日

【0340】

エンドポイント分析は、脳領域におけるmRNAのKD、生体液、脳領域、肝臓及び腎臓におけるPKを決定し、PK/PDモデルによるシミュレーション/予測から結果を収集するために行った。

【0341】

結果

有意なmRNAのKDが、同側及び対側の皮質において、最長4週間にわたり達成された(図13A及び13B)。

【0342】

10

20

30

40

50

有意なmRNAのKDが、同側の尾状核頭及び尾状核体、扁桃体、視床下部、海馬、視床、黒質、脳橋、延髄（図14A～14I）、ならびに注射部位近傍の同側白質において、最長4週間にわたり達成された（図15A～図15B）。有意なmRNAのKDは、同側及び対側の両方の脳橋でも達成された。

【0343】

これらの結果は、良好に忍容される用量レベルでのアンチセンスオリゴ番号289の単回ICV投与が、NHPにおいて有意かつ広範囲なmRNAのKDを達成することを実証している。

【0344】

実施例11：Q111マウスにおける核内封入体に対する500µgの投与の効果

HttQ¹¹¹/+マウスにおける500µg及び300µg用量のアンチセンスオリゴ番号617のICV投与について調査した。5.5か月齢の同齢野生型（C57BL6）マウスまたはHttQ¹¹¹/+マウスの右心室に、滅菌PBSまたはアンチセンスオリゴ番号617（300µgまたは500µgの用量レベル）のいずれかの初回ICV注射を与えた（n=15/群）。全群のマウスに、3回の追加のICV注射を試験終了まで8週ごとに1回（n=4回のICV注射）、左心室と右心室とでローテーションして与えるようスケジュール設定した。血漿及びCSFを剖検時に各動物から収集した。全脳を単離し、半球に分け、線条体及び皮質を組織学的分析（例えば、核内封入体）または分子分析（MSH3 mRNA及び体細胞増殖）のいずれかのために別々に急速凍結した。

【0345】

500µg用量群では、アンチセンスオリゴ番号617の3回目の500µg ICV注射後に、全ての動物で有害な臨床所見が生じた。血漿中のNfL及びGFAPレベルの上昇が観察され、おそらく脳内での持続的な軸索損傷及び免疫活性化が示唆された。しかしながら、線条体及び皮質では55～70%のMSH3ノックダウンが観察され、これがさらなる体細胞増殖を妨げた。処置マウスでは、対照（リン酸緩衝食塩水）と比較して、核内封入体サイズの軽度の増加が観察されたが、線条体で計数された核内封入体の総数には、処置マウスと対照マウスとの間に統計学的差異は観察されなかった。

【0346】

300µg用量群では、試験全体を通じて有害な臨床所見は観察されなかった。しかしながら、300µgのアンチセンスオリゴ番号617で処置したHttQ¹¹¹/+及び野生型のマウスは、バランスビームを渡るのに対照マウスよりも長い時間を要した。核内封入体の数及びサイズは、処置群と対照との間で類似していた。

【0347】

核内封入体（NI）は、変異HTTタンパク質の蓄積を反映しており、これは、当該変異HTTタンパク質を認識した抗体により検出することができる。神経組織におけるNIの出現は、HD神経病理学において認識されている部分であるが、NIの形成、正確な組成、及び生物学的帰結は完全には理解されていない。マウスでの遺伝子分析は、NIの形成がニューロン組織の体細胞増殖に関連していることを示唆している。アンチセンスオリゴ番号617は、本試験では、さらなる体細胞増殖を停止させたにもかかわらず、NIを減少させることができなかった。考えられる解釈はいくつかある。

【0348】

NfL及びGFAPの上昇によって示されるニューロン損傷が、減少が起こらない一因となった可能性がある。

【0349】

体細胞増殖がすでに著しく強まっていたので、5.5か月齢で治療処置を開始するのは遅すぎた。

【0350】

線条体組織では55%を超えるMSH3 mRNAの減少を達成する必要がある。

【0351】

実施例12：500µgのアンチセンスオリゴ番号617で処置したマウスにおけるNf

10

20

30

40

50

L 及び GFAP の血漿レベル

HttQ¹¹¹/+マウス及び野生型マウスにおける500 µgのアンチセンスオリゴ番号617のICV投与の効果について調査した。

【0352】

簡潔に述べると、NfL、GFAP、UCHL1、及びタウをQuanterix 4-Plexヒトアッセイパネルで測定した（タウは、ヒトとマウスとの間の保存不良のため検出されなかった）。全ての処置動物を、3回目の500 µg投薬からおよそ6週後に安楽死させた。安楽死後には脳脊髄液を収集しなかった。

【0353】

NfL及びGFAPの血漿レベルの上昇が観察された。これらの所見は以下を示唆している。

- ・ 血漿中のNfLレベルの上昇は、持続的な軸索損傷を示唆している。
- ・ 血漿中のGFAPレベルの上昇は、脳内のミクログリアの活性化を示唆している。
- ・ NfLの増加は、おそらく、非常に高レベルのアンチセンスオリゴヌクレオチドによる脳の処置に起因している。

【0354】

PBSのICV注射を受けた野生型マウス及びHttQ¹¹¹/+マウスは、NfLまたはGFAPのいずれの上昇も示さなかった。代替ツールの化合物を調査するために、追加のASOを実施例12に記載の通りに試験した。

【0355】

実施例13：野生型マウスにおける忍容性及び活性に関する新規MSH3 ASOのスクリーニング

初回Axolabスクリーニングから、MSH3 KDが最大となる4つのMSH3 ASOを選択した。アンチセンスオリゴ番号617を対照として含めた。C57BL6マウス（N=6／群）に、100 µg及び300 µgの2つの用量レベルで単回ICV注射を与えた。対照群は、PBS投与対照群であった。マウスを投与の4週後に安楽死させ、線条体、皮質、及び脳の残部を収集した。MSH3 mRNAのノックダウンを測定した。ベースライン時、投与の7日後、及び28日後に血漿を収集し、剖検時（28日）にCSFを収集した。血漿及びCSFをQuanterix Corp.（Billerica, MA）に送り、同社のHuman Neuro 4-Plexアッセイを使用したNfL、タウ、GFAP、及びUCHL1の分析にかけた。注：タウレベルは全試料では検出されなかった。これはおそらく、ヒトとマウスとの間の保存不良に起因する。

【0356】

4つの被験ASOは、アンチセンスオリゴ番号618、アンチセンスオリゴ番号619、アンチセンスオリゴ番号620、及びアンチセンスオリゴ番号621であった。

【0357】

結果

アンチセンスオリゴ番号619は、ICV投与後に良好に忍容され、強力なMSH3ノックダウンを示し、臨床所見を示さなかった。アンチセンスオリゴ番号619は、アンチセンスオリゴ番号617と比較すると、皮質において同様のMSH3ノックダウンを示した。しかしながら、アンチセンスオリゴ番号618、アンチセンスオリゴ番号620、及びアンチセンスオリゴ番号621の各々の投与は、発作及び死亡を含むネガティブな臨床転帰を引き起こした。

【0358】

これらの結果は、以下を示している。

- ・ ASOの忍容性は、効力（すなわち、MSH3 KD）と関連しておらず、
- ・ ASOの忍容性は、NfLの上昇と関連しておらず、
- ・ NfLの上昇は、ASO特異的かつ用量依存的と見受けられ、
- ・ 血漿NfL上昇は持続的であり、長期化した軸索損傷を示唆している。

【0359】

10

20

30

40

50

試験した被験 A S O はいずれも、100mg または 300mg のいずれかでの単回 I C V 後に G F A P の C S F レベルまたは血漿レベルを上昇させなかった。これにより、G F A P を増加させ、H T T Q 1 1 1 / + 試験（実施例 1 1）において 500mg 配列番号 6 1 7 群で観察された効果を再現するためには、より高い用量及び／または複数の用量のいずれかが必要であり得ることが示唆される。

【0360】

実施例 1 4：忍容性を決定するためのアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の I C V 送達プロトコール

最大耐用量の評価を可能にする非ヒト霊長類のための代替的な I C V 送達プロトコールを調査した。初期の I C V 注射プロトコールをパイロット用量漸増プロトコールと比較した。所見を以下に提示する。

10

【0361】

初期の N H P 投薬プロトコールは、側脳室後角への 2 mL の注射であった（C S F は除去しない）。この投薬では、アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 は良好に忍容された。研究者らは、29 日目に尾状核（45% 超）及び皮質（75% 超）で有意なノックダウンを観察した。

【0362】

パイロット N H P 投薬プロトコールは、側脳室後角への 2 mL の注射であった（C S F は除去しない）。20% の用量増加では、6 頭のうち 4 頭の N H P に一過性運動失調が生じ、50% の用量増加では、2 頭のうち 1 頭の N H P で安楽死を必要とする有害性が生じた。もう 1 頭の N H P は一過性の症状を示した。

20

【0363】

計画された N H P 投薬プロトコールは、側脳室前角への 1 mL の注射である（C S F を除去する）。

【0364】

実施例 1 5：非ヒト霊長類（N H P）試験におけるアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の投与 1 2 5 頭を超えるカニクイザルにアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 が投薬されている。これらの研究は、以下を示している。

- ・ 脳深部領域において M S H 3 のロバストなノックダウンに達するには約 4 週間かかり、持続的な作用持続時間は 2 4 週間以上である。
- ・ 治療用量範囲には、予測可能で線形の P K / P D 関係がある。
- ・ 最大 20mg（予想最高臨床用量レベルの 2 倍超）で全体的な臨床安全性及び忍容性が良好である。
- ・ 臨床病理及び組織病理は、微少／軽度の有害性を除いて、概ね良性であった。

30

【0365】

アンチセンスオリゴ番号 2 8 9 の臨床安全性及び忍容性は最大 20mg であると確認された。忍容性は、2 mL に対して 1 mL への投薬量の低下、及び等容積の注射によって改善された（すなわち、等容積の 1 mL で 20mg の反復用量は忍容されるが、2 mL の非等容積で 15mg の単回用量は良好に忍容されなかった）。試験の詳細を下表 7 に示す。

【0366】

40

【表 7 - 1】

表 7. 完了済みアンチセンスオリゴ番号 289 NHP 試験の概要

試験	投薬様式	結果	
		活性	忍容性/組織病理
単回 IT 投与後のアンチセンスオリゴ番号 289 及び他の MSH3 ASO の PD 効果、安全性、及び忍容性 10mg にて単回 IT 2mL 腰部注射 脳組織における忍容性（組織学を含む）、mRNA の KD の評価	RoA : IT QD*1 : 2 週 10 mg N=3/群 (合計=3)	MSH3 mRNA の KD 皮質：約 40% 尾状核：確定的でない結果、被殻：KD の観察なし、脊髄：約 50%	・ 全ての動物で忍容性良好； ・ 組織学的所見（IT 投薬処置関連）は、動物 1 頭の脊髓路における微少な変性変化と、微少から軽度の血管周囲単核細胞浸潤の発生率のわずかな増加とを含む。
反復 IT 投与後のアンチセンスオリゴ番号 289 及び他の MSH3 ASO の PD 効果、安全性、及び忍容性 10mg にて反復 IT 2mL 腰部注射。 脳組織における忍容性（組織学を含む）、mRNA の KD の評価	RoA : IT Q2W*2 : 2 週 10mg N=3/群 (合計=3)	MSH3 KD 皮質：約 70% 尾状核：KD の観察なし、被殻：KD の観察なし、脊髄：約 40%	・ 全ての動物で忍容性良好； ・ 組織学的所見（IT 投薬処置関連）は、微少の血管周囲単核細胞浸潤の発生率のわずかな増加を含む。
単回 IT 投与後のアンチセンスオリゴ番号 289 の PK/PD 及びモデリング 10mg にて単回 IT 2mL 腰部注射 脳組織における mRNA の KD 及び ASO レベルの評価。試料は 2 時間、8 時間、24 時間、48 時間、8 日目、29 日目に収集	RoA : IT QD*1 : 4 週 10 mg N=2/群 (合計=12)	MSH3 KD (29 日目の試料) 皮質：KD の観察なし、尾状核：KD の観察なし、被殻：KD の観察なし、脊髄：約 40%	・ 全ての動物で忍容性良好

10

20

30

40

【 0 3 6 7 】

50

【表 7 - 2】

単回 ICV 投与後のアンチセンスオリゴ番号 289 用量設定の PK/PD 効果、安全性及び忍容性 10mg での後角による単回 ICV 2mL 非等容積注射 脳組織における忍容性、mRNA の KD 及び ASO レベルの評価。試料は 2 時間、8 時間、24 時間、48 時間、8 日目、15 日目、29 日目に収集	RoA : ICV QD*1 : 4 週 10 mg N=2/群 (合計=15)	MSH3 KD (29 日目の試料) 皮質 : 約 70% (両側) 尾状核 : 約 45% (同側)、約 20% (対側)、被殻 : KD の観察なし	・ 全ての動物で忍容性良好。
単回 ICV 投与から 6 週後、8 週後、及び 12 週後のアンチセンスオリゴ番号 289 の PK/PD 作用持続時間 10mg での後角による単回 ICV 2mL 非等容積注射。脳組織における忍容性、mRNA の KD、及び ASO レベルの評価	RoA : ICV QD*1 : 6 週、8 週、12 週 10 mg N=2/群 (合計=6)	MSH3 KD (6 週～12 週) 皮質 : 約 80% (両側) 尾状核 : 約 50% (同側)、約 40% (対側)、被殻 : 約 40% (同側)、KD なし (対側 6～8 週)、約 30% (対側 12 週)	・ 全ての動物で忍容性良好。
単回 ICV 投与後 24 時間、48 時間、8 日目、15 日目、29 日目のアンチセンスオリゴ番号 289 用量設定の PD 効果、安全性及び忍容性 12mg 及び 15mg での後角による単回 ICV 2mL 非等容積注射 脳組織における忍容性及び mRNA の KD の評価	RoA : ICV QD*1 : 4 週 12mg、15mg N=1～2/群 (合計=8)	29 日目の MSH3 KD (12mg+15mg で同様) 皮質 : 80%超 (両側) 尾状核 : 約 70% (同側)、約 50% (対側)、被殻 : KD の観察なし (同側)、約 20% (対側)	・ 中等度 (12mg) から重度 (15mg) の臨床徴候 ; 12mg では臨床徴候が一過性であった (24～48 時間で消散した)。 ・ 15mg の動物 2 頭のうち 1 頭は臨床徴候の重篤さのために早期安楽死 ; 顕微鏡的所見は観察されなかった

10

20

30

40

【0368】

NHP アンチセンスオリゴ番号 289 投薬試験の臨床病理及び組織病理は、良性であった。ただし、2 週間間隔で 2 回 (Q2W*2) の注射後の側頭皮質における個々のまばらな好酸球性ニューロンは、訓練を受けた病理医によるヘマトキシリン及びエオシン (H & E) 染色に基づいて、壊死と解釈された。Fluoro-Jade B (FJB) 染色は、選択された群ではニューロン壊死を示さなかった。

【0369】

上記のように、MSH3 KD の持続的な存続性は 24 週間にわたって観察され、12 か月まで持続し得る。試験の詳細を下表 8 ならびに図 16A～16D 及び図 17A～17

50

D に示す。

【 0 3 7 0 】

【 表 8 - 1 】

表 8. 完了済み及び進行中のアンチセンスオリゴ番号 2 8 9 NHP 試験の概要

試験	投薬様式	状態	結果	
			活性	忍容性/組織病理
2 週間の回復期を 設けたアンチセン スオリゴ番号 289 の反復 ICV DRF 及び投薬頻度評価 漸増用量レベルで 前角による反復 ICV 1mL 等容積注 射 脳組織における忍 容性（組織学を含 む）、mRNA の KD、及び ASO レ ベルの評価	RoA : ICV Q2W*2 + 2 週/ 8 週回復 5mg、10mg、 12mg、15mg、 19mg N=3/群 (合計=20)	完了	MSH3 KD 皮質： ・全用量で 60～80% 尾状核： ・全用量で 50～70% (同側) ・全用量で 30～60% (対側) 被殻： ・8 週に 5mg で約 30% (対側) ・10mg で 10～20% (両側) ・12mg で約 20% (両 側) ・15mg で 20～30% (両側) ・19mg で約 50% (両 側)	・組織病理所見と 臨床徴候との明確 な関連はない ・1 回目または 2 回目の投薬後（投 薬 4 時間後及び 24 時間後）の血 清サイトカイン及 び補体産物に試験 品（TA）関連の 効果は観察されな かった。 ・処置に関連して CSF NfL レベルが 上昇したがアンチ センスオリゴ番号 289 は変化率に影 響を与えなかった

10

20

30

40

50

【 0 3 7 1 】

【表 8 - 2】

PD 及び TE バイオマーカー作用持続時間についてのアンチセンスオリゴ番号 289 の 7mg、11mg、15mg での単回/反復 ICV 投与 漸増用量レベルで前角による単回/反復 ICV 1mL 等容積注射 脳組織における忍容性（単回用量 12 週群の組織学を含む）、mRNA の KD、及び ASO レベルの評価	RoA : ICV QD*1 : 12 週回復 Q2W*2 : 6 及び 12 か月回復 7mg、11mg、15mg N=1~3/群（合計=22）	進行中	皮質の MSH3 KD ・ 12 週 : 全用量で 70~90% ・ 24 週 : 全用量で 80~95% 尾状核の MSH3 KD ・ 12 週 : 20% (7mg)、50% (11mg)、55~70% (15mg) ・ 24 週 : 30~70% (7mg + 11mg)、75~90% (15mg) 被殻の MSH3 KD ・ 12 週 : 全用量で 0~30% ・ 24 週 : 20~50% (7mg + 11mg) 50~70% (15mg)	12 週 DoA 組織病理 (FJB を含む) : ・ 全ての用量レベルにおいて有害でない 微少から軽度の TA 関連所見
GLP 13 週毒性試験 (8 週間の回復期を設けた ICV による Q12W*2 の反復投与) 漸増用量レベルで前角による反復 ICV 1mL 等容積注射	RoA : ICV Q12W*2 + 8 週回復 2.5mg、7.5mg、20mg N=4/性別/群 (メイン)、2/性別/群 (回復) (合計=36)	進行中	PD 読取り値は準備されていない	組織病理 (FJB を含む) のレポートが準備されている

10

20

30

40

【0372】

アンチセンスオリゴ番号 289 の各投薬試験後、NHP の全脳を剖検時に収集した。冷却したマトリックスに NHP 全脳を入れ、およそ 3 mm 厚で冠状にスライスし、-80℃で保管した。直径およそ 2 mm の組織のパンチを様々な領域（すなわち、皮質、尾状核、被殻など）から収集した。脳組織からの MSH3 mRNA を定量するために、

- ・ 組織パンチから全 RNA を抽出した。
- ・ cDNA を既定量の全抽出 RNA から合成した。
- ・ MSH3 mRNA を、参照遺伝子 GUSB、TBP、HPRT、ARL1、及び RPL13A に対して、RT-PCR により定量した。

50

- ・ 相対的な MSH3 mRNA を参照遺伝子で正規化し、mRNA レベルを算出した。
【0373】

実施例 16 : qPCR を使用した脳脊髄液 (CSF) 由来 RNA からの目的遺伝子の発現分析

グルタニューロン細胞及び HeLa 細胞において、細胞外小胞 (EV) を単離することにより、アンチセンスオリゴ番号 289 による MSH3 ノックダウンの上首尾の分析を実施した。

【0374】

分析手順は以下のステップからなるものであった：

1. 限外濾過 (UF) による EV の単離：a. Amicon (登録商標) フィルターデバイス (Ultra-4-100KDa) に、2～3 mL の清澄化された CSF 試料を加えた。b. スイングバケット遠心分離を使用して、元の体積の CSF が 20～30 倍に濃縮するまで、CSF 試料を 4,000×g で遠心した。c. 濃縮された試料を遠心分離器から新しい 1.5 mL チューブに移した。
2. QIAzol (登録商標) による RNA 精製とそれに続く RNeasy カラム精製：a. UF による EV の単離後、濃縮した EV を含むチューブに QIAzol (登録商標) を加えて細胞溶解を実施した。b. クロロホルムを溶解物に添加し、ボルテックスし、12,000×g で 15 分間、4℃ で遠心分離した。c. 遠心分離後、上部水相を新しい 1.5 mL チューブに移した。100% のエタノールを加え、試料と混合し、RNeasy MinElute (登録商標) スピнкаラムに移した。d. 複数の洗浄ステップの後、約 20 µL の RNase フリー水でスピнкаラムから RNA を溶出した。
3. マルチプレックス qPCR による標的分析：a. SuperScript (登録商標) IV VILLO キットを使用して、精製された RNA を cDNA に逆転写した。b. 4 つの異なるアッセイプローブまたはプライマー (1 つの標的、2 つのハウスキーピング遺伝子、及び 1 つのスパイクイン対照からなるもの)、TaqPath ポリメラーゼ、cDNA、及びヌクレアーゼフリー水を用いて、マルチプレックス qPCR 反応を行った。c. PCR 反応の完了後、QuantStudio (登録商標) 7 pro を使用して PCR データを分析した。

【0375】

他の態様

本明細書で言及される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、個々の刊行物、特許、または特許出願が、その全体が参照によって組み込まれていると具体的かつ個別に示された場合と同程度に、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。本出願の用語が、参照によって本明細書に組み込まれる文書中で異なって定義されていることが見出される場合、本明細書で提供される定義が、その用語の定義として機能することになる。

【0376】

本発明をその特定の態様に関連して記載してきたが、本発明がさらに修正でき、本出願が、概して本発明の原理に従う本発明のあらゆる変更、使用、または翻案 (本発明が属する当該技術分野において既知または通例の慣行に含まれ、前述された本質的特徴に適用され得る、本開示からのそのような発展を含む) を網羅することを意図し、特許請求の範囲に従うことは理解されよう。

【0377】

本明細書に記載される様々な態様に加えて、本開示は、E1～E220 と付番された以下の態様を含む。この態様リストは、例示的なリストとして提示され、本出願は、これらの特定の態様に限定されない。

【0378】

E1. ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記方法が、MSH3 を標的とする一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含み、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 mg

10

20

30

40

50

～約 300 mg の用量で投与される、前記方法。

【0379】

E2. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 95% 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 mg～約 300 mg の用量で投与される、E1 に記載の方法。

【0380】

E3. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 98% 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1 または E2 に記載の方法。

【0381】

E4. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に少なくとも 99% 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1 または E2 に記載の方法。

【0382】

E5. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2573 位における少なくとも 15 個の隣接する核酸塩基に 100% 相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1 または E2 に記載の方法。

【0383】

E6. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2573 位における 17～23 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1～E5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0384】

E7. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 614 の 2543～2573 位における 17～20 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1～E6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0385】

E8. 前記 17～20 個の隣接する核酸塩基が、配列番号 614、またはその薬学的に許容される塩の、2543 位、2544 位、2545 位、2546 位、2547 位、2548 位、2549 位、2550 位、2551 位、2552 位、2553 位、2554 位、2555 位、2556 位、または 2557 位から始まる、E7 に記載の方法。

【0386】

E9. 前記オリゴヌクレオチドが、17～20 の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1～E8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0387】

E10. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2573 位における 20～23 個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1～E8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0388】

E11. 前記 20～23 個の隣接する核酸塩基が、配列番号 614、またはその薬学的に許容される塩の、2543 位、2544 位、2545 位、2546 位、2547 位、2548 位、2549 位、2550 位、2551 位、2552 位、2553 位、または 2554 位から始まる、E10 に記載の方法。

【0389】

E12. 前記オリゴヌクレオチドが、20～23 の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1～E11 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0390】

E13. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号 614 の 2543～2570 位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E1～E12 のい

10

20

30

40

50

いずれか 1 つに記載の方法。

【0391】

E14.ヌクレオチドリビート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記方法が、15～30の連結ヌクレオチド長の一本鎖オリゴヌクレオチドを脳室内投与することを含み、前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも95%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約2mg～約300mgの用量で投与される、前記方法。

【0392】

E15.前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも98%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14に記載の方法。

【0393】

E16.前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に少なくとも99%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14に記載の方法。

【0394】

E17.前記オリゴヌクレオチドまたはその一部が、配列番号614の2685～2714位における少なくとも15個の隣接する核酸塩基に100%相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14に記載の方法。

【0395】

E18.前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における17～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E17のいずれか1つに記載の方法。

【0396】

E19.前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E18のいずれか1つに記載の方法。

【0397】

E20.前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685位、2686位、2687位、2688位、2689位、2690位、2691位、2692位、2693位、2694位、2695位、2696位、2697位、もしくは2698位から始まる17～20個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E19に記載の方法。

【0398】

E21.前記オリゴヌクレオチドが、17～20の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E20のいずれか1つに記載の方法。

【0399】

E22.前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位における20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E21のいずれか1つに記載の方法。

【0400】

E23.前記オリゴヌクレオチドが、配列番号614の2685位、2686位、2687位、2688位、2689位、2690位、2691位、2692位、2693位、2694位、もしくは2695位から始まる20～23個の隣接する核酸塩基に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E22に記載の方法。

【0401】

E24.前記オリゴヌクレオチドが、20～23の連結ヌクレオチド長であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E23のいずれか1つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【0402】

E25. 前記オリゴヌクレオチド、またはその一部が、配列番号614の2685～2714位に相補的であるか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E24のいずれか1つに記載の方法。

【0403】

E26. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号1、97、193、または289のいずれか1つではない、E14～E25のいずれか1つに記載の方法。

【0404】

E27. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1、97、193、または289のいずれか1つからなる核酸塩基配列を有しない、E14～E26のいずれか1つに記載の方法。

10

【0405】

E28. E14～E27のいずれか1つに記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが、

【0406】

(a) 連結デオキシリボヌクレオシドを含むDNAコア配列、

【0407】

(b) 連結ヌクレオシドを含む5'フランキング配列、及び

【0408】

(c) 連結ヌクレオシドを含む3'フランキング配列を含み、

20

【0409】

前記DNAコアが、前記5'フランキング配列と前記3'フランキング配列との間に位置する少なくとも10個の隣接する核酸塩基の領域を含み、前記5'フランキング配列及び前記3'フランキング配列が各々、少なくとも2個の連結ヌクレオシドを含み、各フランキング配列の少なくとも1個のヌクレオシドが、代替ヌクレオシドを含むか、またはその薬学的に許容される塩である、前記方法。

【0410】

E29. 前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E28のいずれか1つに記載の方法。

30

【0411】

E30. 前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、E29に記載の方法。

【0412】

E31. 前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、2'-アルコキシヌクレオシド間結合である、E29に記載の方法。

【0413】

E32. 前記少なくとも1つの代替ヌクレオシド間結合が、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である、E29に記載の方法。

40

【0414】

E33. 前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替核酸塩基を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E32のいずれか1つに記載の方法。

【0415】

E34. 前記代替核酸塩基が、5'-メチルシトシン、シュードウリジン、または5-メトキシウリジンである、E33に記載の方法。

【0416】

E35. 前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの代替糖部分を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E14～E34のいずれか1つに記載の方法。

【0417】

50

E 3 6 . 前記代替糖部分が、2' - O M e または二環式核酸である、E 3 5 に記載の方法。

【0 4 1 8】

E 3 7 . 前記オリゴヌクレオチドが、一価もしくは分岐二価もしくは三価リンカーを介して前記オリゴヌクレオチドの5' 末端もしくは3' 末端に複合化したリガンドをさらに含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E 1 4 ~ E 3 6 のいずれか1つに記載の方法。

【0 4 1 9】

E 3 8 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 ~ 3 8 4 及び3 9 0 ~ 6 1 3 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 1 4 ~ E 3 7 のいずれか1つに記載の方法。

10

【0 4 2 0】

E 3 9 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2 ~ 9 6 、9 8 ~ 1 9 2 、1 9 4 ~ 2 8 8 、2 9 0 ~ 3 8 4 、及び3 9 0 ~ 6 1 3 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 1】

E 4 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 2】

20

E 4 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2 ~ 9 6 、9 8 ~ 1 9 2 、1 9 4 ~ 2 8 8 、及び2 9 0 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 3】

E 4 2 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 ~ 9 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 4】

E 4 3 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2 ~ 9 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

30

【0 4 2 5】

E 4 4 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号9 7 ~ 1 9 2 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 6】

E 4 5 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号9 8 ~ 1 9 2 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 7】

40

E 4 6 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 9 3 ~ 2 8 8 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 8】

E 4 7 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 9 4 ~ 2 8 8 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 2 9】

E 4 8 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号2 8 9 ~ 3 8 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8

50

に記載の方法。

【0430】

E49. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号288～384のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0431】

E50. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号390～613のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0432】

E51. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号390～480のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0433】

E52. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号481～571のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0434】

E53. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号572～662のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0435】

E54. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号663～613のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0436】

E55. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0437】

E56. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0438】

E57. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0439】

E58. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号6である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0440】

E59. 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E38に記載の方法。

【0441】

10

20

30

40

50

E 6 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 0 0、1 0 3、1 0 5、1 0 8、1 1 0 ~ 1 1 1、1 1 3 ~ 1 1 7、1 2 2 ~ 1 2 3、1 2 7、1 2 9 ~ 1 3 0、1 3 3 ~ 1 3 6、1 3 8 ~ 1 3 9、1 4 1、1 4 3 ~ 1 4 5、1 4 7 ~ 1 4 8、1 5 4 ~ 1 5 5、1 5 7 ~ 1 6 5、1 6 8 ~ 1 7 0、1 7 2、1 7 4 ~ 1 8 0、1 8 4、1 8 7、もしくは 1 9 1 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 2】

E 6 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 9 7 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 3】

E 6 2 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 4 5 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 4】

E 6 3 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 6 3 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 5】

E 6 4 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 3 ~ 2 0 0、2 0 2 ~ 2 3 0、2 3 2 ~ 2 4 6、2 4 8 ~ 2 5 3、2 5 5、2 5 8 ~ 2 6 1、2 6 5、2 7 0、2 7 4 ~ 2 7 6、もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 6】

E 6 5 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 4 ~ 2 0 0、2 0 2 ~ 2 3 0、2 3 2 ~ 2 4 6、2 4 8 ~ 2 5 3、2 5 5、2 5 8 ~ 2 6 1、2 6 5、2 7 0、2 7 4 ~ 2 7 6、もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 7】

E 6 6 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 3 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 8】

E 6 7 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 2 6 ~ 2 2 7、2 3 4、2 4 0、もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 4 9】

E 6 8 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 2 7、2 3 4、2 4 0、もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 5 0】

E 6 9 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 2 6 である前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 5 1】

E 7 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 8 9 ~ 2 9 0、2 9 2、3 0 5、3 0 7、3 1 3、3 1 8、3 2 3 ~ 3 2 4、3 2 6、3 2 9 ~ 3 3 0、3 3 2、3 3 8 ~ 3 3 9、3 4 1、3 4 4、もしくは 3 4 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 5 2】

E 7 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 9 0、2 9 2、3 0 5、3 0 7、3 1 3、3 1 8、3 2 3 ~ 3 2 4、3 2 6、3 2 9 ~ 3 3 0、3 3 2、3 3 8 ~ 3 3 9、3 4 1、3 4 4、もしくは 3 4 6 のいずれかからなる群から選択される核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【0 4 5 3】

10

20

30

40

50

E 7 2 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 8 9 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【 0 4 5 4 】

E 7 3 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 2 9 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【 0 4 5 5 】

E 7 4 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 4 6 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 3 8 に記載の方法。

【 0 4 5 6 】

E 7 5 . 前記オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号 1 ～ 3 8 4 及び 3 9 0 ～ 6 1 3 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩であり、前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 m g ～ 約 3 0 0 m g の用量で投与される、E 1 に記載の方法。

10

【 0 4 5 7 】

E 7 6 . 前記オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 2 ～ 9 6 、 9 8 ～ 1 9 2 、 1 9 4 ～ 2 8 8 、 2 9 0 ～ 3 8 4 、 及び 3 9 0 ～ 6 1 3 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 5 8 】

E 7 7 . 前記オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 1 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

20

【 0 4 5 9 】

E 7 8 . 前記オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 2 ～ 9 6 、 9 8 ～ 1 9 2 、 1 9 4 ～ 2 8 8 、 もしくは 2 9 0 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つからなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 0 】

E 7 9 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 ～ 9 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 1 】

E 8 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 ～ 9 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

30

【 0 4 6 2 】

E 8 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 9 7 ～ 1 9 2 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 3 】

E 8 2 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 9 6 ～ 1 9 2 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 4 】

E 8 3 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 3 ～ 2 8 8 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 5 】

40

E 8 4 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 4 ～ 2 8 8 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 6 】

E 8 5 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 8 9 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 7 】

E 8 6 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 9 0 ～ 3 8 4 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【 0 4 6 8 】

E 8 7 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 9 0 ～ 6 1 3 のいずれか 1 つの前記核

50

酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 6 9】

E 8 8．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号3 9 0～4 8 0のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 0】

E 8 9．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号4 8 1～5 7 1のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 1】

E 9 0．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号5 7 2～6 6 2のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 2】

E 9 1．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号6 6 3～6 1 3のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 3】

E 9 2．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1、6、1 3、1 7、2 1、2 4、2 6、2 9、3 3～3 4、3 7、4 4、4 9～5 5、5 7、6 0～7 3、7 5～7 6、7 9～8 2、8 4～8 6、8 8～9 2、もしくは9 4～9 6のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 4】

E 9 3．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号6、1 3、1 7、2 1、2 4、2 6、2 9、3 3～3 4、3 7、4 4、4 9～5 5、5 7、6 0～7 3、7 5～7 6、7 9～8 2、8 4～8 6、8 8～9 2、もしくは9 4～9 6のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 5】

E 9 4．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 6】

E 9 5．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号6の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 7】

E 9 6．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号9 7、1 0 0、1 0 3、1 0 5、1 0 8、1 1 0～1 1 1、1 1 3～1 1 7、1 2 2～1 2 3、1 2 7、1 2 9～1 3 0、1 3 3～1 3 6、1 3 8～1 3 9、1 4 1、1 4 3～1 4 5、1 4 7～1 4 8、1 5 4～1 5 5、1 5 7～1 6 5、1 6 8～1 7 0、1 7 2、1 7 4～1 8 0、1 8 4、1 8 7、もしくは1 9 1のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 8】

E 9 7．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 0 0、1 0 3、1 0 5、1 0 8、1 1 0～1 1 1、1 1 3～1 1 7、1 2 2～1 2 3、1 2 7、1 2 9～1 3 0、1 3 3～1 3 6、1 3 8～1 3 9、1 4 1、1 4 3～1 4 5、1 4 7～1 4 8、1 5 4～1 5 5、1 5 7～1 6 5、1 6 8～1 7 0、1 7 2、1 7 4～1 8 0、1 8 4、1 8 7、もしくは1 9 1のいずれか1つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 7 9】

E 9 8．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号9 7の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 8 0】

E 9 9．前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1 4 5である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5に記載の方法。

【0 4 8 1】

10

20

30

40

50

E 1 0 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 6 3 である核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 2】

E 1 0 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 3 ~ 2 0 0 、 2 0 2 ~ 2 3 0 、 2 3 2 ~ 2 4 6 、 2 4 8 ~ 2 5 3 、 2 5 5 、 2 5 8 ~ 2 6 1 、 2 6 5 、 2 7 0 、 2 7 4 ~ 2 7 6 、 もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 3】

E 1 0 2 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 4 ~ 2 0 0 、 2 0 2 ~ 2 3 0 、 2 3 2 ~ 2 4 6 、 2 4 8 ~ 2 5 3 、 2 5 5 、 2 5 8 ~ 2 6 1 、 2 6 5 、 2 7 0 、 2 7 4 ~ 2 7 6 、 もしくは 2 8 5 ~ 2 8 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 4】

E 1 0 3 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 9 3 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 5】

E 1 0 4 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 2 6 ~ 2 2 7 、 2 3 4 、 2 4 0 、 もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 6】

E 1 0 5 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 2 7 、 2 3 4 、 2 4 0 、 もしくは 2 4 3 ~ 2 4 4 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 7】

E 1 0 6 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 2 6 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 8】

E 1 0 7 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 8 9 ~ 2 9 0 、 2 9 2 、 3 0 5 、 3 0 7 、 3 1 3 、 3 1 8 、 3 2 3 ~ 3 2 4 、 3 2 6 、 3 2 9 ~ 3 3 0 、 3 3 2 、 3 3 8 ~ 3 3 9 、 3 4 1 、 3 4 4 、 もしくは 3 4 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 8 9】

E 1 0 8 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 9 0 、 2 9 2 、 3 0 5 、 3 0 7 、 3 1 3 、 3 1 8 、 3 2 3 ~ 3 2 4 、 3 2 6 、 3 2 9 ~ 3 3 0 、 3 3 2 、 3 3 8 ~ 3 3 9 、 3 4 1 、 3 4 4 、 もしくは 3 4 6 のいずれか 1 つの前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 9 0】

E 1 0 9 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 8 9 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 9 1】

E 1 1 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 2 9 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 9 2】

E 1 1 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 3 4 6 の前記核酸塩基配列からなるか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 に記載の方法。

【0 4 9 3】

E 1 1 2 . ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行の治療、予防、または遅延を、それを必要とする対象において行う方法であって、前記方法が、表 3 のアンチセンスオリゴ番号 1 ~ 3 8 4 もしくは表 4 の 3 9 0 ~ 6 1 3 からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を脳室内投与することを含み、前記

10

20

30

40

50

一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約 2 mg ～ 約 300 mg の用量で投与される、前記方法。

【0494】

E113. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号2～96、98～192、194～288、290～384、及び表4の390～613からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0495】

E114. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号1～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0496】

E115. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号2～96、98～192、194～288、及び290～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0497】

E116. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号1～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0498】

E117. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号2～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0499】

E118. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号97～192からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0500】

E119. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号98～192からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0501】

E120. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号193～288からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0502】

E121. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号194～288からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0503】

122. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号289～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0504】

E123. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号290～384からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0505】

E124. 前記オリゴヌクレオチドが、表4のアンチセンスオリゴ番号390～613からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

10

20

30

40

50

【0506】

E125. 前記オリゴヌクレオチドが、表4のアンチセンスオリゴ番号390～480からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0507】

E126. 前記オリゴヌクレオチドが、表4のアンチセンスオリゴ番号481～571からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0508】

E127. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号1、6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

10

【0509】

E128. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号6、13、17、21、24、26、29、33～34、37、44、49～55、57、60～73、75～76、79～82、84～86、88～92、もしくは94～96からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0510】

E129. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号1、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

20

【0511】

E130. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号6、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0512】

E131. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号97、100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

30

【0513】

E132. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号100、103、105、108、110～111、113～117、122～123、127、129～130、133～136、138～139、141、143～145、147～148、154～155、157～165、168～170、172、174～180、184、187、もしくは191からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0514】

E133. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号97、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

40

【0515】

E134. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号145、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0516】

E135. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号163、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0517】

E136. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号193～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265

50

、270、274～276、もしくは285～286からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0518】

E137. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号194～200、202～230、232～246、248～253、255、258～261、265、270、274～276、もしくは285～286からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0519】

E138. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号193、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0520】

E139. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号226～227、234、240、もしくは243～244からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0521】

E140. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号227、234、240、もしくは243～244からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0522】

E141. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号226、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0523】

E142. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号289～290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0524】

E143. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号290、292、305、307、313、318、323～324、326、329～330、332、338～339、341、344、もしくは346からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0525】

E144. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号289、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0526】

E145. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号329、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0527】

E146. 前記オリゴヌクレオチドが、表3のアンチセンスオリゴ番号346、またはその薬学的に許容される塩である、E112に記載の方法。

【0528】

E147. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0529】

E148. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0530】

E149. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10 nMの

10

20

30

40

50

オリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0531】

E150. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも80%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0532】

E151. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも50%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0533】

E152. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも60%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0534】

E153. 前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1nMのオリゴヌクレオチド濃度でMSH3 mRNA発現を少なくとも70%減少させる、E1～E146のいずれか1つに記載の方法。

【0535】

E154. 前記MSH3 mRNA発現がインビトロで評価される、E147～E153のいずれか1つに記載の方法。

【0536】

E155. 前記MSH3 mRNA発現が、細胞ベースのアッセイで評価される、E154に記載の方法。

【0537】

E156. 前記MSH3 mRNA発現が、HeLa細胞で評価される、E155に記載の方法。

【0538】

E157. 前記MSH3 mRNA発現が、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)によって決定される、E147～E156のいずれか1つに記載の方法。

【0539】

E158. 前記MSH3 mRNA発現が、参照遺伝子のmRNA発現を基準として正規化される、E147～E156のいずれか1つに記載の方法。

【0540】

E159. 前記MSH3 mRNA発現が、ベータグルクロニダーゼ(GUSB)のmRNA発現を基準として正規化される、E158に記載の方法。

【0541】

E160. 前記MSH3 mRNA発現の減少が、対照に対するものである、E147～E159のいずれか1つに記載の方法。

【0542】

E161. 前記対照が、前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下におけるMSH3 mRNA発現である、E160に記載の方法。

【0543】

E162. 前記対照が、前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下におけるMSH3 mRNA発現である、E161に記載の方法。

【0544】

E163. 前記対照オリゴヌクレオチド、またはその塩が、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである、E162に記載の方法。

【0545】

10

20

30

40

50

E 1 6 4 . 前記 M S H 3 m R N A 発現の減少が、デルターデルタ C t ($\Delta \Delta C T$) 法によって算出される、E 1 4 7 ~ E 1 6 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 4 6 】

E 1 6 5 . 前記デルターデルタ C t ($\Delta \Delta C T$) 法が、前記 M S H 3 m R N A 発現を、参照遺伝子の前記 m R N A 発現を基準として、かつ、前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の非存在下であるが、対照オリゴヌクレオチド、またはその塩の存在下における前記 M S H 3 m R N A 発現を基準として正規化することを含む、E 1 6 4 に記載の方法。

【 0 5 4 7 】

E 1 6 6 . 前記参照遺伝子が、ベータ-グルクロニダーゼ (G U S B) であり、及び／または前記対照オリゴヌクレオチド、もしくはその塩が、スクランブルルシフェラーゼ標的化オリゴヌクレオチドである、E 1 6 5 に記載の方法。

【 0 5 4 8 】

E 1 6 7 . 前記 M S H 3 m R N A 発現の減少が、実施例 1 の方法によって決定される、E 1 4 7 ~ E 1 6 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 4 9 】

E 1 6 8 . 同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号 1 が、1 0 n M のオリゴヌクレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現をおよそ 5 8 % 減少させる、E 1 4 7 ~ E 1 5 0 及び 1 5 2 ~ E 1 6 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 0 】

E 1 6 9 . 同じアッセイにおいて、アンチセンスオリゴ番号 1 が、1 n M のオリゴヌクレオチド濃度で M S H 3 m R N A 発現をおよそ 1 4 % 減少させる、E 1 5 4 ~ E 1 6 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 1 】

E 1 7 0 . 前記オリゴヌクレオチドが遊離塩基型である、E 1 ~ E 1 6 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 2 】

E 1 7 1 . 前記オリゴヌクレオチドが、その薬学的に許容される塩である、E 1 ~ E 1 6 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 3 】

E 1 7 2 . 前記オリゴヌクレオチドがナトリウム塩である、E 1 7 1 に記載の方法。

【 0 5 5 4 】

E 1 7 3 . 1 つ以上の前記オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、前記オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩のうちの 1 つ以上、及び薬学的に許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物として脳室内投与される、E 1 ~ E 1 7 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 5 】

E 1 7 4 . 前記医薬組成物が、人工脳脊髄液をさらに含む、E 1 7 3 に記載の方法。

【 0 5 5 6 】

E 1 7 5 . 前記対象が、霊長類である、E 1 ~ E 1 7 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 5 7 】

E 1 7 6 . 前記霊長類が、ヒトである、E 1 7 5 に記載の方法。

【 0 5 5 8 】

E 1 7 7 . 前記霊長類が、非ヒト霊長類である、E 1 7 5 に記載の方法。

【 0 5 5 9 】

E 1 7 8 . 前記ヌクレオチドリピート伸長障害が、脊髄小脳失調症 3 6 型または前頭側頭型認知症である、E 1 ~ E 1 7 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 5 6 0 】

E 1 7 9 . 前記ヌクレオチドリピート伸長障害が、トリヌクレオチドリピート伸長障害である、E 1 ~ E 1 7 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

30

40

50

【0561】

E180. 前記トリヌクレオチドリピート伸長障害が、ポリグルタミン病である、E179に記載の方法。

【0562】

E181. 前記ポリグルタミン病が、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症、ハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調症1型、脊髄小脳失調症2型、脊髄小脳失調症3型、脊髄小脳失調症6型、脊髄小脳失調症7型、脊髄小脳失調症17型、及びハンチントン病類縁疾患2型からなる群から選択される、E180に記載の方法。

【0563】

E182. 前記トリヌクレオチドリピート伸長障害が、非ポリグルタミン病である、E179に記載の方法。 10

【0564】

E183. 前記非ポリグルタミン病が、脆弱X症候群、脆弱X関連振戦／運動失調症候群、脆弱XE精神遅滞、フリードライヒ失調症、筋強直性ジストロフィー1型、脊髄小脳失調症8型、脊髄小脳失調症12型、眼咽頭型筋ジストロフィー、脆弱X関連早発卵巣不全、FRA2A症候群、FRA7A症候群、及び早期乳児てんかん性脳症からなる群から選択される、E182に記載の方法。

【0565】

E184. 追加の治療剤を投与することをさらに含む、E1～E183のいずれか1つに記載の方法。 20

【0566】

E185. 前記追加の治療剤が、ハンチンチン遺伝子をコードするmRNAにハイブリダイズする別のオリゴヌクレオチドである、E184に記載の方法。

【0567】

E186. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約10mg～約250mgの用量で投与される、E1～E185のいずれか1つに記載の方法。

【0568】

E187. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約15mg～約200mgの用量で投与される、E186に記載の方法。 30

【0569】

E188. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約25mg～約200mgの用量で投与される、E186に記載の方法。

【0570】

E189. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約50mg～約200mgの用量で投与される、E186に記載の方法。

【0571】

E190. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、約100mg～約150mgの用量で投与される、E186に記載の方法。

【0572】

E191. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、週1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。 40

【0573】

E192. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、2週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0574】

E193. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、3週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0575】

E194. 前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、4週 50

間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0576】

E195．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、1か月に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0577】

E196．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、6週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0578】

E197．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、8週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

10

【0579】

E198．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、2か月に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0580】

E199．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、10週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0581】

E200．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、12週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0582】

E201．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、3か月に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

20

【0583】

E202．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、16週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0584】

E203．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、4か月に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0585】

E204．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、20週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

30

【0586】

E205．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、5か月に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0587】

E206．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、24週間に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

【0588】

E207．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩が、6か月に1回投与される、E1～E190のいずれか1つに記載の方法。

40

【0589】

E208．前記一本鎖オリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩の投与が、前記ヌクレオチドリピート伸長障害の発症及び／または進行を、予測される発症及び／または進行と比較した場合に少なくとも120日、少なくとも6か月、少なくとも12か月、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも4年、少なくとも5年、少なくとも10年またはそれを超えて遅延させる、E1～E207のいずれか1つに記載の方法。

【0590】

E209．追加の治療剤を投与することをさらに含む、E1～E208のいずれか1つに記載の方法。

【0591】

50

E 2 1 0 . 前記追加の治療剤が、ハンチンチン遺伝子をコードする mRNA にハイブリダイズする別のオリゴヌクレオチドである、E 2 0 9 に記載の方法。

【0592】

E 2 1 1 . E 7 5 ~ E 1 1 0 のいずれか 1 つに記載の方法であって、前記オリゴヌクレオチドが、

【0593】

(a) 連結デオキシリボヌクレオシドを含む DNA コア配列、

【0594】

(b) 連結ヌクレオシドを含む 5' フランキング配列、及び

【0595】

(c) 連結ヌクレオシドを含む 3' フランキング配列を含み、

【0596】

前記 DNA コアが、前記 5' フランキング配列と前記 3' フランキング配列との間に位置する少なくとも 10 個の隣接する核酸塩基の領域を含み、前記 5' フランキング配列及び前記 3' フランキング配列が各々、少なくとも 2 個の連結ヌクレオシドを含み、各フランキング配列の少なくとも 1 個のヌクレオシドが、代替ヌクレオシドを含むか、またはその薬学的に許容される塩である、前記方法。

【0597】

E 2 1 2 . 前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの代替ヌクレオシド間結合を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E 7 5 ~ E 1 1 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0598】

E 2 1 3 . 前記少なくとも 1 つの代替ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、E 2 1 2 に記載の方法。

【0599】

E 2 1 4 . 前記少なくとも 1 つの代替ヌクレオシド間結合が、2'-アルコキシヌクレオシド間結合である、E 2 1 2 に記載の方法。

【0600】

E 2 1 5 . 前記少なくとも 1 つの代替ヌクレオシド間結合が、アルキルホスフェートヌクレオシド間結合である、E 2 1 2 に記載の方法。

【0601】

E 2 1 6 . 前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの代替核酸塩基を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E 2 1 1 ~ E 2 1 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0602】

E 2 1 7 . 前記代替核酸塩基が、5'-メチルシトシン、シュードウリジン、または 5'-メトキシウリジンである、E 2 1 6 に記載の方法。

【0603】

E 2 1 8 . 前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの代替糖部分を含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E 2 1 1 ~ E 2 1 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0604】

E 2 1 9 . 前記代替糖部分が、2'-OMe または二環式核酸である、E 2 1 8 に記載の方法。

【0605】

E 2 2 0 . 前記オリゴヌクレオチドが、一価もしくは分岐二価もしくは三価リンカーを介して前記オリゴヌクレオチドの 5' 末端もしくは 3' 末端に複合化したリガンドをさらに含むか、またはその薬学的に許容される塩である、E 2 1 1 ~ E 2 1 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

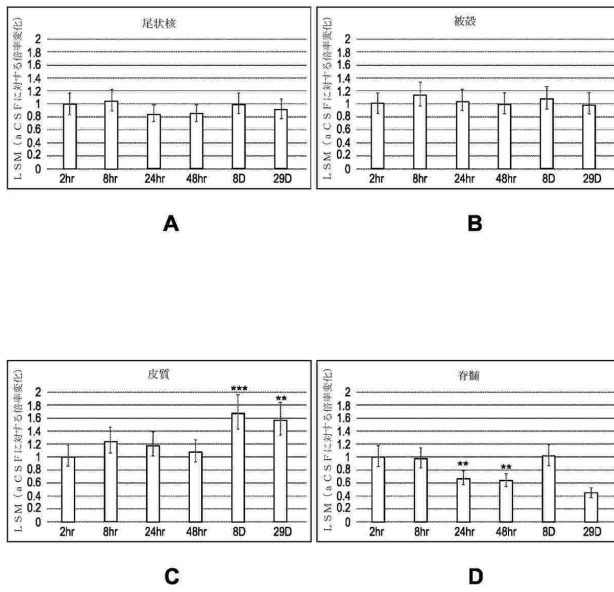
30

40

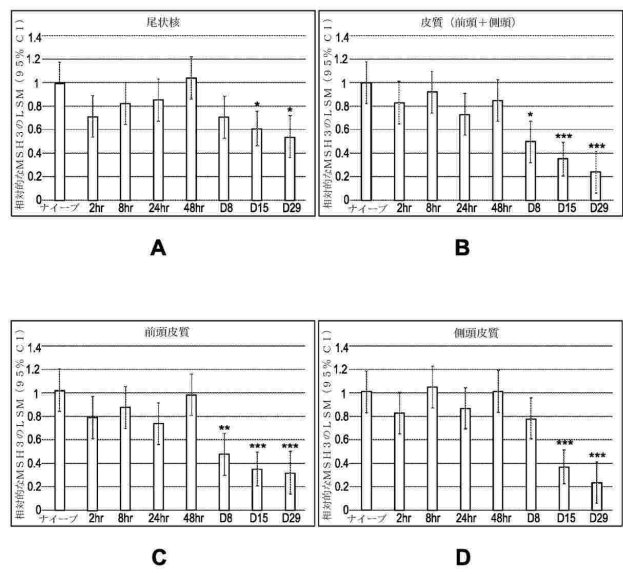
50

【図面】

【図 1】



【図 2】

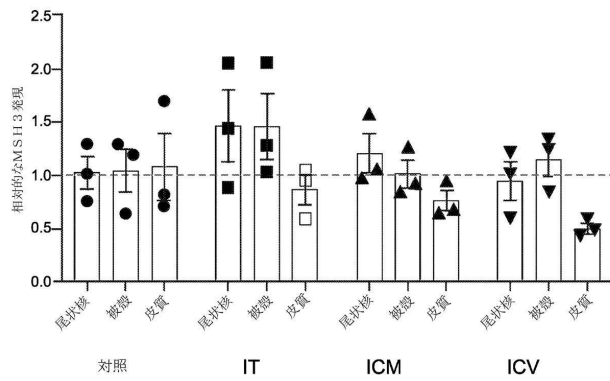


10

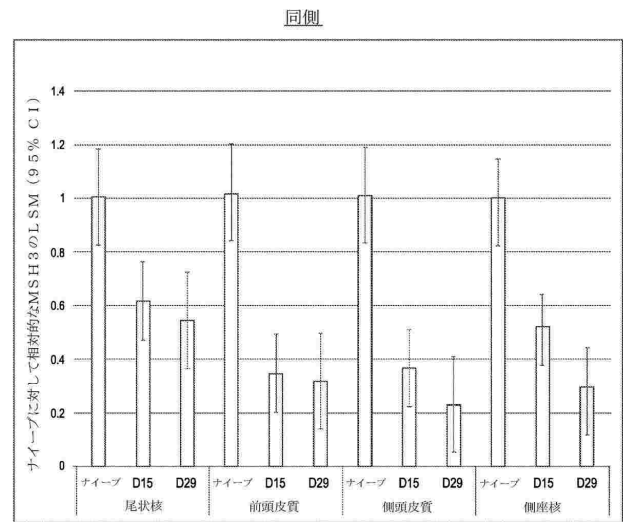
20

【図 3】

IT、ICM、及びICV注射によるTTX-3281 MSH3のKD、組織別



【図 4 A】

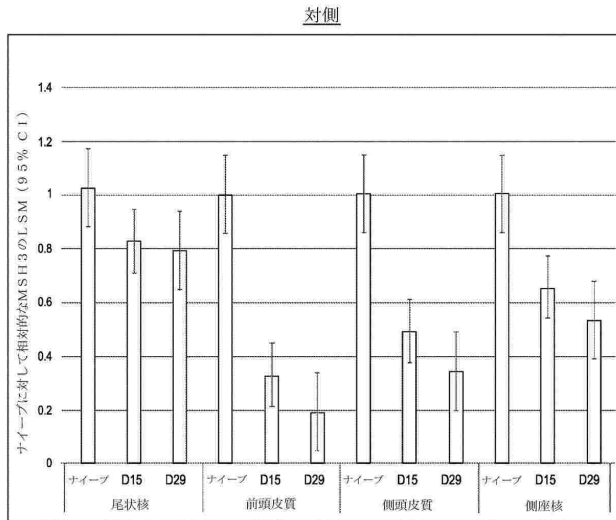


30

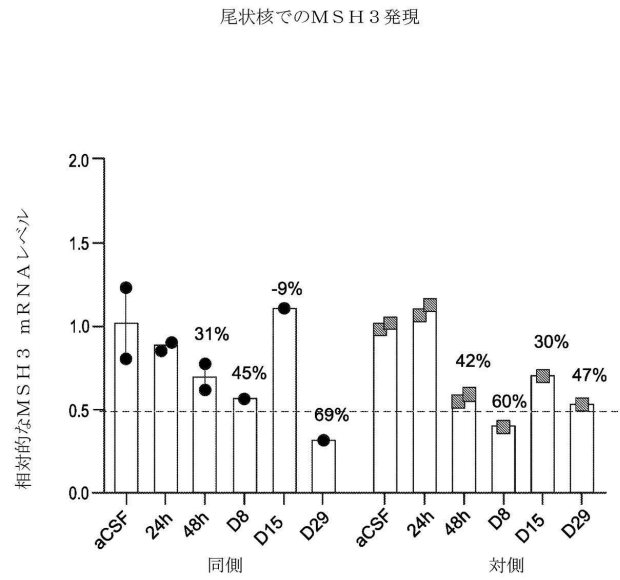
40

50

【図 4 B】

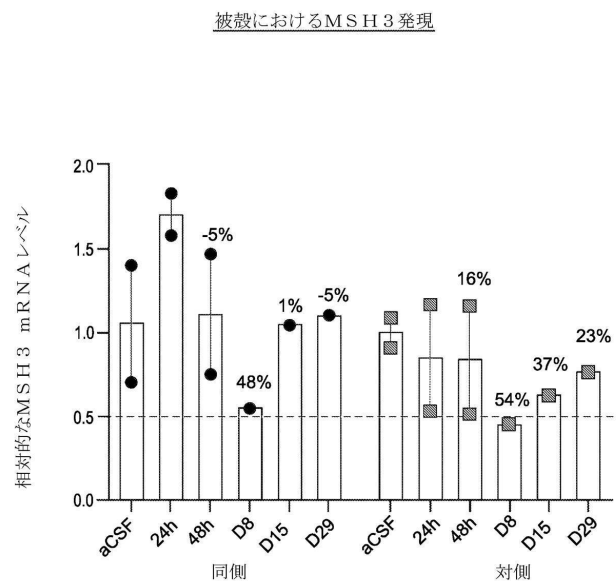


【図 5 A】

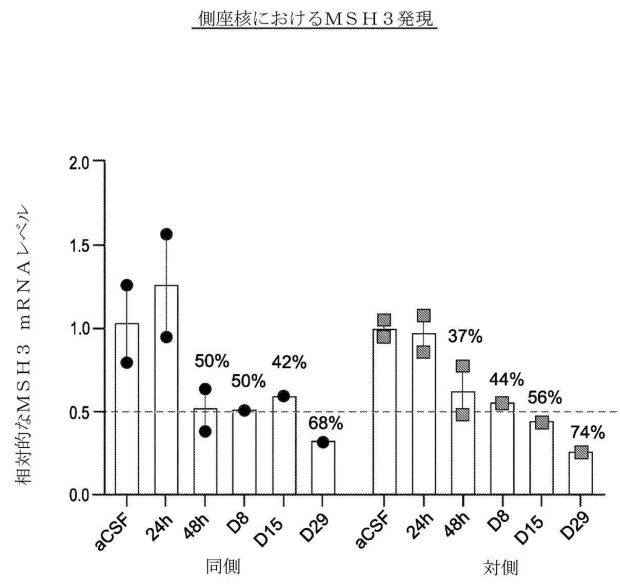


10

【図 5 B】



【図 5 C】



20

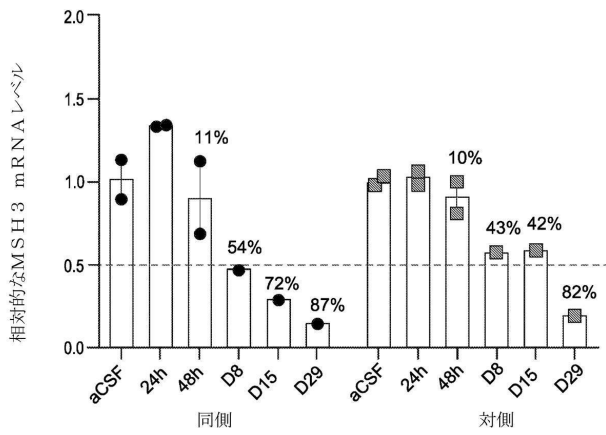
30

40

50

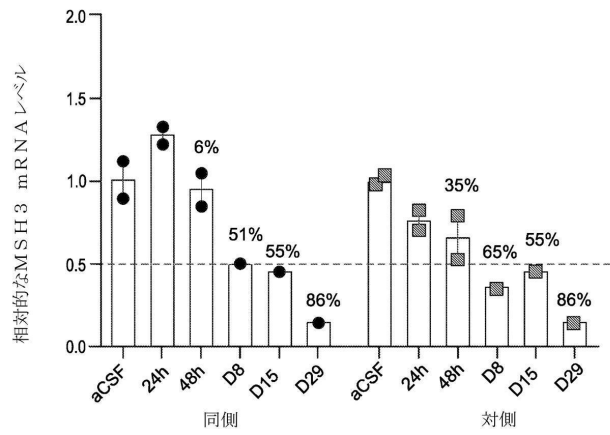
【図 5 D】

前頭皮質における MSH 3 発現



【図 5 E】

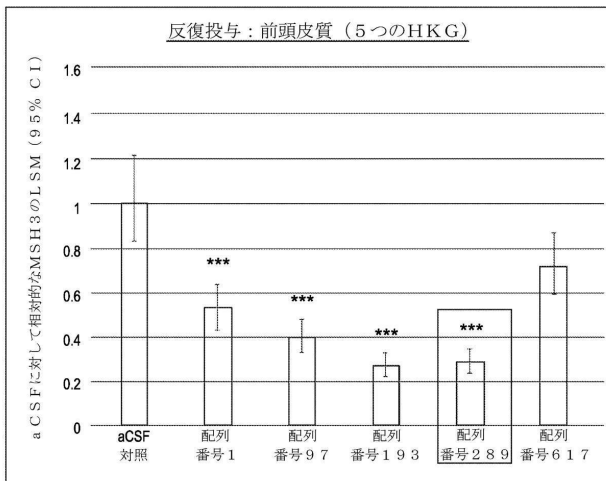
側頭皮質における MSH 3 発現



10

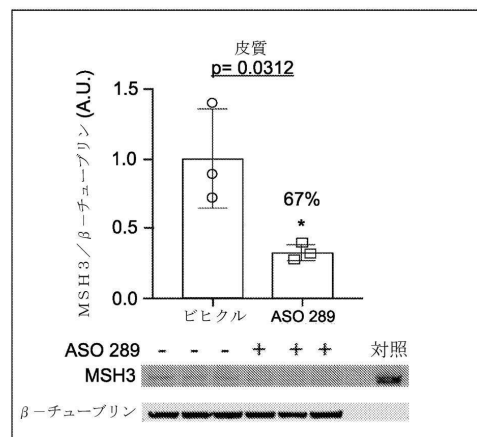
【図 6】

反復投与：前頭皮質（5つのHKG）



【図 7】

MSH 3 タンパク質



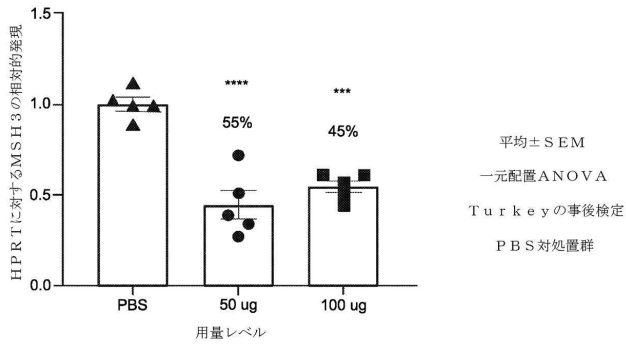
20

30

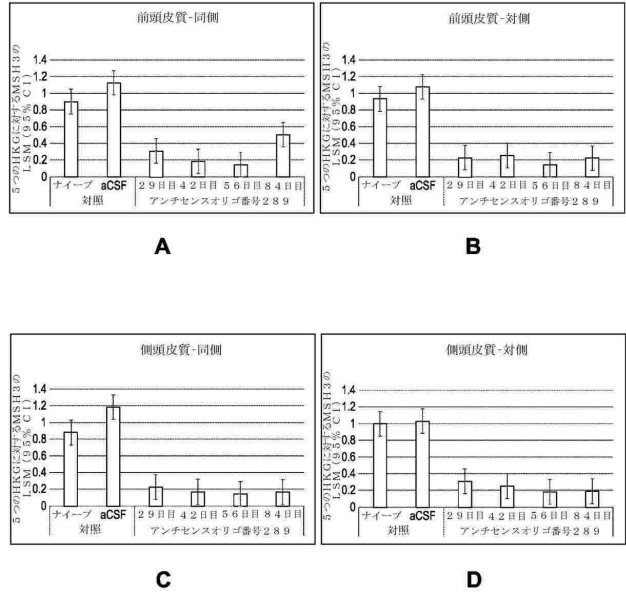
40

50

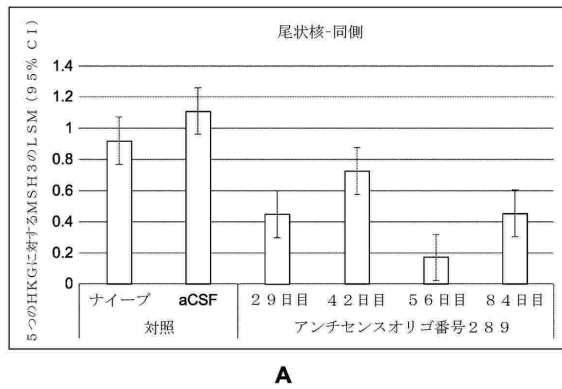
【図 8】



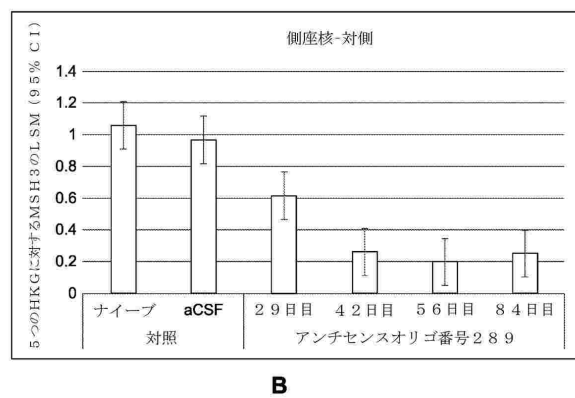
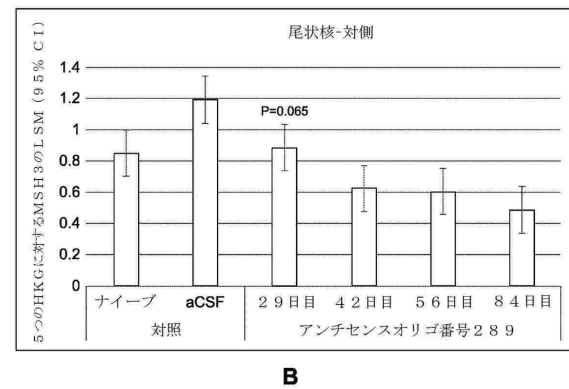
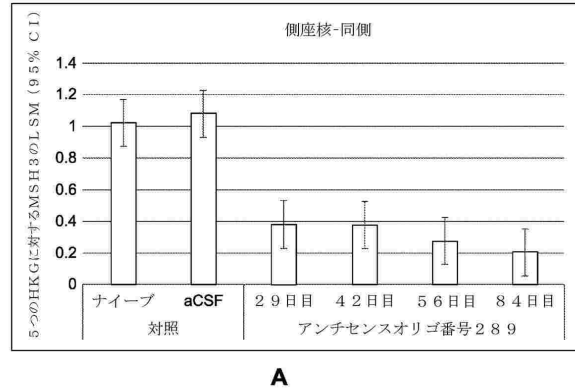
【図 9】



【図 10】



【図 11】



10

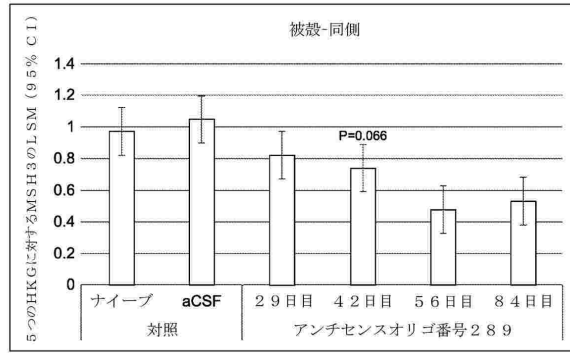
20

30

40

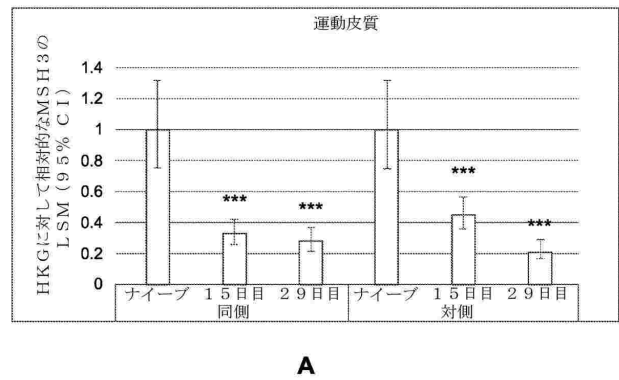
50

【図 1 2】



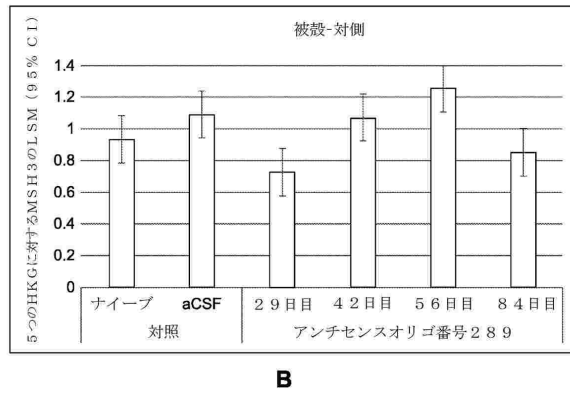
A

【図 1 3】

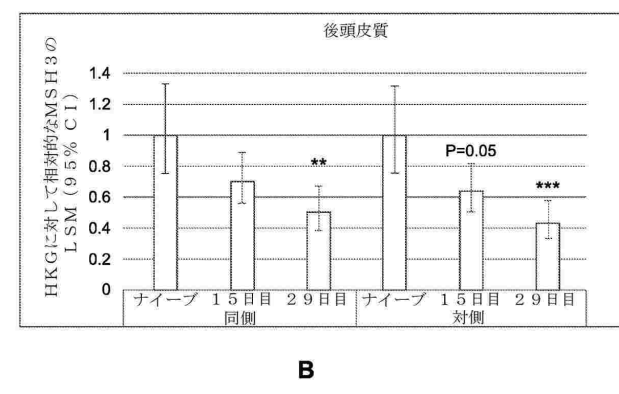


A

10



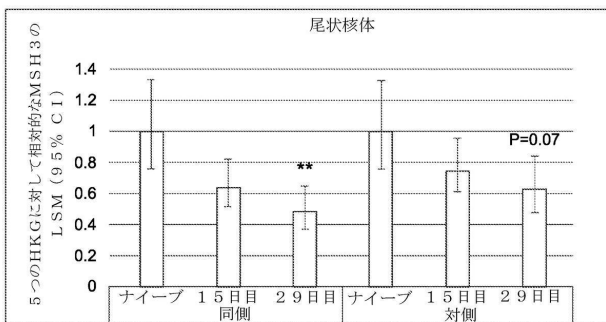
B



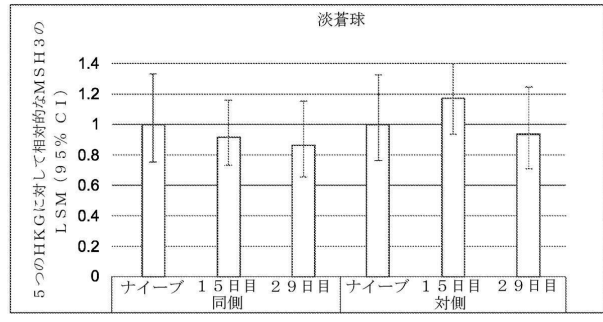
B

20

【図 1 4 A】



【図 1 4 B】

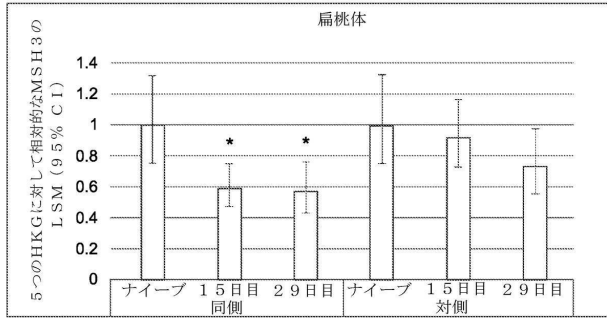


30

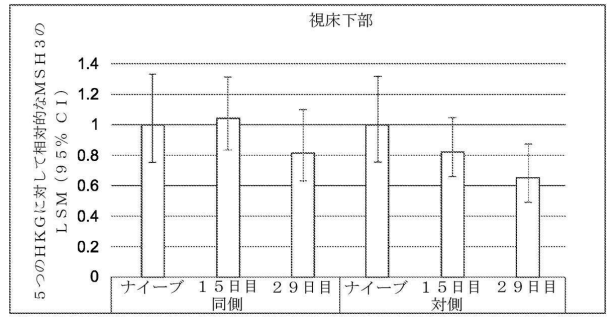
40

50

【図 1 4 C】

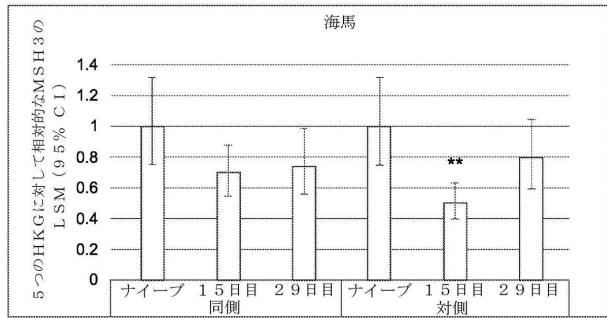


【図 1 4 D】

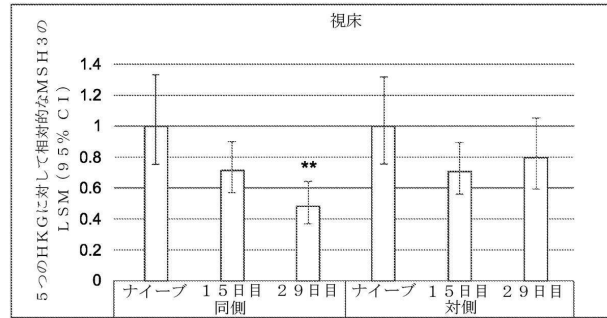


10

【図 1 4 E】

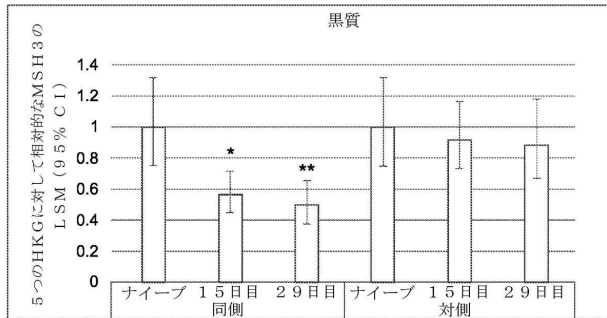


【図 1 4 F】

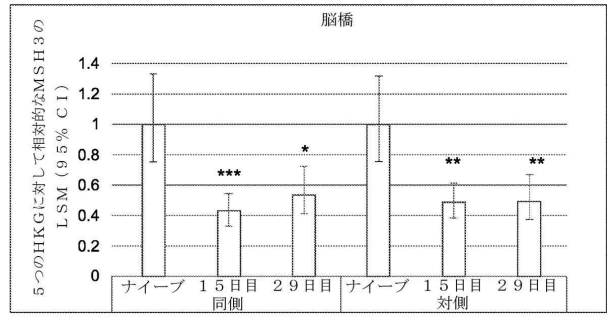


20

【図 1 4 G】



【図 1 4 H】

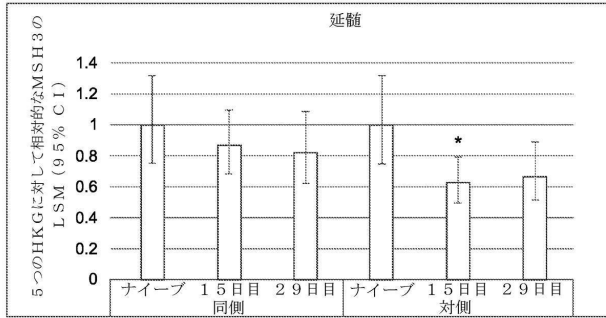


30

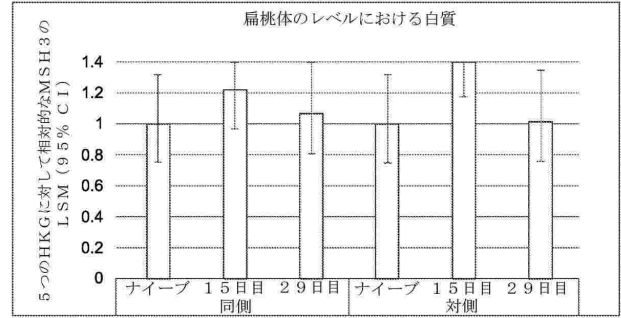
40

50

【図 14 I】

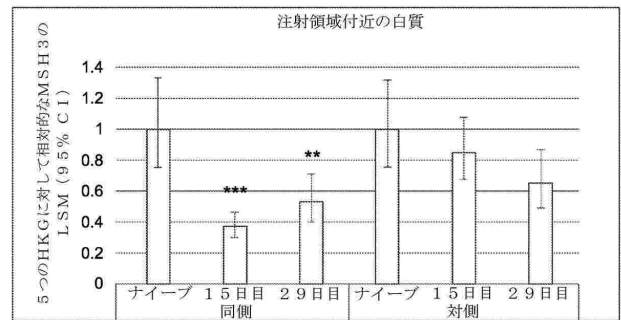


【図 15】



A

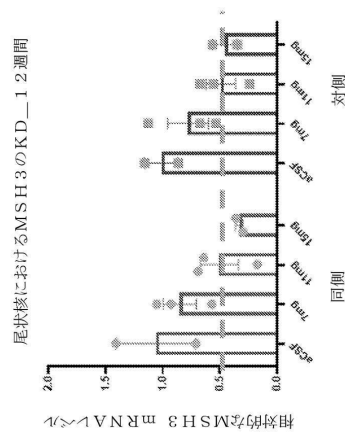
10



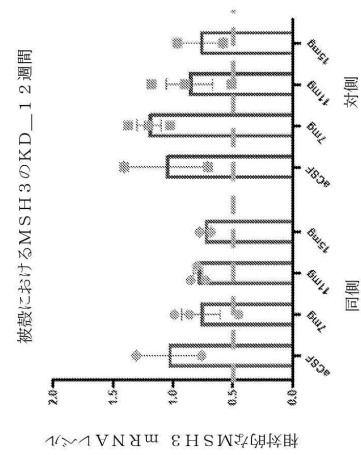
B

20

【図 16 A】



【図 16 B】

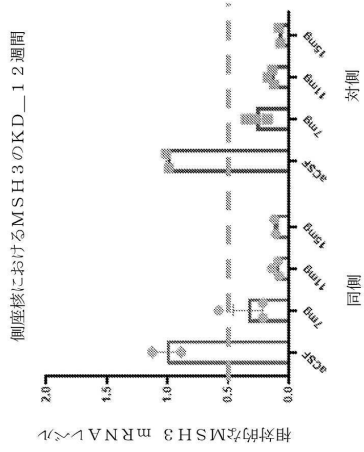


30

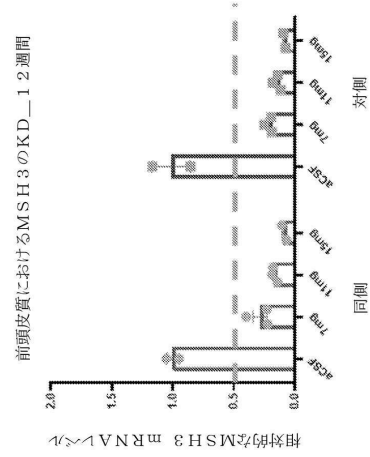
40

50

【図 16 C】

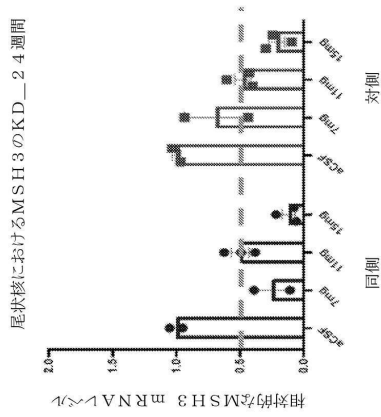


【図 16 D】

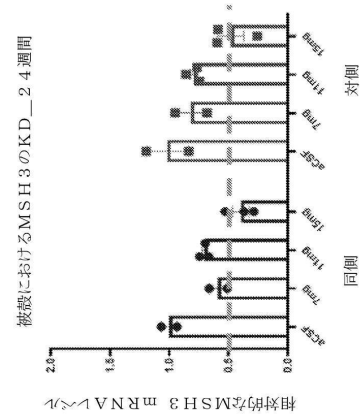


10

【図 17 A】



【図 17 B】



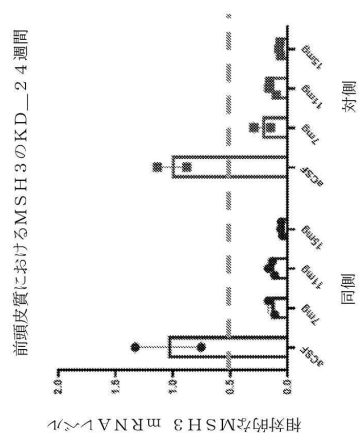
20

30

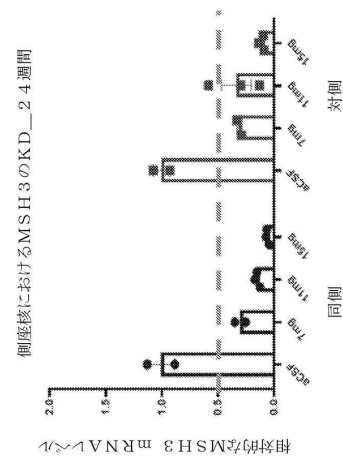
40

50

【図 1 7 C】



【図 1 7 D】



10

【配列表】

2025508959000001.xml

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和6年12月25日(2024.12.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2025508959000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2023/063531																		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - INV. - C12N 15/113; A61K 31/7115, 31/712, 31/7125 (2023.01) ADD. - C12N 15/11; C12Q 1/68 (2023.01) CPC - INV. - C12N 15/113; A61K 31/7115, 31/712, 31/7125; A61P 25/00 (2023.08) ADD. - C12N 2310/11, 2310/14 (2023.08) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) See Search History document																				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 2021/0395740 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 23 December 2021 (23.12.2021) entire document</td> <td>1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2018/0340178 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS INC. et al.) 29 November 2018 (29.11.2018) entire document</td> <td>1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2020/128972 A1 (NOVARTIS AG) 26 June 2020 (25.06.2020) entire document</td> <td>1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2021/247020 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 09 December 2021 (09.12.2021) entire document</td> <td>1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2020/117703 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 11 June 2020 (11.06.2020) entire document</td> <td>1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 2021/0395740 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 23 December 2021 (23.12.2021) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129	Y	US 2018/0340178 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS INC. et al.) 29 November 2018 (29.11.2018) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129	A	WO 2020/128972 A1 (NOVARTIS AG) 26 June 2020 (25.06.2020) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129	A	WO 2021/247020 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 09 December 2021 (09.12.2021) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129	A	WO 2020/117703 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 11 June 2020 (11.06.2020) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
Y	US 2021/0395740 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 23 December 2021 (23.12.2021) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129																		
Y	US 2018/0340178 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS INC. et al.) 29 November 2018 (29.11.2018) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129																		
A	WO 2020/128972 A1 (NOVARTIS AG) 26 June 2020 (25.06.2020) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129																		
A	WO 2021/247020 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 09 December 2021 (09.12.2021) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129																		
A	WO 2020/117703 A1 (TRIPLT THERAPEUTICS INC.) 11 June 2020 (11.06.2020) entire document	1-5, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129																		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.																				
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																				
Date of the actual completion of the international search 06 October 2023		Date of mailing of the international search report NOV 02 2023																		
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300																		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/063531

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter:1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/063531

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 6-13, 21-74, 147-210, 218-220
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, 129

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/083531

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-4, 14-20, 75-148, and 211-215 are drawn to single stranded oligonucleotides which target MSH3, and methods comprising the same.

The first invention of Group I+ is restricted to a single stranded oligonucleotide selected to be SEQ ID NO:1 (100% complementary to nucleobases 2548-2565 of Instant SEQ ID NO:814) and methods comprising the same. It is believed that claims 1-4, 75, 77, 92, 94, 112, 114, 116, 127, and 129 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NO: 1.

Applicant is invited to elect additional single stranded oligonucleotides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a single stranded oligonucleotide selected to be SEQ ID NO: 2 and methods comprising the same. Additional single stranded oligonucleotides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for targeting MSH3, requiring the selection of alternative single stranded oligonucleotides where " the oligonucleotide consists of a nucleobase sequence selected from the group consisting of any of SEQ ID NOs: 1-384 and 390-813, or a pharmaceutically acceptable salt thereof."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a method of treating, preventing, or delaying the onset and/or progression of a nucleotide repeat expansion disorder in a subject in need thereof, the method comprising intracerebroventricularly administering a single-stranded oligonucleotide that targets MSH3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein the single-stranded oligonucleotide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is administered at a dose of about 2 mg to about 300 mg; a method of treating, preventing, or delaying the onset and/or progression of a nucleotide repeat expansion disorder in a subject in need thereof, the method comprising intracerebroventricularly administering a single-stranded oligonucleotide of 15-30 linked nucleotides in length, wherein the single-stranded oligonucleotide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is administered at a dose of about 2 mg to about 300 mg; a method of treating, preventing, or delaying the onset and/or progression of a nucleotide repeat expansion disorder in a subject in need thereof, the method comprising intracerebroventricularly administering an oligonucleotide, wherein the single-stranded oligonucleotide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, is administered at a dose of about 2 mg to about 300 mg. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, WO 2020/117703 to Triplet Therapeutics Inc. discloses a method of treating, preventing, or delaying the onset and/or progression of a nucleotide repeat expansion disorder in a subject in need thereof (present disclosure features useful compositions and methods to treat trinucleotide repeat expansion disorders, e.g., in a subject in need thereof, Pg. 1, Lns. 29-30), the method comprising intracerebroventricularly administering a single-stranded oligonucleotide that targets MSH3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof (intracerebroventricular injections, Pg. 20, Ln. 36; the disclosure is directed to a single-stranded oligonucleotide of 10-30 linked nucleosides in length for inhibiting expression of a human MSH3 gene, Pg. 2, Lns. 7-8; administered, Pg. 8, Ln. 18), wherein the single-stranded oligonucleotide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof (intracerebroventricular injections, Pg. 20, Ln. 36; the disclosure is directed to a single-stranded oligonucleotide of 10-30 linked nucleosides in length for inhibiting expression of a human MSH3 gene, Pg. 2, Lns. 7-8; administered, Pg. 8, Ln. 18), a method of treating, preventing, or delaying the onset and/or progression of a nucleotide repeat expansion disorder in a subject in need thereof (present disclosure features useful compositions and methods to treat trinucleotide repeat expansion disorders, e.g., in a subject in need thereof, Pg. 1, Lns. 29-30), the method comprising intracerebroventricularly administering a single-stranded oligonucleotide of 15-30 linked nucleotides in length, wherein the single-stranded oligonucleotide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof (intracerebroventricular injections, Pg. 20, Ln. 36; the disclosure is directed to a single-stranded oligonucleotide of 10-30 linked nucleosides in length for inhibiting expression of a human MSH3 gene, Pg. 2, Lns. 7-8; administered, Pg. 8, Ln. 18), a method of treating, preventing, or delaying the onset and/or progression of a nucleotide repeat expansion disorder in a subject in need thereof (present disclosure features useful compositions and methods to treat trinucleotide repeat expansion disorders, e.g., in a subject in need thereof, Pg. 1, Lns. 29-30), the method comprising intracerebroventricularly administering an oligonucleotide, wherein the single-stranded oligonucleotide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof (intracerebroventricular injections, Pg. 20, Ln. 36; the disclosure is directed to a single-stranded oligonucleotide of 10-30 linked nucleosides in length for inhibiting expression of a human MSH3 gene, Pg. 2, Lns. 7-8; administered, Pg. 8, Ln. 18).

Further, WO 2020/128972 to Novartis Ag teaches administered at a dose of about 2 mg to about 300 mg (administered orally at a dose of about 2 mg per day, Pg. 12, Ln. 23).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/7125	
A 6 1 K	31/712 (2006.01)	A 6 1 K	31/712	
A 6 1 K	47/46 (2006.01)	A 6 1 K	47/46	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/14 (2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	

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

弁理士 田村 弥栄子

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100152308

弁理士 中 正道

(74)代理人 100201558

弁理士 亀井 恵二郎

(72)発明者 アントニエヴィッチ、イリーナ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 4 2 1、レキシントン、ヘイデン アヴェニュー 9 5
、タケダ ファーマシューティカルズ ユー．エス．エー．、インコーポレイテッド内

(72)発明者 レイ、ダブリュー．ジョージ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 4 2 1、レキシントン、ヘイデン アヴェニュー 9 5
、タケダ ファーマシューティカルズ ユー．エス．エー．、インコーポレイテッド内

(72)発明者 グー、ペイ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 4 2 1、レキシントン、ヘイデン アヴェニュー 9 5
、タケダ ファーマシューティカルズ ユー．エス．エー．、インコーポレイテッド内

F ターム (参考) 4B063 QA01 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR62 QS25 QS34

4C076 AA12 BB21 CC01 EE56 FF70

4C084 AA13 MA56 NA05 NA14 ZA021 ZA022 ZA151 ZC411 ZC412 ZC752

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA05 MA56 NA14 ZA02

ZA15 ZC41