

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-512835
(P2025-512835A)

(43)公表日 令和7年4月22日(2025.4.22)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	31/713(2006.01)	A 6 1 K	31/713	Z N A	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	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/7125		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5	
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	27/02		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全86頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-557439(P2024-557439)		(71)出願人	521511298	
(86)(22)出願日	令和5年3月27日(2023.3.27)			エンピリコ インク.	
(85)翻訳文提出日	令和6年11月27日(2024.11.27)			アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォル	
(86)国際出願番号	PCT/US2023/065000			ニア州 サンディエゴ ラ・ホーヤ・ビレ	
(87)国際公開番号	WO2023/192830			ッジ・ドライブ 4 6 6 0 スイート 1	
(87)国際公開日	令和5年10月5日(2023.10.5)			0 0	
(31)優先権主張番号	63/324,487		(74)代理人	110003797	
(32)優先日	令和4年3月28日(2022.3.28)			弁理士法人清原国際特許事務所	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		(72)発明者	ウェイクフィールド, ダレン エイチ.	
(31)優先権主張番号	63/429,756			アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォル	
(32)優先日	令和4年12月2日(2022.12.2)			ニア州 サンディエゴ ラ・ホーヤ・ビレ	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			ッジ・ドライブ 4 6 6 0 スイート 1	
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ		(72)発明者	アルメイダ, ローレン	
		最終頁に続く		アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォル	
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 修飾オリゴヌクレオチド

(57)【要約】

【解決手段】本明細書では、修飾オリゴヌクレオチドを含む組成物が開示される。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、疎水性部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2' 修飾リボース分子などの修飾オリゴヌクレオチド糖を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート結合などの修飾ヌクレオシド間結合を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、s i R N Aを含む。いくつかの実施形態では、s i R N Aは、いずれかの末端にオーバーハングを有する二重鎖領域を含む。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

組成物であって、該組成物は、
センス鎖、アンチセンス鎖、および前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の末端に結合した脂質部分を含んだ低分子干渉 RNA (s i RNA)
を含み、

ここで、前記脂質部分は、フェニルまたはシクロヘキサニル (c y c l o h e x a n y l) リンカーを含み、前記リンカーは、脂質、および前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端に結合する、組成物。

【請求項 2】

前記脂質、および前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端は、1, 4, 1, 3、または 1, 2 置換パターンで前記フェニルまたは前記シクロヘキサニルリンカーに結合する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記脂質、および前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端は、1, 4 置換パターンで前記フェニルまたは前記シクロヘキサニルリンカーに結合する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記脂質部分は、以下の構造：

【化 1】



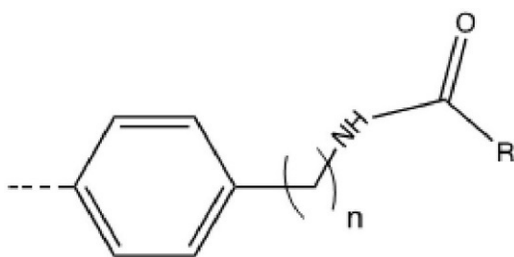
を含み、

式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端への共有結合を示し、ただし、R は、オクタンではないことを条件とする、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記脂質部分は、以下の構造：

【化 2】



を含み、

式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端への共有結合を示し、n は、1 ~ 3 であり、R は、4 ~ 18 個の炭素を含有するアルキル基である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記脂質部分は、以下の構造：

10

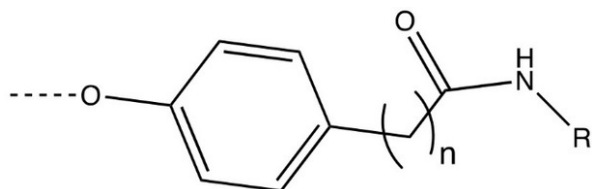
20

30

40

50

【化 3】



を含み、

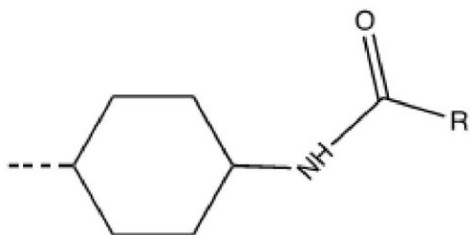
式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端への共有結合を示し、 n は、 $0 \sim 3$ であり、 R は、 $4 \sim 18$ 個の炭素を含有するアルキル基である、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 7】

前記脂質部分は、以下の構造：

【化 4】



20

を含み、

式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の前記末端への共有結合を示す、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記脂質部分は、表 1 に示される脂質部分を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記脂質部分は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の 5' 末端に結合する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記脂質部分は、ホスフェートを介して前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の 5' 末端に結合する、請求項 1 に記載の組成物。

30

【請求項 11】

前記脂質部分は、前記センス鎖の末端に結合する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記アンチセンス鎖は、5' ビニルホスホネートを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記アンチセンス鎖は、1 つまたは 2 つの 5' ホスホロチオエート結合を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記アンチセンス鎖は、1 つまたは 2 つの 3' ホスホロチオエート結合を含む、請求項 1 に記載の組成物。

40

【請求項 15】

前記センス鎖は、1 つまたは 2 つの 5' ホスホロチオエート結合を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記センス鎖は、1 つまたは 2 つの 5' ホスホロチオエート結合を含まない、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 17】

前記センス鎖は、5' ホスフェート結合を含む、請求項 1 に記載の組成物。

50

【請求項 18】

前記センス鎖は、1つまたは2つの3'ホスホロチオエート結合を含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項 19】

前記センス鎖に関して、

すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含むこと、

すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、または

すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、

ただし、前述のいずれにおいても、前記センス鎖が2'デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする、請求項1に記載の組成物。

【請求項 20】

前記センス鎖は、2'デオキシヌクレオシドを含む、請求項19に記載の組成物。

【請求項 21】

前記センス鎖は、2'デオキシヌクレオシドを含まない、請求項19に記載の組成物。

【請求項 22】

前記アンチセンス鎖に関して、

すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含むこと、

すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、または

すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含むことのうち、いずれか1つが当てはまる、請求項1に記載の組成物。

【請求項 23】

組成物であって、該組成物は、

センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだ低分子干渉RNA (siRNA) を含み、

ここで、前記アンチセンス鎖は、ビニルホスホネートおよび2つのホスホロチオエート結合を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、

前記センス鎖は、疎水性部分を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、

前記センス鎖に関して、前記センス鎖が2'デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件として、

すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含むこと、

すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、または

すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含むことのうち、いずれか 1 つが当てはまり、

10

前記アンチセンス鎖に関して、

すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロを含むこと、

すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、

すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、または

20

すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロを含むことのうち、いずれか 1 つが当てはまる、組成物。

【請求項 24】

前記センス鎖は、2'-デオキシヌクレオシドを含む、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

前記センス鎖は、2'-デオキシヌクレオシドを含まない、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 26】

前記センス鎖の前記 5' 末端は、ホスホロチオエート結合によってではなくホスフェート結合によって結合した 2 つのヌクレオチドを含む、請求項 23 に記載の組成物。

30

【請求項 27】

前記センス鎖の前記 5' 末端は、1 つまたは 2 つのホスホロチオエート結合をさらに含む、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 28】

前記疎水性部分は、フェニルまたはシクロヘキサニルリンカーによって前記センス鎖の前記 5' 末端に結合した脂質を含む、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記脂質、および前記センス鎖の前記 5' 末端は、1, 4, 1, 3、または 1, 2 置換パターンで前記フェニルまたは前記シクロヘキサニルリンカーに結合する、請求項 28 に記載の組成物。

40

【請求項 30】

前記脂質、および前記センス鎖の前記 5' 末端は、1, 4 置換パターンで前記フェニルまたは前記シクロヘキサニルリンカーに結合する、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 31】

前記疎水性部分は、以下の構造：

【化 5】



を含み、

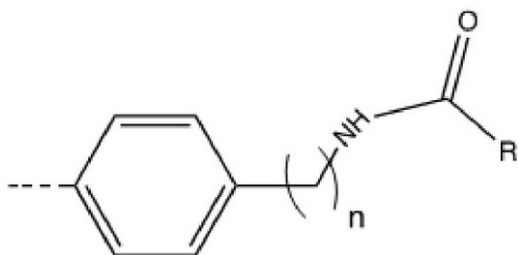
式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の末端への共有結合を示し、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基であり、ただし、Rがオクタンではないことを条件とする、請求項28に記載の組成物。

10

【請求項32】

前記疎水性部分は、以下の構造：

【化 6】



20

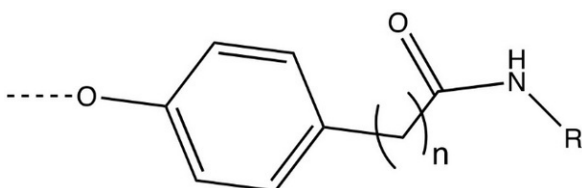
を含み、

式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の末端への共有結合を示し、nは、1～3であり、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である、請求項28に記載の組成物。

【請求項33】

前記疎水性部分は、以下の構造：

【化 7】



30

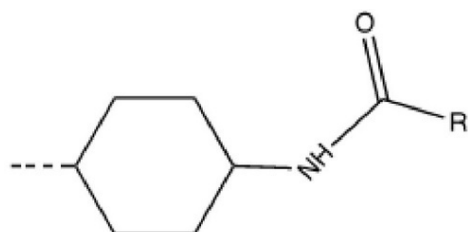
を含み、

式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の末端への共有結合を示し、nは、1～3であり、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である、請求項28に記載の組成物。

【請求項34】

前記疎水性部分は、以下の構造：

【化 8】



を含み、

式中、破線は、前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の末端への共有結合を示し、R

50

は、4～18個の炭素を含有するアルキル基である、請求項28に記載の組成物。

【請求項35】

前記疎水性部分は、表1に示される脂質部分を含む、請求項28に記載の組成物。

【請求項36】

前記センス鎖および前記アンチセンス鎖は、二重鎖を形成する、請求項1または23に記載の組成物。

【請求項37】

前記二重鎖は、少なくとも10塩基対、少なくとも11塩基対、少なくとも12塩基対、少なくとも13塩基対、少なくとも14塩基対、少なくとも15塩基対、少なくとも16塩基対、少なくとも17塩基対、少なくとも18塩基対、少なくとも19塩基対、少なくとも20塩基対、少なくとも21塩基対、少なくとも22塩基対、少なくとも23塩基対、少なくとも24塩基対、または少なくとも25塩基対を含む、請求項36に記載の組成物。

10

【請求項38】

前記二重鎖は、19塩基対を含む、請求項36に記載の組成物。

【請求項39】

前記二重鎖は、センス鎖オーバーハングを含む、請求項36に記載の組成物。

【請求項40】

前記センス鎖オーバーハングは、1～4個のヌクレオシドを含む、請求項39に記載の組成物。

20

【請求項41】

前記センス鎖オーバーハングは、2個のヌクレオシドを含む、請求項39に記載の組成物。

【請求項42】

前記センス鎖オーバーハングは、ウラシルを含む、請求項39に記載の組成物。

【請求項43】

前記二重鎖は、アンチセンス鎖オーバーハングを含む、請求項39に記載の組成物。

【請求項44】

前記アンチセンス鎖オーバーハングは、1～4個のヌクレオシドを含む、請求項43に記載の組成物。

30

【請求項45】

前記アンチセンス鎖オーバーハングは、2個のヌクレオシドを含む、請求項43に記載の組成物。

【請求項46】

前記アンチセンス鎖オーバーハングは、ウラシルを含む、請求項43に記載の組成物。

【請求項47】

前記アンチセンス鎖の前記5'末端が、前記2つのホスホロチオエート結合によって分離された3個のヌクレオシドを含む、請求項23に記載の組成物。

【請求項48】

前記アンチセンス鎖の前記3'末端は、前記2つのホスホロチオエート結合によって分離された3個のヌクレオシドを含む、請求項23に記載の組成物。

40

【請求項49】

薬学的に許容可能な担体をさらに含む、請求項1または23に記載の組成物。

【請求項50】

治療を必要としている対象に、請求項49に記載の組成物を有効量で投与する工程を含む、治療の方法。

【請求項51】

投与は、皮下投与、硝子体内投与、髄腔内投与、または脳室内投与を含む、請求項50に記載の方法。

【請求項52】

50

前記 s i R N A は、前記対象の疾患を媒介するタンパク質をコード化する m R N A を標的とする、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記 m R N A は、眼、肝臓、脂肪、脳、または脊髄を含む、前記対象の組織中にある、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 4】

細胞中の標的 R N A の量または R N A によってコードされるタンパク質の量を減少させる方法であって、前記細胞に、請求項 4 9 に記載の組成物を投与する工程を含み、ここで、前記アンチセンス鎖は、前記 R N A に相補的であって、これと結合する配列を含む、方法。

10

【請求項 5 5】

前記細胞に前記組成物を投与する工程は、前記細胞を含む対象に前記組成物を投与することを含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

投与は、皮下投与、硝子体内投与、髄腔内投与、または脳室内投与を含む、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

投与により、前記標的 R N A の測定値または前記 R N A によってコードされるタンパク質の測定値を、ベースライン測定値または対照と比較して少なくとも 1 0 % 減少させる、請求項 5 4 に記載の方法。

20

【請求項 5 8】

前記細胞は、眼、肝臓、脂肪、脳、または脊髄の細胞を含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2022年3月28日出願の米国仮特許出願第63／324，487号、および2022年12月2日出願の米国仮特許出願第63／429，756号の利益を主張するものであり、当該文献はいずれも、参照によって本明細書に組み込まれる。

30

【0002】

配列表

本出願は電子フォーマットの配列表と共に出願されている。この配列表は2023年3月20日に作製された54462-739601__PCT.xm1という表題のファイルとして提供され、541キロバイトのサイズである。電子形式の配列表中の情報は、その全体が参照によって組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

遺伝子発現を減少させるためにオリゴヌクレオチドの改善の必要が当技術分野に存在する。

40

【発明の概要】

【0004】

本明細書では、いくつかの実施形態において、m R N A を標的とし、かつ、有効量で投与されると標的 m R N A またはタンパク質のレベルを減少させるオリゴヌクレオチドを含む組成物が記載される。本明細書では、いくつかの実施形態において、センス鎖、アンチセンス鎖、および、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端に結合した脂質部分を含んだ低分子干渉 R N A (s i R N A) 含む組成物が記載されており、ここで、脂質部分は、フェニルまたはシクロヘキシルリンカーを含み、リンカーは、脂質、およびセンス鎖またはアンチセンス鎖の末端に結合する。脂質部分は、センス鎖またはアンチセンス鎖の 5 ' または 3 ' 末端に結合してもよい。いくつかの実施形態では、脂質、およびセンス鎖またはア

50

ンチセンス鎖の末端は、1, 4, 1, 3、または1, 2置換パターン（例えば、パラ、メタ、またはオルトフェニル構成）でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。いくつかの実施形態では、脂質、およびセンス鎖またはアンチセンス鎖の末端は、1, 4（パラフェニル）構成でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0005】

【化1】

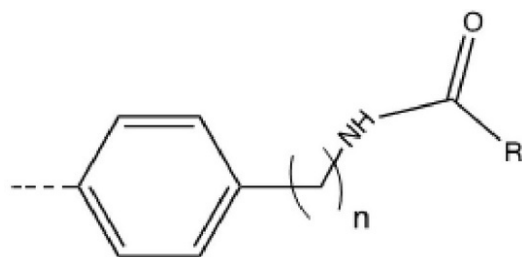


10

を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、Rは、オクタンではない。いくつかの実施形態では、Rは、4～7個または9～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0006】

【化2】

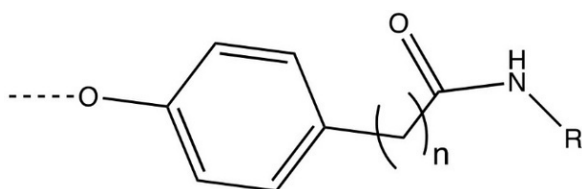


20

を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、nは1～3であり、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0007】

【化3】

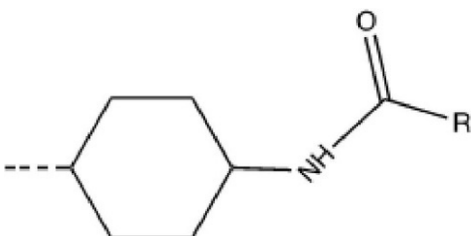


30

を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、nは、0～3であり、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0008】

【化4】



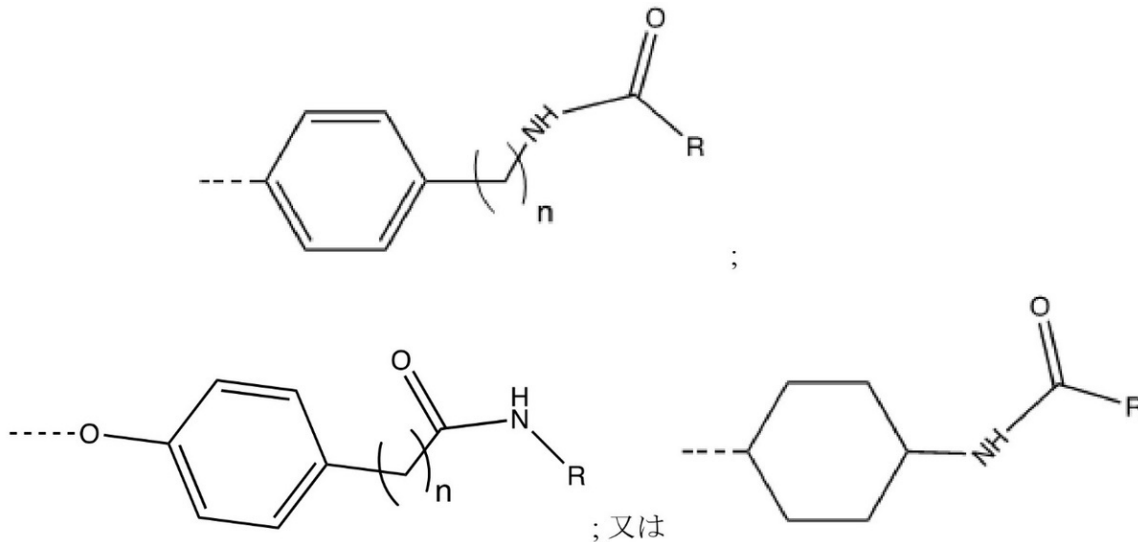
40

50

を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0009】

【化5】



10

20

のうちのいずれか1つを含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合を示し、nは、0～3であり、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、脂質部分は、表1に示される脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端に結合する。いくつかの実施形態では、脂質部分は、センス鎖の5'末端に結合する。いくつかの実施形態では、脂質部分は、ホスフェートを介してセンス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端に結合する。いくつかの実施形態では、脂質部分は、センス鎖の末端に結合する。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、ビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、5'ビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖またはアンチセンス鎖は、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'または3'末端に1つまたは2つのホスホロチオエート結合を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、1つまたは2つの5'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、アンチセンス鎖の5'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよく、あるいはアンチセンス鎖の5'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、1つまたは2つの3'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、アンチセンス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよく、あるいはアンチセンス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1つまたは2つの5'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、センス鎖の5'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよく、あるいはセンス鎖の5'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1つまたは2つの5'ホスホロチオエート結合を含まない。例えば、いくつかの実施形態では、センス鎖の5'末端にある最後の3つのヌクレオチド間にホスホロチオエートはない。いくつかの実施形態では、センス鎖は、5'ホスフェート結合を含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1つまたは2つの3'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、センス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチ

30

40

50

オエートがあってもよく、あるいはセンス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエートがあってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含むこと、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、またはすべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖が2'デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'デオキシヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'デオキシヌクレオシドを含まない。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロを含むこと、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、またはすべてのピリミジンヌクレオシドが2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'フルオロを含むことのうち、いずれか1つが当てはまる。いくつかの実施形態では、センス鎖またはアンチセンス鎖に関して、センス鎖またはアンチセンス鎖がデオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件として、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖がデオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレ

オシドを含まない。いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、すべてのプリンが 2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが 2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのピリミジンが 2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが 2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含むこと、10
このうち、いずれか 1つが当てはまる。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが 2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが 2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'フルオロと 2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'フルオロ修飾プリンを含むこと、15
このうち、いずれか 1つが当てはまる。センス鎖は、9 位に 2-デオキシ修飾を含んでもよい。

【0010】

本明細書では、いくつかの実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだ低分子干渉 RNA (siRNA) を含む組成物が記載されており、ここで、アンチセンス鎖は、ビニルホスホネートおよび 2つのホスホロチオエート結合を含んだ 5 末端、ならびに 2つのホスホロチオエート結合を含んだ 3'末端を含み、センス鎖は、疎水性部分を含んだ 5'末端、ならびに 2つのホスホロチオエート結合を含んだ 3'末端を含み、センス鎖に関して、センス鎖が 2'デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件として、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含むこと、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、またはすべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含むこと、10
このうち、いずれか 1つが当てはまり、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'フルオロと 2'-O-メチルとの混合物で修飾されること、またはすべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-O-メチルを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'フルオロを含むこと、15
このうち、いずれか 1つが当てはまる。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'デオキシヌク 40
50

レオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'デオキシヌクレオシドを含まない。本明細書では、いくつかの実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだ低分子干渉RNA (siRNA) を含む組成物が記載されており、ここで、アンチセンス鎖は、ビニルホスホネートおよび2つのホスホロチオエート結合を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、センス鎖は、疎水性部分を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、すべてにおいて、センス鎖がデオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレオシドを含まない。本明細書では、いくつかの実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだ低分子干渉RNA (siRNA) を含む組成物が記載されており、ここで、アンチセンス鎖は、ビニルホスホネートおよび2つのホスホロチオエート結合を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、センス鎖は、疎水性部分を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、アンチセンス鎖に

10

20

30

40

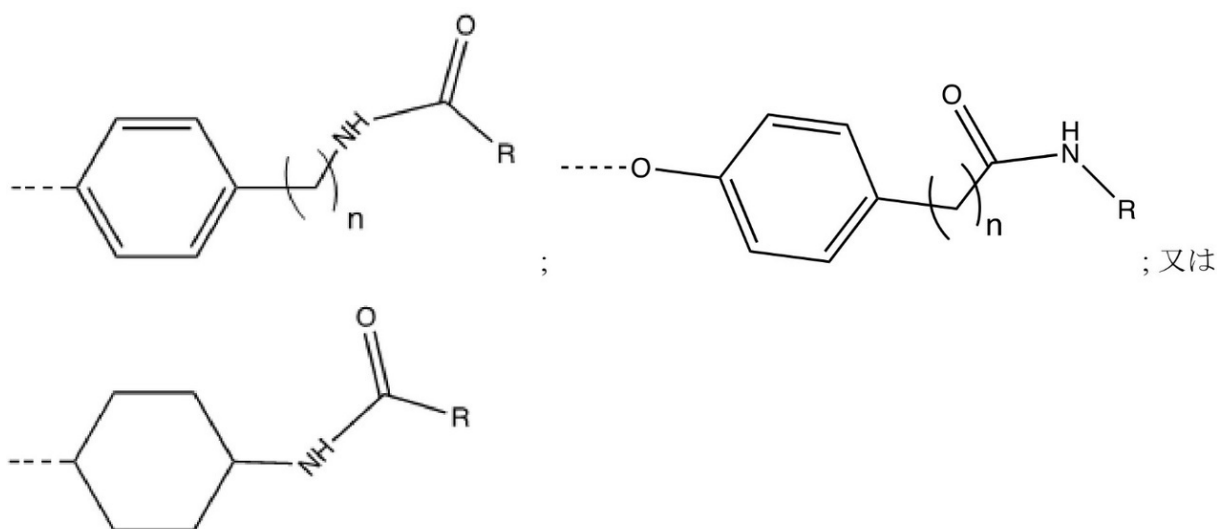
50

み、すべてのプリンが、2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまる。いくつかの実施形態では、センス鎖の5'末端は、ホスホロチオエート結合によってではなくホスフェート結合によって結合した2つのヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の5'末端は、ホスホロチオエート結合によってではなくホスフェート結合によって結合した2つのヌクレオチドを含み、センス鎖の3'末端は、ホスホロチオエート結合によって結合した2つのヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の5'末端は、1つまたは2つのホスホロチオエート結合をさらに含む。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、フェニルまたはシクロヘキシルリンカーによってセンス鎖の5'末端に結合した脂質を含む。いくつかの実施形態では、脂質、およびセンス鎖の5'末端は、1, 4, 1, 3、または1, 2置換パターン（例えば、パラ、メタ、またはオルトフェニル構成）でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。いくつかの実施形態では、脂質、およびセンス鎖の5'末端は、1, 4（パラフェニル）構成でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、以下の構造：

10

【0011】

【化6】



20

30

のうちのいずれか1つを含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合を示し、nは、1～3であり、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、以下の構造：

【0012】

【化7】



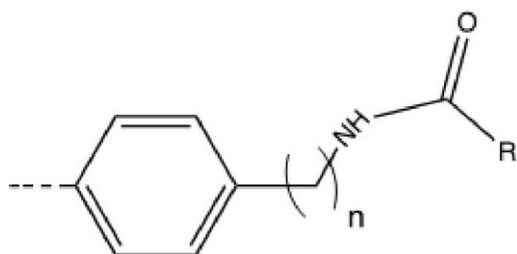
40

を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、Rは、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、Rは、オクタンではない。いくつかの実施形態では、Rは、4～7個または9～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、以下の構造：

【0013】

50

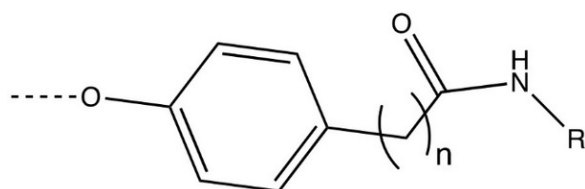
【化 8】



を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、 n は 1 ～ 3 であり、 R は、4 ～ 18 個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、以下の構造：

【0014】

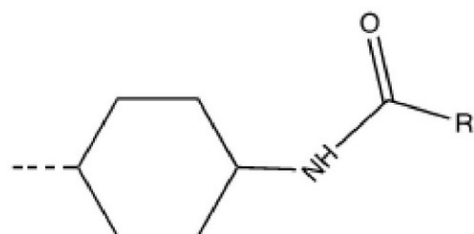
【化 9】



を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、 n は 1 ～ 3 であり、 R は、4 ～ 18 個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、以下の構造：

【0015】

【化 10】



を含み、式中、破線は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端への結合（例えば共有結合）を示し、 R は、4 ～ 18 個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、表 1 に示される脂質部分を含む。センス鎖は、9 位に 2-デオキシ修飾を含んでもよい。

【0016】

いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、二重鎖を形成する。いくつかの実施形態では、二重鎖は、少なくとも 10 塩基対、少なくとも 11 塩基対、少なくとも 12 塩基対、少なくとも 13 塩基対、少なくとも 14 塩基対、少なくとも 15 塩基対、少なくとも 16 塩基対、少なくとも 17 塩基対、少なくとも 18 塩基対、少なくとも 19 塩基対、少なくとも 20 塩基対、少なくとも 21 塩基対、少なくとも 22 塩基対、少なくとも 23 塩基対、少なくとも 24 塩基対、または少なくとも 25 塩基対を含む。いくつかの実施形態では、二重鎖は、19 塩基対を含む。いくつかの実施形態では、二重鎖は、センス鎖オーバーハングを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖オーバーハングは、1 ～ 4 個のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖オーバーハングは、2 個のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖オーバーハングは、ウラシルを含む。いくつかの実施形態では、二重鎖は、アンチセンス鎖オーバーハングを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖オーバーハングは、1 ～ 4 個のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖オーバーハングは、2 個のヌクレオシ

10

20

30

40

50

ドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖オーバーハングは、ウラシルを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、1～3個のヌクレオチドのセンス鎖3'オーバーハングおよび1～3個のヌクレオチドのアンチセンス鎖3'オーバーハングを含む二重鎖を形成する。いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、2個のウラシルヌクレオチドのセンス鎖3'オーバーハングおよび2個のウラシルヌクレオチドのアンチセンス鎖3'オーバーハングを含む二重鎖を形成する。いくつかの実施形態は、薬学的に許容可能な担体を含む。本明細書では、いくつかの実施形態において、必要としている対象に組成物を有効量で投与する工程を含む治療の方法が記載される。本明細書では、いくつかの実施形態において、細胞中のRNAまたはタンパク質の量を減少させる方法であって、細胞に組成物を投与する工程を含む、方法が記載される。いくつかの実施形態では、細胞に組成物を投与する工程は、細胞を含む対象に組成物を投与することを含む。

10

【0017】

本明細書では、いくつかの実施形態において、必要としている対象に、本明細書に記載される組成物またはsiRNAを有効量で投与する工程を含む治療の方法が記載される。いくつかの実施形態では、投与は、皮下投与、硝子体内投与、髄腔内投与、または脳室内投与を含む。いくつかの実施形態では、siRNAは、対象の疾患を媒介するタンパク質をコード化するmRNAを標的とする。いくつかの実施形態では、mRNAは、眼、肝臓、脂肪、脳、または脊髄を含む、対象の組織中にある。

【0018】

本明細書では、いくつかの実施形態において、細胞中の標的RNAの量またはRNAによってコードされるタンパク質の量を減少させる方法であって、細胞に、本明細書に記載される組成物またはsiRNAを投与する工程を含み、ここで、アンチセンス鎖は、RNAに相補的であって、これと結合する配列を含む、方法が記載される。いくつかの実施形態では、細胞に組成物を投与する工程は、細胞を含む対象に組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態では、投与は、皮下投与、硝子体内投与、髄腔内投与、または脳室内投与を含む。いくつかの実施形態では、投与は、標的RNAの測定値またはRNAによってコードされるタンパク質の測定値を、ベースライン測定値または対照と比較して少なくとも10%減少させる。いくつかの実施形態では、細胞は、眼、肝臓、脂肪、脳、または脊髄の細胞を含む。

20

【発明を実施するための形態】

【0019】

本明細書では、いくつかの実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドが開示される。修飾オリゴヌクレオチドは、リボース環およびホスフェート結合に対する修飾を含むsiRNAであってもよい。修飾は、細胞送達、安定性、および効率を最大化する特定のパターンであってもよい。siRNAはさらに、ビニルホスホネートおよび疎水性基を含んでもよい。これらの修飾は、対象内の細胞または組織への送達を助けることができる。修飾オリゴヌクレオチドは、治療方法または遺伝子発現を減少させる方法などの方法において使用することができる。

30

【0020】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、19の塩基対の間の塩基対合を有する21のヌクレオチド一本鎖からなる二重鎖を含む。いくつかの実施形態では、二重鎖は、各鎖の3'末端にある一本鎖2ヌクレオチドオーバーハングを含む。1つの鎖（アンチセンス鎖）は、標的mRNAに相補的である。アンチセンス鎖の各末端は、1～2個のホスホロチオエート結合を有する。5'末端は、ビニルホスホネートなどの任意選択のリン酸模倣体を有する。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的mRNAまたは標的タンパク質をノックダウンするために使用される。いくつかの実施形態では、センス鎖は、標的mRNAと同じ配列を有する。いくつかの実施形態では、3'末端に1～2個のホスホロチオエートが存在する。いくつかの実施形態では、5'末端に1個のホスホロチオエートが存在するか、またはホスホロチオエートは存在しない。いくつかの実施形

40

50

態では、ホスホジエステル結合を介して5'末端に結合した12～25個の炭素の疎水性コンジュゲートが存在する。

【0021】

I. 組成物

本明細書では、いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドを含む組成物が開示される。いくつかの実施形態では、組成物は、標的オリゴヌクレオチドを標的とするオリゴヌクレオチドを含む。標的オリゴヌクレオチドは、標的RNAを含んでもよい。いくつかの実施形態では、組成物は、標的RNAを標的とするオリゴヌクレオチドからなる。標的RNAは、標的mRNAを含んでもよい。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、対象の標的mRNA発現を減少させる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、対象の標的タンパク質発現を減少させる。オリゴヌクレオチドは、RNA二重鎖を含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、低分子干渉RNA (siRNA) を含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) を含んでもよい。いくつかの実施形態では、組成物は、必要としている対象の障害を治療する方法において使用される。いくつかの実施形態は、障害を治療する方法において使用するためのオリゴヌクレオチドを含む組成物に関する。いくつかの実施形態は、障害を治療する方法における、オリゴヌクレオチドを含む組成物の使用に関する。

10

【0022】

標的は、様々な方法によって同定することができる。いくつかの事例では、標的オリゴヌクレオチドは、障害（例えば、脂肪関連または眼関連障害）の発生に関連する発現レベルを有するmRNAを含む。いくつかの事例では、標的オリゴヌクレオチドは、障害に関連する特定の遺伝子型を有する遺伝子によってコードされるmRNAを含む。大規模なヒトの遺伝子データは、医薬品の発見と開発の成功率を向上させることができる。ゲノムワイド関連解析 (GWAS) は、集団試料における遺伝子変異と形質との関連を検出することができる。GWASは、疾病の生物学的な理解を深め、適切な治療を提供することができる。GWASは、ジェノタイピングデータおよび／またはシーケンシングデータを利用することができる。多くの場合、ゲノム上に比較的均一に分布している数百万の遺伝子変異を評価することを含んでいる。最も一般的なGWASのデザインは症例対照研究であり、症例と対照における変異体頻度を比較することを含んでいる。ある変異体が症例と対照で有意に異なる頻度を有する場合、その変異体は疾患に関連していると言われる。GWASで使用される可能性のある関連統計は、統計的有意性の指標としてのp値、効果量の指標としてのオッズ比 (OR)、または効果量の指標としてのベータ係数 (β) である。研究者はしばしば加法遺伝モデルを仮定して、対立遺伝子オッズ比を計算し、これは、ある対立遺伝子のコピーが1つ増えるごとに（その対立遺伝子のコピーを持たない場合と比較して）、与えられる疾患のリスクが増加する（または減少する）ことを示すものである。GWASのデザインおよび解釈における追加的な概念は連鎖不平衡の概念であり、これは対立遺伝子のランダムではない関連性 (non-random association) である。連鎖不平衡が存在すると、どの変異体が「原因である」のかが不明瞭になりかねない。

20

30

【0023】

変異体の機能的アノテーションおよび／またはウェットラボ実験は、GWASを介して同定された原因遺伝子変異体を同定するために使用され、多くの場合、疾患原因遺伝子の同定につながる。とりわけ、原因遺伝子変異体の機能的効果（例えば、タンパク質機能の喪失、タンパク質機能の獲得、遺伝子発現の増加、または遺伝子発現の減少）を理解することにより、その変異体を標的遺伝子の治療的調節の代理として使用し、その標的を調節する治療薬の潜在的な治療効果および安全性についての洞察を得ることができる。

40

【0024】

このような遺伝子と疾患との関連性の同定は、疾患生物学に対する洞察を与え、製薬産業にとって新規の治療標的を同定するために使用される。ヒト遺伝学から得られた治療上の洞察を翻訳するためには、患者における疾患生物学が外来的に「プログラム」され、ヒ

50

ト遺伝学からの観察が再現される。ヒト遺伝学によって同定された治療標的を新薬に応用する際に加えることができる治療モダリティにはいくつかの選択肢がある。これらは、低分子およびモノクローナル抗体などの十分に確立された治療モダリティ、オリゴヌクレオチドなどの成熟したモダリティ、ならびに遺伝子治療や遺伝子編集などの新しいモダリティを含む。治療モダリティの選択は、標的の位置（例えば、細胞内、細胞外、または分泌物）、関連組織（例えば、肺または眼）、および関連適応症などの要因に依存する。このような研究は、本明細書に記載される組成物または化合物による s i R N A 阻害のための特定の障害関連標的を同定するために行われてもよい。場合によっては、標的は、特定の組織に関連してもよい。

【0025】

本明細書では、標的 R N A を標的とするオリゴヌクレオチドを含む組成物が開示される。標的 R N A の阻害または標的化が開示される場合、いくつかの実施形態は、標的タンパク質または標的 R N A を阻害または標的化することを含んでもよいことが企図される。例えば、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドを使用して標的遺伝子によってコードされる R N A（例えば、m R N A）を阻害または標的化することによって、標的 R N A の翻訳による標的タンパク質の産生がより少ないという結果として、標的タンパク質を阻害または標的化することができるか、あるいは、標的 R N A と結合または相互作用し、標的 R N A からの標的タンパク質の産生を低減するオリゴヌクレオチドによって、標的タンパク質を標的化または阻害することができる。したがって、標的化は、標的 R N A の結合、および、標的 R N A またはタンパク質のレベルの減少を指すことがある。オリゴヌクレオチドは、低分子干渉 R N A（s i R N A）またはアンチセンスオリゴヌクレオチド（A S O）を含んでもよい。必要としている対象に標的を標的とするオリゴヌクレオチドを提供することによって標的障害を治療する方法も本明細書で提供される。

【0026】

いくつかの実施形態は、m R N A を標的とし、かつ、有効量で対象に投与されると細胞、体液、または組織中の標的 m R N A またはタンパク質のレベルを減少させるオリゴヌクレオチドを含んだ組成物を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、標的 R N A を標的とし、かつ、有効量で対象に投与されると細胞または組織の標的 m R N A レベルを減少させるオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、投与前と比較して、約 2.5% 以上、約 5% 以上、または約 7.5% 以上減少する。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、投与前と比較して、約 10% 以上減少する。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、投与前と比較して、約 20% 以上、約 30% 以上、約 40% 以上、約 50% 以上、約 60% 以上、約 70% 以上、約 80% 以上、約 90% 以上、または約 100% 減少する。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、投与前と比較して、約 2.5% 以下、約 5% 以下、または約 7.5% 以下減少する。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、投与前と比較して、約 10% 以下減少する。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、投与前と比較して、約 20% 以下、約 30% 以下、約 40% 以下、約 50% 以下、約 60% 以下、約 70% 以下、約 80% 以下、または約 90% 以下減少する。いくつかの実施形態では、標的 m R N A レベルは、2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、もしくは 100%、または前述の割合のうちのいずれか 2 つによって定義される範囲だけ減少する。

【0027】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的 m R N A を標的とし、かつ、有効量で対象に投与されると細胞、体液、または組織中の標的タンパク質レベルを減少させるオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、投与前と比較して、約 2.5% 以上、約 5% 以上、または約 7.5% 以上減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、投与前と比較して、約 10% 以上減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、投与前と比較して、約 20% 以上、約 30% 以上

、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、または約100%減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、投与前と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約7.5%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、投与前と比較して、約10%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、投与前と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、または約90%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、もしくは100%、または前述の割合のうちのいずれか2つによって定義される範囲だけ減少する。

10

【0028】

いくつかの実施形態では、組成物は、mRNAを標的とし、かつ、有効量で対象に投与されると疾患の表現型を軽減するオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、投与前と比較して、約2.5%以上、約5%以上、または約7.5%以上減少する。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、投与前と比較して、約10%以上減少する。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、投与前と比較して、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、または約100%減少する。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、投与前と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約7.5%以下減少する。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、投与前と比較して、約10%以下減少する。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、投与前と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、または約90%以下減少する。いくつかの実施形態では、疾患表現型は、2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、もしくは100%、または前述の割合のうちのいずれか2つによって定義される範囲だけ減少する。

20

【0029】

いくつかの実施形態では、組成物は、mRNAを標的とし、かつ、有効量で対象に投与されると対象の疾患に対して保護表現型を増強するオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約2.5%以上、約5%以上、または約7.5%以上増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約10%以上増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、または約100%以上増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約200%以上、約300%以上、約400%以上、約500%以上、約600%以上、約700%以上、約800%以上、約900%以上、または約1000%以上増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約7.5%以下増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約10%以下増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約100%以下増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、投与前と比較して、約200%以下、約300%以下、約400%以下、約500%以下、約600%以下、約700%以下、約800%以下、約900%以下、または約1000%以下増加する。いくつかの実施形態では、保護表現型は、2.5%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、250%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、もしくは1000%、または前述の割合のうちのいずれか2つによって定義される範囲

30

40

50

だけ増加する。

【0030】

A. siRNA

いくつかの実施形態では、組成物は、mRNAなどの標的RNAを標的とするオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、低分子干渉RNA (siRNA) を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAを標的とするオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む低分子干渉RNA (siRNA) を含む。

【0031】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、センス鎖は、12〜30ヌクレオシド長である。いくつかの実施形態では、組成物は、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30ヌクレオシド長、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のセンス鎖を含む。センス鎖は、14〜30ヌクレオシド長であってもよい。いくつかの実施形態では、組成物は、12〜30ヌクレオシド長のアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30ヌクレオシド長、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のアンチセンス鎖を含む。アンチセンス鎖は、14〜30ヌクレオシド長であってもよい。

【0032】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、各鎖は独立して、約12〜30ヌクレオシド長であり、センス鎖およびアンチセンス鎖のうちの少なくとも1つは、完全長のヒト標的mRNA配列の約12〜30個の連続するヌクレオシドを含むヌクレオシド配列を含んでいる。いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の少なくとも1つは、標的RNAの少なくとも約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、またはそれ以上の隣接するヌクレオシドを含むヌクレオシド配列を含んでいる。

【0033】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、センス鎖およびアンチセンス鎖は、二本鎖RNA二重鎖 (double-stranded RNA duplex) を形成する。いくつかの実施形態では、二本鎖RNA二重鎖の最初の塩基対は、AU塩基対である。

【0034】

いくつかの実施形態では、センス鎖は、3'オーバーハングをさらに含む。いくつかの実施形態では、3'オーバーハングは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個のヌクレオシド、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、3'オーバーハングは、1、2、またはそれ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、3'オーバーハングは、2個のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、5'オーバーハングをさらに含む。いくつかの実施形態では、5'オーバーハングは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個のヌクレオシド、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、5'オーバーハングは、1、2、またはそれ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、5'オーバーハングは、2個のヌクレオシドを含む。

【0035】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、3'オーバーハングをさらに含む。いくつかの実施形態では、3'オーバーハングは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個のヌクレオシド、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、3'オーバーハングは、1、2、またはそれ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、3'オーバーハングは、2個のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、5'オーバーハングをさらに含む。いくつかの実施形態では、5'オーバーハングは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個のヌクレオシド、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、5'オーバーハングは、1、2、またはそれ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、5'オーバーハングは、2個のヌクレオシドを含む。

10

【0036】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、siRNAは、ヒト標的mRNAにおいて19量体と結合する。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAにおいて12量体、13量体、14量体、15量体、16量体、17量体、18量体、19量体、20量体、21量体、22量体、23量体、24量体、または25量体と結合する。

【0037】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、siRNAは、非ヒト霊長類標的mRNAにおいて17量体と結合する。いくつかの実施形態では、siRNAは、非ヒト霊長類標的mRNAにおいて12量体、13量体、14量体、15量体、16量体、17量体、18量体、19量体、20量体、21量体、22量体、23量体、24量体、または25量体と結合する。

20

【0038】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび20個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、2個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび10個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、2個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび30個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、2個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび40個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、2個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび50個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、2個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび10個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、3個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび20個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、3個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび30個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、3個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび40個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、3個以下である。いくつかの実施形態では、siRNAは、ヒト標的mRNAおよび50個以下のヒトのオフターゲットと結合し、アンチセンス鎖のミスマッチは、3個以下である。

30

40

【0039】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを

50

含み、s i R N Aは、S N Pを保有していないヒト標的m R N A標的部位と結合し、マイナーアレル頻度（M A F）は、1 %以上である（2～18位）。いくつかの実施形態では、M A Fは、約2 %以上、約3 %以上、約4 %以上、約5 %以上、約6 %以上、約7 %以上、約8 %以上、約9 %以上、約10 %以上、約11 %以上、約12 %以上、約13 %以上、約14 %以上、約15 %以上、約16 %以上、約17 %以上、約18 %以上、約19 %以上、または約20 %以上である。

【0040】

B. A S O

いくつかの実施形態では、組成物は、標的m R N Aの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチド（A S O）を含む。いくつかの実施形態では、A S Oは、12～30ヌクレオシド長である。いくつかの実施形態では、A S Oは、14～30ヌクレオシド長である。いくつかの実施形態では、A S Oは、少なくとも約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30ヌクレオシド長、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲である。いくつかの実施形態では、A S Oは、15～25ヌクレオシド長である。いくつかの実施形態では、A S Oは、20ヌクレオシド長である。

【0041】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的m R N Aの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、約12～30ヌクレオシド長のA S Oを含み、完全長のヒト標的m R N A配列の約12～30個の隣接するヌクレオシドに相補的なヌクレオシド配列を含み、（i）オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシドおよび／もしくは修飾ヌクレオシド間結合を含んだ修飾を含み、ならびに／または、（i i）組成物は、薬学的に許容可能な担体を含む。いくつかの実施形態では、A S Oは、標的m R N Aの少なくとも約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、またはそれ以上の隣接するヌクレオシドに相補的なヌクレオシド配列を含む。

【0042】

C. 修飾

いくつかの実施形態では、組成物は、標的m R N Aの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、ここで、オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシドおよび／もしくは修飾ヌクレオシド間結合を含んだ修飾を含み、ならびに／または、（i i）組成物は、薬学的に許容可能な担体を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシドおよび／または修飾ヌクレオシド間結合を含む修飾を含んでいる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシド間結合を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、アルキルホスホネート、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、ホスホロジチオエート、アルキルホスホノチオエート、ホスホロアミデート、カルバメート、カーボネート、リン酸トリエステル、アセトアミデート、もしくはカルボキシメチルエステル、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、1個以上のホスホロチオエート結合を含む。ホスホロチオエートは、硫黄と取り替えられるオリゴヌクレオチドのリン酸骨格中に非架橋酸素原子を含んでもよい。修飾ヌクレオシド間結合は、s i R N AまたはA S Oに含まれてもよい。修飾ヌクレオシド間結合の利点は、毒性の減少または薬物動態の改善を含んでもよい。

【0043】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的m R N Aの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシド間結合を含み、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、もしくは20個の修飾ヌクレオシド間結合、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲の修飾ヌクレオシド間結合を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、18個以下の修飾ヌクレオシド間結合を含む。い

くつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、20個以下の修飾ヌクレオシド間結合を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2個以上の修飾ヌクレオシド間結合、3個以上の修飾ヌクレオシド間結合、4個以上の修飾ヌクレオシド間結合、5個以上の修飾ヌクレオシド間結合、6個以上の修飾ヌクレオシド間結合、7個以上の修飾ヌクレオシド間結合、8個以上の修飾ヌクレオシド間結合、9個以上の修飾ヌクレオシド間結合、10個以上の修飾ヌクレオシド間結合、11個以上の修飾ヌクレオシド間結合、12個以上の修飾ヌクレオシド間結合、13個以上の修飾ヌクレオシド間結合、14個以上の修飾ヌクレオシド間結合、15個以上の修飾ヌクレオシド間結合、16個以上の修飾ヌクレオシド間結合、17個以上の修飾ヌクレオシド間結合、18個以上の修飾ヌクレオシド間結合、19個以上の修飾ヌクレオシド間結合、または20個以上の修飾ヌクレオシド間結合を含む。

10

【0044】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、ロックド核酸(LNA)、ヘキシトール核酸(HLA)、シクロヘキセン核酸(CeNA)、2'-メトキシエチル、2'-O-アルキル、2'-O-アリル、2'-フルオロ、もしくは2'-デオキシ、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、LNAを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2', 4'拘束エチル核酸を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、HLAを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、CeNAを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-メトキシエチル基を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-アルキル基を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-メトキシエチルを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、メトキシエチルを含む。例えば、センス鎖の4位は、2'-メトキシエチルチミンなどのメトキシエチルヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-メチルを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-アリル基を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-フルオロ基を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-デオキシ基を含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシフルオロヌクレオシド、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)ヌクレオシド、2'-O-ジメチルアミノエトキシエチル(2'-O-DMAEOE)ヌクレオシド、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)ヌクレオシド、もしくは2'-ara-F、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-メチルヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-デオキシフルオロヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-NMAヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-DMAEOEヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-ara-Fを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、1個以上の2'-フルオロ修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオシドは、2'-O-アルキル修飾ヌクレオシドを含む。修飾ヌクレオシドの利点は、毒性の減少または薬物動態の改善を含んでもよい。

20

30

40

【0045】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、もしくは21個の修飾ヌクレオシド、または前述の数字のうちのいずれか2つによって定義される範囲のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、19個以下の修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、21個以下の修飾ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2個以

50

上の修飾ヌクレオシド、3個以上の修飾ヌクレオシド、4個以上の修飾ヌクレオシド、5個以上の修飾ヌクレオシド、6個以上の修飾ヌクレオシド、7個以上の修飾ヌクレオシド、8個以上の修飾ヌクレオシド、9個以上の修飾ヌクレオシド、10個以上の修飾ヌクレオシド、11個以上の修飾ヌクレオシド、12個以上の修飾ヌクレオシド、13個以上の修飾ヌクレオシド、14個以上の修飾ヌクレオシド、15個以上の修飾ヌクレオシド、16個以上の修飾ヌクレオシド、17個以上の修飾ヌクレオシド、18個以上の修飾ヌクレオシド、19個以上の修飾ヌクレオシド、20個以上の修飾ヌクレオシド、または21個以上の修飾ヌクレオシドを含む。

【0046】

いくつかの実施形態において、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの3'または5'末端に結合した部分を含む。部分の例には、疎水性部分もしくは糖部分、またはこれらの組み合わせが含まれる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、センス鎖を有するsiRNAであり、この部分は、センス鎖の5'末端に結合している。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、センス鎖を有するsiRNAであり、この部分は、センス鎖の3'末端に結合している。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖を有するsiRNAであり、この部分は、アンチセンス鎖の5'末端に結合している。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、アンチセンス鎖を有するsiRNAであり、この部分は、アンチセンス鎖の3'末端に結合している。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ASOであり、この部分は、ASOの5'末端に結合している。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ASOであり、この部分は、ASOの3'末端に結合している。

10

20

【0047】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、疎水性部分を含む。疎水性の部分を含むオリゴヌクレオチドは、疎水性コンジュゲートを含むこともあれば、疎水性コンジュゲートと呼ばれることもある。疎水性部分は、細胞取り込みを増強するのに有用であってもよい。疎水性部分は、オリゴヌクレオチドの3'または5'末端に結合していてもよい。疎水性部分は、脂肪酸などの脂質を含んでもよい。疎水性部分は、炭化水素を含んでもよい。炭化水素は、線形であってもよい。炭化水素は、非線形であってもよい。疎水性部分は、脂質部分もしくはコレステロール部分、またはこれらの組み合わせを含んでもよい。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、シクロヘキサニル(cyclohexanyl)を含む。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、脂質を含む。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、本明細書に記載される特定の形式で使用される。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、センス鎖の5'末端にホスホロチオエート基またはホスホロチオエート結合を伴わずに、センス鎖の5'末端に結合している。疎水性部分は、エステル化脂質を含んでもよい。

30

【0048】

疎水性部分は、脂質部分であってもよく、または脂質部分を含んでもよい。いくつかの実施形態では、組成物は、標的mRNAの発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの3'または5'末端に結合した脂質を含む。いくつかの実施形態では、脂質は、コレステロール、ミリスチル、パルミチル、ステアシル、リトコリル(lithocholyl)、ドコサノイル、ドコサヘキサエノイル、ミリスチル、パルミチルステアシル、もしくは α -トコフェロール、またはこれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、脂質は、ステアロイル(stearoyl)、トーチルフェノール、n-ブチルフェノール、オクチルフェニル、ドデシルフェニル、フェニルn-ドデシル、オクタデシルベンズアミド、ヘキサデシルベンズアミド、またはオクタデシルシクロヘキシルを含む。いくつかの実施形態では、脂質は、フェニルパラC12を含む。脂質部分は、エステル化されてもよい。

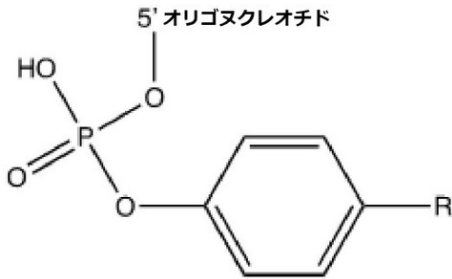
40

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下の構造：

【0049】

50

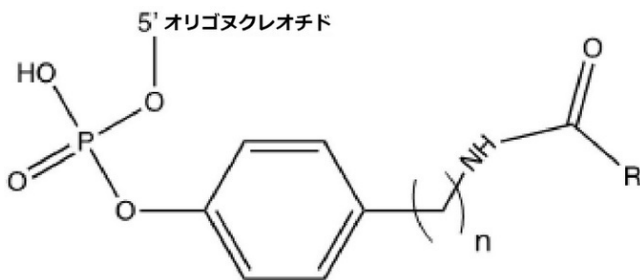
【化 1 1】



のいずれかの態様を含む。いくつかの実施形態では、Rは、オクタンではない。いくつかの実施形態では、Rは、オクタンではない。いくつかの実施形態では、Rは、4～7個または9～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下の構造：

【0050】

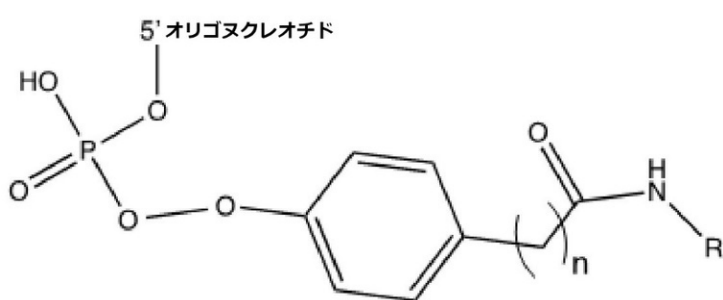
【化 1 2】



のいずれかの態様を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下の構造：

【0051】

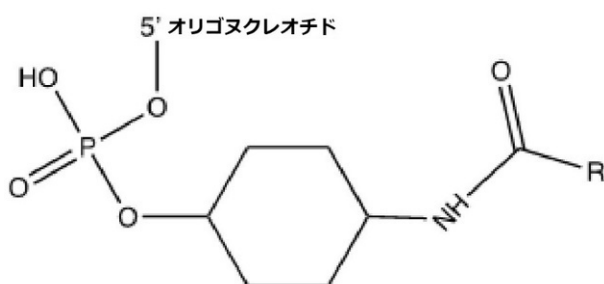
【化 1 3】



のいずれかの態様を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下の構造：

【0052】

【化 1 4】



のいずれかの態様を含む。オリゴヌクレオチドに含まれる態様は、全体の構造を含むこと

もあれば、示された構造のうちのいずれかの脂質部分を含むこともある。いくつかの実施形態では、 n は、1～3である。いくつかの実施形態では、 n は、1である。いくつかの実施形態では、 n は、2である。いくつかの実施形態では、 n は、3である。いくつかの実施形態では、 R は、アルキル基である。いくつかの実施形態では、アルキル基は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、もしくは18個の炭素、または前述の数字のいずれか2つによって定義される範囲の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、4～18個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、 R は、オクタン (C_8) ではない。いくつかの実施形態では、 R は、 $C_4 - 7$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は、 $C_9 - 18$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は、 $C_4 - 7$ アルキルおよび $C_9 - 18$ アルキルである。いくつかの実施形態では、アルキル基は、11個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、12個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、13個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、14個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、15個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、16個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、17個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、18個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、 R は、オクタン (C_8) ではない。いくつかの実施形態では、 R は、分岐炭素鎖を含む。いくつかの実施形態では、 R は、非分岐炭素鎖を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、アルコールまたはエーテルを含む。いくつかの実施形態では、脂質部分の不飽和度は、少なくとも1である。いくつかの実施形態では、脂質部分は、オメガ3、オメガ5、オメガ6、オメガ7、またはオメガ9 脂肪酸などのオメガ脂肪酸である。

10

20

30

40

50

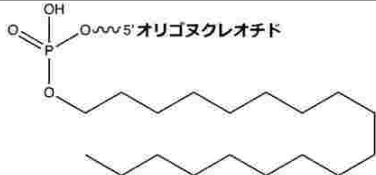
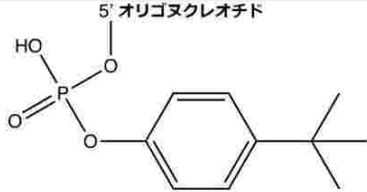
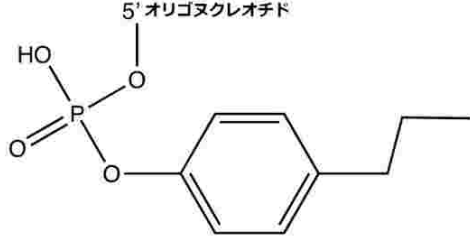
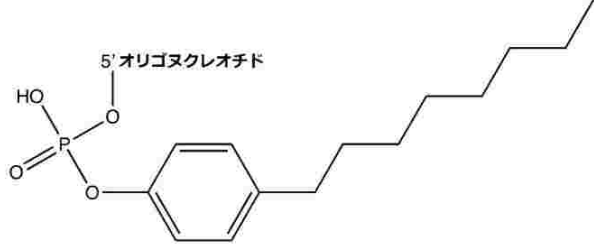
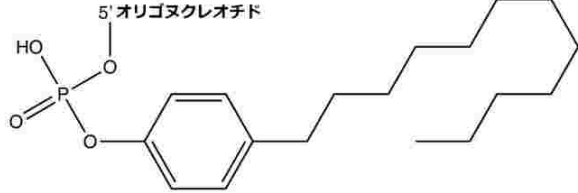
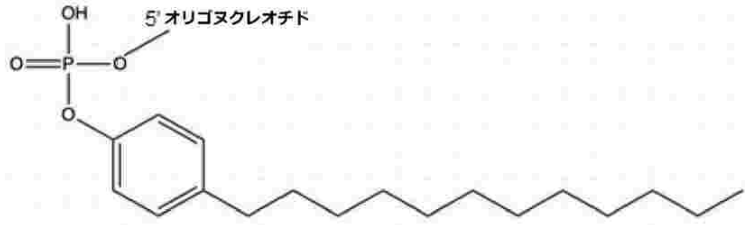
【0053】

いくつかの実施形態では、脂質は、脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、脂質は、表1に示される脂質を含む。表1の例示的な脂質部分は、オリゴヌクレオチドの5'末端に結合して示され、オリゴヌクレオチドの5'末端ホスフェートは、脂質部分と共に示される。いくつかの実施形態では、表1の脂質部分は、示されているのとは異なる結合点に結合していてもよい。例えば、表中の脂質部分のいずれかの結合点は、3'オリゴヌクレオチド末端にあってもよい。いくつかの実施形態では、脂質は、オリゴヌクレオチドを非肝細胞または組織に標的化するために使用される。

【0054】

【表 1 - 1】

表 1：脂質部分の例

記述	名称	オリゴヌクレオチドへの結合の描写例
ステアリル	ETL3	
t-ブチル フェニル	ETL7	
n-ブチル フェニル	ETL8	
オクチル フェニル	ETL9	
ドデシル フェニル	ETL10	
フェニル n-ドデシル	ETL12	

【 0 0 5 5 】

10

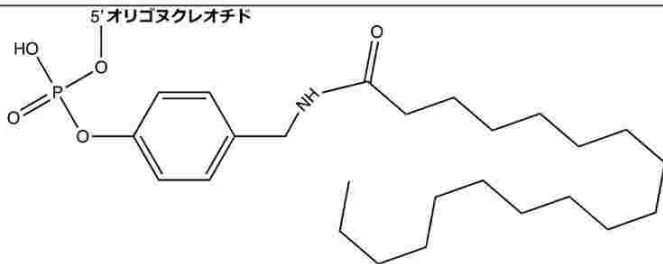
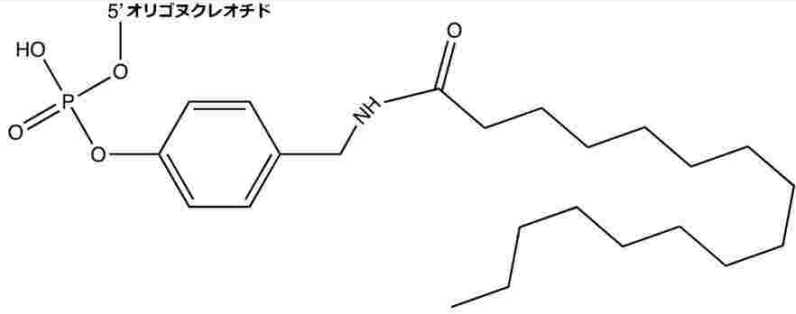
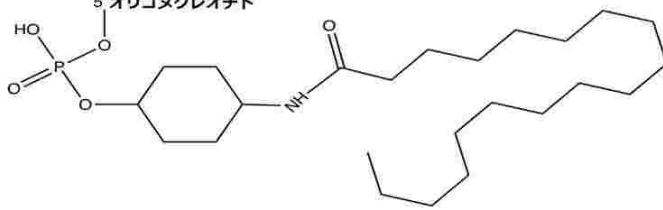
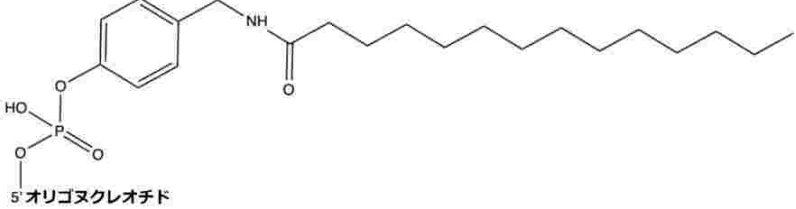
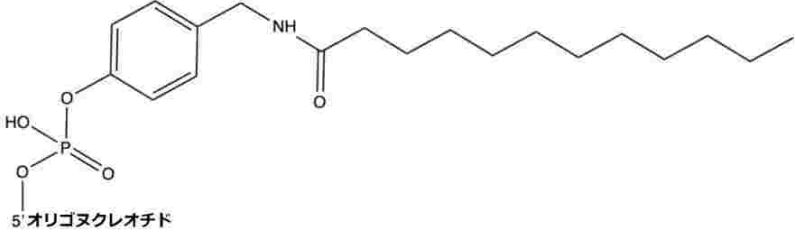
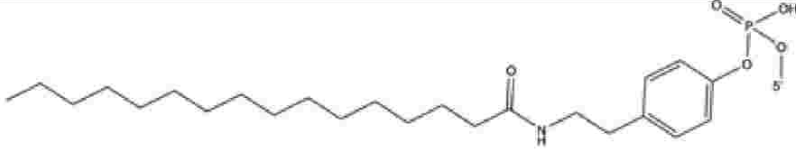
20

30

40

50

【表 1 - 2】

オクタデシル ベンズアミド	ETL13	
ヘキサデシル ベンズアミド	ETL15	
オクタデシル シクロヘキシル	ETL16	
ミリスタミド メチルフェニル	ETL18	
ラウラミド メチルフェニル	ETL19	
フェネチルー パルミチル	ETL20	

10

20

30

40

【0056】

いくつかの実施形態では、脂質または脂質部分は、16～18個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質は、16個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質は、17個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質は、18個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、16個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、17個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、18個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、19個の炭素を含む。いくつかの実施形態では、脂質部分は、20個の炭素を含む。

【0057】

50

疎水性部分は、炭素環を含むリンカーを含んでもよい。炭素環は、6員であってもよい。炭素環のいくつかの例には、フェニルまたはシクロヘキシルが含まれる。リンカーは、フェニルを含んでもよい。リンカーは、シクロヘキシルを含んでもよい。脂質は、炭素環に結合していてもよく、これは次に、オリゴヌクレオチドのホスフェート（例えば5'または3'ホスフェート）に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、脂質または炭化水素、およびセンス鎖の末端は、1, 4, 1, 3、または1, 2置換パターン（例えば、パラ、メタ、またはオルトフェニル構成）でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。いくつかの実施形態では、脂質または炭化水素、およびセンス鎖の末端は、1, 4置換パターン（例えば、パラフェニル構成）でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。脂質は、オリゴヌクレオチドに対してオルト配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対してパラ配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対してメタ配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対して1, 4配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対して1, 3配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対して1, 2配向で炭素環に結合してもよい。

10

【0058】

脂質部分は、以下の構造

【0059】

【化15】

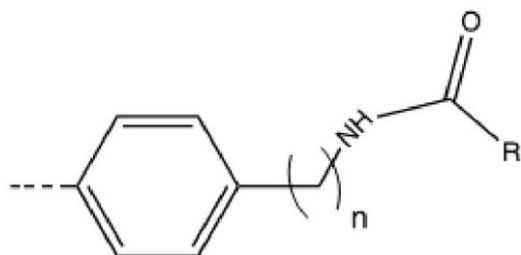


20

を含んでもよく、または上記構造からなってもよい。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0060】

【化16】

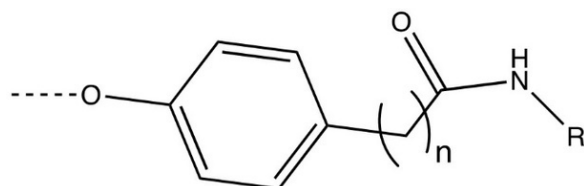


30

を含むか、または上記構造からなる。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0061】

【化17】



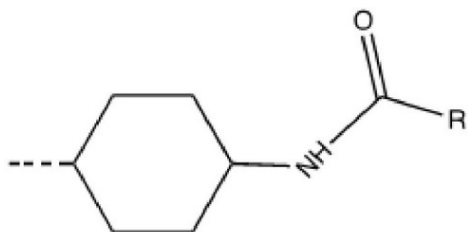
40

を含むか、または上記構造からなる。いくつかの実施形態では、脂質部分は、以下の構造：

【0062】

50

【化 18】



を含むか、または上記構造からなる。いくつかの実施形態では、破線は、共有結合を示す。共有結合は、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端間にあってもよい。例えば、結合は、センス鎖の 5' 末端に対するものであってもよい。いくつかの実施形態では、 n は、0 ~ 3 である。いくつかの実施形態では、 n は、1 ~ 3 である。いくつかの実施形態では、 n は、0 である。いくつかの実施形態では、 n は、1 である。いくつかの実施形態では、 n は、2 である。いくつかの実施形態では、 n は、3 である。いくつかの実施形態では、 n は、4 である。いくつかの実施形態では、 n は、5 である。いくつかの実施形態では、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である。いくつかの実施形態では、 R は、分岐炭素鎖を含む。いくつかの実施形態では、 R は、非分岐炭素鎖を含む。いくつかの実施形態では、 R は、アルキル基である。いくつかの実施形態では、アルキル基は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、もしくは 18 個の炭素、または前述の数字のいずれか 2 つによって定義される範囲の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、11 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、12 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、13 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、14 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、15 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、16 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、17 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、18 個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、 R は、4 ~ 18 個の炭素を含有するアルキル基を含むか、またはこれからなる。いくつかの実施形態には、脂質部分は、フェニルオクチル基ではない。いくつかの実施形態では、 R は、オクタンではない。いくつかの実施形態では、 R は、 C_{4-7} アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は、 C_{9-18} アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は、 C_{4-7} アルキルおよび C_{9-18} アルキルである。いくつかの実施形態には、脂質部分は、フェニルオクチル基ではない。

【0063】

いくつかの実施形態では、5' 疎水性部分は、以下の構造：

【0064】

10

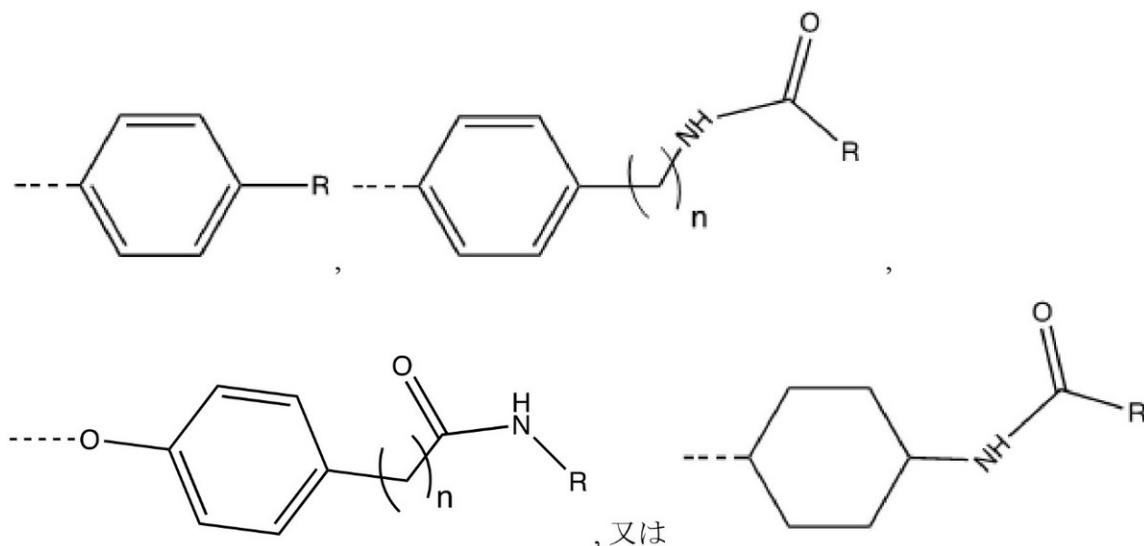
20

30

40

50

【化 19】



のうちのいずれか1つを含み、式中、破線は、センス鎖の5末端の末端への共有結合を示し、 n は、1～3であり、 R は、4～18個の炭素を含有するアルキル基である。いくつかの実施形態では、 R は、オクタンではない。いくつかの実施形態では、アルキル基は、4～7個または9～18個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、14個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、15個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、16個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、17個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、18個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、5'疎水性部分は、表1の疎水性部分を含む。いくつかの実施形態では、5'疎水性部分は、フェニルパラC12を含む。いくつかの実施形態では、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、または14である。いくつかの実施形態では、 n は、0～3である。いくつかの実施形態では、 n は、1～3である。いくつかの実施形態では、 n は、1である。いくつかの実施形態では、 n は、2である。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、アルコールまたはエーテルを含む。いくつかの実施形態では、 R は、不飽和アルキル基である。いくつかの実施形態では、不飽和アルキル基は、一価不飽和であってもよい。いくつかの実施形態では、不飽和アルキル基は、オメガ3位、オメガ4位、オメガ5位、オメガ6位、オメガ7位、オメガ8位、オメガ9位、またはこれらの組み合わせで不飽和であってもよい。いくつかの実施形態では、5'疎水性部分は、フェニルオクチル基ではない。

【0065】

疎水性部分は、炭素環を含むリンカーを含んでもよい。炭素環は、6員であってもよい。炭素環のいくつかの例には、フェニルまたはシクロヘキシルが含まれる。リンカーは、フェニルを含んでもよい。リンカーは、シクロヘキシルを含んでもよい。脂質は、炭素環に結合していてもよく、これは次に、オリゴヌクレオチドのホスフェート（例えば5'または3'ホスフェート）に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、脂質または炭化水素、およびセンス鎖の末端は、1, 4, 1, 3、または1, 2置換パターン（例えば、パラ、メタ、またはオルトフェニル構成）でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。いくつかの実施形態では、脂質または炭化水素、およびセンス鎖の末端は、1, 4置換パターン（例えば、パラフェニル構成）でフェニルまたはシクロヘキシルリンカーに結合する。脂質は、オリゴヌクレオチドに対してオルト配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対してパラ配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対してメタ配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対して1, 4配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対して1, 3配向で炭素環に結合してもよい。脂質は、オリゴヌクレオチドに対して1, 2配向で炭素環に結合してもよい。

【0066】

脂質部分は、オリゴヌクレオチドの5'末端に結合していてもよい。5'末端は、脂質部分をオリゴヌクレオチドの糖の5'炭素に結合した1つのホスフェートを有してもよい。

5'末端は、脂質部分をオリゴヌクレオチドの糖の5'炭素に結合した2つのホスフェートを有してもよい。5'末端は、脂質部分をオリゴヌクレオチドの糖の5'炭素に結合した3

つのホスフェートを有してもよい。5'末端は、オリゴヌクレオチドの糖の5'炭素に結合した1つのホスフェートを有してもよく、ここで、1つのホスフェートは、脂質部分に結

合する。5'末端は、オリゴヌクレオチドの糖の5'炭素に結合した2つのホスフェートを有してもよく、2つのホスフェートのうちの1つは、脂質部分に結合する。5'末端は、

オリゴヌクレオチドの糖の5'炭素に結合した3つのホスフェートを有してもよく、3つのホスフェートのうちの1つは、脂質部分に結合する。糖は、リボースを含んでもよい。

糖は、デオキシリボースを含んでもよい。糖は、2'修飾糖（例えば、2'オーメチルまたは2'フルオリボース）などのように修飾されてもよい。5'末端のホスフェートは、酸素の代わりに硫黄などの修飾を含んでもよい。5'末端の2つのホスフェートは、酸素の代わりに硫黄などの修飾を含んでもよい。5'末端の3つのホスフェートは、酸素の代わりに硫黄などの修飾を含んでもよい。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、

d (p T - G - G - G - G - G) ではない。

d (p T - G - G - G - G - G) ではない。

【0067】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つの脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2つの脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、3つの脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、4つの脂質部分を含む。

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つの脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2つの脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、3つの脂質部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、4つの脂質部分を含む。

【0068】

いくつかの実施形態は、疎水性コンジュゲートを含むオリゴヌクレオチドを作製する方法に関する。疎水性コンジュゲートを作製するための戦略は、フェノールまたはシクロヘキサノールなどの6員環アルコールに基づくホスホロアミダイト試薬の使用を含んでもよい。ホスホロアミダイトをヌクレオチドと反応させて、ヌクレオチドを疎水性部分に結合させ、それによって疎水性コンジュゲートを生成してもよい。疎水性コンジュゲートを生成するために使用することができるホスホロアミダイト試薬のいくつかの例が、以下に提供される。

【0069】

10

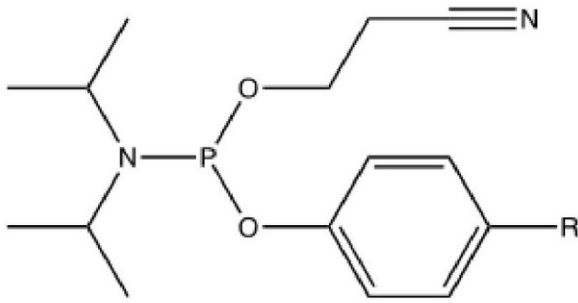
20

30

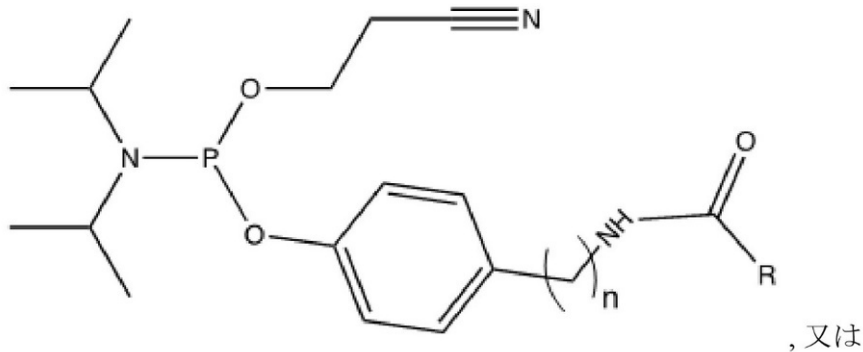
40

50

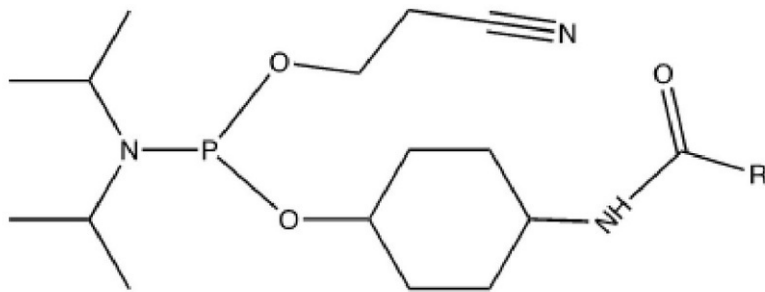
【化 2 0】



10



20



いくつかの実施形態では、 n は、1～3である。いくつかの実施形態では、 n は、1である。いくつかの実施形態では、 n は、2である。いくつかの実施形態では、 n は、3である。いくつかの実施形態では、 R は、アルキル基である。いくつかの実施形態では、アルキル基は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、もしくは18個の炭素、または前述の数字のいずれか2つによって定義される範囲の炭素を含有する。いくつかの実施形態では、 R は、4～18個の炭素を含有するアルキル基を含むか、またはこれからなる。ホスホロアミダイト試薬のいずれか1つをオリゴヌクレオチドの5'末端に反応させて、疎水性部分を含むオリゴヌクレオチドを生成してもよい。いくつかの実施形態では、ホスホロアミダイト試薬を、siRNAのセンス鎖の5'末端に反応させる。次いで、センス鎖をアンチセンス鎖にハイブリダイズさせて、二重鎖を形成してもよい。ハイブリダイゼーションは、所定の温度で溶液中のセンス鎖およびアンチセンス鎖をインキュベートすることによって行ってもよい。温度を徐々に低下させてもよい。温度は、センス鎖およびアンチセンス鎖のアニール温度を含む温度を含んでもよく、またはこれを含んでもよい。温度は、センス鎖およびアンチセンス鎖のアニール温度を下回ってもよく、または下回る温度を含んでもよい。温度は、センス鎖およびアンチセンス鎖の融解温度を下回ってもよい。

30

40

【0070】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、負荷電基を含む。負荷電基は、細胞または組織の浸透を助けることができる。負荷電基は、オリゴヌクレオチドの5'または

50

3'末端（例えば5'末端）に結合していてもよい。これは、末端基と呼ばれることもある。末端基は、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ビニルホスホネート、メチルホスホネート、シクロプロピルホスホネート、またはデオキシ-C-マロニルであってもよく、またはこれらを含んでもよい。末端基は、余分な5'ホスフェート、例えば、余分な5'ホスフェートを含んでもよい。末端基の組み合わせを使用してもよい。

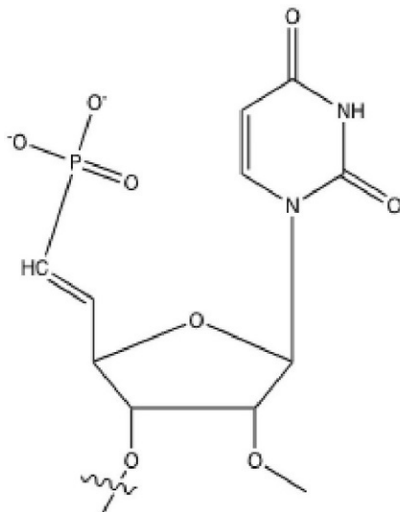
【0071】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、リン酸模倣体を含む。いくつかの実施形態では、リン酸模倣体は、ビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、ビニルホスホネートは、トランス-ビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、ビニルホスホネートは、シス-ビニルホスホネートを含む。ビニルホスホネートを含むヌクレオチドの例を以下に示す。

10

【0072】

【化21】



5'ビニルホスホネート2'OMethylウリジン

20

【0073】

いくつかの実施形態では、ビニルホスホネートは、オリゴヌクレオチドの安定性を増加させる。いくつかの実施形態では、ビニルホスホネートは、組織中のオリゴヌクレオチドの蓄積を増加させる。いくつかの実施形態では、ビニルホスホネートは、オリゴヌクレオチドをエキソヌクレアーゼまたはホスファターゼから保護する。いくつかの実施形態では、ビニルホスホネートは、siRNAプロセッシング機構とのオリゴヌクレオチドの結合親和性を改善する。

30

【0074】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つのビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2つのビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、3つのビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、4つのビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、5'末端にビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのアンチセンス鎖は、3'末端にビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、5'末端にビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのセンス鎖は、3'末端にビニルホスホネートを含む。

40

【0075】

オリゴヌクレオチドは、プリンを含んでもよい。プリンの例には、アデニン（A）もしくはグアニン（G）、またはそれらの修飾版が含まれる。オリゴヌクレオチドは、ピリミジンを含んでもよい。ピリミジンの例には、シトシン（C）、チミン（T）、もしくはウ

50

【 0 0 7 6 】

【 0 0 7 7 】

【 0 0 7 8 】

【 0 0 7 9 】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メ

チル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが 2'-フルオロと 2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが 2'-フルオロ修飾ピリミジンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、オリゴヌクレオチドのすべてのプリンが 2'-フルオロ修飾プリンを含む。

【0080】

いくつかの実施形態では、センス鎖の 9 位は、2'-フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のすべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、5 位と 11 位との間にある 1、2、3、4、または 5 個のピリミジンは、一列に 3 つの 2'-フルオロ修飾ピリミジンが存在しないことを条件として、2'-フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の偶数位は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の 9 位が 2'-フルオロ修飾ピリミジンを含み、センス鎖のすべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンを含み、5 位と 11 位との間にある 1、2、3、4、または 5 個のピリミジンが、一列に 3 つの 2'-フルオロ修飾ピリミジンが存在しないことを条件として、2'-フルオロ修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖の偶数位は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。

【0081】

いくつかの実施形態では、センス鎖の 9 位は、2'-フルオロ修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、5 位と 11 位との間にある 1、2、3、4、または 5 個のプリンは、一列に 3 個の 2'-フルオロ修飾プリンが存在しないことを条件として、2'-フルオロ修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の偶数位は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の 9 位が 2'-フルオロ修飾プリンを含み、センス鎖のすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、5 位と 11 位との間にある 1、2、3、4、または 5 個のプリンが、一列に 3 個の 2'-フルオロ修飾プリンが存在しないことを条件として、2'-フルオロ修飾プリンを含み、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖の偶数位は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、一列に 3 個の 2'-フルオロ修飾プリンが存在しない。いくつかの実施形態では、一列に 3 個の 2'-フルオロ修飾ピリミジンは存在しない。

【0082】

いくつかの実施形態では、センス鎖の 9 位は、非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の 5 位、7 位、および 8 位は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の 10~21 位のすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、その 10~21 位のすべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンまたは 2'-フルオロ修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の偶数位は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の 9 位が非修飾デオキシリボヌクレオチドを含み、センス鎖の 5 位、7 位、および 8 位が 2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを含み、センス鎖の 10~21 位のすべてのピリミジンが 2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、その 10~21 位のすべてのプリンが 2'-O-メチル修飾プリンまたは 2'-フルオロ修飾プリンを含み、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾

ヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖の偶数位は、2'フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。

【0083】

いくつかの実施形態では、センス鎖の9位は、非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の5位、7位、および8位は、2'フルオロ修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の10～21位のすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、その10～21位のすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンまたは2'フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖の偶数位は、2'フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖の9位が非修飾デオキシリボヌクレオチドを含み、センス鎖の5位、7位、および8位が2'フルオロ修飾ヌクレオチドを含み、センス鎖の10～21位のすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、その10～21位のすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンまたは2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖の奇数位は、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖の偶数位は、2'フルオロ修飾ヌクレオチドおよび非修飾デオキシリボヌクレオチドを含む。

10

【0084】

本明細書に記載される修飾は、細胞または組織に送達、例えば、オリゴヌクレオチド組成物を肝外に送達、または標的化するために有用であってもよい。本明細書に記載される修飾は、オリゴヌクレオチド組成物を細胞または組織に標的化するために有用であってもよい。

20

【0085】

1. siRNA

いくつかの実施形態では、組成物は、標的核酸の発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、センス鎖は、修飾パターン1S: 5'-Nf s n N f n N f n N f N f n N f n N f n N f n N f s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合である。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン2S: 5'-N f s n N f n N f n N f n N f n N f n N f n N f s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合である。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン3S: 5'-N f n N f n N f n N f n N f n N f n N f n N f n N f s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合である。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン4S: 5'-N f s n s N f n N f n N f N f n N f n N f n N f n N f s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン5S: 5'-n n n n n n n N f n N f n n n n n n n s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン6S: 5'-n n n n n n n n N f N f N f N f n n n n n n n s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン7S: 5'-n n n n n N f n n n N f n N f n n n n n n n s n s n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'-O-メチル修

30

40

50

飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレ
 オシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン8 S: 5'-nnnn
 nnnnnNfNfnNfnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'
 フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」
 はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの
 実施形態では、センス鎖は、修飾パターン9 S: 5'-nnnnnnnnNfNfNfNfN
 fnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオ
 シドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエ
 ート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス
 鎖は、修飾パターン10 S: 5'-nnnnNfnNfNfNfNfnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、
 ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」
 は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、N
 は1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パター
 ン11 S: 5'-nnnnnnNfNfNfNfnNfnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、
 ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾
 ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオ
 シドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン12 S: 5'-nnnn
 nnNfNfNfNfnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は
 2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、
 「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつか
 の実施形態では、センス鎖は、修飾パターン13 S: 5'-nnnnNfNfNfNfN
 fnnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌク
 レオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチ
 オエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、セ
 ンス鎖は、修飾パターン14 S: 5'-nnnnnnnnNfNfnnnnnnnnnns
 nsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は
 2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは
 1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パター
 ン15 S: 5'-nnnnnnNfNfNfNfnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、こ
 こで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌク
 レオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシド
 を含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン16 S: 5'-nnnnN
 fNfnNfnNfnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フル
 オロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」
 はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実
 施形態では、センス鎖は、修飾パターン17 S: 5'-nnnnNfnNfnNfnNf
 nnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシ
 ドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエ
 ート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖
 は、修飾パターン18 S: 5'-nnnnNfnNfnNfnnnnnnnnsns
 n-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'
 オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ
 以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン19 S
 : 5'-nnnnNfNfnNfnnnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、
 「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシ
 ドであり、「s」はホスホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む
 。いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン20 S: 5'-nnnnnnNf
 nNfNfnnnnnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修
 飾ヌクレオシドであり、「n」は2'オメチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホス
 ホロチオエート結合であり、Nは1つ以上のヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態で

30

40

50

フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2' O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合である。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、修飾パターン4AS:5'-nsNfsnnnnNfnNfnnnnnNfnNfnnnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2' O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合である。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、修飾パターン5AS:5'-nsNfsnnnnNfnNfnNfnNfnNfnNfnnsnsn-3'を含み、ここで、「Nf」は2'フルオロ修飾ヌクレオシドであり、「n」は2' O-メチル修飾ヌクレオシドであり、「s」はホスホロチオエート結合である。

【0087】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的核酸の発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、センス鎖は、パターン1Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン2Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン3Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン4Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン5Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン6Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン7Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン8Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン9Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン10Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン11Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン12Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン13Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン14Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン15Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン16Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン17Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン18Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン19Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン20Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン21Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン22Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン23Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン24Sを含み、アンチセンス鎖は、1AS、2A

10

20

30

40

50

S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン25 Sを含み、アンチセンス鎖は、1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン26 Sを含み、アンチセンス鎖は、1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン27 Sを含み、アンチセンス鎖は、1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン28 Sを含み、アンチセンス鎖は、1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン29 Sを含み、アンチセンス鎖は、1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン30 Sを含み、アンチセンス鎖は、1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 A Sを含む。

10

【0088】

いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、29 S、または30 Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン1 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、29 S、または30 Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン2 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、29 S、または30 Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン3 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、29 S、または30 Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン4 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、29 S、または30 Sを含み、アンチセンス鎖は、パターン5 A Sを含む。

20

30

【0089】

いくつかの実施形態では、センス鎖は、修飾パターン1 A S、2 A S、3 A S、または4 A Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖またはアンチセンス鎖は、修飾パターン1 A S、2 A S、3 A S、4 A S、または5 Sを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、修飾パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、または29 Sを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖またはアンチセンス鎖は、修飾パターン1 S、2 S、3 S、4 S、5 S、6 S、7 S、8 S、9 S、10 S、11 S、12 S、13 S、14 S、15 S、16 S、17 S、18 S、19 S、20 S、21 S、22 S、23 S、24 S、25 S、26 S、27 S、28 S、29 S、または30 A Sを含む。

40

【0090】

いくつかの実施形態では、センス鎖のプリンは、2'フルオロ修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のプリンは、2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のプリンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のすべてのプリンは2'フルオロ修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のすべてのプリンは2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、センス鎖のすべてのプリンは2'フルオロ

50

【 0 0 9 1 】

10

20

30

50

ンス鎖のすべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。
【0095】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'-O-メチル修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。

10

【0096】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のプリンは、2'フルオロ修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のプリンは、2'-O-メチル修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のプリンは、2'フルオロ修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'-O-メチル修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のプリンは、2'-O-メチル修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のプリンは、2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のプリンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'-O-メチル修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のプリンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のプリンは、2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のピリミジンは、2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のプリンは、2'フルオロ修飾プリンを含む。

20

【0097】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含む。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖のすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、アンチセンス鎖のすべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含む。

30

40

【0098】

いくつかの実施形態では、siRNAは、センス鎖、アンチセンス鎖、および、センス鎖またはアンチセンス鎖の末端に結合した脂質部分を含み、ここで、脂質部分は、フェニルまたはシクロヘキサニル(cyclohexanyl)リンカーを含み、リンカーは、

50

脂質、およびセンス鎖またはアンチセンス鎖の末端に結合する。いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまる。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまる。いくつかの実施形態では、siRNAは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含み、ここで、アンチセンス鎖は、ビニルホスホネートおよび2つのホスホロチオエート結合を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、センス鎖は、疎水性部分を含んだ5'末端、ならびに2つのホスホロチオエート結合を含んだ3'末端を含み、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまる。

【0099】

いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジ

ンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖がデオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、ただし、デオキシヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、ただし、デオキシヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレオシドを含む。デオキシヌクレオシドは、センス鎖のヌクレオシド9位にあってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、センス鎖のデオキシヌクレオシドは、非修飾であってもよい。

【0100】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖がデオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、ただし、デオキシヌクレオシドがアンチセン

ス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、デオキシヌクレオシドを含む。デオキシヌクレオシドは、アンチセンス鎖のヌクレオシド9位にあってもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、デオキシヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、アンチセンス鎖のデオキシヌクレオシドは、非修飾であってもよい。

10

【0101】

いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖がデオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレオシドを含む。デオキシヌクレオシドは、センス鎖のヌクレオシド9位にあってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、セン

20

30

40

50

ス鎖のデオキシヌクレオシドは、非修飾であってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含む。2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、センス鎖のヌクレオシド4位にあってもよい。2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチルチミンヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、センス鎖の2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、非修飾であってもよい。

【0102】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖がデオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、デオキシヌクレオシドまたは2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、デオキシヌクレオシドを含む。デオキシヌクレオシドは、アンチセンス鎖のヌクレオシド9位にあってもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、デオキシヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、アンチセンス鎖のデオキシヌクレオシドは、非修飾であってもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含む。2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、センス鎖のヌクレオシド4位にあってもよい。2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチルチミンヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、アンチセンス鎖の2'-O

ーメトキシエチルヌクレオシドは、非修飾であってもよい。

【0103】

いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖が2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、ただし、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、ただし、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドがセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含む。2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、センス鎖のヌクレオシド4位であってもよい。2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチルチミンヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、センス鎖の2'-O-メトキシエチルヌクレオシドは、非修飾であってもよい。

【0104】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖に関して、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾ピリミジンとの混合物を含むこと、すべてのプリンが2'-O-メチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが2'フルオロ修飾ピリミジンを含むこと、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、すべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロと2'-O-メチル修飾プリンとの混合物を含むこと、またはすべてのピリミジンが2'-O-メチル修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが2'フルオロ修飾プリンを含むことのうち、いずれか1つが当てはまり、ただし、前述のいずれにおいても、センス鎖がデオキシ

ヌクレオシドまたは 2'-デオキシエチルヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、すべてのプリンが 2'-フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、2'-デオキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが 2'-デオキシエチル修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチル修飾ピリミジンとの混合物を含み、ただし、2'-デオキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのプリンが 2'-フルオロ修飾プリンを含み、すべてのピリミジンが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、2'-デオキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンが 2'-フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、2'-デオキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンが 2'-フルオロ修飾ピリミジンを含み、すべてのプリンが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチル修飾プリンとの混合物を含み、ただし、2'-デオキシエチルヌクレオシドがアンチセンス鎖に含まれてもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、2'-デオキシエチルヌクレオシドを含む。2'-デオキシエチルヌクレオシドは、センス鎖のヌクレオシド 4 位にあってもよい。2'-デオキシエチルヌクレオシドは、2'-デオキシエチルチミンヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、2'-デオキシエチルヌクレオシドを含まない。そうでない場合は、アンチセンス鎖の 2'-デオキシエチルヌクレオシドは、非修飾であってもよい。

【0105】

いくつかの実施形態では、センス鎖に関して、センス鎖が 2'-デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件として、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-デオキシエチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾されること、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-デオキシエチルを含むこと、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾されること、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾されること、またはすべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-デオキシエチルを含むことのうち、いずれか 1 つが当てはまる。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾され、ただし、センス鎖が 2'-デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-デオキシエチルを含み、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾され、ただし、センス鎖が 2'-デオキシヌクレオシドを含んでもよいことを条件とする。いくつかの実施形態では、センス鎖において、すべてのピリミジンヌクレオシドが 2'-フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが 2'-フルオロと 2'-デオキシエチルとの混合物で修飾され、ただし、センス鎖が 2'-デオキシヌクレオシドを含

10

10

20

30

40

20

30

50

フルオロと2'-O-メチルとの混合物で修飾される。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖において、すべてのピリミジンヌクレオシドが2'-フルオロを含み、すべてのプリンヌクレオシドが2'-O-メチルを含む。いくつかの実施形態は、アンチセンス鎖が（例えば、5'から3'へ数えて4位に）2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含んでもよいという条件を含む。いくつかの実施形態は、アンチセンス鎖に2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態は、アンチセンス鎖に2'-O-メトキシエチルヌクレオシドを含まない。

【0109】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、1つまたは2つの3'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、アンチセンス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエート結合があってもよく、あるいはアンチセンス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエート結合があってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1つまたは2つの5'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、センス鎖の5'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエート結合があってもよく、あるいはセンス鎖の5'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエート結合があってもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1つまたは2つの5'ホスホロチオエート結合を含まない。例えば、いくつかの実施形態では、センス鎖の5'末端にある最後の3つのヌクレオチド間にホスホロチオエート結合はない。いくつかの実施形態では、センス鎖は、5'ホスフェート結合を含む。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1つまたは2つの3'ホスホロチオエート結合を含む。例えば、センス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと2番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエート結合があってもよく、あるいはセンス鎖の3'末端から1番目にあるヌクレオチドと、2番目にあるヌクレオチドと、3番目にあるヌクレオチドとの間にホスホロチオエート結合があってもよい。

【0110】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、2つのホスホロチオエート結合を含む5'末端を含んでいる。5'末端は、2つのホスホロチオエート結合によって分離された3個のヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、2つのホスホロチオエート結合を含む3'末端を含んでいる。3'末端は、2つのホスホロチオエート結合によって分離された3個のヌクレオシドを含んでもよい。

【0111】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的核酸の発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、オリゴヌクレオチドは、疎水性部分を含む。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、センス鎖の5'末端に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、センス鎖の3'末端に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、アンチセンス鎖の5'末端に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、疎水性部分は、アンチセンス鎖の3'末端に結合していてもよい。

【0112】

いくつかの実施形態では、組成物は、標的核酸の発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、オリゴヌクレオチドは、センス鎖およびアンチセンス鎖を含んだsiRNAを含み、オリゴヌクレオチドは、1つ以上のビニルホスホネートを含む。いくつかの実施形態では、1つ以上のビニルホスホネートは、センス鎖の5'末端に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、1つ以上のビニルホスホネートは、センス鎖の3'末端に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、1つ以上のビニルホスホネートは、アンチセンス鎖の5'末端に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、1つ以上のビニルホスホネートは、アンチセンス鎖の3'末端に結合していてもよい。

【0113】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、センス鎖は、RNAもしくは修飾RNAヌクレオチドを含むか、またはこれからなる。いくつかの実施形態では、センス鎖は、デオキシヌクレオシドを含む。デオキシヌクレオシドは、DNAヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、デオキシヌクレオシドは、2'デオキシヌクレオシドを含むか、またはこれからなる。デオキシヌクレオシドは、センス鎖内の位置（5'から3'までであり、5'の位置を1とする）にあってもよい。センス鎖内の位置は、2位、4位、6位、8位、9位、10位、12位、14位、16位、もしくは18位、または前述の位置の組み合わせであってもよく、またはこれを含んでもよい。センス鎖内の位置は、2位、4位、6位、8位、10位、12位、14位、16位、もしくは18位、または前述の位置の組み合わせであってもよく、またはこれを含んでもよい。センス鎖内の位置は、2位、6位、9位、10位、14位、もしくは18位、または前述の位置の組み合わせであってもよく、またはこれを含んでもよい。センス鎖内の位置は、2位、6位、10位、14位、もしくは18位、または前述の位置の組み合わせであってもよく、またはこれを含んでもよい。センス鎖内の位置は、4位、8位、9位、12位、もしくは16位、または前述の位置の組み合わせであってもよく、またはこれを含んでもよい。センス鎖内の位置は、4位、8位、12位、もしくは16位、または前述の位置の組み合わせであってもよく、またはこれを含んでもよい。センス鎖内の位置は、9位を含んでもよい。センス鎖内の位置は、9位であってもよい。センス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、または19個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、センス鎖は、1個のデオキシヌクレオシドを含む。センス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、もしくは19個のデオキシヌクレオシド、または前述の数字のいずれか2つによって定義されるデオキシヌクレオシドの範囲のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、すべての偶数位にデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、いくつかの偶数位にデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、一つ置きの偶数位にデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、1個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも1個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも2個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも3個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも4個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも5個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも6個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも7個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも8個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも9個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、少なくとも10個のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、2個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、3個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、4個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、5個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、6個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、7個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、8個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、9個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。センス鎖は、10個以下のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。

10

20

30

40

【0114】

いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、RNAもしくは修飾RNAヌクレオチドを含むか、またはこれからなる。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、デオキシヌクレオシドを含む。デオキシヌクレオシドは、DNAヌクレオシドを含んでもよい。いくつかの実施形態では、デオキシヌクレオシドは、2'デオキシヌクレオシドを含むか、またはこれからなる。アンチセンス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、もしくは19個のデオキシヌクレオシド、または前述の数字のいずれか2つによって定義されるデオキシヌクレオシドの範囲のデオキシヌクレオシドを含んでもよい。

50

【0115】

センス鎖に（例えば、5'末端から数えて9番目のヌクレオチドに）デオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるヌクレオシドは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ヌクレオシドとの混合物を含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるプリンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ヌクレオシドとの混合物を含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるピリミジンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ヌクレオシドとの混合物を含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるヌクレオシドはすべて、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるプリンはすべて、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるピリミジンはすべて、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるプリンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ヌクレオシドとの混合物を含み、1～8位にあるピリミジンはすべて、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを含む。センス鎖にデオキシヌクレオシドが含まれているいくつかの実施形態では、1～8位にあるピリミジンは、2'フルオロと2'-O-メチル修飾ヌクレオシドとの混合物を含み、1～8位にあるプリンはすべて、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを含む。

10

【0116】

アンチセンス鎖は、交代のパターンで開始してもよく、ここで、偶数番目のヌクレオシドは、2'フルオロ修飾ヌクレオシドを含み、奇数番目のヌクレオシドは、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを含む。その後、センス鎖は、いくつかの2'フルオロ修飾を2'-O-メチル修飾と置き換えることによって最適化されてもよい。アンチセンス鎖は、2'フルオロ修飾と2'-O-メチル修飾との混合物を含んでもよい。

20

【0117】

2. 修飾ASO

いくつかの実施形態では、組成物は、標的核酸の発現を阻害するオリゴヌクレオチドを含み、ここで、オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）を含む。いくつかの実施形態では、ASOは、修飾パターン1S、2S、3S、4S、1AS、もしくは2AS、または本明細書に記載される修飾のいずれかの他の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、ASOは、修飾パターン1S、2S、3S、4S、5S、6S、7S、8S、9S、10S、11S、12S、13S、14S、15S、16S、17S、18S、19S、20S、21S、22S、23S、24S、25S、26S、27S、28S、29S、30S、1AS、2AS、3AS、4AS、または5ASを含む。

30

【0118】

D. 製剤

いくつかの実施形態では、組成物は、医薬組成物を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、無菌である。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容可能な担体をさらに含む。

40

【0119】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な担体は、水を含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な担体は、緩衝液を含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な希釈剤は、生理食塩水である。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な担体は、水、緩衝液、または生理食塩水を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、リポソームを含む。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な担体は、リポソーム、脂質、ナノ粒子、タンパク質、タンパク質-抗体複合体、ペプチド、セルロース、ナノゲル、またはこれらの組み合わせを含む。

【0120】

50

いくつかの実施形態では、組成物は、血液脳関門を通過するように製剤化される。いくつかの実施形態では、組成物は、中枢神経系（CNS）に送達されるように製剤化される。いくつかの実施形態では、組成物は、親油性化合物を含む。親油性化合物は、血液脳関門を通過させるのに、またはCNSに送達するのに有用であってもよい。

【0121】

いくつかの実施形態では、組成物は、投与用に製剤化される。投与は、全身的なものであってもよい。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内のものである。いくつかの実施形態では、投与は、注入によりなされる。いくつかの実施形態では、注射は、皮下のものである。いくつかの実施形態では、注射は、皮下のものである。いくつかの実施形態では、注射は、腹腔内のものである。いくつかの実施形態では、注射は、筋肉内のものである。いくつかの実施形態では、注射は、髄腔内のものである。投与は、眼（例えば硝子体内）に対するものであってもよい。投与は、神経組織に対するものであってもよい。投与は、脳に対するものであってもよい。投与は、脳室内のものであってもよい。投与は、髄腔内のものであってもよい。投与は、脊髄または脊柱管に対するものであってもよい。いくつかの実施形態では、製剤化により、オリゴヌクレオチドなどの化合物を眼細胞に送達することができる。いくつかの実施形態では、製剤化により、オリゴヌクレオチドなどの化合物を神経細胞に送達することができる。

【0122】

E. キット

本明細書では、いくつかの実施形態において、キットが記載される。キットは、本明細書に記載される siRNA などのオリゴヌクレオチドを含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、脂質部分にコンジュゲートされてもよい。キットは、本明細書に記載される脂質部分を含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド修飾または修飾ヌクレオシド間結合を含んでもよい。オリゴヌクレオチドは、塩基配列の修飾など、本明細書に記載されるいずれかの修飾を含んでもよい。キットは、針などの送達試薬を含んでもよい。キットは、本明細書に記載される方法で使用するための方法などの使用のための説明書を含んでもよい。

【0123】

II. 方法および使用

本明細書では、いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物を対象に投与する方法が開示されている。いくつかの実施形態は、本明細書に記載される組成物を対象に投与するなどの組成物の使用に関する。

【0124】

いくつかの実施形態は、必要としている対象の障害を治療する方法に関する。いくつかの実施形態は、治療の方法における本明細書に記載される組成物の使用に関する。いくつかの実施形態は、障害を抱える対象に、本明細書に記載される組成物を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、投与により、対象の障害を治療する。いくつかの実施形態では、組成物は、対象の障害を治療する。

【0125】

いくつかの実施形態では、治療は、対象の障害の予防、阻害、または回復を含む。いくつかの実施形態は、障害を予防し、阻害し、または回復に向かわせる方法における、本明細書に記載される組成物の使用に関する。いくつかの実施形態は、必要としている対象の障害を予防し、阻害し、または回復に向かわせる方法に関する。いくつかの実施形態は、障害を抱える対象に、本明細書に記載される組成物を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、投与により、対象の障害を予防し、阻害し、または回復に向かわせる。いくつかの実施形態では、組成物は、対象の障害を予防し、阻害し、または回復に向かわせる。

【0126】

いくつかの実施形態は、必要としている対象の障害を予防する方法に関する。いくつかの実施形態は、障害を予防する方法における、本明細書に記載される組成物の使用に関する。

る。いくつかの実施形態は、障害を抱える対象に、本明細書に記載される組成物を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、投与により、対象の障害を予防する。いくつかの実施形態では、組成物は、対象の障害を予防する。

【0127】

いくつかの実施形態は、必要としている対象の障害を阻害する方法に関する。いくつかの実施形態は、障害を阻害する方法における、本明細書に記載される組成物の使用に関する。いくつかの実施形態は、障害を抱える対象に、本明細書に記載される組成物を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、投与により、対象の障害を阻害する。いくつかの実施形態では、組成物は、対象の障害を阻害する。

【0128】

いくつかの実施形態は、必要としている対象の障害を回復に向かわせる方法に関する。いくつかの実施形態は、障害を回復に向かわせる方法における、本明細書に記載される組成物の使用に関する。いくつかの実施形態は、障害を抱える対象に、本明細書に記載される組成物を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、投与により、対象の障害を回復に向かわせる。いくつかの実施形態では、組成物は、対象の障害を回復に向かわせる。

【0129】

いくつかの実施形態では、投与は、全身的なものである。いくつかの実施形態では、投与は、静脈内のものである。いくつかの実施形態では、投与は、注入によりなされる。いくつかの実施形態では、注射は、皮下のものである。いくつかの実施形態では、注射は、皮下のものである。いくつかの実施形態では、注射は、腹腔内のものである。いくつかの実施形態では、注射は、筋肉内のものである。投与は、眼（例えば硝子体内）に対するものであってもよい。投与は、神経組織に対するものであってもよい。投与は、脳に対するものであってもよい。投与は、脳室内のものであってもよい。いくつかの実施形態では、注射は、髄腔内のものである。投与は、髄腔内のものであってもよい。投与は、脊髄または脊柱管に対するものであってもよい。

【0130】

本明細書では、いくつかの実施形態において、s i R N Aを細胞または組織に標的化する方法が開示される。方法は、s i R N A（例えば、s i R N Aのセンス鎖）を、本明細書に記載される脂質部分にコンジュゲートする工程を含んでもよい。方法は、脂質部分にコンジュゲートされたs i R N Aを組織または細胞に送達する工程を含んでもよい。方法は、脂質部分にコンジュゲートされたs i R N Aに組織または細胞を接触させる工程を含んでもよい。

【0131】

本明細書では、いくつかの実施形態において、細胞または組織中の標的R N Aの量またはタンパク質の量を減少させる方法であって、細胞または組織に、本明細書に記載される組成物を投与または送達する工程を含む、方法が記載される。組成物は、R N Aに相補的な配列があるアンチセンス鎖を有するs i R N Aを含んでもよい。アンチセンス鎖は、R N Aに結合してもよい。

【0132】

本明細書では、いくつかの実施形態において、s i R N A組成物を作製する方法が開示される。方法は、脂質部分にs i R N Aをコンジュゲートする工程を含んでもよい。s i R N Aおよび脂質部分は、本明細書に記載されるいずれのs i R N Aまたは脂質部分を含んでもよい。方法は、s i R N Aを合成する工程を含んでもよい。方法は、脂質部分を合成する工程を含んでもよい。

【0133】

A. 障害

本明細書に記載される方法のいくつかの実施形態は、必要としている対象の障害を治療する工程を含む。いくつかの実施形態では、障害は、眼障害である。いくつかの実施形態では、障害は、脂肪関連障害である。いくつかの実施形態では、障害は、腎臓障害である。いくつかの実施形態では、障害は、脳障害である。いくつかの実施形態では、障害は、

血管障害である。いくつかの実施形態では、障害は、筋肉障害である。いくつかの実施形態では、障害は、肺障害である。

【0134】

B. 対象

本明細書に記載される方法のいくつかの実施形態は、対象の治療を含む。対象の非限定的な例は、脊椎動物、動物、哺乳動物、イヌ、ネコ、ウシ、げっ歯類、マウス、ラット、霊長類、サル、およびヒトを含む。いくつかの実施形態では、対象は、脊椎動物である。いくつかの実施形態では、対象は、動物である。いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物である。いくつかの実施形態では、対象は、イヌである。いくつかの実施形態では、対象は、ネコである。いくつかの実施形態では、対象は、ウシである。いくつかの実施形態では、対象は、マウスである。いくつかの実施形態では、対象は、ラットである。いくつかの実施形態では、対象は、霊長類である。いくつかの実施形態では、対象は、サルである。いくつかの実施形態では、対象は、動物、哺乳動物、イヌ、ネコ、ウシ、げっ歯類、マウス、ラット、霊長類、またはサルである。いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

10

【0135】

いくつかの実施形態では、対象は、男性である。いくつかの実施形態では、対象は、女性である。いくつかの実施形態では、対象は、成人（例えば、少なくとも18歳）である。

20

【0136】

C. ベースライン測定値

本明細書に記載される方法のいくつかの実施形態は、対象からベースライン測定値を得る工程を含む。例えば、いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、対象を治療する前に対象から得られる。

【0137】

いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、対象から直接得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、観察によって、例えば、対象または対象の組織の観察によって得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、撮像デバイスを使用して非侵襲的に得られる。

30

【0138】

いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、対象由来の試料において得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、1つ以上の組織学的組織切片において得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、対象から得られた試料に対して、イムノアッセイ、比色アッセイ、または蛍光アッセイなどのアッセイを行うことによって得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、イムノアッセイ、比色アッセイ、蛍光アッセイ、またはクロマトグラフィー（例えば、HPLC）アッセイによって得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、PCRによって得られる。

【0139】

いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値である。いくつかの実施形態では、ベースライン標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質レベルを含む。いくつかの実施形態では、ベースライン標的タンパク質レベルは、試料重量当たりの標的タンパク質の質量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的タンパク質レベルは、試料体積当たりの標的タンパク質の質量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的タンパク質測定値は、ベースライン血中／組織標的タンパク質測定値である。いくつかの実施形態では、ベースライン標的タンパク質測定値は、イムノアッセイ、比色アッセイ、または蛍光アッセイなどのアッセイによって得られる。

40

50

【0140】

いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、ベースライン標的mRNA測定値である。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNAレベルである。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNAレベルは、試料重量当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNAレベルは、試料体積当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNAレベルは、試料中の総mRNA当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNAレベルは、試料中の総核酸当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNAレベルは、試料中のハウスキーピング遺伝子のmRNAレベルなどの別のmRNAレベルと比較して示される。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNA測定値は、ベースライン組織標的mRNA測定値である。いくつかの実施形態では、ベースライン標的mRNA測定値は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）アッセイなどのアッセイによって得られる。いくつかの実施形態では、PCRは、定量的PCR（qPCR）を含む。いくつかの実施形態では、PCRは、標的mRNAの逆転写を含む。

10

【0141】

本明細書に記載される方法のいくつかの実施形態は、対象から試料を得る工程を含む。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、対象から得られた試料において得られる。いくつかの実施形態では、試料は、本明細書に記載される組成物による対象への投与または治療の前に、対象から得られる。いくつかの実施形態では、ベースライン測定値は、対象への組成物の投与の前に対象から得られた試料において得られる。いくつかの実施形態では、試料は、絶食状態の対象から得られる。いくつかの実施形態では、試料は、一晚の絶食期間後の対象から得られる。いくつかの実施形態では、試料は、食事を与えられた状態の対象から得られる。

20

【0142】

いくつかの実施形態では、試料は、体液を含む。いくつかの実施形態では、試料は、体液試料である。いくつかの実施形態では、試料は、血液、血漿、または血清の試料である。いくつかの実施形態では、試料は、血液を含む。いくつかの実施形態では、試料は、血液試料である。いくつかの実施形態では、試料は、全血試料である。いくつかの実施形態では、血液は、分画または遠心分離される。いくつかの実施形態では、試料は、血漿を含む。いくつかの実施形態では、試料は、血漿試料であってもよい。いくつかの実施形態では、血液試料は、血漿試料であってもよい。いくつかの実施形態では、試料は、血清を含む。いくつかの実施形態では、試料は、血清試料である。血液試料は、血清試料であってもよい。いくつかの実施形態では、液体は、脳脊髄液（CSF）を含む。例えば、体液は、脊椎穿刺によって得られてもよい。いくつかの実施形態では、体液は、脊髄液を含む。いくつかの実施形態では、体液は、脳脊髄液を含む。いくつかの実施形態では、体液は、脳脊髄液を含む。

30

【0143】

いくつかの実施形態では、試料は、組織を含む。いくつかの実施形態では、試料は、組織試料である。いくつかの実施形態では、組織は、眼、腎臓、筋肉、脂肪、脳、肺、または維管束組織を含む。例えば、ベースライン標的mRNA測定値またはベースライン標的タンパク質測定値は、患者から得られた腎臓、脂肪、脳、肺、または血管の試料において得られてもよい。いくつかの実施形態では、組織は、肝臓組織を含む。腎臓組織は、腎臓細胞または腎近位尿細管細胞を含んでもよい。いくつかの実施形態では、組織は、脂肪組織を含む。いくつかの実施形態では、脂肪組織は、白色脂肪組織を含む。脂肪組織（adipose tissue）は、脂肪細胞（adipocyte）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、組織は、肝臓組織を含む。肝臓は、肝細胞を含んでもよい。いくつかの実施形態では、組織は、非肝臓組織である。いくつかの実施形態では、組織は、眼

40

50

組織を含む。いくつかの実施形態では、眼組織は、網膜組織を含む。いくつかの実施形態では、組織は、脳組織を含む。脳組織は、ニューロンまたはグリア細胞を含んでもよい。脳組織は、小脳を含んでもよい。脳組織は、前頭皮質を含んでもよい。脳組織は、側頭皮質を含んでもよい。脳組織は、脳の右半球（例えば、右前頭皮質または右側頭皮質）由来の組織を含んでもよい。脳組織は、脳の左半球（例えば、左前頭皮質または左側頭皮質）由来の組織を含んでもよい。脳組織は、海馬組織を含んでもよい。いくつかの実施形態では、組織は、神経組織を含む。いくつかの実施形態では、組織は、神経を含む。いくつかの実施形態では、組織は、脊髄組織を含む。いくつかの実施形態では、組織は、脊髄または脊柱管の組織を含む。いくつかの実施形態では、組織は、肺組織を含む。いくつかの実施形態では、組織は、維管束組織を含む。血管組織は、血管内皮細胞を含んでもよい。

10

【0144】

いくつかの実施形態では、試料は、細胞を含む。いくつかの実施形態では、試料は、細胞を含む。いくつかの実施形態では、細胞は、眼細胞、腎細胞、筋細胞、脂肪細胞、脳細胞、または血管系細胞を含む。いくつかの実施形態では、細胞は、腎細胞である。いくつかの実施形態では、腎細胞は、腎髄質細胞である。いくつかの実施形態では、腎細胞は、腎近位尿細管細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、脂肪細胞である。いくつかの実施形態では、脂肪細胞 (adipose cell) は、脂肪細胞 (adipocyte) である。いくつかの実施形態では、細胞は、肝臓細胞である。いくつかの実施形態では、肝臓細胞 (liver cell) は、肝細胞 (hepatocyte) である。いくつかの実施形態では、細胞は、非肝臓細胞であるか、または肝細胞ではない。いくつかの実施形態では、細胞は、眼細胞である。いくつかの実施形態では、眼細胞は、網膜細胞である。いくつかの実施形態では、眼細胞は、桿体細胞である。いくつかの実施形態では、眼細胞は、錐体細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、脳細胞である。いくつかの実施形態では、脳細胞は、小脳、皮質、海馬組織などの脳組織由来である。いくつかの実施形態では、脳細胞は、ニューロンである。いくつかの実施形態では、脳細胞は、グリア細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、脊髄細胞 (spinal cell) である。いくつかの実施形態では、細胞は、脊髄細胞 (spinal cord cell) である。いくつかの実施形態では、細胞は、肺細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、血管系細胞である。いくつかの実施形態では、血管系細胞は、内皮細胞である。

20

30

【0145】

D. 効果

いくつかの実施形態では、組成物または組成物の投与により、ベースライン測定値と比較して、標的タンパク質測定値または標的mRNA測定値などの測定値に影響を与える。

【0146】

本明細書に記載される方法のいくつかの実施形態は、対象から測定値を得る工程を含む。例えば、測定値は、対象を治療した後に対象から得られてもよい。いくつかの実施形態では、測定値は、組成物が対象に投与された後に対象から得られた第2の試料（本明細書に記載される体液または組織試料など）において得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、障害が治療されたことを示すものである。

40

【0147】

いくつかの実施形態では、測定値は、対象から直接得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、撮像デバイスを使用して非侵襲的に得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、対象からの第2の試料において得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、1つ以上の組織学的組織切片において得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、対象から得られた第2の試料に対してアッセイを行うことによって得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、本明細書に記載されるアッセイなどのアッセイによって得られる。いくつかの実施形態では、アッセイは、免疫アッセイ、比色アッセイ、蛍光アッセイ、クロマトグラフィー（例えば、HPLC）アッセイ、またはPCRアッセイである。いくつかの実施形態では、測定値は、免疫アッセイ、比色アッセイ、蛍光アッセイ、また

50

はクロマトグラフィー（例えば、HPLC）アッセイなどのアッセイによって得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、PCRによって得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、組織学的検査によって得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、観察によって得られる。いくつかの実施形態では、さらなる測定値は、第3の試料、第4の試料、または第5の試料などにおいてもたらされる。

【0148】

いくつかの実施形態では、測定値は、組成物の投与後1時間以内、2時間以内、3時間以内、4時間以内、5時間以内、6時間以内、12時間以内、18時間以内、または24時間以内に得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、組成物の投与後1日以内、2日以内、3日以内、4日以内、5日以内、6日以内、または7日以内に得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、組成物の投与後1週間以内、2週間以内、3週間以内、1か月以内、2か月以内、3か月以内、6か月以内、1年以内、2年以内、3年以内、4年以内、または5年以内に得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、組成物の投与の1時間後、2時間後、3時間後、4時間後、5時間後、6時間後、12時間後、18時間後、または24時間後に得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、組成物の投与の1日後、2日後、3日後、4日後、5日後、6日後、または7日後に得られる。いくつかの実施形態では、測定値は、組成物の投与の1週間後、2週間後、3週間後、1か月後、2か月後、3か月後、6か月後、1年後、2年後、3年後、4年後、または5年後に得られる。

10

【0149】

いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン測定値と比較して、測定値を減少させる。いくつかの実施形態では、減少は、対象へ組成物を投与後に対象から得られた第2の試料において測定される。いくつかの実施形態では、減少は、対象へ組成物を投与後に対象において直接測定される。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約2.5%以上、約5%以上、または約7.5%以上減少する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約10%以上減少する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上減少する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約7.5%以下減少する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約10%以下減少する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約100%以下減少する。いくつかの実施形態では、測定値は、2.5%、5%、7.5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくは100%、または前述の割合のいずれか2つによって定義される範囲だけ減少する。

20

30

【0150】

いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン測定値と比較して、測定値を増加させる。いくつかの実施形態では、増加は、対象へ組成物を投与後に対象から得られた第2の試料において測定される。いくつかの実施形態では、増加は、対象へ組成物を投与後に対象において直接測定される。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約2.5%以上、約5%以上、または約7.5%以上増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約10%以上増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約100%以上増加するか、約250%以上増加するか、約500%以上増加するか、約750%以上増加するか、または約1000%以上増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約

40

50

7.5%以下増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約10%以下増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約100%以下増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、ベースライン測定値と比較して、約100%以下増加するか、約250%以下増加するか、約500%以下増加するか、約750%以下増加するか、または約1000%以下増加する。いくつかの実施形態では、測定値は、2.5%、5%、7.5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、250%、500%、750%、もしくは1000%、または前述の割合のいずれか2つによって定義される範囲だけ増加する。

10

【0151】

いくつかの実施形態では、測定値は、標的タンパク質測定値である。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、標的タンパク質レベルを含む。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、試料重量当たりの標的タンパク質の質量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、試料体積当たりの標的タンパク質の質量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルは、試料中の総タンパク質当たりの標的タンパク質の質量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、血中／組織標的タンパク質測定値である。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、イムノアッセイ、比色アッセイ、または蛍光アッセイなどのアッセイによって得られる。

20

【0152】

いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、標的タンパク質測定値を減少させる。いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、血中標的タンパク質レベルを減少させる。いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、組織標的タンパク質レベルを減少させる。いくつかの実施形態では、標的タンパク質レベルの減少は、対象へ組成物を投与後に対象から得られた第2の試料において測定される。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、約2.5%以上、約5%以上、または約7.5%以上減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、約10%以上減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、または約100%減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約7.5%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、約10%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、ベースライン標的タンパク質測定値と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約100%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的タンパク質測定値は、2.5%、5%、7.5%、19%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくは100%、または前述の割合のいずれか2つによって定義される範囲だけ減少する。

30

40

【0153】

いくつかの実施形態では、測定値は、標的mRNA測定値である。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、標的mRNAレベルを含む。いくつかの実施形態では、標的mRNAレベルは、試料重量当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的mRNAレベルは、試料体積当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的mRNAレ

50

ベルは、試料中の総mRNA当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的mRNAレベルは、試料中の総核酸当たりの標的mRNAの量またはパーセンテージとして示される。いくつかの実施形態では、標的mRNAレベルは、試料中のハウスキーピング遺伝子のmRNAレベルなどの別のmRNAレベルと比較して示される。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、血中／組織標的mRNA測定値である。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、PCRアッセイなどのアッセイによって得られる。いくつかの実施形態では、PCRは、qPCRを含む。いくつかの実施形態では、PCRは、標的mRNAの逆転写を含む。

【0154】

いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、標的mRNA測定値を減少させる。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、対象へ組成物を投与後に対象から得られた第2の試料において得られる。いくつかの実施形態では、組成物は、ベースライン標的mRNAレベルに対して、標的mRNAレベルを減少させる。いくつかの実施形態では、標的mRNAレベルの減少は、対象へ組成物を投与後に対象から得られた第2の試料において測定される。いくつかの実施形態では、第2の試料は、肝臓試料である。いくつかの実施形態では、第2の試料は、脂肪試料である。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、約2.5%以上、約5%以上、または約7.5%以上減少する。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、約10%以上減少する。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、約20%以上、約30%以上、約40%以上、約50%以上、約60%以上、約70%以上、約80%以上、約90%以上、または約100%減少する。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、約2.5%以下、約5%以下、または約7.5%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、約10%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、ベースライン標的mRNA測定値と比較して、約20%以下、約30%以下、約40%以下、約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約100%以下減少する。いくつかの実施形態では、標的mRNA測定値は、2.5%、5%、7.5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくは100%、または前述の割合のいずれか2つによって定義される範囲だけ減少する。

【0155】

III. 定義

他に定義されていない限り、本明細書で使用されているすべての専門用語、表記、その他の技術的および科学的な用語は、主張された主題が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有することが意図される。場合によっては、一般に理解されている意味を有する用語が、明確化のため、および／または、すぐに参照できるように本明細書に定義されており、そのような定義を本明細書に含めることは、必ずしも、当該技術分野で一般に理解されているものと実質的に異なることを示すと解釈されるのではない。

【0156】

本出願の全体にわたって、様々な実施形態が範囲フォーマット (range format) で提示されてもよい。範囲フォーマットでの記載は利便性と簡潔さのためのものに過ぎず、本開示の範囲に対する確固たる制限として解釈されるべきでないことを理解されたい。したがって、範囲の記載は、すべての可能な部分範囲と、その範囲内の個々の数値を具体的に開示したものであると考慮されなければならない。例えば、1～6などの範囲の記載は、1～3、1～4、1～5、2～4、2～6、3～6といった部分範囲と、例えば、1、2、3、4、5、および6といったその範囲内の個々の数字を具体的に開示したものであるとして考慮されなければならない。これは、範囲の広さにかかわらず適用される。

【0157】

本明細書および特許請求の範囲で使用されるように、単数形の「a」、「an」、および「the」は、内容が他に明確に示していない限り、複数形の言及を含む。例えば、「試料」という用語は、複数の試料を含み、その混合物も含む。

【0158】

「決定すること」、「測定すること」、「評価すること」、「査定すること」、「アッセイすること」、および「分析すること」という用語は、測定の形態を参照するために、本明細書においてしばしば交換可能に使用される。上記用語は、要素が存在するかどうかを決定することを含む（例えば、検出）。このような用語は、定量的、定性的、または定量的かつ定性的な決定を含み得る。査定することは相対的または絶対的であり得る。「～の存在を検出すること」は、あるものが文脈次第で存在するか存在しないかを決定することに加えて、存在するあるものの量を決定することを含み得る。

10

【0159】

「対象」および「患者」という用語は、本明細書において互換的に使用されてもよい。「対象」は、発現した遺伝物質を含む生物学的実体であってもよい。生物学的実体は、例えば、細菌、ウイルス、真菌類、および原生動物を含む、植物、動物、または微生物であってもよい。対象は、哺乳動物であってもよい。哺乳動物は、ヒトであってもよい。対象は、疾患について高いリスクがあると診断されるか、またはそうであると疑われることもある。場合によっては、対象は必ずしも、疾患について高いリスクがあると診断されたり疑われたりするわけではない。

【0160】

本明細書で使用されるように、「約」という用語が付く数字は、その数字のプラスまたはマイナス10%の数字を指す。「約」という用語が付く範囲は、その最低値のマイナス10%、およびその最大値のプラス10%の範囲を指す。

20

【0161】

本明細書で使用されるように、「治療 (treatment)」または「治療すること (treating)」という用語は、レシピエントにおける有益な結果または所望の結果を得るための医薬的またはその他の介入的なレジメンに関して使用される。有益な結果または所望の結果は、限定されないが、治療上の利点および／または予防上の利点を含む。治療上の利点は、治療されている症状または基礎疾患の根絶または寛解を指すこともある。同様に、治療上の利点は、対象が依然として基礎疾患による影響を受ける可能性があるにもかかわらず、対象において改善が観察されるように、基礎疾患に関連する生理学的症状の1つ以上の根絶または寛解により達成することができる。予防効果は、疾患もしくは疾病の出現を遅延、予防、もしくは排除すること、疾患もしくは疾病の症状の発症を遅延もしくは排除すること、疾患もしくは疾病の進行を遅くする、止める、もしくは撤回させること、またはそれらの任意の組み合わせを含む。予防上の利点に関して、特定の疾患を進行させるリスクのある対象、または、疾患の生理学的症状の1つ以上を報告する対象は、たとえこの疾患の診断が行われなかったとしても、治療を受けることができる。

30

【0162】

「治療 (treatment)」または「治療すること (treating)」は、限定されないが、治療上の利点および／または予防上の利点を含む、疾患、障害、または医学的状态に関する有益なまたは所望の結果を得るためのアプローチを含んでもよい。治療上の利点は、例えば、治療されている基礎疾患の根絶または寛解を含んでもよい。同様に、治療上の利点は、例えば、対象が依然として基礎疾患による影響を受ける可能性があるにもかかわらず、対象において改善が観察されるように、基礎疾患に関連する生理学的症状の1つ以上の根絶または寛解を含んでもよい。特定の実施形態では、予防上の利点に関して、組成物は、疾患の診断が行われていなくても、特定の疾患を進行させるリスクのある対象に、または、疾患の1つ以上の生理学的症状を報告する対象に投与される。本明細書に記載される化合物の投与による治療は、医療従事者の関与を必要としない。

40

【0163】

いくつかの実施形態は、核酸配列情報を指す。いくつかの実施形態では、チミン (T)

50

は、ウラシル（U）と交換されてもよく、またはその逆であってもよいことが企図される。例えば、配列表中のいくつかの配列はTを列挙していてもよいが、いくつかの実施形態では、これらはUで置き換えられてもよい。ウラシルを含む核酸配列を有するいくつかのオリゴヌクレオチドにおいて、ウラシルはチミンで置き換えられてもよい。同様に、チミンを含む核酸配列を有するいくつかのオリゴヌクレオチドにおいて、チミンはウラシルで置き換えられてもよい。いくつかの実施形態では、s i R N Aなどのオリゴヌクレオチドは、R N Aを含むか、またはR N Aからなる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、D N Aを含んでもよい。例えば、オリゴヌクレオチドは、2'デオキシリボヌクレオチドを含んでもよい。A S Oは、D N Aを含むか、またはD N Aからなる。配列表が本明細書における開示と矛盾する範囲では、本明細書が優先する。

10

【0164】

いくつかの態様は、ヌクレオチド修飾または修飾ヌクレオシド間結合を有する配列を含む。概して、他に指定されない限り、N f（例えば、A f、C f、G f、T f、またはU f）は、2'フルオロ修飾ヌクレオシドを指し、d N（例えば、d A、d C、d G、d T、またはd U）は、2'デオキシヌクレオシドを指し、n（例えば、a、c、g、t、またはu）は、2'O-メチル修飾ヌクレオシドを指し、「s」は、ホスホロチオエート結合を指す。

【0165】

ピリミジンは、シトシン（C）、チミン（T）、またはウラシル（U）を含んでもよい。ピリミジンは、CまたはUを含んでもよい。ピリミジンは、CまたはTを含んでもよい。ピリミジンについての言及は、ピリミジンを含むヌクレオシドまたはヌクレオチドを含んでもよい。プリンは、グアニン（G）またはアデニン（A）を含んでもよい。プリンについての言及は、プリンを含むヌクレオシドまたはヌクレオチドを含んでもよい。

20

【0166】

本明細書で使用される章の見出しは、構成上の目的のためにすぎず、記載される主題を限定するものと解釈されるべきではない。

【0167】

「C_{x-y}」または「C_x-C_y」という用語は、アルキル、アルケニル、またはアルキニルなどの化学部分とともに使用されるとき、鎖の中にxからy個の炭素を含有する基を含んでいることを意味する。例えば、「C₁₋₆アルキル」という用語は、1～6個の炭素を含有する直鎖アルキル基および分岐鎖アルキル基を含む、置換または非置換の飽和炭化水素基を指す。

30

【0168】

「C_{x-y}アルケニル」および「C_{x-y}アルキニル」という用語は、上記のアルキルと長さおよび可能な置換が類似しているが、それぞれ少なくとも1つの二重結合または三重結合を含む、置換または非置換の不飽和脂肪族基を指す。

【0169】

本明細書で使用されるような「炭素環」という用語は、環の各原子が炭素である、飽和環、不飽和環、または芳香環を指す。炭素環は、3～10員の単環式環、5～12員の二環式環、5～12員のスピロ二環、および5～12員の架橋環を含む。二環式炭素環の環はそれぞれ、飽和環、不飽和環、および芳香環から選択されてもよい。例示的な実施形態では、芳香環、例えば、フェニルは、飽和環または不飽和環、例えば、シクロヘキサン、シクロペンタン、またはシクロヘキセンに融合されてもよい。二環式炭素環は、原子価が許す限り、飽和、不飽和、および芳香族の二環式環の任意の組み合わせを含む。二環式炭素環は、スピロ二環式環、例えば、スピロペンタンをさらに含む。二環式炭素環は、3-3スピロ環系、4-4スピロ環系、4-5縮合環系、5-5縮合環系、5-6縮合環系、6-6縮合環系、5-7縮合環系、6-7縮合環系、5-8縮合環系、および6-8縮合環系などの環サイズの任意の組み合わせを含む。例示的な炭素環としては、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、アダマンチル、フェニル、インダニル、ナフチル、およびビシクロ[1.1.1]ペンタニルが挙げられる。

40

50

【0170】

「アリール」という用語は、芳香族単環式または芳香族多環式の炭化水素環系を指す。芳香族単環式または芳香族多環式の炭化水素環系は、水素、および5～18個の炭素原子の炭素のみを含み、環系中の環の少なくとも1つは芳香族であり、すなわち、ヒュッケル理論に従って環状の非局在化 ($4n+2$) π -電子系を含む。アリール基が由来する環系は、限定されないが、ベンゼン、フルオレン、インダン、インデン、テトラリン、およびナフタレンなどの基を含む。

【0171】

「シクロアルキル」という用語は、環の各原子が炭素である飽和環を指す。シクロアルキルは、3～10員の単環式環、5～12員の二環式環、5～12員のスピロ二環、および5～12員の架橋環などの単環式および多環式の環を含んでもよい。特定の実施形態では、シクロアルキルは、3～10個の炭素原子を含む。他の実施形態では、シクロアルキルは、5～7個の炭素原子を含む。シクロアルキルは、単結合によって分子の残りに結合することができる。単環式のシクロアルキルの例としては、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが挙げられる。多環式のシクロアルキルラジカルとしては、例えば、アダマンチル、スピロペンタン (spiro pentane)、ノルボルニル (すなわち、ビシクロ [2.2.1] ヘプタニル)、デカリニル (decalinyl)、7,7-ジメチルビシクロ [2.2.1] ヘプタニル、ビシクロ [1.1.1] ペンタニルなどが挙げられる。

【0172】

「シクロアルケニル」という用語は、環の各原子が炭素であり、2つの環炭素間に少なくとも1つの二重結合が存在する飽和環を指す。シクロアルケニルは、3～10員の単環式環、6～12員の二環式環、および5～12員の架橋環などの単環式および多環式の環を含んでもよい。他の実施形態では、シクロアルケニルは、5～7個の炭素原子を含む。シクロアルケニルは、単結合によって分子の残りに結合することができる。単環式のシクロアルケニルの例としては、例えば、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニル、およびシクロオクテニルが挙げられる。

【0173】

「ハロ」、または代替的に「ハロゲン」もしくは「ハロゲン化物」という用語は、フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨードを意味する。いくつかの実施形態では、ハロは、フルオロ、クロロ、またはブロモである。

【0174】

「ハロアルキル」という用語は、1つ以上のハロラジカルによって置換される、上で定義されるようなアルキルラジカル、例えば、トリフルオロメチル、ジクロロメチル、ブロモメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、1-クロロメチル-2-フルオロエチルなどを指す。いくつかの実施形態では、ハロアルキルラジカルのアルキル部分は、本明細書に記載されるように、任意選択でさらに置換される。

【0175】

「複素環」という用語は、1つ以上のヘテロ原子を含む、飽和環、不飽和環、または芳香環を指す。例示的なヘテロ原子は、N、O、S、P、B、およびSiの原子を含む。複素環は、3～10員の単環式環、6～12員の二環式環、5～12員のスピロ二環、および5～12員の架橋環を含む。二環式複素環は、原子価が許す限り、飽和、不飽和、および芳香族の二環式環の任意の組み合わせを含む。例示的な実施形態では、芳香環、例えば、ピリジルは、飽和環または不飽和環、例えば、シクロヘキサン、シクロペンタン、モルホリン、ピペリジン、またはシクロヘキセンに融合されてもよい。二環式複素環は、4-5縮合環系、5-5縮合環系、5-6縮合環系、6-6縮合環系、5-7縮合環系、6-7縮合環系、5-8縮合環系、および6-8縮合環系などの環サイズの任意の組み合わせを含む。二環式複素環はさらに、スピロ二環式環、例えば、5～12員のスピロ二環、例えば、2-オキサ-6-アザスピロ [3.3] ヘプタンを含む。

【0176】

「ヘテロアリール」という用語は、2～17個の炭素原子と、窒素、酸素、および硫黄から選択される1～6個のヘテロ原子とを含む、5～18員の芳香環ラジカルに由来するラジカルを指す。本明細書で使用されるように、ヘテロアリールラジカルは、単環式、二環式、三環式、または四環式の環系であり、環系中の環の少なくとも1つは芳香族であり、すなわち、ヒュッケル理論に従って環状の非局在化 ($4n+2$) π -電子系を含む。ヘテロアリールは、縮合環系または架橋環系を含む。ヘテロアリールラジカル中のヘテロ原子は、任意選択で酸化される。1つ以上の窒素原子は、存在する場合、任意選択で四級化される。ヘテロアリールは、環の任意の原子を介して分子の残りに結合する。ヘテロアリールの例としては、アゼピニル、アクリジニル、ベンズイミダゾリル、ベンズインドリル、1,3-ベンゾジオキサソリル、ベンゾフラニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾ[d]チアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾ[b][1,4]ジオキセピニル、ベンゾ[b][1,4]オキサジニル、1,4-ベンゾジオキサニル、ベンゾナフトフラニル、ベンズオキサゾリル、ベンゾジオキサソリル、ベンゾジオキシニル、ベンゾピラニル、ベンゾピラノニル、ベンゾフラニル、ベンゾフラノニル、ベンゾチエニル（ベンゾチオフエニル）、ベンゾチエノ[3,2-d]ピリミジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾ[4,6]イミダゾ[1,2-a]ピリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、シクロペンタ[d]ピリミジニル、6,7-ジヒドロ-5H-シクロペンタ[4,5]チエノ[2,3-d]ピリミジニル、5,6-ジヒドロベンゾ[h]キナゾリニル、5,6-ジヒドロベンゾ[h]シンノリニル、6,7-ジヒドロ-5H-ベンゾ[6,7]シクロヘプタ[1,2-c]ピリダジニル、ジベンゾフラニル、ジベンゾチオフエニル、フラニル、フラノニル、フロ[3,2-c]ピリジニル、5,6,7,8,9,10-ヘキサヒドロシクロオクタ[d]ピリダジニル、5,6,7,8,9,10-ヘキサヒドロシクロオクタ[d]ピリジニル、イソチアゾリル、イミダゾリル、インダゾリル、インドリル、インダゾリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、イソキノリル、インドリジニル、イソキサゾリル、5,8-メタノ-5,6,7,8-テトラヒドロキナゾリニル、ナフチリジニル（naphthyrindinyl）、1,6-ナフチリジノニル（naphthyrindinonyl）、オキサジアゾリル、2-オキサアゼピニル、オキサゾリル、オキシラニル、5,6,6a,7,8,9,10,10a-オクタヒドロベンゾ[h]キナゾリニル、1-フェニル-1H-ピロリル、フェナジニル、フェノチアジニル（phenothiazinyl）、フェノキサジニル（phenoxazinyl）、フタラジニル、プテリジニル（pteridinyl）、プリニル（purinyl）、ピロリル、ピラゾリル、ピラゾロ（pyrazolo）[3,4-d]ピリミジニル、ピリジニル、ピリド（pyrido）[3,2-d]ピリミジニル、ピリド（pyrido）[3,4-d]ピリミジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピロリル、キナゾリニル、キノキサリニル、キノリニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、5,6,7,8-テトラヒドロキナゾリニル、5,6,7,8-テトラヒドロベンゾ[4,5]チエノ[2,3-d]ピリミジニル、6,7,8,9-テトラヒドロ-5H-シクロヘプタ[4,5]チエノ[2,3-d]ピリミジニル、5,6,7,8-テトラヒドロピリド[4,5-c]ピリダジニル、チアゾリル、チアジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、トリアジニル、チエノ[2,3-d]ピリミジニル、チエノ[3,2-d]ピリミジニル、チエノ[2,3-c]ピリジニル、およびチオフエニル（すなわちチエニル）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0177】

「ヘテロシクロアルキル」という用語は、炭素原子と少なくとも1つのヘテロ原子とを有する飽和環を指す。例示的なヘテロ原子は、N、O、Si、P、B、およびSの原子を含む。ヘテロシクロアルキルは、3～10員の単環式環、6～12員の二環式環、5～12員のスピロ二環、および5～12員の架橋環などの単環式および多環式の環を含んでもよい。ヘテロシクロアルキルラジカル中のヘテロ原子は、任意選択で酸化される。1つ以上の窒素原子は、存在する場合、任意選択で四級化される。ヘテロシクロアルキルは、ヘ

10

20

30

40

50

テロシクロアルキルの任意の炭素原子または窒素原子などの、原子価が許容する、ヘテロシクロアルキルの任意の原子を介して分子の残りに結合される。ヘテロシクロアルキルラジカルの例としては、ジオキサニル、チエニル [1, 3] ジチアニル、デカヒドロイソキノリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、オクタヒドロインドリル、オクタヒドロイソインドリル、2-オキソピペラジニル、2-オキソピペリジニル、2-オキソピロリジニル、オキサゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、キヌクリジニル、チアゾリジニル、テトラヒドロフリル、トリチアニル、テトラヒドロピラニル、チオモルホリニル、チアモルホリニル、1-オキソチオモルホリニル、2-オキサ-6-アザスピロ [3. 3] ヘプタン、および 1, 1-ジオキソチオモルホリニルが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0178】

「ヘテロシクロアルケニル」という用語は、炭素原子と少なくとも1つのヘテロ原子とを有する不飽和環を指し、2つの環炭素間に少なくとも1つの二重結合が存在する。ヘテロシクロアルケニルは、ヘテロアリール環を含まない。例示的なヘテロ原子は、N、O、Si、P、B、およびSの原子を含む。ヘテロシクロアルケニルは、3～10員の単環式環、6～12員の二環式環、および5～12員の架橋環などの単環式および多環式の環を含んでもよい。他の実施形態では、ヘテロシクロアルケニルは、5～7個の環原子を含む。ヘテロシクロアルケニルは、単結合によって分子の残りに結合することができる。単環式のシクロアルケニルの例としては、例えば、ピロリン（ジヒドロピロール）、ピラゾリン（ジヒドロピラゾール）、イミダゾリン（ジヒドロイミダゾール）、トリアゾリン（ジヒドロトリアゾール）、ジヒドロフラン、ジヒドロチオフエン、オキサゾリン（ジヒドロオキサゾール）、イソオキサゾリン（ジヒドロイソオキサゾール）、チアゾリン（ジヒドロチアゾール）、イソチアゾリン（ジヒドロイソチアゾール）、オキサジアゾリン（ジヒドロオキサジアゾール）、チアジアゾリン（ジヒドロチアジアゾール）、ジヒドロピリジン、テトラヒドロピリジン、ジヒドロピリダジン、テトラヒドロピリダジン、ジヒドロピリミジン、テトラヒドロピリミジン、ジヒドロピラジン、テトラヒドロピラジン、ピラン、ジヒドロピラン、チオピラン、ジヒドロチオピラン、ジオキシン、ジヒドロジオキシン、オキサジン、ジヒドロオキサジン、チアジン、およびジヒドロチアジンが挙げられる。

20

【0179】

「置換された」という用語は、1つ以上の炭素または置換可能なヘテロ原子上の水素、例えば、化合物のNHまたはNH₂を置き換える置換基を有する部分を指す。「置換」または「で置換されている」とは、そのような置換が、置換される原子および置換基の許容される原子価に従い、置換が安定な化合物をもたらす、例えば、転位、環化、脱離などによる変換を自発的に起こさないという暗黙の条件を含むことが理解されるであろう。特定の実施形態では、置換されているとは、単一の炭素上の2つの水素原子をオキソ基、イミノ基、またはチオキソ基で置換するなど、同じ炭素原子上の2つの水素原子を置き換える置換基を有する部分を指す。本明細書で使用される場合、「置換される」という用語は、有機化合物の許容可能な置換基をすべて含むものと企図される。広範囲の態様では、許容可能な置換基は、有機化合物の非環式および環式の、分岐および未分岐の、炭環式および複素環式の芳香族および非芳香族の置換基を含む。許容可能な置換基は、適切な有機化合物に対して1つ以上であり、かつ、同じものまたは異なるものであってもよい。

30

40

【0180】

いくつかの実施形態では、置換基は、本明細書に記載される任意の置換基、例えば、ハロゲン、ヒドロキシ、オキソ (=O)、チオキソ (=S)、シアノ (-CN)、ニトロ (-NO₂)、イミノ (=N-H)、オキシモ (=N-OH)、ヒドラジノ (=N-NH₂)、 $-R^b-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-R^a$ 、 $-R^b-OC(O)-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-C(O)R^a$ 、 $-R^b-C(O)OR^a$ 、 $-R^b-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)OR^a$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)R^a$ 、 $-R^b-N(R^a)$

50

$a) S(O)_t R^a$ (t は1または2である)、 $-R^b-S(O)_t R^a$ (t は1または2である)、 $-R^b-S(O)_t OR^a$ (t は1または2である)、および $-R^b-S(O)_t N(R^a)_2$ (t は1または2である)、ならびに、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、アラルケニル、アラルキニル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアリールアルキルを含んでもよく、これらのいずれも、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、オキソ(=O)、チオキソ(=S)、シアノ(−CN)、ニトロ(−NO₂)、イミノ(=N−H)、オキシモ(=N−OH)、ヒドラジン(=N−NH₂)、 $-R^b-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-R^a$ 、 $-R^b-OC(O)-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-C(O)R^a$ 、 $-R^b-C(O)OR^a$ 、 $-R^b-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)OR^a$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)R^a$ 、 $-R^b-N(R^a)S(O)_t R^a$ (t は1または2である)、 $-R^b-S(O)_t R^a$ (t は1または2である)、 $-R^b-S(O)_t OR^a$ (t は1または2である)、および $-R^b-S(O)_t N(R^a)_2$ (t は1または2である)によって任意選択で置換されてもよく、ここで、 R^a はそれぞれ独立して、水素、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアリールアルキルから選択され、 R^a はそれぞれ、原子価が許容する、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、オキソ(=O)、チオキソ(=S)、シアノ(−CN)、ニトロ(−NO₂)、イミノ(=N−H)、オキシモ(=N−OH)、ヒドラジン(=N−NH₂)、 $-R^b-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-R^a$ 、 $-R^b-OC(O)-OR^a$ 、 $-R^b-OC(O)-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)_2$ 、 $-R^b-C(O)R^a$ 、 $-R^b-C(O)OR^a$ 、 $-R^b-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)_2$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)OR^a$ 、 $-R^b-N(R^a)C(O)R^a$ 、 $-R^b-N(R^a)S(O)_t R^a$ (t は1または2である)、 $-R^b-S(O)_t R^a$ (t は1または2である)、 $-R^b-S(O)_t OR^a$ (t は1または2である)、および $-R^b-S(O)_t N(R^a)_2$ (t は1または2である)で任意選択で置換されてもよく、 R^b はそれぞれ独立して、直接結合、または直鎖もしくは分岐鎖のアルキレン鎖、アルケニレン鎖、もしくはアルキニレン鎖から選択され、 R^c はそれぞれ、直鎖または分岐鎖のアルキレン鎖、アルケニレン鎖、またはアルキニレン鎖である。

10

20

30

【0181】

オキソ基などの酸素原子への二重結合は、本明細書では「=O」および「(O)」の両方として表される。窒素原子への二重結合は、「=NR」および「(NR)」の両方として表される。硫黄原子への二重結合は、「=S」および「(S)」の両方として表される。

【0182】

本明細書で使用されるような「非経口投与」および「非経口に投与される」という語句は、通常注入による、腸内投与と局所投与以外の投与方式を意味し、限定されないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、および胸骨下の注射と注入を含む。

40

【0183】

「薬学的に許容可能な」という語句は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題または合併症なく、人間と動物の組織と接触して使用するのに適しており、合理的なベネフィット・リスク比と釣り合っている、こうした化合物、材料、組成物、および／または剤形を指すように本明細書では用いられる。

【0184】

本明細書で使用されるような「薬学的に許容可能な賦形剤」または「薬学的に許容可能な担体」という語句は、液体または固体充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒、またはカプセル

50

化材料などの、薬学的に許容可能な材料、組成物、またはビヒクルを意味する。各担体は、製剤の他の成分に適合可能であり、かつ患者に有害ではないという意味で、「許容可能」でなければならない。薬学的に許容可能な担体として機能することができる物質のいくつかの例としては、(1) ラクトース、グルコース、およびスクロースなどの糖類、(2) トウモロコシデンプンやジャガイモデンプンなどのデンプン、(3) カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、および酢酸セルロースなどのセルロースとその誘導体、(4) 粉末状トラガント、(5) 麦芽、(6) ゼラチン、(7) タルク、(8) ココアバターや座剤用ワックスなどの賦形剤、(9) 落花生油、綿実油、ひまわり油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、およびダイズ油などの油、(10) プロピレングリコールなどのグリコール、(11) グリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコールなどのポリオール、(12) オレイン酸エチルやラウリン酸エチルなどのエステル、(13) 寒天、(14) 水酸化マグネシウムや水酸化アルミニウムなどの緩衝剤、(15) アルギン酸、(16) 発熱物質を含まない水、(17) 等張食塩水、(18) リンゲル液、(19) エチルアルコール、(20) リン酸緩衝液、ならびに(21) 医薬製剤中で利用される他の非毒性の適合物質が挙げられる。

10

20

30

【0185】

「塩」または「薬学的に許容可能な塩」という用語は、当該技術分野で周知の様々な有機および無機対イオンに由来する塩を指す。薬学的に許容可能な酸付加塩は、無機酸と有機酸で形成可能である。塩が由来し得る無機酸は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などを含んでいる。塩が由来し得る有機酸は、例えば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などを含む。薬学的に許容可能な塩付加塩は、無機塩基と有機塩基で形成可能である。塩が由来し得る無機塩基は、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガ、アルミニウムなどを含んでいる。塩が由来し得る有機塩基は、例えば、一級アミン、二級アミン、および三級アミン、自然発生の置換されたアミン、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂などを含む置換されたアミン、具体的には、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、およびエタノールアミンを含んでいる。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な塩基付加塩は、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウム、およびマグネシウムの塩から選択される。

【0186】

VI. 実施例

実施例1: siRNA二重鎖の硝子体内注射

マウス(4~7週齢のICRマウス、Envigo)への硝子体内注射のために、ガラスマイクロシリッジ(10 μ L体積、Hamilton Company)の33ゲージの針を使用した。眼を突出させ、強膜赤道部を通るように針を挿入し、水晶体後部または網膜に触れないように注意しながら硝子体眼房内におよそ45度の角度で挿入した。硝子体に、リン酸塩緩衝生理食塩水ビヒクル1 μ L中siRNA二重鎖5 μ gを注射した。注射したsiRNA二重鎖を表2に示す。

40

【0187】

【表 2】

表 2 : s i R N A 二重鎖

物質 #	二重鎖	配列 番号	センス鎖	配列 番号	アンチセンス鎖
	標的				
ETD01206	mANGPTL7	1	[ETL3]CfsasAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuGfsusu	24	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01207	mANGPTL7	2	[ETL3]CfsaAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuGfsusu	25	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01208	mANGPTL7	3	[ETL3]CfaAfcCfaGfAfUfuGf aCfaUfcAfuGfsusu	26	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01540	mPLIN1	4	[ETL3]CfsaAfcAfcUfcUfuUf cUfcGfaCfaAfsusu	27	usUfsgUfcGfaGfaAfaGfaG fuGfuUfgsusu
ETD01588	mANGPTL7	5	[ETL3]CfaAfcCfaGfAfUfuGf aCfaUfcAfuGfsusu	28	5VPusAfsuGfaUfgUfcAfauc cUfgGfuUfgsusu
ETD01589	mANGPTL7	6	[ETL3]CfaAfcCfaGfAfUfuGf aCfaUfcAfuGfsusu	29	usAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01624	mPLIN1	7	[ETL3]CfsaAfcAfcUfcUfuUf cUfcGfaCfaAfsusu	30	5VpusUfsgUfcGfaGfaAfaG faGfuGfuUfgsusu
ETD01751	mPLIN1	8	[ETL3]CfaAfcAfcUfcUfuUfc UfcGfaCfaAfsusu	31	5VpusUfsgUfcGfaGfaAfaG faGfuGfuUfgsusu
ETD01716	mANGPTL7	9	[ETL3]CfaAfcCfaGfAfUfuGf aCfaUfcAfuAfsusu	32	5VPusAfsuGfaUfgUfcAfauc cUfgGfuUfgsusu
ETD01736	mANGPTL7	10	[ETL13]CfaAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuGfsusu	33	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01778	mANGPTL7	11	[ETL13]CfaAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuAfsusu	34	5VPusAfsuGfaUfgUfcAfauc cUfgGfuUfgsusu
ETD01779	mANGPTL7	12	[ETL15]CfaAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuAfsusu	35	5VPusAfsuGfaUfgUfcAfauc cUfgGfuUfgsusu
ETD01786	mANGPTL7	13	[ETL13]CfaAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuAfsusu	36	usAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01787	mANGPTL7	14	[ETL16]CfaAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuAfsusu	37	5VPusAfsuGfaUfgUfcAfauc cUfgGfuUfgsusu
ETD01313	mANGPTL7	15	[ETL7]CfsasAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuGfsusu	38	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01503	mANGPTL7	16	[ETL8]CfsasAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuGfsusu	39	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01504	mANGPTL7	17	[ETL9]CfsasAfcCfaGfAfUfu GfaCfaUfcAfuGfsusu	40	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu
ETD01505	mANGPTL7	18	[ETL10]CfsasAfcCfaGfAfUf uGfaCfaUfcAfuGfsusu	41	csAfsuGfaUfgUfcAfaucUf gGfuUfgsusu

10

20

30

40

50

【 0 1 8 8 】

注射後 14 日目にマウスを安楽死させた。各動物の両眼を摘出して赤道部に沿って解剖し、前方半球および後方半球を RNA later に入れた。ホモジナイズされた組織から総 RNA を抽出し、First-Strand III cDNA Synthesis キットを使用して cDNA に逆転写した。選択された遺伝子 (ANGPTL7、MYOC、COL1A1、COL5A1、VCAN、FN1、および PPIA) の蛍光標識された TaqMan プロブ／プライマーセットを使用して、リアルタイム TaqMan PCR によって正規化 cDNA 定量を行った。ABI Prism 7500 Fast Real-Time PCR System Sequence Detection System 上で TaqMan Universal PCR Master Mix No AmpErase UNG を使用して、アリコート 20 μL 中で反応を行い、7500 System ソフトウェアによって分析した。処置した試料と処置しなかった試料との間の相対定量 (RQ) 値は、式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ で計算し、式中、CT は、閾値 (自動測定) のサイクルであり、 ΔCT は、アッセイされた遺伝子の CT から内在性コントロール (PPIA) の CT を引いたものであり、 $\Delta\Delta CT$ は、処置した試料中の正規化されたアッ

セイされた遺伝子の $\Delta C T$ から処置しなかった試料中の同じ遺伝子（キャリブレーター）の $\Delta C T$ を引いたものである。

【0189】

結果を表3に示す。ETD1208は、ETD1207よりも効果的であり、ETD1207は、ETD1206よりも効果的であった。これにより、疎水性基が結合しているセンス鎖の5'末端に2つのホスホロチオエートを有するよりも、末端にそれ未満のホスホロチオエートを有する（またはホスホロチオエートを有さない）方が効果的であったことが示される。

【0190】

ETD1588は、ETD1589よりも活性であり、これは、いくつかの配列がアンチセンス鎖に5'ビニルホスホネートを有さないよりも、アンチセンス鎖に5'ビニルホスホネートを有する方が大きい活性化を示したことを意味する。

【0191】

ETD1716-ETD1787シリーズは、12~25個の炭素を有する異なる疎水性基を可能にする。すべて、センス鎖の5'末端でホスホロチオエートとコンジュゲートしていた。

【0192】

【表3】

表3：mRNAの発現レベル

s i RNA	未処置の対照動物と比較した平均mRNA
ETD01206	0.26
ETD01207	0.20
ETD01208	0.14
ETD01588	0.43
ETD01589	0.89
ETD01716	0.44
ETD01736	0.09
ETD01778	0.34
ETD01779	0.40
ETD01786	0.29
ETD01787	0.23

【0193】

実施例2：mRNAの硝子体内注射およびs i RNAの定量

上記のように、1 μ L中s i RNA 20 μ gで硝子体内注射を行った。注射後14日目に眼を摘出し、前の実施例において示されるようにmRNAを定量した。公開されている手順（Cheng A, Li M, Liang Y, Wang Y, Wong L, Chen C, Vlassov AV, Magdaleno S 2009. Stem-loop RT-PCR quantification of siRNAs in vitro and in vivo. Oligonucleotides 19:203-208）に従ってステムループアッセイを使用してs i RNAの量を定量した。

【0194】

結果を表4に示す。疎水性基のサイズと、ノックダウンパーセントと、組織で観察されるs i RNAのレベルとの間に相関が存在していた。概して、より多くの炭素を有する疎水性基は、ノックダウンパーセントの増加や、組織で観察されるs i RNAの増加を生じさせた。

【0195】

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4 : mRNA の定量

	未処置の動物と比較したKD%		組織 1 mg 当たりの siRNA μ g	
二重鎖	前部	後部	前部	後部
1208 (ステアリル)	85	90	0.031	0.005
1313 (t-ブチル)	70	80	0.006	0.005
1503 (n-ブチル)	50	0	0.012	0.024
1504 (オクチル)	67	33	0.09	0.027
1505 (ドデシル)	70	50	0.059	0.073

10

20

30

【0196】

実施例 3 : マウスの脂肪組織における PLIN1 の siRNA 媒介ノックダウン

群 1 (n = 4) における 4 ~ 7 週齢の ICR マウス (Envigo Labs) のマウスに、皮下注射によってリン酸塩緩衝生理食塩水 (PBS) 100 μ L を投与するか、または PBS 100 μ L 中、マウス PLIN1 を標的とする siRNA 500 μ g を投与した。その後、14 日目にマウスを安楽死させ、それぞれから腹部白色脂肪試料を採取し、RNA later (ThermoFisher カタログ番号 AM7020) に入れた。5000 rpm に設定した Percellys 24 組織ホモジナイザー (Bertin Instruments) を用いて、10 秒サイクルを 2 回、ホモジナイゼーションバッファー (Maxwell RSC simplyRNA Tissue Kit) 中で肝臓組織をホモジナイズすることによって、総肝臓 RNA を調製した。ライセートからの総 RNA は、製造会社の推奨に従って、Maxwell RSC 48 プラットフォーム (Promega Corporation) で精製した。肝臓の PLIN1 mRNA のレベルは、マウス PLIN1 およびマウスハウスキーピング遺伝子 PPIA 用の TaqMan アッセイ (ThermoFisher、アッセイ番号 Mm02342430_g1) を使用して RT-qPCR によって査定した。データは、PBS を投与した動物のレベルに正規化した。

【0197】

結果を表 5 に示す。5' ビニルホスホネートの添加により、効能が増加し、脂肪組織への送達が可能となった。

【0198】

【表 5】

表 5 : mRNA の発現レベル

siRNA	未処置の対照動物と比較した平均 mRNA
ETD01540	1.7
ETD01624	0.67
ETD01751	0.53

40

【0199】

実施例 4 : 中枢神経系への送達の注射

本記載の修飾および疎水性コンジュゲートを有する siRNA は、公開されている手順 (Alterman, J. F., Godinho, B. M. D. C., Hassler, M. R. et al. A divalent siRNA chemical scaffold for potent and sustained modulation of gene expression throughout the centra

50

l nervous system. Nat Biotechnol 37, 884–894 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0205-0>, Njoo, C., Heintl, C., Kuner, R. In Vivo siRNA Transfection and Gene Knockdown in Spinal Cord via Rapid Noninvasive Lumbar Intrathecal Injections in Mice. J. Vis. Exp. (85), e51229, doi:10.3791/51229 (2014)) に従って脳室内注射するか、髄腔内注射する。注射後14日目にマウスを安楽死させ、脳半球を摘出し、凍結させ、その後均質化して、標的mRNAおよびタンパク質の発現について試験した。

10

【0200】

実施例5：箇条書きでのsiRNAの説明

siRNAの例は、以下のように説明される：

- 21量体：
 - a. 19塩基対
 - b. 2ntオーバーハング
- アンチセンス鎖：
 - a. 5'末端にビニルホスホネート (VP)
 - b. 各末端に2つのホスホロチオエート結合 (PS)
- センス鎖：
 - a. 5'末端に疎水性基 (C16–C18)
 - b. 任意選択で5'末端に0～2つのPS
 - c. 3'末端に2つのPS
- 2'フルオロ基と2'メチル基との修飾パターン。

20

【0201】

実施例6：修飾モチーフ1

siRNAの例は、以下の修飾の組み合わせを含む。

- センス鎖の9位 (5'から3') は2'Fである。
- 9位がピリミジンである場合、センス鎖中のすべてのプリンは2'OMeであり、5位と11位との間の1～5個のピリミジンは2'Fであり、ただし、一列に3つの2'F修飾は存在しないものとする。
- 9位がプリンである場合、センス鎖中のすべてのピリミジンは2'OMeであり、5位と11位との間の1～5個のプリンは2'Fであり、ただし、一列に3つの2'F修飾は存在しないものとする。
- アンチセンス鎖の奇数位は2'OMeであり、偶数位は2'Fと2'デオキシとの混合物である。

30

【0202】

実施例7：修飾モチーフ2

siRNAの例は、以下の修飾の組み合わせを含む。

- センス鎖の9位 (5'から3') は2'デオキシである。
- センス鎖の5位、7位、および8位は2'Fである。
- 10位～21位のすべてのピリミジンは2'OMeであり、プリンは2'OMeと2'Fとの混合物である。代替的に、10位～21位のすべてのプリンは2'OMeであり、10位～21位のすべてのピリミジンは2'OMeと2'Fとの混合物である。
- アンチセンス鎖の奇数位は2'OMeであり、偶数位は2'Fと2'デオキシとの混合物である。

40

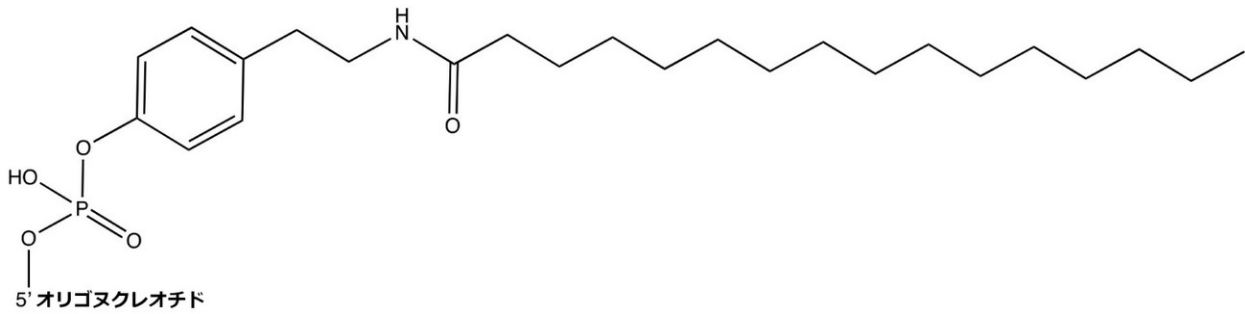
【0203】

実施例8：ETLホスホロアミダイトの合成

【0204】

50

【化 2 2】



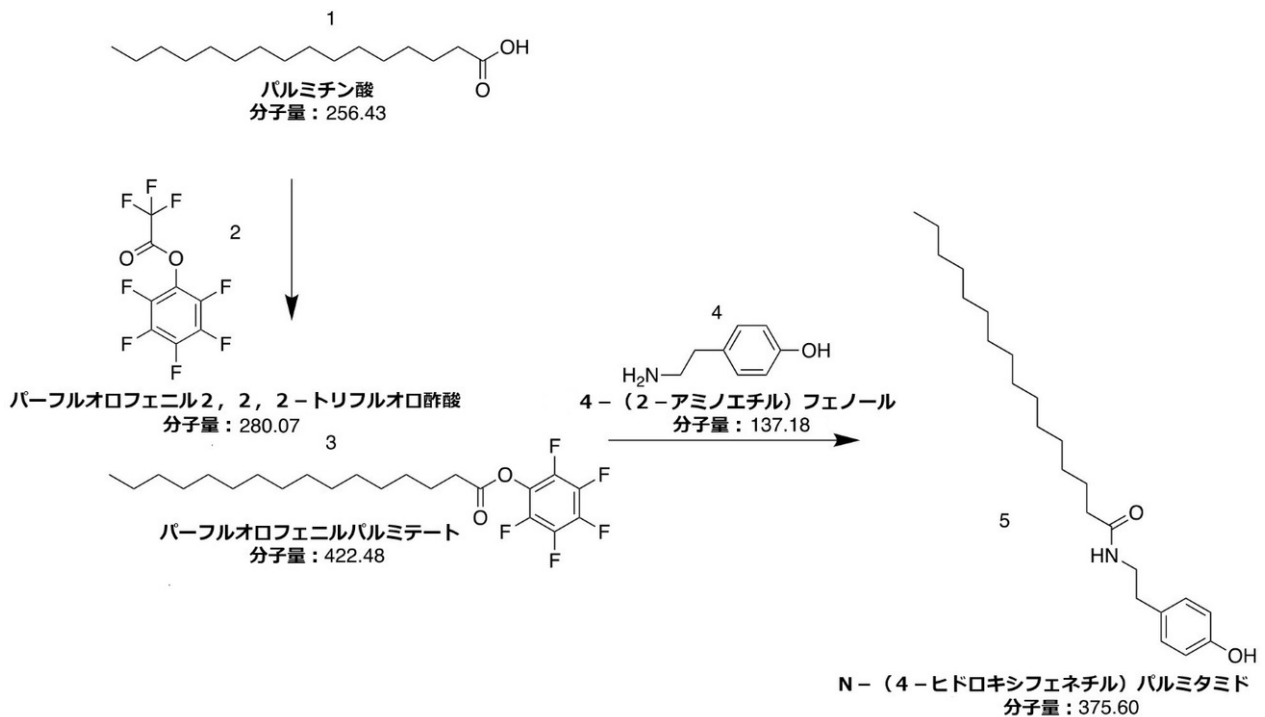
10

【0205】

実施例 8 A : E T L 2 0 ホスホロアミダイトの合成

【0206】

【化 2 3】



20

30

【0207】

N-(4-ヒドロキシフェニル)パルミタミド(5)の合成:

【0208】

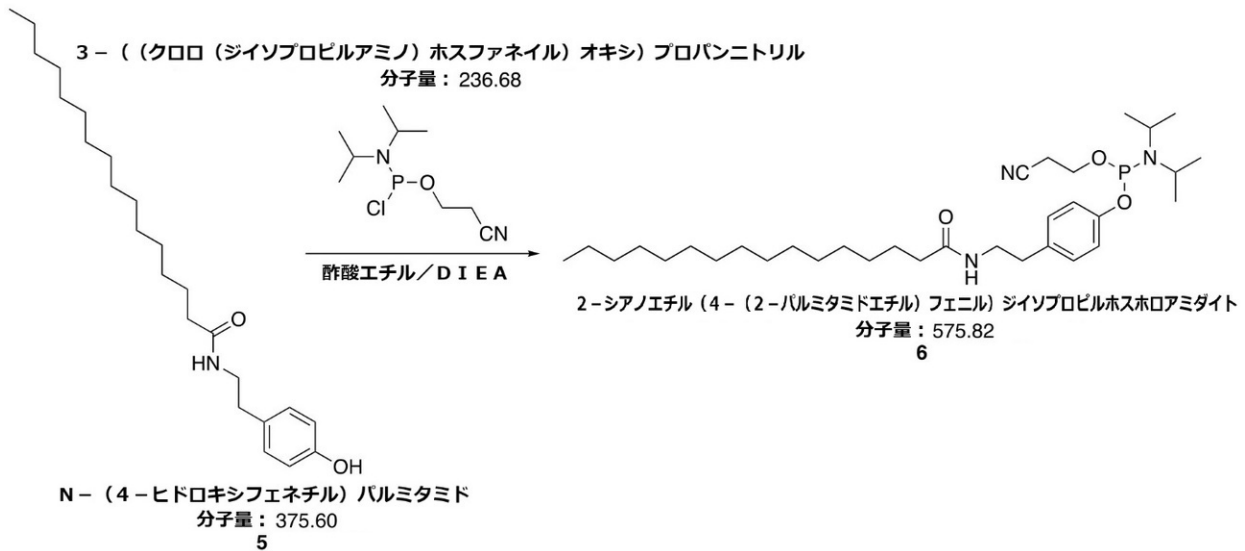
1 (パルミチン酸) 12.82 グラムを量り分け、 CH_2Cl_2 450 mL に溶解した。1 の溶液にジイソプロピルエチルアミン (DIEA) 16.3 mL を添加した。その後、2 (パーフルオロフェニル 2, 2, 2-トリフルオロ酢酸、「PFP」) 12.88 mL を滴下し、添加終了後、反応物を 10 分間攪拌した。PFP 活性化酸の溶液に、4 (4-(2-アミノエチル)フェノール) 8.26 グラムを添加漏斗を介して添加し、添加漏斗を CH_2Cl_2 50 mL ですすいだ。反応物をアルゴン下に置き、一晩攪拌した。一晩攪拌した後、5 により沈殿物が形成された。沈殿物を濾過を介して回収し、予め -20°C に冷やした MTBE 75 mL で洗浄した。白色～オフホワイトの固体を高真空下で一晩乾燥させた。生成物をさらなる精製なしで次のステップで使用した。

40

【0209】

50

【化 2 4】



10

【0210】

ETL20ホスホアマミダイト(6)の合成: N-(4-ヒドロキシフェネチル)パルミタミド5(5.2グラム)に無水酢酸エチル100mLを添加し、続いて、3オングストロームのモレキュラーシーブス250mgを添加した。混合物を1時間攪拌した。混合物を50℃で加熱して透明な溶液を得た。DIEA7.3mLを添加し、混合物を氷浴に入れると、溶液が白濁した。この白濁した溶液に3-((クロロ(ジイソプロピルアミノ)ホスファニル)オキシ)プロパンニトリル(3.5mL)をゆっくり添加した。添加終了後、反応混合物を氷浴から取り出し、Ar下、室温で一晩攪拌した。その後、反応混合物を酢酸エチル(200mL)で希釈し、飽和NaHCO₃溶液(2×50mL)で洗浄し、続いて、ブライン(50mL)で洗浄した。溶液をNa₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、トリエチルアミン2%を含有するヘキサン中の5%~30%酢酸エチルで溶出した。

20

30

【0211】

ヒドロキシベンジルアミンおよびラウリル酸(C₁₂)またはミリスチン酸(C₁₄)を有するETL20ホスホアマミダイトを生成する手順を使用して、ETL18(C₁₄)およびETL19(C₁₂)ホスホアマミダイトを合成した。

【0212】

実施例9: siRNA二重鎖の硝子体内注射

マウス(4~7週齢のICRマウス、Envigo)への硝子体内注射のために、ガラスマイクロシリンジ(10μL体積、Hamilton Company)の33ゲージの針を使用した。眼を突出させ、強膜赤道部を通るように針を挿入し、水晶体後部または網膜に触れないように注意しながら硝子体眼房内におよそ45度の角度で挿入した。硝子体に、リン酸塩緩衝生理食塩水ビヒクル1μL中siRNA二重鎖2.5または1μgを注射した。注射したsiRNA二重鎖を表1に記載する。

40

【0213】

50

【表 6】

表 6 : s i R N A 二重鎖

物質 #	二重鎖 標的	配列 番号	センス鎖	配列 番号	アンチセンス鎖
ETD01928	mANGPTL7	19	[ELT20]CfaAfcCfaGfAfUfuGfa CfaUfcAfuGfsusu	42	csAfsuGfaUfgUfcAfa ucUfgGfuUfgsusu
ETD01929	mANGPTL7	20	[ELT18]CfaAfcCfaGfAfUfuGfa CfaUfcAfuGfsusu	43	csAfsuGfaUfgUfcAfa ucUfgGfuUfgsusu
ETD01930	mANGPTL7	21	[ELT19]CfaAfcCfaGfAfUfuGfa CfaUfcAfuGfsusu	44	csAfsuGfaUfgUfcAfa ucUfgGfuUfgsusu

10

【 0 2 1 4 】

注射後 14 日目にマウスを安楽死させた。各動物の両眼を摘出して赤道部に沿って解剖し、前方半球および後方半球を R N A l a t e r に入れた。ホモジナイズされた組織から総 R N A を抽出し、F i r s t - S t r a n d I I I c D N A S y n t h e s i s キットを使用して c D N A に逆転写した。選択された遺伝子（A N G P T L 7、M Y O C、C O L 1 A 1、C O L 5 A 1、V C A N、F N 1、および P P I A）の蛍光標識された T a q M a n プローブ／プライマーセットを使用して、リアルタイム T a q M a n P C R によって正規化 c D N A 定量を行った。A B I P r i s m 7 5 0 0 F a s t R e a l - T i m e P C R S y s t e m S e q u e n c e D e t e c t i o n S y s t e m 上で T a q M a n U n i v e r s a l P C R M a s t e r M i x N o A m p E r a s e U N G を使用して、アリコート 20 μ L 中で反応を行い、7 5 0 0 S y s t e m ソフトウェアによって分析した。処置した試料と処置しなかった試料との間の相対定量（R Q）値は、式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ で計算し、式中、C T は、閾値（自動測定）のサイクルであり、 $\Delta C T$ は、アッセイされた遺伝子の C T から内在性コントロール（P P I A）の C T を引いたものであり、 $\Delta\Delta C T$ は、処置した試料中の正規化されたアッセイされた遺伝子の $\Delta C T$ から処置しなかった試料中の同じ遺伝子（キャリブレーター）の $\Delta C T$ を引いたものである。

20

【 0 2 1 5 】

とりわけ、E T D 1 9 2 8 - 1 9 3 0 シリーズは、チラミンに 12 ~ 16 個の炭素が結合した異なる疎水性基の有用性を示す。疎水性基は、センス鎖の 5' 末端にホスホロチオエートなしでコンジュゲートしていた。

30

【 0 2 1 6 】

【表 7】

表 7 : m R N A の発現レベル

s i R N A	未処置の対照動物と比較した平均 m R N A
2. 5 μ g の用量	
ETD01928	0.20
ETD01929	0.09
ETD01930	0.05
1 μ g の用量	
ETD01928	0.71
ETD01929	0.81
ETD01930	0.76

40

【 0 2 1 7 】

実施例 10 : 脳室内注射

マウスは、誘導チャンパ内で、酸素 1.0 L / 分で気化したイソフルラン 1.2 % を用いて麻酔状態に誘導し、その後、マスクを通してイソフルラン 0.8 % で麻酔にかけたまま、定位フレームに移して固定した。頭蓋骨を露出させ、針を配置後に、S t a n d a r d U - F r a m e S t e r e o t a x i c I n s t r u m e n t f o r M o u

50

se (Harvard Apparatus 75-1808) および Stereotaxic Anesthesia Adapters with Anesthesia Masks (Harvard Apparatus 75-1856) を使用して、ブレグマから前後 -0.2 mm 、内外側 0.8 mm 、および背腹 -2.5 mm の座標で単回脳室内注射 ($5\text{ }\mu\text{ l}$ 、ビヒクルとして人工脳脊髄液) を 500 nl 分^{-1} で行った。

【0218】

【表8】

表8：siRNA二重鎖

物質#	標的	配列番号	センス鎖	配列番号	アンチセンス鎖
ETD01917	MTRES1	22	[ETL3]cuAfcAfaAfgGfuGfaAfcucAfgAfsusu	45	usCfsugaGfuUfcaccuUfuGfuagsusu
ETD02209	MTRES1	23	[ELT20]cuAfcAfaAfgGfuGfaAfcucAfgAfsusu	46	usCfsugaGfuUfcaccuUfuGfuagsusu

ETL3が、ステアリルホスホラミダイトを使用してセンス鎖の5'に連結したステアリルである (Glen Research、10-1979-90)。

【0219】

注射後14日目にマウスを安楽死させた。各動物から脳を摘出して、右半球および左半球に解剖した。

【0220】

ホモジナイズされた組織から総RNAを抽出し、First-Strand IIICDNA Synthesisキットを使用してcDNAに逆転写した。選択された遺伝子 (MTRES1、MYOC、COL1A1、COL5A1、VCAN、FN1、およびPPIA) の蛍光標識されたTaqManプローブ／プライマーセットを使用して、リアルタイムTaqMan PCRによって正規化cDNA定量を行った。ABI Prism 7500 Fast Real-Time PCR System Sequence Detection System上でTaqMan Universal PCR Master Mix No AmpErase UNGを使用して、アリコート $20\text{ }\mu\text{ L}$ 中で反応を行い、7500 Systemソフトウェアによって分析した。処置した試料と処置しなかった試料との間の相対定量 (RQ) 値は、式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ で計算し、式中、CTは、閾値 (自動測定) のサイクルであり、 ΔCT は、アッセイされた遺伝子のCTから内在性コントロール (PPIA) のCTを引いたものであり、 $\Delta\Delta CT$ は、処置した試料中の正規化されたアッセイされた遺伝子の ΔCT から処置しなかった試料中の同じ遺伝子 (キャリブレーター) の ΔCT を引いたものであった。

【0221】

【表9】

表9：mRNAの発現レベル

siRNA	未処置の対照動物と比較した平均mRNA
2.5 $\mu\text{ g}$ の用量	
ETD01917	0.90
ETD02209	0.44
10 $\mu\text{ g}$ の用量	
ETD01917	0.45
ETD02209	0.22

【0222】

実施例11：ラットの髄腔内注射

siRNAsの髄腔内 (IT) 注射のために、雄のSprague Dawleyラット ($n=2$) を使用した。二重鎖ETD02273は、人工脳脊髄液 (aCSF) 中に3

0 mg mL⁻¹で配合し、ラットのL3-L5椎体間の脊椎の背側にある領域に腰椎穿刺して30-μL IT注射として投与した。二重鎖ETD02210は、人工脳脊髄液(aCSF)中に9 mg mL⁻¹で配合し、ラットのL3-L5椎体間の脊椎の背側にある領域に腰椎穿刺して100-μL IT注射として投与した。

【0223】

ラットにイソフルランを用いて麻酔をかけた後、ラットを暖かい加温パッド上に置いた。IT注射部位を剃毛し、消毒した。脊柱を露出させるために切開を行った。30ゲージのインスリン用シリンジを用いてsiRNAを投与した。針のハブにおけるCSFの逆流やテールフリックによって、針が適切に配置されているかを確認した。siRNA投与終了後、プランジャーへの穏やかな一定の圧力を30秒間保持した。切開部を縫合し、組織接着剤で固定した。ラットは、回復するまで加温パッド上に胸骨横臥位に置いた。

10

【0224】

注射後14日目にラットを安楽死させた。各ラットから肝臓、右／左(R／L)前頭皮質、R／L側頭皮質、海馬、小脳、および脊髄の試料を採取し、処理するまでRNA later (ThermoFisher カタログ番号AM7020)に入れた。

【0225】

5000 rpmに設定したPerceLys 24組織ホモジナイザー(Bertin Instruments)を用いて、10秒サイクルを2回、ホモジナイゼーションバッファー(Maxwell RSC simplyRNA Tissue Kit)中で肝臓組織をホモジナイズすることによって、総肝臓RNAを調製した。ライセートからの総RNAは、製造会社の推奨に従って、Maxwell RSC 48プラットフォーム(Promega Corporation)で精製した。製造業者の説明書に従ってQuanta qScript cDNA SuperMix (VWR、カタログ番号95048-500)を用いてcDNAの調製を行った。

20

【0226】

肝臓MTRES1 mRNAの相対レベルを、ラットMTRES1 (ThermoFisher、アッセイ番号Rn01441122_m1)およびラットハウスキーピング遺伝子PPIA (ThermoFisher、アッセイ番号Rn03302269_gH)、ならびにPerfeCTa (登録商標) qPCR FastMix (登録商標)、Low ROX (商標) (VWR、カタログ番号101419-222)用のTaqManアッセイを使用して、QuantStudio (商標) 6 Pro Real-Time PCR System上で3連でRT-qPCRによって評価した。

30

【0227】

データは、処置を施さなかった動物の平均MTRES1 mRNAレベルに正規化した。その結果を以下の表10および表11に示す。

【0228】

【表10】

表10：mRNAの発現レベル

処置／ 暴露場所	小脳	右前 頭皮質	左前 頭皮質	海馬	肝臓	脊髄	右側 頭皮質	左側 頭皮質
未処置	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ETD02210 9 mg/ml	0.64	0.92	0.67	0.73	0.21	0.5	0.91	1.06
ETD02273 30 mg/ml	0.36	0.85	0.95	0.96	0.2	0.35	1.08	1.3

40

【0229】

50

【表 1 1】

表 1 1：s i R N A二重鎖

物質 #	標的	配列 番号	センス鎖	配列 番号	アンチセンス鎖
ETD02210	MTRES1	47	[ETL20]ucuacAfAfAfGf Gfugaacucaasusu	49	5VPusUfsgAfgUfuCfaCfc UfuUfgUfaGfasusu
ETD02273	MTRES1	48	[ETL20]ucuacAfAfAfGf Gfugaacucaasusu	50	5VPusUfsgagUfuCfaCfc UfuUfgUfaGfasusu

10

【 0 2 3 0】

本発明の好ましい実施形態が本明細書に示され、説明されてきたが、そのような実施形態はほんの一例として提供されるに過ぎないことが当業者には明らかであろう。当業者であれば、多くの変形、変更、および置換が、本発明から逸脱することなく思い浮かぶであろう。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代替案が、本発明の実施に際して利用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本発明の範囲を定義し、この特許請求の範囲内の方法および組成物、ならびにその均等物がそれによって包含されることが意図されている。

【配列表】

2025512835000001.xml

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/65000

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. C12N 15/113; A61K 31/7068; A61K 31/7076; A61K 31/712; A61K 31/7125; A61K 31/713; C07D 239/28 (2023.01)

ADD.

CPC - INV. C12N 15/113; A61K 31/7068; A61K 31/7076; A61K 31/712; A61K 31/7125; A61K 31/713; C07D 239/28; C07H 19/067; C07H 19/073; C07H 19/10; C07H 19/167; C07H 19/173; C07H 19/20

ADD. C12N 2310/315; C12N 2310/321; C12N 2310/322; C12N 2310/3515; C12Q 2600/178

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

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y --- A	WO 2021/092371 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 14 May 2021; abstract; paragraphs [0005], [0009], [0012], [0015], [0040]-[0043], [0052]-[0053], [0059], [0066], [0069], [0088], [0090], [0096]-[0097], [0098], [0214], [0226], [0244], [0297], [0455], [0459], [0506], [0594]	1-4, 9-31, 36-58 --- 8, 35
Y --- A	WO 1993/02093 A (LA JOLLA PHARMACEUTICAL COMPANY) 4 February 1993; page 4, lines 10-35; page 5, lines 10-20; page 8, lines 15-25; page 9, lines 15-20; page 10, lines 5-10; page 24, lines 30-35	1-4, 9-22, 28-31, 36/1, 37/36/1, 38/36/1, 39/36/1, 40/39/36/1, 41/39/36/1, 42/39/36/1, 43/39/36/1, 44/43/39/36/1, 45/43/39/36/1, 46/43/39/36/1, 49/1, 50/49/1, 51/50/49/1, 52/50/49/1, 53/52/50/49/1, 54/49/1, 55/54/49/1, 56/55/54/49/1, 57/54/49/1, 58/54/49/1 --- 8, 35
Y	US 2016/0053269 A1 (SIRNA THERAPEUTICS, INC.) 25 February 2016; paragraphs [0015], [0014], [0102]	19-31, 36/23, 37/36/23, 38/36/23, 39/36/23, 40/39/36/23, 41/39/36/23

☒ 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

07 August 2023 (07.08.2023)

Date of mailing of the international search report

SEP 07 2023

Name and mailing address of the ISA/

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Shane Thomas

Telephone No.. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/65000

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
		44/43/39/36/23, 45/43/39/36/23, 46/43/39/36/23, 47-48, 49/23, 50/49/23, 51/50/49/23, 52/50/49/23, 53/52/50/49/23, 54/49/23, 55/54/49/23, 56/55/54/49/23, 57/54/49/23, 58/54/49/23
A	WO 2022/031433 A1 (DICERNA PHARMACEUTICALS, INC) 10 February 2022; paragraphs [0343]-[0345]	8, 35
A	WO 2019/161213 A1 (ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC) 22 August 2019; entire publication	1
A	US 2016/0264969 A1 (OPHTHOTECH CORPORATION) 16 September 2016; entire publication	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/65000

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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US23/65000

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.:
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:
-***-Please See Supplemental Page-***-

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.:
-***-Please See Supplemental Page-***-

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/US23/85000

---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 must be paid.

Group I+, claims 1-58 are directed toward a composition comprising: a small interfering RNA siRNA comprising a sense strand, an antisense strand, and a lipid moiety connected to an end of the sense or antisense strand; wherein the lipid moiety comprises a phenyl linker, wherein the linker is connected to a lipid and to the end of the sense or antisense strand, wherein the lipid moiety comprises para-phenyl-R, R is an alkyl group containing 4 carbons ETL7 in Table 1 (first exemplary lipid), and methods associated therewith.

The compounds and methods of Claims 1-4, 8-31, 35-58 are believed to encompass the first named invention of Groups I+ and are the claims that will be searched to the extent that they encompass a composition comprising: a small interfering RNA siRNA comprising a sense strand, an antisense strand, and a lipid moiety connected to an end of the sense or antisense strand; wherein the lipid moiety comprises a phenyl linker, wherein the linker is connected to a lipid and to the end of the sense or antisense strand, wherein the lipid moiety comprises para-phenyl-R, R is an alkyl group containing 4 carbons ETL7 in Table 1 (first exemplary lipid), and methods associated therewith. This first named invention of Group I+ has been selected to encompass the first species of the genus found in claims 1, 4 and 8 based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines.

Applicant is invited to elect additional compounds, with specified substituents for each Rx, and where available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional compound(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected compound(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass 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. An exemplary election would be a composition comprising: a small interfering RNA siRNA comprising a sense strand, an antisense strand, and a lipid moiety connected to an end of the sense or antisense strand; wherein the lipid moiety comprises a phenyl linker, wherein the linker is connected to a lipid and to the end of the sense or antisense strand, wherein the lipid moiety comprises para-phenyl (CH₂)_nNHC(O)R, R is an alkyl group containing 4 carbons (second exemplary lipid), and methods associated therewith.

Groups I+ share the technical features including a composition comprising: a small interfering RNA siRNA comprising a sense strand and an antisense strand; wherein the antisense strand comprises a 5' end comprising a vinyl phosphonate and 2 phosphorothioate linkages, and a 3' end comprising 2 phosphorothioate linkages; wherein the sense strand comprises a 5' end comprising a hydrophobic moiety, and a 3' end comprising 2 phosphorothioate linkages, wherein the lipid moiety comprises a linker, wherein the linker is connected to a lipid and to the end of the sense or antisense strand, a composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier, a method of treatment, comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of the composition, wherein the siRNA targets an mRNA encoding a protein that mediates a disease of the subject, a method of reducing an amount of a target RNA or protein encoded by the RNA in a cell, comprising administering the composition to the cell, wherein the antisense strand comprises a sequence that is complementary to and binds to the RNA.

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2021/092371 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) (hereinafter "ALNYLAM") in view of US 2016/0053269 A1 (SIRNA THERAPEUTICS, INC.) (hereinafter "SIRNA").

ALNYLAM discloses a composition comprising: a small interfering RNA siRNA (siRNA compositions contain covalently attached conjugates that increase cellular uptake of the siRNAs; paragraph [0459]) comprising a sense strand and an antisense strand (a double-stranded RNA comprising: an antisense strand and a sense strand; paragraph [0005]); wherein the antisense strand comprises a 5' end comprising a vinyl phosphonate (phosphate mimic vinyl phosphonate is at the 5'-end of the antisense strand; paragraph [0043]) and 2 phosphorothioate linkages (the compound has at least two phosphorothioate linkages at the first five nucleotides on the antisense strand from the 5' end; paragraph [0052]), and a 3' end comprising 2 phosphorothioate linkages (the antisense strand comprises at least two phosphorothioate linkages at the 3'-end; paragraph [0042]); wherein the sense strand comprises a 5' end comprising a hydrophobic moiety (the lipophilic monomers are located on the 5'-end of the sense strand; paragraph [0041]), and a 3' end comprising 2 phosphorothioate linkages (the sense strand comprises at least two phosphorothioate linkages at the 3'-end; paragraph [0040]); wherein the lipid moiety comprises a linker, wherein the linker is connected to a lipid and to the end of the sense or antisense strand (lipophilic moieties are conjugated to the oligonucleotide via a linker, lipophilic monomers are located on the 3'-end or 5' end of the sense strand or 3'-end of the antisense strand; paragraphs [0006], [0009], [0040]-[0042]); wherein any one of the following is true with regard to the sense strand, with the proviso that the sense strand may include a 2' deoxy nucleoside (the compound comprises sense and antisense strand and is modified with 2'-deoxy, 2'-O-methyl, or 2'-fluoro; abstract; paragraph [0059]), a composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier (compositions include iRNA and a pharmaceutically acceptable carrier; paragraph [0508]), a method of treatment, comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of the composition (method of treating a subject having a disorder, comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of a double-stranded RNA agent, compositions include iRNA and a pharmaceutically acceptable carrier; abstract; paragraphs [0098], [0508]), wherein the siRNA targets an mRNA encoding a protein that mediates a disease of the subject (siRNA modulates the expression of mRNA encoding a target protein of a cellular whose expression is associated with a particular disorder or disease; paragraph [0214]), a method of reducing an amount of a target RNA or protein encoded by the RNA in a cell, comprising administering the composition to the cell, wherein the antisense strand comprises a sequence that is complementary to and binds to the RNA (a method of gene silencing, comprising administering to a cell a compound comprising an antisense strand that has complementarity to a target sequence to mediate RNA interference in expression of mRNA encoding a target protein, compositions include iRNA and a pharmaceutically acceptable carrier; abstract; paragraphs [0069], [0214], [0506]); ALNYLAM does not disclose wherein the following is true with regard to the strand all purine nucleosides comprise 2'-fluoro, and all pyrimidine nucleosides comprise 2'-O-methyl. However, SIRNA discloses wherein the following is true with regard to the strand all purine nucleosides comprise 2'-fluoro, and all pyrimidine nucleosides comprise 2'-O-methyl (all pyrimidine nucleotides present in the siRNA including siRNA, are 2'-deoxy-2'-fluoro pyrimidine nucleotide, all purine nucleotides are 2'-O-methyl purine nucleotides; paragraphs [0014], [0102]). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the composition, as previously disclosed by ALNYLAM, in order to have provided for wherein the following is true with regard to

---Continued Within the Next Supplemental Box---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US23/65000

---Continued from previous Supplemental Box---

the strand all purine nucleosides comprise 2' fluoro, and all pyrimidine nucleosides comprise 2'-O-methyl, as previously disclosed by siRNA (siRNA; paragraphs [0014], [0102]), for providing siRNA in which all ribose moieties are modified to improve stability of the RNA in serum (siRNA; paragraphs [0015], [0014], [0102]). Further, provided that ALNYLAM and siRNA both disclose the compositions comprising siRNA, in which siRNA is modified with 2' fluoro and 2'-O-methyl moieties (ALNYLAM; abstract; paragraph [0059]) (siRNA; paragraphs [0015], [0014], [0102]), the modification to ALNYLAM's composition, of providing for wherein the following is true with regard to the strand all purine nucleosides comprise 2' fluoro, and all pyrimidine nucleosides comprise 2'-O-methyl, would provide the benefit of providing siRNA in which all ribose moieties are modified to improve stability of the RNA in serum (siRNA; paragraphs [0015], [0014], [0102]).

Since none of the special technical features of the Group I+ is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the ALNYLAM and siRNA references, unity of invention is lacking.

Claim 4 discloses a structure comprising R moiety, where the claim language discloses "the proviso that R is not an octane", and does not provide the actual definition of the variable R, which renders the claim indefinite. For the purposes of this LOU, an assumption was made that "R is an alkyl group containing 4-18 carbons", as disclosed in claim 5 of the instant application, with "the proviso that R is not an octane".

Claim 8 depends on claim 1 that discloses "wherein the lipid moiety comprises a phenyl or cyclohexanyl linker", where claim 8 discloses "wherein the lipid moiety comprises a lipid moiety depicted in Table 1", and where the first lipid moiety ETL3 shown in table 1 on page 20 in paragraph [0039] of the instant application does not comprise a phenyl or cyclohexanyl, which renders the claim indefinite. For the purposes of this LOU, the lipid moiety ETL3 will be ignored.

Claim 35 depends on claim 28 that discloses "wherein the hydrophobic moiety comprises ... a phenyl or cyclohexanyl linker", where claim 35 discloses "wherein the hydrophobic moiety comprises a lipid moiety depicted in Table 1", and where the first lipid moiety ETL3 shown in table 1 on page 20 in paragraph [0039] of the instant application does not comprise a phenyl or cyclohexanyl, which renders the claim indefinite. For the purposes of this LOU, the lipid moiety ETL3 will be ignored.

Claim 53 depends on claim 51 and discloses "wherein the mRNA is", where the preceding claim 51 does not disclose "the mRNA", which renders the claim indefinite. For the purposes of this LOU, an assumption was made that claim 53 depends on claim 52.

---Continued From Box III: Item IV---

Group I+, claims 1-58 are directed toward a composition comprising: a small interfering RNA siRNA comprising a sense strand, an antisense strand, and a lipid moiety connected to an end of the sense or antisense strand; wherein the lipid moiety comprises a phenyl linker, wherein the linker is connected to a lipid and to the end of the sense or antisense strand, wherein the lipid moiety comprises para-phenyl-R, R is an alkyl group containing 4 carbons ETL7 in Table 1 (first exemplary lipid), and methods associated therewith.

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 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	9/14	(2006.01)	A 6 1 P	9/14	
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00	
C 1 2 N	15/113	(2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z

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

ニア州 サンディエゴ ラ・ホーヤ・ビレッジ・ドライブ 4 6 6 0 スイート 1 0 0

(72)発明者

ロゼマ, デイヴィッド

アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州 サンディエゴ ラ・ホーヤ・ビレッジ・ドライブ
4 6 6 0 スイート 1 0 0

(72)発明者

ゴッテスマン, オムリ

アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州 サンディエゴ ラ・ホーヤ・ビレッジ・ドライブ
4 6 6 0 スイート 1 0 0

(72)発明者

ルイス, デイヴィッド

アメリカ合衆国 9 2 1 2 2 カリフォルニア州 サンディエゴ ラ・ホーヤ・ビレッジ・ドライブ
4 6 6 0 スイート 1 0 0

F ターム (参考)

4C084 AA13 MA55 MA56 MA58 NA05 ZA02 ZA44 ZA59 ZA81 ZA94
ZB21

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA55 MA56 MA58 MA66 NA05
ZA02 ZA44 ZA59 ZA81 ZA94 ZB21