(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-518522
(P2025-518522A)
(43)公表日　令和7年6月17日(2025.6.17)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/113 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	ＺＺＮＡ　４Ｃ０７６
Ａ６１Ｐ	*25/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*21/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00	４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*25/28 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28	
Ａ６１Ｐ	*25/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/16	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全79頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-568256(P2024-568256)
(86)(22)出願日　令和5年5月18日(2023.5.18)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月9日(2025.1.9)
(86)国際出願番号　PCT/EP2023/063442
(87)国際公開番号　WO2023/222858
(87)国際公開日　令和5年11月23日(2023.11.23)
(31)優先権主張番号　22174186.1
(32)優先日　令和4年5月18日(2022.5.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

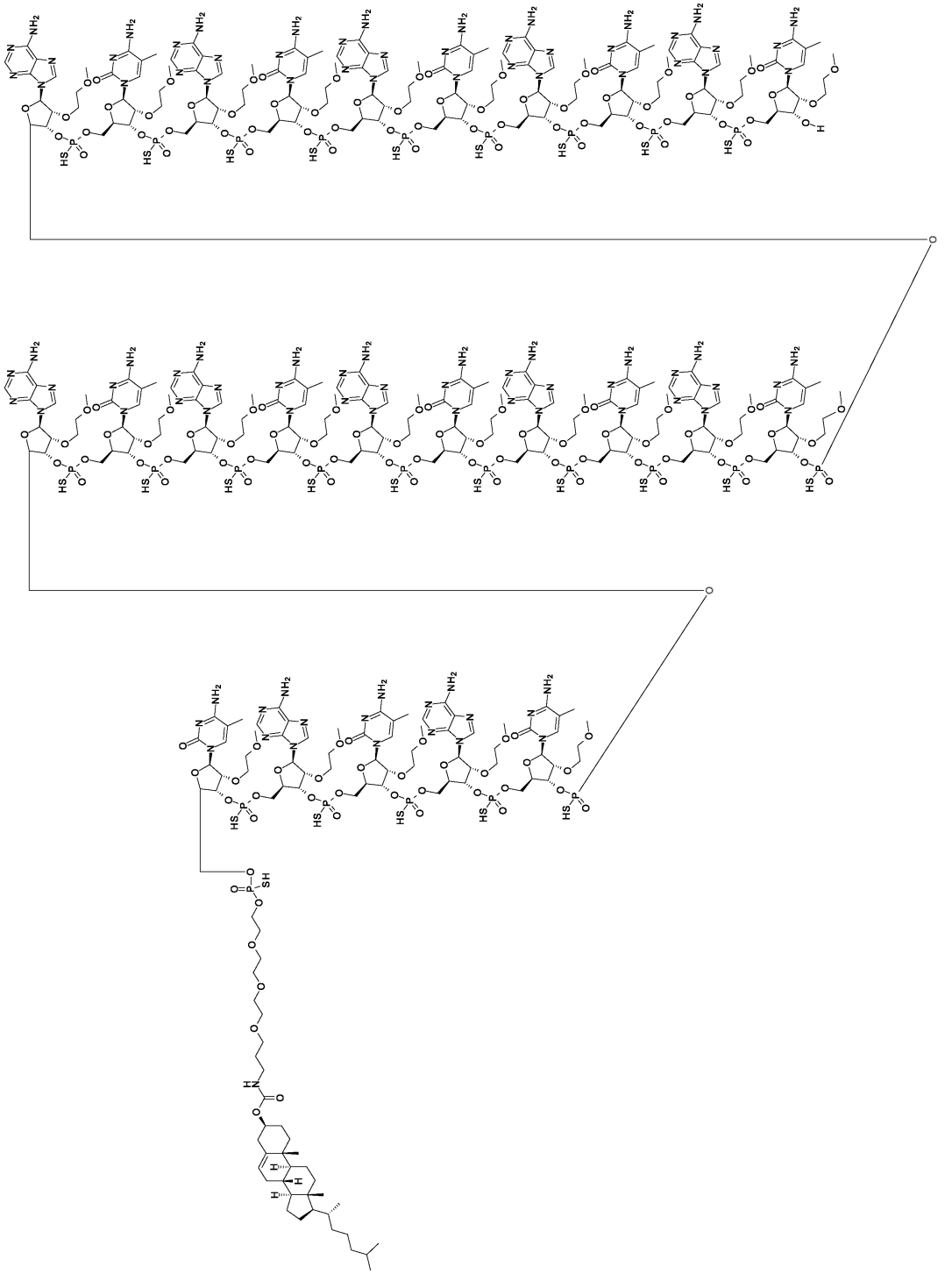
(71)出願人　591003013
エフ．ホフマン－ラ ロシュ アーゲー
Ｆ．ＨＯＦＦＭＡＮＮ－ＬＡ ＲＯＣＨＥ ＡＫＴＩＥＮＧＥＳＥＬＬＳＣＨＡＦＴ
スイス・シーエイチ－４０７０バーゼル・グレンツアーヘルストラツセ１２４
(74)代理人　110001508
弁理士法人 津国
(72)発明者　バスチェン，イェシカ・マリン・オーロール
スイス国、４０７０ バーゼル、グレンツァッハーシュトラーセ １２４、ツェー／オー・エフ．ホフマン－ラ・ロシュ・アーゲー
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＲＮＡ結合タンパク質部位を標的とする改善されたオリゴヌクレオチド

(57)【要約】
本発明は、ＴＤＰ－４３枯渇細胞における複数の独立したｍＲＮＡのプロセシングにおいてＲＮＡ結合タンパク質機能を回復することができるプレｍＲＮＡ転写物上の保存されたＴＤＰ－４３結合部位に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドに関する。アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列は、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、コレステロール部分に結合している。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
８～４０ヌクレオチド長のアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、（５’－３’）（ＵＧ）ｎ、（ＧＵ）ｎ［式中ｎは４～２０である］、ＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８４）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８６）、ＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８７）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８８）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８９）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９０）、及びＧＵＧＡＡＵＧＡからなる群から選択される配列に相補的な少なくとも８ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含み、前記連続ヌクレオチド配列が１つ以上の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが少なくとも１つのコレステロール部分に結合している、アンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２】
前記連続ヌクレオチド配列が、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１又は３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９又は４０個の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含む、請求項１に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３】
前記連続ヌクレオチド配列が、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％又は１００％の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含む、請求項１に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４】
前記連続ヌクレオチド配列の前記ヌクレオシドのすべてが２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドである、請求項１～３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項５】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、２つ以上又は３つ以上のコレステロール部分に結合している、請求項１～４のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項６】
前記コレステロール部分が、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドに共有結合している、請求項１～５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項７】
前記コレステロール部分が、５’－コレステロール－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイト、５’－コレステロール－ＣＥホスホラミダイト又はコレステリル－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイトを含む群から選択される、請求項１～６のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項８】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドと前記コレステロール部分との間にリンカーが位置する、請求項１～７のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項９】
前記リンカーが、Ｃ３アルキル基、Ｃ６アルキル基、Ｃ１２アルキル基、ＴＥＧ基又はＨＥＧ基である、請求項１～８のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項１０】
前記リンカーが、生理学的に不安定なリンカーである、請求項８又は９に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

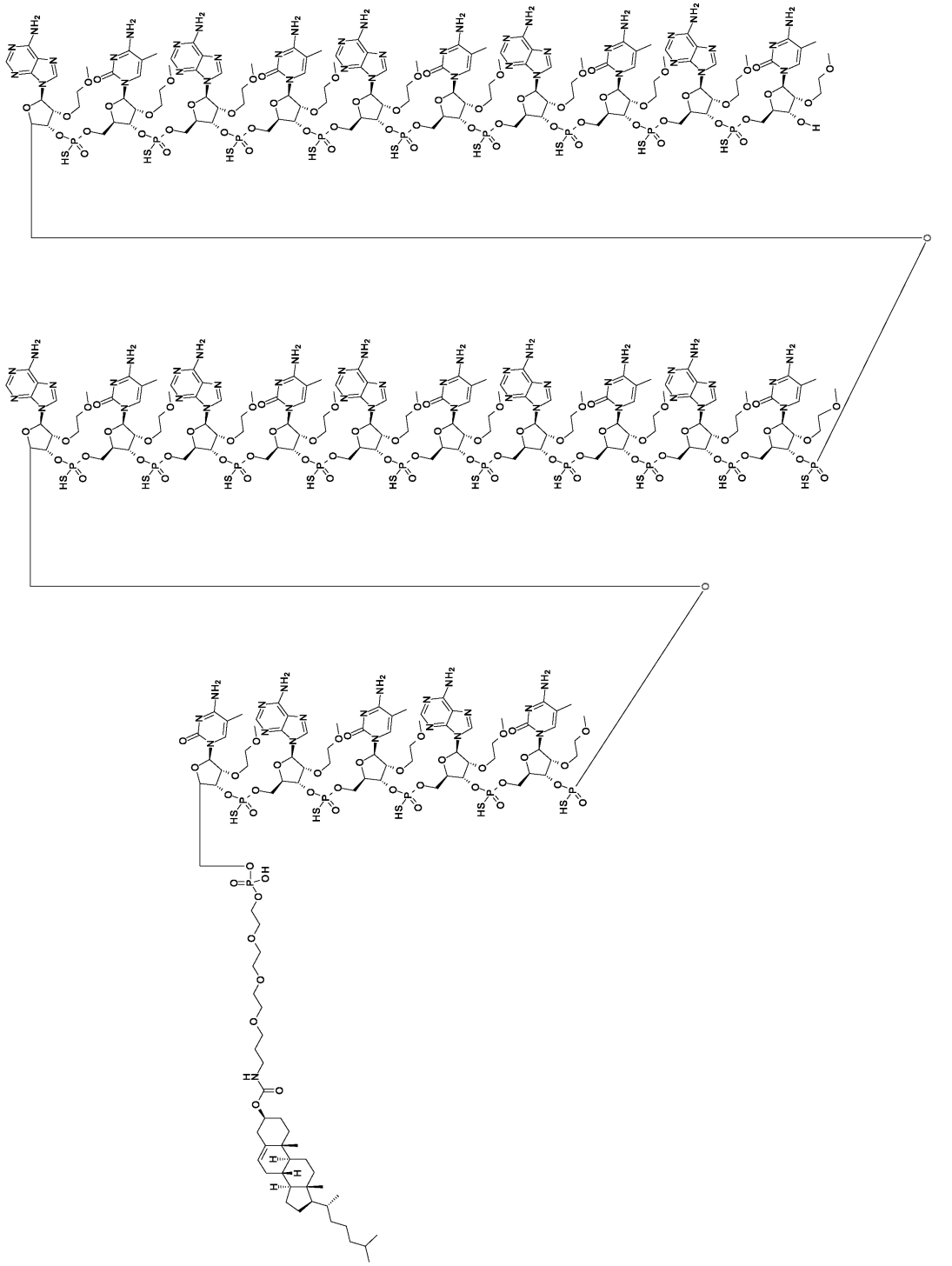
【請求項１１】
前記生理学的に不安定なリンカーが、Ｓ１ヌクレアーゼ感受性リンカーである、請求項１０に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項１２】
請求項１～１１のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、以下のように示される構造：
【化９】
（ｉ）



又は

【化１０】

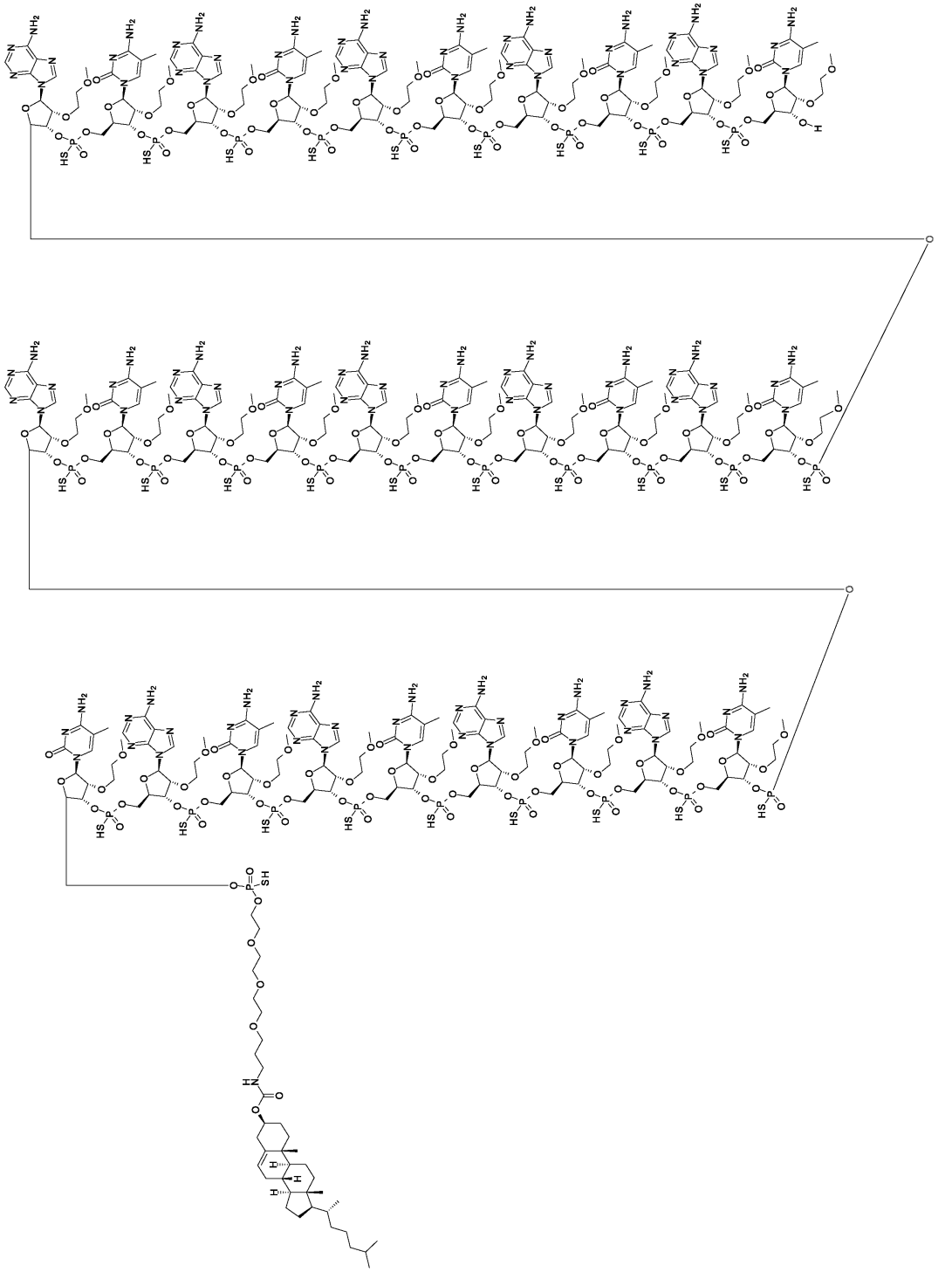
（ｉｉ）



又は

【化１１】

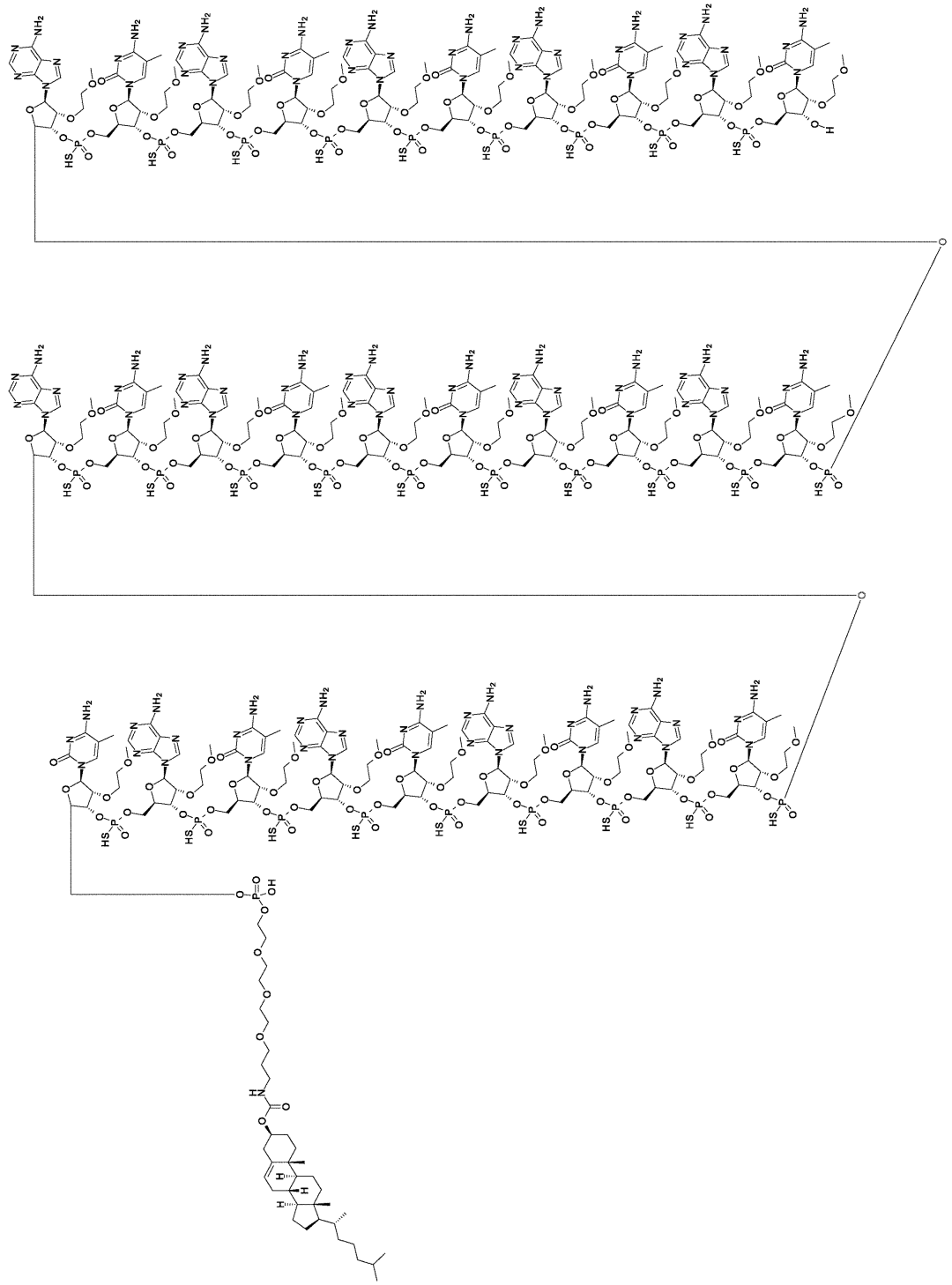
（ｉｉｉ）



又は

【化１２】

（ｉｖ）



を有する、アンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項１３】

前記連続ヌクレオチド配列が、ＣＡＣＡＣＡＣ、ＣＡＣＡＣＡＣＡ、ＣＡＣＡＣＡＣＡＣ、ＡＣＡＣＡＣＡＣ、若しくはＡＣＡＣＡＣＡＣＡから選択される配列；又は配列番号１～８３からなる群から選択される配列、又はその８つ以上の連続ヌクレオチドの断片を含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項１４】

前記連続ヌクレオチド配列が、少なくとも８ヌクレオチド長である、請求項１～１３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項１５】
前記連続ヌクレオチド配列が、少なくとも８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９又は４０ヌクレオチド長である、請求項１～１４のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項１６】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、前記連続ヌクレオチド配列からなる、請求項１～１５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項１７】
前記連続ヌクレオチド配列が、標的配列に対して少なくとも７５％相補的である、請求項１～１６に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項１８】
前記連続ヌクレオチド配列が、標的配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％又は少なくとも９５％相補的である、請求項１～１７のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項１９】
前記連続ヌクレオチド配列が、標的配列に対して１、２、３、４、５、６、７、８つ又はそれよりも多くのミスマッチを含む、請求項１～１８のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２０】
相補的標的ＲＮＡに対する前記アンチセンスオリゴヌクレオチドのギブス自由エネルギーが、約－１０ΔＧ未満、例えば約－１５ΔＧ未満、例えば約－１７ΔＧ未満である、請求項１～１９のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２１】
ＴＤＰ－４３が枯渇しているか、又は異常なＴＤＰ－４３タンパク質を発現している細胞において、１つ以上のＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの機能的表現型を回復させることができる、請求項１～２０のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２２】
２つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡのスプライシングを調節することができる、請求項１～２１のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２３】
前記２つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡが、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２Ｂプレｍ ＲＮＡ、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６Ｂプレｍ ＲＮＡ　ＵＮＣ１３Ａプレｍ ＲＮＡからなる群から独立して選択される、請求項２２に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２４】
ＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＳＴＭＮ２　ｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２Ｂ　ｍＲＮＡ、ＫＡＬＲＮ　ｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６Ｂ　ｍＲＮＡ及びＵＮＣ１３Ａ　ｍＲＮＡからなる群から選択される２つ以上のｍＲＮＡのプレｍＲＮＡスプライシングの忠実度を高めることができる、請求項１～２３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２５】
ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、連続エクソン１／エクソン２接合部を有する野生型ＳＴＭＮ２成熟ｍＲＮＡと比較して、エクソン１とエクソン２との間に潜在性エクソン（ｃｅ１）を含むＳＴＭＮ２成熟ｍＲＮＡの割合を減少させることができる、請求項１～２４のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２６】
ＣＡＭＫ２ＢプレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、Ｃ

ＡＭＫ２Ｂ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる、請求項１～２５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２７】
ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＫＡＬＲＮ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる、請求項１～２６のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２８】
ＵＮＣ１３Ａプレｍ ＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＵＮＣ１３Ａ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる、請求項１～２７のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項２９】
ＡＣＴＬ６Ｂプレｍ ＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＡＣＴＬ６Ｂ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる、請求項１～２８のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３０】
ＴＤＰ－４３枯渇細胞におけるＳＴＭＮ２、ＣＡＭＫ２Ｂ、ＫＡＬＲＮ、ＡＣＴＬ６Ｂ及びＵＮＣ１３Ａプレｍ ＲＮＡのうちの２つ以上の異常なスプライシングを修正することができる、請求項１～２３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３１】
３つを超えるか、又は４つを超える連続ＤＮＡヌクレオシドの領域を含まない、請求項１～３０のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３２】
ＲＮＡｓｅＨ切断を媒介することができない、請求項１～３１のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３３】
モルホリノアンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項１～３２のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３４】
１つ以上の修飾ヌクレオシド、例えば、２’－Ｏ－アルキル－ＲＮＡ；２’－Ｏ－メチルＲＮＡ（２’－ＯＭｅ）；２’－アルコキシ－ＲＮＡ；２’－アミノ－ＤＮＡ；２’－フルオロ－ＲＮＡ；２’－フルオロ－ＤＮＡ；アラビノ核酸（ＡＮＡ）；２’－フルオロ－ＡＮＡ；ロックド核酸（ＬＮＡ）、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から独立して選択される２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含む、請求項１～３３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３５】
前記２’糖修飾ヌクレオシドが、親和性増強２’糖修飾ヌクレオシドである、請求項３４に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３６】
前記修飾ヌクレオシドの１つ以上が、ロックド核酸ヌクレオシド（ＬＮＡ）、例えば、拘束型エチルヌクレオシド（ｃＥｔ）及びβ－Ｄ－オキシ－ＬＮＡからなる群から選択されるＬＮＡヌクレオシドである、請求項３４又は３５に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３７】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの前記連続ヌクレオチド配列が、ＬＮＡヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドを含む、請求項３６に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項３８】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列が、ミックスマー又はトータルマーである、請求項３２～３７のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項３９】
前記連続ヌクレオチド配列上のヌクレオシド間に位置するヌクレオシド間結合の１つ以上が修飾されている、請求項１～３８のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４０】
前記連続ヌクレオチド配列上のヌクレオシド間に位置するヌクレオシド間結合の少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、又は約１００％が修飾されている、請求項１～３９のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４１】
修飾されたヌクレオシド間結合の１つ以上又は全てが、ホスホロチオエート結合を含む、請求項３９又は４０のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４２】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチド中に存在する全てのヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項１～４１のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４３】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、少なくとも１つのコンジュゲート部分に共有結合している、請求項１～４２のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４４】
薬学的に許容され得る塩の形態である、請求項１～４３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４５】
前記塩がナトリウム塩又はカリウム塩である、請求項４４に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
【請求項４６】
請求項１～４５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドと、薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩及び／又はアジュバントとを含む、薬学的組成物。
【請求項４７】
異常なレベル又は枯渇したレベルのＴＤＰ－４３を発現している細胞においてＴＤＰ－４３の機能性を増強するための方法であって、請求項１～４５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は請求項４６に記載の薬学的組成物を有効量で前記細胞に投与することを含む、方法。
【請求項４８】
対象におけるＴＤＰ－４３病態を処置又は予防するための方法であって、治療有効量又は予防有効量の請求項１～４５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は請求項４６に記載の薬学的組成物を、前記ＴＤＰ－４３病態に罹患しているか、又は罹患しやすい対象に投与することを含む方法。
【請求項４９】
医薬として使用するための、請求項１～４５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は請求項４６に記載の薬学的組成物。
【請求項５０】
ＴＤＰ－４３病態の処置に使用するための、請求項１～４５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は請求項４６に記載の薬学的組成物。
【請求項５１】
ＴＤＰ－４３病態の処置又は予防のための医薬を調製するための、請求項１～４５に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は請求項４６に記載の薬学的組成物の使用。
【請求項５２】
前記ＴＤＰ－４３病態が、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬ

Ｄ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症３、ミオパシー及び慢性外傷性脳症からなる群から選択される神経障害である、請求項４８に記載の方法、請求項５０に記載の使用のためのアンチセンスオリゴヌクレオチド若しくは薬学的組成物、又は請求項５１に記載の使用。

【請求項５３】

前記ＴＤＰ－４３病態が、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）及び前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）からなる群から選択される神経障害である、請求項５２に記載の方法、使用のためのアンチセンスオリゴヌクレオチド若しくは薬学的組成物、又は使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、複数のＲＮＡ転写物上のＴＤＰ－４３結合部位などの複数のＲＮＡ上のＲＮＡ結合タンパク質標的部位に相補的、例えば完全に相補的であり、ＲＮＡ結合タンパク質が機能的に枯渇している症状及び医学的適応症での使用などのために、複数のＲＮＡ転写物に対してＲＮＡ結合タンパク質機能を回復することができるアンチセンスオリゴヌクレオチドに関する。アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列は、１つ以上の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つのコレステロール部分に結合している。

【背景技術】

【０００２】

ＴＡＲ　ＤＮＡ結合タンパク質４３（ＴＤＰ－４３）は、ＲＮＡ関連代謝に関与する汎用性のあるＲＮＡ／ＤＮＡ結合タンパク質である。ＴＤＰ－４３沈着物の調節不全は、運動ニューロン疾患：筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）及び前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）を有する患者の脳及び脊髄における封入体として作用する（Ｐｒａｓａｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ．Ｍｏｌ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，２０１９）。

【０００３】

ＴＤＰ－４３は主に核に局在するが、その機能の一部のために細胞質にもシャトルする（Ａｙａｌａ　ｅｔ　ａｌ．，２００８）。ＡＬＳ及びＦＴＬＤなどの疾患では、細胞質封入体形成をもたらす細胞質ＴＤＰ－４３濃度の増加がある（Ｎｅｕｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００６；Ｗｉｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００８ａ）。細胞質の誤局在化は、核枯渇に関連し得、ＴＤＰ－４３機能の低減又は喪失をもたらし得る。ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの異常なスプライシングをもたらし、広範なスプライシング異常をもたらすＴＤＰ－４３突然変異が存在する（例えば、Ａｒｎｏｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　２０１３　１１０　Ｅ７３６－７４５及びＹａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ．Ｕ．Ｓ．Ａ．１１１，Ｅ１１２１－Ｅ１１２９を参照のこと）。

【０００４】

Ｋｌｉｍ　ｅｔ　ａｌは、ＴＤＰ－４３機能低減時のＳＴＭＮ２喪失がＳＴＭＮ２スプライシングの変化に起因することを報告しており、ＡＬＳのための治療戦略としてＳＴＭＮ２を回復させることを示唆している。

【０００５】

ＴＤＰ－４３枯渇は、ＴＤＰ－４３病態と呼ばれる様々な疾患で示され、例えば、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症３、ミオパシー及び慢性外傷性脳症などの疾患を含む。

【０００６】

Ｔｏｌｌｅｒｖｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ　２０１０，４５２－４５８は、健康な脳組織及びＦＴＬＤ患者由来の脳組織におけるＲＮＡ標

的の特徴付け及びＴＤＰ－４３の位置依存的スプライシング調節について報告している。ほとんどのＴＤＰ－４３結合部位は、イントロン、長い非コードＲＮＡ（ｌｎｃＲＮＡ）及び遺伝子間転写物にマッピングされ、ＵＧリッチモチーフが濃縮されていた。ＴＤＰ－４３中の保存されたＲＮＰセグメントは、ＴＡＲ　ＤＮＡ配列及びＵＧリピートを有するＲＮＡ配列への結合に関与する（Ａｙａｌａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２００５；３４８：５７５－５８８）。ＴＤＰ病態などの細胞におけるＴＤＰ－４３枯渇は、ＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的へのＴＤＰ－４３のＲＮＡ結合の喪失と相関している。

【０００７】

ヒトＲＮＡ中のＴＤＰ－４３結合部位は、ＲＮＡ結合タンパク質及び関連するモチーフのデータベースからオンラインで入手可能である（ｈｔｔｐｓ：／／ａｔｔｒａｃｔ．ｃｎｉｃ．ｅｓ／ｒｅｓｕｌｔｓ／ｅ９ｆ２９３８０－８９２１－４０６ｅ－８４ａ８－２７ｃｅ９ｂ９３９８ｂ４＃を参照）。開示される特定の特徴付けられたヒトＲＮＡ　ＴＤＰ－４３結合部位には、以下のＲＮＡ配列が含まれる：ＧＵＧＡＡＵＧＡ、ＧＵＵＧＵＧＣ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＧＡＡＵＧＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＧＡＡＵＧＡ、ＵＧＵＧＵＧ、ＧＵＵＧＵＵＣ、及びＧＵＵＵＵＧＣ。

【０００８】

Ｍｅｌａｍｅｄ　ｅｔ　ａｌ．は、ＴＤＰ－４３神経変性の特徴としてＳＴＭＮ２の早期ポリアデニル化媒介性喪失について報告している。国際公開第２０１９／２４１６４８号は、ＳＴＭＮ２発現を増加させるための２’Ｏ－メトキシエチルＡＳＯを開示している。

【０００９】

本発明者らは、ＴＤＰ－４３核酸結合部位に相補的、例えば完全に相補的であり、ＴＤＰ－４３　ＲＮＡ転写物標的のプロセシング又は調節、例えば、ＴＤＰ－４３機能喪失を示す細胞において調節不全であるＲＮＡ転写物の発現及びスプライシングを回復させることができるアンチセンスオリゴヌクレオチドを同定し、それにより、ＴＤＰ－４３枯渇細胞（すなわち、ＴＤＰ－４３機能が喪失した細胞）におけるＴＤＰ－４３機能性を回復させるための新規なアプローチ、並びにＴＤＰ－４３病態を処置するための新規な治療アプローチを提供する。

【００１０】

本発明者らは、修飾によって、効力を維持又は改善しながら、アンチセンスオリゴヌクレオチドの毒性を低減することが可能であることを決定した。

発明の目的

【００１１】

本発明は、ＴＤＰ－４３枯渇細胞における複数の独立したｍＲＮＡのプロセシングにおいてＲＮＡ結合タンパク質機能を回復することができるプレｍＲＮＡ転写物上の保存されたＴＤＰ－４３結合部位に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドに関する。アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列は、１つ以上の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つのコレステロール部分に結合している。

【００１２】

本発明は、低減したレベルの機能性ＴＤＰ－４３を有する細胞において、ＲＮＡ結合タンパク質の機能性、例えばＴＤＰ－４３機能性又はＴＤＰ－４３様機能性を回復させるためのアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。

【００１３】

本発明は、ＲＮＡプロセシング又は１つ以上のＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの発現においてＴＤＰ－４３の核機能を回復させ、それによってＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの機能的表現型を少なくとも部分的に回復させるか又は増強することができるオリゴヌクレオチドを提供する。そのようなオリゴヌクレオチド化合物は、本明細書では、ＲＮＡ結合タンパク質模倣物、例えばＴＤＰ－４３模倣物と呼ばれる。

【００１４】

本発明は、ＴＤＰ－４３結合部位に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド、及びＴ

ＤＰ－４３病態の処置などの治療におけるそれらの使用を提供する。
【００１５】
本発明はさらに、複数のＲＮＡ転写物、すなわち異なる遺伝子座から転写されるＲＮＡ転写物上のＴＤＰ－４３結合部位に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。複数のＲＮＡ転写物は、例えば、プレｍＲＮＡ、ｍＲＮＡ及びｌｎｃＲＮＡからなる群から独立して選択され得る。
【発明の概要】
【００１６】
本発明は、８～４０ヌクレオチド長のアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、（５’－３’）（ＵＧ）ｎ、（ＧＵ）ｎ［式中ｎは４～２０である］、ＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８４）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８６）、ＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８７）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８８）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８９）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９０）、及びＧＵＧＡＡＵＧＡからなる群より選択される配列に相補的な少なくとも８ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含み、連続ヌクレオチド配列が１つ以上の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドが少なくとも１つのコレステロール部分に結合している、アンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。
【００１７】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１又は３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９又は４０個の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み得る。
【００１８】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％又は１００％の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含み得る。
【００１９】
いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列又はその連続配列のヌクレオシドのすべてが、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドであり得る。
【００２０】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、２つ以上又は３つ以上のコレステロール部分に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つのコレステロール部分に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、２つのコレステロール部分に結合していてもよい。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、３つのコレステロール部分に結合していてもよい。
【００２１】
いくつかの実施形態では、コレステロール部分（単数又は複数）は、アンチセンスオリゴヌクレオチドに共有結合していてもよい。
【００２２】
いくつかの実施形態では、コレステロール部分は、５’－コレステロール－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイト、５’－コレステロール－ＣＥホスホラミダイト又はコレステリル－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイトを含む群から選択され得る。いくつかの実施形態では、コレステロール部分は、５’－コレステロール－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイト、５’－コレステロール－ＣＥホスホラミダイト又はコレステリル－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイトを

含む群から選択される組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、コレステロール部分は、５’－コレステロール－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイトである。いくつかの実施形態では、コレステロール部分の全てが５’－コレステロール－ＴＥＧ－ＣＥホスホラミダイトである。

【００２３】

１つよりも多くのコレステロール部分が存在する実施形態では、各コレステロール部分は、アンチセンスオリゴヌクレオチド内のコレステロール部分が同じであるように、又は同じでなくてもいいように、独立して選択される。

【００２４】

いくつかの実施形態では、リンカーは、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分との間に位置し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分の各々との間に位置し得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、コレステロール部分の各々の間に位置し得る。

【００２５】

いくつかの実施形態では、リンカーは切断可能なリンカーであり得る。

【００２６】

いくつかの実施形態では、リンカーは、Ｓ１ヌクレアーゼ感受性リンカーなどの生理学的に不安定なリンカーであり得る。

【００２７】

いくつかの実施形態では、アルキル基リンカーは、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分（単数又は複数）との間に位置する。

【００２８】

いくつかの実施形態では、生理学的に不安定なリンカーは、３つの連続ホスホジエステル結合を有するホスホジエステル結合シチジン－アデノシンジヌクレオチドである。

【００２９】

いくつかの実施形態では、Ｃ３アルキル基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分（単数又は複数）との間に位置するリンカーである。いくつかの実施形態では、Ｃ３アルキル基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドと別のリンカーとの間に位置する。

【００３０】

いくつかの実施形態では、Ｃ６アルキル基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分（単数又は複数）との間に位置するリンカーである。いくつかの実施形態では、Ｃ６アルキル基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドと別のリンカーとの間に位置する。

【００３１】

いくつかの実施形態では、Ｃ１２アルキル基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分（単数又は複数）との間に位置するリンカーである。いくつかの実施形態では、Ｃ１２アルキル基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドと別のリンカーとの間に位置する。

【００３２】

いくつかの実施形態では、ＴＥＧ基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分（単数又は複数）との間に位置するリンカーである。いくつかの実施形態では、別のＴＥＧ基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドと別のリンカーとの間に位置する。

【００３３】

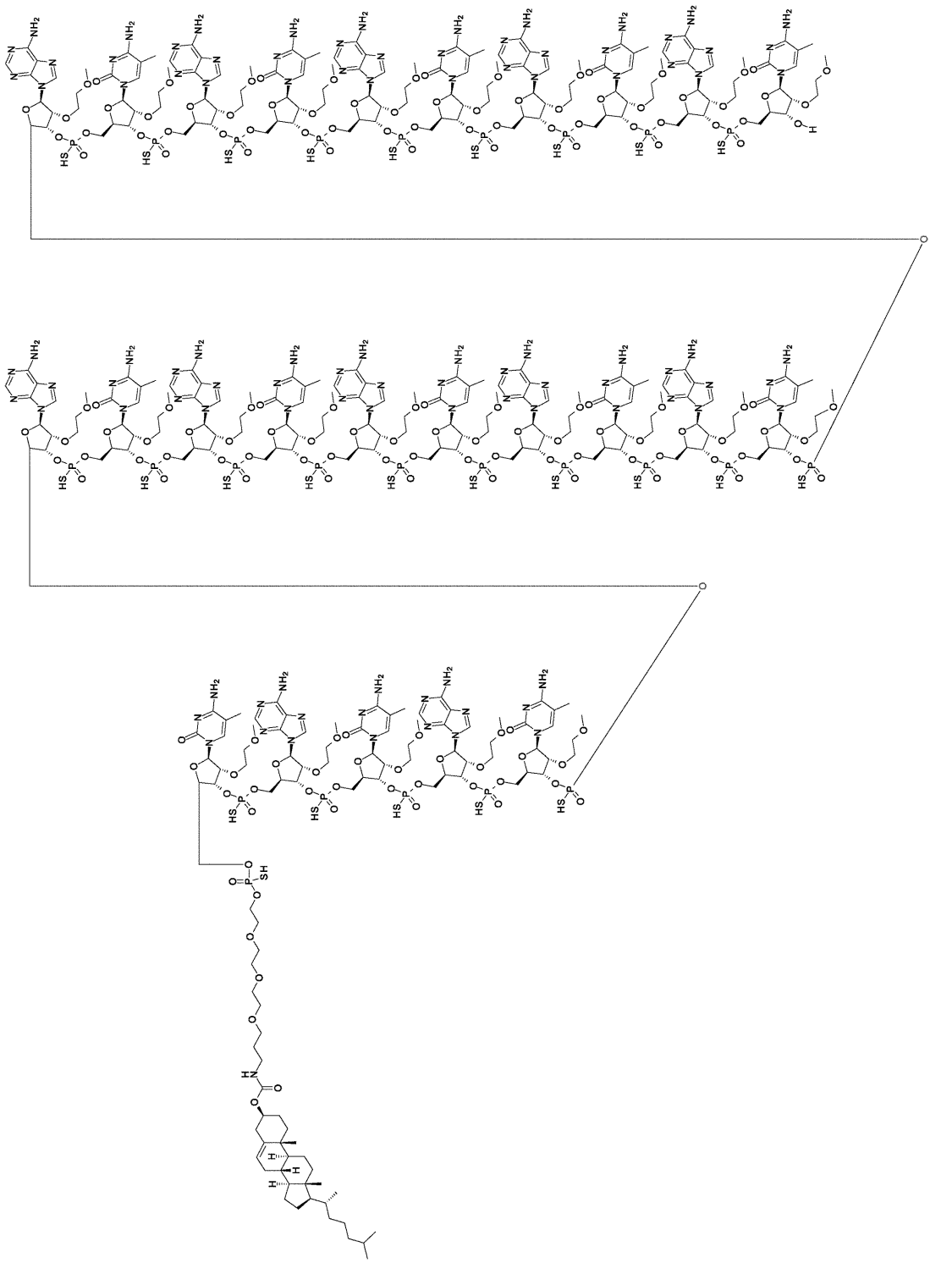
いくつかの実施形態では、ＨＥＧ基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドとコレステロール部分（単数又は複数）との間に位置するリンカーである。いくつかの実施形態では、ＨＥＧ基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドと別のリンカーとの間に位置する。

【００３４】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、コレステロール部分とリンカーとの間にホスホロチオエート（ＰＳ）又はホスホジエステル（ＰＯ）結合を含有

得る。
【００３５】
別の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、リンカーとアンチセンスオリゴヌクレオチドとの間にホスホロチオエート（ＰＳ）又はホスホジエステル（ＰＯ）結合を含有し得る。
【００３６】
別の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、コレステロール部分とリンカーとの間にホスホロチオエート（ＰＳ）又はホスホジエステル（ＰＯ）結合、及びリンカーとアンチセンスオリゴヌクレオチドとの間にホスホロチオエート（ＰＳ）又はホスホジエステル（ＰＯ）結合を含有し得る。例えば、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、構造：「コレステロール－ＰＯ／ＰＳ－リンカー－ＰＯ／ＰＳ－オリゴヌクレオチド」を有し得、ＰＯ／ＰＳ基は、リンカーとコレステロール部分との間に位置し、別のＰＯ／ＰＳ基は、リンカーとアンチセンスオリゴヌクレオチドとの間に位置する。ここで、ホスホロチオエート（ＰＳ）結合又はホスホジエステル（ＰＯ）結合は、両方がホスホロチオエート（ＰＳ）結合であるように、両方がホスホジエステル（ＰＯ）結合であるように、又は、一方がホスホロチオエート（ＰＳ）結合であり他方がホスホジエステル（ＰＯ）結合であるように、独立して選択されてもよい。
【００３７】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下のように示される構造を有し得る。

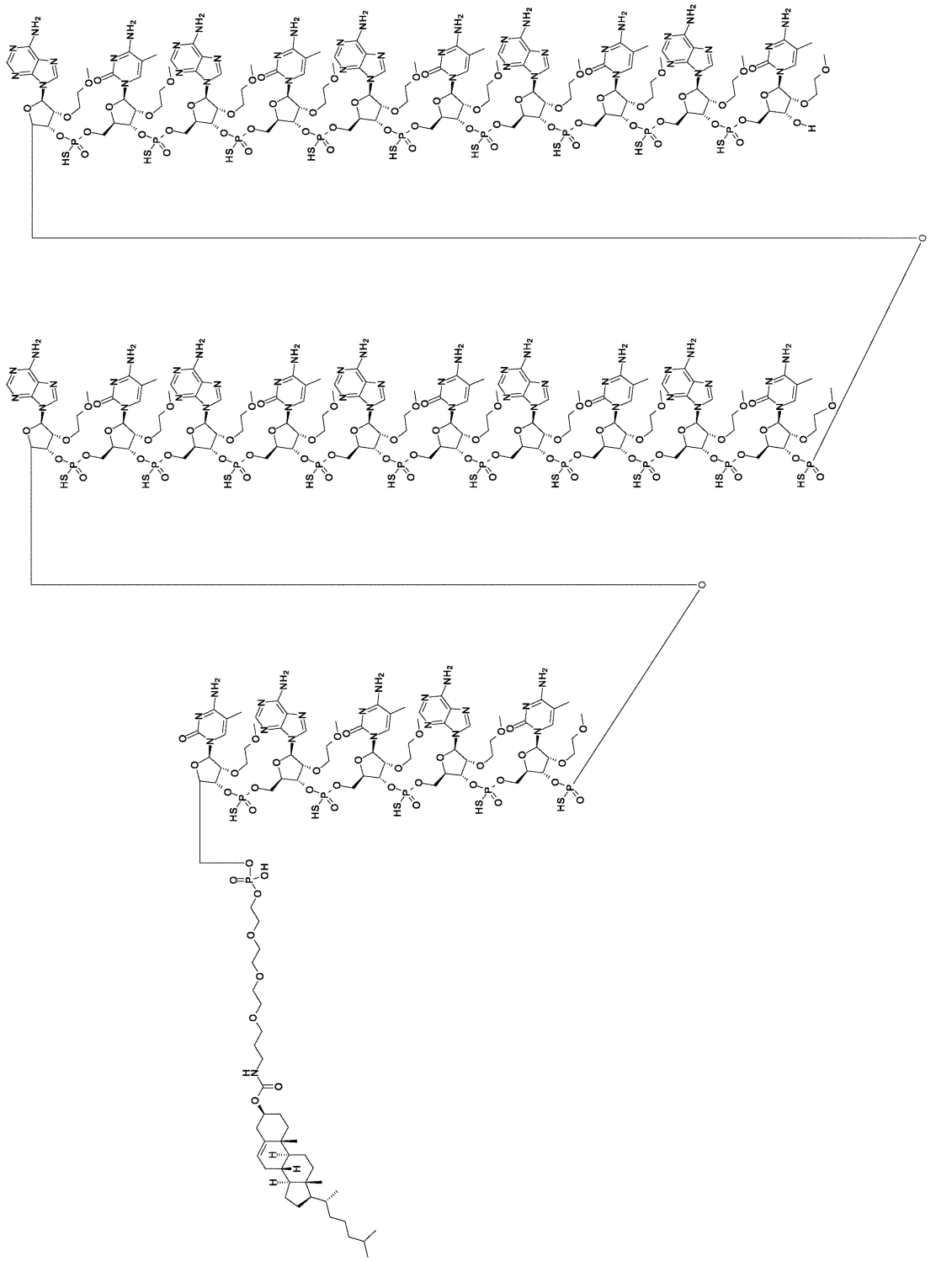
【化１】



【００３８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下のように示される構造を有し得る。

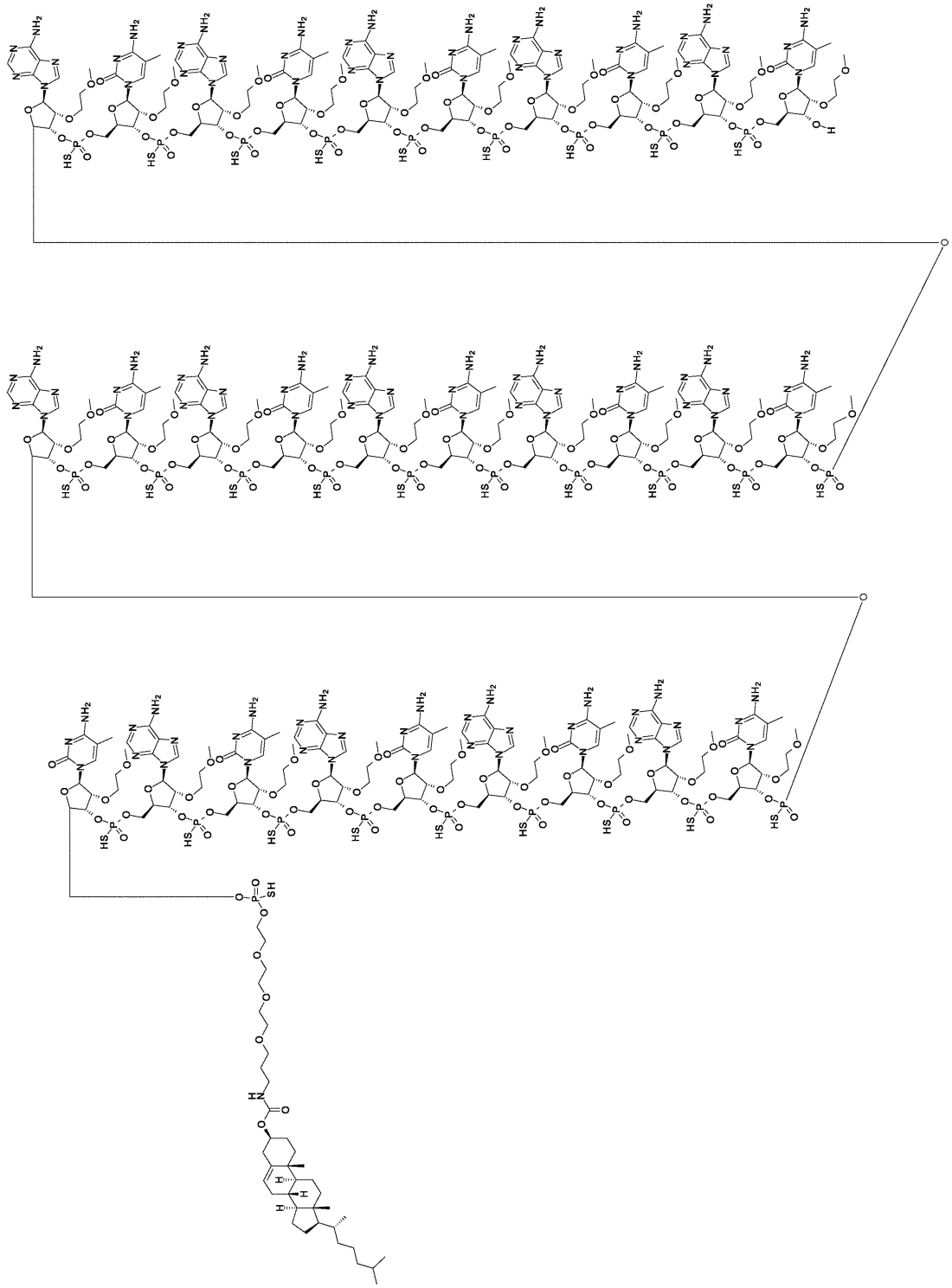
【化２】



【００３９】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下のように示される構造を有し得る。

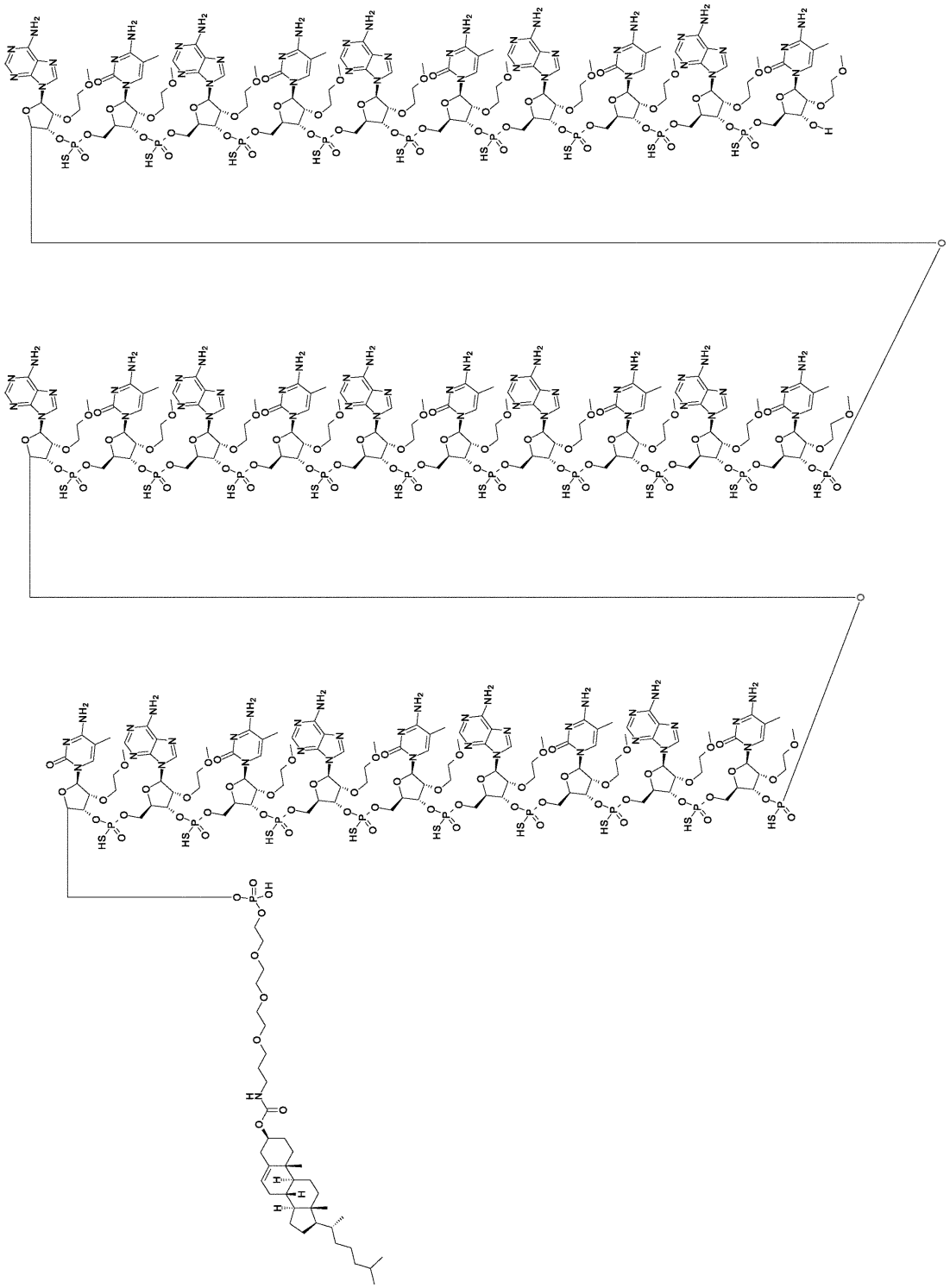
【化３】



【００４０】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下のように示される構造を有し得る。

【化４】



【００４１】
背景技術のセクションで説明したように、機能性ＴＤＰ－４３は、主に核局在化タンパク質であり、細胞質に存在し得る。しかしながら、細胞質封入体と呼ばれる細胞質におけるＴＤＰ－４３の凝集（異常なＴＤＰ－４３とも呼ばれる）は、非機能的なＴＤＰ－４３と関連しており、これは、例えば多数のプレｍＲＮＡのプロセッシングにおける核ＴＤＰ－４３の機能性の喪失と関連している。したがって、細胞質封入体においてＴＤＰ－４３を発現する細胞は、ＴＤＰ－４３が枯渇していると見なされるべきである。
【００４２】
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、単離されたアンチセンスオリゴヌクレオチド又は

精製されたオリゴヌクレオチドであり得る。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、製造された（人工の）アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【００４３】

機能的表現型は、例えば、機能的ＴＤＰ－４３（すなわち、非異常ＴＤＰ－４３、典型的には核ＴＤＰ－４３）によって調節されるか又はそれに依存するＲＮＡプロセシング事象、及び／又はその忠実度が機能的ＴＤＰ－４３に依存するＲＮＡプロセシング事象であり得る。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用によるＴＤＰ－４３の機能性の増強は、例えば本明細書中に例示されるように、ＳＴＭＮ２、ＣＡＭＫ２Ｂ、ＫＡＬＲＮ、ＡＣＴＬ６Ｂ及びＵＮＣ１３Ａ　ＲＮＡプロセシングを参照して、機能性ＴＤＰ－４３によって調節されるか又はそれに依存するＲＮＡプロセシング事象の忠実度を評価することによって評価され得る。

【００４４】

有利には、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、又はＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８９）、又はＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８６）、又はＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９０）に相補的な、例えば完全に相補的な、少なくとも１２個又は少なくとも１３個の連続ヌクレオチドを含む。

【００４５】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９１）、又はＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号９２）に相補的な、例えば完全に相補的な、少なくとも１４個の連続ヌクレオチドを含む。

【００４６】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列（ＵＧ）ｎ又は（ＧＵ）ｎ［式中ｎは整数６～２０、例えば７～９である］に相補的である、例えば完全に相補的な、少なくとも１８個の連続ヌクレオチドを含む。

【００４７】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９３）、又はＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号９４）に相補的な、例えば完全に相補的な、少なくとも１８個の連続ヌクレオチドを含む。

【００４８】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、ＣＡＣＡＣＡＣ、ＣＡＣＡＣＡＣＡ、ＣＡＣＡＣＡＣＡＣ、ＡＣＡＣＡＣＡＣ、又はＡＣＡＣＡＣＡＣＡから選択される配列を含む。

【００４９】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１の配列を含む。

【００５０】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２の配列を含む。

【００５１】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３の配列を含む。

【００５２】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４の配列を含む。

【００５３】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５の配列を含む。

【００５４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６の配列を含む。
【００５５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７の配列を含む。
【００５６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号８の配列を含む。
【００５７】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号９の配列を含む。
【００５８】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１０の配列を含む。
【００５９】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１１の配列を含む。
【００６０】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２の配列を含む。
【００６１】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１３の配列を含む。
【００６２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１４の配列を含む。
【００６３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１５の配列を含む。
【００６４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１６の配列を含む。
【００６５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１７の配列を含む。
【００６６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１８の配列を含む。
【００６７】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１９の配列を含む。
【００６８】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２０の配列を含む。
【００６９】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２１の配列を含む。
【００７０】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続

ヌクレオチド配列は、配列番号２２の配列を含む。
【００７１】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２３の配列を含む。
【００７２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２４の配列を含む。
【００７３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２５の配列を含む。
【００７４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２６の配列を含む。
【００７５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２７の配列を含む。
【００７６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２８の配列を含む。
【００７７】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号２９の配列を含む。
【００７８】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３０の配列を含む。
【００７９】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３１の配列を含む。
【００８０】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３２の配列を含む。
【００８１】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３３の配列を含む。
【００８２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３４の配列を含む。
【００８３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３５の配列を含む。
【００８４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３６の配列を含む。
【００８５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３７の配列を含む。
【００８６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３８の配列を含む。
【００８７】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号３９の配列を含む。

【００８８】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４０の配列を含む。

【００８９】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４１の配列を含む。

【００９０】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４２の配列を含む。

【００９１】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４３の配列を含む。

【００９２】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４４の配列を含む。

【００９３】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４５の配列を含む。

【００９４】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４６の配列を含む。

【００９５】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４７の配列を含む。

【００９６】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４８の配列を含む。

【００９７】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号４９の配列を含む。

【００９８】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５０の配列を含む。

【００９９】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５１の配列を含む。

【０１００】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５２の配列を含む。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５３の配列を含む。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５４の配列を含む。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５５の配列を含む。

【０１０４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５６の配列を含む。
【０１０５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５７の配列を含む。
【０１０６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５８の配列を含む。
【０１０７】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号５９の配列を含む。
【０１０８】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６０の配列を含む。
【０１０９】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列（配列番号６１）を含む。
【０１１０】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６２の配列を含む。
【０１１１】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６３の配列を含む。
【０１１２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６４の配列を含む。
【０１１３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６５の配列を含む。
【０１１４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６６の配列を含む。
【０１１５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６７の配列を含む。
【０１１６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６８の配列を含む。
【０１１７】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号６９の配列を含む。
【０１１８】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７０の配列を含む。
【０１１９】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７１の配列を含む。
【０１２０】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続

ヌクレオチド配列は、配列番号７２の配列を含む。
【０１２１】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７３の配列を含む。
【０１２２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７４の配列を含む。
【０１２３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７５の配列を含む。
【０１２４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７６の配列を含む。
【０１２５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７７の配列を含む。
【０１２６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７８の配列を含む。
【０１２７】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号７９の配列を含む。
【０１２８】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号８０の配列を含む。
【０１２９】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号８１の配列を含む。
【０１３０】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号８２の配列を含む。
【０１３１】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号８３の配列を含む。
【０１３２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、表１に示される配列又は化合物を含む。
【０１３３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１１８～１２６を含む。
【０１３４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１１８を含む。
【０１３５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１１９を含む。
【０１３６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２０を含む。
【０１３７】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２１を含む。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２２を含む。

【０１３９】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２３を含む。

【０１４０】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２４を含む。

【０１４１】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２５を含む。

【０１４２】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１２６を含む。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、（ＣＡ）ｎ又は（ＡＣ）ｎを含み、式中ｎは整数１～２０、例えば２～２０、３～２０、４～２０、５～２０、６～２０、７～２０、８～２０、９～２０、１０～２０、１１～２０、１２～２０、１３～２０、１４～２０、１５～２０、１６～２０、１７～２０、１８～２０、１９～２０、１～１５、１～１０、１～５、５～１５、５～１０又は１０～１５である。

【０１４４】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、（ＣＡ）ｎ又は（ＡＣ）ｎを含み、式中ｎは整数、例えば１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０である。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される配列を含む。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される配列からなる。

【０１４７】

連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６のいずれか１つの８個以上の連続ヌクレオチドの断片を含み得る。

【０１４８】

連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６のいずれか１つの８個以上の連続ヌクレオチドの断片からなり得る。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも８個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５０】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも９個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１０個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１１個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５３】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１２個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５４】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１３個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５５】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１４個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５６】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１５個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１６個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５８】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１７個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１８個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１６０】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも１９個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２０個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１６２】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２１個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２２個の連続ヌクレオチドの長さを有する

。
【０１６４】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２３個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１６５】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２４個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１６６】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２５個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１６７】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２６個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１６８】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２７個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１６９】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２８個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７０】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも２９個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７１】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３０個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７２】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３１個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７３】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３２個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７４】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３３個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７５】
いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３４個の連続ヌクレオチドの長さを有する。
【０１７６】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３５個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３６個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１７８】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３７個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１７９】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３８個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１８０】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも３９個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、本発明の任意の態様によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも４０個の連続ヌクレオチドの長さを有する。

【０１８２】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、連続ヌクレオチド配列からなり得る。

【０１８３】

いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、連続ヌクレオチド配列であり得る。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、標的配列に対して少なくとも７５％相補的であり得る。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、標的配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８１％、少なくとも８２％、少なくとも８３％、少なくとも８４％、少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％相補的であり得る。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、標的配列に対して１、２、３、４、５、６、７、８つ、又はそれよりも多くのミスマッチを含み得る。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、約－１０ΔＧ未満、例えば約－１５ΔＧ未満、例えば約－１７ΔＧ未満の、相補的標的ＲＮＡに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドのギブス自由エネルギーを有する。

【０１８８】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３が枯渇しているか、又は異常なＴＤＰ－４３タンパク質を発現している細胞において、１つ以上のＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの機能的表現型を回復させることができ得る。

【０１８９】
有利には、１つ以上の２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含む本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上の追加的又は代替的な修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。換言すれば、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含み、１つ以上の追加的又は代替的な修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。
【０１９０】
好都合には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＬＮＡヌクレオシドを含み得る。連続ヌクレオチド配列内のＬＮＡヌクレオチドがさらに有利である。いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＬＮＡヌクレオシド及び非ＬＮＡヌクレオシド、例えばＤＮＡヌクレオシドを含み得る。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、ＬＮＡヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドを含み得る。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドの全てのヌクレオシド又はその連続ヌクレオチド配列は、ＬＮＡ及びＤＮＡヌクレオシドから独立して選択される。有利には、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列内に存在する連続ＤＮＡヌクレオシドの長さは、標的ＲＮＡ分解をもたらすＲＮａｓｅＨ動員を防ぐように制限される。適切には、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、４つを超える連続ＤＮＡヌクレオシドを含まず、より有利には、３つを超える連続ＤＮＡヌクレオシドを含まない。
【０１９１】
使用される場合、有利には、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、２つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡ（標的ＲＮＡ）のスプライシングを調節することができる。例として、２つ以上のＴＤＰ－４３標的ＲＮＡは、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２Ｂプレｍ ＲＮＡ、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６Ｂプレｍ ＲＮＡ及びＵＮＣ１３Ａプレｍ ＲＮＡからなる群から独立して選択され得る。
【０１９２】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡ（標的ＲＮＡ）のスプライシングを調節することができる。
【０１９３】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、２つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡ（標的ＲＮＡ）のスプライシングを調節することができる。
【０１９４】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、３つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡ（標的ＲＮＡ）のスプライシングを調節することができる。
【０１９５】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、４つ以上のＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡ（標的ＲＮＡ）のスプライシングを調節することができる。
【０１９６】
いくつかの実施形態では、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個又はそれよりも多くのＴＤＰ－４３標的プレｍＲＮＡ（標的ＲＮＡ）のスプライシングを調節することができる。
【０１９７】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２Ｂプレｍ ＲＮＡ、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６Ｂプレｍ ＲＮＡ及びＵＮＣ１３Ａプレｍ ＲＮＡからなる群から選択される少なくとも１つ、例えば２つ以上のプレｍＲＮＡのプレｍＲＮＡスプライシングの

忠実度を増強することができる。いくつかの実施形態では、２つ以上の選択されたプレｍＲＮＡは、ＳＴＭＮ２及びＣＡＭＫ２Ｂ；ＳＴＭＮ２及びＫＡＬＲＮ；ＳＴＭＮ２及びＡＣＴＬ６Ｂ；並びにＳＴＭＮ２及びＵＮＣ１３Ａからなる群から選択される。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２ＢプレｍＲＮＡ、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６ＢプレｍＲＮＡ及びＵＮＣ１３ＡプレｍＲＮＡからなる群から選択される２つ以上のプレｍＲＮＡのプレｍＲＮＡスプライシングの忠実度を増強することができる。いくつかの実施形態では、２つ以上の選択されたプレｍＲＮＡは、ＳＴＭＮ２及びＣＡＭＫ２Ｂ；ＳＴＭＮ２及びＫＡＬＲＮ；ＳＴＭＮ２及びＡＣＴＬ６Ｂ；ＳＴＭＮ２及びＵＮＣ１３Ａからなる群から選択される。

【０１９９】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２ＢプレｍＲＮＡ、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６ＢプレｍＲＮＡ及びＵＮＣ１３ＡプレｍＲＮＡからなる群から選択される３つ以上のプレｍＲＮＡのプレｍＲＮＡスプライシングの忠実度を増強することができる。

【０２００】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡ、ＣＡＭＫ２ＢプレｍＲＮＡ、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡ、ＡＣＴＬ６ＢプレｍＲＮＡ及びＵＮＣ１３ＡプレｍＲＮＡのプレｍＲＮＡスプライシングの忠実度を増強することができる。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、連続エクソン１／エクソン２接合部を有する野生型ＳＴＭＮ２成熟ｍＲＮＡと比較して、エクソン１とエクソン２との間に潜在性エクソン（ｃｅ１）を含むＳＴＭＮ２成熟ｍＲＮＡの割合を減少させることができる。

【０２０２】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＣＡＭＫ２ＢプレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＣＡＭＫ２Ｂ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＫＡＬＲＮプレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＫＡＬＲＮ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＡＣＴＬ６ＢプレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＡＣＴＬ６Ｂ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＵＮＣ１３ＡプレｍＲＮＡを発現しているＴＤＰ－４３枯渇細胞に投与した場合に、ＵＮＣ１３Ａ　ｍＲＮＡ転写物中の異常なエクソン封入のレベルを減少させることができる。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３枯渇細胞におけるＳＴＭＮ２、ＣＡＭＫ２Ｂ、ＫＡＬＲＮ、ＡＣＴＬ６Ｂ及びＵＮＣ１３Ａプレｍ
ＲＮＡのうちの２つ以上の異常なスプライシングを修正することができる。

【０２０７】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、３つを超えるか、又は

４つを超える連続ＤＮＡヌクレオシドの領域を含まない。
【０２０８】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＲＮＡｓｅＨ切断を媒介することができない。
【０２０９】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノアンチセンスオリゴヌクレオチドである。
【０２１０】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド、又は１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含むその連続ヌクレオチド配列は、例えば、及び有利に、より低いギブス自由エネルギー、例えば、－１０未満、例えば－１５未満のギブス自由エネルギーを提供するために、アンチセンスオリゴヌクレオチドと相補的ＲＮＡ分子との間の結合親和性を増強する１つ以上の親和性増強ヌクレオシド、例えば２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。
【０２１１】
いくつかの実施形態では、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含むアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、１つ以上の修飾ヌクレオシド、例えば、２’－Ｏ－アルキル－ＲＮＡ；２’－Ｏ－メチルＲＮＡ（２’－ＯＭｅ）；２’－アルコキシ－ＲＮＡ；２’－アミノ－ＤＮＡ；２’－フルオロ－ＲＮＡ；２’－フルオロ－ＤＮＡ；アラビノ核酸（ＡＮＡ）；２’－フルオロ－ＡＮＡ；ロックド核酸（ＬＮＡ）、又はそれらの組み合わせからなる群から独立して選択される２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。
【０２１２】
いくつかの実施形態では、２’糖修飾ヌクレオシドは、親和性増強２’糖修飾ヌクレオシドであり得る。
【０２１３】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１又は３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９又は４０個のヌクレオシドは、１つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって任意に連結された２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドである。
【０２１４】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中のヌクレオシドの少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％又は１００％は、１つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって任意に連結された２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドである。
【０２１５】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中の全てのヌクレオシドは、１つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって任意に連結された２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－ＭＯＥ）ヌクレオシドである。
【０２１６】
いくつかの実施形態では、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含むアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、２’－Ｏ－メチルヌクレオシドをさらに含み得る。
【０２１７】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド

配列内の１つ以上のさらなる修飾ヌクレオシドは、ロックド核酸ヌクレオシド（ＬＮＡ）、例えば、拘束型エチルヌクレオシド（ｃＥｔ）又はβ－Ｄ－オキシ－ＬＮＡからなる群から選択されるＬＮＡヌクレオシドである。

【０２１８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列は、任意にホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって連結されたヌクレオシドＬＮＡヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドを含む。

【０２１９】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、ミックスマー又はトータルマーである。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも８個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも９個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１０個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１１個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１２個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１３個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１４個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１５個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１６個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１７個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２３０】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１８個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３１】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも１９個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３２】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２０個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３３】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２１個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３４】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２２個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３５】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２３個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３６】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２４個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３７】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２５個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３８】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２６個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２３９】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２７個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２４０】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２８個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２４１】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも２９個の連続ヌクレオチドを含む。
【０２４２】
いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド

配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも３０個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも３１個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも３２個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも３３個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２４６】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも３４個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２４７】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される核酸塩基の配列、又はその少なくとも３５個の連続ヌクレオチドを含む。

【０２４８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中に存在するシトシン塩基は、シトシン及び５－メチルシトシンからなる群から独立して選択される。

【０２４９】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中に存在するシトシン塩基は、５－メチルシトシンである。

【０２５０】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中に存在するＬＮＡシトシン塩基は、ＬＮＡ５－メチルシトシンである。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列中に存在するＬＮＡシトシン塩基は、ＬＮＡ５－メチルシトシンであり、ＤＮＡシトシン塩基は、シトシンである。

【０２５２】

有利には、連続ヌクレオチド配列上のヌクレオシド間に位置するヌクレオシド間結合の１つ以上が修飾される。いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列上のヌクレオシド間に位置するヌクレオシド間結合の少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、又は約１００％が修飾されている。

【０２５３】

いくつかの実施形態では、修飾されたヌクレオシド間結合の１つ以上、又は全ては、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、連続ヌクレオチド配列内の結合の１つ以上、又は全ては、ホスホロチオエート結合である。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列に存在する全てのヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

【０２５５】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド中に存在する全てのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つのコレステロール部分に結合している本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上のコンジュゲート基をさらに含み得る。換言すれば、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つのコレステロール部分に結合しており、コレステロール部分ではない１つ以上の追加のコンジュゲート基をさらに含み得る。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つのコンジュゲート部分に共有結合され得る。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、薬学的に許容され得る塩の形態であり得る。いくつかの実施形態では、塩は、ナトリウム塩、カリウム塩又はアンモニウム塩であり得る。

【０２５９】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドと、薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩、及び／又はアジュバントとを含む、薬学的組成物を提供する。

【０２６０】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドと、薬学的に許容され得る希釈剤又は溶媒と、カチオンとを含む、薬学的組成物を提供する。カチオンは、例えば、ナトリウムカチオン又はカリウムカチオンであり得る。希釈剤／溶媒は水であり得る。

【０２６１】

本発明は、異常なレベル又は枯渇したレベルのＴＤＰ－４３を発現している細胞においてＴＤＰ－４３の機能性を増強するためのインビボ又はインビトロ方法などの方法を提供し、該方法は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の組成物を有効量で細胞に投与することを含む。

【０２６２】

本発明は、対象におけるＴＤＰ－４３病態を処置又は予防するための方法であって、治療有効量又は予防有効量の本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の組成物を、ＴＤＰ－４３病態に罹患しているか、又はＴＤＰ－４３病態に罹患しやすい対象に投与することを含む方法を提供する。

【０２６３】

本発明は、医薬として使用するための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の組成物を提供する。

【０２６４】

本発明は、ＴＤＰ－４３病態の処置に使用するための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の組成物を提供する。

【０２６５】

本発明は、ＴＤＰ－４３病態を処置又は予防するための医薬を調製するための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の組成物の使用を提供する。

【０２６６】

本発明は、ＴＤＰ－４３病態が、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症３、ミオパシー及び慢性外傷性脳症からなる群から選択される神経障害である、本発明の方法、本発明による使用のためのアンチセンスオリゴヌクレオチド若しくは薬学的組成物、又は本発明による使用を提供する。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３病態は、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭

側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）からなる群から選択される神経障害である。
【０２６８】
本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドと、リン酸緩衝生理食塩水などの薬学的に許容され得る溶媒とを含む薬学的溶液を提供する。
【０２６９】
いくつかの実施形態において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、固体粉末形態、例えば凍結乾燥粉末の形態であり得る。
【０２７０】
典型的には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも８又は少なくとも１０ヌクレオチド長、例えば１０～３２、１５～３２、２０～３２、２１～３２、２２～３２、２３～３２、２４～３２、２５～３２、２６～３２、２７～３２又は１０～２０ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含み、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３ＲＮＡ結合配列に対して少なくとも７５％相補的、例えば少なくとも９０％相補的、又は完全に相補的である。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドの全てのヌクレオシドは、連続ヌクレオチド配列を形成する。
【０２７１】
いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも２つのヒトプレｍＲＮＡのスプライシングを調節することができる。例えば、ヒトＳＴＭＮ２、ＣＡＭＫ２Ｂ、ＫＡＬＲＮ、ＡＣＴＬ６Ｂ及びＵＮＣ１３ＡプレｍＲＮＡのスプライシングは、実施例に示すように、ＴＤＰ－４３結合に依存する。
【０２７２】
さらなる態様では、本発明は、神経変性疾患、例えば筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を処置又は予防するための方法であって、治療有効量又は予防有効量の本発明のオリゴヌクレオチドを、疾患に罹患しているか又は疾患にかかりやすい対象に投与することを含む、方法を提供する。
【０２７３】
さらなる態様では、本発明のオリゴヌクレオチド又は組成物は、ＴＤＰ－４３の病態又は核からのＴＤＰ－４３の誤局在化を特徴とする神経変性障害としての神経変性疾患、例えば筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）の処置又は予防に使用される。
【０２７４】
配列表
本出願と共に提出された配列表は、参照により本明細書に組み込まれる。
【図面の簡単な説明】
【０２７５】
【図１】ＡＳＯの５’へのコレステロールの連結を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【０２７６】
ＲＮＡ結合タンパク質模倣物及びＴＤＰ－４３模倣物
ＴＤＰ－４３は、ヒトにおいてヒト染色体１：１１，０１２，６５３－１１，０２２，８５８の順鎖（遺伝子ＥＮＳＧ００００００１２０９４８，Ｃｈｒ１：１１，０１２，３４４－１１，０２５，７３９、典型的なＴＤＰ－４３転写物の例＝ＥＮＳＴ００００００４３９０８０．６）にコードされているＴＡＲ　ＲＮＡ／ＤＮＡ結合タンパク質であり、ＲＮＡスプライシング、安定性及び代謝に広く関与している。健康な細胞では、ＴＤＰ－４３タンパク質は核内に位置するが、いくつかの神経変性疾患では、機能障害ＴＤＰ－４３凝集体が細胞質内に形成される（しばしば過剰リン酸化及びユビキチン化ＴＤＰ－４３に関連する）。
【０２７７】
ＴＤＰ－４３は、多数の独立したＲＮＡ転写物中のＧＵリピートに結合するＲＮＡ結合タンパク質の一例である。ＴＤＰ－４３などのＲＮＡ結合タンパク質と多数のＲＮＡ転写物の集団との相互作用は、プレｍＲＮＡに対するスプライシング、ＲＮＡ安定性、ＲＮＡ

蓄積などのＲＮＡ転写物の生物学に大きな影響を及ぼし、したがって、細胞内の独立したＲＮＡの集団の発現を発揮するための機構を提供する。これは、機能的ＴＤＰ－４３のＲＮＡ結合の喪失が神経変性と密接に関連するＴＤＰ－４３枯渇の場合に特に関連する。

【０２７８】

本発明は、プレｍＲＮＡ転写物の集団上の保存されたＴＤＰ－４３結合部位などの複数のＲＮＡ転写産物上のＧＵリッチ領域に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。実施例において例示されるように、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、ＲＮＡ結合タンパク質、例えばＴＤＰ－４３の枯渇又は非存在下では異常にプロセシングされる複数の独立したＲＮＡ転写物の機能的プロセシングを回復させることができる。したがって、本発明の化合物とも呼ばれる本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、複数のＲＮＡ転写物のＲＮＡ生物学を調節する際に、ＴＤＰ－４３などのＲＮＡ結合タンパク質の機能性を回復させるという点で、ＲＮＡ結合タンパク質模倣物又はＴＤＰ－４３模倣物と呼ばれることがある。

【０２７９】

例として、（例えば、ＴＤＰ－４３枯渇細胞において）本発明の化合物の使用によって回復又は増強されるＴＤＰ－４３機能性などのＲＮＡ結合タンパク質機能性は、プレｍＲＮＡ転写物の発現、プロセシング、例えばスプライシング事象であり、そうでなければ低減したレベルの機能性ＴＤＰ－４３を有する細胞（本明細書ではＴＤＰ－４３枯渇細胞と呼ばれる）において調節不全である機能性遺伝子発現の回復をもたらす。これは、遺伝子発現の増強又は遺伝子発現の質の増強をもたらし得る。

【０２８０】

有利には、本発明の化合物は、機能的ＴＤＰ－４３を模倣し、１つ以上のＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの発現においてＴＤＰ－４３の核機能を回復させ、それによってＴＤＰ－４３標的ＲＮＡの機能的表現型を回復させることができる。

【０２８１】

他のＲＮＡ結合タンパク質がＴＤＰ－４３結合部位に結合し得、したがって、本明細書で言及されるＴＤＰ－４３模倣物は、複数の核酸標的（すなわち、異なる遺伝子座から記載されるＲＮＡ標的）などの１つ以上のＲＮＡ標的のＴＤＰ－４３結合部位に相補的であり、正常な（野生型）の発現を回復させることができるオリゴヌクレオチドであることが理解されよう。

【０２８２】

Ａｒｎｏｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　２０１３に報告されているように、いくつかのＴＤＰ－４３病態は特定のＴＤＰ－４３変異に関連しており、これらは必ずしもＴＤＰ－４３細胞質枯渇に関連していない可能性がある。本発明の文脈において、ＴＤＰ－４３の正常な機能は遺伝的に破壊され得るので、これはまた、枯渇又は正常なＴＤＰ－４３（本発明のＴＤＰ－４３模倣物を使用して対処することができる表現型）の潜在的な原因であると考えられる。

【０２８３】

ＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的の例

神経細胞におけるＴＤＰ－４３の枯渇は、細胞におけるＲＮＡ転写物の大きな集団のＲＮＡプロセシングの著しい変化をもたらす。

【０２８４】

実施例は、これらのＴＤＰ－４３標的ＲＮＡのうちの５つ：ＳＴＭＮ２、ＫＡＬＲＮ、ＡＣＴＬ６Ｂ、ＵＮＣ１３Ａ及びＣＡＭＫ２Ｂを例示するが、本発明はこれに関して限定されない。

【０２８５】

Ａｒｎｏｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　２０１３　１１０　Ｅ７３６－７４５は、ＴＤＰ－４３枯渇細胞（ＴＤＰ－４３　ＡＳＯ枯渇マウス）におけるＴＤＰ－４３結合ＲＮＡのプレｍＲＮＡスプライシングの広範な異常を同定し、マイクロアレイ分析を使用した指標となるＴＤＰ－４３調節スプライシング事象の同定を説明している。スプライシング

がＴＤＰ－４３によって調節されるＡｒｎｏｌｄらによって同定されたＲＮＡには、Ｅｉｆ４ｈ、Ｔａｆ１ｂ、Ｋｃｎｉｐ２（ＴＤＰ－４３変異依存性）、Ｓｏｒｔ１、Ｋｃｎｄ３、Ａｈｉ１、Ａｔｘｎ２、Ｃｔｎｎｄ（用量依存性）が含まれる。

【０２８６】

ＳＴＭＮ２（Ｋｌｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．２０１９ Ｆｅｂ；２２（２）：１６７－１７９）－（例えばＡＬＳにおける）神経細胞におけるＴＤＰ－４３枯渇は、ＳＴＭＮ２転写物のミススプライシングをもたらす。ＳＴＭＮ２は微小管調節因子をコードし、その発現は、ＴＤＰ－４３のノックダウン及びＴＤＰ－４３の誤局在化の後、並びに患者特異的運動ニューロン及び死後の患者脊髄において低下する。

【０２８７】

ＳＴＭＮ２の翻訳後安定化は、ＴＤＰ－４３枯渇によって誘導される神経突起伸長及び軸索再生欠損を救済した。ＴＤＰ－４３枯渇は、ＳＴＭＮ２のエクソン１とエクソン２との間の潜在性イントロンの組み込みをもたらす。国際公開第２０１９／２４１６４８号は、ＳＴＭＮ２のミススプライシングを抑制するために使用される完全にＭＯＥ修飾されたホスホロチオエートＡＳＯを開示している。

【０２８８】

上記の転写物及び関連するＴＤＰ－４３枯渇スプライシング事象を使用して、本発明の化合物を使用してＴＤＰ－４３機能性の回復についてアッセイすることができる。

【０２８９】

ＴＤＰ－４３病態

ＴＤＰ－４３病態は、ＴＤＰ－４３の発現の低減又は異常に関連する疾患であり、しばしば細胞質ＴＤＰ－４３、特に過剰リン酸化及びユビキチン化ＴＤＰ－４３の増加に関連する。

【０２９０】

ＴＤＰ－４３枯渇は、ＴＤＰ－４３病態と呼ばれる様々な疾患で示され、例えば、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症　アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症３、ミオパシー及び慢性外傷性脳症などを含む。

【０２９１】

ＴＤＰ－４３が枯渇した細胞

ＴＤＰ－４３が枯渇している細胞とは、ＴＤＰ－４３の機能レベルが低減している細胞を指す。ＴＤＰ－４３病態では、異常なＴＤＰ－４３発現は機能不全細胞質ＴＤＰ－４３の蓄積及び機能性核ＴＤＰ－４３レベルの低減をもたらすことが理解されるであろう。したがって、ＴＤＰ－４３が枯渇しているそのような細胞は、ＴＤＰ－４３の機能レベルの低減を特徴とし得、したがって、機能不全ＴＤＰ－４３のレベルの増加に関連し得る。インビトロ評価のために、ＴＤＰ－４３枯渇は、例えば遺伝子工学的アプローチ（例えば、ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳ９）によって、又は実施例に例示されるように、ＴＤＰ－４３のアンチセンスオリゴヌクレオチド阻害剤（ヒトＴＤＰ－４３転写物を標的とするギャップマーオリゴヌクレオチドによって例示される）の使用によって操作され得る。

【０２９２】

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３が枯渇している細胞はニューロン細胞である。

【０２９３】

ＴＤＰ－４３結合部位に相補的な配列

ＴＤＰ－４３結合部位は、例えばポリＧＵモチーフ（ＲＮＡ結合のＡデータベースｈｔｔｐｓ：／／ａｔｔｒａｃｔ．ｃｎｉｃ．ｅｓ／ｒｅｓｕｌｔｓ／ｅ９ｆ２９３８０－８９２１－４０６ｅ－８４ａ８－２７ｃｅ９ｂ９３９８ｂ４＃を参照のこと）を特徴とし、適切にはアンチセンスオリゴヌクレオチド介入のために、（ＧＵ）ｎ又は（ＵＧ）ｎのモチーフを含んでいてもよく、ここでｎは、少なくとも３又は好ましくは少なくとも４である。いくつかの実施形態では、ｎは、４、５、６、７、８、９又は１０である。

【０２９４】
いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３結合部位は、（ＵＧ）ｎ、（ＧＵ）ｎ［式中、ｎは４～２０である］、ＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８４）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８６）、ＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８７）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８８）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８９）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９０）、及びＧＵＧＡＡＵＧＡからなる群から選択される配列を含み得る。

【０２９５】
いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３結合部位は、ＧＵＧＡＡＵＧＡ、ＧＵＵＧＵＧＣ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＧＡＡＵＧＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＧＡＡＵＧＡ、ＵＧＵＧＵＧ、ＧＵＵＧＵＵＣ、及びＧＵＵＵＵＧＣからなる群から選択される配列を含み得る。いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３結合部位は、配列ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９１）を含み得る。

【０２９６】
いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、（ＵＧ）ｎ、（ＧＵ）ｎ［式中、ｎは４～２０である］、ＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８４）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８６）、ＧＵＧＵＧＵＧＵ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧ、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８７）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８８）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵ（配列番号８９）、ＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号９０）、及びＧＵＧＡＡＵＧＡからなる群より選択される１つ以上の配列に相補的な、例えば完全に相補的な配列を含み得る。

【０２９７】
本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３結合部位配列、例えば（ＧＵ）ｎ、（ＵＧ）ｎ、ＧＵＧＡＡＵＧＡ、ＧＵＵＧＵＧＣ、ＧＡＡＵＧＧ、ＵＧＵＧＵＧ、ＧＡＡＵＧＡ、ＵＧＵＧＵＧ、ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号８５）、ＧＵＵＧＵＵＣ、及びＧＵＵＵＵＧＣからなる群から選択される１つ以上の配列に相補的、例えば完全に相補的な配列を含み得る。

【０２９８】
オリゴヌクレオチド
本明細書で用いられる「オリゴヌクレオチド」という用語は、２つ以上の共有結合したヌクレオシドを含む分子として当業者に一般に理解されるように定義される。このような共有結合したヌクレオシドはまた、核酸分子又はオリゴマーとも称され得る。オリゴヌクレオチドは、通常、固相化学合成と、その後の精製及び単離によって研究室内で作製される。オリゴヌクレオチドの配列に言及する場合には、共有結合したヌクレオチド又はヌクレオシドの核酸塩基部分の配列又は順序、若しくはその修飾が言及される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、人工であり、化学的に合成され、典型的には精製又は単離される。

【０２９９】
１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含む本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上のさらなる又は追加の修飾ヌクレオシド、例えば２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合などの、１つ以上の修飾されたヌクレオシド間結合を含み得る。

【０３００】
アンチセンスオリゴヌクレオチド
本明細書で用いられる「アンチセンスオリゴヌクレオチド」という用語は、標的核酸、特に標的核酸上の連続配列にハイブリダイズすることによって標的遺伝子の発現を調節す

ることができるオリゴヌクレオチドとして定義される。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、本質的に二本鎖ではなく、したがってｓｉＲＮＡ又はｓｈＲＮＡではない。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは一本鎖であってもよい。本発明の単鎖オリゴヌクレオチドは、自己内又は自己間の相補性の程度がオリゴヌクレオチドの全長にわたって約５０％未満である限り、ヘアピン又は分子間二重構造（同じオリゴヌクレオチドの２つの分子間の二重鎖）を形成することができるものと理解される。

【０３０１】

いくつかの実施形態では、本発明の一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＲＮＡヌクレオシドを含有しなくてもよい。

【０３０２】

有利には、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含む本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上のさらなる又は追加の修飾ヌクレオシド又はヌクレオチド、例えば２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。さらに、本発明のいくつかのアンチセンスオリゴヌクレオチドでは、修飾されていないヌクレオシドがＤＮＡヌクレオシドであることが有利であり得る。

【０３０３】

連続ヌクレオチド配列

「連続ヌクレオチド配列」という用語は、標的核酸に相補的なオリゴヌクレオチドの領域を指す。この用語は、本明細書で「連続核酸塩基配列」という用語及び「オリゴヌクレオチドモチーフ配列」という用語と互換的に用いられる。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドの全てのヌクレオチドが連続ヌクレオチド配列を構成する。連続ヌクレオチド配列は、標的核酸又は標的配列に相補的であり、場合によっては完全に相補的である本発明のオリゴヌクレオチド中のヌクレオチドの配列である。

【０３０４】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、連続ヌクレオチド配列を含み、任意に、更なるヌクレオチド、例えば、官能基（例えばコンジュゲート基）を連続ヌクレオチド配列に結合するのに使用され得るヌクレオチドリンカー領域を必要に応じて含んでいてもよい。ヌクレオチドリンカー領域は、標的核酸に相補的であっても相補的でなくてもよい。オリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列は、それ自体としてオリゴヌクレオチドより長くなることはできないことと、オリゴヌクレオチドは連続ヌクレオチド配列より短くなることはできないことと、が理解される。

【０３０５】

ヌクレオチド及びヌクレオシド

ヌクレオチド及びヌクレオシドは、オリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの構成単位であり、本発明の目的のために、天然に存在するヌクレオチド及びヌクレオシドと、天然に存在しないヌクレオチド及びヌクレオシドとの両方を含む。本来、ＤＮＡヌクレオチド及びＲＮＡヌクレオチドなどのヌクレオチドは、リボース糖部分、核酸塩基部分、及び１つ以上のリン酸基（ヌクレオシドには存在しない）を含む。ヌクレオシド及びヌクレオチドはまた、互換的に「単位」又は「モノマー」と呼ぶことができる。

【０３０６】

修飾ヌクレオシド

本明細書で使用される場合、「修飾ヌクレオシド」又は「ヌクレオシド修飾」という用語は、糖部分又は（核酸）塩基部分の１つ以上の修飾の導入によって、同等のＤＮＡ又はＲＮＡヌクレオシドと比較して修飾されたヌクレオシドを指す。有利には、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含む本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、修飾された糖部分を含む１つ以上のさらなる又は追加の修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。修飾ヌクレオシドという用語はまた、本明細書においては、「ヌクレオシド類似体」又は修飾「単位」又は修飾「モノマー」という用語と互換的に使用され得る。非修飾ＤＮＡ又はＲＮＡ糖部分を有するヌクレオシドは、本明細書ではＤＮＡ又はＲＮＡヌクレオシドと称される。ＤＮＡ又はＲＮＡヌクレオシドの塩基領域に修飾を有す

るヌクレオシドは、それらがワトソン・クリック塩基対合可能な場合には、依然として一般的にＤＮＡ又はＲＮＡと称される。本発明の化合物に使用され得る例示的な修飾ヌクレオシドには、ＬＮＡ、２’－Ｏ－ＭＯＥ及びモルホリノヌクレオシド類似体が含まれる。

【０３０７】

修飾されたヌクレオシド間結合

「修飾されたヌクレオシド間結合」という用語は、２つのヌクレオシドを互いに共有結合する、ホスホジエステル（ＰＯ）結合以外の結合として当業者に一般的に理解されるように定義される。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上のホスホロチオエートのヌクレオシド間結合などの、１つ以上の修飾されたヌクレオシド間結合を含むことができる。

【０３０８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列の少なくとも５０％のヌクレオシド間結合がホスホロチオエートであり、例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列の少なくとも６０％、例えば少なくとも７０％、例えば少なくとも７５％、例えば少なくとも８０％、又は例えば少なくとも９０％以上のヌクレオシド間結合がホスホロチオエートである。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列のヌクレオシド間結合の全てが、ホスホロチオエートである。

【０３０９】

有利には、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列のすべてのヌクレオシド間結合がホスホロチオエートであるか、又はアンチセンスオリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合がホスホロチオエート結合である。

【０３１０】

核酸塩基

核酸塩基という用語は、ヌクレオシド及びヌクレオチドに存在するプリン（例えばアデニン及びグアニン）及びピリミジン（例えばウラシル、チミン及びシトシン）部分を含み、これらは核酸ハイブリダイゼーションにおいて水素結合を形成する。本発明の文脈において、核酸塩基という用語は、天然に存在する核酸塩基とは異なり得るが、核酸ハイブリダイゼーションの際に機能的である修飾核酸塩基も包含する。この文脈において、「核酸塩基」とは、アデニン、グアニン、シトシン、チミジン、ウラシル、キサンチン、及びヒポキサンチンなどの天然に存在する核酸塩基と、天然に存在しないバリアントとの両方を指す。このようなバリアントは、例えば、Ｈｉｒａｏら（２０１２）Ａｃｃｏｕｎｔｓ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ第４５巻２０５５頁及びＢｅｒｇｓｔｒｏｍ（２００９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｓｕｐｐｌ．３７ １．４．１に記載されている。

【０３１１】

いくつかの実施形態では、核酸塩基部分は、プリン又はピリミジンを修飾プリン又はピリミジン、例えば置換プリン又は置換ピリミジン、例えばイソシトシン、シュードイソシトシン、５－メチルシトシン、５－チオゾロ－シトシン、５－プロピニル－シトシン、５－プロピニル－ウラシル、５－ブロモウラシル５－チアゾロ－ウラシル、２－チオ－ウラシル、２’－チオ－チミン、イノシン、ジアミノプリン、６－アミノプリン、２－アミノプリン、２，６－ジアミノプリン及び２－クロロ－６－アミノプリン、５’ニトロインドールから選択される核酸塩基に変えることにより修飾される。

【０３１２】

核酸塩基部分は、対応する各核酸塩基についての文字コード、例えば、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｃ又はＵにより示されてもよく、各文字は、任意に等価な機能の修飾核酸塩基を含んでもよい。例えば、例示したアンチセンスオリゴヌクレオチドにおいて、核酸塩基部分は、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｃ及び５－メチルシトシンから選択される。任意に、ＬＮＡギャップマーに対しては、５－メチルシトシンＬＮＡヌクレオシドが使用され得る。

【０３１３】

修飾オリゴヌクレオチド

修飾オリゴヌクレオチドという用語は、１つ以上の糖修飾ヌクレオシド及び／又は修飾されたヌクレオシド間結合を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドを表す。「キメラオリゴヌクレオチド」という用語は、糖修飾ヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを記述するために文献で使用されている用語である。いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドがキメラオリゴヌクレオチドであることが有利であり得る。

【０３１４】

相補性

「相補性」という用語は、ヌクレオシド／ヌクレオチドのワトソン・クリック塩基対合能力を説明する。ワトソン・クリック塩基対は、グアニン（Ｇ）－シトシン（Ｃ）及びアデニン（Ａ）－チミン（Ｔ）／ウラシル（Ｕ）である。オリゴヌクレオチドは修飾核酸塩基を有するヌクレオシドを含んでいてもよく、例えば５－メチルシトシンは、しばしばシトシンの代わりに用いられ、したがって、相補性という用語は、非修飾核酸塩基と修飾核酸塩基との間のワトソン・クリック塩基対合を包含することが理解されよう（例えば、Ｈｉｒａｏ ｅｔ ａｌ（２０１２）Ａｃｃｏｕｎｔｓ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ｖｏｌ ４５ ｐａｇｅ ２０５５ ａｎｄ Ｂｅｒｇｓｔｒｏｍ（２００９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｓｕｐｐｌ．３７ １．４．１を参照されたい）。

【０３１５】

本明細書で使用される「％相補的」という用語は、連続ヌクレオチド配列にわたって参照配列（例えば、標的配列又は配列モチーフ）に相補的である、核酸分子（例えば、オリゴヌクレオチド）の連続ヌクレオチド配列のヌクレオチドの割合（パーセント）を指す。したがって、相補性のパーセンテージは、２つの配列間（標的配列５’－３’と３’－５’からのオリゴヌクレオチド配列とを整列させた場合）で相補的である（ワトソン・クリック塩基対から）整列した核酸塩基の数を数え、その数をオリゴヌクレオチド中のヌクレオチドの総数で割り、１００を掛けることによって計算される。このような比較において、整列（塩基対を形成）しない核酸塩基／ヌクレオチドは、ミスマッチと称される。挿入及び欠失は、連続ヌクレオチド配列の％相補性の計算において許容されない。相補性の決定において、核酸塩基の化学的修飾は、核酸塩基がワトソン・クリック塩基対合を形成する機能的能力が保持される限り、無視されることが理解されるであろう（例えば、５－メチルシトシンは、％同一性の計算の目的のために、シトシンと同一であると見なされる）。

【０３１６】

本発明において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列とＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列との間の相補性のレベルは、少なくとも約７５％であり得る。

【０３１７】

本発明において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列と標的ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列との間の相補性のレベルは、少なくとも約８０％であり得る。

【０３１８】

本発明において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列とＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列との間の相補性のレベルは、少なくとも約８５％であり得る。

【０３１９】

本発明において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列とＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列との間の相補性のレベルは、少なくとも約９０％であり得る。

【０３２０】

本発明において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列とＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列との間の相補性のレベルは、少なくとも約９５％であり得る。

【０３２１】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配

列に完全に相補的であり得る。「完全に相補的」という用語は、１００％の相補性を指す。

【０３２２】

本発明の化合物は、ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡ中のＴＤＰ－４３結合部位に相補的である。

【０３２３】

完全な相補性は必要とされない場合があり、いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、それが効果的に結合するＴＤＰ－４３標的ＲＮＡ　ＴＤＰ－４３ＲＮＡ結合部位に対する１、２、３、４、５、６、７、８個又はそれを超えるミスマッチを含み得る。これに関して、異なるＴＤＰ－４３標的ＲＮＡ中の複数のＴＤＰ－４３結合部位に十分に相補的であるが同一ではないアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計することができる。いくつかの実施形態では、複数のＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的中のＴＤＰ－４３結合部位配列の完全な同一性がない場合、イノシンなどのユニバーサル塩基をアンチセンスオリゴヌクレオチド中の相補的位置に使用することができる。

【０３２４】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する１つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３２５】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する２つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３２６】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する３つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３２７】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する４つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３２８】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する５つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する６つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する７つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３３１】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対する８つ以上のミスマッチを含み得る。

【０３３２】

いくつかの実施形態では、１つ以上、例えば、２つ以上、３つ以上、４つ以上、５つ以上、６つ以上、７つ以上、又は８つ以上ミスマッチを含有する本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１０～３２ヌクレオチド長であるオリゴヌクレオチドについて－１０ｋｃａｌ未満の推定ΔＧ°値で標的核酸にハイブリダイズし得る。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、１つ以上、例えば、２つ以上、３つ以上、４つ以上、５つ以上、６つ以上、７つ以上、又は８つ以上ミスマッチを含有する本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１０～３２ヌクレオチド長であるオリゴヌクレオチドについて、－１２ｋｃａｌ、－１５ｋｃａｌ、－１７ｋｃａｌ、－２０ｋｃａｌ、－３０ｋｃａｌ、－４０ｋｃａｌ、－５０ｋｃａｌ又は－６０ｋｃａｌ未満の推定ΔＧ°値で標的核酸にハイブリダイズし得る。

【０３３４】
ΔＧ°値の計算については後述する。
【０３３５】
同一性
本明細書で使用される「同一性」という用語は、連続ヌクレオチド配列にわたって参照配列（例えば、配列モチーフ）と同一である、核酸分子（例えば、オリゴヌクレオチド）内の連続ヌクレオチド配列のヌクレオチドの割合（パーセントで表される）を指す。したがって、同一性のパーセンテージは、２つの配列（本発明の化合物の連続ヌクレオチド配列及び参照配列における）の間で同一の（一致する）整列された核酸塩基の数を数え、その数をオリゴヌクレオチドのヌクレオチドの総数で割り、１００を掛けることにより計算される。したがって、同一性の百分率＝（一致数×１００）／整列領域（例えば、連続ヌクレオチド配列）の長さ。挿入及び欠失は、連続ヌクレオチド配列の同一性のパーセンテージの計算において許容されない。同一性の決定において、核酸塩基の化学的修飾は、核酸塩基がＷａｔｓｏｎ　Ｃｒｉｃｋ塩基対を形成する機能的能力が保持される限り、無視されることが理解されよう（例えば、５－メチルシトシンは、同一性％の計算の目的のために、シトシンと同一であると見なされる）。
【０３３６】
ハイブリダイゼーション
本明細書で用いられる「ハイブリダイズ」又は「ハイブリダイズする」という用語は、２つの核酸鎖（例えば、オリゴヌクレオチド及び標的核酸）が対向する鎖上の塩基対間に水素結合を形成することにより二重鎖を形成することと理解されるべきである。２つの核酸鎖の間の結合の親和性は、ハイブリダイゼーションの強度である。これは、オリゴヌクレオチドの半分が標的核酸と二重鎖を形成する温度として定義される、融解温度（T_m）によって説明されることが多い。生理学的条件では、T_mは親和性に厳密に比例しない（Ｍｅｒｇｎｙ及びＬａｃｒｏｉｘ（２００３年）「Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ」第１３巻第５１５～５３７頁）。標準状態ギブス自由エネルギーΔＧ°は、結合親和性をより正確に表し、ΔＧ°＝－ＲＴｌｎ（K_d）によって反応の解離定数（K_d）に関連付けられ、Ｒは気体定数であり、Ｔは絶対温度である。したがって、オリゴヌクレオチドと標的核酸との間の反応の非常に低いΔＧ°は、オリゴヌクレオチドと標的核酸との間の強いハイブリダイゼーションを反映している。ΔＧ°は、水性濃度が１Ｍ、ｐＨが７、温度が３７℃の反応に関連したエネルギーである。標的核酸へのオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションは、自発反応であり、自発反応の場合、ΔＧ°はゼロ未満である。ΔＧ°は、Ｈａｎｓｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９６５，Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍ．３６－３８及びＨｏｌｄｇａｔｅ　ｅｔ　ａｌ．，２００５，Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ　Ｔｏｄａｙに記載されているように、例えば等温滴定熱量測定（ＩＴＣ）により、実験的に測定し得る。当業者は、ΔＧ°測定のために市販の装置が入手可能であることを知るであろう。ΔＧ°はまた、ＳａｎｔａＬｕｃｉａ，１９９８，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．９５：１４６０－１４６５によって記載された最近傍モデルを使用することによって、Ｓｕｇｉｍｏｔｏ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３４：１１２１１－１１２１６及びＭｃＴｉｇｕｅ　ｅｔ　ａｌ．，２００４，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　４３：５３８８－５４０５によって記載された適切に導出された熱力学パラメータを使用して、数値的に推定することができる。いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１０～３０ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドに対して－１０ｋｃａｌ未満の推定ΔＧ°値で標的核酸にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ハイブリダイゼーションの程度又は強度は、標準状態ギブス自由エネルギーΔＧ°により測定される。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、８～３０ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドに対して－１０ｋｃａｌの範囲未満、例えば－１５ｋｃａｌ未満、例えば－２０ｋｃａｌ未満、及び例えば－２５ｋｃａｌ未満の推定ΔＧ°値で標的核酸にハイブリダイズし得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、－１０から－６０ｋｃａｌ、例えば－１２から－４０、例えば－１５から－３０ｋｃａｌ、又は－１

６から－２７ｋｃａｌ、例えば－１８から－２５ｋｃａｌの推定ΔＧ°値で、標的核酸にハイブリダイズする。

【０３３７】

例示的なＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡは、スタスミン２、又はＳＣＧ１０、ＳＣＧＮ１０として公知の哺乳動物タンパク質、例えば以下の遺伝子として開示されるヒトＳＴＭＮ２である：ＥＮＳＧ００００００１０４４３５（ｅｎｓｅｍｂｌｅ．ｏｒｇ）、ヒト染色体８：７９，６１０，８１４－７９，６６６，１７５順鎖上にコード（ＧＲＣｈ３８：ＣＭ０００６７０．２）。

【０３３８】

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡはＣＡＭＫ２Ｂである。

【０３３９】

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡはＫＡＬＲＮである。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡはＵＮＣ１３Ａである。

【０３４１】

いくつかの実施形態では、ＴＤＰ－４３標的ＲＮＡはＡＣＴＬ６Ｂである。

【０３４２】

標的細胞

本明細書で使用される「標的細胞」という用語は、本発明の化合物の投与によって発現が補正される標的化ＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的を発現している細胞を指す。適切には、標的細胞はさらにＴＤＰ－４３が枯渇している。実験的使用のために、ＴＤＰ－４３枯渇は、例えば遺伝子操作（例えば、ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳ９）を介して、又はＴＤＰ－４３のＡＳＯ阻害剤の使用を介して、細胞内に操作され得る。

【０３４３】

いくつかの実施形態では、標的細胞は、インビボ又はインビトロであり得る。いくつかの実施形態では、標的細胞は、哺乳動物細胞、例えばげっ歯類細胞、例えばマウス細胞若しくはラット細胞、又は霊長類細胞、例えばサル細胞若しくはヒト細胞である。

【０３４４】

いくつかの実施形態では、標的細胞は、神経細胞である。

【０３４５】

インビトロ評価のために、標的細胞は、グルタミン酸作動性ニューロン（本明細書ではグルタニューロン細胞とも呼ばれる）、例えばヒトグルタミン酸作動性ニューロン、例えばＴＤＰ－４３が枯渇したヒトグルタミン酸作動性ニューロンであり得る。ヒトグルタミン酸作動性ニューロンは、Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｄｙｎａｍｉｃｓ（ｉＣｅｌｌ　ＧｌｕｔａＮｅｕｒｏｎｓ）から入手可能である。インビトロ評価のための標的細胞、例えばグルタニューロンはインビトロである。例えばインビトロ評価のための標的細胞のＴＤＰ－４３枯渇は、例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド又はｓｉＲＮＡ試薬を使用して達成され得るか、又は例えばＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９編集又はｓｈＲＮＡベクター発現を介して細胞に操作され得る。実施例においてさらに例示されるように、例えば、インビトロ使用のための標的細胞は、ヒト多能性幹細胞由来ニューロンであり得、例えば、これらは、ｉＣｅｌｌ　ＧｌｕｔａＮｅｕｒｏｎｓ　Ｋｉｔ，０１２７９　Ｃａｔ．Ｒ１０３４（Ｆｕｊｉｆｉｌｍ　Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｄｙｎａｍｉｃｓ）として得ることができる。

【０３４６】

スプライス調節

スプライス調節を使用して、潜在性スプライシングを修正し、選択的スプライシングを調節し、オープンリーディングフレームを回復させ、タンパク質ノックダウンを誘導することができる。

【０３４７】

スプライス調節は、プレｍＲＮＡの異なるスプライス産物の定量的評価を可能にするＲ

ＮＡシーケンシング（ＲＮＡｓｅｑ）によって、又は一方若しくは他方のスプライス形態に特異的であるように設計されたＰＣＲアッセイを使用するデジタル液滴ＰＣＲによってアッセイすることができる。本発明のいくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡのスプライシングを調節し、例えば、それらは、例えば標的細胞又はＴＤＰ－４３枯渇細胞において、エクソン１とエクソン２との間に位置するＲＮＡ配列を含む成熟ＳＴＭＮ２　ｍＲＮＡのレベルを低減させる（実施例に示される）。本発明のいくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＳＴＭＮ２プレｍＲＮＡのスプライシングを調節し、例えば、それらは、例えば標的細胞において、ＷＴ　ＳＴＭＮ２転写物と呼ばれる、エクソン１とエクソン２との間に位置するＲＮＡ配列を含まない成熟した正しくスプライシングされたＳＴＭＮ２　ｍＲＮＡのレベルを増強する。

【０３４８】

高親和性修飾ヌクレオシド

「高親和性修飾ヌクレオシド」は、修飾ヌクレオチドであり、これは、アンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれと、例えば融解温度（T^m）によって測定されるように、その相補的標的に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの親和性を増強する。本発明の高親和性修飾ヌクレオシドは、好ましくは、修飾ヌクレオシドあたり＋０．５～＋１２℃、より好ましくは＋１．５～＋１０℃、最も好ましくは＋３～＋８℃の融解温度の上昇をもたらす。数多くの高親和性修飾ヌクレオシドが当該技術分野において知られており、例えば、多くの２’置換ヌクレオシド及びロックド核酸（ＬＮＡ）が挙げられる（例えば、Ｆｒｅｉｅｒ＆Ａｌｔｍａｎｎ；Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄ　Ｒｅｓ．，１９９７，２５，４４２９－４４４３及びＵｈｌｍａｎｎ；Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ　ｉｎ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，２０００，３（２），２９３－２１３を参照されたい）。

【０３４９】

糖修飾

１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含む本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、修飾された糖部分、すなわち、ＤＮＡ及びＲＮＡに見られるリボース糖部分と比較した場合の糖部分の修飾を有する１つ以上のヌクレオシドをさらに含み得る。

【０３５０】

リボース糖部分の修飾を有する数多くのヌクレオシドは、親和性及び／又はヌクレアーゼ耐性などのオリゴヌクレオチドのある特定の性質を改善することを主な目的として作製されてきた。

【０３５１】

そのような修飾には、例えばヘキソース環（ＨＮＡ）又は二環式環（典型的には、リボース環（ＬＮＡ）のＣ２とＣ４炭素の間にバイラジカル架橋を有する）、又は典型的にはＣ２とＣ３炭素の間の結合を欠く非結合リボース環（例えば、ＵＮＡ）で置き換えることにより、リボース環構造が修飾されているものが含まれる。他の糖修飾ヌクレオシドには、例えばビシクロヘキソース核酸（国際公開第２０１１／０１７５２１号）又は三環式核酸（国際公開第２０１３／１５４７９８号）が含まれる。修飾ヌクレオシドにはまた、糖部分が例えばペプチド核酸（ＰＮＡ）又はモルホリノ核酸の場合には非糖部分で置き換えられているヌクレオシドが含まれる。

【０３５２】

糖修飾にはまた、リボース環上の置換基を、水素以外の基、又はＤＮＡ及びＲＮＡヌクレオシド中に天然に存在する２’－ＯＨ基に変更することによってなされる修飾も含まれる。置換基は、例えば２’、３’、４’、又は５’位で導入され得る。

【０３５３】

２’糖修飾ヌクレオシド

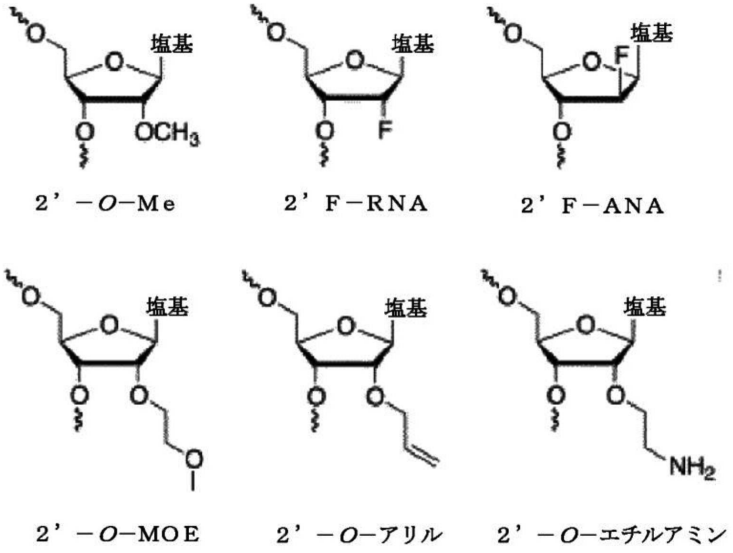
２’糖修飾ヌクレオシドは、２’位にＨ若しくは－ＯＨ以外の置換基を有するヌクレオシド（２’置換ヌクレオシド）、又はリボース環の２’炭素と第２の炭素との間に架橋を形成

できる２’結合バイラジカルを含むヌクレオシド、例えばＬＮＡ（２’－４’バイラジカル架橋）ヌクレオシドである。

【０３５４】

実際、２’糖置換ヌクレオシドの開発には多くの注目が集まっており、数多くの２’置換ヌクレオシドが、オリゴヌクレオチドに組み込まれた際に有益な特性を有することが見出されている。例えば、２’修飾糖は、増強された結合親和性及び／又は増加したヌクレアーゼ耐性をオリゴヌクレオチドにもたらすことができる。２’置換修飾ヌクレオシドの例は、２’－Ｏ－アルキル－ＲＮＡヌクレオシド、２’－Ｏ－メチル－ＲＮＡヌクレオシド、２’－アルコキシ－ＲＮＡヌクレオシド、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（ＭＯＥ）ヌクレオシド、２’－アミノ－ＤＮＡヌクレオシド、２’－フルオロ－ＲＮＡヌクレオシド及び２’－Ｆ－ＡＮＡヌクレオシドである。さらなる例については、例えばＦｒｅｉｅｒ＆Ａｌｔｍａｎｎ；Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．，１９９７，２５，４４２９－４４４３及びＵｈｌｍａｎｎ；Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，２０００，３（２），２９３－２１３、及びＤｅｌｅａｖｅｙ ａｎｄ Ｄａｍｈａ，Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２０１２，１９，９３７を参照されたい。以下は、いくつかの２’置換修飾ヌクレオシドの例示である。

【化５】



【０３５５】

本発明に関して、２’置換糖修飾ヌクレオシドは、ＬＮＡのような２’架橋ヌクレオシドを含まない。

【０３５６】

ロックド核酸ヌクレオシド（ＬＮＡヌクレオシド）

「ＬＮＡヌクレオシド」は、上記ヌクレオシドのリボース糖環のＣ２’とＣ４’とを結合するバイラジカル（「２’－４’架橋」とも称される）を含む２’修飾ヌクレオシドであり、これはリボース環のコンホメーションを制限又は固定する。これらのヌクレオシドはまた、文献において、架橋核酸又は二環式核酸（ＢＮＡ）とも称されている。リボースの立体配座の固定は、ＬＮＡが相補的ＲＮＡ又はＤＮＡ分子のオリゴヌクレオチドに組み込まれる場合、ハイブリダイゼーションの親和性の増強（二重鎖の安定化）に関連している。これは、オリゴヌクレオチド／相補二重鎖の融解温度を測定することによって、日常的に決定されうる。

【０３５７】

非限定的で例示的なＬＮＡヌクレオシドは、国際公開第９９／０１４２２６、国際公開第００／６６６０４、国際公開第９８／０３９３５２、国際公開第２００４／０４６１６０、国際公開第００／０４７５９９、国際公開第２００７／１３４１８１、国際公開第２

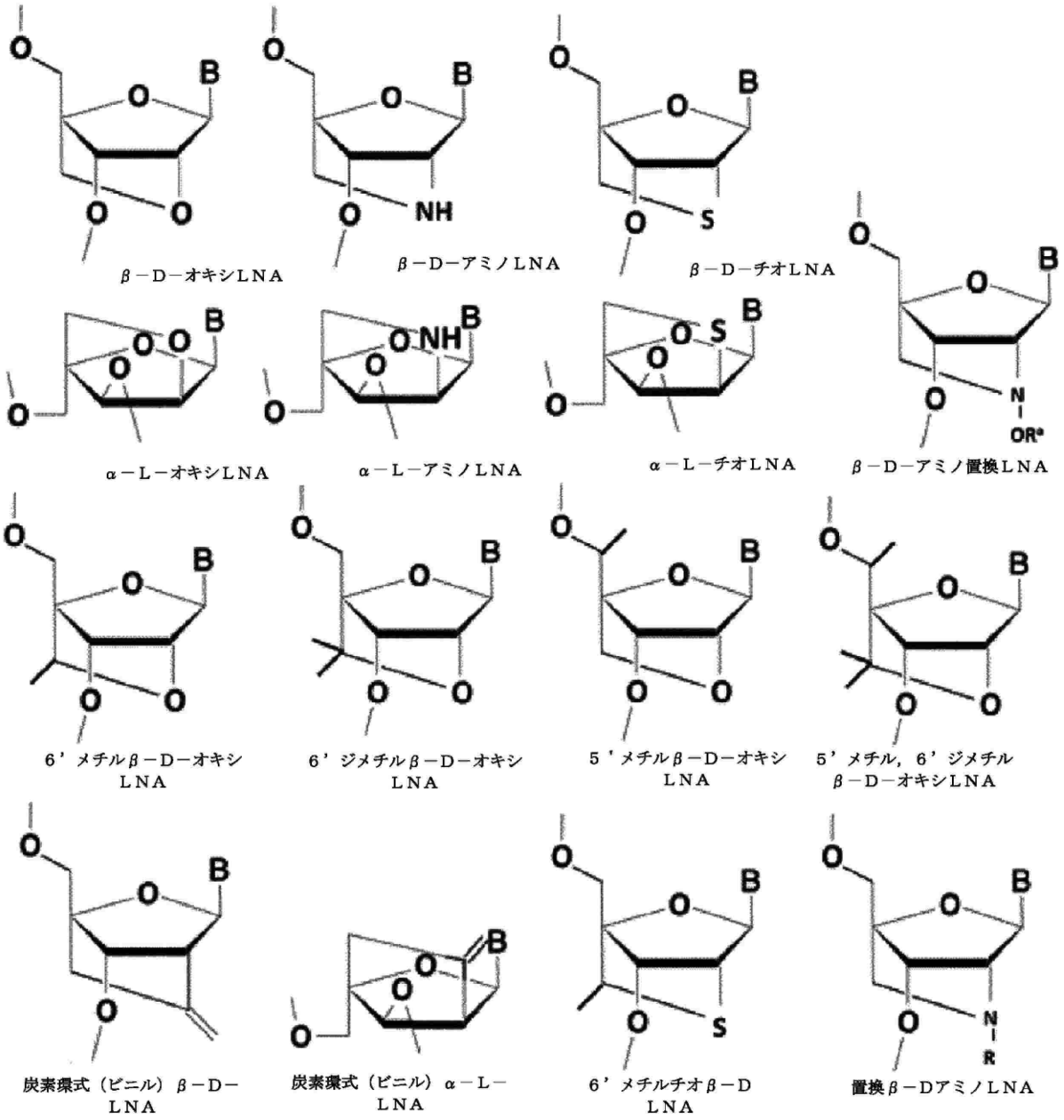
０１０／０７７５７８、国際公開第２０１０／０３６６９８、国際公開第２００７／０９００７１、国際公開第２００９／００６４７８、国際公開第２０１１／１５６２０２、国際公開第２００８／１５４４０１、国際公開第２００９／０６７６４７、国際公開第２００８／１５０７２９、Ｍｏｒｉｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．１２，７３－７６、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．２０１０，Ｖｏｌ ７５（５）ｐｐ．１５６９－８１、及びＭｉｔｓｕｏｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２００９，３７（４），１２２５－１２３８、及びＷａｎ ａｎｄ Ｓｅｔｈ，Ｊ．Ｍｅｄｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２０１６，５９，９６４５－９６６７に開示されている。

【０３５８】

さらなる非限定的な例示的ＬＮＡヌクレオシドを、スキーム１に開示する。

【化６】

スキーム１：



【０３５９】

特定のＬＮＡヌクレオシドは、β－Ｄ－オキシ－ＬＮＡ、６’－メチル－β－Ｄ－オキ

シＬＮＡ、例えば（Ｓ）－６’－メチル－β－Ｄ－オキシ－ＬＮＡ（ＳｃＥＴ）及びＥＮＡである。

【０３６０】

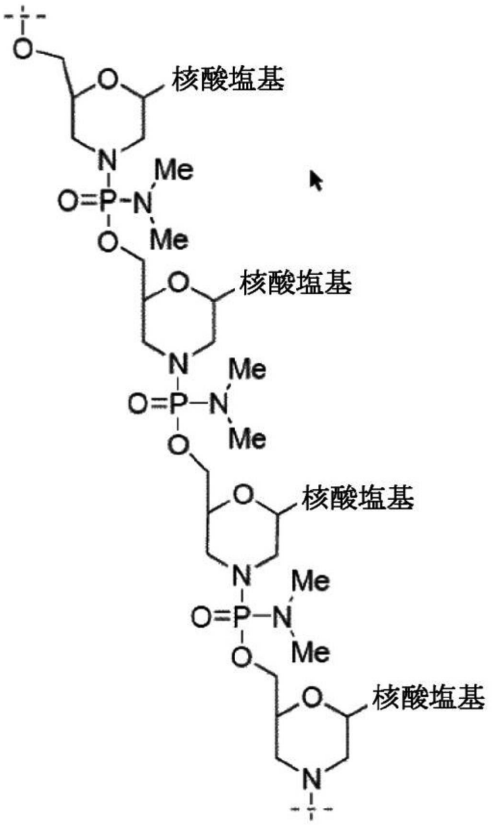
特に有利なＬＮＡは、β－Ｄ－オキシ－ＬＮＡである。

【０３６１】

モルホリノオリゴヌクレオチド

いくつかの実施形態において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、モルホリノヌクレオシドを含むか、又はモルホリノヌクレオシドからなる（すなわち、モルホリノオリゴマーであり、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）として）。スプライス調節モルホリノオリゴヌクレオチドは、臨床使用が承認されており、例えば、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの処置に使用される、ＤＭＤのフレームシフト変異を標的とする３０ｎｔモルホリノオリゴヌクレオチドである、エテプリルセンを参照のこと。モルホリノオリゴヌクレオチドは、例えば、以下の４つの連続するモルホリノヌクレオチドの説明に示されるように、ホスホロジアミデート基を介して連結されたメチレンモルホリン環など、リボースではなく６員のモルホリン環に結合した核酸塩基を有する。

【化７】



【０３６２】

いくつかの実施形態では、本発明のモルホリノオリゴヌクレオチドは、例えば、２０～４０モルホリノヌクレオチド長、例えば、２５～３５モルホリノヌクレオチド長であり得る。

【０３６３】

ＲＮａｓｅ　Ｈの活性及び動員

アンチセンスオリゴヌクレオチドのＲＮａｓｅ　Ｈ活性とは、相補的ＲＮＡ分子との二重鎖にあるときにＲＮａｓｅ　Ｈを動員する能力を指す。国際公開第０１／２３６１３号は、ＲＮａｓｅＨ活性を決定するためのインビトロ方法を提供し、これはＲＮａｓｅＨを動員する能力の決定に使用され得る。典型的には、オリゴヌクレオチドが、相補的標的核酸配列が提供された場合に、試験されている修飾オリゴヌクレオチドと同じ塩基配列を有

するが、オリゴヌクレオチド中の全てのモノマー間にホスホロチオエート結合を有するＤＮＡモノマーのみを含有するオリゴヌクレオチドを使用し、国際公開第０１／２３６１３号（参照により本明細書に組み込まれる）の実施例９１～９５により提供される方法論を使用したときに決定された初期速度の少なくとも５％、例えば、少なくとも１０％又は２０％超のｐｍｏｌ／ｌ／分で測定された初期速度を有する場合に、このオリゴヌクレオチドはＲＮａｓｅ　Ｈを動員し得ると見なされる。ＲＨａｓｅ　Ｈ活性の決定に使用するために、組換えＲＮａｓｅ　Ｈ１が、Ｌｕｂｉｏ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ＧｍｂＨ、Ｌｕｃｅｒｎｅ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄから入手可能である。

【０３６４】

ＤＮＡオリゴヌクレオチドは、２’糖修飾ヌクレオシド、典型的には高親和性２’糖修飾ヌクレオシド、例えば２－Ｏ－ＭＯＥ及び／又はＬＮＡを含む領域が５’及び３’に隣接するＤＮＡヌクレオシド（典型的には少なくとも５又は６つの連続ＤＮＡヌクレオシド）の領域を含むギャップマーオリゴヌクレオチドと同様に、ＲＮａｓｅＨを効果的に動員することが公知である。スプライシングの効果的な調節のために、プレｍＲＮＡの分解は望ましくなく、したがって、標的のＲＮａｓｅＨ分解を回避することが好ましい。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、好ましくはギャップマーオリゴヌクレオチドではない。ＲＮａｓｅＨ動員は、アンチセンスオリゴヌクレオチド中の連続ＤＮＡヌクレオチドの数を制限することによって回避され得、したがって、効果的なスプライス調節のために、ミックスマー（ｍｉｍｘｅｒ）及びトータルマー（ｔｏｔａｌｍｅｒ）設計が使用され得る。

【０３６５】

ミックスマー及びトータルマー

スプライス調節のために、ＲＮＡａｓｅＨを動員しないアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用することがしばしば有利である。ＲＮａｓｅＨ活性はＤＮＡヌクレオチドの連続配列を必要とするので、アンチセンスオリゴヌクレオチドのＲＮａｓｅＨ活性は、３つを超えるか、又は４つを超える連続ＤＮＡヌクレオシドの領域を含まないアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計することによって達成され得る。これは、２’糖修飾ヌクレオシドなどの糖修飾ヌクレオシドと、１、２若しくは３つのＤＮＡヌクレオシドなどのＤＮＡヌクレオシドの短い領域とを含むアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオシド領域をミックスマー設計で使用することによって達成され得る。ミックスマーは、本明細書において、ヌクレオシドが１つのＬＮＡヌクレオシドと１つのＤＮＡヌクレオシドとの間、例えば５’及び３’末端ＬＮＡヌクレオシドを有するＬＤＬＤＬＤＬＤＬＤＬＤＬＬとの間で交互になる各第２の設計、並びに各第３のヌクレオシドがＬＮＡヌクレオシドであるＬＤＤＬＤＤＬＤＤＬＤＤＬＤＤＬなどの各第３の設計によって例示される。

【０３６６】

トータルマーは、ＤＮＡ又はＲＮＡヌクレオシドを含まないアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列であり、例えば、治療的使用のための効果的なスプライス調節因子であると報告されている完全ＭＯＥホスホロチオエート、例えばＭＭＭ

本発明のオリゴヌクレオチドの核酸塩基の連続する配列は、典型的には、異なるＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的に存在する複数のＴＤＰ－４３結合部位に相補的である。ＴＤＰ－４３結合部位に相補的、例えば完全に相補的であるアンチセンスオリゴヌクレオチドの領域は、連続ヌクレオチド配列と呼ばれる。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドの全てのヌクレオシドは、連続ヌクレオチド配列内にある（すなわち、アンチセンスオリゴヌクレオチド及び連続ヌクレオチド配列は、同じ長さのヌクレオチドである）。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、連続ヌクレオチド配列と、任意に、コンジュゲート又は他の非相補的末端ヌクレオチド（例えば、領域Ｄ’又はＤ’’）などの任意の官能基にオリゴヌクレオチドを連結し得るヌクレオチドベースのリンカー領域とを含む。

【０３７０】

本発明のオリゴヌクレオチドは、いくつかの実施形態では、標的核酸に相補的なオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列、例えばミックスマー又はトータルマー、並びにさらに５’及び／又は３’ヌクレオシドを含むか、又はそれからなり得る。さらなる５’及び／又は３’ヌクレオシドは、標的核酸に完全に相補的であっても、完全に相補的でなくてもよい。このようなさらなる５’及び／又は３’ヌクレオシドは、本明細書では領域Ｄ’及びＤ’’と称され得る。

【０３７１】

領域Ｄ’又はＤ’’の付加は、連続ヌクレオチド配列、例えばミックスマー又はトータルマーをコンジュゲート部分又は別の官能基に連結する目的のために使用され得る。連結に用いられる場合、コンジュゲート部分を有する連続ヌクレオチド配列は、生体切断可能なリンカーとしての役割を果たしうる。あるいは、それはエキソヌクレアーゼ保護を提供するために、若しくは合成又は製造を容易にするために使用されてもよい。

【０３７２】

領域Ｄ’又はＤ’’は、独立して、１、２、３、４又は５個の追加のヌクレオチドを含むか、又はそれからなり、標的核酸に相補的であっても、相補的でなくてもよい。Ｆ又はＦ’領域に隣接するヌクレオチドは、ＤＮＡ又はＲＮＡなどの糖修飾ヌクレオチドではなく、若しくはこれらの塩基修飾バージョンでもない。Ｄ’又はＤ’領域は、ヌクレアーゼ感受性の生体切断可能なリンカーとしての役割を果たし得る（リンカーの定義を参照されたい）。いくつかの実施形態では、追加の５’及び／又は３’末端ヌクレオチドは、ホスホジエステル結合で結合されており、ＤＮＡ又はＲＮＡである。領域Ｄ’又はＤ’’としての使用に好適なヌクレオチドベースの生体切断可能なリンカーは、国際公開第２０１４／０７６１９５号に開示されており、これには例としてホスホジエステル結合ＤＮＡジヌクレオチドが含まれる。ポリオリゴヌクレオチド構築物における生体切断可能なリンカーの使用は国際公開第ＷＯ２０１５／１１３９２２号に開示されており、それらは複数のアンチセンス構築物を単一のオリゴヌクレオチド内で結合するのに使用されている。

【０３７３】

一実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ミックスマー又はトータルマーを構成する連続ヌクレオチド配列に加えて、領域Ｄ’及び／又はＤ’’を含む。

【０３７４】

いくつかの実施形態では、領域Ｄ’又はＤ’’とミックスマー又はトータルマー領域との間に位置するヌクレオシド間結合は、ホスホジエステル結合である。

【０３７５】

リンカー

結合又はリンカーは、１つ以上の共有結合を介して目的の１つの化学基又はセグメントを目的の別の化学基又はセグメントに連結する、２つの原子間の接続である。コンジュゲート部分は、直接又は連結部分（例えば、リンカー又はテザー）を介してオリゴヌクレオチドに結合させることができる。リンカーは、第３の領域、例えばコンジュゲート部分（領域Ｃ）を、第１の領域、例えば、標的核酸に相補的なオリゴヌクレオチド又は連続ヌクレオチド配列（領域Ａ）に共有結合する役割を果たす。

【０３７６】
本発明のいくつかの実施形態において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、任意に、標的核酸に対して相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド又は連続ヌクレオチド配列（領域Ａ又は第１の領域）と、コンジュゲート部分（領域Ｃ又は第３の領域）との間に位置するリンカー領域（第２の領域又は領域Ｂ及び／又は領域Ｙ）を含み得る。
【０３７７】
領域Ｂは、哺乳動物の体内で通常遭遇する又は遭遇するものに類似した条件下で切断可能である生理学的に不安定な結合を含むか、又はそれからなる生体切断可能なリンカーを指す。生理学的に不安定なリンカーが化学的変換（例えば、切断）を受ける条件には、ｐＨ、温度、酸化又は還元条件、若しくは薬剤などの化学条件、並びに哺乳動物の細胞で見られる又は遭遇するものに類似した塩濃度が含まれる。哺乳動物の細胞内条件には、タンパク質分解酵素又は加水分解酵素又はヌクレアーゼなどの哺乳動物細胞に通常存在する酵素活性の存在も含まれる。一実施形態では、生体切断可能なリンカーは、Ｓ１ヌクレアーゼ切断の影響を受けやすい。いくつかの実施形態では、ヌクレアーゼ感受性リンカーは、少なくとも２つの連続するホスホジエステル結合を含むＤＮＡヌクレオシドなどの１～５つのヌクレオシドを含む。ホスホジエステルを含有する生体切断可能なリンカーは、国際公開第２０１４／０７６１９５号パンフレットにより詳細に記載されている。
【０３７８】
領域Ｙは、必ずしも生体切断可能ではないが、主にコンジュゲート部分（領域Ｃ又は第３の領域）をオリゴヌクレオチド（領域Ａ又は第１の領域）に共有結合させるのに役立つリンカーを指す。領域Ｙリンカーは、鎖構造、又はエチレングリコール、アミノ酸単位若しくはアミノアルキル基などの繰返し単位のオリゴマーを含み得る。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下の局所要素Ａ－Ｃ、Ａ－Ｂ－Ｃ、Ａ－Ｂ－Ｙ－Ｃ、Ａ－Ｙ－Ｂ－Ｃ又はＡ－Ｙ－Ｃから構築することができる。いくつかの実施形態では、リンカー（領域Ｙ）は、例えばＣ６～Ｃ１２アミノアルキル基を含むＣ２～Ｃ３６アミノアルキル基などのアミノアルキルである。いくつかの実施形態では、リンカー（領域Ｙ）は、Ｃ６アミノアルキル基である。
【０３７９】
処置
本明細書で使用される「処置」という用語は、既存の疾患（例えば、本明細書で言及される疾患又は障害）の処置、又は疾患の予防（ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ）、すなわち予防法（ｐｒｏｐｈｙｌａｘｉｓ）の両方を指す。したがって、本明細書で言及される処置は、いくつかの実施形態において、予防的であり得ることが認識されよう。いくつかの実施形態では、処置は予防的ではなく、例えば、処置は、患者において診断された既存の疾患症状の処置である。
【０３８０】
本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド
本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、複数の独立したプレｍＲＮＡ転写物上のＲＮＡ結合部位、例えば複数のプレｍＲＮＡ転写物上のＴＤＰ－４３　ＲＮＡ結合部位に相補的である。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えばプレｍＲＮＡスプライシングの（独立した）調節、ＲＮＡ安定化の増強、コードされたタンパク質の発現の増強、プレｍＲＮＡによってコードされる切断型タンパク質の発現の低減を介して、複数のプレｍＲＮＡ転写物の発現を調節することができる。したがって、実施例に示されるように、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、正確に発現された機能性タンパク質をコードする成熟ｍＲＮＡへのプレｍＲＮＡプロセシングの忠実度を高めるために使用され得る。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、プレｍＲＮＡ成熟の調節不全に関連する疾患の処置における使用に適し得る。
【０３８１】
いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドと標的核酸ＴＤＰ－４３結合領域との間に１、２、３、４、５、６、

７、８、又はそれよりも多くのミスマッチを含み得る。ミスマッチにもかかわらず、標的核酸へのハイブリダイゼーションは、ＴＤＰ－４３　ＲＮＡ標的ＲＮＡの所望の調節を示すのに依然として十分であり得る。ミスマッチから生じる結合親和性の低減は、アンチセンスオリゴヌクレオチド内のヌクレオチド数の増加、及び／又は、標的への結合親和性を増加させることができる修飾ヌクレオシドの数、例えばオリゴヌクレオチド配列内に存在する、ＬＮＡを含む２’糖修飾ヌクレオシドの数の増加により有利に補償され得る。

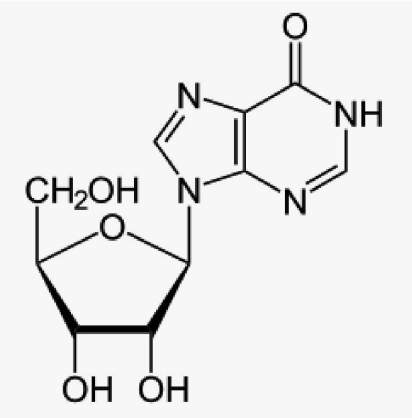
【０３８２】

いくつかの実施形態では、イノシンなどの１、２、３、４、５、６、７、８又はそれ以上のユニバーサルヌクレオシドをミスマッチ位置で使用することができる。

【０３８３】

イノシンは、以下の構造を有するヌクレオシドである。

【化８】



【０３８４】

ユニバーサルヌクレオシドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドが、非同一のＴＤＰ－４３結合領域を有する異なるＴＤＰ－４３標的ＲＮＡを標的とする場合に特に有用である。

【０３８５】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に１つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３８６】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に２つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３８７】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に３つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３８８】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に４つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３８９】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に５つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３９０】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に６つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３９１】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に７つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３９２】

いくつかの実施形態では、連続ヌクレオチド配列は、ＴＤＰ－４３結合部位又は標的配列に対するミスマッチを表す位置に８つ以上のユニバーサルヌクレオチドを含み得る。

【０３９３】

いくつかの実施形態では、１つ以上、例えば、２つ以上、３つ以上、４つ以上、５つ以上、６つ以上、７つ以上、又は８つ以上の、ミスマッチを表す位置におけるユニバーサルヌクレオチドを含有する本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１０～３２ヌクレオチド長であるオリゴヌクレオチドについて－１０ｋｃａｌ未満の推定ΔＧ°値で標的核酸にハイブリダイズし得る。

【０３９４】

いくつかの実施形態では、１つ以上、例えば、２つ以上、３つ以上、４つ以上、５つ以上、６つ以上、７つ以上、又は８つ以上ミスマッチを含有する本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１０～３２ヌクレオチド長であるオリゴヌクレオチドについて、－１２ｋｃａｌ、－１５ｋｃａｌ、－１７ｋｃａｌ、－２０ｋｃａｌ、－３０ｋｃａｌ、－４０ｋｃａｌ、－５０ｋｃａｌ又は－６０ｋｃａｌ未満の推定ΔＧ°値で標的核酸にハイブリダイズし得る。

【０３９５】

ΔＧ°値の計算については上述されている。

【０３９６】

いくつかの実施形態において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその連続ヌクレオチド配列は、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９又は４０個の連続ヌクレオチド長を含むか、又はそれからなる。

【０３９７】

いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチド又は連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される配列を含むか、又はこの配列からなる。配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６に示される配列は、塩基対形成において示される核酸塩基として機能する修飾核酸塩基を含んでいてもよく、例えば、メチルシトシンの代わりに５－メチルシトシンが使用され得ることが理解されるであろう。イノシンは、ユニバーサル塩基として使用され得る。

【０３９８】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又は連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される配列に対して少なくとも７５％、例えば少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％の同一性、少なくとも９５％の同一性又は９５％を超える同一性を有する８～３０又は８～４０ヌクレオチド長を含むか又はそれからなる。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチド又は連続ヌクレオチド配列は、配列番号１～８３又は配列番号１１８～１２６からなる群から選択される配列に対して１００％の同一性を有する８～３０又は８～４０ヌクレオチド長を含むか又はそれからなる。

【０３９９】

連続核酸塩基配列（モチーフ配列）は、例えばヌクレアーゼ耐性及び／又は標的核酸に対する結合親和性を増大させるために修飾され得ることが理解される。

【０４００】

修飾ヌクレオシド（高親和性修飾ヌクレオシドなど）がオリゴヌクレオチド配列に組み込まれるパターンは、一般にオリゴヌクレオチド設計と称される。

【０４０１】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドを用いて設計される。有利には、高親和性修飾ヌクレオシドが使用される。

【０４０２】

一実施形態では、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を

含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも１個のさらなる又は追加の修飾ヌクレオシド、例えば少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６個の修飾ヌクレオシド、少なくとも１７個の修飾ヌクレオシド、少なくとも１８個の修飾ヌクレオシド、少なくとも１９個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２０個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２１個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２２個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２３個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２４個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２５個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２６個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２７個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２８個の修飾ヌクレオシド、少なくとも２９個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３０個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３１個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３２個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３３個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３４個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３５個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３６個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３７個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３８個の修飾ヌクレオシド、少なくとも３９個の修飾ヌクレオシド又はそれよりも多くをさらに含み得る。一実施形態では、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１～１０個の修飾ヌクレオシド、例えば２～９個の修飾ヌクレオシド、例えば３～８個の修飾ヌクレオシド、例えば４～７個の修飾ヌクレオシド、例えば６又は７個の修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。適切な修飾は、「修飾ヌクレオシド」、「高親和性修飾ヌクレオシド」、「糖修飾」、「２’糖修飾」及び「ロックド核酸（ＬＮＡ）」に記載されている。

【０４０３】

一実施形態では、１つ以上の２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１つ以上の糖修飾ヌクレオシド、例えば２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。好ましくは、本発明のオリゴヌクレオチドは、２’－Ｏ－アルキル－ＲＮＡ、２’－Ｏ－メチル－ＲＮＡ、２’－アルコキシ－ＲＮＡ、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ、２’－アミノ－ＤＮＡ、２’－フルオロ－ＤＮＡ、アラビノ核酸（ＡＮＡ）、２’－フルオロ－ＡＮＡ及びＬＮＡヌクレオシドからなる群から独立して選択される１つ以上の２’糖修飾ヌクレオシドをさらに含み得る。修飾ヌクレオシド（複数可）の１つ以上がロックド核酸（ＬＮＡ）である場合、有利である。

【０４０４】

さらなる実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つの修飾されたヌクレオシド間結合を含む。適切なヌクレオシド間修飾は、「修飾されたヌクレオシド間結合」に記載されている。連続ヌクレオチド配列内の少なくとも７５％、例えばすべてのヌクレオシド間結合がホスホロチオエート又はボラノホスフェート結合であれば有利である。いくつかの実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの連続配列中の全てのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である。

【０４０５】

薬学的に許容され得る塩

本明細書で使用される「塩」という用語は、その一般的に知られている意味、すなわちアニオン及びカチオンのイオン性集合体に適合する。

【０４０６】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容され得る塩を意図する。言い換えると、本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容され得る塩を提供する。

【０４０７】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容され得る塩は、ナトリウム塩、カリウム塩又はアンモニウム塩である。

【０４０８】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容され得るナトリウ

ム塩を提供する。
【０４０９】
本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容され得るカリウム塩を提供する。
【０４１０】
本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容され得るアンモニウム塩を提供する。
【０４１１】
アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーターの送達
本発明は、アンチセンスオリゴヌクレオチドが、脂質ベースの送達ビヒクルにカプセル化されているか、デンドリマーに共有結合若しくはカプセル化されているか、又はアプタマーにコンジュゲートされている、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。
【０４１２】
これは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを標的とされる細胞に送達すること、及び／又はアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬物動態を改善することを目的とし得る。
【０４１３】
脂質ベースの送達ビヒクルの例としては、水中油型エマルジョン、ミセル、リポソーム及び脂質ナノ粒子が挙げられる。
【０４１４】
製造方法
さらなる態様では、本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを製造するための方法であって、ヌクレオチド単位を反応させ、それによってオリゴヌクレオチド内に含まれる共有結合された連続ヌクレオチド単位を形成することを含む、方法を提供する。好ましくは、この方法は、ホスホロアミダイト化学を使用する（例えば、Ｃａｒｕｔｈｅｒｓら（１９８７年）「Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ」第１５４巻第２８７～３１３頁を参照のこと）。さらなる実施形態では、この方法が、連続ヌクレオチド配列をコンジュゲート部分（リガンド）と反応させて、コンジュゲート部分をアンチセンスオリゴヌクレオチドに共有結合させることをさらに含む。さらなる態様では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩、及び／又はアジュバントと混合することを含む、本発明の組成物を製造する方法が提供される。
【０４１５】
薬学的組成物
さらなる態様では、本発明は、前述のアンチセンスオリゴヌクレオチドのいずれかと、薬学的に許容され得る希釈剤、担体、塩及び／又はアジュバントとを含む薬学的組成物を提供する。薬学的に許容され得る希釈剤には、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）が含まれ、薬学的に許容され得る塩には、限定するものではないが、ナトリウム塩及びカリウム塩が含まれる。いくつかの実施形態では、薬学的に許容され得る希釈剤は、無菌リン酸緩衝生理食塩水である。いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、５０～３００μＭ溶液の濃度で薬学的に許容され得る希釈剤中で使用される。
【０４１６】
用途
本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、診断、治療及び予防のための研究試薬として利用され得る。
【０４１７】
研究では、そのようなアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して、細胞（例えば、神経細胞などのインビトロ細胞培養物）及び実験動物におけるＴＤＰ－４３の活性を模倣し、それによって標的の機能分析又は治療的介入の標的としてのその有用性の評価を促進す

ることができる。

【０４１８】

本発明は、異常なレベル又は枯渇したレベルのＴＤＰ－４３を発現している細胞においてＴＤＰ－４３の機能性を増強するためのインビボ又はインビトロ方法などの方法を提供し、該方法は、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物を有効量で細胞に投与することを含む。いくつかの実施形態では、標的細胞は、哺乳動物細胞、特にヒト細胞である。標的細胞は、哺乳動物の組織の一部を形成するインビトロ細胞培養物又はインビボ細胞であってよい。好ましい実施形態では、標的細胞は、正常なＴＤＰ－４３活性が枯渇しているニューロン細胞などのニューロン細胞である。いくつかの実施形態では、標的細胞は、ＴＤＰ－４３の疾患関連バリアントを発現し、及び／又は機能不全ＴＤＰ－４３を発現し得る。

【０４１９】

治療のために、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＴＤＰ－４３を模倣することによって処置することができる疾患又は障害を有することが疑われる動物又はヒトに投与することができる。

【０４２０】

本発明は、疾患を処置又は予防するための方法であって、治療的有効量又は予防的有効量の本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物を、疾患を患うか、又はそれに罹り易い対象に投与することを含む、方法を提供する。

【０４２１】

本発明はまた、医薬として使用するための本明細書で定義されるアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物に関する。

【０４２２】

本発明に従ったアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物は、典型的には有効量で投与される。

【０４２３】

本発明はまた、本発明による障害の処置のための医薬の製造のため、又は本明細書で言及される障害の処置方法のための、上記本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用を提供する。

【０４２４】

本発明はさらに、ＴＤＰ－４３の病態又は核からのＴＤＰ－４３の誤局在化を特徴とする神経変性障害、例えばＡＬＳなどの神経変性障害としての神経障害を処置するための医薬を製造するための、本明細書で定義されるアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物の使用に関する。

【０４２５】

本発明はまた、本明細書で言及される疾患又は障害を処置する方法で使用するための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供する。

【０４２６】

一実施形態では、本発明は、ＴＤＰ－４３の病態又は核からのＴＤＰ－４３の誤局在化を特徴とする神経変性障害、例えばＡＬＳなどの神経変性障害としての神経障害の処置に使用するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物に関する。

【０４２７】

疾患又は障害は、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、進行性核上性麻痺（ＰＳＰ）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症３、ミオパシー及び慢性外傷性脳症からなる群から選択され得る。

【０４２８】

投与

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物は、例えば、脳内、脳室内

又は髄腔内投与によって投与され得る。

【０４２９】

好ましい実施形態において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内又は筋肉内注射若しくは注入、髄腔内又は頭蓋内、例えば脳内又は脳室内、硝子体内投与を含む非経口経路によって投与される。一実施形態では、活性アンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物は静脈内投与される。別の実施形態では、活性アンチセンスオリゴヌクレオチド又は薬学的組成物は皮下投与される。

【０４３０】

併用療法

いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の薬学的組成物は、１つ以上の別の治療剤との併用処置において使用するためのものである。

【実施例】

【０４３１】

実施例１：ＴＤＰ４３タンパク質の非存在下で誤ってスプライシングされたｍＲＮＡの同定

ＡＬＳ疾患の１つの顕著な特徴は、患者の神経細胞のごく一部に細胞質内凝集型ＴＤＰ４３タンパク質が存在することである。ＴＤＰ４３の細胞質内凝集の帰結は、ＴＤＰ４３が細胞核内において枯渇することであり、したがって細胞核内でその正常な機能を果たすことができない。

【０４３２】

ＴＤＰ４３はｍＲＮＡスプライシングに影響を及ぼすことが示されている。そのｍＲＮＡがＴＤＰ４３の存在によって調節される新しい遺伝子を同定するために、本発明者らは、神経細胞モデルにおいてＴＤＰ４３のノックダウンを行った。細胞に対してＲＮＡ配列決定を行い、新たなスプライスパターンを有する影響を受けた遺伝子を同定するために、デノボ転写物分析を行った。

【０４３３】

ヒトグルタミン酸作動性ニューロン（Ｆｕｊｉｆｉｌｍｓ）を、１０，０００個の生きた星状膠細胞（Ｆｕｊｉｆｉｌｍｓ）と一緒に、２００μｌの培養培地中、ラミニン及びポリ（エチレンイミン）溶液（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）でコーティングした９６ウェルプレート中に、６０，０００生細胞で播種した（－１日目）。

【０４３４】

ＴＤＰ－４３をノックダウンするために、化合物Ａ（ＩＤ番号：１、配列番号１３）を０日目に５μＭで培養培地に添加し、他のウェルでは、対照として、代わりにＰＢＳを添加した。実験全体の間、細胞培養培地の半分を週に３回交換した（２、５、７、１０、１２、１４及び１７日目）。Ｍａｇｎａｐｕｒｅ溶解緩衝液（Ｒｏｃｈｅ）を使用して細胞を２０日目に回収し、ＤＮａｓｅ処理工程を含み製造業者の指示に従ってＲＮＡをＭａｇＮＡ　ｐｕｒｅ　９６システム（Ｒｏｃｈｅ）で単離した。ＫＡＰＡ　ｍＲＮＡ　ＨｙｐｅｒＰｒｅｐ　Ｋｉｔ　Ｉｌｌｕｍｉｎａ（登録商標）Ｐｌａｔｆｏｒｍｓ（Ｒｏｃｈｅ）を使用して、１００ｎｇの総ＲＮＡからＮＧＳライブラリーを調製した。ライブラリーを、１５０ｂｐのリード長でＮｏｖａＳｅｑ６０００シーケンサー（Ｉｌｌｕｍｉｎａ）においてペアードエンドシーケンシングに供した。データ分析は、ＣＬＣ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　Ｗｏｒｋｂｅｎｃｈ　２１を使用して行った。ｈｇ３８ゲノムアセンブリを使用して巨大なギャップマッピング分析を行うことによって、まずデータを分析し、続いて転写物を発見した。予測された新規スプライス事象を手作業での目視検査によって調査して、実際のスプライス事象を同定した。ＴＤＰ４３枯渇の結果として同定されたミススプライシング事象のいくつかを以下に示すが、これは後にＡＳＯを使用して再び回復させた（実施例２）。

【０４３５】

ＳＴＭＮ２：ポリＡシグナル部位を含有する新規エクソン２の包含は、切断型転写物を

もたらし、切断型ＳＴＭＮ２タンパク質を産生する。新規エクソン２の第１の塩基は、Ｃｈｒ　８　ｐｏｓ　７９，６１６，８２２（ｈｇ３８）に位置する。

【０４３６】

ＣＡＭＫ２Ｂ：スプライスドナー部位の新規使用は、伸長エクソンをもたらし、転写物のナンセンス媒介崩壊を引き起こす。伸長エクソンの最後の塩基は、Ｃｈｒ　７　ｐｏｓ　４４，２２０，９０１（ｈｇ３８）における次のカノニカルスプライスアクセプター部位と共にスプライスである位置Ｃｈｒ　７　ｐｏｓ　４４，２２２，１１７（ｈｇ３８）に位置する。

【０４３７】

ＫＡＬＲＮ：新規エクソンの包含は、未成熟終止コドン及び転写物のナンセンス媒介崩壊をもたらす。新規エクソンは、２つの可能なスプライスアクセプター部位及び同じスプライスドナー部位を有し、最初及び最後の塩基がｃｈｒ　３（ｈｇ３８）：（１２４，７００，９７７；１２４，７０１，２５５）又は（１２４，７０１，０９３－１２４，７０１，２５５）のいずれかであるエクソンをもたらした。

【０４３８】

ＵＮＣ１３Ａ：新規エクソンの包含は、未成熟終止コドン及び転写物のナンセンス媒介崩壊をもたらす。新規エクソンは、２つの可能なスプライスアクセプター部位及び同じスプライスドナー部位を有し、最初及び最後の塩基がｃｈｒ　１９（ｈｇ３８）：（１７，６４２，５９１；１７，６４２，４１４）又は（１７，６４２，５４１－１７，６４２，４１４）のいずれかであるエクソンをもたらした。ＵＮＣ１３Ａは、マイナス鎖上に位置する。

ＡＣＴＬ６Ｂ：ＴＤＰ４３の喪失に際して、新しい６９塩基対のエクソンがＡＣＴＬ６Ｂに包含されることが発見された。新しいエクソンの最初及び最後の塩基は１００，６５０，６４３及び１００，６５０，５７５である。

【０４３９】

ｈｇ３８ヒト遺伝子アノテーションによれば、ＡＣＴＬ６Ｂはマイナス方向に配置されている。

【０４４０】

実施例２：ＴＤＰ４３枯渇グルタルニューロンにおけるコレステロールコンジュゲーションを伴うＣＡリピートＭＯＥ　ＡＳＯを使用したスプライシングの改善された回復

ここで、本発明者らは、ＴＤＰ４３標的ＳＴＭＮ２、ＫＡＬＲＮ、ＣＡＭＫ２Ｂ、ＡＣＴＬ６Ｂ及びＵＮＣ１３Ａ上で適切なスプライシングを誘導するＣＡリピートＡＳＯ能力を示す。本発明者らは、５’末端にコンジュゲートしたコレステロールを有するＭＯＥ　ＣＡリピートＡＳＯが、罹患した標的遺伝子のスプライシングを回復させる特に強力な能力を有することを示す。

【０４４１】

ヒトグルタミン酸作動性ニューロン（Ｆｕｊｉｆｉｌｍｓ）を、１０，０００個の生きた星状膠細胞（Ｆｕｊｉｆｉｌｍｓ）と一緒に、２００μｌの培養培地中、ラミニン及びポリ（エチレンイミン）溶液（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）でコーティングした９６ウェルプレート中に、６０，０００生細胞で播種した（－１日目）。ＴＤＰ－４３をノックダウンするために、化合物Ａ（ＩＤ番号：１配列番号１３）を０日目に５μＭで培養培地に添加した（プレート当たり４つの対照ウェルを除く）。実験全体の間、細胞培養培地の半分を週に３回交換した（２、５、７、９、１２、１４、１６及び１９日目）。ＣＡリピートＡＳＯを可変用量で５日目に細胞培養培地に添加した。（２５ｕＭ、７．９１ｕＭ、２．５ｕＭ、０．７９１ｕＭ、０．２５ｕＭ、０．０７９１ｕＭ、０．０２５ｕＭ、０．００７９１ｕＭ）。

【０４４２】

合計で、細胞を、ＣＡリピートを含有する７つの異なるＡＳＯ並びに１つの陰性対照ＡＳＯで処理した（表１）。プレート内の１２個のウェルに、ベースライン基準としての役割を果たすために化合物Ａ（配列番号１３）のみを入れた。

【０４４３】
Ｍａｇｎａｐｕｒｅ溶解緩衝液（Ｒｏｃｈｅ）を使用して細胞を２１日目に回収し、ＤＮａｓｅ処理工程を含み製造業者の指示に従ってＲＮＡをＭａｇＮＡ ｐｕｒｅ ９６システム（Ｒｏｃｈｅ）で単離した。ｃＤＮＡ合成の前に、精製ＲＮＡを９０で３０秒変性させた。ＲＴ－ｑＰＣＲ用のｉＳｃｒｉｐｔ Ａｄｖａｎｃｅｄ ｃＤＮＡ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓキット（Ｂｉｏｒａｄ）を製造者の説明書に従って使用してｃＤＮＡを作製した。

【０４４４】
標的遺伝子の発現レベルの測定は、ＱＸ１ソフトウェア標準版とともにＱＸ１システム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ）を使用する液滴デジタルＰＣＲによって行った。正常にスプライシングされた標的ｍＲＮＡの発現を測定するために使用されるＰＣＲプローブアッセイは、２つのエクソンにまたがるように設計され、その間に新たな「変異」エクソンが生じるであろう。

【０４４５】
実験からの発現値を表１に示す。４連ｄｄＰＣＲ反応で４つの遺伝子を測定してＲＮＡを調べた。ミックス１（ＴＡＲＤＢＰ、ＳＴＭＮ２、ＫＡＬＲＮ、ＨＰＲＴ１）ミックス２（
（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ＤＮＡ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（ＩＤＴ）で合成したカスタム設計ＰＣＲプローブアッセイ又はｂｉｏｒａｄからの予め設計されたｄｄＰＣＲアッセイを使用した）：
プローブミックス１
ＴＡＲＤＢＰ：
プライマー１：ＣＡＧＣＴＣＡＴＣＣＴＣＡＧＴＣＡＴＧＴＣ、プライマー２：ＧＡＴＧＧＴＧＴＧＡＣＴＧＣＡＡＡＣＴＴＣ、プローブ：／５Ｃｙ５／ＣＡＧＣＧＣＣＣＣＡＣＡＡＡＣＡＣＴＴＴＴＣＴ／３ＩＡｂＲＱＳｐ／）
ＳＴＭＮ２：
プライマー１：ＣＴＧＣＴＣＡＧＣＧＴＣＴＧＣ、プライマー２：ＧＴＴＧＣＧＡＧＧＴＴＣＣＧＧ、プローブ：／５ＨＥＸ／ＣＴＡＡＡＡＣＡＧ／ＺＥＮ／ＣＡＡＴＧＧＣＣＴＡＣＡＡＧＧＡＡＡＡＡＡＴＧＡＡＧ／３ＩＡＢｋＦＱ／
ＫＡＬＲＮ：
プライマー１：ＣＧＡＧＣＣＣＴＣＧＧＡＧＴＴＴＧ、プライマー２：ＴＣＣＴＴＣＣＡＡＧＡＡＡＴＧＧＴＧＧＣ、プローブ：／５６－ＦＡＭ／ＣＧＡＣＴＴＣＣＡ／ＺＥＮ／ＧＡＡＴＡＴＧＡＴＧＣＴＧＣＴＧＣＴＧＡＴＧ／３ＩＡＢｋＦＱ／
【０４４６】
以下のＣＹ５．５標識ＨＰＲＴ１プローブをＢｉｏＲａｄから購入した：ｄＨｓａＣＰＥ１３１３６１０７。
プローブミックス２：
ＡＣＴＬ６Ｂ：
プライマー１：ＴＣＴＧＡＧＣＣＡＡＡＣＣＴＧＣＡＣ、プライマー２：ＡＴＣＡＧＣＴＣＴＧＴＣＡＧＣＴＴＣＴＣＣ、
プローブ：／５ＨＥＸ／ＣＧＡＧＧＣＴＣＣ／ＺＥＮ／ＧＴＧＧＡＡＣＡＣＡＣＧ／３ＩＡＢｋＦＱ／）
ＵＮＣ１３Ａ：
プライマー１：ＧＡＴＣＡＡＡＧＧＣＧＡＧＧＡＧＡＡＧＧ、プライマー２：ＴＧＧＣＡＴＣＴＧＧＧＡＴＣＴＴＣＡＣ、プローブ：／５６－ＦＡＭ／ＡＣＣＴＧＴＣＴＧ／ＺＥＮ／ＣＡＴＧＡＧＡＡＣＣＴＧＴＴＣＣＡＣＴＴＣ　／３ＩＡＢｋＦＱ／
ＣＡＭＫ２Ｂ：
プライマー１：ＣＴＧＡＣＡＧＴＧＣＣＡＡＴＡＣＣＡＣＣ、プライマー２：ＧＣＴＧＣＴＣＣＧＴＧＧＴＣＴＴＡＡＴ、プローブ：／５Ｃｙ５／ＡＴＧＡＡＧＡＣＧＣＴＡＡＡＧＣＣＣＧＧＡＡＧＣＡＧ／３ＩＡｂＲＱＳｐ／

【０４４７】
以下のＣＹ５．５標識ＧＡＰＤＨプローブをＢｉｏＲａｄから購入した：ｄＨｓａＣＰＥ７０４５９２７３。
【表１】

表１：化合物表

Ｈｅｌｍ注釈キー：

［ＬＲ］（Ｇ）は、ベータ－Ｄ－オキシ－ＬＮＡグアニンヌクレオシドであり、

［ＬＲ］（Ｔ）は、ベータ－Ｄ－オキシ－ＬＮＡチミンヌクレオシドであり、

［ＬＲ］（Ａ）は、ベータ－Ｄ－オキシ－ＬＮＡアデニンヌクレオシドであり、

［ＬＲ］（［５ｍｅＣ］は、β－Ｄ－オキシ－ＬＮＡ　５－メチルシトシンヌクレオシドであり、

［ＭＯＥ］（Ｇ）は、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡグアニンヌクレオシドであり、

［ＭＯＥ］（Ｔ）２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡチミンヌクレオシド、

［ＭＯＥ］（Ａ）２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡアデニンヌクレオシド、

［ＭＯＥ］（［５ｍｅＣ］２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ　５－メチルシトシンヌクレオシド、

［ｄＲ］（Ｇ）は、ＤＮＡグアニンヌクレオシドであり、

［ｄＲ］（Ｔ）は、ＤＮＡチミンヌクレオシドであり、

［ｄＲ］（Ａ）は、ＤＮＡアデニンヌクレオシドであり、

［ｄＲ］（［Ｃ］は、ＤＮＡシトシンヌクレオシドであり、

［ＣｈｏｌＴＥＧ］は、トリエチレングリコール結合コレステロールである

ＩＤ番号	天然の類似体配列	オリゴ配列番号	HELM	天然の標的配列	標的配列番号
ＩＤ番号：１	TCCACACTGAACAAACC	配列番号１３	RNA1{[LR](T)[sP].[LR]([5meC])[sP].[dR](C)[sP].[dR](A)[sP].[dR](C)[sP].[dR](A)[sP].[dR](C)[sP].[dR](T)[sP].[dR](G)[sP].[dR](A)[sP].[dR](A)[sP].[dR](C)[sP].[dR](A)[sP].[LR](A)[sP].[LR]([5meC])[sP].[LR]([5meC])}.0	GGTTTGTTCAGTGTGGA	配列番号９６
ＩＤ番号：２	CACACACACACACACACACAC	配列番号２１	RNA1{[LR]([5meC])[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[dR](C)[sP].[LR](A)[sP].[LR]([5meC])}.0	GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG	配列番号９７
ＩＤ番号：３	CACACACACACACACACC	配列番号１７	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M	GTGTGTGTGTGTGTGTGTG	配列番号９８

			OE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}.0		
ID番号：4	CACACACACACACACACACACACAC	配列番号２１	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}.0	GTGTGTGTGTGTGTGT GTGTGTGTGTGTG	配列番号９７
ID番号：5	[CholTEG]-CACACACACACACA	配列番号１７	CHEM1{[CholTEG]}RNA1{[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}.0	GTGTGTGTGTGTGTGT GTGTGTGTG	配列番号９８

	CACACACAC		OE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}$CHEM1,RNA1,1:R1-1:R1.0		
ID番号：6	[CholTEG]-CACACACACACACACAC	配列番号１７	CHEM1{[CholTEG]}RNA1{P.[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}$CHEM1,RNA1,1:R1-1:R1.0	GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG	配列番号９８

10

20

30

40

50

ＩＤ番号：７	[CholTEG]-CACACACACACACACACACAC	配列番号２１	CHEM1{[CholTEG]}|RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](

				配列番号９９
			sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}|RNA2{P}$RNA2,CHEM1,1:R2-1:R1|RNA1,RNA2,1:R1-1:R1.0	GTAGTTATTATAAGATTTGG
		配列番号８３	RNA1{[LR]([5meC])[sP].[dR](C)[sP].[LR]([5meC])[sP].[LR](A)[sP].[LR](A)[sP].[dR](T)[sP].[dR](C)[sP].[dR](T)[sP].[dR](T)[sP].[dR](A)[sP].[dR](T)[sP].[dR](A)[sP].[dR](T)[sP].[dR](A)[sP].[LR]([5meC])[sP].[dR](T)[sP].[LR](A)[sP].[LR]([5meC])}.0	
	CCAAATCTTATAATAACTAC			
ＩＤ番号：９				

【０４４８】

表２：オリゴヌクレオチドへの曝露後のＴＤＰ４３標的ｍＲＮＡスプライシングのレスキュー

表２に示されるデータを、所与のＰＣＲ設定に存在するハウスキーピング遺伝子（ＨＰＲＴ１又はＧＡＰＤＨのいずれか）の発現に対して正規化し、最後に、ＴＤＰ４３ノックダウン又はＣＡリピートＡＳＯを受けなかった対照ウェル（ＰＢＳ）の平均発現値に対して正規化した。与えられた条件の全てに対する平均発現が最後の列に示されている。
ＫＤ（「ノックダウン」は、ＴＤＰ４３　ｍＲＮＡを分解するギャップマーＡＳＯによる処理のみを受けたウェルを記載する）

【表２】

処置	ＡＳＯレスキュー濃度 ｕＭ	TDP43	STMN2	KALRN	ACTL6B	UNC13A	CAMK2B
KD		4.2	13.1	1.0	0.3	3.1	4.8
KD		4.8	14.1	0.8	0.5	2.9	8.6
KD		9.6	8.9	1.7	0.7	3.9	8.1
KD		8.0	12.5	3.5	0.4	3.0	6.6
KD		5.4	16.1	1.5	0.2	4.9	5.3
KD		5.8	22.1	4.1	1.4	4.3	8.7
KD		3.8	16.1	1.7	0.2	2.9	6.3
KD		5.6	18.7	3.1	0.6	3.4	8.2
KD		5.1	16.0	1.2	0.6	2.0	6.8
KD		6.0	13.3	1.4	0.7	2.1	5.9
KD		3.4	13.5	1.6	0.5	2.3	5.8
KD		5.6	14.1	1.2	0.5	2.8	5.8
PBS		92.8	107.5	97.1	93.4	93.0	96.8
PBS		102.9	90.4	86.3	86.0	73.7	77.2
PBS		101.8	105.6	109.8	92.3	105.7	115.3
PBS		102.6	96.4	106.8	128.2	127.6	110.7
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	25	3.2	46.2	28.5	15.1	6.6	18.9
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	7.911	2.7	37.8	17.8	11.4	7.8	20.2
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	2.5	3.4	32.0	13.3	3.9	4.1	15.1
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	0.792	6.0	26.8	10.4	3.1	4.7	14.4
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	0.25	5.2	22.8	4.4	1.0	4.7	9.8
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	0.079	6.9	18.5	2.4	0.7	5.1	8.3
ＫＤ＋ＩＤ番号：２	0.025	7.9	14.4	1.0	0.4	2.5	6.6

KD＋ID番号：2	0.008	6.1	13.4	0.7	0.4	2.3	5.3
KD＋ID番号：3	25	NA	NA	NA	NA	NA	NA
KD＋ID番号：3	7.911	4.6	37.5	19.8	0.6	3.5	10.2
KD＋ID番号：3	2.5	4.6	22.1	8.1	0.8	3.1	8.4
KD＋ID番号：3	0.792	7.2	14.4	1.9	0.0	3.3	12.7
KD＋ID番号：3	0.25	5.9	17.8	1.1	1.2	3.5	7.6
KD＋ID番号：3	0.079	4.9	16.8	1.2	0.5	3.7	5.5
KD＋ID番号：3	0.025	4.4	11.7	2.2	0.2	2.2	5.2
KD＋ID番号：3	0.008	6.5	16.8	1.2	0.3	4.5	6.4
KD＋ID番号：5	25	3.3	91.2	53.3	47.6	7.8	28.4
KD＋ID番号：5	7.911	3.7	72.4	39.7	22.2	4.1	16.4
KD＋ID番号：5	2.5	1.4	58.3	32.5	14.9	3.9	15.6
KD＋ID番号：5	0.792	2.2	49.3	27.6	6.9	3.2	13.7
KD＋ID番号：5	0.25	2.7	35.2	14.8	4.2	4.5	13.3
KD＋ID番号：5	0.079	4.2	23.9	5.5	0.1	2.6	9.8
KD＋ID番号：5	0.025	6.5	16.0	2.0	0.2	1.3	7.7
KD＋ID番号：5	0.008	5.2	18.8	2.0	0.4	3.7	6.1
KD＋ID番号：6	25	2.5	104.1	74.8	41.0	10.8	30.2
KD＋ID番号：6	7.911	2.6	85.7	50.3	16.8	9.8	19.0
KD＋ID番号：6	2.5	3.1	76.0	54.6	18.8	6.4	21.3
KD＋ID番号：6	0.792	2.7	73.0	45.8	13.9	4.2	18.9
KD＋ID番号：6	0.25	5.3	66.3	32.6	3.9	4.7	21.8
KD＋ID番号：6	0.079	2.9	54.7	27.5	2.7	4.1	16.2
KD＋ID番号：6	0.025	6.9	26.7	13.3	0.7	2.5	10.9
KD＋ID番号：6	0.008	3.8	19.7	3.0	1.0	3.4	8.4
KD＋ID番号：4	25	2.8	51.6	28.7	6.3	4.8	18.7
KD＋ID番号：4	7.911	5.4	45.7	23.5	1.5	4.1	12.8
KD＋ID番号：4	2.5	5.3	27.6	8.6	0.5	5.2	9.7
KD＋ID番号：4	0.792	5.3	19.7	5.5	0.2	3.3	7.7
KD＋ID番号：4	0.25	5.7	18.8	0.8	0.9	4.3	5.6
KD＋ID番号：4	0.079	6.3	17.2	0.6	0.1	4.3	7.6
KD＋ID番号：4	0.025	5.9	11.9	1.3	0.4	2.5	5.7
KD＋ID番号：4	0.008	6.8	17.9	0.5	0.4	4.3	6.4
KD＋ID番号：7	25	3.1	99.9	57.3	47.5	7.8	25.0
KD＋ID番号：7	7.911	4.2	80.3	44.7	25.7	5.0	19.3
KD＋ID番号：7	2.5	3.5	58.4	35.2	16.5	4.1	12.7

KD＋ID番号：7	0.792	2.4	49.7	14.7	2.7	3.8	15.2
KD＋ID番号：7	0.25	3.8	36.6	14.2	6.3	3.3	7.6
KD＋ID番号：7	0.079	3.9	26.7	5.6	0.5	2.2	7.4
KD＋ID番号：7	0.025	4.0	16.9	3.1	0.1	2.5	5.9
KD＋ID番号：7	0.008	3.8	17.8	3.0	1.0	3.9	8.7
KD＋ID番号：8	25	3.5	91.4	58.1	32.7	8.5	25.3
KD＋ID番号：8	7.911	3.5	82.6	48.7	15.7	9.3	24.2
KD＋ID番号：8	2.5	3.0	73.0	44.2	14.2	6.1	20.7
KD＋ID番号：8	0.792	2.5	72.5	47.6	14.6	5.6	21.9
KD＋ID番号：8	0.25	2.4	57.8	35.9	10.1	5.1	19.4
KD＋ID番号：8	0.079	3.2	54.2	21.0	5.4	4.1	14.1
KD＋ID番号：8	0.025	7.9	25.7	8.8	0.7	3.4	4.7
KD＋ID番号：8	0.008	7.0	21.2	4.7	0.4	2.7	7.5
KD＋ID番号：9	25	6.7	16.7	1.7	1.0	2.4	7.3
KD＋ID番号：9	7.911	4.2	17.3	0.5	0.7	4.1	6.1
KD＋ID番号：9	2.5	6.1	17.5	3.5	0.4	4.0	5.8
KD＋ID番号：9	0.792	4.1	13.0	1.3	0.5	2.7	6.3
KD＋ID番号：9	0.25	6.6	15.5	2.0	0.6	3.4	6.6
KD＋ID番号：9	0.079	5.5	11.5	0.8	0.0	2.6	10.3
KD＋ID番号：9	0.025	6.2	17.5	2.2	0.2	4.2	3.8
KD＋ID番号：9	0.008	4.3	19.0	2.4	0.4	2.7	6.7

【０４４９】

特定の参考文献

Salter CG, Beijer D, Hardy H, et al. Truncating SLC5A7 mutations underlie a spectrum of dominant hereditary motor neuropathies. Neurol Genet. ２０１８；４（２）：ｅ２２２.

Yukiko Nasu-Nishimura1, Tomoatsu Hayashi, Tomohiro Ohishi, Toshio Okabe, Susumu Ohwada, Yoshimi Hasegawa, Takao Senda, Chikashi Toyoshima, Tsutomu Nakamura, Tetsu Akiyama. Role of the Rho GTPase-activating Protein RICS in Neurite Outgrowth. Genes Cells. ２００６ Jun；１１（６）：６０７－１４.

Arundhati Jana, Edward L. Hogan, and Kalipada Pahan. Ceramide and neurodegeneration：Susceptibility of neurons and oligodendrocytes to cell damage and death. J Neurol Sci. ２００９ Mar １５；２７８（１－２）：５－１５.

Conti et al. TDP-４３ affects splicing profiles and isoform production of genes involved in the apoptotic and mitotic cell

ular pathways. Nucleic Acids Res. 2015 Oct 15;43(18):8990-9005.
Humphrey et al. Quantitative analysis of cryptic splicing associated with TDP-43 depletion. BMC Medical Genomics 2017;volume 10, Article number:38 (2017).
Melamed et al. Premature polyadenylation-mediated loss of stathmin-2 is a hallmark of TDP-43-dependent neurodegeneration. Nat Neurosci. 2019 Feb;22(2):180-190.
Klim et al., ALS-implicated protein TDP-43 sustains levels of STMN2, a mediator of motor neuron growth and repair. Nature Neuroscience 22, pages167-179 (2019)

【表３】

配列

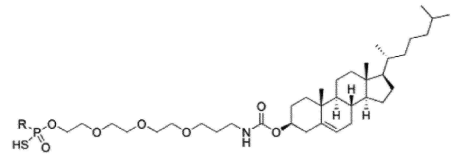
配列番号	配列５’－３’
N/A	ACACACAC
N/A	ACACACACA
1	ACACACACAC
2	ACACACACACA
3	ACACACACACAC
4	ACACACACACACA
5	ACACACACACACACAC
6	ACACACACACACACACAC
N/A	CACACAC
N/A	CACACACA
N/A	CACACACAC
7	CACACACACA
8	CACACACACAC
9	CACACACACACA
10	CACACACACACAC
11	CACACACACACACACA
12	CACACACACACACACACA
13	TCCACACTGAACAAACC
14	CACACACACACACACACACACAC
15	ACACACACACACACACACACAC
16	CACACACACACAACACACACACAC
17	CACACACACACACACACACACACAC
18	ACACACACACACACACACACACAC
19	CACACACACACACACACACACACAC
20	ACACACACACACACACACACACACAC
21	CACACACACACACACACACACACACAC
22	ACACACACACACACACACACACACACAC
23	CACACACACACACACACACACACACAC
24	ACACACACACACACACCACACACACACACA
25	CACACACACACACACACACACACACACACA
26	CACACACACACACACACAACACACACACACAC

27	ACACACACACACACACACCACACACACACACACA
28	ACACACACACACACACACACACACACACAC
29	CACACACCCACICACACACGCAC
30	CACACICACACACACACACAC
31	CACACACACACICACACACAC
32	CACACICACACACACACACTC
33	CACATACACACCCACACACACAC
34	CACACACACACACACACGCACAC
35	CACICACICACACACICACICAC
36	CACACACACACACACTCTCACAC
37	CTCACACACACACACACACACAC
38	CACACACACACAAACACACACAC
39	CACACGCACGCACACACACACAC
40	CACGCACACACCCACACACTCAC
41	CACACACACACACTCTCTCACAC
42	CACACACACACACICICICICAC
43	CACTCACACACTCACACACACAC
44	CACGCACACACGCACACACACAC
45	CACCCACACACCCACACACACAC
46	CACACGCACATACACACACCCAC
47	TTCACACACACACACACACACAC
48	CACACACACACACACACACACAA
49	CACACACACACACACACACAIACACACAC
50	CACAIACACACACACACACACACACACAC
51	CATACACACACACACACACATACACACAC
52	CAAACACACACACACACACACACACACAC
53	CACACACACTCACACACACACACACACAC
54	CACAGACACACACACACACACACACACAC
55	CACAAACACACACACACACACACACACAC
56	CACATACACACACACACACACACACACAC
57	CATACGCACATACACGCACACACAAACAC
58	CACATATACACATACACACACACACACAC
59	CACACACACACACACACACTCTCTCTCTC
60	CACGCACACACACACACACACACACACAC
61	CACACACACACACACAITITITCACACAC

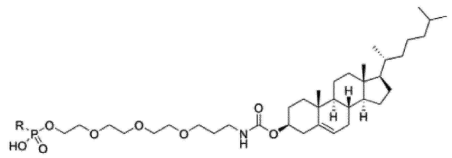
62	CGCACACACACACACACACACACACAC
63	CACACACACACACAGACAGACAGACAC
64	CACACACACAAAAAAACACACACACAC
65	CACACACACACCCCCCCACACACACAC
66	CACACACACTCTCTCACACACACAC
67	CACAAACACACACACACACACAC
68	CACTCACACACACACACACACAC
69	CACACACACAAACACACACACAC
70	CACCCACACACACACACACACAC
71	CTCTCTCACACACACACACACAC
72	CAAACACACACACACACACACAC
73	CACACACACCCACACACACACAC
74	CACACACACACACACCCACACAC
75	CACACACACACACACGCACACAC
76	CACACACACACACACTCACACAC
77	CACACACACATACACACACACAC
78	CACACACACAGACACACACACAC
79	TTTACACACACACACACACACAC
80	CACGCACACGCACACACACACAC
81	CACGCACACACGCACACACACGCAC
82	CACACGCACACACACACACACAC
83	CCAAATCTTATAATAACTAC
84	UGUGUGUGUGU
85	UGUGUGUGUGUG
86	UGUGUGUGUGUGU
87	GUGUGUGUGU
88	GUGUGUGUGUG
89	GUGUGUGUGUGU
90	GUGUGUGUGUGUG
91	UGUGUGUGUGUGUG
92	GUGUGUGUGUGUGU
93	UGUGUGUGUGUGUGUGUG
94	GUGUGUGUGUGUGUGUGU
95	UGUGUGUGUG
96	GGTTTGTTCAGTGTGGA

97	GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG
98	GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG
99	GTAGTTATTATAAGATTTGG

【図面】
【図１】



R：５’OHへの結合



R：５’OHへの結合

【配列表】
<u>２０２５５１８５２２０００００１．ｘｍｌ</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/063442

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/113 A61K31/712 A61K47/50
ADD. A61P25/28

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2022/018187 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 27 January 2022 (2022-01-27) the whole document	1-53
Y	WO 2019/241648 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS INC [US]) 19 December 2019 (2019-12-19) cited in the application the whole document	1-53
X	WO 2020/097342 A1 (ALIGOS THERAPEUTICS INC [US]) 14 May 2020 (2020-05-14) the whole document	1-3, 6-10, 13-15, 17,18, 34-43, 46,49

-/--

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

* Special categories of cited documents :

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 July 2023	28/07/2023

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/063442

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 2023/104693 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; HOFFMANN LA ROCHE [US]) 15 June 2023 (2023-06-15) the whole document	1-53

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2023/063442

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. [X] forming part of the international application as filed.

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

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

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2023/063442

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2022018187 A1	27-01-2022	AR 123043 A1	26-10-2022
		CN 116209761 A	02-06-2023
		EP 4185696 A1	31-05-2023
		TW 202219273 A	16-05-2022
		US 2022033818 A1	03-02-2022
		WO 2022018187 A1	27-01-2022
WO 2019241648 A1	19-12-2019	AU 2019287635 A1	17-12-2020
		CA 3103429 A1	19-12-2019
		EP 3807411 A1	21-04-2021
		JP 2021526823 A	11-10-2021
		US 2021252039 A1	19-08-2021
		WO 2019241648 A1	19-12-2019
WO 2020097342 A1	14-05-2020	AU 2019376079 A1	27-05-2021
		BR 112021008539 A2	03-08-2021
		CA 3117163 A1	14-05-2020
		CL 2021001202 A1	17-12-2021
		CN 113286803 A	20-08-2021
		CO 2021005762 A2	30-07-2021
		EP 3853240 A1	28-07-2021
		IL 282640 A	30-06-2021
		JP 2022512975 A	07-02-2022
		KR 20210090217 A	19-07-2021
		MA 53674 A	28-07-2021
		PE 20211783 A1	08-09-2021
		PH 12021551007 A1	04-10-2021
		SG 11202104636X A	29-06-2021
		TW 202031267 A	01-09-2020
		US 2020147124 A1	14-05-2020
		WO 2020097342 A1	14-05-2020
WO 2023104693 A1	15-06-2023	NONE	

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

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*25/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/14	
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	
Ａ６１Ｋ	*31/7105(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7105	
Ａ６１Ｋ	*31/712 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/712	
Ａ６１Ｋ	*31/7125(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7125	
Ａ６１Ｋ	*47/54 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/54	

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

(72)発明者　チェジンスカ，カタジナ
デンマーク国、２９７０　ヘアスホルム、フレムティズヴァイ　３、ツェー／オー・ロシュ・イノベーション・センター・コペンハーゲン・アー／エス
(72)発明者　ジェンソン，ラルス
デンマーク国、２９７０　ヘアスホルム、フレムティズヴァイ　３、ツェー／オー・ロシュ・イノベーション・センター・コペンハーゲン・アー／エス
(72)発明者　リ，メイリン
スイス国、４０７０　バーゼル、グレンツァッハーシュトラーセ　１２４、ツェー／オー・エフ．ホフマン－ラ・ロシュ・アーゲー
(72)発明者　ノーボ，ベッティーナ
デンマーク国、２９７０　ヘアスホルム、フレムティズヴァイ　３、ツェー／オー・ロシュ・イノベーション・センター・コペンハーゲン・アー／エス
(72)発明者　ヴィケサ，ヨーナス
デンマーク国、２９７０　ヘアスホルム、フレムティズヴァイ　３、ツェー／オー・ロシュ・イノベーション・センター・コペンハーゲン・アー／エス

Ｆターム（参考）　4C076　CC01 CC09 EE59 FF63
4C084　AA13 NA03 NA14 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94
4C086　AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA03 NA14 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94