(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-500862
(P2021-500862A)
(43)公表日　令和3年1月14日(2021.1.14)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/113	***(2010.01)***	C12N	15/113	ZNAZ	4B064
C12N 15/13	***(2006.01)***	C12N	15/13		4H045
C07K 16/00	***(2006.01)***	C07K	16/00		
C07K 16/46	***(2006.01)***	C07K	16/46		
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 218 頁）

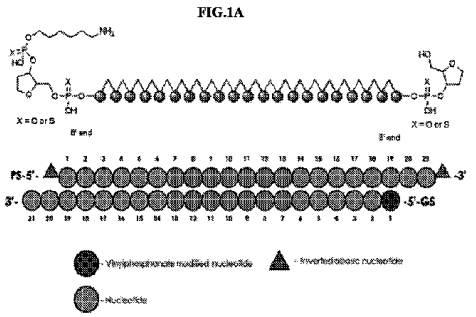
(21)出願番号　特願2020-517456 (P2020-517456)
(86)(22)出願日　平成30年10月4日 (2018.10.4)
(85)翻訳文提出日　令和2年5月25日 (2020.5.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/054444
(87)国際公開番号　WO2019/071028
(87)国際公開日　平成31年4月11日 (2019.4.11)
(31)優先権主張番号　62/568,238
(32)優先日　平成29年10月4日 (2017.10.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　518345192
アビディティー　バイオサイエンシーズ，インク.
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０
(74)代理人　100082072
弁理士　清原　義博
(72)発明者　ギール，アンドリュー　ジョン
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０

最終頁に続く

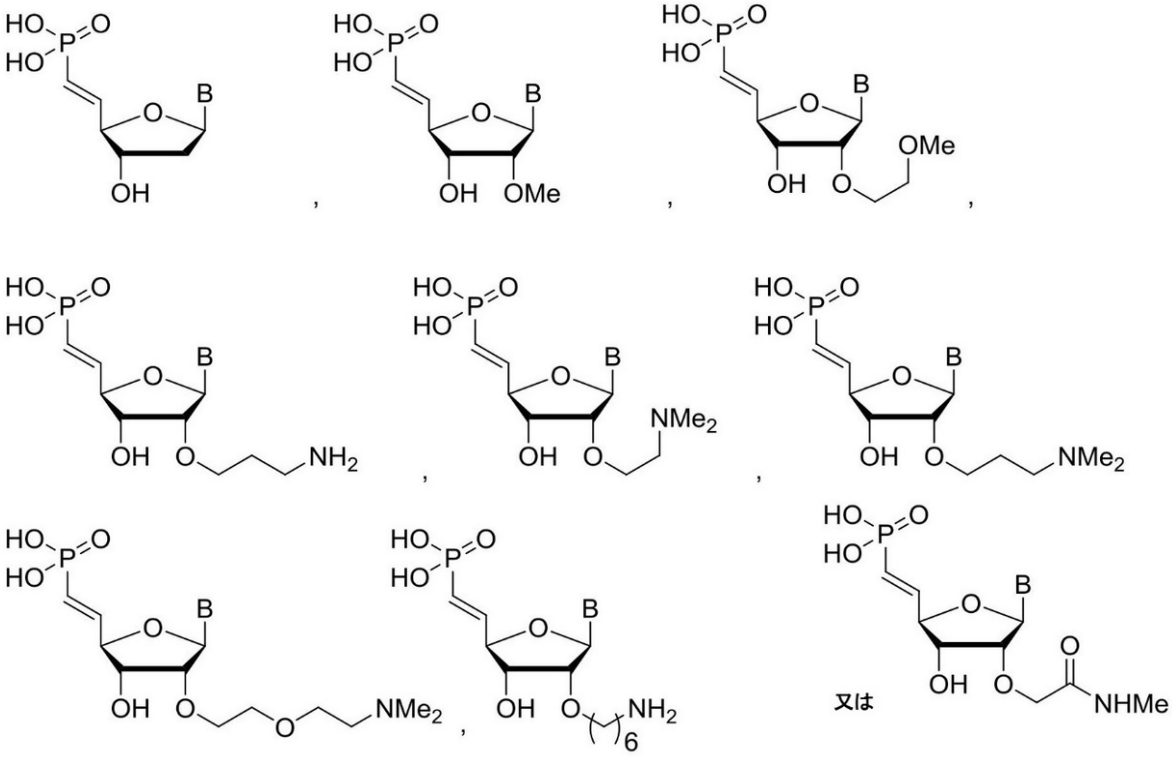
(54)【発明の名称】核酸ポリペプチド組成物およびその使用

(57)【要約】
修飾されたポリ核酸分子に結合した結合部分とポリマーとを含む組成物と医薬製剤が本明細書に開示される。さらに、ポリ核酸分子に結合した結合部分とポリマーとを含む組成物と医薬製剤を利用する、癌を処置するための方法も本明細書に記載される。
【選択図】図１Ａ



【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（Ｉ）：
Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ
式Ｉ
の分子であって
式中、
Ａは結合部分であり；
Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｃはポリマーであり；
Ｘは単結合あるいは第１の非ポリマーリンカーであり；
および、Ｙは単結合または第２のリンカーであり；
ここで、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然ヌクレオチドを含み；および、
ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない、分子。
【請求項２】
ポリヌクレオチドはさらに、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含む、請求項１に記載の分子。
【請求項３】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの５’－末端に位置する、請求項１または２に記載の分子。
【請求項４】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのヌクレオチド間結合に位置する、請求項１または２に記載の分子。
【請求項５】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、２’－位置でさらに修飾される、請求項１または２に記載の分子。
【請求項６】
２’－修飾は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－デオキシ、２’－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２－Ｏ－ＮＭＡ）、２’エチルオキシエチル（2’-0-EOE)、２’－Ｏ－（２－Ｎ－メチルカルバモイルエチル）、ＰＥＧ１、またはＰＥＧ２修飾されたヌクレオチドから選択される、請求項５に記載の分子。
【請求項７】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化１】

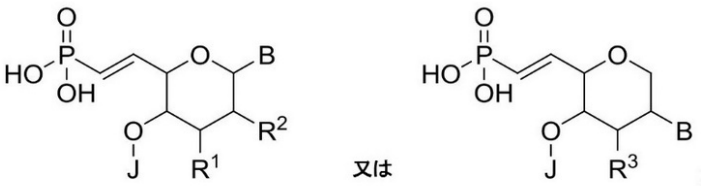


Ｂは複素環式塩基部分である、請求項５に記載の分子。

【請求項８】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化２】



Ｂは複素環式塩基部分であり；

Ｒ１、Ｒ２、およびＲ３は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから独立して選択され；および、

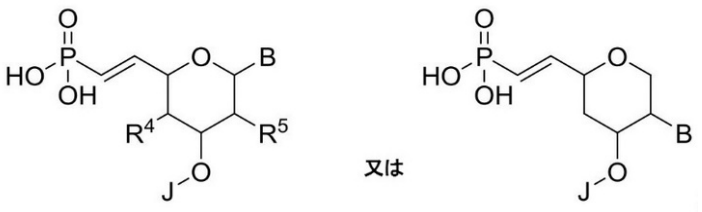
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、

請求項５に記載の分子。

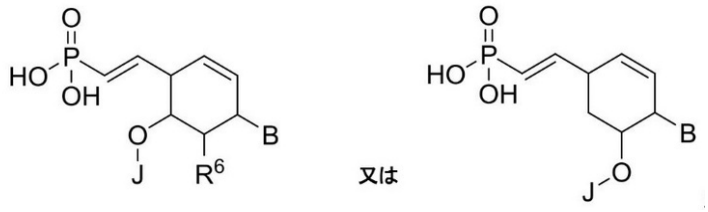
【請求項９】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

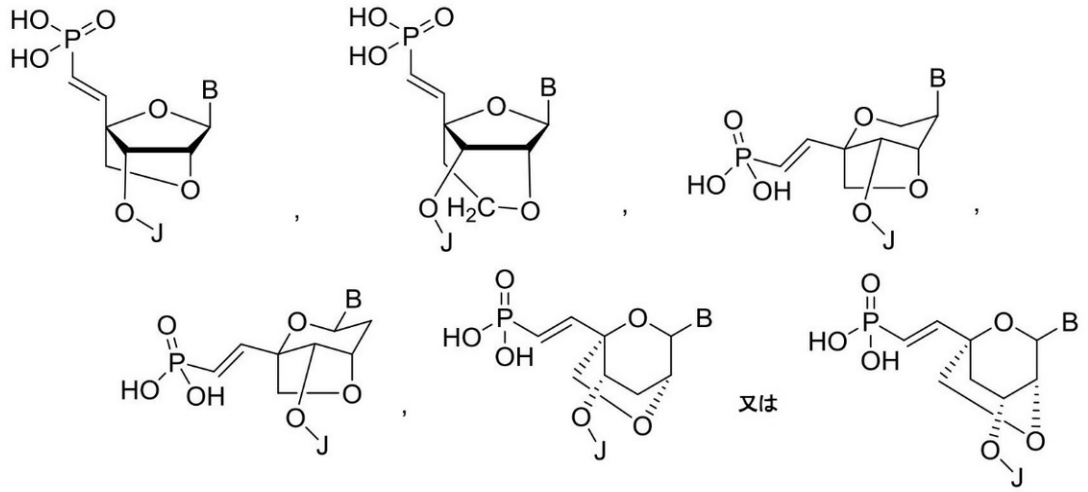
【化３】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ４およびＲ５は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから独立して選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項１または２に記載の分子。
【請求項１０】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：
【化４】

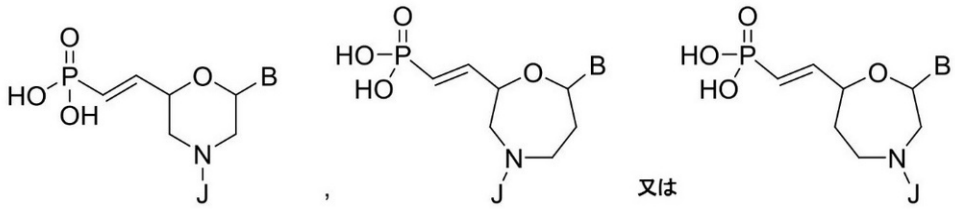


Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項１または２に記載の分子。
【請求項１１】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）またはエチレン核酸（ＥＮＡ）から選択される、請求項１または２に記載の分子。
【請求項１２】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：
【化５】



Ｂは複素環式塩基部分であり；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項１または２に記載の分子。
【請求項１３】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化６】

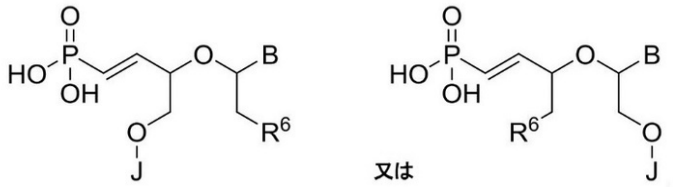


Ｂは複素環式塩基部分であり；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項１または２に記載の分子。

【請求項１４】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下であり：

【化７】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項１または２に記載の分子。

【請求項１５】

少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホロジアミデート結合、メチルホスホネート結合、あるいはアミド結合を含む、請求項１に記載の分子。

【請求項１６】

少なくとも１つの逆脱塩基部分は少なくとも１つの末端である、請求項２に記載の分子。

【請求項１７】

ポリヌクレオチドは一本鎖を含む、請求項１に記載の分子。

【請求項１８】

ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む、請求項１に記載の分子。

【請求項１９】

第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む、請求項１８に記載の分子。

【請求項２０】

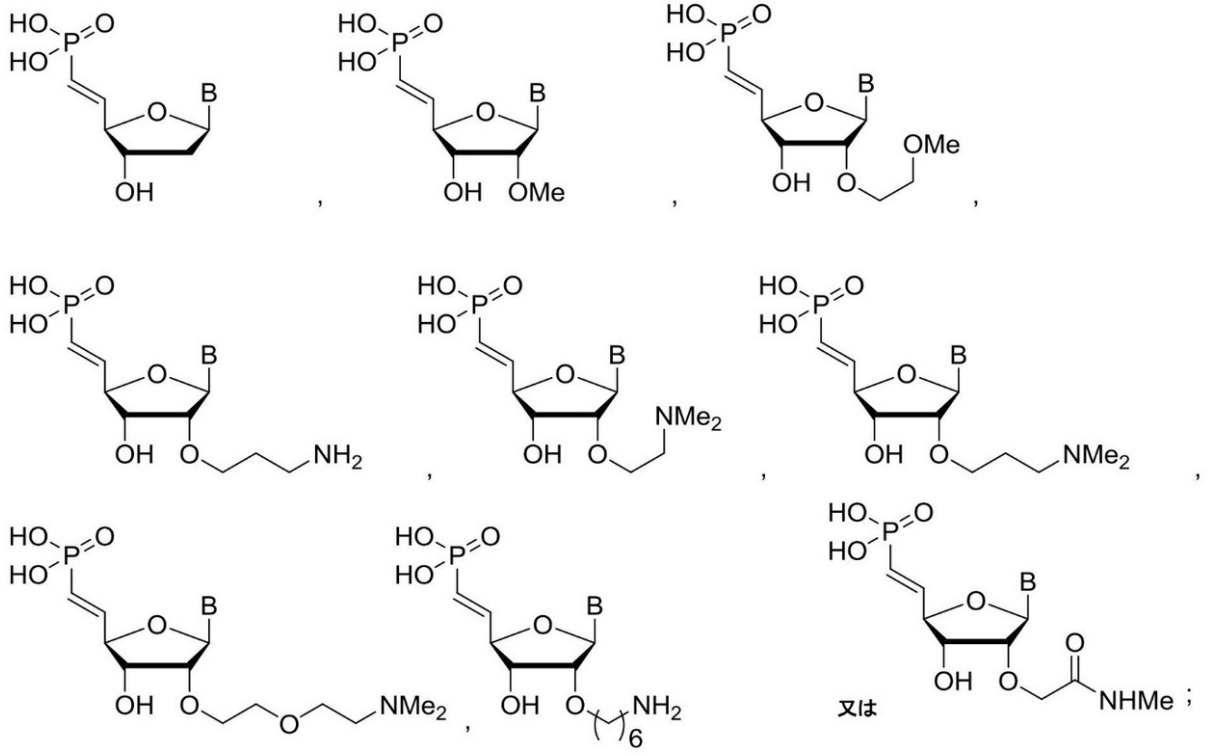
第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である、請求項１８に記載の分子。

【請求項２１】

第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－７５、４５２－１９５５、１９５６－１９６２、１９６７－２００２、２０１３－２０３２、２０８２－２１０９、または２１１７に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む、請求項１８に記載の

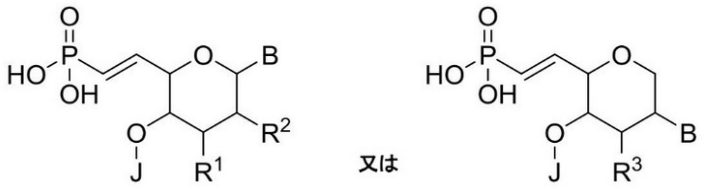
分子。
【請求項２２】
第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－７５、４５２－１９５５、１９５６－１９６２、１９６７－２００２、２０１３－２０３２、２０８２－２１０９、または２１１７に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む、請求項１８に記載の分子。
【請求項２３】
ＸとＹは独立して単結合である、請求項１に記載の分子。
【請求項２４】
ＸとＹは独立してC_1－C_6アルキル基である、請求項１に記載の分子。
【請求項２５】
Ｘは、随意にC_1－C_6アルキル基に結合した、ホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである、請求項１に記載の分子。
【請求項２６】
Ｙはホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである、請求項１に記載の分子。
【請求項２７】
結合部分は、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む、請求項１に記載の分子。
【請求項２８】
結合部分はペプチドまたは小分子を含む、請求項１に記載の分子。
【請求項２９】
Ｃはポリエチレングリコールである、請求項１に記載の分子。
【請求項３０】
Ｃは約１０００Ｄａ、２０００Ｄａ、あるいは５０００Ｄａの分子量を有する、請求項１７に記載の分子。
【請求項３１】
Ａ－ＸはＢの５’末端に結合し；および、
Ｙ－ＣはＢの３’末端に結合し、あるいは、Ｙ－ＣはＢの５’末端に結合し；および、
Ａ－ＸはＢの３’末端に結合する、請求項１に記載の分子。
【請求項３２】
さらにＤを含み、Ｄはエンドソーム溶解性部分である、請求項１に記載の分子。
【請求項３３】
式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドであって、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然ヌクレオチドを含む、オリゴヌクレオチド。
【請求項３４】
オリゴヌクレオチドはさらに、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含む、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項３５】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの５’－末端に位置する、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項３６】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの３’－末端に位置する、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項３７】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリ

ヌクレオチドの３’－あるいは５’－末端には位置しない、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項３８】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのヌクレオチド間結合に位置する、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項３９】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、２’－位置でさらに修飾され、２’－修飾は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたヌクレオチドから選択される、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項４０】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：
【化８】



Ｂは複素環式塩基部分である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項４１】
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化９】

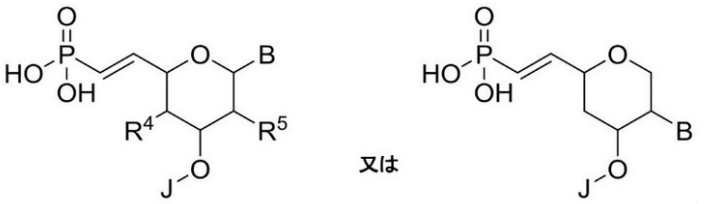


Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ１、Ｒ２、およびＲ３は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから独立して選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４２】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化１０】

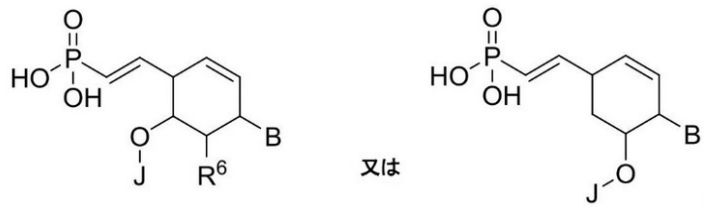


Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ４およびＲ５は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから独立して選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４３】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化１１】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４４】

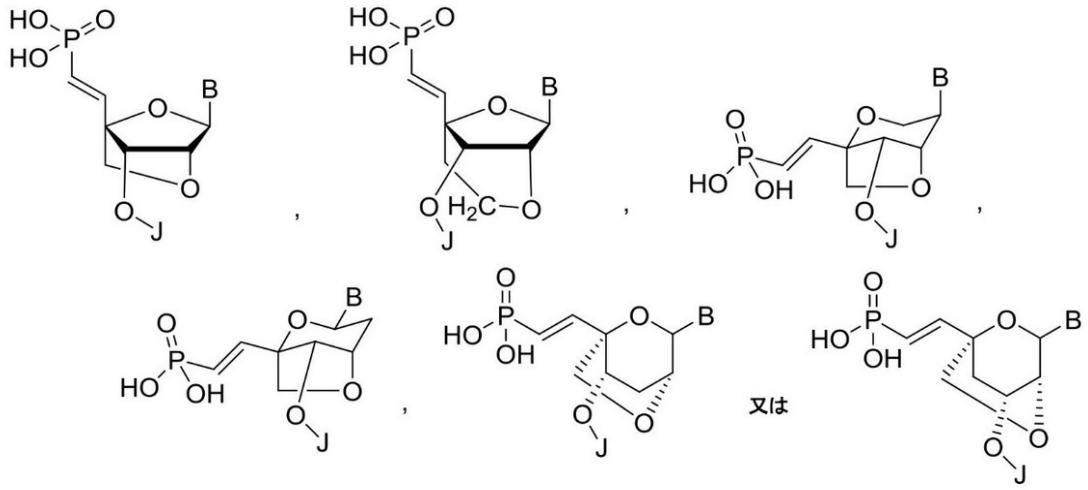
少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）またはエチレン核酸（ＥＮＡ）から選択される、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４５】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下

から選択され：

【化１２】



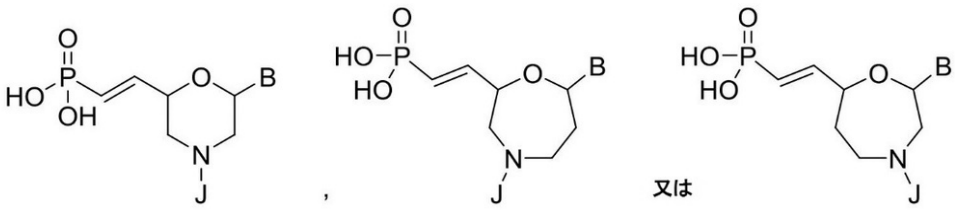
Ｂは複素環式塩基部分であり；および、

Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４６】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【化１３】



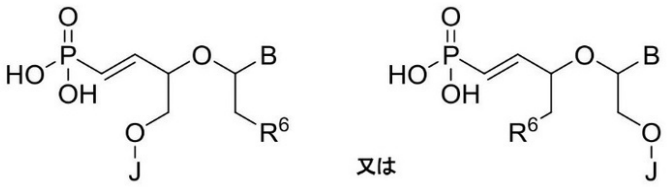
Ｂは複素環式塩基部分であり；および、

Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４７】

少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下であり：

【化１４】



Ｂは複素環式塩基部分であり；

Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、あるいはアミノアルキルから選択され；および、

Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４８】

少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホロジアミデート結合、メチルホスホネート結合、あるいはアミド結合を含む、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４９】

少なくとも１つの逆脱塩基部分は少なくとも１つの末端に存在する、請求項３４に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５０】

オリゴヌクレオチドは単鎖である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５１】

オリゴヌクレオチドは二本鎖である、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５２】

オリゴヌクレオチドは２～約１００残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５３】

オリゴヌクレオチドは２～約９０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５４】

オリゴヌクレオチドは２～約８０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５５】

オリゴヌクレオチドは２～約７０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５６】

オリゴヌクレオチドは２～約６０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５７】

オリゴヌクレオチドは２～約５０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５８】

オリゴヌクレオチドは２～約４０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５９】

オリゴヌクレオチドは２～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６０】

オリゴヌクレオチドは２～約２０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６１】

オリゴヌクレオチドは２～約１０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６２】

オリゴヌクレオチドは８～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６３】

オリゴヌクレオチドは１０～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６４】

オリゴヌクレオチドは１４～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６５】

オリゴヌクレオチドは１８～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項６６】

オリゴヌクレオチドは２２～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

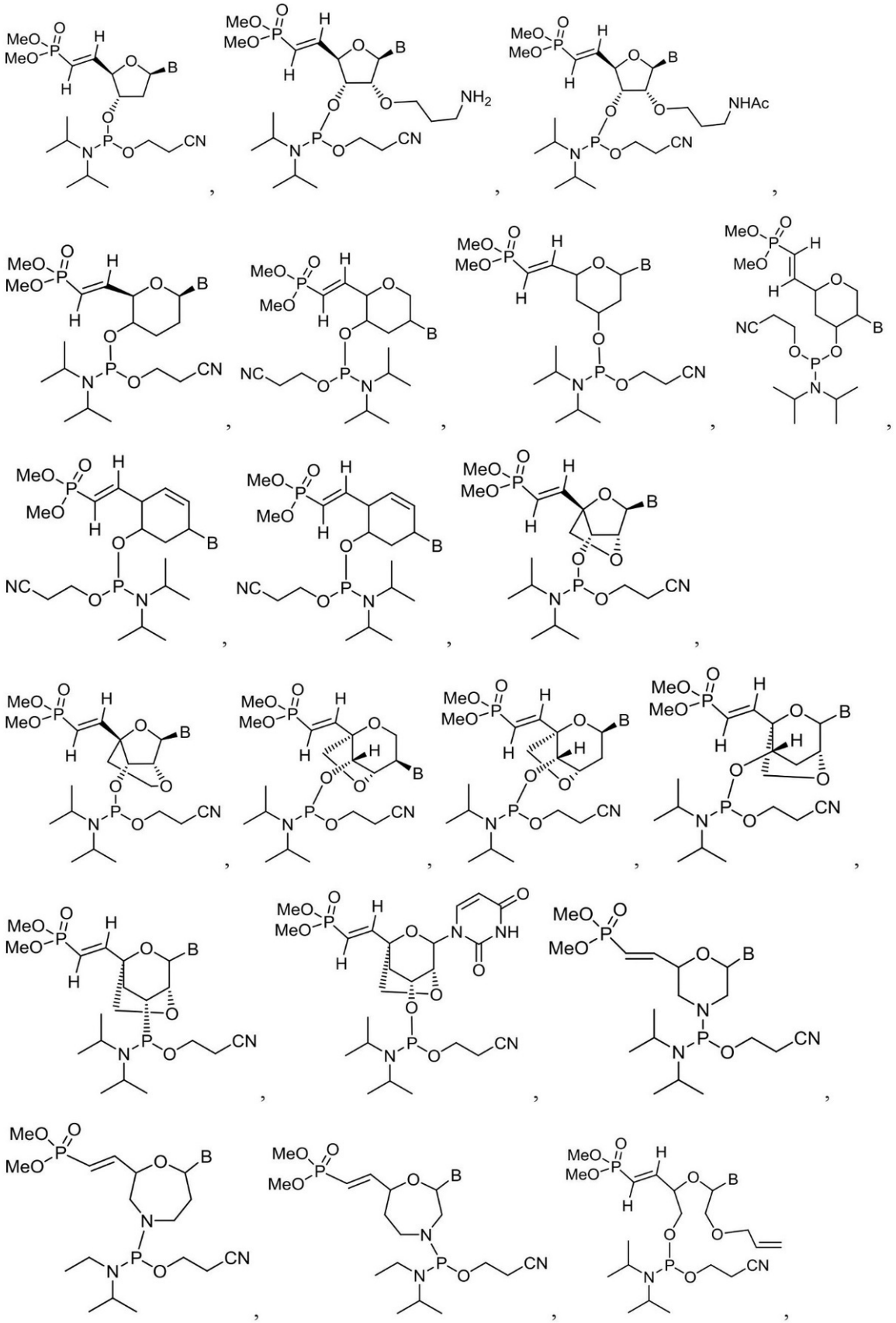
【請求項６７】

オリゴヌクレオチドは２６～約３０残基長さである、請求項３３に記載のオリゴヌクレオチド。

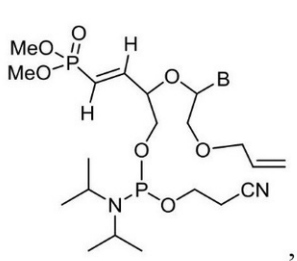
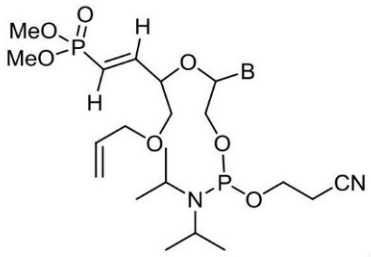
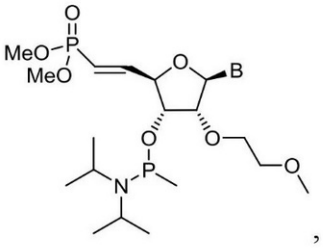
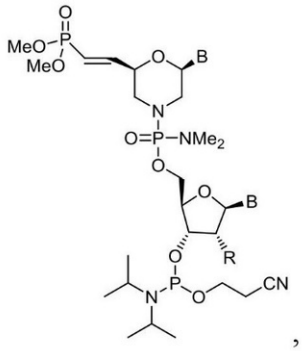
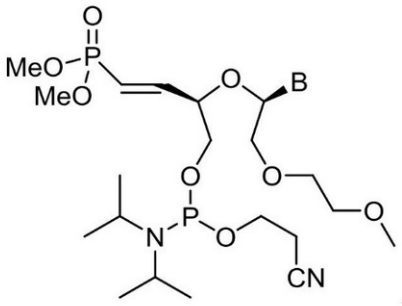
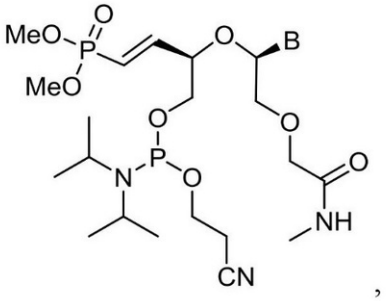
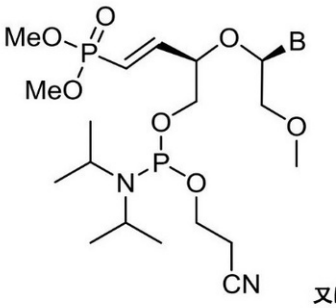
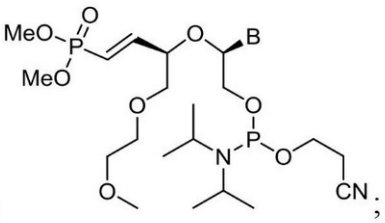
【請求項６８】

以下の群から選択されたオリゴヌクレオチドの合成に適している化合物であって：

【化１５】



【化１６】


,

,

,

,

,

,


又は
;

Ｂは複素環式塩基部分である、化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

相互参照

【０００２】

本出願は、２０１７年１０月４日に出願された米国仮特許出願第６２／５６８，２３８号の利益を主張するものであり、これは全体として引用によって本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【０００３】

ＲＮＡ誘導された遺伝子サイレンシングによる遺伝子抑制は複数のレベルの制御：転写不活性化、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）誘導ｍＲＮＡ低下、およびｓｉＲＮＡ誘導転写減衰を提供する。いくつかの例では、ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）は、複数の細胞分裂にわたって長い永続的な効果を与える。したがって、ＲＮＡｉは、薬物標的の検証、遺伝子機

能分析、経路分析、および疾患治療に役立つ実行可能な方法を表す。
【発明の概要】
【０００４】
特定の実施形態では、ポリ核酸分子に結合した（ｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ）結合部分とポリマーとを含む組成物と医薬製剤が本明細書に開示される。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子に結合した結合部分とポリマーとを含む組成物と医薬製剤を利用する、疾患または病気（例えば、癌）を処置する方法も本明細書に記載される。
【０００５】
特定の実施形態において、式（Ｉ）：

Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ
式Ｉ

の分子が本明細書で開示され、
式中、
Ａは結合部分であり；
Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｃはポリマーであり；Ｘは単結合または第１のリンカーであり；および、
Ｙは単結合または第２のリンカーであり；および、
ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。
【０００６】
いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは一本鎖を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは２以上の鎖を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの実施形態では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。
【０００７】
いくつかの実施形態では、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態では、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはｓｉＲＮＡ分子である。
【０００８】
いくつかの実施形態において、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、または１２１５－１２４２に対して少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、または１２１５－１２４２から選択された配列からなる。
【０００９】
いくつかの実施形態において、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、または１２１５－１２４２に対して少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、または１２１５－１２４２から選択された配列からなる。
【００１０】
いくつかの実施形態において、ＸとＹは独立して単結合あるいは非ポリマーリンカー基である。いくつかの実施形態において、Ｘは単結合である。いくつかの実施形態において、Ｘは$Ｃ_{1}$－$Ｃ_{6}$アルキル基である。いくつかの実施形態において、Ｙは$Ｃ_{1}$－$Ｃ_{6}$アルキル基である。いくつかの実施形態において、Ｘは、随意に$Ｃ_{1}$－$Ｃ_{6}$アルキル基に結合

した、ホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである。いくつかの実施形態において、Ｙはホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである。

【００１１】

いくつかの実施形態では、結合部分は、抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価$Ｆａｂ_{2}$、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、抗体またはその結合フラグメントは、抗ＥＧＦＲ抗体またはその結合フラグメントである。

【００１２】

いくつかの実施形態では、Ｃはポリエチレングリコールである。いくつかの実施形態では、Ｃは約５，０００Ｄａの分子量を有する。

【００１３】

いくつかの実施形態において、Ａ－ＸはＢの５’末端に結合し、Ｙ－ＣはＢの３’末端に結合する。いくつかの実施形態において、Ｙ－ＣはＢの５’末端に結合し、Ａ－ＸはＢの３’末端に結合する。いくつかの実施形態において、Ａ－Ｘ、Ｙ－Ｃ、またはこれらの組み合わせは、ヌクレオチド間結合基に結合する。

【００１４】

いくつかの実施形態では、分子はＤをさらに含む。いくつかの実施形態において、ＤはＣあるいはＡに結合する。いくつかの実施形態において、Ｄは、式（ＩＩ）に係る式（Ｉ）の分子に結合し、

$$（Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ_{n}）－Ｌ－Ｄ$$

式ＩＩ

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；

Ｃはポリマーであり；

Ｘは単結合または第１のリンカーであり；

Ｙは単結合または第２のリンカーであり；

Ｌは単結合または第３のリンカーであり；

Ｄはエンドソーム溶解性部分であり；および、

ｎは０と１の間の整数であり；および、

ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含み；および、Ｄは、Ａ、Ｂ、またはＣの任意の場所に結合する。

【００１５】

いくつかの実施形態において、ＤはＩＮＦ７またはメリチンである。

【００１６】

いくつかの実施形態において、Ｄはエンドソーム溶解性ポリマーである。

【００１７】

いくつかの実施形態では、Ｌは$Ｃ_{1}－Ｃ_{6}$アルキル基である。いくつかの実施形態では、Ｌはホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである。

【００１８】

いくつかの実施形態において、分子はさらに少なくとも第２の結合部分Ａを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも第２の結合部分Ａは、Ａ、Ｂ、またはＣに結合する。いくつかの実施形態では、少なくとも第２の結合部分Ａはコレステロールである。

【００１９】

いくつかの実施形態において、分子はさらに、少なくとも１つの追加のポリヌクレオチドＢを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの追加のポリヌクレオチドＢ

は、Ａ、Ｂ、またはＣに結合する。

【００２０】

いくつかの実施形態では、分子はさらに、少なくとも１つの追加のポリマーＣを含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの追加のポリマーＣは、Ａ、Ｂ、またはＣに結合する。

【００２１】

特定の実施形態において、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ（式Ｉ）の分子が本明細書で開示され、ここで、Ａは抗体あるいはその結合フラグメントであり；Ｂはポリヌクレオチドであり；Ｃはポリマーであり；Ｘは単結合あるいは第１の非ポリマーリンカーであり；および、Ｙは単結合または第２のリンカーであり；ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含み；および、ＡとＣは同じ末端でＢに結合（ａｔｔａｃｈｅｄ）しない。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合あるいはホスホロジチオエート結合を含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの逆脱塩基部分は少なくとも１つの末端にある。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは一本鎖を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの実施形態では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。いくつかの実施形態では、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態において、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、または１２１５－１２４２に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、または１２１５－１２４２に対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、Ｙは非ポリマーリンカー基である。いくつかの実施形態において、Ｘは単結合である。いくつかの実施形態において、ＸはC_1－C_6アルキル基である。いくつかの実施形態において、ＹはC_1－C_6アルキル基である。いくつかの実施形態において、Ｘは、随意にC_1－C_6アルキル基に結合した、ホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである。いくつかの実施形態において、Ｙはホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである。いくつかの実施形態では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、Ｃはポリエチレングリコールである。いくつかの実施形態において、Ｃは約１０００Ｄａ、２０００Ｄａ、あるいは５０００Ｄａの分子量を有する。いくつかの実施形態において、Ａ－ＸはＢの５’末端に結合し、Ｙ－ＣはＢの３’末端に結合する。いくつかの実施形態において、Ｙ－ＣはＢの５’末端に結合し、Ａ－ＸはＢの３’末端に結合する。いくつかの実施形態では、分子はＤをさらに含む。いくつかの実施形態において、ＤはＣあるいはＡに結合する。いくつかの実施形態において、Ｄは、式（ＩＩ）に係る式（Ｉ）の分子に結合し、（Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－C_c）－Ｌ－Ｄ（式ＩＩ）ここで、Ａは抗体あるいはその結合フラグメントであり；Ｂはポリヌクレオチドであり；Ｃはポリマーであり；Ｘは単結合あるいは第１の非ポリマーリンカーであり；Ｙは単結合または第２のリンカーであり；Ｌは単結合または第３のリンカーであり；Ｄはエンドソーム溶解性部分であり；および、ｃは０と１の間の整数であり；ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチド、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含み；ＡとＣは同じ末端でＢに結合せず；および、Ｄは、Ａまたは

Ｃの任意の場所で、あるいはＢの末端に結合する。いくつかの実施形態では、ＤはＩＮＦ７またはメリチンである。いくつかの実施形態において、Ｄはエンドソーム溶解ポリマーである。いくつかの実施形態では、ＬはＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキル基である。いくつかの実施形態では、Ｌはホモ二機能性リンカーあるいはヘテロ二機能性リンカーである。いくつかの実施形態において、分子はさらに少なくとも第２の結合部分を含む。いくつかの実施形態において、少なくとも第２の結合部分は、Ａ、Ｂ、またはＣに結合する。いくつかの実施形態において、少なくとも第２の結合部分Ａはコレステロールである。いくつかの実施形態において、分子は少なくとも１つの追加のポリヌクレオチドＢをさらに含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの追加のポリヌクレオチドＢは、Ａ、Ｂ、またはＣに結合する。いくつかの実施形態において、分子は少なくとも１つの追加のポリマーＣをさらに含む。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの追加のポリマーＣは、Ａ、Ｂ、またはＣに結合する。

【００２２】

特定の実施形態において、上に記載された分子と薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物が本明細書に開示される。いくつかの実施形態において、医薬組成物はナノ粒子製剤として製剤される。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、非経口投与、経口投与、鼻腔内投与、バッカル投与、直腸投与、または経皮投与のために製剤される。

【００２３】

特定の実施形態において、上記の分子を含む組成物を患者に投与する工程を含む、患者の疾患または疾病を処置する方法が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、疾患または疾病は癌である。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、癌は血液悪性腫瘍である。いくつかの実施形態において、癌は、ＫＲＡＳに関連する癌、ＥＧＦＲに関連する癌、ＡＲに関連する癌、β－カテニンに関連する癌、ＰＩＫ３Ｃに関連する癌、あるいはＭＹＣに関連する癌を含む。いくつかの実施形態において、癌は、膀胱癌、乳癌、大腸癌、子宮内膜癌、食道癌、多形神経膠芽腫、頭頸部癌、腎癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、あるいは甲状腺癌を含む。いくつかの実施形態において、癌は急性骨髄性白血病、ＣＬＬ、ＤＬＢＣＬ、あるいは多発性骨髄腫を含む。いくつかの実施形態において、上記方法は、免疫腫瘍学的治療である。

【００２４】

特定の実施形態では、患者の初代細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、初代細胞に上記の分子を投与する工程を含む、方法が本明細書で開示される。いくつかの実施形態において、方法はインビボの方法である。いくつかの実施形態では、患者はヒトである。

【００２５】

特定の実施形態では、患者の疾患または疾病の処置のための蒸気の分子を含む免疫腫瘍学的治療が本明細書で開示される。

【００２６】

特定の実施形態において、上記の分子を含むキットが本明細書で開示されている。

【図面の簡単な説明】

【００２７】

【図１Ａ】分子生物学の実施例１０で記載されるように、相補性の１９の塩基と３’ジヌクレオチドオーバーハングを有する、２１量体の二重鎖の構造の絵による表現を示す。

【図１Ｂ】分子生物学の実施例１０で記載されるように、相補性の１９の塩基と１つの３’ジヌクレオチドオーバーハングを有する平滑末端の二重鎖の構造の絵による表現を示す。

【図２】分子生物学の実施例１１で記載されるように、ＨＰＲＴ　ｓｉＲＮＡを用いるＨＣＴトランスフェクションに対する対数（ｎＭでのｓｉＲＮＡ）対相対的なＨＰＲＴ　ｍＲＮＡ（％）のプロットを示す。

【図３】分子生物学の実施例１２で記載されるように、ＭＳＴＮ　ｓｉＲＮＡを用いるＳＪＣＲＨ３０トランスフェクションに対する対数（ｎＭでのｓｉＲＮＡ）対相対的なＭＳ

ＴＮ　ｍＲＮＡレベル（未処理の対照の％）のプロットを示す。
【図４】分子生物学の実施例１３で記載されるように、抗体ｓｉＲＮＡの抱合体のＩＶ投与後の、腓腹筋におけるインビボのＭＳＴＮとＨＰＲＴ　ｍＲＮＡのダウンレギュレーションを示す。
【図５】分子生物学の実施例１４で記載されるように、抗体ｓｉＲＮＡの抱合体のＩＶ投与後の、（Ａ）腓腹筋、（Ｂ）大腿四頭筋、および（Ｃ）心筋におけるインビボのＭＳＴＮ　ｍＲＮＡダウンレギュレーションを示す。
【図６】分子生物学の実施例１５で記載されるように、抗体ｓｉＲＮＡの抱合体のＩＶ投与後の、（Ａ）腓腹筋と（Ｂ）肝臓におけるインビボのＭＳＴＮ　ｍＲＮＡダウンレギュレーションを示す。
【図７】分子生物学の実施例１６で記載されるような濃度対％ＳＳＢ　ｍＲＮＡ（ｎＭ）のプロットを示す。
【図８】分子生物学の実施例１７で記載されるように、ＳＪＣＲＨ３０トランスフェクションのためのｓｉＲＮＡ濃度（ｎＭ）対相対的なＭＳＴＮ（図８Ａ）とＳＳＢ（図８Ｂ）のｍＲＮＡ発現のプロットを示す。
【図９】分子生物学の実施例１８で記載されるように、ＳＪＣＲＨ３０のためのｓｉＲＮＡ濃度（ｎＭ）対相対的なＭＳＴＮ（図８Ａ）とＳＳＢ（図８Ｂ）のｍＲＮＡ発現のプロットを示す。
【発明を実施するための形態】
【００２８】
核酸（例えば、ＲＮＡｉ）治療は高い選択率と特異性を誇る標的療法である。しかしながら、いくつかの例では、核酸治療も、脆弱な細胞内取り込み、限定的な血液安定性、および非特異的な免疫刺激によって妨害される。こうした諸問題に対応するために、核酸組成物の様々な修飾、例えば、より優れた安定化および／またはより低い毒性のための新規なリンカー、増加した標的特異性および／または標的送達用の結合部分の最適化、ならびに、安定性の増加および／または的外れの効果の減少のための核酸ポリマー修飾などが探求されている。
【００２９】
いくつかの実施形態において、核酸組成物を構成する様々な成分の構成または順序はさらに、細胞内取り込み、安定性、毒性、有効性、および／または非特異的な免疫刺激をもたらす。例えば、核酸成分が結合部分、ポリマー、およびポリ核酸分子（あるいは、ポリヌクレオチド）を含む場合、結合部分、ポリマー、および／または、ポリ核酸分子（あるいは、ポリヌクレオチド）の順序または構成）（例えば、結合部分ポリ核酸分子ポリマー、結合部分ポリマーポリ核酸分子、あるいはポリマー結合部分ポリ核酸分子）はさらに、細胞内取り込み、安定性、毒性、有効性、および／または非特異的な免疫刺激をもたらす。
【００３０】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸成分の構成の分子は、細胞内取り込み、安定性、毒性、有効性、および／または非特異的な免疫刺激をもたらす。いくつかの例では、分子はポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む。いくつかの実施形態において、分子は式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ；の分子を含み、式中、Ａは結合部分であり、Ｂは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであり、Ｃはポリマーであり、Ｘは単結合または第１のリンカーであり、および、Ｙは単結合または第２のリンカーである。いくつかの例では、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの例では、式（Ｉ）の分子は、Ｄ、エンドソーム溶解性部分を含む。
【００３１】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む分子は、細胞内取り込み、安定性、および／または有効性を増強する。いくつかの例では、本明細書に記載されるように配されたポリ核酸分子およびポリマ

ーに結合した結合部分を含む分子は、毒性および／または非特異的な免疫刺激を減少させる。場合によっては、分子は式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ；の分子を含み、式中、Ａは結合部分であり、Ｂは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであり、Ｃはポリマーであり、Ｘは単結合または第１のリンカーであり、および、Ｙは単結合または第２のリンカーである。いくつかの例では、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの例では、式（Ｉ）の分子は、Ｄ、エンドソーム溶解性部分を含む。

【００３２】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子はさらに、疾患または疾病を処置するために使用される。いくつかの例では、疾患または疾病の処置のための分子は、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ；の分子であり、式中、Ａは結合部分であり、Ｂは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであり、Ｃはポリマーであり、Ｘは単結合または第１のリンカーであり、および、Ｙは単結合または第２のリンカーである。いくつかの例では、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの例では、式（Ｉ）の分子は、Ｄ、エンドソーム溶解性部分を含む。

【００３３】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子はさらに、患者の初代細胞中の標的遺伝子の発現を阻害するために使用される。そのような例では、そのような使用のための分子は、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ；の分子であり、式中、Ａは結合部分であり、Ｂは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであり、Ｃはポリマーであり、Ｘは単結合または第１のリンカーであり、および、Ｙは単結合または第２のリンカーである。いくつかの例では、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチド、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含む。いくつかの例では、式（Ｉ）の分子は、Ｄ、エンドソーム溶解性部分を含む。

【００３４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載された分子はさらに、疾患または疾病の処置のための免疫腫瘍学的治療として使用される。いくつかの例において、分子は式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ；の分子であり、式中、Ａは結合部分であり、Ｂは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであり、Ｃはポリマーであり、Ｘは単結合または第１のリンカーであり、および、Ｙは単結合または第２のリンカーである。いくつかの例では、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチド、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含む。いくつかの例では、式（Ｉ）の分子は、Ｄ、エンドソーム溶解性部分を含む。

【００３５】

追加の実施形態において、本明細書に記載される分子の１つ以上を含むキットが本明細書に記載される。

【００３６】

治療用分子プラットフォーム

いくつかの実施形態において、本明細書に記載された分子（例えば、治療用分子）は、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドおよびポリマーを含むポリ核酸分子に結合した結合部分を含む。いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、式（Ｉ）：

Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ

式Ｉ

の分子を含み、

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｃはポリマーであり；
Ｘは単結合または第１のリンカーであり；および、
Ｙは単結合または第２のリンカーであり；および、
ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。

【００３７】

いくつかの例では、式（Ｉ）の分子は、Ｄ、エンドソーム溶解性部分を含む。

【００３８】

いくつかの実施形態において、少なくとも１つのＡおよび／または少なくとも１つのＣは、Ｂの５’末端、Ｂの３’末端、Ｂの内部部位、あるいはこれらの任意の組み合わせに結合する。いくつかの例では、少なくとも１つのＡはＢの１つの末端で結合し、その一方で、少なくとも１つのＣはＢの反対側の末端で結合する。いくつかの例では、Ａの少なくとも１つは、Ｂの１つの末端で結合し、その一方で、Ｃの少なくとも１つはＢの内部部位で結合する。

【００３９】

場合によっては、ＡとＣは同じ末端でＢに結合（ｃｏｎｊｕｇａｔｅｄあるいはａｔｔａｃｈｅｄ）しない。場合によっては、ＡはＢの第１の末端でＢに結合する。場合によっては、ＣはＢの第２の末端でＢに結合し、および、Ｂの第２の末端は第１の末端とは異なる。場合によっては、ＡはＢの５’末端でＢに結合し、および、ＣはＢの３’末端でＢに結合する。他の場合には、ＡはＢの３’末端でＢに結合し、および、ＣはＢの５’末端でＢに結合する。

【００４０】

いくつかの実施形態では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。場合によっては、Ｃはポリマーである。場合によっては、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。場合によっては、ＡはＢの第１の末端でＢに結合する。場合によっては、ＣはＢの第２の末端でＢに結合し、および、Ｂの第２の末端は第１の末端とは異なる。場合によっては、ＡはＢの５’末端でＢに結合し、および、ＣはＢの３’末端でＢに結合する。他の場合には、ＡはＢの３’末端でＢに結合し、および、ＣはＢの５’末端でＢに結合する。場合によっては、ＡをＢに結合するＸは単結合あるいは非ポリマーリンカーである。場合によっては、Ｘが非ペプチドリンカー（あるいはアミノ酸残基を含まないリンカー）である。場合によっては、ＢをＣに結合するＹは単結合あるいは第２のリンカーである。いくつかの例では、ＸはＢの５’末端にＡを結合し、ＹはＢの３’末端にＣを結合する。他の例では、ＸはＢの３’末端にＡを結合し、ＹはＢの５’末端にＣを結合する。

【００４１】

いくつかの実施形態において、Ｘ－Ｂは、ＡのＮ末端、Ｃ末端、定常領域、ヒンジ領域、あるいはＦｃ領域に結合する。いくつかの例では、Ｘ－ＢはＡのＮ末端に結合する。いくつかの例では、Ｘ－ＢはＡのＣ末端に結合する。いくつかの例では、Ｘ－ＢはＡのヒンジ領域に結合する。いくつかの例では、Ｘ－ＢはＡの定常領域に結合する。いくつかの例では、Ｘ－ＢはＡのＦｃ領域に結合する。

【００４２】

いくつかの例では、少なくとも１つのＢおよび／または少なくとも１つのＣ、ならびに随意に少なくとも１つのＤは、第１のＡに結合する。いくつかの例では、少なくとも１つのＢは、第１のＡに末端（例えば、５’末端あるいは３’末端）で結合し、あるいは第１のＡに内部部位を介して結合する。場合によっては、少なくとも１つのＣは、第１のＡに直接的に、あるいは２以上のＢを介して間接的に結合する。２以上のＢを介して間接的に結合する場合、２以上のＣは、Ｂ上の第１のＡと同じ末端で、第１のＡから反対側の末端で、あるいは、独立して内部部位で結合する。いくつかの例では、少なくとも１つの追加のＡはさらに、第１のＡ、Ｂ、あるいはＣに結合する。さらなる例では、少なくとも１つのＤは随意に、第１のＡ、少なくとも１つのＢ、あるいは少なくとも１つのＣに、直接的

あるいは間接的に結合する。直接的に第１のＡに結合する場合、少なくとも１つのＤもＡ－Ｄ－Ｂ抱合体を形成するために少なくとも１つのＢに随意に結合し、あるいは、Ａ－Ｄ－Ｂ－Ｃ抱合体を形成するために少なくとも１つのＢと少なくとも１つのＣに随意に結合する。場合によっては、少なくとも１つの追加のＡは第１のＡとは異なる。

【００４３】

場合によっては、２以上のＢおよび／または２以上のＣは、第１のＡに結合する。いくつかの例では、２以上のＢは、第１のＡに末端（例えば、５’末端あるいは３’末端）で結合し、あるいは第１のＡに内部部位を介して結合する。いくつかの例では、２以上のＣは、第１のＡに直接的に、あるいは２以上のＢを介して間接的に結合する。２以上のＢを介して間接的に結合する場合、２以上のＣは、Ｂ上の第１のＡと同じ末端で、第１のＡから反対側の末端で、あるいは、独立して内部部位で結合する。いくつかの例では、少なくとも１つの追加のＡはさらに、第１のＡ、２以上のＢ、あるいは２以上のＣに結合する。さらなる例では、少なくとも１つのＤは随意に、第１のＡ、２以上のＢ、あるいは２以上のＣに、直接的あるいは間接的に結合する。第１のＡに間接的に結合する場合、少なくとも１つのＤは、Ａ－Ｂ－Ｃ－Ｄ型抱合体を形成するために、２以上のＢによって、２以上のＣによって、Ｂ－Ｃ配向によって、あるいはＡ－Ｃ－Ｂ－Ｄ型の抱合体を形成するために、Ｃ－Ｂ配向によって、第１のＡに結合する。場合によっては、少なくとも１つの追加のＡは第１のＡとは異なる。場合によっては、２以上のＢが異なる。他の場合には、２つ以上のＢが同じである。いくつかの例では、２以上のＣが異なる。他の例では、２つ以上のＣが同じである。さらなる例では、２つ以上のＤが異なる。さらなる例では、２つ以上のＤが同じである。

【００４４】

他の場合には、２以上のＢおよび／または２以上のＤ、随意に２以上のＣは第１のＡに結合する。いくつかの例では、２以上のＢは、第１のＡに末端（例えば、５’末端あるいは３’末端）で結合し、あるいは第１のＡに内部部位を介して結合する。いくつかの例では、２以上のＤは、第１のＡに直接的に、あるいは２以上のＢを介して間接的に結合する。２以上のＢを介して間接的に結合する場合、２以上のＤは、Ｂ上の第１のＡと同じ末端で、第１のＡから反対側の末端で、あるいは、独立して内部部位で結合する。いくつかの例では、少なくとも１つの追加のＡはさらに、第１のＡ、２以上のＢ、あるいは２以上のＤに結合する。さらなる例では、２以上のＣは随意に、第１のＡ、２以上のＢ、あるいは２以上のＤに、直接的あるいは間接的に結合する。場合によっては、少なくとも１つの追加のＡは第１のＡとは異なる。場合によっては、２以上のＢが異なる。他の場合には、２つ以上のＢが同じである。いくつかの例では、２以上のＣが異なる。他の例では、２つ以上のＣが同じである。さらなる例では、２つ以上のＤが異なる。さらなる例では、２つ以上のＤが同じである。

【００４５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子（例えば、治療用分子）は、式（ＩＩ）に係る分子を含み：

$$（Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ_{c}）－Ｌ－Ｄ$$

式ＩＩ

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；

Ｃはポリマーであり；

Ｘは単結合または第１のリンカーであり；

Ｙは単結合または第２のリンカーであり；

Ｌは単結合または第３のリンカーであり；

Ｄはエンドソーム溶解性部分であり；および、

ｃは０と１の間の整数であり；および、

ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチ

ドを含み；および、Ｄは、Ａ、Ｂ、またはＣの任意の場所に結合する。
【００４６】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子（例えば、治療用分子）は、式（ＩＩＩ）に係る分子を含み：

$$A_a-X-B_b-Y-C_c-L-D_n$$

式ＩＩＩ

式中、
Ａは結合部分であり；
Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｃはポリマーであり；
Ｄはエンドソーム溶解性部分であり；
Ｘは単結合または第１のリンカーであり；
Ｙは単結合または第２のリンカーであり；
Ｌは単結合または第３のリンカーであり；
ａとｂは独立して１－３の間の整数であり；
ｃは０と３の間の整数であり；および、
ｎは０と１０の間の整数であり；および、
ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含み；Ａは、Ｂ、Ｃ、あるいはＤ上の任意の場所で結合し；Ｂは、Ａ、Ｃ、あるいはＤ上の任意の場所で結合し；Ｃは、Ａ、Ｂ、あるいはＤ上の任意の場所で結合し；および、Ｄは、Ａ、Ｂ、またはＣの任意の場所に結合する。
【００４７】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子（例えば、治療用分子）は、式（ＩＩＩａ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｌ－Ｄ－Ｙ－Ｃに係る分子を含む。
【００４８】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子（例えば、治療用分子）は、式（ＩＩＩｂ）：$A_a-X-B_b-L-D_n$に係る分子を含む。
【００４９】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子（例えば、治療用分子）は、式（ＩＶ）に係る分子を含み：

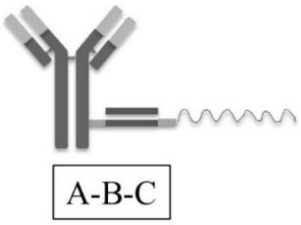
$$A-X-(B_b-Y-C_c-L-D_n)_m$$

式中、
Ａは結合部分であり；
Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｃはポリマーであり；
Ｄはエンドソーム溶解性部分であり；
Ｘは単結合または第１のリンカーであり；
Ｙは単結合または第２のリンカーであり；
Ｌは単結合または第３のリンカーであり；
ａとｂは独立して１－３の間の整数であり；
ｃは０と３の間の整数であり；
ｎは０と１０の間の整数であり；および、
ｍは１－３の間の整数であり；および、
ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含み；ＣはＢあるいはＤ上の任意の場所で結合し；および、ＤはＢあるいはＣの任意の場所に結合する。
【００５０】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される分子（例えば、治療用分子）は、式（ＩＶａ）：$A-X-(B_b-L-D_n-Y-C_c)_m$に係る分子を含む。
【００５１】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００５２】

【化１】

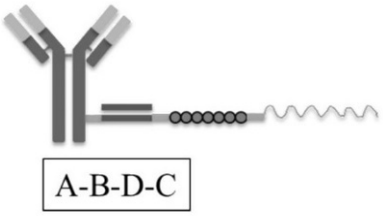


【００５３】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００５４】

【化２】

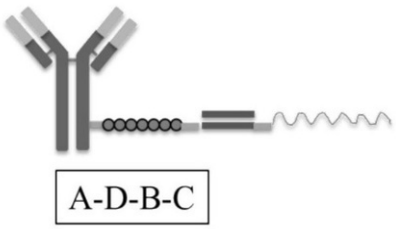


【００５５】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００５６】

【化３】

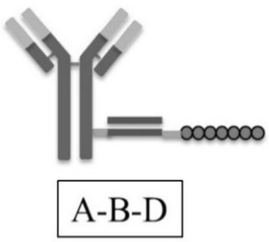


【００５７】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００５８】

【化４】



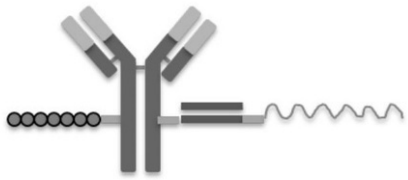
【００５９】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子

である：

【００６０】

【化５】



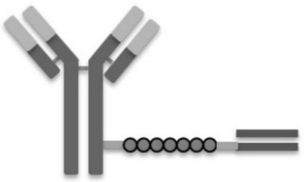
D-A-B-C

【００６１】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００６２】

【化６】



A-D-B

【００６３】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００６４】

【化７】



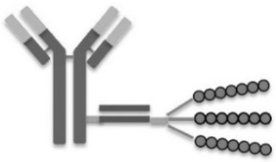
A-C-B

【００６５】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００６６】

【化８】



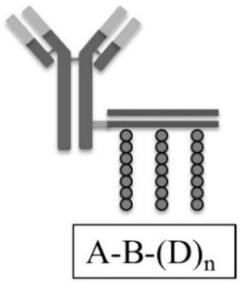
A-B-$(D)_n$

【００６７】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００６８】

【化９】

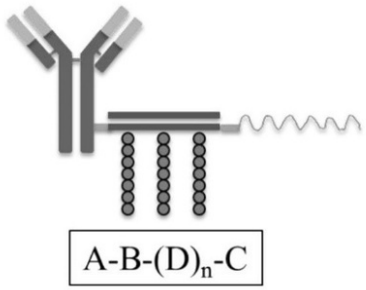


【００６９】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００７０】

【化１０】

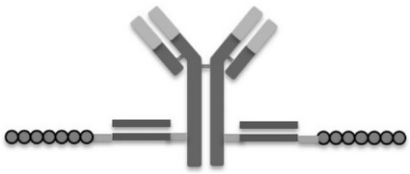


【００７１】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００７２】

【化１１】

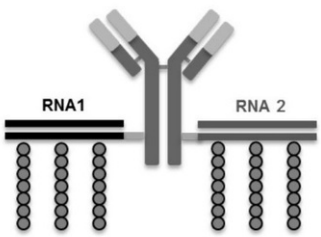


【００７３】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００７４】

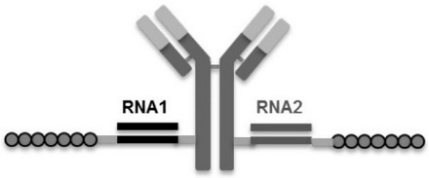
【化１２】



【００７５】

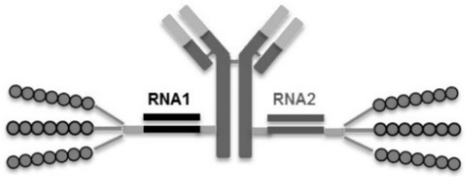
いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００７６】
【化１３】



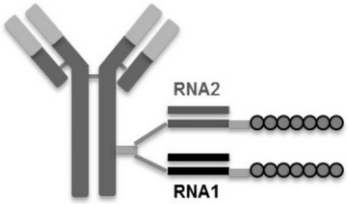
【００７７】
いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００７８】
【化１４】



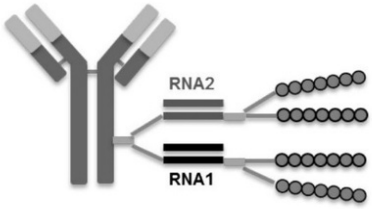
【００７９】
いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００８０】
【化１５】



【００８１】
いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

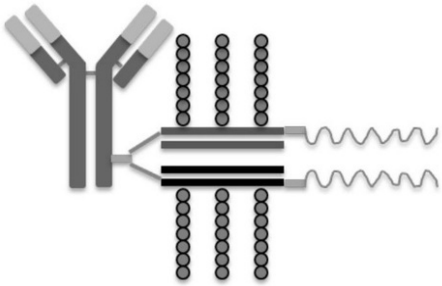
【００８２】
【化１６】



【００８３】
いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００８４】

【化１７】

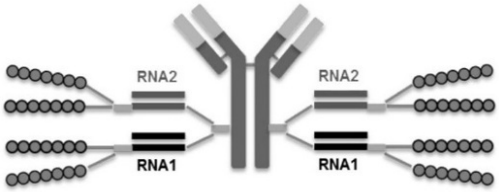


【００８５】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００８６】

【化１８】

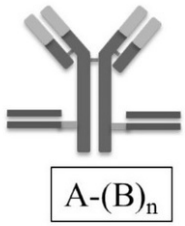


【００８７】

いくつかの実施形態において、分子（例えば、治療用分子）は、例示されるような分子である：

【００８８】

【化１９】



【００８９】

【化２０】



は、例示目的のために過ぎず、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、あるいは、ラクダ抗体またはその結合フラグメントを包含する。

【００９０】

ポリ核酸分子標的

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、癌遺伝子上の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子（あるいはポリヌクレオチド）である。いくつかの例では、癌遺伝子は、いくつかのカテゴリー：成長因子または分裂促進因子、受容体チロシンキナーゼ、

細胞質チロシンキナーゼ、細胞質セリン／トレオニンキナーゼ、制御性ＧＴＰアーゼ、および転写因子にさらに分類される。例示的な成長因子はｃ－Ｓｉｓを含む。例示的な受容体チロシンキナーゼは、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）、血小板由来増殖因子受容体（ＰＤＧＦＲ）、血管内皮増殖因子受容体（ＶＥＧＦＲ）、およびＨＥＲ２／ｎｅｕを含む。例示的な細胞質チロシンキナーゼは、Ｓｒｃファミリーチロシンキナーゼ、チロシンキナーゼのＳｙｋ－ＺＡＰ－７０ファミリー、チロシンキナーゼのＢＴＫファミリー、および、ＣＭＬにおけるＡｂｌ遺伝子を含む。例示的な細胞質セリン／トレオニンキナーゼはＲａｆキナーゼおよびサイクリン依存性キナーゼを含む。例示的な制御性ＧＴＰアーゼは、ＫＲＡＳなどのタンパク質のＲａｓファミリーを含む。例示的な転写因子はＭＹＣ遺伝子を含む。いくつかの例では、本明細書に記載された癌遺伝子は、成長因子または分裂促進因子、受容体チロシンキナーゼ、細胞質チロシンキナーゼ、細胞質セリン／トレオニンキナーゼ、制御性ＧＴＰアーゼ、あるいは転写因子から選択された癌遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、成長因子または分裂促進因子、受容体チロシンキナーゼ、細胞質チロシンキナーゼ、細胞質セリン／トレオニンキナーゼ、制御性ＧＴＰアーゼ、あるいは転写因子から選択された癌遺伝子の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【００９１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載された癌遺伝子は、Ａｂｌ、ＡＫＴ－２、ＡＬＫ、ＡＭＬ１（または、ＲＵＮＸ１）、ＡＲ、ＡＸＬ、ＢＣＬ－２、３、６、ＢＲＡＦ、ｃ－ＭＹＣ、ＥＧＦＲ、ＥｒｂＢ－２（Ｈｅｒ２、Ｎｅｕ）、Ｆｍｓ、ＦＯＳ、ＧＬＩ１、ＨＰＲＴ１、ＩＬ－３、ＩＮＴＳ２、ＪＵＮ、ＫＩＴ、ＫＳ３、Ｋ－ｓａｍ、ＬＢＣ（ＡＫＡＰ１３）、ＬＣＫ、ＬＭＯ１、ＬＭＯ２、ＬＹＬ１、ＭＡＳ１、ＭＤＭ２、ＭＥＴ、ＭＬＬ（ＫＭＴ２Ａ）、ＭＯＳ、ＭＹＢ、ＭＹＨ１１／ＣＢＦＢ、ＮＯＴＣＨ１（ＴＡＮ１）、ＮＴＲＫ１（ＴＲＫ）、ＯＳＴ（ＳＬＣ５１Ｂ）、ＰＡＸ５、ＰＩＭ１、ＰＲＡＤ－１、ＲＡＦ、ＲＡＲ／ＰＭＬ、ＨＲＡＳ、ＫＲＡＳ、ＮＲＡＳ、ＲＥＬ／ＮＲＧ、ＲＥＴ、ＲＯＳ、ＳＫＩ、ＳＲＣ、ＴＩＡＭ１、あるいはＴＳＣ２を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、Ａｂｌ、ＡＫＴ－２、ＡＬＫ、ＡＭＬ１（または、ＲＵＮＸ１）、ＡＲ、ＡＸＬ、ＢＣＬ－２、３、６、ＢＲＡＦ、ｃ－ＭＹＣ、ＥＧＦＲ、ＥｒｂＢ－２（Ｈｅｒ２、Ｎｅｕ）、Ｆｍｓ、ＦＯＳ、ＧＬＩ１、ＨＰＲＴ１、ＩＬ－３、ＩＮＴＳ２、ＪＵＮ、ＫＩＴ、ＫＳ３、Ｋ－ｓａｍ、ＬＢＣ（ＡＫＡＰ１３）、ＬＣＫ、ＬＭＯ１、ＬＭＯ２、ＬＹＬ１、ＭＡＳ１、ＭＤＭ２、ＭＥＴ、ＭＬＬ（ＫＭＴ２Ａ）、ＭＯＳ、ＭＹＢ、ＭＹＨ１１／ＣＢＦＢ、ＮＯＴＣＨ１（ＴＡＮ１）、ＮＴＲＫ１（ＴＲＫ）、ＯＳＴ（ＳＬＣ５１Ｂ）、ＰＡＸ５、ＰＩＭ１、ＰＲＡＤ－１、ＲＡＦ、ＲＡＲ／ＰＭＬ、ＨＲＡＳ、ＫＲＡＳ、ＮＲＡＳ、ＲＥＬ／ＮＲＧ、ＲＥＴ、ＲＯＳ、ＳＫＩ、ＳＲＣ、ＴＩＡＭ１、あるいはＴＳＣ２の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【００９２】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載された癌遺伝子は、ＫＲＡＳ、ＥＧＦＲ、ＡＲ、ＨＰＲＴ１、ＣＮＮＴＢ１（β－カテニン）、あるいはβ－カテニン関連遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、ＫＲＡＳ、ＥＧＦＲ、ＡＲ、ＨＰＲＴ１、ＣＮＮＴＢ１（β－カテニン）、あるいはβ－カテニン関連遺伝子の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、ＫＲＡＳの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、ＥＧＦＲの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、ＡＲの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、ＣＮＮＴＢ１（β－カテニン）の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、ＣＮＮＴＢ１（β－カテニン）関連遺伝子の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの例では、β－カテニン関連遺伝子はＰＩＫ３ＣＡ、ＰＩＫ３ＣＢ、およびＭｙｃを含む。いくつかの例では、ポリ

核酸分子Ｂは、ＨＰＲＴ１の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。
【００９３】
カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（ＫＲＡＳ）を標的とするポリ核酸分子
カーステンラット肉腫ウイルスの癌遺伝子ホモログ（ＧＴＰアーゼＫＲａｓ、ν－Ｋｉ－ｒａｓカーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ、あるいはＫＲＡＳとしても知られている）は、細胞分裂の調節に関与する。Ｋ－Ｒａｓタンパク質はＲａｓスーパーファミリーに属するＧＴＰアーゼである。いくつかの例では、Ｋ－Ｒａｓは細胞周期進行を調節し、様々な環境トリガー（例えば、細胞ストレス、紫外線、熱ショック、あるいはイオン化放射線照射）の下で、成長停止、アポトーシス、および複製老化を誘導する。場合によっては、野生型ＫＲＡＳ遺伝子は様々なタイプの癌における腫瘍進行中に頻繁に失われることが示されているが、ＫＲＡＳ遺伝子の突然変異は癌の発生に関連している。いくつかの例では、ＫＲＡＳの増幅も、癌の発生に関与している（例えば、Ｖａｌｔｏｒｔａ ｅｔ ａｌ．“ＫＲＡＳ ｇｅｎｅ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｉｎ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ ａｎｄ ｉｍｐａｃｔ ｏｎ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｔｏ ＥＧＦＲ－ｔａｒｇｅｔｅｄ ｔｈｅｒａｐｙ，” Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ １３３：１２５９－１２６６（２０１３）を参照）。そのような場合、癌は、患者が特定の阻害剤あるいは阻害剤のクラスに対して耐性を獲得した難治性の癌に関連する。
【００９４】
いくつかの実施形態において、ＫＲＡＳ遺伝子は野生型であるか、あるいは突然変異を含む。いくつかの例では、ＫＲＡＳ　ｍＲＮＡは野生型であるか、あるいは突然変異を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型のＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）を含む、ＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。
【００９５】
いくつかの実施形態において、ＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、エクソン１のコドン１２あるいは１３で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、コドン６１、６３、１１７、１１９、あるいは１４６において１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＫＲＡＳポリペプチドのアミノ酸残基１２、１３、１８、１９、２０、２２、２４、２６、３６、５９、６１、６３、６４、６８、１１０、１１６、１１７、１１９、１４６、１４７、１５８、１６４、１７６、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＫＲＡＳポリペプチドのＧ１２Ｖ、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｆ、Ｇ１３Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１３Ｖ、Ａ１８Ｄ、Ｌ１９Ｆ、Ｔ２０Ｒ、Ｑ２２Ｋ、Ｉ２４Ｎ、Ｎ２６Ｋ、Ｉ３６Ｌ、Ｉ３６Ｍ、Ａ５９Ｇ、Ａ５９Ｅ、Ｑ６１Ｋ、Ｑ６１Ｈ、Ｑ６１Ｌ、Ｑ６１Ｒ、Ｅ６３Ｋ、Ｙ６４Ｄ、Ｙ６４Ｎ、Ｒ６８Ｓ、Ｐ１１０Ｓ、Ｋ１１７Ｎ、Ｃ１１８Ｓ、Ａ１４６Ｔ、Ａ１４６Ｐ、Ａ１４６Ｖ、Ｋ１４７Ｎ、Ｔ１５８Ａ、Ｒ１６４Ｑ、Ｋ１７６Ｑ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置に１つ以上の突然変異を含む。
【００９６】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン１中のコドン１２あるいは１３の１つ以上の突然変異を含むＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、コドン６１、６３、１１７、１１９、あるいは１４６の１つ以上の突然変異を含むＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＫＲＡＳポリペプチドのアミノ酸残基１２、１３、１８、１９、２０、２２、２４、２６、３６、５９、６１、６３、６４、６８

、１１０、１１６、１１７、１１９、１４６、１４７、１５８、１６４、１７６、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置に１つ以上の突然変異を含むＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＫＲＡＳポリペプチドのＧ１２Ｖ、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｆ、Ｇ１３Ｃ、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１３Ｖ、Ａ１８Ｄ、Ｌ１９Ｆ、Ｔ２０Ｒ、Ｑ２２Ｋ、Ｉ２４Ｎ，Ｎ２６Ｋ、Ｉ３６Ｌ、Ｉ３６Ｍ、Ａ５９Ｇ、Ａ５９Ｅ、Ｑ６１Ｋ、Ｑ６１Ｈ、Ｑ６１Ｌ、Ｑ６１Ｒ、Ｅ６３Ｋ、Ｙ６４Ｄ、Ｙ６４Ｎ、Ｒ６８Ｓ、Ｐ１１０Ｓ、Ｋ１１７Ｎ、Ｃ１１８Ｓ、Ａ１４６Ｔ、Ａ１４６Ｐ、Ａ１４６Ｖ、Ｋ１４７Ｎ、Ｔ１５８Ａ、Ｒ１６４Ｑ、Ｋ１７６Ｑ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応するに１つ以上の突然変異を含むＫＲＡＳ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【００９７】

上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）を標的とするポリ核酸分子

上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ、ＥｒｂＢ－１、あるいはＨＥＲ１）は、膜貫通チロシンキナーゼ受容体および受容体のＥｒｂＢファミリーのメンバーであり、これはさらにＨＥＲ２／ｃ－ｎｅｕ（ＥｒｂＢ－２）、Ｈｅｒ３（ＥｒｂＢ－３）、およびＨｅｒ４（ＥｒｂＢ－４）を含む。いくつかの例では、ＥＧＦＲ突然変異は、ＲＡＳ／ＲＡＦ／ＭＡＰＫ、ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ、および／またはＪＡＫ／ＳＴＡＴ経路の下流の活性化を駆り立てて、有糸分裂、細胞増殖、アポトーシスの抑制を引き起こす。加えて、野生型のＥＧＦＲ遺伝子の増幅は、などの癌の発生に巻き込まれた、膠芽腫および非小細胞肺癌などの癌の発生に関与している（Ｔａｌａｓｉｌａ，ｅｔ　ａｌ．，“ＥＧＦＲ　Ｗｉｌｄ－ｔｙｐｅ　Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ　Ｐｒｏｍｏｔｅ　Ｉｎｖａｓｉｏｎ　ａｎｄ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｇｌｉｏｂｌａｓｔｏｍａ　Ｉｎｄｅｐｅｎｄｅｎｔ　ｏｆ　Ａｎｇｉｏｇｅｎｅｓｉｓ，”　Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌ．　１２５（５）：　６８３－６９８（２０１３）；　Ｂｅｌｌ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ　Ｇｒｏｗｔｈ　Ｆａｃｔｏｒ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ　Ｍｕｔａｔｉｏｎｓ　ａｎｄ　Ｇｅｎｅ　Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ｉｎ　Ｎｏｎ－Ｓｍａｌｌ－Ｃｅｌｌ　Ｌｕｎｇ　Ｃａｎｃｅｒ：　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ａｎａｌｙｓｉｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　ＩＤＥＡＬ／ＩＮＴＡＣＴ　Ｇｅｆｉｔｉｎｉｂ　Ｔｒｉａｌｓ，”　Ｊ．　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ　２３（３１）：　８０８１－８０９２（２００５））

【００９８】

いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、野生型ＥＧＦＲ、あるいは突然変異を含むＥＧＦＲである。いくつかの例では、ＥＧＦＲは野生型ＥＧＦＲである。いくつかの例では、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは突然変異を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【００９９】

いくつかの例では、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、１つ以上のエクソンは、エクソン１８、エクソン１９、エクソン２０、エクソン２１、あるいはエクソン２２を含む。いくつかの例では、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、エクソン１８、エクソン１９、エクソン２０、エクソン２１、エクソン２２、あるいはこれらの組み合わせにおいて１つ以上の突然変異を含む。

【０１００】

いくつかの例では、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基３４、３８、４５、６２、６３、７７、７８、１０８、１１４、１２０、１４０

、１４８、１４９、１６０、１７７、１７８、１８９、１９１、１９８、２２０、２２２、２２３、２２９、２３７、２４０、２４４、２５２、２５４、２５５、２５６、２６３、２７０、２７３、２７６、２８２、２８８、２８９、３０１、３０３、３０４、３０９、３１４、３２６、３３１、３５４、３６３、３７３、３３７、３８０、３８４、３９３、４２７、４２８、４３７、４４１、４４７、４６５、４７５、５１５、５２６、５２７、５３１、５３６、５４１、５４６、５７１、５８８、５８９、５９６、５９６、５９８、６０２、６１４、６２０、６２８、６３６、６４１、６４５、６５１、６７１、６８９、６９４、７００、７０９、７１２、７１４、７１５、７１６、７１９、７２０、７２１、７３１、７３３、７３９－７４４、７４２、７４６－７５０、７４６－７５２、７４６、７４７、７４７－７４９、７４７－７５１、７４７－７５３、７５１、７５２、７５４、７５２－７５９、７５０、７６１－７６２、７６１、７６３、７６５、７６７－７６８、７６７－７６９、７６８、７６９、７６９－７７０、７７０－７７１、７７２、７７３－７７４、７７３、７７４、７７４－７７５、７７６、７７９、７８３、７８４、７８６、７９０、７９２、７９４、７９８、８０３、８０５、８０７、８１０、８２６、８２７、８３１、８３２、８３３、８３５、８３７、８３８、８３９、８４２、８４３、８４７、８５０、８５１、８５３、８５４、８５６、８５８、８６１、８６３、８９４、９１７、９６７、１００６、１０１９、１０４２、１１００、１１２９、１１４１、１１５３、１１６４、１１６７、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置における１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７４７、７６１、７９０、８５４、８５８、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７６１、７９０、８５８、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７４７に対応する位置で突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７６１に対応する位置で突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７９０に対応する位置で突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基８５４に対応する位置で突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基８５８に対応する位置で突然変異を含む。

【０１０１】

いくつかの実施形態において、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのＴ３４Ｍ、Ｌ３８Ｖ、Ｅ４５Ｑ、Ｌ６２Ｒ、Ｇ６３Ｒ、Ｇ６３Ｋ、Ｓ７７Ｆ、Ｆ７８Ｌ、Ｒ１０８Ｋ、Ｒ１０８Ｇ、Ｅ１１４Ｋ、Ａ１２０Ｐ、Ｌ１４０Ｖ、Ｖ１４８Ｍ、Ｒ１４９Ｗ、Ｅ１６０Ｋ、Ｓ１７７Ｐ、Ｍ１７８Ｉ、Ｋ１８９Ｔ、Ｄ１９１Ｎ、Ｓ１９８Ｒ、Ｓ２２０Ｐ、Ｒ２２２Ｌ、Ｒ２２２Ｃ、Ｓ２２３Ｙ、Ｓ２２９Ｃ、Ａ２３７Ｙ、Ｃ２４０Ｙ、Ｒ２４４Ｇ、Ｒ２５２Ｃ、Ｒ２５２Ｐ、Ｆ２５４Ｉ、Ｒ２５５（ナンセンス突然変異）、Ｄ２５６Ｙ、Ｔ２６３Ｐ、Ｙ２７０Ｃ、Ｔ２７３Ａ、Ｑ２７６（ナンセンス）、Ｅ２８２Ｋ、Ｇ２８８（フレームシフト）、Ａ２８９Ｄ、Ａ２８９Ｖ、Ａ２８９Ｔ、Ａ２８９Ｎ、Ａ２８９Ｄ、Ｖ３０１（欠失）、Ｄ３０３Ｈ、Ｈ３０４Ｙ、Ｒ３０９Ｑ、Ｄ３１４Ｎ、Ｃ３２６Ｒ、Ｇ３３１Ｒ、Ｔ３５４Ｍ、Ｔ３６３Ｉ、Ｐ３７３Ｑ、Ｒ３３７Ｓ、Ｓ３８０（フレームシフト）、Ｔ３８４Ｓ、Ｄ３９３Ｙ、Ｒ４２７Ｌ、Ｇ４２８Ｓ、Ｓ４３７Ｙ、Ｖ４４１Ｉ、Ｓ４４７Ｙ、Ｇ４６５Ｒ、Ｉ４７５Ｖ、Ｃ５１５Ｓ、Ｃ５２６Ｓ、Ｒ５２７Ｌ、Ｒ５３１（ナンセンス）、Ｖ５３６Ｍ、Ｌ５４１Ｉ、Ｐ５４６Ｑ、Ｃ５７１Ｓ、Ｇ５８８Ｓ、Ｐ５８９Ｌ、Ｐ５９６Ｌ、Ｐ５９６Ｓ、Ｐ５９６Ｒ、Ｐ５９６Ｌ、Ｇ５９８Ｖ、Ｇ５９８Ａ、Ｅ６０２Ｇ、Ｇ６１４Ｄ、Ｃ６２０Ｙ、Ｃ６２０Ｗ、Ｃ６２８Ｙ、Ｃ６２８Ｆ、Ｃ６３６Ｙ、Ｔ６３８Ｍ、Ｐ６４１Ｈ、Ｓ６４５Ｃ、Ｖ６５１Ｍ、Ｒ６７１Ｃ、Ｖ６８９Ｍ、Ｐ６９４Ｓ、Ｎ７００Ｄ、Ｅ７０９Ａ、Ｅ７０９Ｋ、Ｅ７０９Ｑ、Ｅ７０９

Ｋ、Ｆ７１２Ｌ、Ｋ７１４Ｎ、Ｉ７１５Ｓ、Ｋ７１６Ｒ、Ｇ７１９Ａ、Ｇ７１９Ｃ、Ｇ７１９Ｄ、Ｇ７１９Ｓ、Ｓ７２０Ｃ、Ｓ７２０Ｆ、Ｇ７２１Ｖ、Ｗ７３１Ｓｔｏｐ、Ｐ７３３Ｌ、Ｋ７３９－Ｉ７４４（挿入）、Ｖ７４２Ｉ、Ｖ７４２Ａ、Ｅ７４６－Ａ７５０（欠失）、Ｅ７４６Ｋ、Ｌ７４７Ｓ、Ｌ７４７－Ｅ７４９（欠失）、Ｌ７４７－Ｔ７５１（欠失）、Ｌ７４７－Ｐ７５３（欠失）、Ｇ７４６－Ｓ７５２（欠失）、Ｔ７５１Ｉ、Ｓ７５２Ｙ、Ｋ７５４（欠失）、Ｓ７５２－Ｉ７５９（欠失）、Ａ７５０Ｐ、Ｄ７６１－Ｅ７６２（例えば、残基ＥＡＦＱ挿入（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　２１１０））、Ｄ７６１Ｎ、Ｄ７６１Ｙ、Ａ７６３Ｖ、Ｖ７６５Ａ、Ａ７６７－Ｓ７６８（例えば、残基ＴＬＡ挿入）、Ａ７６７－Ｖ７６９（例えば、残基ＡＳＶ挿入）、Ｓ７６８Ｉ、Ｓ７６８Ｔ、Ｖ７６９Ｌ、Ｖ７６９Ｍ、Ｖ７６９－Ｄ７７０（例えば、残基Ｙ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基ＧＬ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基Ｇ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基ＣＶ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基ＳＶＤ挿入）、Ｐ７７２Ｒ、７７３－７７４（例えば、残基ＮＰＨ挿入）、Ｈ７７３Ｒ、Ｈ７７３Ｌ、Ｖ７７４Ｍ、７７４－７７５（例えば、残基ＨＶ挿入）、Ｒ７７６Ｈ、Ｒ７７６Ｃ、Ｇ７７９Ｆ、Ｔ７８３Ａ、Ｔ７８４Ｆ、Ｔ８５４Ａ、Ｖ７８６Ｌ、Ｔ７９０Ｍ、Ｌ７９２Ｐ、Ｐ７９４Ｈ、Ｌ７９８Ｆ、Ｒ８０３Ｗ、Ｈ８０５Ｒ、Ｄ８０７Ｈ、Ｇ８１０Ｓ、Ｎ８２６Ｓ、Ｙ８２７（ナンセンス）、Ｒ８３１Ｈ、Ｒ８３２Ｃ、Ｒ８３２Ｈ、Ｌ８３３Ｆ、Ｌ８３３Ｖ、Ｈ８３５Ｌ、Ｄ８３７Ｖ、Ｌ８３８Ｍ、Ｌ８３８Ｐ、Ａ８３９Ｖ、Ｎ８４２Ｈ、Ｖ８４３Ｌ、Ｔ８４７Ｋ、Ｔ８４７Ｉ、Ｈ８５０Ｎ、Ｖ８５１Ａ、Ｉ８５３Ｔ、Ｆ８５６Ｌ、Ｌ８５８Ｒ、Ｌ８５８Ｍ、Ｌ８６１Ｑ、Ｌ８６１Ｒ、Ｇ８６３Ｄ、Ｑ８９４Ｌ、Ｇ９１７Ａ、Ｅ９６７Ａ、Ｄ１００６Ｙ、Ｐ１０１９Ｌ、Ｓ１０４２Ｎ、Ｒ１１００Ｓ、Ｈ１１２９Ｙ、Ｔ１１４１Ｓ、Ｓ１１５３Ｉ、Ｑ１１６４Ｒ、Ｌ１１６７Ｍ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含む。

【０１０２】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン１８、エクソン１９、エクソン２０、エクソン２１、エクソン２２、あるいはこれらの組み合わせ中の１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１０３】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基３４、３８、４５、６２、６３、７７、７８、１０８、１１４、１２０、１４０、１４８、１４９、１６０、１７７、１７８、１８９、１９１、１９８、２２０、２２２、２２３、２２９、２３７、２４０、２４４、２５２、２５４、２５５、２５６、２６３、２７０、２７３、２７６、２８２、２８８、２８９、３０１、３０３、３０４、３０９、３１４、３２６、３３１、３５４、３６３、３７３、３３７、３８０、３８４、３９３、４２７、４２８、４３７、４４１、４４７、４６５、４７５、５１５、５２６、５２７、５３１、５３６、５４１、５４６、５７１、５８８、５８９、５９６、５９６、５９８、６０２、６１４、６２０、６２８、６３６、６４１、６４５、６５１、６７１、６８９、６９４、７００、７０９、７１２、７１４、７１５、７１６、７１９、７２０、７２１、７３１、７３３、７３９－７４４、７４２、７４６－７５０、７４６－７５２、７４６、７４７、７４７－７４９、７４７－７５１、７４７－７５３、７５１、７５２、７５４、７５２－７５９、７５０、７６１－７６２、７６１、７６３、７６５、７６７－７６８、７６７－７６９、７６８、７６９、７６９－７７０、７７０－７７１、７７２、７７３－７７４、７７３、７７４、７７４－７７５、７７６、７７９、７８３、７８４、７８６、７９０、７９２、７９４、７９８、８０３、８０５、８０７、８１０、８２６、８２７、８３１、８３２、８３３、８３５、８３７、８３８、８３９、８４２、８４３、８４７、８５０、８５１、８５３、８５４、８５６、８５８、８６１、８６３、８９４、９１７、９６７、１００６、１０１９、１０４２、１１００、１１２９、１１４１、１１５３、１１６４、１１６７、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置に１つ以上の突然変異を含むＥ

ＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７４７、７６１、７９０、８５４、８５８、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基、７６１、７９０、８５８、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７４７に対応する位置で突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７６１に対応する位置で突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基７９０に対応する位置で突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基８５４に対応する位置で突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのアミノ酸残基８５８に対応する位置で突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのＴ３４Ｍ、Ｌ３８Ｖ、Ｅ４５Ｑ、Ｌ６２Ｒ、Ｇ６３Ｒ、Ｇ６３Ｋ、Ｓ７７Ｆ、Ｆ７８Ｌ、Ｒ１０８Ｋ、Ｒ１０８Ｇ、Ｅ１１４Ｋ、Ａ１２０Ｐ、Ｌ１４０Ｖ、Ｖ１４８Ｍ、Ｒ１４９Ｗ、Ｅ１６０Ｋ、Ｓ１７７Ｐ、Ｍ１７８Ｉ、Ｋ１８９Ｔ、Ｄ１９１Ｎ、Ｓ１９８Ｒ、Ｓ２２０Ｐ、Ｒ２２２Ｌ、Ｒ２２２Ｃ、Ｓ２２３Ｙ、Ｓ２２９Ｃ、Ａ２３７Ｙ、Ｃ２４０Ｙ、Ｒ２４４Ｇ、Ｒ２５２Ｃ、Ｒ２５２Ｐ、Ｆ２５４Ｉ、Ｒ２５５（ナンセンス突然変異）、Ｄ２５６Ｙ、Ｔ２６３Ｐ、Ｙ２７０Ｃ、Ｔ２７３Ａ、Ｑ２７６（ナンセンス）、Ｅ２８２Ｋ、Ｇ２８８（フレームシフト）、Ａ２８９Ｄ、Ａ２８９Ｖ、Ａ２８９Ｔ、Ａ２８９Ｎ、Ａ２８９Ｄ、Ｖ３０１（欠失）、Ｄ３０３Ｈ、Ｈ３０４Ｙ、Ｒ３０９Ｑ、Ｄ３１４Ｎ、Ｃ３２６Ｒ、Ｇ３３１Ｒ、Ｔ３５４Ｍ、Ｔ３６３Ｉ、Ｐ３７３Ｑ、Ｒ３３７Ｓ、Ｓ３８０（フレームシフト）、Ｔ３８４Ｓ、Ｄ３９３Ｙ、Ｒ４２７Ｌ、Ｇ４２８Ｓ、Ｓ４３７Ｙ、Ｖ４４１Ｉ、Ｓ４４７Ｙ、Ｇ４６５Ｒ、Ｉ４７５Ｖ、Ｃ５１５Ｓ、Ｃ５２６Ｓ、Ｒ５２７Ｌ、Ｒ５３１（ナンセンス）、Ｖ５３６Ｍ、Ｌ５４１Ｉ、Ｐ５４６Ｑ、Ｃ５７１Ｓ、Ｇ５８８Ｓ、Ｐ５８９Ｌ、Ｐ５９６Ｌ、Ｐ５９６Ｓ、Ｐ５９６Ｒ、Ｐ５９６Ｌ、Ｇ５９８Ｖ、Ｇ５９８Ａ、Ｅ６０２Ｇ、Ｇ６１４Ｄ、Ｃ６２０Ｙ、Ｃ６２０Ｗ、Ｃ６２８Ｙ、Ｃ６２８Ｆ、Ｃ６３６Ｙ、Ｔ６３８Ｍ、Ｐ６４１Ｈ、Ｓ６４５Ｃ、Ｖ６５１Ｍ、Ｒ６７１Ｃ、Ｖ６８９Ｍ、Ｐ６９４Ｓ、Ｎ７００Ｄ、Ｅ７０９Ａ、Ｅ７０９Ｋ、Ｅ７０９Ｑ、Ｅ７０９Ｋ、Ｆ７１２Ｌ、Ｋ７１４Ｎ、Ｉ７１５Ｓ、Ｋ７１６Ｒ、Ｇ７１９Ａ、Ｇ７１９Ｃ、Ｇ７１９Ｄ、Ｇ７１９Ｓ、Ｓ７２０Ｃ、Ｓ７２０Ｆ、Ｇ７２１Ｖ、Ｗ７３１Ｓｔｏｐ、Ｐ７３３Ｌ、Ｋ７３９－Ｉ７４４（挿入）、Ｖ７４２Ｉ、Ｖ７４２Ａ、Ｅ７４６－Ａ７５０（欠失）、Ｅ７４６Ｋ、Ｌ７４７Ｓ、Ｌ７４７－Ｅ７４９（欠失）、Ｌ７４７－Ｔ７５１（欠失）、Ｌ７４７－Ｐ７５３（欠失）、Ｇ７４６－Ｓ７５２（欠失）、Ｔ７５１Ｉ、Ｓ７５２Ｙ、Ｋ７５４（欠失）、Ｓ７５２－Ｉ７５９（欠失）、Ａ７５０Ｐ、Ｄ７６１－Ｅ７６２（例えば、残基ＥＡＦＱ挿入（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　２１１０））、Ｄ７６１Ｎ、Ｄ７６１Ｙ、Ａ７６３Ｖ、Ｖ７６５Ａ、Ａ７６７－Ｓ７６８（例えば、残基ＴＬＡ挿入）、Ａ７６７－Ｖ７６９（例えば、残基ＡＳＶ挿入）、Ｓ７６８Ｉ、Ｓ７６８Ｔ、Ｖ７６９Ｌ、Ｖ７６９Ｍ、Ｖ７６９－Ｄ７７０（例えば、残基Ｙ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基ＧＬ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基Ｇ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基ＣＶ挿入）、７７０－７７１（例えば、残基ＳＶＤ挿入）、Ｐ７７２Ｒ、７７３－７７４（例えば、残基ＮＰＨ挿入）、Ｈ７７３Ｒ、Ｈ７７３Ｌ、Ｖ７７４Ｍ、７７４－７７５（例えば、残基ＨＶ

挿入）、Ｒ７７６Ｈ、Ｒ７７６Ｃ、Ｇ７７９Ｆ、Ｔ７８３Ａ、Ｔ７８４Ｆ、Ｔ８５４Ａ、Ｖ７８６Ｌ、Ｔ７９０Ｍ、Ｌ７９２Ｐ、Ｐ７９４Ｈ、Ｌ７９８Ｆ、Ｒ８０３Ｗ、Ｈ８０５Ｒ、Ｄ８０７Ｈ、Ｇ８１０Ｓ、Ｎ８２６Ｓ、Ｙ８２７（ナンセンス）、Ｒ８３１Ｈ、Ｒ８３２Ｃ、Ｒ８３２Ｈ、Ｌ８３３Ｆ、Ｌ８３３Ｖ、Ｈ８３５Ｌ、Ｄ８３７Ｖ、Ｌ８３８Ｍ、Ｌ８３８Ｐ、Ａ８３９Ｖ、Ｎ８４２Ｈ、Ｖ８４３Ｌ、Ｔ８４７Ｋ、Ｔ８４７Ｉ、Ｈ８５０Ｎ、Ｖ８５１Ａ、Ｉ８５３Ｔ、Ｆ８５６Ｌ、Ｌ８５８Ｒ、Ｌ８５８Ｍ、Ｌ８６１Ｑ、Ｌ８６１Ｒ、Ｇ８６３Ｄ、Ｑ８９４Ｌ、Ｇ９１７Ａ、Ｅ９６７Ａ、Ｄ１００６Ｙ、Ｐ１０１９Ｌ、Ｓ１０４２Ｎ、Ｒ１１００Ｓ、Ｈ１１２９Ｙ、Ｔ１１４１Ｓ、Ｓ１１５３Ｉ、Ｑ１１６４Ｒ、Ｌ１１６７Ｍ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのＬ７４７Ｓ、Ｄ７６１Ｙ、Ｔ７９０Ｍ、Ｔ８５４Ａ、Ｌ８５８Ｒ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドのＤ７６１Ｙ、Ｔ７９０Ｍ、Ｌ８５８Ｒ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドの突然変異Ｌ７４７Ｓを含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドの突然変異Ｄ７６１Ｙを含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドの突然変異Ｔ７９０Ｍを含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドの突然変異Ｔ８５４Ａを含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＥＧＦＲポリペプチドの突然変異Ｌ８５８Ｒを含むＥＧＦＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１０５】

アンドロゲン受容体（Ａｒ）を標的とするポリ核酸分子

アンドロゲン受容体（ＡＲ）（ＮＲ３Ｃ４、核受容体サブファミリー３、群Ｃ、遺伝子４としても知られている）は、関連するメンバー：エストロゲン受容体（ＥＲ）、グルココルチコイド受容体（ＧＲ）、プロゲステロン受容体（ＰＲ）、およびミネラルコルチコイド受容体（ＭＲ）と共に、核受容体スーパーファミリーのステロイドホルモン群に属する。アンドロゲンあるいはステロイドホルモンは、アンドロゲン受容体によってタンパク質合成と組織リモデリングを調節する。ＡＲタンパク質は、標的遺伝子発現を調節するリガンド誘導可能なジンクフィンガー転写因子である。ＡＲ遺伝子中の突然変異の存在は、いくつかのタイプの癌（例えば、前立腺癌、乳癌、膀胱癌、あるいは食道癌）で観察され、いくつかの例では、転移の進行に関与していた。

【０１０６】

いくつかの実施形態において、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは野生型であるか、あるいは、１つ以上の突然変異および／またはスプライス変異体を含む。いくつかの例では、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、限定されないが、ＡＲ１／２／２ｂ、ＡＲＶ２、ＡＲＶ３、ＡＲＶ４、ＡＲ１／２／３／２ｂ、ＡＲＶ５、ＡＲＶ６、ＡＲＶ７、ＡＲＶ９、ＡＲＶ１０、ＡＲＶ１１、ＡＲＶ１２、ＡＲＶ１３、ＡＲＶ１４、ＡＲＶ１５、ＡＲＶ１６、およびＡＲＶ（ｖ５６７ｅｓ）を含むＡＲスプライス変異体から選択された１つ以上のスプライス変異体を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）あるいはスプライス変異体を含む、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１０７】

いくつかの実施形態において、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含

む。いくつかの実施形態において、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、１つ以上のエクソンは、エクソン１、エクソン２、エクソン３、エクソン４、エクソン５、エクソン６、エクソン７、あるいはエクソン８を含む。いくつかの実施形態において、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、エクソン１、エクソン２、エクソン３、エクソン４、エクソン５、エクソン６、エクソン７、エクソン８、あるいはこれらの組み合わせ内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＡＲポリペプチドのアミノ酸残基２、１４、１６、２９、４５、５４、５７、６４、１０６、１１２、１７６、１８０、１８４、１９４、１９８、２０４、２１４、２２１、２２２、２３３、２４３、２５２、２５５、２６６、２６９、２８７、２８８、３３４、３３５、３４０、３６３、３６８、３６９、３９０、４０３、４４３、４９１、５０５、５１３、５２４、５２４、５２８、５３３、５４７、５４８、５６４、５６７、５６８、５７４、５４７、５５９、５６８、５７１、５７３、５７５、５７６、５７７、５７８、５７９、５８０、５８１、５８２、５８５、５８６、５８７、５９６、５９７、５９９、６０１、６０４、６０７、６０８、６０９、６１０、６１１、６１５、６１６、６１７、６１９、６２２、６２９、６３０、６３８、６４５、６４７、６５３、６６２、６６４、６７０、６７１、６７２、６７４、６７７、６８１、６８２、６８３、６８４、６８７、６８８、６８９、６９０、６９５、７００、７０１、７０２、７０３、７０５、７０６、７０７、７０８、７１０、７１１、７１２、７１５、７１７、７２０、７２１、７２２、７２３、７２４、７２５、７２６、７２７、７２８、７３０、７３２、７３３、７３７、７３９、７４１、７４２、７４３、７４４、７４５、７４６、７４８、７４９、７５０、７５１、７５２、７５４、７５５、７５６、７５７、７５８、７５９、７６２、７６３、７６４、７６５、７６６、７６７、７６８、７７１、７７２、７７４、７７７、７７９、７８６、７９５、７８０、７８２、７８４、７８７、７８８、７９０、７９１、７９３、７９４、７９８、８０２、８０３、８０４、８０６、８０７、８１２、８１３、８１４、８１９、８２０、８２１、８２４、８２７、８２８、８３０、８３１、８３４、８４０、８４１、８４２、８４６、８５４、８５５、８５６、８６３、８６４、８６６、８６９、８７０、８７１、８７４、８７５、８７７、８７９、８８０、８８１、８８６、８８８、８８９、８９１、８９２、８９５、８９６、８９７、８９８、９０２、９０３、９０４、９０７、９０９、９１０、９１１、９１３、９１６、９１９、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＡＲポリペプチドのＥ２Ｋ、Ｐ１４Ｑ、Ｋ１６Ｎ、Ｖ２９Ｍ、Ｓ４５Ｔ、Ｌ５４Ｓ、Ｌ５７Ｑ、Ｑ６４Ｒ、Ｙ１０６Ｃ、Ｑ１１２Ｈ、Ｓ１７６Ｓ、Ｋ１８０Ｒ、Ｌ１８４Ｐ、Ｑ１９４Ｒ、Ｅ１９８Ｇ、Ｇ２０４Ｓ、Ｇ２１４Ｒ、Ｋ２２１Ｎ、Ｎ２２２Ｄ、Ｄ２３３Ｋ、Ｓ２４３Ｌ、Ａ２５２Ｖ、Ｌ２５５Ｐ、Ｍ２６６Ｔ、Ｐ２６９Ｓ、Ａ２８７Ｄ、Ｅ２８８Ｋ、Ｓ３３４Ｐ、Ｓ３３５Ｔ、Ｐ３４０Ｌ、Ｙ３６３Ｎ、Ｌ３６８Ｖ、Ａ３６９Ｐ、Ｐ３９０Ｒ、Ｐ３９０Ｓ、Ｐ３９０Ｌ、Ａ４０３Ｖ、Ｑ４４３Ｒ、Ｇ４９１Ｓ、Ｇ５０５Ｄ、Ｐ５１３Ｓ、Ｇ５２４Ｄ、Ｇ５２４Ｓ、Ｄ５２８Ｇ、Ｐ５３３Ｓ、Ｌ５４７Ｆ、Ｐ５４８Ｓ、Ｄ５６４Ｙ、Ｓ５６７Ｆ、Ｇ５６８Ｗ、Ｌ５７４Ｐ、Ｌ５４７Ｆ、Ｃ５５９Ｙ、Ｇ５６８Ｗ、Ｇ５６８Ｖ、Ｙ５７１Ｃ、Ｙ５７１Ｈ、Ａ５７３Ｄ、Ｔ５７５Ａ、Ｃ５７６Ｒ、Ｃ５７６Ｆ、Ｇ５７７Ｒ、Ｓ５７８Ｔ、Ｃ５７９Ｙ、Ｃ５７９Ｆ、Ｋ５８０Ｒ、Ｖ５８１Ｆ、Ｆ５８２Ｙ、Ｆ５８２Ｓ、Ｒ５８５Ｋ、Ａ５８６Ｖ、Ａ５８７Ｓ、Ａ５９６Ｔ、Ａ５９６Ｓ、Ｓ５９７Ｇ、Ｓ５９７Ｉ、Ｎ５９９Ｙ、Ｃ６０１Ｆ、Ｄ６０４Ｙ、Ｒ６０７Ｑ、Ｒ６０８Ｋ、Ｋ６０９Ｎ、Ｄ６１０Ｔ、Ｃ６１１Ｙ、Ｒ６１５Ｈ、Ｒ６１５Ｐ、Ｒ６１５Ｇ、Ｒ６１６Ｃ、Ｌ６１６Ｒ、Ｌ６１６Ｐ、Ｒ６１７Ｐ、Ｃ６１９Ｙ、Ａ６２２Ｖ、Ｒ６２９Ｗ、Ｒ６２９Ｑ、Ｋ６３０Ｔ、Ｌ６３８Ｍ、Ａ６４５Ｄ、Ｓ６４７Ｎ、Ｅ６５３Ｋ、Ｓ６６２（ナンセンス）、Ｉ６６４Ｎ、Ｑ６７０Ｌ、Ｑ６７０Ｒ、Ｐ６７１Ｈ、Ｉ６７２Ｔ、Ｌ６７４Ｐ、Ｌ６７７Ｐ、Ｅ６８１Ｌ、Ｐ６８２Ｔ、Ｇ６８３Ａ、Ｖ６８４Ｉ、Ｖ６８４Ａ、Ａ６８７Ｖ、Ｇ６８８Ｑ、Ｈ６８９Ｐ、Ｄ６９０Ｖ、Ｄ６９５Ｎ、Ｄ６９５Ｖ、Ｄ６９５Ｈ、Ｌ７００Ｍ、Ｌ７０１Ｐ、Ｌ７０１Ｉ、Ｈ７０１Ｈ、Ｓ７０２Ａ、Ｓ７０３Ｇ、Ｎ７０５Ｓ、Ｎ７０５

Ｙ、Ｅ７０６（ナンセンス）、Ｌ７０７Ｒ、Ｇ７０８Ａ、Ｒ７１０Ｔ、Ｑ７１１Ｅ、Ｌ７１２Ｆ、Ｖ７１５Ｍ、Ｋ７１７Ｑ、Ｋ７２０Ｅ、Ａ７２１Ｔ、Ｌ７２２Ｆ、Ｐ７２３Ｓ、Ｇ７２４Ｓ、Ｇ７２４Ｄ、Ｇ７２４Ｎ、Ｆ７２５Ｌ、Ｒ７２６Ｌ、Ｎ７２７Ｋ、Ｌ７２８Ｓ、Ｌ７２８Ｉ、Ｖ７３０Ｍ、Ｄ７３２Ｎ、Ｄ７３２Ｙ、Ｄ７３２Ｅ、Ｑ７３３Ｈ、Ｉ７３７Ｔ、Ｙ７３９Ｄ、Ｗ７４１Ｒ、Ｍ７４２Ｖ、Ｍ７４２Ｉ、Ｇ７４３Ｒ、Ｇ７４３Ｖ、Ｌ７４４Ｆ、Ｍ７４５Ｔ、Ｖ７４６Ｍ、Ａ７４８Ｄ、Ａ７４８Ｖ、Ａ７４８Ｔ、Ｍ７４９Ｖ、Ｍ７４９Ｉ、Ｇ７５０Ｓ、Ｇ７５０Ｄ、Ｗ７５１Ｒ、Ｒ７５２Ｑ、Ｆ７５４Ｖ、Ｆ７５４Ｌ、Ｔ７５５Ａ、Ｎ７５６Ｓ、Ｎ７５６Ｄ、Ｖ７５７Ａ、Ｎ７５８Ｔ、Ｓ７５９Ｆ、Ｓ７５９Ｐ、Ｌ７６２Ｆ、Ｙ７６３Ｈ、Ｙ７６３Ｃ、Ｆ７６４Ｌ、Ａ７６５Ｔ、Ａ７６５Ｖ、Ｐ７６６Ａ、Ｐ７６６Ｓ、Ｄ７６７Ｅ、Ｌ７６８Ｐ、Ｌ７６８Ｍ、Ｎ７７１Ｈ、Ｅ７７２Ｇ、Ｅ７７２Ａ、Ｒ７７４Ｈ、Ｒ７７４Ｃ、Ｋ７７７Ｔ、Ｒ７７９Ｗ、Ｒ７８６Ｑ、Ｇ７９５Ｖ、Ｍ７８０Ｉ、Ｓ７８２Ｎ、Ｃ７８４Ｙ、Ｍ７８７Ｖ、Ｒ７８８Ｓ、Ｌ７９０Ｆ、Ｓ７９１Ｐ、Ｅ７９３Ｄ、Ｆ７９４Ｓ、Ｑ７９８Ｅ、Ｑ８０２Ｒ、Ｇ８０３Ｌ、Ｆ８０４Ｌ、Ｃ８０６Ｙ、Ｍ８０７Ｖ、Ｍ８０７Ｒ、Ｍ８０７Ｉ、Ｌ８１２Ｐ、Ｆ８１３Ｖ、Ｓ８１４Ｎ、Ｎ８１９Ｑ、Ｇ８２０Ａ、Ｌ８２１Ｖ、Ｑ８２４Ｌ、Ｑ８２４Ｒ、Ｆ８２７Ｌ、Ｆ８２７Ｖ、Ｄ８２８Ｈ、Ｌ８３０Ｖ、Ｌ８３０Ｐ、Ｒ８３１Ｑ、Ｒ８３１Ｌ、Ｙ８３４Ｃ、Ｒ８４０Ｃ、Ｒ８４０Ｈ、Ｉ８４１Ｓ、Ｉ８４２Ｔ、Ｒ８４６Ｇ、Ｒ８５４Ｋ、Ｒ８５５Ｃ、Ｒ８５５Ｈ、Ｆ８５６Ｌ、Ｌ８６３Ｒ、Ｄ８６４Ｎ、Ｄ８６４Ｅ、Ｄ８６４Ｇ、Ｖ８６６Ｌ、Ｖ８６６Ｍ、Ｖ８６６Ｅ、Ｉ８６９Ｍ、Ａ８７０Ｇ、Ａ８７０Ｖ、Ｒ８７１Ｇ、Ｈ８７４Ｙ、Ｈ８７４Ｒ、Ｑ８７５Ｋ、Ｔ８７７Ｓ、Ｔ８７７Ａ、Ｄ８７９Ｔ、Ｄ８７９Ｇ、Ｌ８８０Ｑ、Ｌ８８１Ｖ、Ｍ８８６Ｖ、Ｓ８８８Ｌ、Ｖ８８９Ｍ、Ｆ８９１Ｌ、Ｐ８９２Ｌ、Ｍ８９５Ｔ、Ａ８９６Ｔ、Ｅ８９７Ｄ、Ｉ８９８Ｔ、Ｑ９０２Ｒ、Ｖ９０３Ｍ、Ｐ９０４Ｓ、Ｐ９０４Ｈ、Ｌ９０７Ｆ、Ｇ９０９Ｒ、Ｇ９０９Ｅ、Ｋ９１０Ｒ、Ｖ９１１Ｌ、Ｐ９１３Ｓ、Ｆ９１６Ｌ、Ｑ９１９Ｒ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。

【０１０８】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸は、１つ以上のＡＲスプライス変異体にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸は、限定されないが、ＡＲ１／２／２ｂ、ＡＲＶ２、ＡＲＶ３、ＡＲＶ４、ＡＲ１／２／３／２ｂ、ＡＲＶ５、ＡＲＶ６、ＡＲＶ７、ＡＲＶ９、ＡＲＶ１０、ＡＲＶ１１、ＡＲＶ１２、ＡＲＶ１３、ＡＲＶ１４、ＡＲＶ１５、ＡＲＶ１６、およびＡＲＶ（ｖ５６７ｅｓ）を含む１つ以上のスプライス変異体を含むＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン１、エクソン２、エクソン３、エクソン４、エクソン５、エクソン６、エクソン７、エクソン８、あるいはこれらの組み合わせ内に１つ以上の突然変異を含むＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、アミノ酸残基２、１４、１６、２９、４５、５４、５７、６４、１０６、１１２、１７６、１８０、１８４、１９４、１９８、２０４、２１４、２２１、２２２、２３３、２４３、２５２、２５５、２６６、２６９、２８７、２８８、３３４、３３５、３４０、３６３、３６８、３６９、３９０、４０３、４４３、４９１、５０５、５１３、５２４、５２４、５２８、５３３、５４７、５４８、５６４、５６７、５６８、５７４、５４７、５５９、５６８、５７１、５７３、５７５、５７６、５７７、５７８、５７９、５８０、５８１、５８２、５８５、５８６、５８７、５９６、５９７、５９９、６０１、６０４、６０７、６０８、６０９、６１０、６１１、６１５、６１６、６１７、６１９、６２２、６２９、６３０、６３８、６４５、６４７、６５３、６６２、６６４、６７０、６７１、６７２、６７４、６７７、６８１、６８２、６８３、６８４、６８７、６８８、６８９、６９０、６９５、７００、７０１、７０２、７０３、７０５、７０６、７０７、７０８、７１０、７１１、７１２、７１５、７１７、７２０、７２１、７２２、７２３、７２４、７２５、７２６、７２７、７２８、７３０、７３２、７３３、７３７、７３９、７４

１、７４２、７４３、７４４、７４５、７４６、７４８、７４９、７５０、７５１、７５２、７５４、７５５、７５６、７５７、７５８、７５９、７６２、７６３、７６４、７６５、７６６、７６７、７６８、７７１、７７２、７７４、７７７、７７９、７８６、７９５、７８０、７８２、７８４、７８７、７８８、７９０、７９１、７９３、７９４、７９８、８０２、８０３、８０４、８０６、８０７、８１２、８１３、８１４、８１９、８２０、８２１、８２４、８２７、８２８、８３０、８３１、８３４、８４０、８４１、８４２、８４６、８５４、８５５、８５６、８６３、８６４、８６６、８６９、８７０、８７１、８７４、８７５、８７７、８７９、８８０、８８１、８８６、８８８、８８９、８９１、８９２、８９５、８９６、８９７、８９８、９０２、９０３、９０４、９０７、９０９、９１０、９１１、９１３、９１６、９１９、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＡＲポリペプチドのＥ２Ｋ、Ｐ１４Ｑ、Ｋ１６Ｎ、Ｖ２９Ｍ、Ｓ４５Ｔ、Ｌ５４Ｓ、Ｌ５７Ｑ、Ｑ６４Ｒ、Ｙ１０６Ｃ、Ｑ１１２Ｈ、Ｓ１７６Ｓ、Ｋ１８０Ｒ、Ｌ１８４Ｐ、Ｑ１９４Ｒ、Ｅ１９８Ｇ、Ｇ２０４Ｓ、Ｇ２１４Ｒ、Ｋ２２１Ｎ、Ｎ２２２Ｄ、Ｄ２３３Ｋ、Ｓ２４３Ｌ、Ａ２５２Ｖ、Ｌ２５５Ｐ、Ｍ２６６Ｔ、Ｐ２６９Ｓ、Ａ２８７Ｄ、Ｅ２８８Ｋ、Ｓ３３４Ｐ、Ｓ３３５Ｔ、Ｐ３４０Ｌ、Ｙ３６３Ｎ、Ｌ３６８Ｖ、Ａ３６９Ｐ、Ｐ３９０Ｒ、Ｐ３９０Ｓ、Ｐ３９０Ｌ、Ａ４０３Ｖ、Ｑ４４３Ｒ、Ｇ４９１Ｓ、Ｇ５０５Ｄ、Ｐ５１３Ｓ、Ｇ５２４Ｄ、Ｇ５２４Ｓ、Ｄ５２８Ｇ、Ｐ５３３Ｓ、Ｌ５４７Ｆ、Ｐ５４８Ｓ、Ｄ５６４Ｙ、Ｓ５６７Ｆ、Ｇ５６８Ｗ、Ｌ５７４Ｐ、Ｌ５４７Ｆ、Ｃ５５９Ｙ、Ｇ５６８Ｗ、Ｇ５６８Ｖ、Ｙ５７１Ｃ、Ｙ５７１Ｈ、Ａ５７３Ｄ、Ｔ５７５Ａ、Ｃ５７６Ｒ、Ｃ５７６Ｆ、Ｇ５７７Ｒ、Ｓ５７８Ｔ、Ｃ５７９Ｙ、Ｃ５７９Ｆ、Ｋ５８０Ｒ、Ｖ５８１Ｆ、Ｆ５８２Ｙ、Ｆ５８２Ｓ、Ｒ５８５Ｋ、Ａ５８６Ｖ、Ａ５８７Ｓ、Ａ５９６Ｔ、Ａ５９６Ｓ、Ｓ５９７Ｇ、Ｓ５９７Ｉ、Ｎ５９９Ｙ、Ｃ６０１Ｆ、Ｄ６０４Ｙ、Ｒ６０７Ｑ、Ｒ６０８Ｋ、Ｋ６０９Ｎ、Ｄ６１０Ｔ、Ｃ６１１Ｙ、Ｒ６１５Ｈ、Ｒ６１５Ｐ、Ｒ６１５Ｇ、Ｒ６１６Ｃ、Ｌ６１６Ｒ、Ｌ６１６Ｐ、Ｒ６１７Ｐ、Ｃ６１９Ｙ、Ａ６２２Ｖ、Ｒ６２９Ｗ、Ｒ６２９Ｑ、Ｋ６３０Ｔ、Ｌ６３８Ｍ、Ａ６４５Ｄ、Ｓ６４７Ｎ、Ｅ６５３Ｋ、Ｓ６６２（ナンセンス）、Ｉ６６４Ｎ、Ｑ６７０Ｌ、Ｑ６７０Ｒ、Ｐ６７１Ｈ、Ｉ６７２Ｔ、Ｌ６７４Ｐ、Ｌ６７７Ｐ、Ｅ６８１Ｌ、Ｐ６８２Ｔ、Ｇ６８３Ａ、Ｖ６８４Ｉ、Ｖ６８４Ａ、Ａ６８７Ｖ、Ｇ６８８Ｑ、Ｈ６８９Ｐ、Ｄ６９０Ｖ、Ｄ６９５Ｎ、Ｄ６９５Ｖ、Ｄ６９５Ｈ、Ｌ７００Ｍ、Ｌ７０１Ｐ、Ｌ７０１Ｉ、Ｈ７０１Ｈ、Ｓ７０２Ａ、Ｓ７０３Ｇ、Ｎ７０５Ｓ、Ｎ７０５Ｙ、Ｅ７０６（ナンセンス）、Ｌ７０７Ｒ、Ｇ７０８Ａ、Ｒ７１０Ｔ、Ｑ７１１Ｅ、Ｌ７１２Ｆ、Ｖ７１５Ｍ、Ｋ７１７Ｑ、Ｋ７２０Ｅ、Ａ７２１Ｔ、Ｌ７２２Ｆ、Ｐ７２３Ｓ、Ｇ７２４Ｓ、Ｇ７２４Ｄ、Ｇ７２４Ｎ、Ｆ７２５Ｌ、Ｒ７２６Ｌ、Ｎ７２７Ｋ、Ｌ７２８Ｓ、Ｌ７２８Ｉ、Ｖ７３０Ｍ、Ｄ７３２Ｎ、Ｄ７３２Ｙ、Ｄ７３２Ｅ、Ｑ７３３Ｈ、Ｉ７３７Ｔ、Ｙ７３９Ｄ、Ｗ７４１Ｒ、Ｍ７４２Ｖ、Ｍ７４２Ｉ、Ｇ７４３Ｒ、Ｇ７４３Ｖ、Ｌ７４４Ｆ、Ｍ７４５Ｔ、Ｖ７４６Ｍ、Ａ７４８Ｄ、Ａ７４８Ｖ、Ａ７４８Ｔ、Ｍ７４９Ｖ、Ｍ７４９Ｉ、Ｇ７５０Ｓ、Ｇ７５０Ｄ、Ｗ７５１Ｒ、Ｒ７５２Ｑ、Ｆ７５４Ｖ、Ｆ７５４Ｌ、Ｔ７５５Ａ、Ｎ７５６Ｓ、Ｎ７５６Ｄ、Ｖ７５７Ａ、Ｎ７５８Ｔ、Ｓ７５９Ｆ、Ｓ７５９Ｐ、Ｌ７６２Ｆ、Ｙ７６３Ｈ、Ｙ７６３Ｃ、Ｆ７６４Ｌ、Ａ７６５Ｔ、Ａ７６５Ｖ、Ｐ７６６Ａ、Ｐ７６６Ｓ、Ｄ７６７Ｅ、Ｌ７６８Ｐ、Ｌ７６８Ｍ、Ｎ７７１Ｈ、Ｅ７７２Ｇ、Ｅ７７２Ａ、Ｒ７７４Ｈ、Ｒ７７４Ｃ、Ｋ７７７Ｔ、Ｒ７７９Ｗ、Ｒ７８６Ｑ、Ｇ７９５Ｖ、Ｍ７８０Ｉ、Ｓ７８２Ｎ、Ｃ７８４Ｙ、Ｍ７８７Ｖ、Ｒ７８８Ｓ、Ｌ７９０Ｆ、Ｓ７９１Ｐ、Ｅ７９３Ｄ、Ｆ７９４Ｓ、Ｑ７９８Ｅ、Ｑ８０２Ｒ、Ｇ８０３Ｌ、Ｆ８０４Ｌ、Ｃ８０６Ｙ、Ｍ８０７Ｖ、Ｍ８０７Ｒ、Ｍ８０７Ｉ、Ｌ８１２Ｐ、Ｆ８１３Ｖ、Ｓ８１４Ｎ、Ｎ８１９Ｑ、Ｇ８２０Ａ、Ｌ８２１Ｖ、Ｑ８２４Ｌ、Ｑ８２４Ｒ、Ｆ８２７Ｌ、Ｆ８２７Ｖ、Ｄ８２８Ｈ、Ｌ８３０Ｖ、Ｌ８３０Ｐ、Ｒ８３１Ｑ、Ｒ８３１Ｌ、Ｙ８３４Ｃ、Ｒ８４０Ｃ、Ｒ８４０Ｈ、Ｉ８４１Ｓ、Ｉ８４２Ｔ、Ｒ８４６Ｇ、Ｒ８５４Ｋ、Ｒ８５５Ｃ、Ｒ８５５Ｈ、Ｆ８５６Ｌ、Ｌ８６３Ｒ、Ｄ８６４Ｎ、Ｄ８６４Ｅ、Ｄ８６４Ｇ、Ｖ８６６Ｌ、Ｖ８６６Ｍ、Ｖ８６６Ｅ、Ｉ８６９Ｍ、Ａ８７０Ｇ、Ａ８７０Ｖ、Ｒ８７１

Ｇ、Ｈ８７４Ｙ、Ｈ８７４Ｒ、Ｑ８７５Ｋ、Ｔ８７７Ｓ、Ｔ８７７Ａ、Ｄ８７９Ｔ、Ｄ８７９Ｇ、Ｌ８８０Ｑ、Ｌ８８１Ｖ、Ｍ８８６Ｖ、Ｓ８８８Ｌ、Ｖ８８９Ｍ、Ｆ８９１Ｌ、Ｐ８９２Ｌ、Ｍ８９５Ｔ、Ａ８９６Ｔ、Ｅ８９７Ｄ、Ｉ８９８Ｔ、Ｑ９０２Ｒ、Ｖ９０３Ｍ、Ｐ９０４Ｓ、Ｐ９０４Ｈ、Ｌ９０７Ｆ、Ｇ９０９Ｒ、Ｇ９０９Ｅ、Ｋ９１０Ｒ、Ｖ９１１Ｌ、Ｐ９１３Ｓ、Ｆ９１６Ｌ、Ｑ９１９Ｒ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＡＲ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１０９】

ＢーカテニンおよびＢーカテニン関連遺伝子を標的とするポリ核酸分子

カテニンβ－１（ＣＴＮＮＢ１、βーカテニンあるいはベーターカテニンとしても知られている）は、カテニンタンパク質ファミリーのメンバーである。ヒトでは、それはＣＴＮＮＢ１遺伝子によってコードされ、その二元機能－細胞間癒着と遺伝子転写－が知られている。ベーターカテニンはカドヘリンベースの接着結合の不可欠な構造成分であり、細胞間の細胞成長と接着を調節し、アクチン細胞骨格を固定する。いくつかの例において、ベーターカテニンは、上皮のシートが完成すると細胞に分割を停止させる接触阻害シグナルを送信することに関与する。ベーターカテニンはＷｎｔシグナル伝達経路の鍵となる核エフェクターでもある。いくつかの例では、ベーターカテニンの構造的なシグナル伝達特性の不均衡は、様々な疾患と、癌などの悪性病変に関係する無秩序な成長を引き起こす。例えば、ベーターカテニンの過剰発現は、胃癌などの癌に関連している（Ｓｕｒｉａｎｏ，ｅｔ　ａｌ．，“Ｂｅｔａ－ｃａｔｅｎｉｎ（ＣＴＮＮＢ１）　ｇｅｎｅ　ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ：　ａ　ｎｅｗ　ｍｅｃｈａｎｉｓｍ　ｏｆ　ｐｒｏｔｅｉｎ　ｏｖｅｒｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｉｎ　ｃａｎｃｅｒ，”　Ｇｅｎｅｓ　Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ　Ｃａｎｃｅｒ　４２（３）：　２３８－２４６（２００５））。場合によっては、ＣＴＮＮＢ１遺伝子中の突然変異は、癌の発生（例えば、結腸癌、黒色腫、肝細胞癌、卵巣癌、子宮内膜癌、髄芽腫毛母腫、あるいは前立腺癌）に関与しており、いくつかの例では、転移の進行に関与している。さらなる場合には、ＣＴＮＮＢ１遺伝子中の突然変異は、外部刺激なくベーターカテニンを核に移動させ、その標的遺伝子の転写を連続的に駆動させる。場合によっては、影響を受けた細胞の以前の上皮表現型を、浸潤性の間葉様のタイプに変化させるベーターカテニンの可能性は、転移形成に寄与する。

【０１１０】

いくつかの実施形態において、ＣＴＮＮＢ１遺伝子は、野生型ＣＴＮＮＢ１、あるいは１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１である。いくつかの例では、ＣＴＮＮＢ１は野生型ＣＴＮＮＢ１である。いくつかの例では、ＣＴＮＮＢ１は１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１である。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型のＣＴＮＮＢ１の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）を含む、ＣＴＮＮＢ１の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【０１１１】

いくつかの実施形態において、ＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例において、１つ以上のエクソンはエクソン３を含む。いくつかの例では、ＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、コドン３２、３３、３４、３７、４１、４５、１８３、２４５、２８７、あるいはこれらの組み合わせで１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＣＴＮＮＢ１ポリペプチドのアミノ酸残基２５、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、４１、４５、１４０、１６２、１７０、１９９、２１３、２１５、２５７、３０３、３２２、３３４、３５４、３６７、３７３、３８３、３８７、４０２、４２６、４５３、４７４、４８６、５１５、５１７、５３５、５５３、５５５、５８２、５８７、６１９、６２３、６４１、６４６、６８８、７０３、７１０、７１２、７１４、７２４、７３８、７７７、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の

突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＣＴＮＮＢ１ポリペプチドのＷ２５（ナンセンス突然変異）、Ｌ３１Ｍ、Ｄ３２Ａ、Ｄ３２Ｎ、Ｄ３２Ｙ、Ｄ３２Ｇ、Ｄ３２Ｈ、Ｓ３３Ｃ、Ｓ３３Ｙ、Ｓ３３Ｆ、Ｓ３３Ｐ、Ｇ３４Ｒ、Ｇ３４Ｅ、Ｇ３４Ｖ、Ｉ３５Ｓ、Ｈ３６Ｙ、Ｓ３７Ｆ、Ｓ３７Ｐ、Ｓ３７Ｃ、Ｓ３７Ａ、Ｔ４１Ｎ、Ｔ４１Ａ、Ｔ４１Ｉ、Ｓ４５Ｙ、Ｓ４５Ｆ、Ｓ４５Ｃ、Ｉ１４０Ｔ、Ｄ１６２Ｅ、Ｋ１７０Ｍ、Ｖ１９９Ｉ、Ｃ２１３Ｆ、Ａ２１５Ｔ、Ｔ２５７Ｉ、Ｉ３０３Ｍ、Ｑ３２２Ｋ、Ｅ３３４Ｋ、Ｋ３５４Ｔ、Ｇ３６７Ｖ、Ｐ３７３Ｓ、Ｗ３８３Ｇ、Ｎ３８７Ｋ、Ｌ４０２Ｆ、Ｎ４２６Ｄ、Ｒ４５３Ｌ、Ｒ４５３Ｑ、Ｒ４７４（ナンセンス突然変異）、Ｒ４８６Ｃ、Ｒ５１５Ｑ、Ｌ５１７Ｆ、Ｒ５３５（ナンセンス突然変異）、Ｒ５３５Ｑ、Ｍ５５３Ｖ、Ｇ５５５Ａ、Ｒ５８２Ｑ、Ｒ５８７Ｑ、Ｃ６１９Ｙ、Ｑ６２３Ｅ、Ｔ６４１（フレームシフト）、Ｓ６４６Ｆ、Ｍ６８８Ｔ、Ｑ７０３Ｈ、Ｒ７１０Ｈ、Ｄ７１２Ｎ、Ｐ７１４Ｒ、Ｙ７２４Ｈ、Ｅ７３８Ｋ、Ｆ７７７Ｓ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸に対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。

【０１１２】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン３内の１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、コドン３２、３３、３４、３７、４１、４５、１８３、２４５、２８７、あるいはこれらの組み合わせで１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、ＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＣＴＮＮＢ１ポリペプチドのアミノ酸残基２５、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、４１、４５、１４０、１６２、１７０、１９９、２１３、２１５、２５７、３０３、３２２、３３４、３５４、３６７、３７３、３８３、３８７、４０２、４２６、４５３、４７４、４８６、５１５、５１７、５３５、５５３、５５５、５８２、５８７、６１９、６２３、６４１、６４６、６８８、７０３、７１０、７１２、７１４、７２４、７３８、７７７、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＣＴＮＮＢ１ポリペプチドのＷ２５（ナンセンス突然変異）、Ｌ３１Ｍ、Ｄ３２Ａ、Ｄ３２Ｎ、Ｄ３２Ｙ、Ｄ３２Ｇ、Ｄ３２Ｈ、Ｓ３３Ｃ、Ｓ３３Ｙ、Ｓ３３Ｆ、Ｓ３３Ｐ、Ｇ３４Ｒ、Ｇ３４Ｅ、Ｇ３４Ｖ、Ｉ３５Ｓ、Ｈ３６Ｙ、Ｓ３７Ｆ、Ｓ３７Ｐ、Ｓ３７Ｃ、Ｓ３７Ａ、Ｔ４１Ｎ、Ｔ４１Ａ、Ｔ４１Ｉ、Ｓ４５Ｙ、Ｓ４５Ｆ、Ｓ４５Ｃ、Ｉ１４０Ｔ、Ｄ１６２Ｅ、Ｋ１７０Ｍ、Ｖ１９９Ｉ、Ｃ２１３Ｆ、Ａ２１５Ｔ、Ｔ２５７Ｉ、Ｉ３０３Ｍ、Ｑ３２２Ｋ、Ｅ３３４Ｋ、Ｋ３５４Ｔ、Ｇ３６７Ｖ、Ｐ３７３Ｓ、Ｗ３８３Ｇ、Ｎ３８７Ｋ、Ｌ４０２Ｆ、Ｎ４２６Ｄ、Ｒ４５３Ｌ、Ｒ４５３Ｑ、Ｒ４７４（ナンセンス突然変異）、Ｒ４８６Ｃ、Ｒ５１５Ｑ、Ｌ５１７Ｆ、Ｒ５３５（ナンセンス突然変異）、Ｒ５３５Ｑ、Ｍ５５３Ｖ、Ｇ５５５Ａ、Ｒ５８２Ｑ、Ｒ５８７Ｑ、Ｃ６１９Ｙ、Ｑ６２３Ｅ、Ｔ６４１（フレームシフト）、Ｓ６４６Ｆ、Ｍ６８８Ｔ、Ｑ７０３Ｈ、Ｒ７１０Ｈ、Ｄ７１２Ｎ、Ｐ７１４Ｒ、Ｙ７２４Ｈ、Ｅ７３８Ｋ、Ｆ７７７Ｓ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＣＴＮＮＢ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１１３】

いくつかの実施形態において、ベーターカテニン関連遺伝子はさらに、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＩＫ３ＣＢ、およびＭＹＣを含む。いくつかの実施形態において、ベーターカテニン関連遺伝子はさらに、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡを含む。ＰＩＫ３ＣＡ（ホスファチジルイノシトール－４，５－ビスホスフェート３－キナーゼ、触媒サブユニットαあるいはｐ１１０αタンパク質）は、ホスファチジルイノシトールをリン酸化するためにＡＴＰを使用するクラスｉのＰＩ３キナーゼ触媒サブユニットである。いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＡ遺伝子は野生型ＰＩＫ３ＣＡ、あるいは１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＡである。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、野

生型ＰＩＫ３ＣＡである。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）を含むＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１１４】

いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、エクソン９および／または２０内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＰＩＫ３ＣＡポリペプチドのアミノ酸残基１、４、１０－１６、１１－１８、１１、１２、３８、３９、６５、７２、７５、７９、８１、８３、８８、９０、９３、１０２、１０３、１０３－１０４、１０３－１０６、１０４、１０５－１０８、１０６、１０６－１０７、１０６－１０８、１０７、１０８、１０９－１１２、１１０、１１１、１１３、１１５、１３７、１７０、２５８、２７２、２７９、３２０、３２８、３３５、３４２、３４４、３４５、３５０、３５７、３５９、３６３、３６４、３６５、３６６、３７８、３９８、４０１、４１７、４２０、４４７－４５５、４４９、４４９－４５７、４５１、４５３、４５４、４５５、４５５－４６０、４６３－４６５、４７１、４９５、５２２、５３８、５３９、５４２、５４５、５４６、５４７、５７６、６０４、６１４、６１７、６２９、６４３、６６３、６８２、７２５、７２６、７７７、７９１、８１８、８６６、９０１、９０９、９３９、９５１、９５８、９７０、９７１、９７５、９９２、１００４、１００７、１０１６、１０１７、１０２１、１０２５、１０２９、１０３７、１０４０、１０４３、１０４４、１０４５、１０４７、１０４８、１０４９、１０５２、１０６５、１０６９、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＰＩＫ３ＣＡポリペプチドのＭ１Ｖ、Ｒ４（ナンセンス突然変異）、Ｌ１０－Ｍ１６（欠失）、Ｗ１１－Ｐ１８（欠失）、Ｗ１１Ｌ、Ｇ１２Ｄ、Ｒ３８Ｌ、Ｒ３８Ｈ、Ｒ３８Ｃ、Ｒ３８Ｓ、Ｅ３９Ｋ、Ｅ３９Ｇ、Ｅ６５Ｋ、Ｓ７２Ｇ、Ｑ７５Ｅ、Ｒ７９Ｍ、Ｅ８１Ｋ、Ｅ８１（欠失）、Ｆ８３Ｙ、Ｒ８８Ｑ、Ｃ９０Ｙ、Ｃ９０Ｇ、Ｒ９３Ｑ、Ｒ９３Ｗ、Ｉ１０２（欠失）、Ｅ１０３Ｇ、Ｅ１０３－Ｐ１０４（欠失）、Ｅ１０３－Ｇ１０６（欠失）、Ｐ１０４Ｌ、Ｖ１０５－Ｒ１０８（欠失）、Ｇ１０６Ｖ、Ｇ１０６－Ｎ１０７（欠失）、Ｇ１０６－Ｒ１０８（欠失）、Ｇ１０６Ｒ、Ｎ１０７Ｓ、Ｒ１０８Ｌ、Ｒ１０８Ｈ、Ｅ１０９－Ｉ１１２（欠失）、Ｅ１１０（欠失）、Ｋ１１１Ｅ、Ｋ１１１Ｒ、Ｋ１１１Ｎ、Ｋ１１１（欠失）、Ｌ１１３（欠失）、Ｒ１１５Ｌ、Ｑ１３７Ｌ、Ｎ１７０Ｓ、Ｄ２５８Ｎ、Ｙ２７２（ナンセンス突然変異）、Ｌ２７９Ｉ、Ｇ３２０Ｖ、Ｗ３２８Ｓ、Ｒ３３５Ｇ、Ｔ３４２Ｓ、Ｖ３４４Ｇ、Ｖ３４４Ｍ、Ｖ３４４Ａ、Ｎ３４５Ｋ、Ｎ３４５Ｉ、Ｎ３４５Ｔ、Ｄ３５０Ｎ、Ｄ３５０Ｇ、Ｒ３５７Ｑ、Ｇ３５９Ｒ、Ｇ３６３Ａ、Ｇ３６４Ｒ、Ｅ３６５Ｋ、Ｅ３６５Ｖ、Ｐ３６６Ｒ、Ｃ３７８Ｒ、Ｃ３７８Ｙ、Ｒ３９８Ｈ、Ｒ４０１Ｑ、Ｅ４１７Ｋ、Ｃ４２０Ｒ、Ｃ４２０Ｇ、Ｐ４４７－Ｌ４５５（欠失）、Ｐ４４９Ｌ、Ｐ４４９－Ｎ４５７（欠失）、Ｇ４５１Ｒ、Ｇ４５１Ｖ、Ｅ４５３Ｋ、Ｅ４５３Ｑ、Ｅ４５３Ｄ、Ｄ４５４Ｙ、Ｌ４５５（ｆｒａｍｅ　ｓｈｉｆｔ　ｉｎｓｅｒｔｉｏｎ）、Ｌ４５５－Ｇ４６０（欠失）、Ｇ４６３－Ｎ４６５（欠失）、Ｐ４７１Ｌ、Ｐ４７１Ａ、Ｈ４９５Ｌ、Ｈ４９５Ｙ、Ｅ５２２Ａ、Ｄ５３８Ｎ、Ｐ５３９Ｒ、Ｅ５４２Ｋ、Ｅ５４２Ｖ、Ｅ５４２Ｇ、Ｅ５４２Ｑ、Ｅ５４２Ａ、Ｅ５４５Ｋ、Ｅ５４５Ａ、Ｅ５４５Ｇ、Ｅ５４５Ｑ、Ｅ５４５Ｄ、Ｑ５４６Ｋ、Ｑ５４６Ｒ、Ｑ５４６Ｐ、Ｅ５４７Ｄ、Ｓ５７６Ｙ、Ｃ６０４Ｒ、Ｆ６１４Ｉ、Ａ６１７Ｗ、Ｓ６２９Ｃ、Ｑ６４３Ｈ、Ｉ６６３Ｓ、Ｑ６８２（欠失）、Ｄ７２５Ｎ、Ｗ７２６Ｋ、Ｒ７７７Ｍ、Ｅ７９１Ｑ、Ｒ８１８Ｃ、Ｌ８６６Ｗ、Ｃ９０１Ｆ、Ｆ９０９Ｌ、Ｄ９３９Ｇ、Ｒ９５１Ｃ、Ｑ９５８Ｒ、Ｅ９７０Ｋ、Ｃ９７１Ｒ、Ｒ９７５Ｓ、Ｒ９９２Ｐ、Ｍ１００４Ｉ、Ｇ１００７Ｒ、Ｆ１０１６Ｃ、Ｄ１０１７Ｈ、Ｙ１０２１Ｈ、Ｙ１０２１Ｃ、Ｔ１０２５Ａ

、Ｔ１０２５Ｓ、Ｄ１０２９Ｈ、Ｅ１０３７Ｋ、Ｍ１０４０Ｖ、Ｍ１０４３Ｖ、Ｍ１０４３Ｉ、Ｎ１０４４Ｋ、Ｎ１０４４Ｙ、Ｄ１０４５Ｖ、Ｈ１０４７Ｒ、Ｈ１０４７Ｌ、Ｈ１０４７Ｙ、Ｈ１０４７Ｑ、Ｈ１０４８Ｒ、Ｇ１０４９Ｒ、Ｔ１０５２Ｋ、Ｈ１０６５Ｌ、１０６９Ｗ（ノンストップ変異）、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。

【０１１５】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン内の１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン９またはエクソン２０内の１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、ＰＩＫ３ＣＡポリペプチドのアミノ酸残基１、４、１０－１６、１１－１８、１１、１２、３８、３９、６５、７２、７５、７９、８１、８３、８８、９０、９３、１０２、１０３、１０３－１０４、１０３－１０６、１０４、１０５－１０８、１０６、１０６－１０７、１０６－１０８、１０７、１０８、１０９－１１２、１１０、１１１、１１３、１１５、１３７、１７０、２５８、２７２、２７９、３２０、３２８、３３５、３４２、３４４、３４５、３５０、３５７、３５９、３６３、３６４、３６５、３６６、３７８、３９８、４０１、４１７、４２０、４４７－４５５、４４９、４４９－４５７、４５１、４５３、４５４、４５５、４５５－４６０、４６３－４６５、４７１、４９５、５２２、５３８、５３９、５４２、５４５、５４６、５４７、５７６、６０４、６１４、６１７、６２９、６４３、６６３、６８２、７２５、７２６、７７７、７９１、８１８、８６６、９０１、９０９、９３９、９５１、９５８、９７０、９７１、９７５、９９２、１００４、１００７、１０１６、１０１７、１０２１、１０２５、１０２９、１０３７、１０４０、１０４３、１０４４、１０４５、１０４７、１０４８、１０４９、１０５２、１０６５、１０６９、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＰＩＫ３ＣＡポリペプチドのＭ１Ｖ、Ｒ４（ナンセンス突然変異）、Ｌ１０－Ｍ１６（欠失）、Ｗ１１－Ｐ１８（欠失）、Ｗ１１Ｌ、Ｇ１２Ｄ、Ｒ３８Ｌ、Ｒ３８Ｈ、Ｒ３８Ｃ、Ｒ３８Ｓ、Ｅ３９Ｋ、Ｅ３９Ｇ、Ｅ６５Ｋ、Ｓ７２Ｇ、Ｑ７５Ｅ、Ｒ７９Ｍ、Ｅ８１Ｋ、Ｅ８１（欠失）、Ｆ８３Ｙ、Ｒ８８Ｑ、Ｃ９０Ｙ、Ｃ９０Ｇ、Ｒ９３Ｑ、Ｒ９３Ｗ、Ｉ１０２（欠失）、Ｅ１０３Ｇ、Ｅ１０３－Ｐ１０４（欠失）、Ｅ１０３－Ｇ１０６（欠失）、Ｐ１０４Ｌ、Ｖ１０５－Ｒ１０８（欠失）、Ｇ１０６Ｖ、Ｇ１０６－Ｎ１０７（欠失）、Ｇ１０６－Ｒ１０８（欠失）、Ｇ１０６Ｒ、Ｎ１０７Ｓ、Ｒ１０８Ｌ、Ｒ１０８Ｈ、Ｅ１０９－Ｉ１１２（欠失）、Ｅ１１０（欠失）、Ｋ１１１Ｅ、Ｋ１１１Ｒ、Ｋ１１１Ｎ、Ｋ１１１（欠失）、Ｌ１１３（欠失）、Ｒ１１５Ｌ、Ｑ１３７Ｌ、Ｎ１７０Ｓ、Ｄ２５８Ｎ、Ｙ２７２（ナンセンス突然変異）、Ｌ２７９Ｉ、Ｇ３２０Ｖ、Ｗ３２８Ｓ、Ｒ３３５Ｇ、Ｔ３４２Ｓ、Ｖ３４４Ｇ、Ｖ３４４Ｍ、Ｖ３４４Ａ、Ｎ３４５Ｋ、Ｎ３４５Ｉ、Ｎ３４５Ｔ、Ｄ３５０Ｎ、Ｄ３５０Ｇ、Ｒ３５７Ｑ、Ｇ３５９Ｒ、Ｇ３６３Ａ、Ｇ３６４Ｒ、Ｅ３６５Ｋ、Ｅ３６５Ｖ、Ｐ３６６Ｒ、Ｃ３７８Ｒ、Ｃ３７８Ｙ、Ｒ３９８Ｈ、Ｒ４０１Ｑ、Ｅ４１７Ｋ、Ｃ４２０Ｒ、Ｃ４２０Ｇ、Ｐ４４７－Ｌ４５５（欠失）、Ｐ４４９Ｌ、Ｐ４４９－Ｎ４５７（欠失）、Ｇ４５１Ｒ、Ｇ４５１Ｖ、Ｅ４５３Ｋ、Ｅ４５３Ｑ、Ｅ４５３Ｄ、Ｄ４５４Ｙ、Ｌ４５５（ｆｒａｍｅ　ｓｈｉｆｔ　ｉｎｓｅｒｔｉｏｎ）、Ｌ４５５－Ｇ４６０（欠失）、Ｇ４６３－Ｎ４６５（欠失）、Ｐ４７１Ｌ、Ｐ４７１Ａ、Ｈ４９５Ｌ、Ｈ４９５Ｙ、Ｅ５２２Ａ、Ｄ５３８Ｎ、Ｐ５３９Ｒ、Ｅ５４２Ｋ、Ｅ５４２Ｖ、Ｅ５４２Ｇ、Ｅ５４２Ｑ、Ｅ５４２Ａ、Ｅ５４５Ｋ、Ｅ５４５Ａ、Ｅ５４５Ｇ、Ｅ５４５Ｑ、Ｅ５４５Ｄ、Ｑ５４６Ｋ、Ｑ５４６Ｒ、Ｑ５４６Ｐ、Ｅ５４７Ｄ、Ｓ５７６Ｙ、Ｃ６０４Ｒ、Ｆ６１４Ｉ、Ａ６１７Ｗ、Ｓ６２９Ｃ、Ｑ６４３Ｈ、Ｉ６６３Ｓ、Ｑ６８２（欠失）、Ｄ７２５Ｎ、Ｗ７２６Ｋ、Ｒ７７７Ｍ、Ｅ７９１Ｑ、Ｒ８１８Ｃ、Ｌ８６６Ｗ、Ｃ９０１Ｆ、Ｆ９０９Ｌ、Ｄ９３９Ｇ、Ｒ９５１Ｃ、Ｑ

９５８Ｒ、Ｅ９７０Ｋ、Ｃ９７１Ｒ、Ｒ９７５Ｓ、Ｒ９９２Ｐ、Ｍ１００４Ｉ、Ｇ１００７Ｒ、Ｆ１０１６Ｃ、Ｄ１０１７Ｈ、Ｙ１０２１Ｈ、Ｙ１０２１Ｃ、Ｔ１０２５Ａ、Ｔ１０２５Ｓ、Ｄ１０２９Ｈ、Ｅ１０３７Ｋ、Ｍ１０４０Ｖ、Ｍ１０４３Ｖ、Ｍ１０４３Ｉ、Ｎ１０４４Ｋ、Ｎ１０４４Ｙ、Ｄ１０４５Ｖ、Ｈ１０４７Ｒ、Ｈ１０４７Ｌ、Ｈ１０４７Ｙ、Ｈ１０４７Ｑ、Ｈ１０４８Ｒ、Ｇ１０４９Ｒ、Ｔ１０５２Ｋ、Ｈ１０６５Ｌ、１０６９Ｗ（ノンストップ変異）、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＡ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【０１１６】

いくつかの実施形態において、ベーターカテニン関連遺伝子はさらにＰＩＫ３ＣＢを含む。いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＢ遺伝子は野生型であるか、あるいは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは野生型ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡである。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）を含むＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１１７】

いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＰＩＫ３ＣＢポリペプチドのアミノ酸残基１８、１９、２１、２８、５０、６１、６８、１０３、１３５、１４０、１６７、２５２、２７０、２９０、３０１、３０４、３２１、３６９、４１７、４４２、４７０、４９７、５０７、５１２、５４０、５５１、５５２、５５４、５６２、５６７、５９３、５９５、６１９、６２８、６６８、７６８、８０５、８２４、８３０、８８７、９６７、９９２、１００５、１０２０、１０３６、１０４６、１０４７、１０４８、１０４９、１０５１、１０５５、１０６７、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＰＩＫ３ＣＢポリペプチドのＷ１８（ナンセンス突然変異）、Ａ１９Ｖ、Ｄ２１Ｈ、Ｇ２８Ｓ、Ａ５０Ｐ、Ｋ６１Ｔ、Ｍ６８Ｉ、Ｒ１０３Ｋ、Ｈ１３５Ｎ、Ｌ１４０Ｓ、Ｓ１６７Ｃ、Ｇ２５２Ｗ、Ｒ２７０Ｗ、Ｋ２９０Ｎ、Ｅ３０１Ｖ、Ｉ３０４Ｒ、Ｒ３２１Ｑ、Ｖ３６９Ｉ、Ｔ４１７Ｍ、Ｎ４４２Ｋ、Ｅ４７０Ｋ、Ｅ４９７Ｄ、Ｐ５０７Ｓ、Ｉ５１２Ｍ、Ｅ５４０（ナンセンス突然変異）、Ｃ５５１Ｒ、Ｅ５５２Ｋ、Ｅ５５４Ｋ、Ｒ５６２（ナンセンス突然変異）、Ｅ５６７Ｄ、Ａ５９３Ｖ、Ｌ５９５Ｐ、Ｖ６１９Ａ、Ｒ６２８（ナンセンス突然変異）、Ｒ６６８Ｗ、Ｌ７６８Ｆ、Ｋ８０５Ｅ、Ｄ８２４Ｅ、Ａ８３０Ｔ、Ｅ８８７（ナンセンス突然変異）、Ｖ９６７Ａ、Ｉ９９２Ｔ、Ａ１００５Ｖ、Ｄ１０２０Ｈ、Ｅ１０３６Ｋ、Ｄ１０４６Ｎ、Ｅ１０４７Ｋ、Ａ１０４８Ｖ、Ｌ１０４９Ｒ、Ｅ１０５１Ｋ、Ｔ１０５５Ａ、Ｄ１０６７Ｖ、Ｄ１０６７Ａ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。

【０１１８】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン内の１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＰＩＫ３ＣＢポリペプチドのアミノ酸残基１８、１９、２１、２８、５０、６１、６８、１０３、１３５、１４０、１６７、２５２、２７０、２９０、３０１、３０４、３２１、３６９、４１７、４４２、４７０、４９７、５０７、５１２、５４０、５５１、５５２、５５４、５６２、５６７、５９３、５９５、６１９、６２８、６６８、７６８、８０５、８２４、８３０、８８７、９６７、９９２、１００５、１０２０、１０３６、１０

４６、１０４７、１０４８、１０４９、１０５１、１０５５、１０６７、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＰＩＫ３ＣＢポリペプチドのＷ１８（ナンセンス突然変異）、Ａ１９Ｖ、Ｄ２１Ｈ、Ｇ２８Ｓ、Ａ５０Ｐ、Ｋ６１Ｔ、Ｍ６８Ｉ、Ｒ１０３Ｋ、Ｈ１３５Ｎ、Ｌ１４０Ｓ、Ｓ１６７Ｃ、Ｇ２５２Ｗ、Ｒ２７０Ｗ、Ｋ２９０Ｎ、Ｅ３０１Ｖ、Ｉ３０４Ｒ、Ｒ３２１Ｑ、Ｖ３６９Ｉ、Ｔ４１７Ｍ、Ｎ４４２Ｋ、Ｅ４７０Ｋ、Ｅ４９７Ｄ、Ｐ５０７Ｓ、Ｉ５１２Ｍ、Ｅ５４０（ナンセンス突然変異）、Ｃ５５１Ｒ、Ｅ５５２Ｋ、Ｅ５５４Ｋ、Ｒ５６２（ナンセンス突然変異）、Ｅ５６７Ｄ、Ａ５９３Ｖ、Ｌ５９５Ｐ、Ｖ６１９Ａ、Ｒ６２８（ナンセンス突然変異）、Ｒ６６８Ｗ、Ｌ７６８Ｆ、Ｋ８０５Ｅ、Ｄ８２４Ｅ、Ａ８３０Ｔ、Ｅ８８７（ナンセンス突然変異）、Ｖ９６７Ａ、Ｉ９９２Ｔ、Ａ１００５Ｖ、Ｄ１０２０Ｈ、Ｅ１０３６Ｋ、Ｄ１０４６Ｎ、Ｅ１０４７Ｋ、Ａ１０４８Ｖ、Ｌ１０４９Ｒ、Ｅ１０５１Ｋ、Ｔ１０５５Ａ、Ｄ１０６７Ｖ、Ｄ１０６７Ａ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＰＩＫ３ＣＢ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１１９】

いくつかの実施形態において、ベーターカテニン関連遺伝子はさらにＭＹＣを含む。いくつかの実施形態において、ＭＹＣ遺伝子は野生型ＭＹＣ、あるいは１つ以上の突然変異を含むＭＹＣである。いくつかの例では、ＭＹＣは野生型ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡである。いくつかの例では、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、あるいは追加）を含む、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【０１２０】

いくつかの実施形態において、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、エクソン２またはエクソン３内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＭＹＣポリペプチドのアミノ酸残基２、７、１７、２０、３２、４４、５８、５９、７６、１１５、１３８、１４１、１４５、１４６、１６９、１７５、１８８、２００、２０２、２０３、２４８、２５１、２９８、３２１、３４０、３６９、３７３、３７４、３８９、３９５、４０４、４１９、４３１、４３９、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、Ｐ２Ｌ、Ｆ７Ｌ、Ｄ１７Ｎ、Ｑ２０Ｅ、Ｙ３２Ｎ、Ａ４４Ｖ、Ａ４４Ｔ、Ｔ５８Ｉ、Ｐ５９Ｌ、Ａ７６Ｖ、Ｆ１１５Ｌ、Ｆ１３８Ｓ、Ａ１４１Ｓ、Ｖ１４５Ｉ、Ｓ１４６Ｌ、Ｓ１６９Ｃ、Ｓ１７５Ｎ、Ｃ１８８Ｆ、Ｎ２００Ｓ、Ｓ２０２Ｎ、Ｓ２０３Ｔ、Ｔ２４８Ｓ、Ｄ２５１Ｅ、Ｓ２９８Ｙ、Ｑ３２１Ｅ、Ｖ３４０Ｄ、Ｖ３６９Ｄ、Ｔ３７３Ｋ、Ｈ３７４Ｒ、Ｆ３８９Ｌ、Ｑ３９５Ｈ、Ｋ４０４Ｎ、Ｌ４１９Ｍ、Ｅ４３１Ｋ、Ｒ４３９Ｑ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン内の１つ以上の突然変異を含むＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン２またはエクソン３内に１つ以上の突然変異を含むＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＭＹＣポリペプチドのアミノ酸残基２、７、１７、２０、３２、４４、５８、５９、７６、１１５、１３８、１４１、１４５、１４６、１６９、１７５、１８８、２００、２０２、２０３

、２４８、２５１、２９８、３２１、３４０、３６９、３７３、３７４、３８９、３９５、４０４、４１９、４３１、４３９、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＭＹＣポリペプチドのＰ２Ｌ、Ｆ７Ｌ、Ｄ１７Ｎ、Ｑ２０Ｅ、Ｙ３２Ｎ、Ａ４４Ｖ、Ａ４４Ｔ、Ｔ５８Ｉ、Ｐ５９Ｌ、Ａ７６Ｖ、Ｆ１１５Ｌ、Ｆ１３８Ｓ、Ａ１４１Ｓ、Ｖ１４５Ｉ、Ｓ１４６Ｌ、Ｓ１６９Ｃ、Ｓ１７５Ｎ、Ｃ１８８Ｆ、Ｎ２００Ｓ、Ｓ２０２Ｎ、Ｓ２０３Ｔ、Ｔ２４８Ｓ、Ｄ２５１Ｅ、Ｓ２９８Ｙ、Ｑ３２１Ｅ、Ｖ３４０Ｄ、Ｖ３６９Ｄ、Ｔ３７３Ｋ、Ｈ３７４Ｒ、Ｆ３８９Ｌ、Ｑ３９５Ｈ、Ｋ４０４Ｎ、Ｌ４１９Ｍ、Ｅ４３１Ｋ、Ｒ４３９Ｑ、あるいはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＭＹＣ　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１２２】

ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ１（ＨＰＲＴ１）を標的とするポリ核酸分子

ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴ）は、ヒポキサンチンのイノシン一リン酸への、および、グアニンのグアノシン一リン酸への転換を触媒するトランスフェラーゼである。ＨＧＰＲＴはヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ１（ＨＰＲＴ１）遺伝子によってコードされる。

【０１２３】

いくつかの実施形態において、ＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは野生型であるか、あるいは、１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、ＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、１つ以上のエクソン内に１つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、１つ以上のエクソンは、エクソン２、エクソン３、エクソン４、エクソン６、エクソン８、あるいはエクソン９を含む。いくつかの例では、ＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡは、ＨＰＲＴ１ポリペプチドのアミノ酸残基３５、４８、５６、７４、８７、１２９、１５４、１６２、１９５、２００、２１０、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＨＰＲＴ１ポリペプチドのＶ３５Ｍ、Ｒ４８Ｈ、Ｅ５６Ｄ、Ｆ７４Ｌ、Ｒ８７Ｉ、Ｎ１２９（スプライス部位突然変異）、Ｎ１５４Ｈ、Ｓ１６２（スプライス部位突然変異）、Ｙ１９５Ｃ、Ｙ１９５Ｎ、Ｒ２００Ｍ、Ｅ２１０Ｋ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１２４】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の突然変異を含むＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、エクソン２、エクソン３、エクソン４、エクソン６、エクソン８、あるいはエクソン９内の１つ以上の突然変異を含むＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＨＰＲＴ１ポリペプチドのアミノ酸残基３５、４８、５６、７４、８７、１２９、１５４、１６２、１９５、２００、２１０、あるいはこれらの組み合わせに対応する位置で１つ以上の突然変異を含むＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＨＰＲＴ１ポリペプチドのＶ３５Ｍ、Ｒ４８Ｈ、Ｅ５６Ｄ、Ｆ７４Ｌ、Ｒ８７Ｉ、Ｎ１２９（スプライス部位突然変異）、Ｎ１５４Ｈ、Ｓ１６２（スプライス部位突然変異）、Ｙ１９５Ｃ、Ｙ１９５Ｎ、Ｒ２００Ｍ、Ｅ２１０Ｋ、あるいはこれらの組み合わせから選択された１つ以上の突然変異を含むＨＰＲＴ１　ＤＮＡあるいはＲＮＡの標的領域にハイブリダイズする。

【０１２５】

ポリ核酸分子配列

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、表１、３、５、６、あるいは７に例示される標的配列にハイブリダイズする配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はＢである。いくつかの例では、ポリ核酸分子Ｂは、表１に例示される標的配列（ＫＲＡＳ標

的配列）にハイブリダイズする配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子Ｂは、表３に例示される標的配列（ＥＧＦＲ標的配列）にハイブリダイズする配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子Ｂは、表５に例示される標的配列（ＡＲ標的配列）にハイブリダイズする配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子Ｂは、表６に例示される標的配列（β－カテニン標的配列）にハイブリダイズする配列を含む。追加の例では、ポリ核酸分子Ｂは、表７に例示される標的配列（ＰＩＫ３ＣＡとＰＩＫ３ＣＢの標的配列）にハイブリダイズする配列を含む。

【０１２６】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、表２で列挙される配列に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６５－４５に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも５０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも６０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも７５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも９０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも９６％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも９７％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも９８％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５からなる。

【０１２７】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは第１のポリヌクレオチドと第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第１のポリヌクレオチドと、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第２のポリヌクレオチドを含む。

【０１２８】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、表４で列挙される配列に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも５０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも６０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも７５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも９０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも９６％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも９７％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも９８％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３からなる。

【０１２９】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは第１のポリヌクレオチドと第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第１のポリヌクレオチドと、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第２のポリヌクレオチドを含む。

【０１３０】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、表８で列挙される配列に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％

、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも５０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも６０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも７５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも９０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも９６％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも９７％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも９８％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４からなる。

【０１３１】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは第１のポリヌクレオチドと第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列に相補的である配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第１のポリヌクレオチドと、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列に相補的である第２のポリヌクレオチドを含む。

【０１３２】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは、表９で列挙される配列に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１

２４２に対して少なくとも６０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも７５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも８５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも９０％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも９６％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも９７％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも９８％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２からなる。

【０１３３】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子Ｂは第１のポリヌクレオチドと第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第１のポリヌクレオチドと、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する第２のポリヌクレオチドを含む。

【０１３４】

ポリ核酸分子

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるポリ核酸分子はＲＮＡまたはＤＮＡを含む。場合によっては、ポリ核酸分子はＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡは低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、低分子ヘアピン型ＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、転移ＲＮＡ（ｔＲＮＡ）、リボソームＲＮＡ（ｒＲＮＡ）、またはヘテロ核ＲＮＡ（ｈｎＲＮＡ）を含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｓｈＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｍｉＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｄｓＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｔＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｒＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｈｎＲＮＡを含む。いくつかの例では、ＲＮＡはｓｉＲＮＡを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はｓｉＲＮＡを含む。場合によっては、Ｂはｓｉ ＲＮＡを含む。

【０１３５】

いくつかの実施形態では、核酸ポリマーは、約１０から約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、約１０から約３０、約１５から約３０

、約１８から約２５、約１８から約２４、約１９から約２３、あるいは約２０から約２２ヌクレオチド長さである。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約４５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約４０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約３５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約２０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１９ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１８ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１７ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１６ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１４ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１３ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１２ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１１ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約４５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約４０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約３５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１０から約２０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１５から約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１５から約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、約１２から約３０ヌクレオチド長さである。

【０１３７】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は第１のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は第１のポリヌクレオチドと第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドはセンス鎖またはパッセンジャー鎖である。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドはアンチセンス鎖またはガイド鎖である。

【０１３８】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は第１のポリヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態において、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約３０、約１５から約３０、約１８から約２５、約１８から約２４、約１９から約２３、あるいは約２０から約２２ヌクレオチド長さである。

【０１３９】

いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約４５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約４０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約３５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約２０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１９ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１８ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１７ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１６ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１５ヌクレオチド長

さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１４ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１３ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１２ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１１ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約４５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約４０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約３５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１０から約２０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１５から約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１５から約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１２から約３０ヌクレオチド長さである。

【０１４０】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は第２のポリヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの実施形態において、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約３０、約１５から約３０、約１８から約２５、約１８から約２４、約１９から約２３、あるいは約２０から約２２ヌクレオチド長さである。

【０１４１】

いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約４５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約４０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約３５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約２０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１９ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１８ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１７ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１６ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１４ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１３ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１２ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１１ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約５０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約４５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約４０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約３５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは、約１０から約２０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１５から約２５ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１５から約３０ヌクレオチド長さである。いくつかの例では、第１のポリヌクレオチドは、約１２から約３０ヌクレオチド長さである。

【０１４２】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は第１のポリヌクレオチドと第２のポリヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はさらに平滑末端、オーバーハングあるいはその組み合わせを含む。いくつかの例では、平滑末端は、５’平滑末端、３’平滑末端、あるいはその両方である。場合によっては、オーバーハングは５’オーバーハング、３’オーバーハング、またはその両方である。場合によっては、オーバーハングは１、２、３、４、５、６、７、８、９、あるいは１０の非塩基対ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは１、２、３、４、５、あるいは６の非塩基対ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは１、２、３、あるいは４の非塩基対ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは１つの非塩基対ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは２つの非塩基対ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは３つの非塩基対ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは４つの非塩基対ヌクレオチドを含む。

【０１４３】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は、本明細書に記載された標的配列に対して、少なくとも４０％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、９９％、あるいは９９．５％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも５０％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも６０％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも７０％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも８０％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも９０％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも９５％相補的である。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも９９％相補的である。いくつかの例では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に１００％相補的である。

【０１４４】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して５つ以下のミスマッチを有する。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して４つ以下のミスマッチを有する。場合によっては、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して３つ以下のミスマッチを有し得る。場合によっては、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して２つ以下のミスマッチを有し得る。場合によっては、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して１つ以下のミスマッチを有し得る。

【０１４５】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載された標的配列にハイブリダイズするポリ核酸分子の特異性は、標的配列に対するポリ核酸分子の９５％、９８％、９９％、９９．５％、あるいは１００％の配列相補性である。いくつかの例では、ハイブリダイゼーションは高いストリンジェントなハイブリダイゼーション状態である。

【０１４６】
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、あるいはそれ以上の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも８つの隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも９つの隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１０の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記

載される標的配列の少なくとも１１の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１２の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１３の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１４の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１５の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１６の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１７の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１８の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも１９の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも２０の隣接する塩基にハイブリダイズする。

【０１４７】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子はオフターゲット効果を減少させた。いくつかの例において、「オフターゲット」あるいは「オフターゲット効果」とは、所定の標的に対するポリ核酸ポリマーが、別のｍＲＮＡ配列、ＤＮＡ配列、あるいは細胞タンパク質またはその他の部分を直接的あるいは間接的に相互作用することによって意図しない効果を引き起こすあらゆる例を指す。いくつかの例では、その他の転写産物とポリ核酸分子のセンスおよび／またはアンチセンス鎖との間の部分的な相同性あるいは相補性によって他の転写産物の同時の分解がある場合に、「オフターゲット効果」が生じる。

【０１４８】

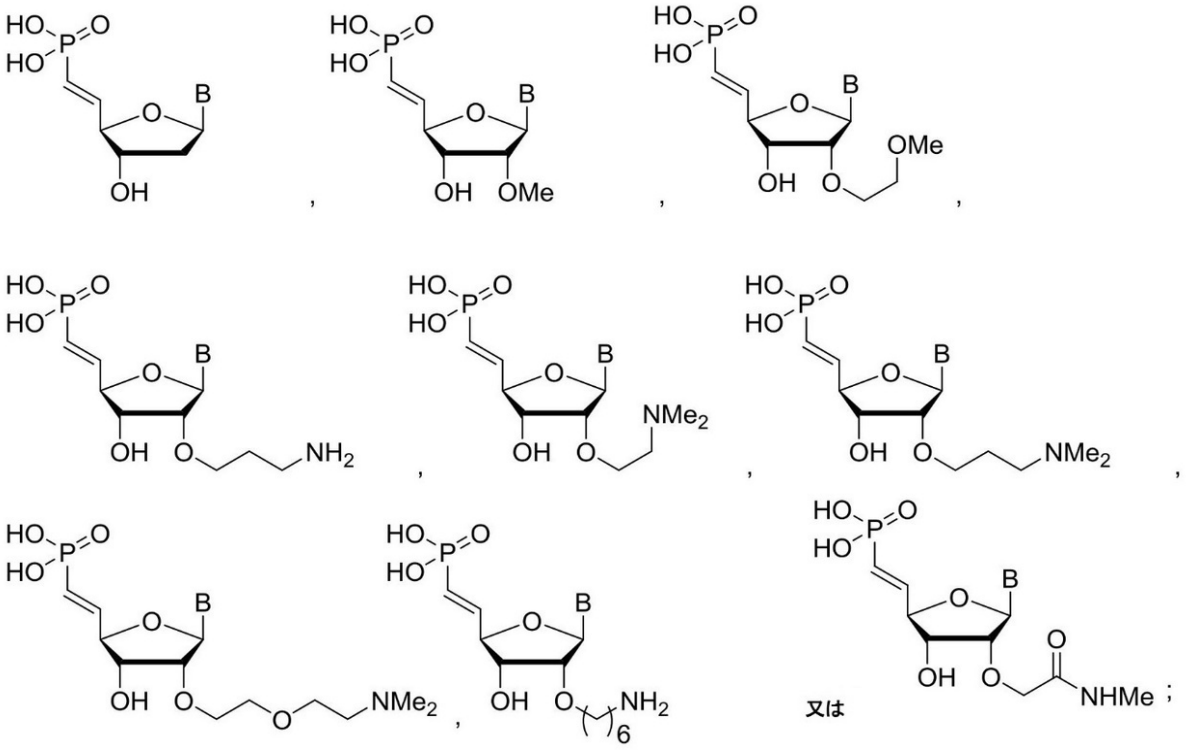
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、天然、合成、または人工ヌクレオチドアナログまたは塩基を含む。場合によっては、ポリ核酸分子は、ＤＮＡ、ＲＮＡ、および／またはヌクレオチドアナログの組み合わせを含む。いくつかの例では、合成または人工ヌクレオチドアナログまたは塩基は、リボース部分、リン酸塩部分、ヌクレオシド部分、あるいはその組み合わせの１つ以上で修飾を含む。

【０１４９】

いくつかの実施形態において、上記のヌクレオチドアナログあるいは人工のヌクレオチド塩基は、リボース部分の５’ヒドロキシル基における修飾を有する５’－ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド核酸を含む。いくつかの実施形態において、５’－ビニルホスホネート修飾ヌクレオチドは、以下から提供されたヌクレオチドから選択される。

【０１５０】

【化２１】



【０１５１】

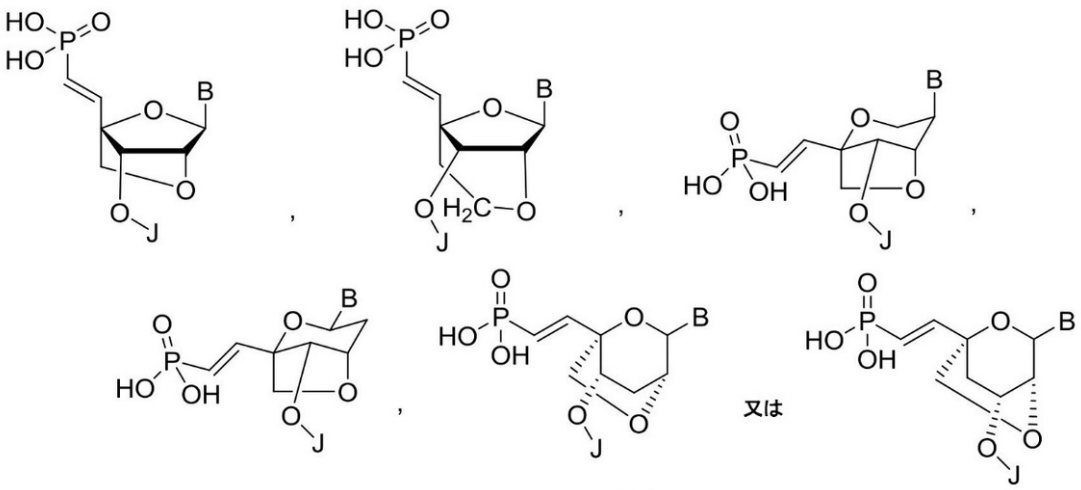
いくつかの実施形態では、２’ヒドロキシル基の修飾は、プロピルリンカーを含む伸長したアミン基がアミン基を２’酸素に結合させる、２’－Ｏ－アミノプロピル修飾である。いくつかの例では、この修飾は、１糖当たりアミン基から１つの正電荷を導入することによってオリゴヌクレオチド分子のリン酸塩由来の全体的な負電荷を中和し、それによって、その双性イオン特性による細胞取り込み特性を改善する。

【０１５２】

いくつかの例では、５’－ビニルホスホネートはロックドまたは架橋リボース修飾（例えば、ロックド核酸またはＬＮＡ）でさらに修飾され、ここで、２’炭素で結合された酸素分子はメチレン基によって４’炭素に結合され、それにより、２’－Ｃ、４’－Ｃ－オキシ－メチレン結合二環式リボヌクレオチド単量体を形成する。５’－ビニルホスホネート修飾されたＬＮＡの化学構造の例示的な表現が以下に例示され、ここで、Ｊはヌクレオチド間結合である。

【０１５３】

【化２２】



LNA (ロックド核酸)

【０１５４】

いくつかの実施形態では、２’ヒドロキシル基での追加の修飾は、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）を含む。

【０１５５】

いくつかの実施形態において、ヌクレオチドアナログは、修飾塩基、例えば、限定されないが、５－プロピニルウリジン、５－プロピニルシチジン、６－メチルアデニン、６－メチルグアニン、Ｎ，Ｎ，－ジメチルアデニン、２－プロピルアデニン、２－プロピルグアニン、２－アミノアデニン、１－メチルイノシン、３－メチルウリジン、５－メチルシチジン、５－メチルウリジン、および、５位置に修飾を有する他のヌクレオチド、５－（２－アミノ）プロピルウリジン、５－ハロシチジン、５－ハロウリジン、４－アセチルシチジン、１－メチルアデノシン、２－メチルアデノシン、３－メチルシチジン、６－メチルウリジン、２－メチルグアノシン、７－メチルグアノシン、２，２－ジメチルグアノシン、５－メチルアミノエチルウリジン、５－メトキシウリジン、デアザヌクレオチド（７－デアザ－アデノシン、６－アゾウリジン、６－アゾシチジン、あるいは６－アゾチミジンなど）、５－メチル－２－チオウリジン、他のチオ塩基（２－チオウリジン、４－チオウリジン、および２－チオシチジンなど）、ジヒドロウリジン、プソイドウリジン、キューオシン、アルカエオシン、ナフチルおよび置換されたナフチル基、Ｏ－およびＮ－アルキル化プリンおよびピリミジン、例えば、Ｎ６－メチルアデノシン、５－メチルカルボニルメチルウリジン、ウリジン、５－オキシ酢酸、ピリジン－４－オン、ピリジン－２－オン、フェニルおよび修飾フェニル基、例えば、アミノフェノールまたは２，４，６－トリメトキシベンゼン、Ｇクランプヌクレオチドとして作用する修飾されたシトシン、８－置換されたアデニンおよびグアニン、５－置換されたウラシルおよびチミン、アザピリミジン、カルボキシヒドロキシアルキルヌクレオチド、カルボキシアルキルアミノアルキルヌクレオチド、および、アルキルカルボニルアルキル化ヌクレオチドを含む。５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドはさらに、リボシルではない糖あるいはそのアナログを有する５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドと同様に、糖部に対して修飾されるこれらヌクレオチドを含む。例えば、場合によっては、糖部は、マンノース、アラビノース、グルコピラノース、ガラクトピラノース、４’－チオリボース、および、その他の糖類、複素環、あるいは炭素環であるか、または、これらがベースである。ヌクレオチドとの用語はさらに、普遍的な塩基として当技術分野で知られているものを含む。一

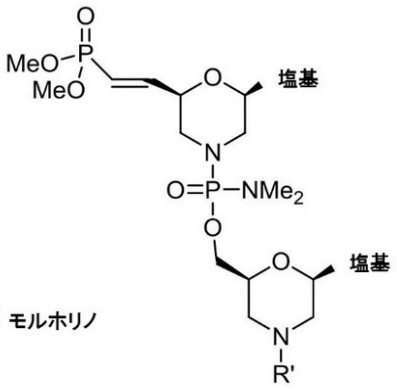
例として、普遍的な塩基は、限定されないが、３－ニトロピロール、５－ニトロインドール、またはネブラリンを含む。

【０１５６】

いくつかの実施形態において、５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドアナログはさらに、モルホリノ、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’ホスホラミダイト、あるいは１’，５’－アンヒドロヘキシトール核酸（ＨＮＡ）を含む。モルホリノまたはホスホロジアミデートモルホリノオリゴ（ＰＭＯ）は合成分子を含み、その構造は、天然の核酸構造を模倣しているが、正常な糖とリン酸塩の構造からは逸脱している。いくつかの例では、５員のリボース環は、４つの炭素、１つの窒素、および１つの酸素を含有している６員のモルホリノ環で置換される。いくつかの場合では、リボース単量体は、リン酸基の代わりにホスホロジアミデート基によって結合される。場合によっては、骨格の変質は、荷電オリゴヌクレオチドによって使用されるような細胞送達剤（ｃｅｌｌｕｌａｒ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ａｇｅｎｔｓ）の助けを借りることなく細胞膜を横断することができるモルホリノ中性分子を作るすべての正および負の電荷を除去する。５’－ビニルホスホネート修飾されたモルホリノオリゴヌクレオチドの非限定的な例が以下に例示される。

【０１５７】

【化２３】



【０１５８】

いくつかの実施形態において、上に記載された５’－ビニルホスホネート修飾されたモルホリノまたはＰＭＯは、正電荷またはカチオン電荷を含むＰＭＯである。いくつかの例では、ＰＭＯはＰＭＯｐｌｕｓ（Ｓａｒｅｐｔａ）である。ＰＭＯｐｌｕｓは、任意の数の（１－ピペラジノ）ホスフィニリデンデオキシ（ｐｈｏｓｐｈｉｎｙｌｉｄｅｎｅｏｘｙ）、（１－（４－（オメガ－グアニジノ－アルカノイル））－ピペラジノ）ホスフィニリデンデオキシ結合（例えば、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２００８／０３６１２７に記載されるものなど）を含むホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーを指す。いくつかの例では、ＰＭＯは、米国特許第７９４３７６２号に記載されるＰＭＯである。

【０１５９】

いくつかの実施形態において、上に記載されたモルホリノまたはＰＭＯはＰＭＯ－Ｘ（Ｓａｒｅｐｔａ）である。場合によっては、ＰＭＯ－Ｘは、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１１／１５０４０８と米国公報２０１２／００６５１６９に記載されるものなどの、開示された末端修飾の少なくとも１つの結合あるいは少なくとも１つを含むホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーを指す。

【０１６０】

いくつかの実施形態において、上に記載されたモルホリノまたはＰＭＯは、米国公開公報２０１４／０２９６３２１号の表５に記載されるようなＰＭＯである。

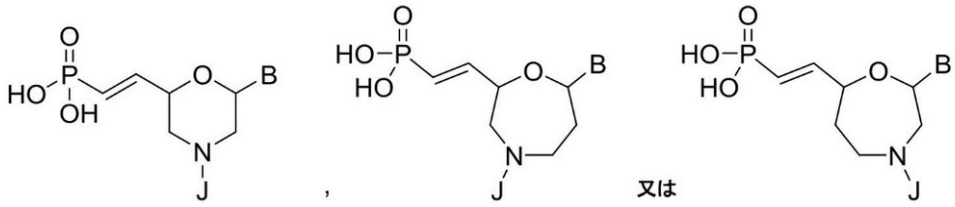
【０１６１】

５’－ビニルホスホネート修飾された核酸の化学構造の例示的な表現が以下に例示され

、ここで、Ｊはヌクレオチド間結合である。

【０１６２】

【化２４】

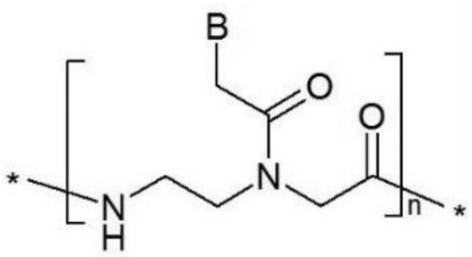


【０１６３】

いくつかの実施形態において、ペプチド核酸（ＰＮＡ）は、糖骨格環もリン酸塩結合を含まず、塩基は結合し、オリゴグリシン様分子によって適切に間隔を置かれ、ゆえに、骨格電荷を除去する。

【０１６４】

【化２５】



PNA

【０１６５】

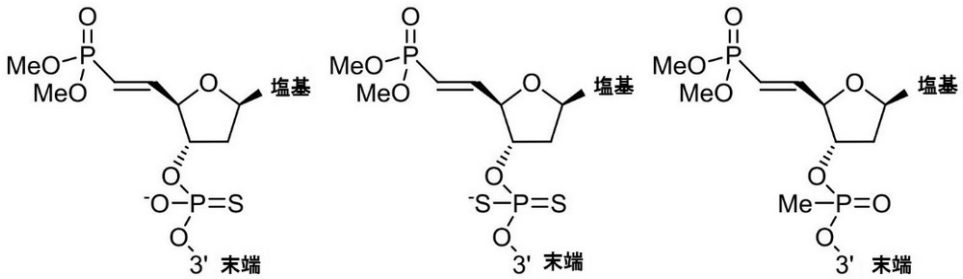
いくつかの実施形態において、５’－ビニルホスホネート修飾されたオリゴヌクレオチドの１つ以上の修飾は、ヌクレオチド間結合で随意に生じる。いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合は、限定されないが、ホスホロチオエート；ホスホロジチオエート；メチルホスホネート；５’－アルキレンホスホネート；５’－メチルホスホネート；３’－アルキレンホスホネート；三フッ化ホウ素；３’－５’結合あるいは２’－５’結合のボラノリン酸エステルとセレノホスフェート；ホスホトリエステル；チオノアルキルホスホトリエステル；水素ホスホネート結合；アルキルホスホネート；アルキルホスホノチオエート；アリールホスホノチオエート；ホスホロセレノアート；ホスホロジセレノアート；ホスフィネート；ホスホルアミデート；３’－アルキルホスホルアミデート；アミノアルキルホスホルアミデート；チオノホスホルアミデート；ホスホロピペラジデート；ホスホロアニロチオエート；ホスホロアニリデート；ケトン；スルホン；スルホンアミド；カーボネート；カルバマート；メチレンヒドラゾ；メチレンジメチルヒドラゾ；ホルムアセタール；チオホルムアセタール；オキシム；メチレンイミノ；メチレンメチルイミノ；チオアミデート；リボアセチル基との結合；アミノエチルグリシン；シリルまたはシロキサン結合；例えば、飽和あるいは不飽和であり、および／またはヘテロ原子を含有している、１～１０の炭素のヘテロ原子を用いるあるいは用いないアルキルまたはシクロアルキル結合；塩基が骨格のアザ窒素に直接的あるいは間接的に結合しているモルホリノ構造、アミド、またはポリアミドとの結合；および、これらの組み合わせを含む。

【０１６６】

いくつかの例では、修飾は、メチルホスホネートあるいはチオールホスホネート修飾などのメチルまたはチオール修飾である。典型的なチオールホスホネートヌクレオチド（左）、ホスホロジチオエート（中）、およびメチルホスホネートヌクレオチド（右）が、以下に例証される。

【０１６７】

【化２６】

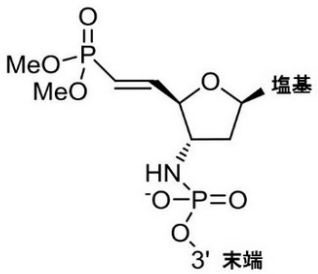


【０１６８】

いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドは、限定されないが、以下として例示されるホスホラミダイトを含む。

【０１６９】

【化２７】

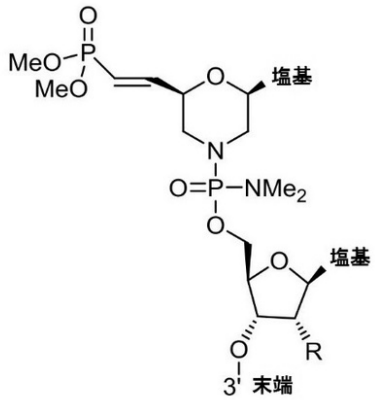


【０１７０】

いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合はホスホロジアミデート結合である。モルホリノ系を用いるホスホロジアミデート結合の非限定的な例が以下に示される。

【０１７１】

【化２８】

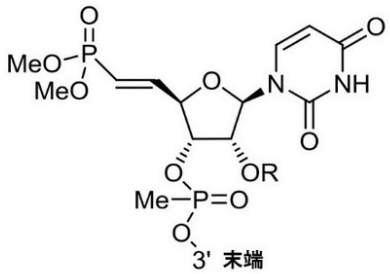


【０１７２】

いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合はメチルホスホネート結合である。メチルホスホネート結合の非限定的な例が以下に示される。

【０１７３】

【化２９】

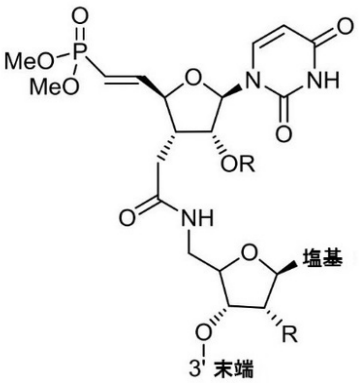


【０１７４】

いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合はアミド結合である。アミド結合の非限定的な例が以下に示される。

【０１７５】

【化３０】



【０１７６】

いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドは、限定されないが、以下に例示される修飾された核酸を含む。

【０１７７】

いくつかの実施形態において、１つ以上の修飾は、修飾が中性または無荷電の骨格を生成する、修飾されたホスフェート骨格を含む。いくつかの例では、ホスフェート骨格は、無荷電または中性のホスフェート骨格を生成するアルキル化によって修飾される。本明細書で使用されるように、アルキル化は、メチル化、エチル化、およびプロピル化を含む。場合によっては、アルキル基は、アルキル化の文脈において本明細書で使用されるように、１～６の炭素原子を含有している直鎖または分岐鎖の飽和炭化水素基を指す。いくつかの例では、例示的なアルキル基としては、限定されないが、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、１，１－ジメチルブチル、２，２－ジメチルブチル、３．３－ジメチルブチル、および２－エチルブチルの基が挙げられる。場合によっては、修飾されたホスフェートは、米国特許第９４８１９０５号に記載されるホスフェート基である。

【０１７８】

いくつかの実施形態において、追加の修飾されたホスフェート骨格は、メチルホスホネート、エチルホスホネート、メチルチオホスホネート、あるいはメトキシホスホネートを含む。場合によっては、修飾されたホスフェートはメチルホスホネートである。場合によっては、修飾されたホスフェートはエチルホスホネートである。場合によっては、修飾されたホスフェートはメチルチオホスホネートである。場合によっては、修飾されたホスフェートはメトキシホスホネートである。

【０１７９】

いくつかの実施形態において、１つ以上の修飾はさらに、リボース部分、ホスフェート

骨格、およびヌクレオシドの修飾、あるいは３’または５’末端のヌクレオチドアナログの修飾を含む。例えば、３’末端は随意に３’カチオン基を含み、あるいは、３’－３’結合を含む３’－末端でヌクレオシドを反転させる。別の代替物では、３’－末端は随意に、アミノアルキル基、例えば、３’Ｃ５－アミノアルキルｄＴと結合する。追加の代替物では、３’－末端は随意に、脱塩基部位、例えば、アプリン酸またはアピリミジン酸部位と結合する。

【０１８０】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、１つ以上の本明細書に記載された人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、２０、２５、あるいはそれ以上の本明細書に記載される５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドアナログを含む。いくつかの実施形態において、人工的な５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドアナログは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたＬＮＡ、ＥＮＡ、ＰＮＡ、ＨＮＡ、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’ホスホラミダイト、あるいはこれらの組み合わせを含む。いくつかの例では、５’－ビニルホスホネートは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたＬＮＡ、ＥＮＡ、ＰＮＡ、ＨＮＡ、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’ホスホラミダイト、あるいはこれらの組み合わせから選択された、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１７、１８、２０、２５、あるいはそれ以上の人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの実施形態では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、２０、２５、あるいはそれ以上の２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、２０、２５、あるいはそれ以上の２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、２０、２５、あるいはそれ以上のチオールホスホネートヌクレオチドを含む。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、少なくとも約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、約１０、約１１、約１２、約１３、約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、またはそれ以上の修飾を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、あるいは１２１５－１２４２のポリ核酸分子である。

【０１８２】

いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、少なくとも約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、約１０、約１１、約１２、約

１３、約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、またはそれ以上の修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、あるいは１２１５－１２４２のポリ核酸分子である。

【０１８３】

いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、以下の少なくとも１つを含む：約５％から約１００％の修飾、約１０％から約１００％の修飾、約２０％から約１００％の修飾、約３０％から約１００％の修飾、約４０％から約１００％の修飾、約５０％から約１００％の修飾、約６０％から約１００％の修飾、約７０％から約１００％の修飾、約８０％から約１００％の修飾、および、約９０％から約１００％の修飾。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、あるいは１２１５－１２４２のポリ核酸分子である。

【０１８４】

いくつかの例では、５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子の約５から約１００％は、本明細書に記載された人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子の約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、あるいは１２１５－１２４２のポリ核酸分子の約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５のポリ核酸分子の約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２２－１１７３のポリ核酸分子の約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１９５－１２１４のポリ核酸分子の約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２１５－１２４２のポリ核酸分子の約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチドアナログは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、あるいは、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたＬＮＡ、ＥＮＡ、ＰＮＡ、ＨＮＡ、モルホリノ、－メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホラミダイト、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【０１８５】

場合によっては、本明細書に記載される人工の５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドアナログの１つ以上は、天然のポリ核酸分子と比較して、例えば、ＲＮａｓｅＨなどのリボヌクレアーゼ、ＤＮａｓｅなどのデオキシリボヌクレアーゼ、または、５’

－３’エキソヌクレアーゼや３’－５’エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼなどのヌクレアーゼに対する耐性を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、あるいは、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたＬＮＡ、ＥＮＡ、ＰＮＡ、ＨＮＡ、モルホリノ、－メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホラミダイト、あるいは、これらの組み合わせを含む人工ヌクレオチドアナログは、ＲＮａｓｅＨなどのリボヌクレアーゼ、ＤＮａｓｅなどのデオキシリボヌクレアーゼ、または、５’－３’エキソヌクレアーゼや３’－５’エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼなどのヌクレアーゼに対する耐性を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－メチル修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－アミノプロピル修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－デオキシ修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、Ｔ－デオキシ－２’－Ｏ－フルオロ修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、ＬＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、ＥＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、ＨＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。モルホリノは、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、ＰＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼに対する耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。

いくつかの例では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、チオホスホネートヌクレオチド修飾ポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホラミダイトを含むポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、ＲＮａｓｅＨ、ＤＮａｓｅ、５’－３’エキソヌクレアーゼ、あるいは３’－５’エキソヌクレアーゼ耐性）を有する。いくつかの例では、本明細書に記載された５’抱合体は５’－３’エキソヌクレアーゼ切断を阻害する。いくつかの例では、本明細書に記載された３’抱合体は３’－５’エキソヌクレアーゼ切断を阻害する。

【０１８６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載された人工の５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドアナログの１つ以上は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたＬＮＡ、ＥＮＡ、ＰＮＡ、ＨＮＡ、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’ホスホラミダイト、あるいはこれらの組み合わせを含む人工ヌクレオチドアナログの１つ以上は、同等の天然のポリ核酸分子と比較してそのｍＲＮＡへの増大した結合親和性を有することができる。いくつかの例では、２’－Ｏ－メチル修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－アミノプロピル修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－デオキシ修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、ＬＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、ＥＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、ＰＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、ＨＮＡ－修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、

そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、モルホリノ－修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、チオールホスホネートヌクレオチド修飾ポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホラミダイトを含むポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのｍＲＮＡ標的に対する結合親和性を増大させた。場合によっては、増加した親和性は、低Ｋｄ、高融解温度（Ｔｍ）、あるいはその組み合わせで例証される。

【０１８７】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載された５’－ビニルホスホネート修飾されたポリ核酸分子は、キラル純粋（あるいはステレオ純粋）なポリ核酸分子、あるいは単一のエナンチオマーを含むポリ核酸分子である。いくつかの例では、ポリ核酸分子はＬ－ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はＤ－ヌクレオチドを含む。いくつかの例において、ポリ核酸分子組成物は、その鏡像異性体の３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％、またはそれ以下を含む。場合によっては、ポリ核酸分子組成物は、ラセミ混合物の３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％、またはそれ以下を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、米国特許出願公開第：２０１４／１９４６１０号と２０１５／２１１００６号；ＷＯ２０１５１０７４２５に記載されるポリ核酸分子である。

【０１８８】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されたポリ核酸分子は、アプタマー結合部分を含めるようにさらに修飾される。いくつかの例では、アプタマー結合部分はＤＮＡアプタマー結合部分である。いくつかの例では、アプタマー結合部分は、Ａｌｐｈａｍｅｒ（Ｃｅｎｔａｕｒｉ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）であり、これは、特定の細胞表面標的を認識するアプタマー部分と、循環抗体に結合するための特定のエピトープを示す部分とを含んでいる。いくつかの例において、本明細書に記載されつポリ核酸分子は、米国特許第８，６０４，１８４号、第８，５９１，９１０号、および第７，８５０，９７５号に記載されるようなアプタマー結合部分を含めるようにさらに修飾される。

【０１８９】

追加の実施形態では、本明細書に記載されるポリ核酸分子はその安定性を増大させるために修飾される。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子はＲＮＡ（例えば、ｓｉＲＮＡ）であり、ポリ核酸分子はその安定性を増大させるために修飾される。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、その安定性を増大させるために上に記載された修飾の１つ以上によって修飾されている。場合によっては、ポリ核酸分子は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾、あるいは、ロックドまたは架橋リボース構造（例えば、ＬＮＡまたはＥＮＡ）によるなどして、２ヒドロキシル位置で修飾される。場合によっては、ポリ核酸分子は２’－Ｏ－メチルおよび／または２’－Ｏ－メトキシエチルリボースによって修飾される。場合によっては、ポリ核酸分子はさらに、その安定性を増大させるために、モルホリノ、ＰＮＡ、ＨＮＡ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、および／または２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホラミダイトを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はキラル純粋な（あるいはステレオ純粋な）ポリ核酸分子である。いくつかの例では、キラル純粋な（あるいはステレオ純粋な）ポリ核酸分子はその安定性を増大させるために修飾されている。送達の安定性を増大させるためのＲＮＡの適切な修飾は当業者に

は明らかである。

【０１９０】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、上記の遺伝子によってコードされたＲＮＡの発現を調節するＲＮＡｉ活性を有する。いくつかの例では、本明細書にされるポリ核酸分子は遺伝子の発現をダウンレギュレートする二本鎖ｓｉＲＮＡ分子であり、ここで、二本鎖ｓｉＲＮＡ分子の鎖の１つは、遺伝子、または遺伝子あるいはその一部によってコードされたＲＮＡのヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、および、二本鎖ｓｉＲＮＡ分子の第２の鎖は、遺伝子、または遺伝子あるいはその一部によってコードされたＲＮＡのヌクレオチド配列に実質的に似ているヌクレオチド配列を含む。場合によっては、本明細書にされるポリ核酸分子は遺伝子の発現をダウンレギュレートする二本鎖ｓｉＲＮＡ分子であり、ここで、ｓｉＲＮＡ分子のそれぞれの鎖は、約１５～２５、１８～２４、あるいは１９～約２３のヌクレオチドを含み、および、それぞれの鎖は、別の鎖のヌクレオチドに相補的な少なくとも約１４、１７、あるいは１９のヌクレオチドを含む。場合によっては、本明細書にされるポリ核酸分子は遺伝子の発現をダウンレギュレートする二本鎖ｓｉＲＮＡ分子であり、ここで、ｓｉＲＮＡ分子のそれぞれの鎖は約１９～約２３のヌクレオチドを含み、および、それぞれの鎖は、別の鎖のヌクレオチドに相補的な少なくとも約１９のヌクレオチドを含む。いくつかの例では、遺伝子は、ＫＲＡＳ、ＥＧＦＲ、ＡＲ、ＨＰＲＴ１、ＣＮＮＴＢ１（β－カテニン）、あるいはβ－カテニン関連遺伝子である。

【０１９１】

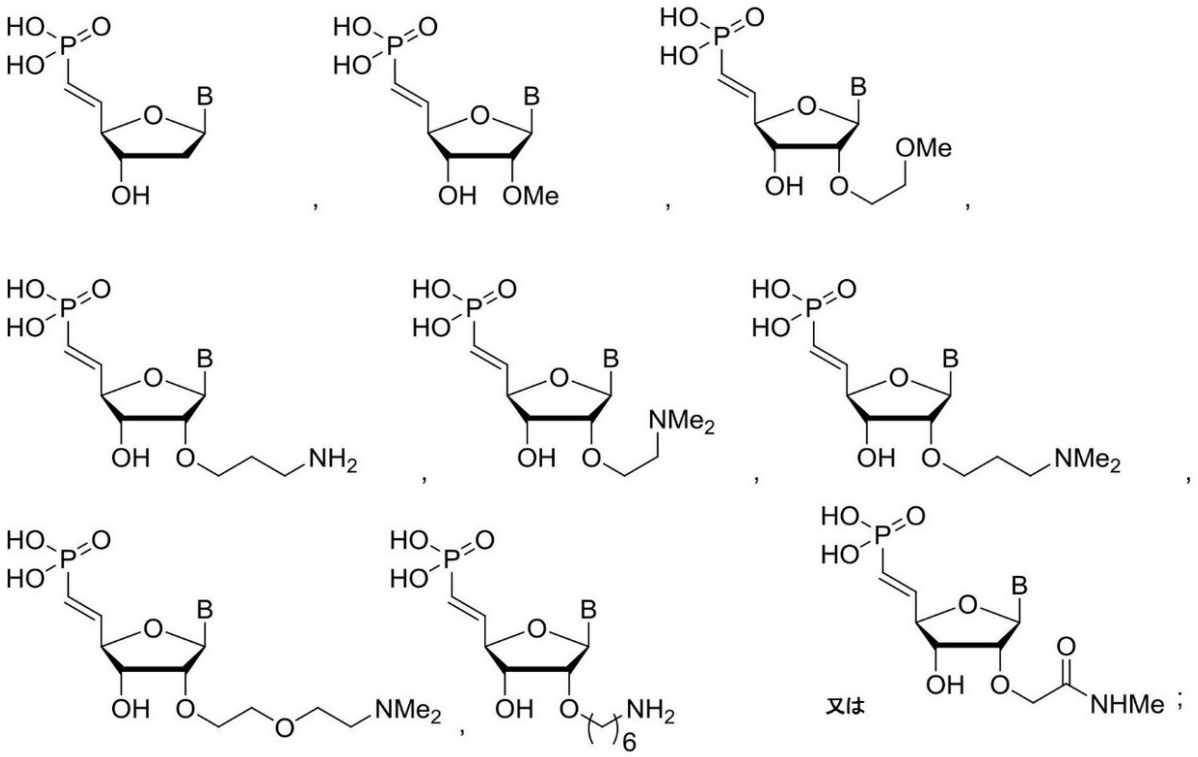
いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、当該技術分野で知られている手順を用いて、化学合成および／または酵素ライゲーション反応を用いて構築される。例えば、ポリ核酸分子は、自然発生のヌクレオチドを使用して、あるいは、分子の生体安定性を増大させるために、または、ポリ核酸分子と標的核酸との間で形成された二重鎖の物理安定度を増大させるために設計されたさまざまな修飾ヌクレオチドを用いて、化学合成される。例示的な方法は、以下に記載されるものを含む：米国特許第５，１４２，０４７号；第５，１８５，４４４号；第５，８８９，１３６号；第６，００８，４００号；および、第６，１１１，０８６号；ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２００９０９９９４２号；あるいは、欧州特許公開第１５７９０１５号。追加の例示的な方法は、以下に記載されるものを含む：Ｇｒｉｆｆｅｙ ｅｔ ａｌ．，“２’－Ｏ－ａｍｉｎｏｐｒｏｐｙｌ ｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ：ａ ｚｗｉｔｔｅｒｉｏｎｉｃ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｔｈａｔ ｅｎｈａｎｃｅｓ ｔｈｅ ｅｘｏｎｕｃｌｅａｓｅ ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ ａｎｄ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ａｃｔｉｖｉｔｙ ｏｆ ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，” Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．３９（２６）：５１００－５１０９（１９９７））；Ｏｂｉｋａ，ｅｔ ａｌ．“Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ２’－Ｏ，４’－Ｃ－ｍｅｔｈｙｌｅｎｅｕｒｉｄｉｎｅ ａｎｄ －ｃｙｔｉｄｉｎｅ．Ｎｏｖｅｌ ｂｉｃｙｃｌｉｃ ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ｈａｖｉｎｇ ａ ｆｉｘｅｄ Ｃ３，－ｅｎｄｏ ｓｕｇａｒ ｐｕｃｋｅｒｉｎｇ”．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔｅｒｓ ３８（５０）：８７３５ １９９７；Ｋｏｉｚｕｍｉ，Ｍ．“ＥＮＡ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｓ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ”．Ｃｕｒｒｅｎｔ ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ ８（２）：１４４－１４９（２００６）；ａｎｄ Ａｂｒａｍｏｖａ ｅｔ ａｌ．，“Ｎｏｖｅｌ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ａｎａｌｏｇｕｅｓ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｍｏｒｐｈｏｌｉｎｏ ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅ ｓｕｂｕｎｉｔｓ－ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ：ｎｅｗ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｐｏｓｓｉｂｉｌｉｔｉｅｓ，” Ｉｎｄｉａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ４８Ｂ：１７２１－１７２６（２００９）。代替的に、ポリ核酸分子は、ポリ核酸分子がアンチセンス配向にサブクローン化された発現ベクターを用いて生物学的に生成される（つまり、挿入されたポリ核酸分子の転写されたＲＮＡは所望の標的ポリ核酸分子に対してアンチセンス配向になる）。

【０１９２】
１つの実施形態は、式（Ｉ）：

Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃ
式Ｉ

の分子を提供し、
式中、
Ａは結合部分であり；
Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｃはポリマーであり；
Ｘは単結合あるいは第１の非ポリマーリンカーであり；および、
Ｙは単結合または第２のリンカーであり；
ここで、ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然ヌクレオチドを含み；および、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。
【０１９３】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：ここで、ポリヌクレオチドは随意に、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含む。
【０１９４】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの５’－末端に位置する。
【０１９５】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのヌクレオチド間結合に位置する。
【０１９６】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、２’－位置でさらに修飾される。
【０１９７】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：２’－修飾は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたヌクレオチドから選択される。
【０１９８】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：
【０１９９】

【化３１】



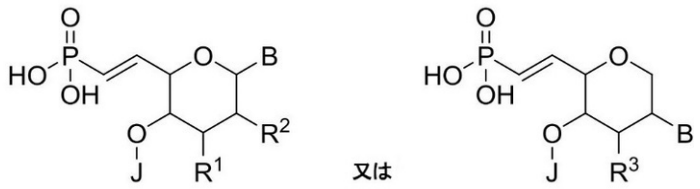
Ｂは複素環式塩基部分である。

【０２００】

別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２０１】

【化３２】



Ｂは複素環式塩基部分であり；

Ｒ１、Ｒ２、およびＲ３は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアルコキシから独立して選択され；および、

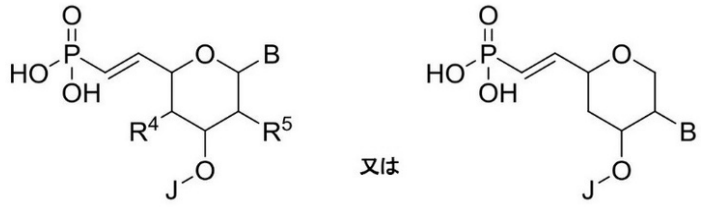
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２０２】

別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２０３】

【化３３】



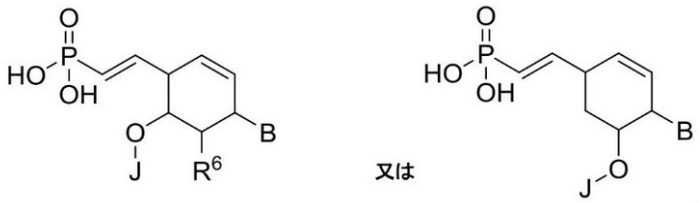
Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ４およびＲ５は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアルコキシから独立して選択され；および、Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２０４】

別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２０５】

【化３４】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアシルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２０６】

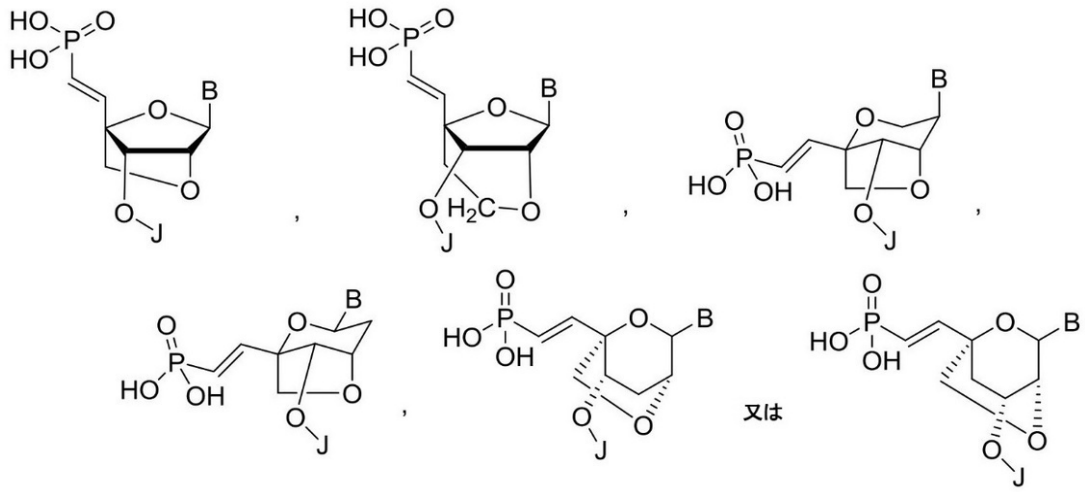
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）またはエチレン核酸（ＥＮＡ）から選択される。

【０２０７】

別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２０８】

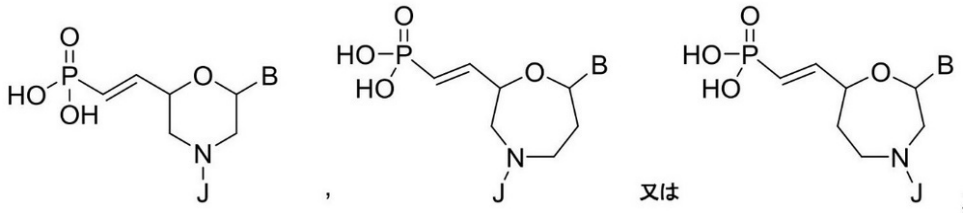
【化３５】



Ｂは複素環式塩基部分であり；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２０９】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

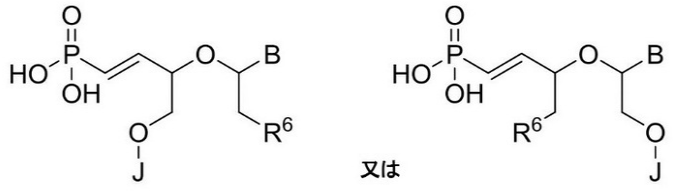
【０２１０】
【化３６】



Ｂは複素環式塩基部分であり；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２１１】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下であり：

【０２１２】
【化３７】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアシルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２１３】
別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド

間結合は、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホロジアミデート結合、メチルホスホネート結合、あるいはアミド結合を含む。

【０２１４】

別の実施形態は、式（Ｉ）の分子を提供し：少なくとも１つの逆脱塩基部分は少なくとも１つの末端である。

【０２１５】

１つの実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然ヌクレオチドを含む。

【０２１６】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、オリゴヌクレオチドはさらに、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合、あるいは少なくとも１つの逆脱塩基部分を含む。

【０２１７】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの５’－末端に位置する。

【０２１８】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのヌクレオチド間結合に位置する。

【０２１９】

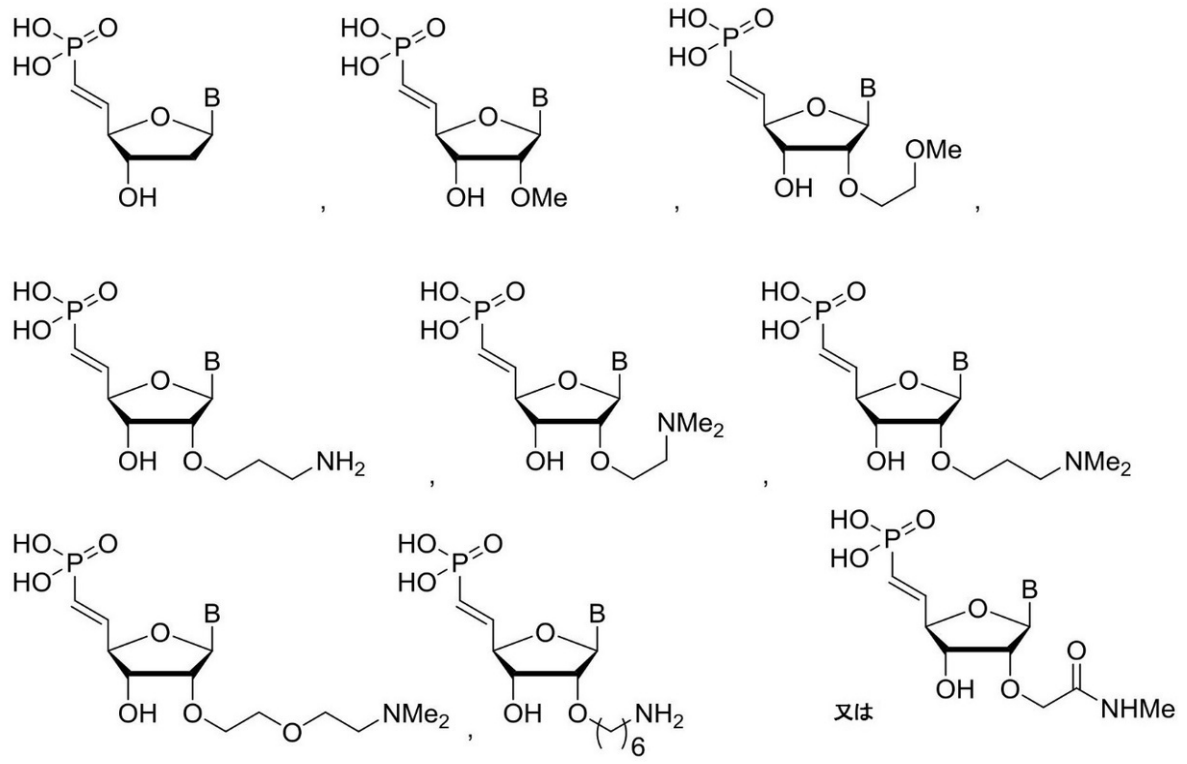
別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、２’－位置でさらに修飾される。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、２’－修飾は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２－Ｏ－ＮＭＡ）修飾されたヌクレオチドから選択される。

【０２２０】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２２１】

【化３８】



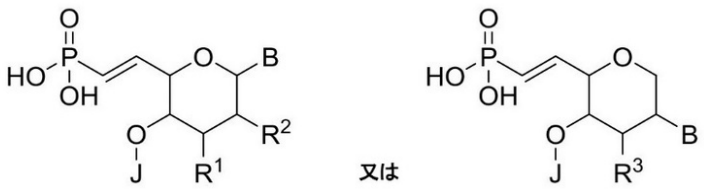
Ｂは複素環式塩基部分である。

【０２２２】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２２３】

【化３９】



Ｂは複素環式塩基部分であり；

Ｒ１、Ｒ２、およびＲ３は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアルコキシから独立して選択され；および、

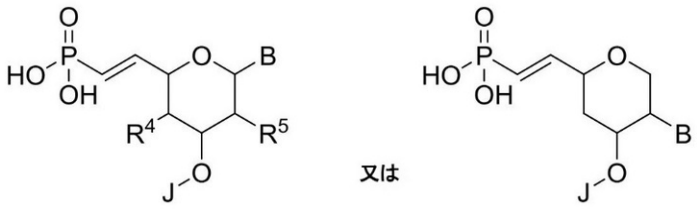
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２２４】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２２５】

【化４０】



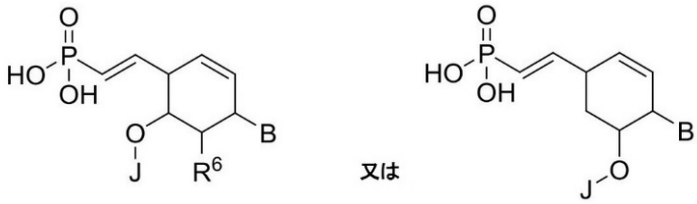
Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ４およびＲ５は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアルコキシから独立して選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２２６】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２２７】

【化４１】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアシルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２２８】

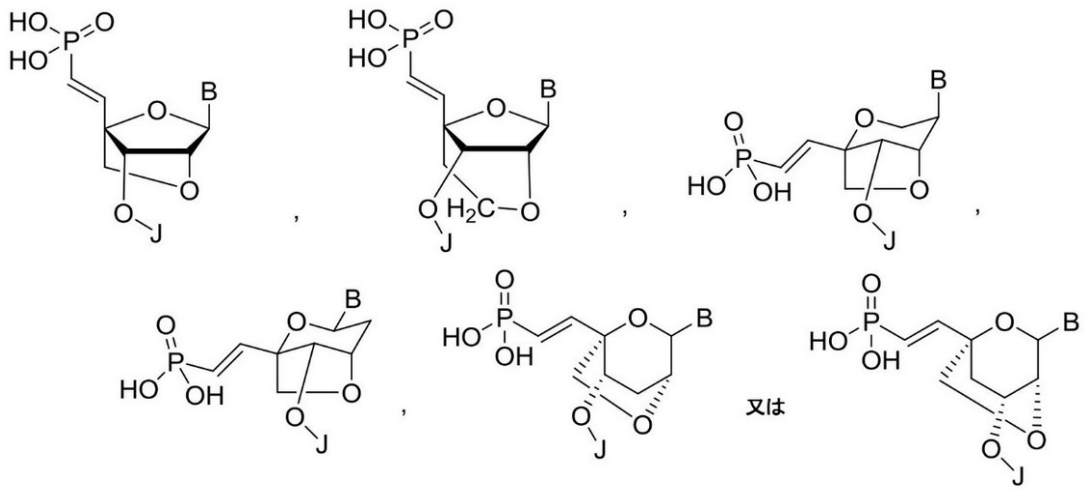
別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）またはエチレン核酸（ＥＮＡ）から選択される。

【０２２９】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２３０】

【化４２】



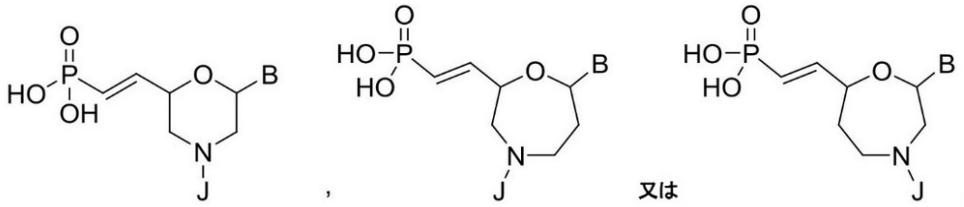
Ｂは複素環式塩基部分であり；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２３１】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下から選択され：

【０２３２】

【化４３】



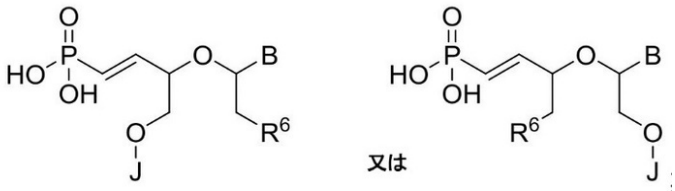
Ｂは複素環式塩基部分であり；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２３３】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾された非天然のヌクレオチドは、以下からされ：

【０２３４】

【化４４】



Ｂは複素環式塩基部分であり；
Ｒ６は、水素、ハロゲン、アルキル、あるいはアシルから選択され；および、
Ｊは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である。

【０２３５】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの修飾さ

れたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホロジアミデート結合、メチルホスホネート結合、あるいはアミド結合を含む。

【０２３６】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも１つの逆脱塩基部分は少なくとも１つの末端である。

【０２３７】

別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは単鎖である。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは二本鎖である。

【０２３８】

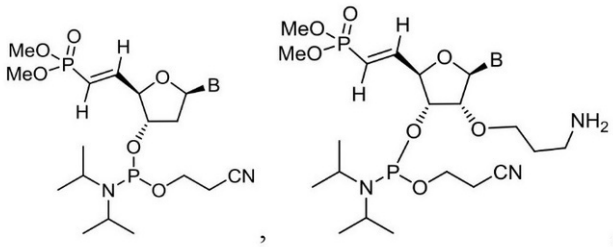
別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約１００残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約９０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約８０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約７０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約６０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約５０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約４０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約３０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約２０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２～約１０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは８～約３０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは１０～約３０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは１４～約３０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは１８～約３０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２２～約３０残基長さである。別の実施形態は、式（ＩＩ）のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは２６～約３０残基長さである。

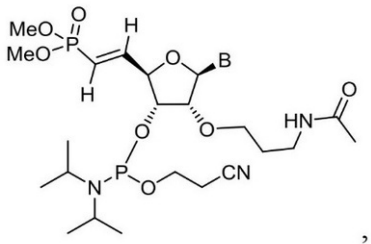
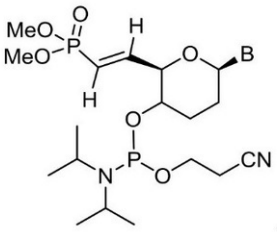
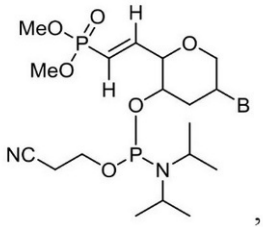
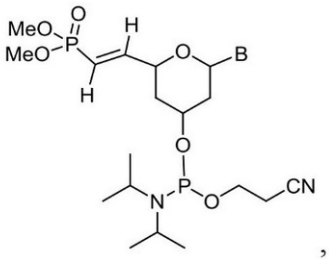
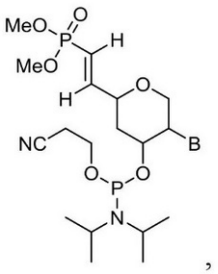
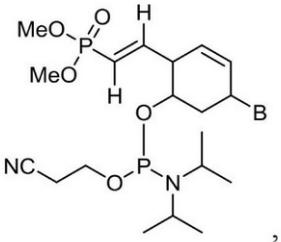
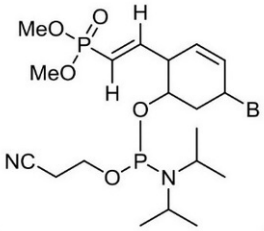
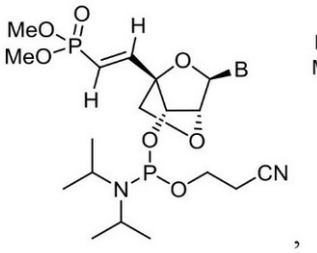
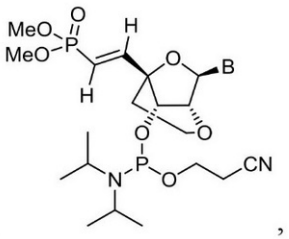
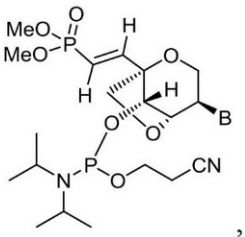
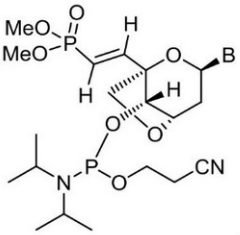
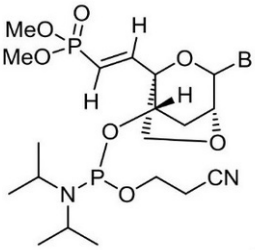
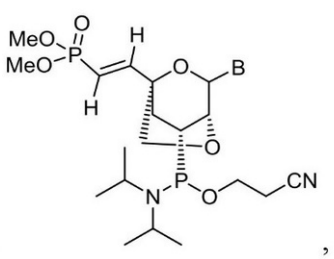
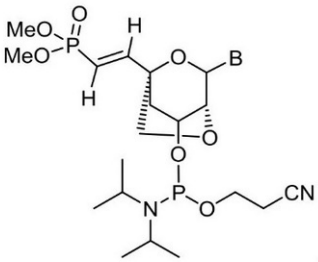
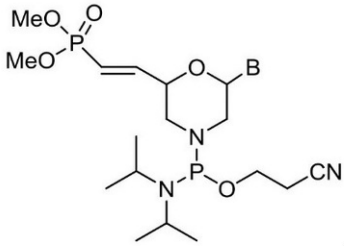
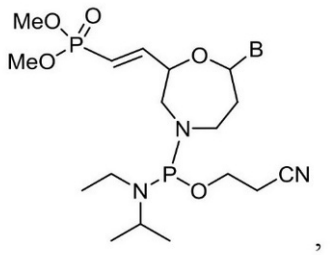
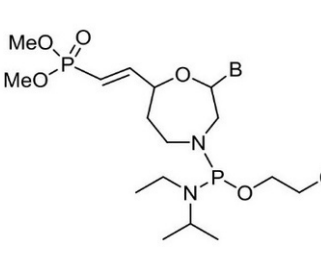
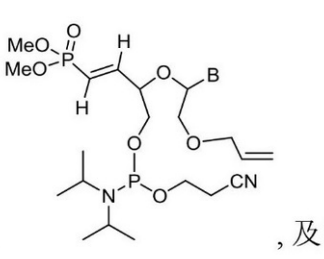
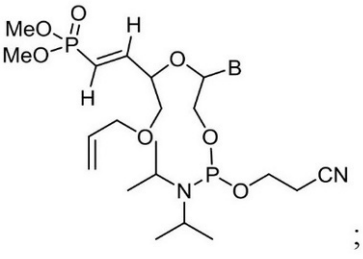
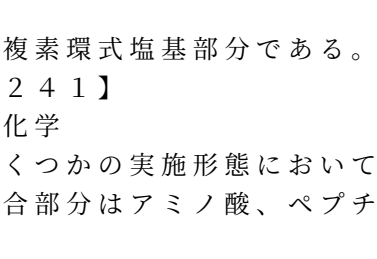
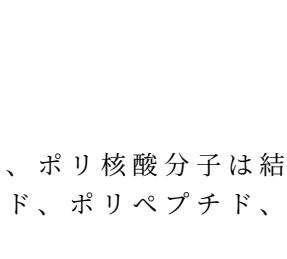
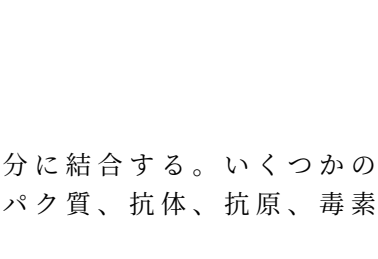
【０２３９】

１つの実施形態は、以下の群から選択されたオリゴヌクレオチドの合成に適している化合物を提供し：

【０２４０】

【化４５】


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,及び

;

Ｂは複素環式塩基部分である。

【０２４１】

結合化学

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は結合部分に結合する。いくつかの例では、結合部分はアミノ酸、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、抗原、毒素、ホル

モン、脂質、ヌクレオチド、ヌクレオシド、糖類、炭水化物、ポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールなどのポリマー、同様に、これらのクラスの物質のすべてのアナログあるいは誘導体を含む。結合部分の追加の例はさらに、コレステロール、リン脂質、ジアシルグリセロールおよびトリアシルグリセロール、脂肪酸、炭化水素（例えば、飽和、不飽和、または、置換を含む）、酵素基質、ビオチン、ジゴキシゲニン、および多糖類などのステロイドを含む。いくつかの例では、結合部分は、抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、ポリ核酸分子はさらにポリマーに結合し、随意にエンドソーム溶解性部分に結合する。

【０２４２】

いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は化学的なライゲーションプロセスによって結合部分に結合する。いくつかの例では、ポリ核酸分子は天然のライゲーションによって結合部分に結合する。いくつかの例では、結合は、Ｄａｗｓｏｎ，ｅｔ ａｌ．“Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｂｙ ｎａｔｉｖｅ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｌｉｇａｔｉｏｎ，” Ｓｃｉｅｎｃｅ １９９４，２６６，７７６－７７９；Ｄａｗｓｏｎ，ｅｔ ａｌ．”Ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅａｃｔｉｖｉｔｙ ｉｎ Ｎａｔｉｖｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｌｉｇａｔｉｏｎ ｔｈｒｏｕｇｈ ｔｈｅ Ｕｓｅ ｏｆ Ｔｈｉｏｌ Ａｄｄｉｔｉｖｅｓ，” Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１９９７，１１９，４３２５－４３２９；Ｈａｃｋｅｎｇ，ｅｔ ａｌ．”Ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｂｙ ｎａｔｉｖｅ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｌｉｇａｔｉｏｎ：Ｅｘｐａｎｄｅｄ ｓｃｏｐｅ ｂｙ ｕｓｉｎｇ ｓｔｒａｉｇｈｔ ｆｏｒｗａｒｄ ｍｅｔｈｏｄｏｌｏｇｙ．，” Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １９９９，９６，１００６８－１００７３；ｏｒ Ｗｕ，ｅｔ ａｌ．”Ｂｕｉｌｄｉｎｇ ｃｏｍｐｌｅｘ ｇｌｙｃｏｐｅｐｔｉｄｅｓ：Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ ａ ｃｙｓｔｅｉｎｅ－ｆｒｅｅ ｎａｔｉｖｅ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｌｉｇａｔｉｏｎ ｐｒｏｔｏｃｏｌ，” Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．２００６，４５，４１１６－４１２５．に記載されるとおりである。いくつかの例では、結合は米国特許第８，９３６，９１０号に記載されるとおりである。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、天然のライゲーション化学を介して、結合部分に部位特異的あるいは非特異的に結合する。

【０２４３】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、「トレースレス（ｔｒａｃｅｌｅｓｓ）」カップリング技術（ＰｈｉｌｏＣｈｅｍ）を利用する部位指定的な方法によって結合部分に結合する。いくつかの例では、「トレースレス」カップリング技術は、アルデヒド基を含むポリ核酸分子とその後結合される結合部分のＮ末端　１，２－アミノチオール基を利用する。（Ｃａｓｉ ｅｔ ａｌ．，“Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｔｒａｃｅｌｅｓｓ ｃｏｕｐｌｉｎｇ ｏｆ ｐｏｔｅｎｔ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ ｄｒｕｇｓ ｔｏ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ ｐｈａｒｍａｃｏｄｅｌｉｖｅｒｙ，”ＪＡＣＳ １３４（１３）：５８８７－５８９２（２０１２）を参照）

【０２４４】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、結合部分に導入された非天然のアミノ酸を利用する部位指定的な方法によって結合部分に結合する。いくつかの例では、非天然アミノ酸はｐ－アセチルフェニルアラニン（ｐＡｃＰｈｅ）を含む。いくつかの例では、ｐＡｃＰｈｅのケト基は、オキシム結合を形成するために、アルコキシ－アミン由来の結合部分に選択的に結合される。（Ａｘｕｐ ｅｔ ａｌ．，“Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ｕｓｉｎｇ ｕｎｎａｔｕｒａｌ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ，” ＰＮＡＳ １０９（４０）：１６１０１－１６１０６（２０１２）を参照）。

【０２４５】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、酵素触媒プロセスを利用する部位指定的な方法によって結合部分に結合する。いくつかの例では、部位指定的な方法はＳＭＡＲＴａｇ（商

標）技術（Ｒｅｄｗｏｏｄ）を利用する。いくつかの例では、ＳＭＡＲＴａｇ（商標）技術は、アルデヒドタグの存在下での酸化プロセスを介するホルミルグリシン生成酵素（ＦＧＥ）によるシステインからのホルミルグリシン（ＦＧｌｙ）残留物の生成、および、ヒドラジノ－Ｐｉｃｔｅｔ－Ｓｐｅｎｇｌｅｒ（ＨＩＰＳ）ライゲーションを介するアルキルヒドラジン機能化ポリ核酸分子へのＦＧｌｙのその後の結合を含む。（Ｗｕ ｅｔ ａｌ．，“Ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｐｒｏｄｕｃｅｄ ｉｎ ｍａｍｍａｌｉａｎ ｃｅｌｌｓ ｂｙ ｕｓｉｎｇ ｔｈｅ ｇｅｎｅｔｉｃａｌｌｙ ｅｎｃｏｄｅｄ ａｌｄｅｈｙｄｅ ｔａｇ，” ＰＮＡＳ １０６（９）：３０００－３００５（２００９）；Ａｇａｒｗａｌ，ｅｔ ａｌ．，“Ａ Ｐｉｃｔｅｔ－Ｓｐｅｎｇｌｅｒ ｌｉｇａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｐｒｏｔｅｉｎ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ，” ＰＮＡＳ １１０（１）：４６－５１（２０１３）を参照）

【０２４６】

いくつかの例では、酵素触媒プロセスは、微生物トランスグルタミナーゼ（ｍＴＧ）を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、微生物トランスグルタミナーゼ触媒プロセスを用いて結合部分に結合されるいくつかの例では、ｍＴＧは、認識配列内のグルタミンのアミド側鎖と機能化されたポリ核酸分子の一級アミンとの間の共有結合の形成を触媒する。いくつかの例では、ｍＴＧはストレプトマイセス・モバラエンシス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｍｏｂａｒｅｎｓｉｓ）から産生される。（Ｓｔｒｏｐ ｅｔ ａｌ．，“Ｌｏｃａｔｉｏｎ ｍａｔｔｅｒｓ：ｓｉｔｅ ｏｆ ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ｍｏｄｕｌａｔｅｓ ｓｔａｂｉｌｉｔｙ ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ，”Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２０（２） １６１－１６７（２０１３）を参照）

【０２４７】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、配列特異的なトランスペプチダーゼを利用するＰＣＴ国際公開公報第ＷＯ２０１４／１４０３１７号に記載されるような方法によって結合部分に結合する。

【０２４８】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、米国特許公開公報第２０１５／０１０５５３９号および第２０１５／０１０５５４０号に記載されるような方法によって結合部分に結合する。

【０２４９】

結合部分

いくつかの実施形態において、結合部分Ａはポリペプチドである。いくつかの例では、ポリペプチドは、抗体またはそのそのフラグメントである。場合によっては、フラグメントは結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、マウス抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、$F(ab')_3$フラグメント、単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ビス－ｓｃＦｖ$(scFv)_2$、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボディ、三重特異性抗体、四重特異性抗体、ジスルフィド安定化Ｆｖタンパク質（ｄｓＦｖ）、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、Ｉｇ ＮＡＲ、ラクダ科抗体またはその結合フラグメント、二重特異性抗体またはその結合フラグメント、あるいはその化学修飾された誘導体を含む。

【０２５０】

いくつかの例では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、Ａは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、マウス抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、$F(ab')_3$フラグメント、単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ビス－ｓｃＦｖ$(scFv)_2$、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボデ

ィ、三重特異性抗体、四重特異性抗体、ジスルフィド安定化Ｆｖタンパク質（「ｄｓＦｖ」）、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、Ｉｇ　ＮＡＲ、ラクダ科抗体またはその結合フラグメント、二重特異性抗体またはその結合フラグメント、あるいはその化学修飾された誘導体である。いくつかの例では、Ａはヒト化抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、Ａはマウス抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、Ａはキメラ抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、Ａはモノクローナル抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、Ａは一価Ｆａｂ’である。いくつかの例では、Ａは二価$Ｆａｂ_{2}$である。いくつかの例では、Ａは単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）である。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、結合部分Ａは、二重特異性抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、二重特異性抗体は三機能性抗体あるいは二重特異性ミニ抗体である。場合によっては、二重特異性抗体は三機能性抗体である。いくつかの例では、三機能性抗体は、２つの異なる抗原のための結合部位を含む完全長のモノクローナル抗体である。例示的な三機能性抗体は、カツマキソマブ（ＥｐＣＡＭとＣＤ３を標的とする；Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍａ）、エルツマキソマブ（ＨＥＲ２／ｎｅｕ／ＣＤ３を標的とする；Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍ）、リンフォムン（ｌｙｍｐｈｏｍｕｎ）ＦＢＴＡ０５（ＣＤ２０／ＣＤ３を標的とする；Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍ）、ＲＧ７２２１（ＲＯ５５２０９８５；アンジオポエチン２／ＶＥＧＦを標的とする；Ｒｏｃｈｅ）、ＲＧ７５９７（Ｈｅｒ１／Ｈｅｒ３を標的とする；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、ＭＭ１４１（ＩＧＦ１Ｒ／Ｈｅｒ３を標的とする；Ｍｅｒｒｉｍａｃｋ）、ＡＢＴ１２２（ＴＮＦα／ＩＬ１７を標的とする；Ａｂｂｖｉｅ）、ＡＢＴ９８１（ＩＬ１α／ＩＬ１βを標的とする；Ａｂｂｏｔｔ）、ＬＹ３１６４５３０（Ｈｅｒ１／ｃＭＥＴを標的とする；Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、および、ＴＲＢＳ０７（エクトマブ（Ｅｋｔｏｍａｂ）；ＧＤ２／ＣＤ３を標的とする；Ｔｒｉｏｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｇｍｂｈ）を含む。さらなる例示的な三機能性抗体は、Ｆ－ｓｔａｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｌｔｄ．からの$ｍＡｂ^{2}$を含む。いくつかの例では、Ａは二重特異性三機能性抗体である。いくつかの実施形態において、Ａは以下から選択された二重特異性三機能性抗体である：カツマキソマブ（ＥｐＣＡＭとＣＤ３を標的とする；Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍａ）、エルツマキソマブ（ＨＥＲ２／ｎｅｕ／ＣＤ３を標的とする；Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍ）、リンフォムン（ｌｙｍｐｈｏｍｕｎ）ＦＢＴＡ０５（ＣＤ２０／ＣＤ３を標的とする；Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ／Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍ）、ＲＧ７２２１（ＲＯ５５２０９８５；アンジオポエチン　２／ＶＥＧＦを標的とする；Ｒｏｃｈｅ）、ＲＧ７５９７（Ｈｅｒ１／Ｈｅｒ３を標的とする；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、ＭＭ１４１（ＩＧＦ１Ｒ／Ｈｅｒ３を標的とする；Ｍｅｒｒｉｍａｃｋ）、ＡＢＴ１２２（ＴＮＦα／ＩＬ１７を標的とする；Ａｂｂｖｉｅ）、ＡＢＴ９８１（ＩＬ１α／ＩＬ１βを標的とする；Ａｂｂｏｔｔ）、ＬＹ３１６４５３０（Ｈｅｒ１／ｃＭＥＴを標的とする；Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、ＴＲＢＳ０７（エクトマブ（Ｅｋｔｏｍａｂ）；ＧＤ２／ＣＤ３を標的とする；Ｔｒｉｏｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｇｍｂｈ）、および、Ｆ－ｓｔａｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｌｔｄ．からの$ｍＡｂ^{2}$。

【０２５２】

場合によっては、二重特異性抗体は二重特異性ミニ抗体である。いくつかの例では、二重特異性ミニ抗体は、二価$Ｆａｂ_{2}$、$Ｆ（ａｂ）’_{3}$フラグメント、ビス－ｓｃＦｖ$（ｓｃＦｖ）_{2}$、ダイアボディ、ミニボディ、三重特異性抗体、四重特異性抗体、あるいは二重特異性Ｔ細胞エンゲージャー（ＢｉＴＥ）を含む。いくつかの実施形態において、二重特異性Ｔ細胞エンゲージャーは、２つのｓｃＦｖｓが２つの異なる抗原のエピトープを標的とする２つの単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖｓ）を含む融合タンパク質である。例示的な二重特異性ミニ抗体は、限定されないが、以下を含む：ＤＡＲＴ（二重親和性再標的

プラットフォーム；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ）、ブリナツモマブ（ＭＴ１０３あるいはＡＭＧ１０３；ＣＤ１９／ＣＤ３を標的とする；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ）、ＭＴ１１１（ＣＥＡ／ＣＤ３を標的とする；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ／Ａｍｅｇｅｎ）、ＭＴ１１２（ＢＡＹ２０１０１１２；ＰＳＭＡ／ＣＤ３を標的とする；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ／Ｂａｙｅｒ）、ＭＴ１１０（ＡＭＧ　１１０；ＥＰＣＡＭ／ＣＤ３を標的とする；Ａｍｇｅｎ／Ｍｉｃｒｏｍｅｔ）、ＭＧＤ００６（ＣＤ１２３／ＣＤ３を標的とする；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ）、ＭＧＤ００７（ＧＰＡ３３／ＣＤ３を標的とする；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ）、ＢＩ１０３４０２０（β－アミロイド上の２つの異なるエピトープを標的とする；Ａｂｌｙｎｘ）、ＡＬＸ０７６１（ＩＬ１７Ａ／ＩＬ１７Ｆを標的とする；Ａｂｌｙｎｘ）、ＴＦ２（ＣＥＡ／ヘプテンを標的とする；Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）、ＩＬ－１７／ＩＬ－３４　ｂｉＡｂ（ＢＭＳ）、ＡＦＭ１３（ＣＤ３０／ＣＤ１６を標的とする；Ａｆｆｉｍｅｄ）、ＡＦＭ１１（ＣＤ１９／ＣＤ３を標的とする；Ａｆｆｉｍｅｄ）、およびドメイン抗体（Ｄｏｍａｎｔｉｓ／ＧＳＫからのｄＡｂｓ）。

【０２５３】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは二重特異性ミニ抗体である。いくつかの例では、Ａは二重特異性Ｆａｂ２である。いくつかの例では、Ａは二重特異性Ｆ（ａｂ）’$_3$フラグメントである。場合によっては、Ａは二重特異性ビス－ｓｃＦｖである。場合によっては、Ａは二重特異性（ｓｃＦｖ）であるいくつかの実施形態では、Ａは二重特異性ダイアボディである。いくつかの実施形態では、Ａは二重特異性ミニボディである。いくつかの実施形態では、Ａは二重特異性の三重特異性抗体である。他の実施形態では、Ａは二重特異性の四重特異性抗体である。他の実施形態では、Ａは二重特異性のＴ細胞エンゲージャー（ＢｉＴＥ）である。さらなる実施形態において、Ａは以下から選択された二重特異性ミニ抗体である：ＤＡＲＴ（二重親和性再標的プラットフォーム；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ）、ブリナツモマブ（ＭＴ１０３あるいはＡＭＧ１０３；ＣＤ１９／ＣＤ３を標的とする；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ）、ＭＴ１１１（ＣＥＡ／ＣＤ３を標的とする；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ／Ａｍｅｇｅｎ）、ＭＴ１１２（ＢＡＹ２０１０１１２；ＰＳＭＡ／ＣＤ３を標的とする；Ｍｉｃｒｏｍｅｔ／Ｂａｙｅｒ）、ＭＴ１１０（ＡＭＧ　１１０；ＥＰＣＡＭ／ＣＤ３を標的とする；Ａｍｇｅｎ／Ｍｉｃｒｏｍｅｔ）、ＭＧＤ００６（ＣＤ１２３／ＣＤ３を標的とする；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ）、ＭＧＤ００７（ＧＰＡ３３／ＣＤ３を標的とする；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ）、ＢＩ１０３４０２０（β－アミロイド上の２つの異なるエピトープを標的とする；Ａｂｌｙｎｘ）、ＡＬＸ０７６１（ＩＬ１７Ａ／ＩＬ１７Ｆを標的とする；Ａｂｌｙｎｘ）、ＴＦ２（ＣＥＡ／ヘプテンを標的とする；Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）、ＩＬ－１７／ＩＬ－３４　ｂｉＡｂ（ＢＭＳ）、ＡＦＭ１３（ＣＤ３０／ＣＤ１６を標的とする；Ａｆｆｉｍｅｄ）、ＡＦＭ１１（ＣＤ１９／ＣＤ３を標的とする；Ａｆｆｉｍｅｄ）、およびドメイン抗体（Ｄｏｍａｎｔｉｓ／ＧＳＫからのｄＡｂｓ）。

【０２５４】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは三重特異性抗体である。いくつかの例では、三重特異性抗体はＦ（ａｂ）’$_3$フラグメントあるいは三重特異性抗体を含む。いくつかの例では、Ａは三重特異性Ｆ（ａｂ）’$_3$フラグメントである。場合によっては、Ａは三重特異性抗体である。いくつかの実施形態において、Ａは、Ｄｉｍａｓ、ｅｔ　ａｌ．，“Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　ｏｆ　ａ　ｔｒｉｓｐｅｃｉｆｉｃ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｄｅｓｉｇｎｅｄ　ｔｏ　ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓｌｙ　ａｎｄ　ｅｆｆｉｃｉｅｎｔｌｙ　ｔａｒｇｅｔ　ｔｈｒｅｅ　ｄｉｆｆｅｒｅｎｔ　ａｎｔｉｇｅｎｓ　ｏｎ　ｔｕｍｏｒ　ｃｅｌｌｓ，”　Ｍｏｌ．　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃｓ，１２（９）：３４９０－３５０１（２０１５）に記載されるような三重特異性抗体である。

【０２５５】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、細胞表面タンパク質を認識する抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、細胞表面タンパク質は癌細胞によって発現される抗原である。例示的な癌抗原は、限定されないが、アルファフェトプロテイ

ン、ＡＳＬＧ６５９、Ｂ７－Ｈ３、ＢＡＦＦ－Ｒ、ブレビカン、ＣＡ１２５（ＭＵＣ１６）、ＣＡ１５－３、ＣＡ１９－９、癌胎児抗原（ＣＥＡ）、ＣＡ２４２、ＣＲＩＰＴＯ（ＣＲ、ＣＲ１、ＣＲＧＦ、ＣＲＩＰＴＯ、ＴＤＧＦ１、奇形癌由来成長因子）、ＣＴＬＡ－４、ＣＸＣＲ５、Ｅ１６（ＬＡＴ１、ＳＬＣ７Ａ５）、ＦｃＲＨ２（ＩＦＧＰ４、ＩＲＴＡ４、ＳＰＡＰ１Ａ（ＳＨ２ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質１ａ）、ＳＰＡＰ１Ｂ、ＳＰＡＰ１Ｃ）、上皮成長因子、ＥＴＢＲ、Ｆｃ受容体様タンパク質（ＦＣＲＨ１）、ＧＥＤＡ、ＨＬＡ－ＤＯＢ（ＭＨＣクラスＩＩ分子（Ｉａ抗原）のβサブユニット）、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ＩＣＯＳ、ＩＬ－２受容体、ＩＬ２０Ｒα、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連２（ＩＲＴＡ２）、Ｌ６、Ｌｅｗｉｓ　Ｙ、Ｌｅｗｉｓ　Ｘ、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－２、ＭＡＧＥ－３、ＭＡＧＥ　４、ＭＡＲＴ１、メソテリン、ＭＤＰ、ＭＰＦ（ＳＭＲ、ＭＳＬＮ）、ＭＣＰ１（ＣＣＬ２）、マクロファージ遊走阻止因子（ＭＩＦ）、ＭＰＧ、ＭＳＧ７８３、ムチン、ＭＵＣ１－ＫＬＨ、Ｎａｐｉ３ｂ（ＳＬＣ３４Ａ２）、ネクチン－４、Ｎｅｕ癌遺伝子産物、ＮＣＡ、胎盤アルカリホスファターゼ、前立腺特異的膜抗原（ＰＭＳＡ）、前立腺酸性フォスファターゼ、ＰＳＣＡ　ｈｌｇ、ｐ９７、プリン受容体Ｐ２Ｘリガンド開口型イオンチャネル５（Ｐ２Ｘ５）、ＬＹ６４（リンパ球抗原９６（ＲＰ１０５）、ｇｐ１００、Ｐ２１、前立腺の６つの膜貫通上皮抗原（ＳＴＥＡＰ１）、ＳＴＥＡＰ２、Ｓｅｍａ　５ｂ、腫瘍関連糖タンパク質７２（ＴＡＧ－７２）、ＴｒｐＭ４（ＢＲ２２４５０、ＦＬＪ２００４１、ＴＲＰＭ４、ＴＲＰＭ４Ｂ、一過性受容体電位陽イオンチャネル、サブファミリーＭ、メンバー４）などを含む。

【０２５６】

いくつかの例では、細胞表面タンパク質は、分化（ＣＤ）細胞表面マーカーのクラスタを含む。例示的なＣＤ細胞表面マーカーは限定されないが、ＣＤ１、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ６、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１０、ＣＤ１１ａ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１１ｃ、ＣＤ１１ｄ、ＣＤｗ１２、ＣＤ１３、ＣＤ１４、ＣＤ１５、ＣＤ１５ｓ、ＣＤ１６、ＣＤｗ１７、ＣＤ１８、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ２６、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ２９、ＣＤ３０、ＣＤ３１、ＣＤ３２、ＣＤ３３、ＣＤ３４、ＣＤ３５、ＣＤ３６、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ３９、ＣＤ４０、ＣＤ４１、ＣＤ４２、ＣＤ４３、ＣＤ４４、ＣＤ４５、ＣＤ４５ＲＯ、ＣＤ４５ＲＡ、ＣＤ４５ＲＢ、ＣＤ４６、ＣＤ４７、ＣＤ４８、ＣＤ４９ａ、ＣＤ４９ｂ、ＣＤ４９ｃ、ＣＤ４９ｄ、ＣＤ４９ｅ、ＣＤ４９ｆ、ＣＤ５０、ＣＤ５１、ＣＤ５２、ＣＤ５３、ＣＤ５４、ＣＤ５５、ＣＤ５６、ＣＤ５７、ＣＤ５８、ＣＤ５９、ＣＤｗ６０、ＣＤ６１、ＣＤ６２Ｅ、ＣＤ６２Ｌ（Ｌ－セレクチン）、ＣＤ６２Ｐ、ＣＤ６３、ＣＤ６４、ＣＤ６５、ＣＤ６６ａ、ＣＤ６６ｂ、ＣＤ６６ｃ、ＣＤ６６ｄ、ＣＤ６６ｅ、ＣＤ７９（例えば、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ）、ＣＤ９０、ＣＤ９５（Ｆａｓ）、ＣＤ１０３、ＣＤ１０４、ＣＤ１２５（ＩＬ５ＲＡ）、ＣＤ１３４（ＯＸ４０）、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）、ＣＤ１５２（ＣＴＬＡ－４）、ＣＤ２２１、ＣＤ２７４、ＣＤ２７９（ＰＤ－１）、ＣＤ３１９（ＳＬＡＭＦ７）、ＣＤ３２６（ＥｐＣＡＭ）などを含む。

【０２５７】

いくつかの例では、結合部分Ａは、癌抗原を認識する抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、結合部分Ａは、アルファフェトプロテイン、ＡＳＬＧ６５９、Ｂ７－Ｈ３、ＢＡＦＦ－Ｒ、ブレビカン、ＣＡ１２５（ＭＵＣ１６）、ＣＡ１５－３、ＣＡ１９－９、癌胎児抗原（ＣＥＡ）、ＣＡ２４２、ＣＲＩＰＴＯ（ＣＲ、ＣＲ１、ＣＲＧＦ、ＣＲＩＰＴＯ、ＴＤＧＦ１、奇形癌由来成長因子）、ＣＴＬＡ－４、ＣＸＣＲ５、Ｅ１６（ＬＡＴ１、ＳＬＣ７Ａ５）、ＦｃＲＨ２（ＩＦＧＰ４、ＩＲＴＡ４、ＳＰＡＰ１Ａ（ＳＨ２ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質１ａ）、ＳＰＡＰ１Ｂ、ＳＰＡＰ１Ｃ）、上皮成長因子、ＥＴＢＲ、Ｆｃ受容体様タンパク質（ＦＣＲＨ１）、ＧＥＤＡ、ＨＬＡ－ＤＯＢ（ＭＨＣクラスＩＩ分子（Ｉａ抗原）のβサブユニット）、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ＩＣＯＳ、ＩＬ－２受容体、ＩＬ２０Ｒα、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連２（ＩＲＴＡ２）、Ｌ６、Ｌｅｗｉｓ　Ｙ、Ｌｅｗｉｓ　Ｘ、

ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－２、ＭＡＧＥ－３、ＭＡＧＥ　４、ＭＡＲＴ１、メソテリン、ＭＣＰ１（ＣＣＬ２）、ＭＤＰ、マクロファージ遊走阻止因子（ＭＩＦ）、ＭＰＦ（ＳＭＲ、ＭＳＬＮ）、ＭＰＧ、ＭＳＧ７８３、ムチン、ＭＵＣ１－ＫＬＨ、Ｎａｐｉ３ｂ（ＳＬＣ３４Ａ２）、ネクチン－４、Ｎｅｕ癌遺伝子産物、ＮＣＡ、胎盤アルカリホスファターゼ、前立腺特異的膜抗原ＰＭＳＡ）、前立腺酸性フォスファターゼ、ＰＳＣＡ　ｈｌｇ、ｐ９７、プリン受容体Ｐ２Ｘリガンド開口型イオンチャネル５（Ｐ２Ｘ５）、ＬＹ６４（リンパ球抗原９６（ＲＰ１０５）、ｇｐ１００、Ｐ２１、前立腺の６つの膜貫通上皮抗原（ＳＴＥＡＰ１）、ＳＴＥＡＰ２、Ｓｅｍａ　５ｂ、腫瘍関連糖タンパク質７２（ＴＡＧ－７２）、ＴｒｐＭ４（ＢＲ２２４５０、ＦＬＪ２００４１、ＴＲＰＭ４、ＴＲＰＭ４Ｂ、一過性受容体電位陽イオンチャネル、サブファミリーＭ、メンバー４）、あるいはこれらの組み合わせを認識する、抗体またはその結合フラグメントである。

【０２５８】

いくつかの例では、結合部分Ａは、ＣＤ細胞表面マーカーを認識する、抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、結合部分Ａは、ＣＤ１、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ６、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１０、ＣＤ１１ａ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１１ｃ、ＣＤ１１ｄ、ＣＤｗ１２、ＣＤ１３、ＣＤ１４、ＣＤ１５、ＣＤ１５ｓ、ＣＤ１６、ＣＤｗ１７、ＣＤ１８、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ２６、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ２９、ＣＤ３０、ＣＤ３１、ＣＤ３２、ＣＤ３３、ＣＤ３４、ＣＤ３５、ＣＤ３６、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ３９、ＣＤ４０、ＣＤ４１、ＣＤ４２、ＣＤ４３、ＣＤ４４、ＣＤ４５、ＣＤ４５ＲＯ、ＣＤ４５ＲＡ、ＣＤ４５ＲＢ、ＣＤ４６、ＣＤ４７、ＣＤ４８、ＣＤ４９ａ、ＣＤ４９ｂ、ＣＤ４９ｃ、ＣＤ４９ｄ、ＣＤ４９ｅ、ＣＤ４９ｆ、ＣＤ５０、ＣＤ５１、ＣＤ５２、ＣＤ５３、ＣＤ５４、ＣＤ５５、ＣＤ５６、ＣＤ５７、ＣＤ５８、ＣＤ５９、ＣＤｗ６０、ＣＤ６１、ＣＤ６２Ｅ、ＣＤ６２Ｌ（Ｌ－セレクチン）、ＣＤ６２Ｐ、ＣＤ６３、ＣＤ６４、ＣＤ６５、ＣＤ６６ａ、ＣＤ６６ｂ、ＣＤ６６ｃ、ＣＤ６６ｄ、ＣＤ６６ｅ、ＣＤ７９（例えば、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ）、ＣＤ９０、ＣＤ９５（Ｆａｓ）、ＣＤ１０３、ＣＤ１０４、ＣＤ１２５（ＩＬ５ＲＡ）、ＣＤ１３４（ＯＸ４０）、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）、ＣＤ１５２（ＣＴＬＡ－４）、ＣＤ２２１、ＣＤ２７４、ＣＤ２７９（ＰＤ－１）、ＣＤ３１９（ＳＬＡＭＦ７）、ＣＤ３２６（ＥｐＣＡＭ）、またはこれらの組み合わせを認識する、抗体またはその結合フラグメントである、

【０２５９】

いくつかの実施形態において、それの抗体または結合フラグメントは、ザルツムマブ（ＨｕＭａｘ－ＥＦＧｒ、Ｇｅｎｍａｂ）、アバゴボマブ（Ｍｅｎａｒｉｎｉ）、アビツズマ（Ｍｅｒｃｋ）、アデカツムマブ（ＭＴ２０１）、アラシズマブペゴール、アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ（登録商標）、ＭａｂＣａｍｐａｔｈあるいはＣａｍｐａｔｈ－１Ｈ；Ｌｅｕｋｏｓｉｔｅ）、ＡｌｌｏＭｕｎｅ（ＢｉｏＴｒａｎｓｐｌａｎｔ）、アマツキシマブ（Ｍｏｒｐｈｏｔｅｋ　Ｉｎｃ．）、抗ＶＥＧＦ（Ｇｅｎｅｔｅｃｈ）、アナツモマブマフェナトックス、ａｐｏｌｉｚｕｍａｂ（ｈｕ１Ｄ１０）、アスクリンバクマブ（Ｐｆｉｚｅｒ　Ｉｎｃ．）、アテゾリズマブ（ＭＰＤＬ３２８０Ａ；　Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、Ｂ４３．１３（ＯｖａＲｅｘ、ＡｌｔａＲｅｘ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、バシリキシマブ（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ベリムマブ（Ｂｅｎｌｙｓｔａ（登録商標）、ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ブリナツモマブ（Ｂｌｉｎｃｙｔｏ、ＡＭＧ１０３；　Ａｍｇｅｎ）、ＢＥＣ２（ＩｍＧｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ．）、カルルマブ（Ｊａｎｓｓｅｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）、カツマキソマブ（Ｒｅｍｏｖａｂ、Ｔｒｉｏｎ　Ｐｈａｒｍａ）、ＣＥＡｃｉｄｅ（Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）、セツキシマブ（Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標）、ＩｍＣｌｏｎｅ）、シタツズマブ・ボガトクス（ＶＢ６－８４５）、シズツムマブ（ＩＭＣ－Ａ１２、ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ．）、コナツムマブ（ＡＭＧ　６５５、Ａｍｇｅｎ）、ダセツズマブ（ＳＧＮ－４０、ｈｕＳ２Ｃ６；Ｓｅａｔｔｌｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、ダラツ

ムマブ（Ｄａｒｚａｌｅｘ（登録商標）、Ｊａｎｓｓｅｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ）、デツモマブ、ドロジツマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、デュルバルマブ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、デュシギツマブ（ｄｕｓｉｇｉｔｕｍａｂ）（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、エドレコロマブ（ＭＡｂ１７１Ａ、Ｐａｎｏｒｅｘ、Ｇｌａｘｏ Ｗｅｌｌｃｏｍｅ）、エロツズマブ（Ｅｍｐｌｉｃｉｔｉ（商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、エミベツズマブ（Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ）、エナバツズマブ（Ｆａｃｅｔ Ｂｉｏｔｅｃｈ Ｃｏｒｐ.）、エンフォルツマブベドチン（Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｉｎｃ.）、エノブリツズマブ（ＭＧＡ２７１、ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ，Ｉｎｃ.）、エンシツズマブ（ｅｎｓｉｔｕｘｕｍａｂ）（Ｎｅｏｇｅｎｉｘ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ， Ｉｎｃ.）、エプラツズマブ（ＬｙｍｐｈｏＣｉｄｅ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ，Ｉｎｃ.）、エルツマキソマブ（Ｒｅｘｏｍｕｎ（登録商標）、Ｔｒｉｏｎ Ｐｈａｒｍａ）、エタラシズマブ（Ａｂｅｇｒｉｎ、ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、ファーレツズマブ（ＭＯＲＡｂ－００３、Ｍｏｒｐｈｏｔｅｋ Ｉｎｃ.）、ＦＢＴＡ０５（Ｌｙｍｐｈｏｍｕｎ、Ｔｒｉｏｎ Ｐｈａｒｍａ）、フィクラツズマブ（ＡＶＥＯ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、フィギツムマブ（ＣＰ－７５１８７１、Ｐｆｉｚｅｒ）、フランボツマブ（ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ）、フレゾリムマブ（ＧＣ１００８、Ａａｎｏｆｉ－Ａｖｅｎｔｉｓ）、フツキシマブ、グラキシマブ（ｇｌａｘｉｍａｂ）、ガニツマブ（Ａｍｇｅｎ）、ジレンツキシマブ（Ｒｅｎｃａｒｅｘ（登録商標）、Ｗｉｌｅｘ ＡＧ）、ＩＭＡＢ３６２（Ｃｌａｕｄｉｘｉｍａｂ、Ｇａｎｙｍｅｄ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ＡＧ）、イマルマブ（Ｂａｘａｌｔａ）、ＩＭＣ－１Ｃ１１（ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ）、ＩＭＣ－Ｃ２２５（ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ.）、イムガツズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、インテツムマブ（Ｃｅｎｔｏｃｏｒ社）、イピリムマブ（Ｙｅｒｖｏｙ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、イラツムマブ（Ｍｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ.）、イサツキシマブ（ＳＡＲ６５０９８４、Ｓａｎｏｆｉ－Ａｖｅｎｔｉｓ）、ラベツズマブ（ＣＥＡ－ＣＩＤＥ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）、レクサツムマブ（ＥＴＲ２－ＳＴ０１、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、リンツズマブ（ＳＧＮ－３３、Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）、ｌｕｃａｔｕｍｕｍａｂ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ルミリキシマブ、マパツズマブ（ＨＧＳ－ＥＴＲ１、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｏｍｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）、マツズマブ（ＥＭＤ ７２０００、Ｍｅｒｃｋ）、ミラツズマブ（ｈＬＬ１、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ，Ｉｎｃ.）、ミツモマブ（ＢＥＣ－２、ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ）、ナルナツマブ（ｎａｒｎａｔｕｍａｂ）（ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ）、ネシツムマブ（Ｐｏｒｔｒａｚｚａ（商標）、Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ）、ネスバクマブ（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ｎｉｍｏｔｕｚｕｍａｂ（ｈ－Ｒ３、ＢＩＯＭＡｂ ＥＧＦＲ、ＴｈｅｒａＣＩＭ、Ｔｈｅｒａｌｏｃ、あるいはＣＩＭＡｈｅｒ； Ｂｉｏｔｅｃｈ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏ.）、ニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、オビヌツズマブ（ＧａｚｙｖａまたはＧａｚｙｖａｒｏ；Ｈｏｆｆｍａｎｎ－Ｌａ Ｒｏｃｈｅ）、オカラツズマブ（ＡＭＥ－１３３ｖ、ＬＹ２４６９２９８；Ｍｅｎｔｒｉｋ Ｂｉｏｔｅｃｈ，ＬＬＣ）、オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ（登録商標）、Ｇｅｎｍａｂ）、オナルツズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、オンツキシズマブ（Ｏｎｔｕｘｉｚｕｍａｂ）（Ｍｏｒｐｈｏｔｅｋ Ｉｎｃ.）、オレゴボマブ（ＯｖａＲｅｘ（登録商標）（ＡｌｔａＲｅｘ，Ｃｏｒｐ.）、オトレルツズマブ（ｏｔｌｅｒｔｕｚｕｍａｂ）（Ｅｍｅｒｇｅｎｔ ＢｉｏＳｏｌｕｔｉｏｎｓ）、パニツムマブ（ＡＢＸ－ＥＧＦ、Ａｍｇｅｎ）、パンコマブ（ｐａｎｋｏｍａｂ）（Ｇｌｙｃｏｔｏｐｅ ＧＭＢＨ）、パルサツズマブ（ｐａｒｓａｔｕｚｕｍａｂ）（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、パトリツマブ、ペンブロリズマブ（Ｋｅｙｔｒｕｄａ（登録商標）、Ｍｅｒｃｋ）、ペムツモマブ（ｐｅｍｔｕｍｏｍａｂ）（Ｔｈｅｒａｇｙｎ、Ａｎｔｉｓｏｍａ）、ペルツズマブ（Ｐｅｒｊｅｔａ、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ピディリズマブ（ＣＴ－０１１、Ｍｅｄｉｖａｔｉｏｎ）、ポラツズマブベドチン（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、プリツムマブ、ラコツモマブ（Ｖａｘｉｒａ（登録商標）、Ｒｅｃ

ｏｍｂｉｏ）、ラムシルマブ（Ｃｙｒａｍｚａ（登録商標）、ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．）、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ロバツムマブ（Ｓｃｈｅｒｉｎｇ－Ｐｌｏｕｇｈ）、セリバントマブ（Ｓａｎｏｆｉ／Ｍｅｒｒｉｍａｃｋ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．）、シブロツズマブ（ｓｉｂｒｏｔｕｚｕｍａｂ）、シルツキシマブ（Ｓｙｌｖａｎｔ（商標）、Ｊａｎｓｓｅｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ）、Ｓｍａｒｔ ＭＩ９５（Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓ，Ｉｎｃ．）、Ｓｍａｒｔ ＩＤ１０（Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｓｉｇｎ Ｌａｂｓ，Ｉｎｃ．）、タバルマブ（ＬＹ２１２７３９９、Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ）、タプリツモマブペプトクス、テナツモマブ（ｔｅｎａｔｕｍｏｍａｂ）、テプロツムマブ（Ｒｏｃｈｅ）、テツロマブ（ｔｅｔｕｌｏｍａｂ）、ＴＧＮ１４１２（ＣＤ２８－ＳｕｐｅｒＭＡＢあるいはＴＡＢ０８）、ティガツズマブ（ＣＤ－１００８、Ｄａｉｉｃｈｉ Ｓａｎｋｙｏ）、トシツモマブ、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、トレメリムマブ（ＣＰ－６７２，２０６；Ｐｆｉｚｅｒ）、ツコツズマブセルモロイキン（ＥＭＤ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ウブリツキシマブ、ウレルマブ（ＢＭＳ－６６３５１３、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、ボロシキシマブ（Ｍ２００、Ｂｉｏｇｅｎ Ｉｄｅｃ）、ザツキシマブ（ｚａｔｕｘｉｍａｂ）などを含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、ザルツムマブ（ＨｕＭａｘ－ＥＦＧｒ、Ｇｅｎｍａｂ）、アバゴボマブ（Ｍｅｎａｒｉｎｉ）、アビツズマ（Ｍｅｒｃｋ）、アデカツムマブ（ＭＴ２０１）、アラシズマブペゴール、アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ（登録商標）、ＭａｂＣａｍｐａｔｈあるいはＣａｍｐａｔｈ－１Ｈ；Ｌｅｕｋｏｓｉｔｅ）、ＡｌｌｏＭｕｎｅ（ＢｉｏＴｒａｎｓｐｌａｎｔ）、アマツキシマブ（Ｍｏｒｐｈｏｔｅｋ Ｉｎｃ．）、抗ＶＥＧＦ（Ｇｅｎｅｔｅｃｈ）、アナツモマブマフェナトックス、ａｐｏｌｉｚｕｍａｂ（ｈｕ１Ｄ１０）、アスクリンバクマブ（Ｐｆｉｚｅｒ Ｉｎｃ．）、アテゾリズマブ（ＭＰＤＬ３２８０Ａ； Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、Ｂ４３．１３（ＯｖａＲｅｘ、ＡｌｔａＲｅｘ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）、バシリキシマブ（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ベリムマブ（Ｂｅｎｌｙｓｔａ（登録商標）、ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ブリナツモマブ（Ｂｌｉｎｃｙｔｏ、ＡＭＧ１０３； Ａｍｇｅｎ）、ＢＥＣ２（ＩｍＧｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．）、カルルマブ（Ｊａｎｓｓｅｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ）、カツマキソマブ（Ｒｅｍｏｖａｂ、Ｔｒｉｏｎ Ｐｈａｒｍａ）、ＣＥＡｃｉｄｅ（Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）、セツキシマブ（Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標）、ＩｍＣｌｏｎｅ）、シタツズマブ・ボガトクス（ＶＢ６－８４５）、シズツムマブ（ＩＭＣ－Ａ１２、ＩｍＣｌｏｎｅ Ｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．）、コナツムマブ（ＡＭＧ ６５５、Ａｍｇｅｎ）、ダセツズマブ（ＳＧＮ－４０、ｈｕＳ２Ｃ６；Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、ダラツムマブ（Ｄａｒｚａｌｅｘ（登録商標）、Ｊａｎｓｓｅｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ）、デツモマブ、ドロジツマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、デュルバルマブ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、デュシギツマブ（ｄｕｓｉｇｉｔｕｍａｂ）（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、エドレコロマブ（ＭＡｂ１７１Ａ、Ｐａｎｏｒｅｘ、Ｇｌａｘｏ Ｗｅｌｌｃｏｍｅ）、エロツズマブ（Ｅｍｐｌｉｃｉｔｉ（商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、エミベツズマブ（Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ）、エナバツズマブ（Ｆａｃｅｔ Ｂｉｏｔｅｃｈ Ｃｏｒｐ．）、エンフォルツマブベドチン（Ｓｅａｔｔｌｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、エノブリツズマブ（ＭＧＡ２７１、ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、エンシツズマブ（ｅｎｓｉｔｕｘｕｍａｂ）（Ｎｅｏｇｅｎｉｘ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ， Ｉｎｃ．）、エプラツズマブ（ＬｙｍｐｈｏＣｉｄｅ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、エルツマキソマブ（Ｒｅｘｏｍｕｎ（登録商標）、Ｔｒｉｏｎ Ｐｈａｒｍａ）、エタラシズマブ（Ａｂｅｇｒｉｎ、ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、ファーレツズマブ（ＭＯＲＡｂ－００３、Ｍｏｒｐｈｏｔｅｋ Ｉｎｃ．）、ＦＢＴＡ０５（Ｌｙｍｐｈｏｍｕｎ、Ｔｒｉｏｎ Ｐｈａｒｍａ）、フィクラツズマブ（ＡＶＥＯ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、フィギツムマブ（ＣＰ－７５１

８７１、Ｐｆｉｚｅｒ）、フランボツマブ（ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、フレゾリムマブ（ＧＣ１００８、Ａａｎｏｆｉ－Ａｖｅｎｔｉｓ）、フツキシマブ、グラキシマブ（ｇｌａｘｉｍａｂ）、ガニツマブ（Ａｍｇｅｎ）、ジレンツキシマブ（Ｒｅｎｃａｒｅｘ（登録商標）、Ｗｉｌｅｘ　ＡＧ）、ＩＭＡＢ３６２（Ｃｌａｕｄｉｘｉｍａｂ、Ｇａｎｙｍｅｄ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ　ＡＧ）、イマルマブ（Ｂａｘａｌｔａ）、ＩＭＣ－１Ｃ１１（ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、ＩＭＣ－Ｃ２２５（ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ．）、イムガツズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、インテツムマブ（Ｃｅｎｔｏｃｏｒ社）、イピリムマブ（Ｙｅｒｖｏｙ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、イラツムマブ（Ｍｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ．）、イサツキシマブ（ＳＡＲ６５０９８４、Ｓａｎｏｆｉ－Ａｖｅｎｔｉｓ）、ラベツズマブ（ＣＥＡ－ＣＩＤＥ、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ）、レクサツムマブ（ＥＴＲ２－ＳＴ０１、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、リンツズマブ（ＳＧＮ－３３、Ｓｅａｔｔｌｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ）、ｌｕｃａｔｕｍｕｍａｂ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ルミリキシマブ、マパツズマブ（ＨＧＳ－ＥＴＲ１、Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）、マツズマブ（ＥＭＤ　７２０００、Ｍｅｒｃｋ）、ミラツズマブ（ｈＬＬ１、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ，Ｉｎｃ．）、ミツモマブ（ＢＥＣ－２、ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、ナルナツマブ（ｎａｒｎａｔｕｍａｂ）（ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、ネシツムマブ（Ｐｏｒｔｒａｚｚａ（商標）、Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、ネスバクマブ（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ｎｉｍｏｔｕｚｕｍａｂ（ｈ－Ｒ３、ＢＩＯＭＡｂ　ＥＧＦＲ、ＴｈｅｒａＣＩＭ、Ｔｈｅｒａｌｏｃ、あるいはＣＩＭＡｈｅｒ；　Ｂｉｏｔｅｃｈ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｃｏ．）、ニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、オビヌツズマブ（ＧａｚｙｖａまたはＧａｚｙｖａｒｏ；Ｈｏｆｆｍａｎｎ－Ｌａ　Ｒｏｃｈｅ）、オカラツズマブ（ＡＭＥ－１３３ｖ、ＬＹ２４６９２９８；Ｍｅｎｔｒｉｋ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，ＬＬＣ）、オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ（登録商標）、Ｇｅｎｍａｂ）、オナルツズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、オンツキシズマブ（Ｏｎｔｕｘｉｚｕｍａｂ）（Ｍｏｒｐｈｏｔｅｋ　Ｉｎｃ．）、オレゴボマブ（ＯｖａＲｅｘ（登録商標）（ＡｌｔａＲｅｘ，Ｃｏｒｐ．）、オトレルツズマブ（ｏｔｌｅｒｔｕｚｕｍａｂ）（Ｅｍｅｒｇｅｎｔ　ＢｉｏＳｏｌｕｔｉｏｎｓ）、パニツムマブ（ＡＢＸ－ＥＧＦ、Ａｍｇｅｎ）、パンコマブ（ｐａｎｋｏｍａｂ）（Ｇｌｙｃｏｔｏｐｅ　ＧＭＢＨ）、パルサツズマブ（ｐａｒｓａｔｕｚｕｍａｂ）（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、パトリツマブ、ペンブロリズマブ（Ｋｅｙｔｒｕｄａ（登録商標）、Ｍｅｒｃｋ）、ペムツモマブ（ｐｅｍｔｕｍｏｍａｂ）（Ｔｈｅｒａｇｙｎ、Ａｎｔｉｓｏｍａ）、ペルツズマブ（Ｐｅｒｊｅｔａ、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ピディリズマブ（ＣＴ－０１１、Ｍｅｄｉｖａｔｉｏｎ）、ポラツズマブベドチン（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、プリツムマブ、ラコツモマブ（Ｖａｘｉｒａ（登録商標）、Ｒｅｃｏｍｂｉｏ）、ラムシルマブ（Ｃｙｒａｍｚａ（登録商標）、ＩｍＣｌｏｎｅ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ．）、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ロバツムマブ（Ｓｃｈｅｒｉｎｇ－Ｐｌｏｕｇｈ）、セリバントマブ（Ｓａｎｏｆｉ／Ｍｅｒｒｉｍａｃｋ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．）、シブロツズマブ（ｓｉｂｒｏｔｕｚｕｍａｂ）、シルツキシマブ（Ｓｙｌｖａｎｔ（商標）、Ｊａｎｓｓｅｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）、Ｓｍａｒｔ　ＭＩ９５（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄｅｓｉｇｎ　Ｌａｂｓ，　Ｉｎｃ．）、Ｓｍａｒｔ　ＩＤ１０（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄｅｓｉｇｎ　Ｌａｂｓ，　Ｉｎｃ．）、タバルマブ（ＬＹ２１２７３９９、Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、タプリツモマブペプトクス、テナツモマブ（ｔｅｎａｔｕｍｏｍａｂ）、テプロツムマブ（Ｒｏｃｈｅ）、テツロマブ（ｔｅｔｕｌｏｍａｂ）、ＴＧＮ１４１２（ＣＤ２８－ＳｕｐｅｒＭＡＢあるいはＴＡＢ０８）、ティガツズマブ（ＣＤ－１００８、Ｄａｉｉｃｈｉ　Ｓａｎｋｙｏ）、トシツモマブ、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、トレメリムマブ（ＣＰ－６７２，２０６；Ｐｆｉｚｅｒ）、ツコツズマブセルモロイキン（ＥＭＤ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ウブリツキシマブ、ウレルマブ（ＢＭＳ－６６３５１３、Ｂｒｉｓｔｏｌ

－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、ボロシキシマブ（Ｍ２００、Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、あるいはザツキシマブ（ｚａｔｕｘｉｍａｂ）を含む。いくつかの実施形態において、結合部分Ａはザルツムマブ（ＧｅｎｍａｂによるＨｕＭａｘ－ＥＦＧｒ）である。

【０２６１】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、式（Ｉ）に従ってポリ核酸分子（Ｂ）に、およびポリマー（Ｃ）に、ならびに、随意に、本明細書に記載される式（ＩＩ）に従って、エンドソーム溶解性部分（Ｄ）に結合する。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、表２、４、８、あるいは９で列挙される配列に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、あるいは１２１５－１２４２に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６－４５、４２２－１１７３、１１９５－１２１４、あるいは１２１５－１２４２から選択された配列を有する。いくつかの例では、ポリマーＣはポリアルキレンオキシド（例えば、ポリエチレングリコール）を含む。いくつかの実施形態において、エンドソーム溶解性部分Ｄは、ＩＮＦ７またはメリチン、あるいはそれぞれの誘導体を含む。

【０２６２】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、ポリ核酸分子（Ｂ）およびポリマー（Ｃ）に、ならびに、随意にエンドソーム溶解性部分（Ｄ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、抗体またはその結合フラグメントである。

【０２６３】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、ポリ核酸分子（Ｂ）に非特異的に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、非部位特異的なやり方で、リシン残基またはシステイン残基を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、非部位特異的なやり方で、リシン残基を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。場合によっては、結合部分Ａは、非部位特異的なやり方で、システイン残基を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、抗体またはその結合フラグメントである。

【０２６４】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、非部位特異的なやり方で、ポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で、リシン残基、システイン残基を介して、５’－末端で、３’－末端で、非天然アミノ酸、あるいは酵素修飾または酵素触媒された残留物で、ポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で、リシン残基を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で、システイン残基を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で、５’末端でポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で、３’末端でポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で、非天然アミノ酸を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、部位特異的なやり方で酵素修飾または酵素触媒された残留物を介してポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａは、抗体またはその結合フラグメントである。

【０２６５】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａ（例えば、抗体またはその結合フラグメント）の１つ以上の領域は、ポリ核酸分子（Ｂ）に結合する。いくつかの例では、結合部分Ａの１つ以上の領域は、結合部分Ａの定常領域内、ヒンジ領域、あるいはＦｃ領域に、Ｎ末端、Ｃ末端を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子（Ｂ）は、結合部分ＡのＮ末端（例

えば、抗体またはその結合フラグメントのＮ末端）に結合する。いくつかの例では、ポリ核酸分子（Ｂ）は、結合部分ＡのＣ末端（例えば、抗体またはその結合フラグメントのＮ末端）に結合する。いくつかの例では、ポリ核酸分子（Ｂ）は、結合部分Ａの定常領域（例えば、抗体またはその結合フラグメントの定常領域）に結合する。いくつかの例では、ポリ核酸分子（Ｂ）は、結合部分Ａのヒンジ領域（例えば、抗体またはその結合フラグメントの定常領域）に結合する。いくつかの例では、ポリ核酸分子（Ｂ）は、結合部分ＡのＦｃ領域（例えば、抗体またはその結合フラグメントの定常領域）に結合する。

【０２６６】

いくつかの実施形態において、１つ以上のポリ核酸分子（Ｂ）は結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、またはそれ以上のポリ核酸分子は、１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約２のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約３のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約４のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約５のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約６のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約７のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約８のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約９のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１０のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１１のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１２のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１３のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１４のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１５のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。いくつかの例では、約１６のポリ核酸分子が１つの結合部分Ａに結合する。場合によっては、１つ以上のポリ核酸分子が同じである。他の例では、１つ以上のポリ核酸分子が異なる。いくつかの例では、結合部分Ａは、抗体またはその結合フラグメントである。

【０２６７】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａ（例えば、抗体またはその結合フラグメント）に結合するポリ核酸分子（Ｂ）の数は、ある比率を形成する。いくつかの例では、比率はＤＡＲ（薬物対抗体の）比率と呼ばれ、本明細書で言及されるような薬物はポリ核酸分子（Ｂ）である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、またはそれ以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約２以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約３以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約４以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約５以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約６以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約７以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約８以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約９以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１０以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１１以上である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１２以上である。

【０２６８】

いくつかの例では、結合部分Ａ（例えば、抗体またはその結合フラグメント）に対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１

１、１２、１３、１４、１５、または１６である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約２である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約３である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約４である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約５である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約６である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約７である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約８である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約９である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１０である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１１である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１２である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１３である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１４である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１５である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、約１６である。

【０２６９】

いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、１である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、２である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、４である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、６である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、８である。いくつかの例では、結合部分Ａに対するポリ核酸分子（Ｂ）のＤＡＲ比率は、１２である。

【０２７０】

いくつかの実施形態において、抗体またはその結合フラグメントは、単独であるいは組み合わせて、当該技術分野で知られている従来の技術を使用して、例えば、アミノ酸の欠失、挿入、置換、追加を用いることによって、および／または、組換え、ならびに／あるいは、当該技術分野で知られている他の修飾（例えば、グリコシル化とリン酸化などの翻訳後および化学的な修飾）によって、さらに修飾される。いくつかの例では、修飾は、Ｆｃ受容体との相互作用を調節するための修飾をさらに含む。いくつかの例では、１つ以上の修飾は、例えば、国際公開第ＷＯ９７／３４６３１に記載されるものを含み、当該文献はＦｃドメインとＦｃＲｎ受容体との間の相互作用に関与するアミノ酸残基を開示している。抗体またはその結合フラグメントのアミノ酸配列の基礎となる核酸配列にそのような修飾を導入する方法は、当業者に周知である。

【０２７１】

いくつかの例では、抗体結合フラグメントはさらにその誘導体を包含し、少なくとも１つのＣＤＲを含むポリペプチド配列を含んでいる。

【０２７２】

いくつかの例では、本明細書に記載されるような「単鎖」との用語は、二重特異性の単鎖構築物の第１と第２のドメインが、好ましくは、単一核酸分子によってコードすることができる共線状アミノ酸配列（ｃｏ－ｌｉｎｅａｒ　ａｍｉｎｏ　ａｃｉｄ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ）の形態で共有結合されるということを意味する。

【０２７３】

いくつかの例では、二重特異性単鎖抗体構築物は、２つの抗体由来の結合ドメインを含む構築物に関する。そのような実施形態では、二重特異性の単鎖抗体構築物はタンデムｂ

ｉ－ｓｃＦｖあるいはダイアボディである。いくつかの例では、ｓｃＦｖは、リンカーペプチドによって接続されたＶＨとＶＬのドメインを含む。いくつかの例では、リンカーは、第１と第２のドメインのそれぞれが、互いから独立して、その差次的な結合特異性を保持することができる十分な長さと配列である。

【０２７４】

いくつかの実施形態において、本明細書で使用されるように、～との結合または～による相互作用とは、互いに少なくとも２つの抗原相互作用部位の結合／相互作用を定義する。いくつかの例では、抗原相互作用部位は、特異性抗原または抗原の特異的な群との特定の相互作用の能力を示すポリペプチドのモチーフを定義する。場合によっては、結合／相互作用は特定の認識を定義するとも理解される。そのような場合、特定の認識は、抗体あるいはその結合フラグメントが、標的分子の各々の少なくとも２つのアミノ酸に特異的に相互作用および／または結合することができるということを指す。例えば、特定の認識は、抗体分子の特異性、あるいは標的分子の特定の範囲を区別するその能力に関する。追加の例では、抗原相互作用部位のその特異性抗原との特定の相互作用は、例えば、抗原の立体配座の変化、抗原のオリゴマー化などの誘導による、シグナルの開始をもたらす。さらなる実施形態では、結合は「鍵と鍵穴の原則（ｋｅｙ－ｌｏｃｋ－ｐｒｉｎｃｉｐｌｅ）」の特異性によって例証される。したがって、いくつかの例では、抗原相互作用部位および抗原のアミノ酸配列における特定のモチーフは、上記構造の第２の修飾の結果と同様に、その１次、２次、または３次構造の結果として互いに結合する。そのような場合、抗原相互作用部位のその特異性抗原との特定の相互作用は、その部位の抗原への簡単な結合をもたらす。

【０２７５】

いくつかの例では、特異的な相互作用はさらに、抗体またはその結合フラグメントの減少した交差反応性、あるいは減少したオフターゲット効果を指す。例えば、所望のポリペプチド／タンパク質に結合するが、他のポリペプチドのいずれにも本質的には結合しない抗体あるいはその結合フラグメントは、所望のポリペプチド／タンパク質に対して特異的であるとみなされる。抗原相互作用部位の特異性抗原との特定の相互作用の例は、リガンドのその受容体との特異性、例えば、抗原決定基群（エピトープ）の、抗体の抗原結合部位との相互作用を含む。

【０２７６】

追加の結合部分

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは血漿タンパク質である。いくつかの例では、血漿タンパク質はアルブミンを含む。いくつかの例では、結合部分Ａはアルブミンである。いくつかの例では、アルブミンは、本明細書に記載される結合化学の１つ以上によって、ポリ核酸分子に変化する。いくつかの例では、アルブミンは、天然のライゲーション化学によってポリ核酸分子に結合する。いくつかの例では、アルブミンは、リジン結合によってポリ核酸分子に結合する。

【０２７７】

いくつかの例では、結合部分Ａはステロイドである。例示的なステロイドは、コレステロール、リン脂質、ジアシルグリセロールおよびトリアシルグリセロール、脂肪酸、飽和であり、不飽和であり、置換を含む炭化水素、あるいはこれらの組み合わせを含む。いくつかの例では、ステロイドはコレステロールである。いくつかの例では、結合部分はコレステロールである。いくつかの例では、コレステロールは、本明細書に記載される結合化学の１つ以上によってポリ核酸分子に結合する。いくつかの例では、コレステロールは、天然のライゲーション化学によってポリ核酸分子に結合する。いくつかの例では、コレステロールは、リジン結合によってポリ核酸分子に結合する。

【０２７８】

いくつかの例では、結合部分は、限定されないが、細胞上の特定の表面マーカーに結合するポリ核酸分子アプタマーを含むポリマーである。この例では、結合部分は、標的遺伝子またはｍＲＮＡにハイブリダイズしないが、その代わりに、細胞表面マーカーのその特

定のエピトープに結合する抗体に類似する細胞表面マーカーに選択的に結合することができるポリ核酸である。

【０２７９】

いくつかの例では、結合部分Ａはペプチドである。場合によっては、ペプチドは約１～約３ｋＤａを含む。場合によっては、ペプチドは約１．２～約２．８ｋＤａ、約１．５～約２．５ｋＤａ、あるいは約１．５～約２ｋＤａを含む。いくつかの例では、ペプチドは二環式ペプチドである。場合によっては、二環式ペプチドは抑制された二環式ペプチドである。いくつかの例では、結合部分は二環式ペプチド（例えば、Ｂｉｃｙｃｌｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓからの二環）である。

【０２８０】

さらなる場合には、結合部分は小分子である。いくつかの例では、小分子は抗体補充小分子である。場合によっては、抗体補充小分子は、標的結合末端および抗体結合末端を含み、ここで、標的結合末端は細胞表面受容体を認識して細胞表面受容体と相互作用することができる。例えば、いくつかの例では、グルタミン酸塩尿素化合物を含む標的結合末端は、ＰＳＭＡとの相互作用を可能にし、それによって、ＰＳＭＡを発現する細胞（例えば、癌細胞）との抗体相互作用を増強する。いくつかの例では、結合部分は、Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，“Ａ ｒｅｍｏｔｅ ａｒｅｎｅ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｓｉｔｅ ｏｎ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｍｅｍｂｒａｎｅ ａｎｔｉｇｅｎ ｒｅｖｅａｌｅｄ ｂｙ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｒｅｃｒｕｉｔｉｎｇ ｓｍａｌｌ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，” Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ．１３２（３６）：１２７１１－１２７１６（２０１０）；、あるいはＭｃＥｎａｎｅｙ，ｅｔ ａｌ．，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｒｅｃｒｕｉｔｉｎｇ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ：ａｎ ｅｍｅｒｇｉｎｇ ｐａｒａｄｉｇｍ ｆｏｒ ｅｎｇａｇｉｎｇ ｉｍｍｕｎｅ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｉｎ ｔｒｅａｔｉｎｇ ｈｕｍａｎ ｄｉｓｅａｓｅ，”ＡＣＳ Ｃｈｅｍ Ｂｉｏｌ．７（７）：１１３９－１１５１（２０１２）に記載される小分子である。

【０２８１】

抗体あるいはその結合フラグメントの産生

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるポリペプチド（例えば、抗体とその結合フラグメント）は、とりわけ、化学合成によって、あるいは組換え発現によって、ポリペプチド（例えば、抗体）の合成に役立つように、当該技術分野で知られている任意の方法を使用して生成され、および、好ましくは組換え発現技術によって生成される。

【０２８２】

いくつかの例では、抗体あるいはその結合フラグメントは組換え発現され、抗体またはその結合フラグメントをコードする核酸は、化学的に合成されたオリゴヌクレオチド（例えば、Ｋｕｔｍｅｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９４，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １７：２４２に記載されるような）から組み立てられ、これは、抗体をコードする配列の一部を含有する重複するオリゴヌクレオチドの合成、オリゴヌクレオチドのアニーリングとライゲーション、および、その後のＰＣＲによるライゲートされたオリゴヌクレオチドの増幅を含む。

【０２８３】

代替的に、抗体をコードする核酸分子は、配列の３’と５’の末端へハイブリダイズすることができる合成プライマーを使用するＰＣＲ増幅によって、あるいは特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用してクローンを作ることによって、適切なソース（例えば、抗体ｃＤＮＡライブラリ、あるいは免疫グロブリンを発現する任意の組織あるいは細胞から生成されたｃＤＮＡライブラリ）から随意に生成される。

【０２８４】

いくつかの例では、抗体またはその結合は、ポリクローナル抗体を生成するためにウサギなどの動物を免疫化することにより、あるいは、より好ましくは、例えば、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５，Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５－４９７）によって記載されるように、あるいは、Ｋｏｚｂｏｒら（１９８３，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ

Ｔｏｄａｙ ４：７２）またはＣｏｌｅら（１９８５ ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．，ｐｐ．７７－９６）によって記載されるように、モノクローナル抗体を生成することによって、随意に生成される。代替的に、少なくとも抗体のＦａｂ部分をコードするクローンは、特異性抗原に結合するＦＡｂフラグメントのクローンのためにＦａｂ発現ライブラリ（例えば、Ｈｕｓｅ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１に記載されるように）をスクリーニングすることにより、あるいは抗体ライブラリ（Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４；Ｈａｎｅ ｅｔ ａｌ．，１９９７ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９４：４９３７を参照）をスクリーニングにより、随意に得られる。

【０２８５】

いくつかの実施形態において、適切な生物学的活性のヒト抗体分子からの遺伝子と一緒に、適切な抗原特異性のマウス抗体分子からの遺伝子をスプライシングすることにより、「キメラ抗体」（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８１：８５１－８５５；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｎａｔｕｒｅ ３１２：６０４－６０８；Ｔａｋｅｄａ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１４：４５２－４５４）の産生のために開発された技術が使用される。キメラ抗体は、異なる部分が、マウスのモノクローナル抗体に由来する可変領域、およびヒト免疫グロブリン定常領域（例えば、ヒト化抗体）を有する動物種などの様々な動物種に由来する分子である。

【０２８６】

いくつかの実施形態において、単鎖抗体の産生について記載された技術（Ｕ．Ｓ．Ｐａｔ．Ｎｏ．４，６９４，７７８；Ｂｉｒｄ，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３；ａｎｄ Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎａｔｕｒｅ ３３４：５４４－５４）は、単鎖抗体を産生するのに適している。単鎖抗体は、アミノ酸ブリッジによってＦｖ領域の重鎖または軽鎖のフラグメントを結合することによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じさせる。大腸菌中の機能的なＦｖフラグメントの組み立てのための技術も随意に使用される（Ｓｋｅｒｒａ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：１０３８－１０４１）。

【０２８７】

いくつかの実施形態において、抗体のヌクレオチド配列を含む発現ベクターあるいは抗体のヌクレオチド配列は、従来の技術（例えば、エレクトロポレーション、リポソームトランスフェクション、および、リン酸カルシウム沈澱反応）によって宿主細胞に導入され、トランスフェクトされた細胞はその後、抗体を生成するために従来の技術によって培養される。特定の実施形態では、抗体の発現は、構成的、誘導可能、あるいは組織特異的なプロモーターによって調節される。

【０２８８】

いくつかの実施形態において、様々な宿主発現ベクター系は、本明細書に記載される抗体またはその結合フラグメントを発現するために利用される。そのような宿主発現系は、抗体のコード配列が生成され、その後精製されるビヒクルを表すが、適切なヌクレオチドコード配列で変形されるかトランスフェクトされるときに、抗体またはその結合フラグメントをインサイチュで発現する細胞を表す。これらは、限定されないが、組み換え体バクテリオファージＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ、あるいは抗体またはその結合フラグメントコード配列を含むコスミドＤＮＡ発現ベクターで形質転換された細菌（例えば、大腸菌と枯草菌）などの微生物；抗体あるいはその結合フラグメントコード配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、サッカロミケス・ピキア）；抗体あるいはその結合フラグメントコード配列を含む組替えウイルス発現ベクターに感染した昆虫細胞系（例えばバキュロウィルス）；組替えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザ

イクウイルス（ＣａＭＶ）およびタバコモザイクウイルス（ＴＭＶ））に感染した、または、抗体あるいはその結合フラグメントコード配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Ｔｉプラスミド）で形質転換された植物細胞系；あるいは、哺乳動物細胞（例えば、メタロチオネイン・プロモーター）のゲノム、あるいは、哺乳動物ウイルス（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス７．５Ｋプロモーター）に由来するプロモーターを含む組換え発現構築物を保護する哺乳動物細胞系（例えば、ＣＯＳ、ＣＨＯ、ＢＨ、２９３、２９３Ｔ、３Ｔ３細胞）を含む。

【０２８９】

組換えタンパク質の長期的かつ高収率の生成のためには、安定した発現が好ましい。いくつかの例では、安定して抗体を発現する細胞株が随意に任意に操作される。ウイルスの複製開始点を含む発現ベクターを使用するのではなく、宿主細胞は、適切な発現制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）と選択可能なマーカーによって制御されたＤＮＡで形質転換される。外来性ＤＮＡの導入後に、細胞を操作して栄養強化培地で１－２日間成長させ、その後、選択培地に切り替える。組換えプラスミド中の選択可能なマーカーは、選択に対する耐性を与え、細胞に、プラスミドをその染色体へと安定的に統合させ、クローン化されて細胞株へと拡張するフォーカスを形成するように成長させる。この方法は、抗体またはその結合フラグメントを有利に発現する細胞株を操作するために有利に使用可能である。

【０２９０】

いくつかの例では、限定されないが、それぞれｔｋ－、ｈｇｐｒｔ－、あるいはａｐｒｔ－細胞で採用される単純疱疹ウイルス・チミジンキナーゼ（Ｗｉｇｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９７７，Ｃｅｌｌ １１：２２３）、ヒポキサンチン－グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｓｚｙｂａｌｓｋａ ＆ Ｓｚｙｂａｌｓｋｉ，１９２，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ４８：２０２）、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｌｏｗｙ ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｃｅｌｌ ２２：８１７）遺伝子を含む、多くの選択系が使用される。同様に、代謝拮抗薬の耐性は、以下の遺伝子のための選定基準として使用される：メトトレキサートに対する耐性を与えるｄｈｆｒ（Ｗｉｇｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：３５７；Ｏ’Ｈａｒｅ ｅｔ ａｌ．，１９８１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８：１５２７）；ミコフェノール酸に対する耐性を与えるｇｐｔ（Ｍｕｌｌｉｇａｎ ＆ Ｂｅｒｇ，１９８１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８：２０７２）；アミノグリコシドＧ－４１８に対する耐性を与えるｎｅｏ（Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｙ １２：４８８－５０５；Ｗｕ ａｎｄ Ｗｕ，１９９１，Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ３：８７－９５；Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ，１９９３，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．３２：５７３－５９６；Ｍｕｌｌｉｇａｎ，１９９３，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０：９２６－９３２；ａｎｄ Ｍｏｒｇａｎ ａｎｄ Ａｎｄｅｒｓｏｎ，１９９３，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６２：１９１－２１７；Ｍａｙ，１９９３，ＴＩＢ ＴＥＣＨ １１（５）：１５５－２１５）、および、ヒグロマイシンに対する耐性を与えるｈｙｇｒｏ（Ｓａｎｔｅｒｒｅ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｇｅｎｅ ３０：１４７）。使用可能な組換えＤＮＡ技術の当該技術分野で知られている既知の方法は一般に、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．，１９９３，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹ；Ｋｒｉｅｇｌｅｒ，１９９０，Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ；ａｎｄ ｉｎ Ｃｈａｐｔｅｒｓ １２ ａｎｄ １３，Ｄｒａｃｏｐｏｌｉ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ），１９９４，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹ．；Ｃｏｌｂｅｒｒｅ－Ｇａｒａｐｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９８１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５

０：１）に記載される。
【０２９１】
いくつかの例では、抗体の発現レベルは、ベクター増幅によって増大する（検討のために、Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎ ａｎｄ Ｈｅｎｔｓｃｈｅｌ，Ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ｖｅｃｔｏｒｓ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｇｅｎｅ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｔｈｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｃｌｏｎｅｄ ｇｅｎｅｓ ｉｎ ｍａｍｍａｌｉａｎ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ＤＮＡ ｃｌｏｎｉｎｇ，Ｖｏｌ．３．（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７を参照）。抗体を発現するベクター系中のマーカーが増幅可能であるとき、宿主細胞の培養物中に存在する阻害剤のレベルの増大は、標識遺伝子のコピーの数を増大させる。増幅された領域が抗体のヌクレオチド配列に関連しているため、抗体の産生も増加する（Ｃｒｏｕｓｅ ｅｔ ａｌ．，１９８３，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．３：２５７）。
【０２９２】
いくつかの例では、抗体の精製のための当該技術分野で知られている任意の方法が、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、とりわけ、プロテインＡの後の特異性抗原への親和性、および、サイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、差次的溶解性、あるいはタンパク質の精製のための他の標準的な技術によって使用される。
【０２９３】
ポリマー結合部分
いくつかの実施形態において、ポリマー部分Ｃはさらに、本明細書に記載されるポリ核酸分子、本明細書に記載される結合部分、あるいはこれらの組み合わせに結合する。いくつかの例では、ポリマー部分Ｃはポリ核酸分子に結合する。場合によっては、ポリマー部分Ｃは結合部分に結合する。他の場合には、ポリマー部分Ｃはポリ核酸分子結合部分分子に結合する。さらなる場合には、ポリマー部分Ｃは結合し、および、治療用分子プラットフォームの段落で議論されたとおりである。
【０２９４】
いくつかの例では、ポリマー部分Ｃは分枝したあるいは分枝していない単量体、および／または、二次元または三次元の単量体の架橋したネットワークの長鎖からなる、天然または合成のポリマーである。いくつかの例では、ポリマー部分Ｃは多糖、リグニン、ゴム、あるいはポリアルキルエンオキシド（例えば、ポリエチレングリコール）を含む。いくつかの例では、少なくとも１つのポリマー部分Ｃは、限定されないが、アルファ、オメガ－ジヒドロキシルポリエチレングリコール、生物分解性ラクトンベースのポリマー、例えば、ポリアクリル酸、ポリラクチド酸（ＰＬＡ）、ポリ（グリコール酸）（ＰＧＡ）、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリオレフィン、ポリアミド、ポリシアノアクリレート、ポリイミド、ポリエチレンテレフタレート（ＰＥＴ、ＰＥＴＧ）、ポリエチレン・テレフタレート（ＰＥＴＥ）、ポリテトラメチレン・グリコール（ＰＴＧ）、あるいはポリウレタン、およびこれらの混合物を含む。本明細書で使用されるように、混合物は、ブロックコポリマーに関連する場合と同様に、同じ化合物内の様々なポリマーの使用を指す。場合によっては、ブロックコポリマーは、ポリマーの少なくとも１つの部分が別のポリマーの単量体から構築されるポリマーである。いくつかの例では、ポリマー部分Ｃはポリアルキレンオキシドを含む。いくつかの例では、ポリマー部分ＣはＰＥＧを含む。いくつかの例では、ポリマー部分Ｃはポリエチレン・イミド（ＰＥＩ）またはヒドロキシエチルデンプン（ＨＥＳ）を含む。
【０２９５】
いくつかの例では、ＣはＰＥＧ部分である。いくつかの例では、ＰＥＧ部分はポリ核酸分子の５’末端で結合するが、結合部分はポリ核酸分子の３’末端で結合する。いくつかの例では、ＰＥＧ部分はポリ核酸分子の３’末端で結合するが、結合部分はポリ核酸分子の５’末端で結合する。いくつかの例では、ＰＥＧ部分はポリ核酸分子の内部部位に結合する。いくつかの例では、ＰＥＧ部分、結合部分、あるいはその組み合わせは、ポリ核酸

分子の内部部位に結合する。いくつかの例において、抱合体は直接抱合体である。いくつかの例では、結合は天然のライゲーションを介するものである。

【０２９６】

いくつかの実施形態において、ポリアルキレンオキシド（例えば、ＰＥＧ）は多分散または単分散の化合物である。いくつかの例では、多分散材料は、平均重量（重量平均）サイズおよび分散度を特徴とする、異なる分子量の材料の分散した分布を含む。いくつかの例では、単分散のＰＥＧは１つのサイズの分子を含む。いくつかの実施形態において、Ｃは多分散または単分散のポリアルキレンオキシド（例えばＰＥＧ）であり、示された分子量は、ポリアルキレンオキシド（例えば、ＰＥＧ）分子の分子量の平均を表わす。

【０２９７】

いくつかの実施形態において、ポリアルキレンオキシド（例えば、ＰＥＧ）の分子量は、約２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１１００、１２００、１３００、１４００、１４５０、１５００、１６００、１７００、１８００、１９００、２０００、２１００、２２００、２３００、２４００、２５００、２６００、２７００、２８００、２９００、３０００、３２５０、３３５０、３５００、３７５０、４０００、４２５０、４５００、４６００、４７５０、５０００、５５００、６０００、６５００、７０００、７５００、８０００、１０，０００、１２，０００、２０，０００、３５，０００、４０，０００、５０，０００、６０，０００、または１００，０００Ｄａである。

【０２９８】

いくつかの実施形態において、Ｃはポリアルキレンオキシド（例えば、ＰＥＧ）であり、約２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１１００、１２００、１３００、１４００、１４５０、１５００、１６００、１７００、１８００、１９００、２０００、２１００、２２００、２３００、２４００、２５００、２６００、２７００、２８００、２９００、３０００、３２５０、３３５０、３５００、３７５０、４０００、４２５０、４５００、４６００、４７５０、５０００、５５００、６０００、６５００、７０００、７５００、８０００、１０，０００、１２，０００、２０，０００、３５，０００、４０，０００、５０，０００、６０，０００、または１００，０００Ｄａの分子量を有する。いくつかの実施形態において、ＣはＰＥＧであり、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１１００、１２００、１３００、１４００、１４５０、１５００、１６００、１７００、１８００、１９００、２０００、２１００、２２００、２３００、２４００、２５００、２６００、２７００、２８００、２９００、３０００、３２５０、３３５０、３５００、３７５０、４０００、４２５０、４５００、４６００、４７５０、５０００、５５００、６０００、６５００、７０００、７５００、８０００、１０，０００、１２，０００、２０，０００、３５，０００、４０，０００、５０，０００、６０，０００、または１００，０００Ｄａの分子量を有する。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約６００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約７００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約８００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約９００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１１００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１２００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１３００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１４００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１４５０Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１６００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１７００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１８００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１９００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２１００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分

子量は約２２００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２３００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２４００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２６００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２７００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２８００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２９００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３２５０Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３３５０Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３７５０Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４２５０Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４６００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４７５０Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約５０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約５５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約６０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約６５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約７０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約７５００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約８０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１００００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１２０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約２００００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約３５０００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約４００００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約５００００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約６００００Ｄａである。いくつかの例では、Ｃの分子量は約１０００００Ｄａである。

【０２９９】

いくつかの実施形態において、ポリアルキレンオキシド（例えば、ＰＥＧ）は、分散ＰＥＧであり、分散ＰＥＧは、１を超える繰り返しエチレンオキシド単位以上を含むポリマーＰＥＧである。いくつかの例では、分散ＰＥＧ（ｄＰＥＧ）は、２～６０、２～５０、あるいは２～４８の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは、約２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３５、４０、４２、４８、５０、またはそれ以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約２以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約３以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約４以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約５以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約６以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約７以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約８以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約９以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１０以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１１以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１２以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１３以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１４以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１５以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１６以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１７以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１８以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約１９以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約２０以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約２２以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約２４以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約２６以上の繰り

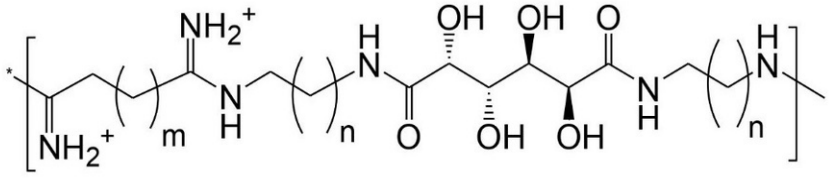
返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約２８以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約３０以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約３５以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約４０以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約４２以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約４８以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、ｄＰＥＧは約５０以上の繰り返しエチレンオキシド単位を含む。場合によっては、ｄＰＥＧは、段階的なやりかたで純粋な（例えば、約９５％、９８％、９９％、あるいは９９．５％）出発材料から単一の分子量化合物として合成される。場合によっては、ｄＰＥＧは平均分子量よりもむしろ特定分子量を有する。場合によっては、本明細書に記載されるｄＰＥＧは、Ｑｕａｎｔａ　Ｂｉｏｄｅｓｉｇｎ，　ＬＭＤからのｄＰＥＧである。

【０３００】

いくつかの実施形態において、ポリマー部分Ｃはカチオン性ムチン酸ベースのポリマー（ｃＭＡＰ）を含む。いくつかの例では、ｃＭＰＡは少なくとも１つの繰り返しサブユニットの１つ以上のサブユニットを含み、サブユニット構造は式（ＩＩＩ）として表され：

【０３０１】

【化４６】



式III

【０３０２】

ここで、ｍは、各出現時、独立して、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０であり、好ましくは、４－６、または５であり；および、ｎは、各出現時、独立して、０、１、２、３、４、または５である。いくつかの実施形態において、ｍとｎは、例えば、約１０である。

【０３０３】

いくつかの例では、ｃＭＡＰはさらにＰＥＧ部分に結合し、ｃＭＡＰ－ＰＥＧコポリマー、ｍＰＥＧ－ｃＭＡＰ－ＰＥＧｍトリブロックポリマー、あるいはｃＭＡＰ－ＰＥＧ－ｃＭＡＰトリブロックポリマーを生成する。いくつかの例では、ＰＥＧ部分は約５００Ｄａ～約５０，０００Ｄａまでの範囲である。いくつかの例では、ＰＥＧ部分は、約５００Ｄａから約１０００Ｄａ、１０００Ｄａ以上～約５０００Ｄａ、５０００Ｄａ以上～約１０，０００Ｄａ、１０，０００以上～約２５，０００Ｄａ、２５，０００Ｄａ以上～約５０，０００Ｄａ、あるいはこれらの範囲の２以上の任意の組み合わせである。

【０３０４】

いくつかの例では、ポリマー部分Ｃは、ｃＭＡＰ－ＰＥＧコポリマー、ｍＰＥＧ－ｃＭＡＰ－ＰＥＧｍトリブロックポリマー、あるいはｃＭＡＰ－ＰＥＧ－ｃＭＡＰトリブロックポリマーである。場合によっては、ポリマー部分ＣはｃＭＡＰ－ＰＥＧコポリマーである。他の場合には、ポリマー部分ＣはｍＰＥＧ－ｃＭＡＰ－ＰＥＧｍトリブロックポリマーである。さらなる場合には、ポリマー部分ＣはｃＭＡＰ－ＰＥＧ－ｃＭＡＰトリブロックポリマーである。

【０３０５】

いくつかの実施形態において、ポリマー部分Ｃは、ポリ核酸分子、結合部分、および、随意にエンドソーム溶解性部分に結合する。

【０３０６】

エンドソーム溶解性部分

いくつかの実施形態において、式（Ｉ）の分子、Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃはさらに、追加の結合部分を含む。いくつかの例では、追加の結合部分はエンドソーム溶解性部分である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、エンドソーム、リソソーム、小胞体（ＥＲ）、ゴルジ体、微小管、ペルオキシソーム、あるいは細胞を有する他の小胞体などの、当該技術分野で知られている細胞の区分のいずれかから放出することができる化合物などの細胞区画放出成分である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、エンドソーム溶解性ポリペプチド、エンドソーム溶解性ポリマー、エンドソーム溶解性脂質、あるいはエンドソーム溶解性小分子を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドを含む。他の場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリマーを含む。

【０３０７】

エンドソーム溶解性ポリペプチド

いくつかの実施形態において、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃの分子はさらに、エンドソーム溶解性ポリペプチドに結合する。場合によっては、エンドソーム溶解性ポリペプチドはｐＨ依存性膜活性ペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性ポリペプチドは両親媒性ポリペプチドである。追加の場合には、エンドソーム溶解性ポリペプチドはペプチド模倣薬である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、ＩＮＦ、メリチン、ムチン（ｍｅｕｃｉｎ）、あるいはそのそれぞれの誘導体を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリペプチドはＩＮＦまたはそのそれぞれの誘導体を含む。他の場合には、エンドソーム溶解性ポリペプチドはメリチンまたはそのそれぞれの誘導体を含む。さらなる場合には、エンドソーム溶解性ポリペプチドはムチンまたはそのそれぞれの誘導体を含む。

【０３０８】

いくつかの例では、ＩＮＦ７は２４残基ポリペプチドであり、これらの配列は、ＣＧＩＦＧＥＩＥＥＬＩＥＥＧＬＥＮＬＩＤＷＧＮＡ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３）、あるいはＧＬＦＥＡＩＥＧＦＩＥＮＧＷＥＧＭＩＤＧＷＹＧＣ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４４）を含む。いくつかの例では、ＩＮＦ７またはその誘導体は、以下の配列を含む：ＧＬＦＥＡＩＥＧＦＩＥＮＧＷＥＧＭＩＷＤＹＧＳＧＳＣＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４５）、ＧＬＦＥＡＩＥＧＦＩＥＮＧＷＥＧＭＩＤＧ　ＷＹＧ－（ＰＥＧ）６－ＮＨ２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４６）、または、ＧＬＦＥＡＩＥＧＦＩＥＮＧＷＥＧＭＩＷＤＹＧ－ＳＧＳＣ－Ｋ（ＧａｌＮＡｃ）２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４７）。

【０３０９】

場合によっては、メリチンは２６残基ポリペプチドであり、この配列は、ＣＬＩＧＡＩＬＫＶＬＡＴＧＬＰＴＬＩＳＷＩＫＮＫＲＫＱ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８）、あるいは、ＧＩＧＡＶＬＫＶＬＴＴＧＬＰＡＬＩＳＷＩＫＲＫＲＱＱ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４９）を含む。いくつかの例では、メリチンは米国特許第８，５０１，９３０号に記載されるポリペプチド配列を含む。

【０３１０】

いくつかの例では、ムチンは、サソリ（Ｍｅｓｏｂｕｔｈｕｓ　ｅｕｐｅｕｓ）の毒液腺に由来する抗菌ペプチド（ＡＭＰ）である。いくつかの例では、ムチンはムチン－１３から構成され、これらの配列は、ＩＦＧＡＩＡＧＬＬＫＮＩＦ－ＮＨ２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５０）を含み、ムチン－１８配列は、ＦＦＧＨＬＦＫＬＡＴＫＩＩＰＳＬＦＱ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５１）を含む。

【０３１１】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、その配列がＩＮＦ７あるいはその誘導体、メリチンあるいはその誘導体、または、ムチンあるいはその誘導体に対して少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、あるいは９９％の配列同一性であるポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＩＮＦ７またはその誘導体、メリチンまたはその誘導体、あるいはムチンまたはその誘導体を含む。

【０３１２】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はＩＮＦ７またはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３－１２４７に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４４－１２４７に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４４－１２４７を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３からなる。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４４－１２４７からなる。

【０３１３】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はメリチンまたはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８または１２４９に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４９に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４９を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８からなる。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４９からなる。

【０３１４】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はムチンまたはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５０または１２５１に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５０に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５１に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５０を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５１を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５０からなる。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２５１からなる。

【０３１５】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は表１０で例証されるような配列を含む。

【０３１６】
【表１－１】

名称	起源	アミノ酸配列	SEQ ID NO:	タイプ
Pep-1	シミアンウイルス40ラージ抗原からのNLSとHIVの逆転写酵素	KETWWETWWTEWSQPKKKRKV	1252	一次両親媒性
pVEC	VE-カドヘリン	LLIILRRRRIRKQAHAHSK	1253	一次両親媒性
VT5	合成ペプチド	DPKGDPKGVTVTVTVTVTGKGDPKPD	1254	β-シート 両親媒性
C105Y	1-アンチトリプシン	CSIPPEVKFNKPFVYLI	1255	-
トランスポータン	ガラニンと マストパラン	GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKIL	1256	一次両親媒性
TP10	ガラニンとマストパラン	AGYLLGKINLKALAALAKKIL	1257	一次両親媒性
MPG	HIV gp41の融合配列からの疎水性ドメインとSV40 T抗原のNLS	GALFLGFLGAAGSTMGA	1258	β-シート 両親媒性
gH625	I型 HSV の糖タンパク質 gH	HGLASTLTRWAHYNALIRAF	1259	二次両親媒性 α-ヘリカル
CADY	PPTG1 ペプチド	GLWRALWRLLRSLWRLLWRA	1260	二次両親媒性 α-ヘリカル
GALA	合成ペプチド	WEAALAEALAEALAEHLAEALAEALEALAA	1261	二次両親媒性 α-ヘリカル
INF	インフルエンザ HA2 融合ペプチド	GLFEAIEGFIENGWEGMIDGWYGC	1262	二次両親媒性 α-ヘリカル/ pH-依存性膜活性ペプチド
HA2E5-TAT	インフルエンザウイルス X31 菌株融合タンパク質のインフルエンザ HA2 サブユニット	GLFGAIAGFIENGWEGMIDGWYG	1263	二次両親媒性 α-ヘリカル/ pH-依存性膜活性ペプチド
HA2-ペネトラチン	インフルエンザウイルス X31 菌株融合タンパク質のインフルエンザ HA2 サブユニット	GLFGAIAGFIENGWEGMIDGRQIKIWFQNRRMKW KK-amide	1264	pH-依存性膜活性ペプチド
HA-K4	インフルエンザウイルス X31 菌株融合タンパク質のインフルエンザ HA2 サブユニット	GLFGAIAGFIENGWEGMIDG-SSKKKK	1265	pH-依存性膜活性ペプチド

【０３１７】

【表１－２】

HA2E4	インフルエンザウイルス X31 菌株融合タンパク質のインフルエンザ HA2 サブユニット	GLFEAIAGFIENGWEGMIDGGGYC	1266	pH-依存性膜活性ペプチド
H5WYG	HA2 アナログ	GLFHAIAHFIHGGWH GLIHGWYG	1267	pH-依存性膜活性ペプチド
GALA-INF3-(PEG)6-NH	INF3 融合タンパク質	GLFEAIEGFIENGWEGLAEALAEALEALAA-(PEG)6-NH2	1268	pH-依存性膜活性ペプチド
CM18-TAT11	セクロピン-A-メリチン $_{2\text{-}12}$ (CM_{18}) 融合タンパク質	KWKLFKKIGAVLKVLTTG-YGRKKRRQRRR	1269	pH-依存性膜活性ペプチド

【０３１８】
場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、Ｂｃｌ－２および／またはＢｃｌ－ｘＬなどの抑制因子標的の拮抗を介してアポトーシスを誘発するＢａｋ　ＢＨ３ポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、Ａｌｂａｒｒａｎ，　ｅｔ　ａｌ．，　”Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ｏｆ　ａ　ｐｒｏ－ａｐｏｐｔｏｔｉｃ　ｐｅｐｔｉｄｅ　ｗｉｔｈ　ａ　ｐＨ－ｒｅｓｐｏｎｓｉｖｅ　ｃａｒｒｉｅｒ，”　Ｒｅａｃｔｉｖｅ　＆　Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ　７１：　２６１－２６５（２０１１）に記載されるＢａｋ　ＢＨ３ポリペプチドを含む。
【０３１９】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１３／１６６１５５号またはＷＯ２０１５／０６９５８７号に記載されるようなポリペプチド（例えば、細胞透過性ポリペプチド）を含む。
【０３２０】
エンドソーム溶解性ポリマー
いくつかの実施形態において、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃの分子は、さらにエンドソーム溶解性ポリマーと結合する。本明細書で使用されるように、エンドソーム溶解性ポリマーは、線形、分岐ネットワーク、星形、くし型、あるいはハシゴ型のポリマーを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリマーは、ホモポリマー、あるいは２以上の異なるタイプの単量体を含むコポリマーである。場合によっては、エンドソーム溶解性ポリマーはポリカチオンポリマーである。その他の場合において、エンドソーム溶解性ポリマーはポリアニオンポリマーである。
【０３２１】

いくつかの例では、ポリカチオンポリマーは、電荷が正、電荷が中性、または電荷が負であるモノマー単位からなり、正味の電荷は正である。その他の場合において、ポリカチオンポリマーは、２つ以上の正電荷を含有する、非ポリマー分子を含む。例示的なカチオンポリマーとしては、限定されないが、ポリ（Ｌ－リジン）（ＰＬＬ）、ポリ（Ｌ－アルギニン）（ＰＬＡ）、ポリエチレンイミン（ＰＥＩ）、ポリ［α－（４－アミノブチル）－Ｌ－グリコール酸］（ＰＡＧＡ）、２－（ジメチルアミノ）エチルメタクリレート（ＤＭＡＥＭＡ）、あるいはＮ，Ｎ－ジエチルアミノエチルメタクリレート（ＤＥＡＥＭＡ）が挙げられる。

【０３２２】

場合によっては、ポリアニオンポリマーは、電荷が正、電荷が中性、または電荷が負であるモノマー単位からなり、正味の電荷は負である。その他の場合において、ポリアニオンポリマーは、２つ以上の負電荷を含有する、非ポリマー分子を含む。例示的なアニオンポリマーは、ｐ（アルキルアクリレート）（例えば、ポリ（プロピルアクリル酸）（ＰＰＡＡ））あるいはポリ（Ｎ－イソプロピルアクリルアミド）（ＮＩＰＡＭ）を含む。追加の例としては、Ｋｈｏｒｍａｅｅ，ｅｔ ａｌ．，“Ｅｄｏｓｏｍｏｌｙｔｉｃ ａｎｉｏｎｉｃ ｐｏｌｙｍｅｒ ｆｏｒ ｔｈｅ ｃｙｔｏｐｌａｓｍｉｃ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ ｓｉＲＮＡｓ ｉｎ ｌｏｃａｌｉｚｅｄ ｉｎ ｖｉｖｏ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，” Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ Ｍａｔｅｒｉａｌｓ ２３： ５６５－５７４（２０１３）に記載されるＰＰ７５、Ｌ－フェニルアラニン－ポリ（Ｌ－リジンイソフタルアミド）ポリマーが挙げられる。

【０３２３】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるエンドソーム溶解性ポリマーは、ｐＨ反応性のエンドソーム溶解性ポリマーである。ｐＨ反応性のポリマーは、サイズを増大させる（膨潤させる）か、環境のｐＨに依存して崩壊する、ポリマーを含む。ポリアクリル酸とキトサンはｐＨ反応性のポリマーの例である。

【０３２４】

いくつかの例では、本明細書に記載されるエンドソーム溶解性部分は、膜破壊的なポリマーである。場合によっては、膜破壊的なポリマーは、カチオンポリマー、中性または疎水性のポリマー、あるいはアニオンポリマーを含む。いくつかの事例では、膜破壊的なポリマーは親水性ポリマーである。

【０３２５】

いくつかの例では、本明細書に記載されるエンドソーム溶解性部分は、膜破壊的なポリマーである。例示的なｐＨ反応性の膜破壊的なポリマーは、ｐ（アルキルアクリル酸）、ポリ（Ｎ－イソプロピルアクリルアミド）（ＮＩＰＡＭ）コポリマー、スクシニル化ｐ（グリシドール）、およびｐ（β－リンゴ酸）ポリマーを含む。

【０３２６】

いくつかの例では、ｐ（アルキルアクリル酸）は、ポリ（プロピルアクリル酸（ｐｏｌｙＰＡＡ）、ポリ（メタクリル酸（ＰＭＡＡ））、ポリ（エチルアクリル酸（ＰＥＡＡ）、および、ポリ（プロピルアクリル酸）（ＰＰＡＡ）を含む。いくつかの例では、ｐ（アルキルアクリル酸）は、Ｊｏｎｅｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｊｏｕｒｎａｌ ３７２： ６５－７５（２００３）に記載されるｐ（アルキルアクリル酸）を含む。

【０３２７】

いくつかの実施形態において、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマーは、ｐ（ブチルアクリレート－ｃｏ－メタクリル酸）を含む。（Ｂｕｌｍｕｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ ９３： １０５－１２０（２００３）；ａｎｄ Ｙｅｓｓｉｎｅ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｃａ ｅｔ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａ Ａｃｔａ １６１３： ２８－３８（２００３）を参照）

【０３２８】

いくつかの実施形態において、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマーは、ｐ（スチレン－ａ

ｌｔ－無水マレイン酸）を含む。（例えば、Ｈｅｎｒｙ，　ｅｔ　ａｌ．，　Ｂｉｏｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　７：　２４０７－２４１４（２００６）を参照）

【０３２９】

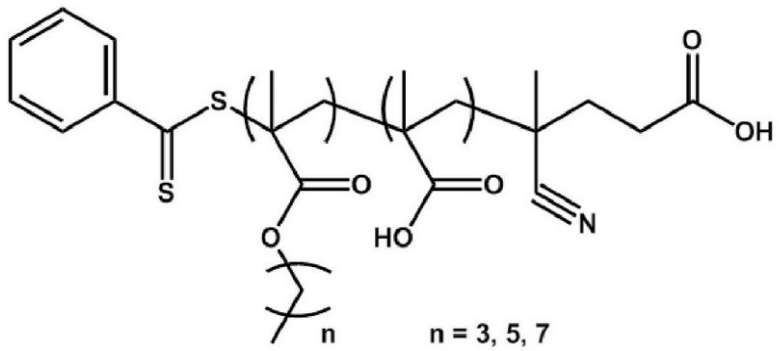
いくつかの実施形態において、ｐＨ反応性の膜破壊性ポリマーは、ポリ（ＭＡＡ－ｃｏ－ＰＤＳＡ）、ポリ（ＥＡＡ－ｃｏ－ＰＤＳＡ）、ポリ（ＰＡＡ－ｃｏ－ＰＤＳＡ）、ポリ（ＭＡＡ－ｃｏ－ＢＡ－ｃｏ－ＰＤＳＡ）、ポリ（ＥＡＡ－ｃｏ－ＢＡ－ｃｏ－ＰＤＳＡ）、あるいはポリ（ＰＡＡ－ｃｏ－ＢＡ－ｃｏ－ＰＤＳＡ）ポリマーなどのピリジルスルフィドアクリレート（ＰＤＳＡ）ポリマーを含む（Ｅｌ－Ｓａｙｅｄ，　ｅｔ　ａｌ．，“Ｒａｔｉｏｎａｌ　ｄｅｓｉｇｎ　ｏｆ　ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ　ａｎｄ　ａｃｔｉｖｉｔｙ　ｃｏｒｒｅｌａｔｉｏｎｓ　ｆｏｒ　ｐＨ－ｒｅｓｐｏｎｓｉｖｅ　ａｎｄ　ｇｌｕｔａｔｈｉｏｎｅ－ｒｅａｃｔｉｖｅ　ｐｏｌｙｍｅｒ　ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，”　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｒｅｌｅａｓｅ　１０４：　４１７－４２７（２００５）；　ｏｒ　Ｆｌａｎａｒｙ　ｅｔ　ａｌ．，“Ａｎｔｉｇｅｎ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ｗｉｔｈ　ｐｏｌｙ（ｐｒｏｐｙｌａｃｒｙｌｉｃ　ａｃｉｄ）　ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ　ｅｎｈａｎｃｅｄ　ＭＨＣ－１　ｐｒｅｓｅｎｔａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｔ－ｃｅｌｌ　ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ，”　Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．　２０：　２４１－２４８（２００９）を参照）

【０３３０】

いくつかの実施形態において、ｐＨ反応性の膜破壊性ポリマーは、以下の塩基構造を含む細胞溶解のポリマーを含む：

【０３３１】

【化４７】



【０３３２】

いくつかの例では、本明細書に記載されるエンドソーム溶解性部分はさらに、追加の抱合体例えば、ポリマー（例えば、ＰＥＧ）、あるいは修飾されたポリマー（例えば、コレステロール修飾されたポリマー）に結合する。

【０３３３】

いくつかの例では、追加の抱合体は界面活性剤（例えば、トリトンＸ－１００）を含む。いくつかの例では、本明細書に記載されるエンドソーム溶解性部分は、界面活性剤（例えば、トリトンＸ－１００）と結合したポリマー（例えば、ポリ（アミドアミン））を含む。いくつかの例では、本明細書に記載されるエンドソーム溶解性部分は、ポリ（アミドアミン）－トリトンＸ－１００を含む（Ｄｕｎｃａｎ，　ｅｔ　ａｌ．，“Ａ　ｐｏｌｙｍｅｒ－Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００　ｃｏｎｊｕｇａｔｅ　ｃａｐａｂｌｅ　ｏｆ　ｐＨ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ　ｒｅｄ　ｂｌｏｏｄ　ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ：　ａ　ｍｏｄｅｌ　ｓｙｓｔｅｍ　ｉｌｌｕｓｔｒａｔｉｎｇ　ｔｈｅ　ｐｏｓｓｉｂｉｌｉｔｙ　ｏｆ　ｄｒｕｇ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ｗｉｔｈｉｎ　ａｃｉｄｉｃ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ　ｃｏｍｐａｒｔｍｅｎｔｓ，”Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｄｒｕｇ　Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　２：　３４１－３４７（１９９４））。

【０３３４】

エンドソーム溶解性脂質

いくつかの実施形態において、エンドソーム溶解性部分は脂質（例えば、融合性脂質）である。いくつかの実施形態において、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃの分子はさらに、エンドソーム溶解性脂質（例えば、融合性脂質）と結合する。例示的な融合性脂質は、１，２－ジレオイル（ｄｉｌｅｏｙｌ）－ｓｎ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、ホスファチジルエタノールアミン（ＰＯＰＥ）、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（ＰＯＰＣ）、（６Ｚ，９Ｚ，２８Ｚ，３１Ｚ）－ヘプタトリアコンター６，９，２８，３１－テトラエン－１９－オール（ジ－Ｌｉｎ）、Ｎ－メチル（２，２－ジ（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエニル）－１，３－ジオキソラン－４－イル）メタンアミン（ＤＬｉｎ－ｋ－ＤＭＡ）、および、Ｎ－メチル－２－（２，２－ジ（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエニル）－１，３－ジオキソラン－４－イル）エタンアミン（ＸＴＣ）を含む。

【０３３５】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ０９／１２６，９３３に記載される脂質（例えば、融合性脂質）である。

【０３３６】

エンドソーム溶解性小分子

いくつかの実施形態では、エンドソーム溶解性部分は小分子である。いくつかの実施形態において、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃの分子はさらにエンドソーム溶解性小分子と結合する。エンドソーム溶解性部分として適切な例示的な小分子は、限定されないが、キニーネ、クロロキン、水酸化クロロキン、アモジアキン（カルノキン（ｃａｒｎｏｑｕｉｎｅｓ））、アモピロキン、プリマキン、メフロキン、ニバキン（ｎｉｖａｑｕｉｎｅｓ）、ハロファントリン、キノンイミン、あるいはこれらの組み合わせを含む。いくつかの例では、キノリンエンドソーム溶解性部分は、限定されないが、７－クロロ－４－（４－ジエチルアミノ－１－メチルブチル－アミノ）キノリン（クロロキン）；７－クロロ－４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチル－アミノ）キノリン（ヒドロキシクロロキン）；７－フルオロ－４－（４－ジエチルアミノ－１－メチルブチル－アミノ）キノリン；４－（４－ジエチルアミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（４－ジエチル－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－クロロ－４－（４－ジエチルアミノ－１－ブチルアミノ）キノリン（デスメチルクロロキン）；７－フルオロ－４－（４－ジエチルアミノ－１－ブチルアミノ）キノリン）；４－（４－ジエチル－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（４－ジエチルアミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－クロロ－４－（１－カルボキシ－４－ジエチルアミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－フルオロ－４－（１－カルボキシ－４－ジエチル－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；４－（１－カルボキシ－４－ジエチルアミノ－１－ブチルアミノキノリン；７－ヒドロキシ－４－（１－カルボキシ－４－ジエチルアミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－クロロ－４－（１－カルボキシ－４－ジエチルアミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－フルオロ－４－（１－カルボキシ－４－ジエチル－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；４－（１－カルボキシ－４－ジエチルアミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（１－カルボキシ－４－ジエチルアミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－フルオロ－４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；４－（４－エチル－（２－ヒドロキシ－エチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ－）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；ヒドロキシクロロキンホスフェート；７－クロロ－４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル－１）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン（（デスメチルヒドロキシクロロキン）；７－フルオロ－４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－クロロ－４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－

アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－フルオロ－４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－ブチルアミノ）キノリン；７－クロロ－４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－フルオロ－４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；７－ヒドロキシ－４－（１－カルボキシ－４－エチル－（２－ヒドロキシエチル）－アミノ－１－メチルブチルアミノ）キノリン；８－［（４－アミノペンチル）アミノ－６－メトキシジヒドロクロリドキノリン；１－アセチル－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン；８－［（４－アミノペンチル）アミノ］－６－メトキシキノリンジヒドロクロリド；１－ブチリル－１，２，３，４－テトラヒドロキノリン；３－クロロ－４－（４－ヒドロキシ－アルファ，アルファ’－ビス（２－メチル－１－ピロリジニル）－２，５－キシリジノキノリン、４－［（４－ジエチルアミノ）－１－メチルブチル－アミノ］－６－メトキシキノリン；３－フルオロ－４－（４－ヒドロキシ－アルファ，αアルファ’－ビス（２－メチル－１－ピロリジニル）－２，５－キシリジノキノリン、４－［（４－ジエチルアミノ）－１－メチルブチル－アミノ］－６－メトキシキノリン；４－（４－ヒドロキシ－アルファ、アルファ’－ビス（２－メチル－１－ピロリジニル）－２，５－キシリジノキノリン；４－［（４－ジエチルアミノ）－１－メチルブチル－アミノ］－６－メトキシキノリン；３，４－ジヒドロ－１－（２Ｈ）－キノリンカルボキシアルデヒド；１、１’－ペンタメチレンジキノリニウムヨージド（ｄｉｑｕｉｎｏｌｅｉｎｉｕｍ　ｄｉｉｏｄｉｄｅ）；８－キノリノールスルフェート、および、アミノ、アルデヒド、カルボン酸、ヒドロキシル、ハロゲン、ケト、スルフヒドリル、およびビニル誘導体またはそのアナログを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、Ｎａｉｓｂｉｔｔら（１９９７，Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｅｘｐ Ｔｈｅｒａｐｙ ２８０：８８４－８９３）と米国特許第５，７３６，５５７号に記載される小分子である。

【０３３７】

式（Ｉ）分子－エンドソーム溶解性部分抱合体

いくつかの実施形態において、１つ以上のエンドソーム溶解性部分は、少なくとも１つの結合部分、少なくとも１つのポリヌクレオチド、少なくとも１つのポリマー、あるいはこれらの任意の組み合わせを含む分子に結合する。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、式（ＩＩ）：

$$（A－X－B－Y－C_c）－L－D$$

式ＩＩ

に結合し、

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；

Ｃはポリマーであり；

Ｘは単結合または第１のリンカーであり；

Ｙは単結合または第２のリンカーであり；

Ｌは単結合または第３のリンカーであり；

Ｄはエンドソーム溶解部分であり；および、

ｃは０と１の間の整数であり；および、

ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含み；および、Ｄは、Ａ、Ｂ、またはＣの任意の場所に結合する。

【０３３８】

いくつかの実施形態では、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。

【０３３９】
いくつかの実施形態では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）あるいはエチレン核酸（ＥＮＡ）を含む。場合によっては、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合あるいはホスホロジチオエート結合を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはｓｉＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態において、Ｘ、Ｙ、およびＬは、独立して単結合あるいは非ポリマーリンカー基である。いくつかの例では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。場合によっては、Ｃはポリエチレングリコールである。

【０３４０】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ポリペプチド、ポリマー、脂質、あるいは小分子を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリマーである。他の場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性脂質である。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性小分子である。

【０３４１】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はＩＮＦ７またはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３からなる。

【０３４２】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はメリチンまたはその誘導体である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８からなる。

【０３４３】
いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は表１０で例証されるような配列である。

【０３４４】
さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、例えば、ｐＨ反応性のエンドソーム溶

解性ポリマー、膜破壊的なポリマー、ポリカチオンポリマー、ポリアニオンポリマー、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマー、あるいはこれらの組み合わせなどのエンドソーム溶解性ポリマーである。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、ｐ（アルキルアクリル酸）ポリマー、ｐ（ブチルアクリレート－ｃｏ－メタクリル酸）ポリマー、ｐ（スチレン－アルト－無水マレイン酸）ポリマー、ピリジルジスルフィドアクリレート（ＰＤＳＡ）ポリマー、ポリマー－ＰＥＧ抱合体、ポリマー－界面活性剤抱合体、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【０３４５】

いくつかの実施形態において、エンドソーム溶解性部分抱合体は、式（ＩＩａ）によるものであり：

$$D-L-A-X-B-Y-C_c$$

式ＩＩａ

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；

Ｃはポリマーであり；

Ｘは単結合または第１のリンカーであり；

Ｙは単結合または第２のリンカーであり；

Ｌは単結合または第３のリンカーであり；

Ｄはエンドソーム溶解部分であり；および、

ｃは１の整数であり；および、

ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。

【０３４６】

いくつかの実施形態では、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）あるいはエチレン核酸（ＥＮＡ）を含む。場合によっては、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合あるいはホスホロジチオエート結合を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはｓｉＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態において、Ｘ、Ｙ、およびＬは、独立して単結合あるいは非ポリマーリンカー基である。いくつかの例では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。場合によっては、Ｃはポリエチレングリコールである。

【０３４８】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ポリペプチド、ポリマー、脂質、あるいは小分子を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリマーである。他の場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性脂質である。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性小分子である。

【０３４９】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はＩＮＦ７またはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３からなる。

【０３５０】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はメリチンまたはその誘導体である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８からなる。

【０３５１】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は表１０で例証されるような配列である。

【０３５２】

さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、例えば、ｐＨ反応性のエンドソーム溶解性ポリマー、膜破壊的なポリマー、ポリカチオンポリマー、ポリアニオンポリマー、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマー、あるいはこれらの組み合わせなどのエンドソーム溶解性ポリマーである。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、ｐ（アルキルアクリル酸）ポリマー、ｐ（ブチルアクリレート－ｃｏ－メタクリル酸）ポリマー、ｐ（スチレン－アルト－無水マレイン酸）ポリマー、ピリジルジスルフィドアクリレート（ＰＤＳＡ）ポリマー、ポリマー－ＰＥＧ抱合体、ポリマー－界面活性剤抱合体、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【０３５３】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分抱合体は、式（ＩＩｂ）によるものであり：

Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｌ－Ｄ
式ＩＩｂ

式中、
Ａは結合部分であり；
Ｂはポリヌクレオチドであり；
Ｘは単結合または第１のリンカーであり；
Ｌは単結合または第３のリンカーであり；および、
Ｄはエンドソーム溶解性部分であり；および、
ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。

【０３５４】

いくつかの実施形態では、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。

【０３５５】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’

－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）あるいはエチレン核酸（ＥＮＡ）を含む。場合によっては、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合あるいはホスホロジチオエート結合を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはｓｉＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態において、ＸおよびＬは、独立して単結合あるいは非ポリマーリンカー基である。いくつかの例では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。場合によっては、Ｃはポリエチレングリコールである。

【０３５６】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ポリペプチド、ポリマー、脂質、あるいは小分子を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリマーである。他の場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性脂質である。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性小分子である。

【０３５７】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はＩＮＦ７またはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３からなる。

【０３５８】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はメリチンまたはその誘導体である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８からなる。

【０３５９】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は表１０で例証されるような配列である。

【０３６０】

さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、例えば、ｐＨ反応性のエンドソーム溶解性ポリマー、膜破壊的なポリマー、ポリカチオンポリマー、ポリアニオンポリマー、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマー、あるいはこれらの組み合わせなどのエンドソーム溶解性ポリマーである。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、ｐ（アルキルアクリル

酸）ポリマー、ｐ（ブチルアクリレート－ｃｏ－メタクリル酸）ポリマー、ｐ（スチレン－アルト－無水マレイン酸）ポリマー、ピリジルジスルフィドアクリレート（ＰＤＳＡ）ポリマー、ポリマー－ＰＥＧ抱合体、ポリマー－界面活性剤抱合体、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【０３６１】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分抱合体は、式（ＩＩｃ）によるものであり：

$$A-X-B-Y-C_c-L-D$$

式ＩＩｃ

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；

Ｃはポリマーであり；

Ｘは単結合または第１のリンカーであり；

Ｙは単結合または第２のリンカーであり；

Ｌは単結合または第３のリンカーであり；

Ｄはエンドソーム溶解部分であり；および、

ｃは１の整数であり；および、

ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。

【０３６２】

いくつかの実施形態では、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。

【０３６３】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）あるいはエチレン核酸（ＥＮＡ）を含む。場合によっては、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合あるいはホスホロジチオエート結合を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはｓｉＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態において、Ｘ、Ｙ、およびＬは、独立して単結合あるいは非ポリマーリンカー基である。いくつかの例では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。場合によっては、Ｃはポリエチレングリコールである。

【０３６４】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ポリペプチド、ポリマー、脂質、あるいは小分子を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリ

マーである。他の場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性脂質である。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性小分子である。

【０３６５】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はＩＮＦ７またはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３からなる。

【０３６６】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はメリチンまたはその誘導体である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８からなる。

【０３６７】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は表１０で例証されるような配列である。

【０３６８】

さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、例えば、ｐＨ反応性のエンドソーム溶解性ポリマー、膜破壊的なポリマー、ポリカチオンポリマー、ポリアニオンポリマー、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマー、あるいはこれらの組み合わせなどのエンドソーム溶解性ポリマーである。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、ｐ（アルキルアクリル酸）ポリマー、ｐ（ブチルアクリレート－ｃｏ－メタクリル酸）ポリマー、ｐ（スチレン－アルト－無水マレイン酸）ポリマー、ピリジルジスルフィドアクリレート（ＰＤＳＡ）ポリマー、ポリマー－ＰＥＧ抱合体、ポリマー－界面活性剤抱合体、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【０３６９】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分抱合体は、式（ＩＩｄ）によるものであり：

Ａ－Ｌ－Ｄ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃｃ

式ＩＩｄ

式中、

Ａは結合部分であり；

Ｂはポリヌクレオチドであり；

Ｃはポリマーであり；

Ｘは単結合または第１のリンカーであり；

Ｙは単結合または第２のリンカーであり；

Ｌは単結合または第３のリンカーであり；

Ｄはエンドソーム溶解部分であり；および、

ｃは１の整数であり；および、

ポリヌクレオチドは、少なくとも１つの５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。

【０３７０】

いくつかの実施形態では、ＡとＣは同じ末端でＢに結合しない。

【０３７１】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’

－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、または、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、少なくとも１つの２’修飾ヌクレオチドは、ロックド核酸（ＬＮＡ）あるいはエチレン核酸（ＥＮＡ）を含む。場合によっては、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合あるいはホスホロジチオエート結合を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、二本鎖ポリ核酸分子を形成するために、第１のポリヌクレオチドと、第１のポリヌクレオチドにハイブリダイズされた第２のポリヌクレオチドとを含む。いくつかの例では、第２のポリヌクレオチドは少なくとも１つの修飾を含む。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはＲＮＡ分子である。場合によっては、第１のポリヌクレオチドおよび第２のポリヌクレオチドはｓｉＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態において、Ｘ、Ｙ、およびＬは、独立して単結合あるいは非ポリマーリンカー基である。いくつかの例では、Ａは抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Ｆａｂ’、二価Fab_2、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、ナノボディ、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、またはラクダ抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。場合によっては、Ｃはポリエチレングリコールである。

【０３７２】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ポリペプチド、ポリマー、脂質、あるいは小分子を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリマーである。他の場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性脂質である。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性小分子である。

【０３７３】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はＩＮＦ７またはその誘導体である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４３からなる。

【０３７４】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分はメリチンまたはその誘導体である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８に対して少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、あるいは１００％の配列同一性を有するポリペプチドを含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１２４８からなる。

【０３７５】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は表１０で例証されるような配列である。

【０３７６】

さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、例えば、ｐＨ反応性のエンドソーム溶解性ポリマー、膜破壊的なポリマー、ポリカチオンポリマー、ポリアニオンポリマー、ｐＨ反応性の膜破壊的なポリマー、あるいはこれらの組み合わせなどのエンドソーム溶解性ポリマーである。さらなる場合には、エンドソーム溶解性部分は、ｐ（アルキルアクリル

酸）ポリマー、ｐ（ブチルアクリレート－ｃｏ－メタクリル酸）ポリマー、ｐ（スチレン－アルト－無水マレイン酸）ポリマー、ピリジルジスルフィドアクリレート（ＰＤＳＡ）ポリマー、ポリマー－ＰＥＧ抱合体、ポリマー－界面活性剤抱合体、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【０３７７】

リンカー

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるリンカーは、切断可能なリンカーまたは切断不可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーは切断可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーは酸切断可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーは切断不可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーはC_1－C_6アルキル基（例えば、Ｃ５、Ｃ４、Ｃ３、Ｃ２、あるいはＣ１アルキル基）を含む。いくつかの例では、リンカーはホモ二機能性架橋リンカー、ヘテロ二機能性架橋リンカーなどを含む。いくつかの例では、リンカーはトレースレスリンカー（あるいは、長さがゼロのリンカー）である。いくつかの例では、リンカーは非ポリマーリンカーである。場合によっては、リンカーは非ペプチドリンカーあるいはアミノ酸残基を含まないリンカーである。

【０３７８】

いくつかの例では、リンカーはホモ二機能性リンカーを含む。例示的なホモ二機能性リンカーは、限定されないが、Ｌｏｍａｎｔの試薬ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）ＤＳＰ、３’３’－ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロプリオネート（ＤＴＳＳＰ）、ジスクシンイミジルスベレート（ＤＳＳ）、ビス（スルホスクシンイミジル）スベレート（ＢＳ）、ジスクシンイミジルタルトレート（ＤＳＴ）、ジスルホスクシンイミジルタルトレート（スルホＤＳＴ）、エチレングリコビス（スクシンイミジルスクシネート）（ＥＧＳ）、ジスクシンイミジルグルタレート（ＤＳＧ）、Ｎ、Ｎ’－ジスクシンイミジルカーボネート（ＤＳＣ）、ジメチルアジプイミデート（ＤＭＡ）、ジメチルピメリミデートピメリミデート（ＤＭＰ）、ジメチルスベリミデート（ＤＭＳ）、ジメチル－３，３’－ジチオビスプロピオンイミデート（ＤＴＢＰ）、１，４－ジ－３’－（２’－ピリジルジチオ）プロピオンアミド）ブタン（ＤＰＤＰＢ）、ビスマレイミドヘキサン（ＢＭＨ）、例えば、１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン、１，３－ジフルオロ－４，６－ジニトロベンゼンなどのハロゲン化アリール含有化合物（ＤＦＤＮＢ）、４，４’－ジフルオロ－３，３’－ジニトロフェニルスルホン（ＤＦＤＮＰＳ）、ビス－［β－（４－アジドサリチルアミド）エチル］ジスルフィド（ＢＡＳＥＤ）、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、１，４－ブタンジオールジグリシジルエーテル、アジピン酸ジヒドラジド、カルボヒドラジド、ｏ－トルイジン、３，３’－ジメチルベンジジン、ベンジジン、α，α’－ｐ－ジアミノジフェニル、ジヨード－ｐ－キシレンスルホン酸、Ｎ，Ｎ’－エチレン－ビス（ヨードアセトアミド）、あるいは、Ｎ，Ｎ’－ヘキサメチレン－ビス（ヨードアセトアミド）を含む。

【０３７９】

いくつかの実施形態では、リンカーはヘテロ二機能性リンカーを含む。例示的なヘテロ二機能性リンカーは、限定されないが、アミン反応的およびスルフヒドリル架橋リンカー、例えば、Ｎ－スクシンイミジル　３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ｓＰＤＰ）、長鎖Ｎ－スクシンイミジル　３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＬＣ－ｓＰＤＰ）、水溶性の長鎖Ｎ－スクシンイミジル　３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（スルホ－ＬＣ－ｓＰＤＰ）、スクシンイミジルオキシカルボニル－α－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）トルエン（ｓＭＰＴ）、スルホスクシンイミジル－６－［α－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）トルアミド］ヘキサノエート（スルホＬＣ－ｓＭＰＴ）、スクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ｓＭＣＣ）、スルホスクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（スルホ－ｓＭＣＣ）、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＭＢｓ）、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル（スルホ－ＭＢ）、Ｎ－スクシンイミジル（４－

ヨードアセチル）アミノベンゾエート（ｓＩＡＢ）、スルホスクシンイミジル（４－ｉｏｄｏａｃｔｅｙｌ）アミノベンゾエート（スルホ－ｓＩＡＢ）、スクシンイミジル－４－（ｐ－マレイミドフェニル）ブチレート（ｓＭＰＢ）、スルホスクシンイミジル－４－（ｐ－マレイミドフェニル）ブチレート（スルホ－ｓＭＰＢ）、Ｎ－（γ－マレイミドブチリルオキシ）スクシンイミドエステル（ＧＭＢ）、Ｎ－（γ－マレイミドブチリルオキシ）スルホスクシンイミドエステル（スルホ－ＧＭＢ）、スクシンイミジル　６－（（ヨードアセチル）アミノ）ヘキサノエート（ｓＩＡＸ）、スクシンイミジル　６－［６－（（（ヨードアセチル）アミノ）ヘキサノイル）アミノ］ヘキサノエート（ｓＩＡＸＸ）、スクシンイミジル　４－（（（ヨードアセチル）アミノ）メチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ｓＩＡＣ）、スクシンイミジル　６－（（（（４－ヨードアセチル）アミノ）メチル）シクロヘキサン－１－カルボニル）アミノ）ヘキサノエート（ｓＩＡＣＸ）、ｐ－ニトロフェニルヨードアセテート（ＮＰＩＡ）、４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）酪酸ヒドラジド（ＭＰＢＨ）、４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシル－ヒドラジド－８（Ｍ２Ｃ２Ｈ）、３－（２－ピリジルジチオ）プロピオニルヒドラジド（ＰＤＰＨ）などのカルボニル反応的およびスルフヒドリル反応的な架橋リンカー、アミン反応的および光反応性の架橋リンカー、例えば、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジル－４－アジドサリチル酸（ＮＨ－ＡｓＡ）、Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミジル－４－アジドサリチル酸（スルホ－ＮＨ－ＡｓＡ）、スルホスクシンイミジル－（４－アジドサリチルアミド）ヘキサノエート（スルホ－ＮＨ－ＬＣ－ＡｓＡ）、スルホスクシンイミジル－－２－（ρ－アジドサリチルアミド）エチル－１，３’－ジチオプロピオネート（ｓＡｓＤ）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミジル－４－アジドベンゾエート（ＨｓＡＢ）、Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミジル－４－アジドベンゾエート（スルホ－ＨｓＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル－６－（４’－アジド－２’－ニトロフェニルアミノ）ヘキサノエート（ｓＡＮＰＡＨ）、スルホスクシンイミジル－６－（４’－アジド－２’－ニトロフェニルアミノ）ヘキサノエート（スルホ－ｓＡＮＰＡＨ）、Ｎ－５－アジド－２－ニトロベンゾイルオキシスクシンイミド（ＡＮＢ－ＮＯｓ）、スルホスクシンイミジル－２－（ｍ－アジド－ｏ－ニトロベンズアミド）－エチル－１，３’－ジチオプロピオネート（ｓＡＮＤ）、Ｎ－スクシンイミジル－４（４－アジドフェニル）１，３’－ジチオプロピオネート（ｓＡＤＰ）、Ｎ－スルホスクシンイミジル（４－アジドフェニル）－１，３’－ジチオプロピオネート（スルホ－ｓＡＤＰ）、スルホスクシンイミジル　４－（ρ－アジドフェニル）ブチレート（スルホ－ｓＡＰＢ）、スルホスクシンイミジル　２－（７－アジド－４－メチルクマリン－３－アセトアミド）エチル－１，３’－ジチオプロピオネート（ｓＡＥＤ）、スルホスクシンイミジル　７－アジド－４－メチルクマリン－３－アセテート（スルホ－ｓＡＭＣＡ）、ρ－ニトロフェニル・ジアゾピルバート（ρＮＰＤＰ）、ρ－ニトロフェニル－２－ジアゾ－３，３，３－トリフルオロプロピオネート（ＰＮＰ－ＤＴＰ）、スルフヒドリル反応的および光反応性の架橋リンカー、例えば、１－（ρ－アジドサリチルアミド）－４－（ヨードアセトアミド）ブタン（ＡｓＩＢ）、Ｎ－［４－（ρ－アジドサリチルアミド）ブチル］－３’－（２’－ピリジルジチオ）プロピオンアミド（ＡＰＤＰ）、ベンゾフェノン－４－ヨードアセトアミド、ベンゾフェノン－４－マレイミドカルボニル反応的および光反応性の架橋リンカー、例えば、ρ－アジドベンゾイルヒドラジド（ＡＢＨ）、カルボキシレート反応的および光反応性の架橋リンカー、例えば、４－（ρ－アジドサリチルアミド）ブチルアミン（ＡｓＢＡ）、および、アルギニン反応的および光反応性の架橋リンカー、例えば、ρ－アジドフェニルグリオキサール（ＡＰＧ）を含む。

【０３８０】

いくつかの例では、リンカーは反応性官能基を含む。場合によっては、反応性官能基は、結合部分に存在する求電子基に反応的な求核基を含む。例示的な求電子基は、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エステル、アミド、エノン、ハロゲン化アシル、または酸無水物などのカルボニル基を含む。いくつかの実施形態において、反応性官能基はアルデヒドである。例示的な求核基は、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカル

バゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジドを含む。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、リンカーはマレイミド基を含む。いくつかの例では、マレイミド基はマレイミドスペーサーとも呼ばれる。いくつかの例では、マレイミド基はさらにカプロン酸を包含し、マレイミドカプロイル（ｍｃ）を形成する。場合によっては、リンカーはマレイミドカプロイル（ｍｃ）を含む。場合によっては、リンカーはマレイミドカプロイル（ｍｃ）である。他の例では、マレイミド基は、上に記載されたスクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ｓＭＣＣ）、あるいは、スルホスクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（スルホ－ｓＭＣＣ）などのマレイミドメチル基を含む。

【０３８２】

いくつかの実施形態において、マレイミド基は自己安定化マレイミドである。いくつかの例では、自己安定化マレイミドは、チオスクシンイミド環加水分解の分子内の触媒作用をもたらすために、マレイミドに隣接する塩基性アミノ基を取り込むべくジアミノプロピオン酸（ＤＰＲ）を利用し、それによって、マレイミドがレトロマイケル反応による脱離反応を経験することのないようにする。いくつかの例では、自己安定化マレイミドは、Ｌｙｏｎ，ｅｔ ａｌ．，“Ｓｅｌｆ－ｈｙｄｒｏｌｙｚｉｎｇ ｍａｌｅｉｍｉｄｅｓ ｉｍｐｒｏｖｅ ｔｈｅ ｓｔａｂｉｌｉｔｙ ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ，” Ｎａｔ． Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ． ３２（１０）：１０５９－１０６２（２０１４）に記載されるマレイミド基である。いくつかの例では、リンカーは自己安定化マレイミドを含む。いくつかの例では、リンカーは自己安定化マレイミドである。

【０３８３】

いくつかの実施形態では、リンカーはペプチド部分を含む。いくつかの例では、ペプチドは少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、またはそれ以上のアミノ酸残基を。いくつかの例では、ペプチド部分は切断可能なペプチド部分（例えば、酵素的または化学的に）である。いくつかの例では、ペプチド部分は切断不可能なペプチド部分である。いくつかの例では、ペプチド部分は、Ｖａｌ－Ｃｉｔ（バリン－シトルリン）、Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｐｈｅ－Ｇｌｙ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１１１）、Ｐｈｅ－Ｌｙｓ、Ｖａｌ－Ｌｙｓ、Ｇｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ、Ｐｈｅ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ、Ａｌａ－Ｌｙｓ、Ｖａｌ－Ａｒｇ、Ｐｈｅ－Ｃｉｔ、Ｐｈｅ－Ａｒｇ、Ｌｅｕ－Ｃｉｔ、Ｉｌｅ－Ｃｉｔ、Ｔｒｐ－Ｃｉｔ、Ｐｈｅ－Ａｌａ、Ａｌａ－Ｌｅｕ－Ａｌａ－Ｌｅｕ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１１２）、またはＧｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｅｕ－Ｇｌｙ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１１３）を含む。いくつかの例では、リンカーは、などのペプチド部分を含む：Ｖａｌ－Ｃｉｔ（バリン－シトルリン）、Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｐｈｅ－Ｇｌｙ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１１１）、Ｐｈｅ－Ｌｙｓ、Ｖａｌ－Ｌｙｓ、Ｇｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ、Ｐｈｅ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓ、Ａｌａ－Ｌｙｓ、Ｖａｌ－Ａｒｇ、Ｐｈｅ－Ｃｉｔ、Ｐｈｅ－Ａｒｇ、Ｌｅｕ－Ｃｉｔ、Ｉｌｅ－Ｃｉｔ、Ｔｒｐ－Ｃｉｔ、Ｐｈｅ－Ａｌａ、Ａｌａ－Ｌｅｕ－Ａｌａ－Ｌｅｕ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１１２）、またはＧｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｅｕ－Ｇｌｙ（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１１３）。場合によっては、リンカーはＶａｌ－Ｃｉｔを含む。場合によっては、リンカーはＶａｌ－Ｃｉｔである。

【０３８４】

いくつかの実施形態において、リンカーは安息香酸基あるいはその誘導体を含む。いくつかの例では、安息香酸基あるいはその誘導体はパラアミノ安息香酸（ＰＡＢＡ）を含む。いくつかの例では、安息香酸基あるいはその誘導体はγ－アミノ酪酸（ＧＡＢＡ）を含む。

【０３８５】

いくつかの実施形態において、リンカーは、任意の組み合わせにおける、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の組み

合わせを含む。いくつかの例では、マレイミド基はマレイミドカプロイル（ｍｃ）である。いくつかの例では、ペプチド基はｖａｌ－ｃｉｔである。いくつかの例では、安息香酸基はＰＡＢＡである。いくつかの例では、リンカーはｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ基を含む。場合によっては、リンカーはｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＡ基を含む。さらなる場合には、リンカーはｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＡ基を含む。

【０３８６】

いくつかの実施形態において、リンカーは自壊性リンカーあるいは自己排除リンカーである。場合によっては、リンカーは自壊性リンカーである。他の場合には、リンカーは自己排除リンカー（例えば環化自己排除リンカー）である。いくつかの例では、リンカーは、米国特許第９，０８９，６１４号あるいはＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１５０３８４２６に記載されるリンカーを含む。

【０３８７】

いくつかの実施形態において、リンカーは樹状型リンカーである。いくつかの例では、樹状型リンカーは分岐した多機能リンカー部分を含む。いくつかの例では、樹状型リンカーはポリヌクレオチドＢ対結合部分Ａのモル比を増加させるために使用される。いくつかの例では、樹状型リンカーはＰＡＭＡＭデンドリマーを含む。

【０３８８】

いくつかの実施形態において、リンカーは、トレースレスリンカーであるか、または、切断後に、結合部分Ａ、ポリヌクレオチドＢ、ポリマーＣ、あるいはエンドソーム溶解性部分Ｄに対するリンカー部分（例えば、原子あるいはリンカー基）を残さないリンカーである。例示的なトレースレスリンカーは、限定されないが、ゲルマニウムリンカー、ケイ素リンカー、硫黄リンカー、セレンリンカー、窒素リンカー、リンリンカー、ホウ素リンカー、クロムリンカー、あるいはフェニルヒドラジドリンカーを含む。場合によっては、リンカーは、Ｈｅｊｅｓｅｎ，ｅｔ ａｌ．，“Ａ ｔｒａｃｅｌｅｓｓ ａｒｙｌ－ｔｒｉａｚｅｎｅ ｌｉｎｋｅｒ ｆｏｒ ＤＮＡ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，” Ｏｒｇ Ｂｉｏｍｏｌ Ｃｈｅｍ １１（１５）：２４９３－２４９７（２０１３）に記載されるようなトレースレスアリール－トリアゼンリンカーである。いくつかの例では、リンカーは、Ｂｌａｎｅｙ，ｅｔ ａｌ．，“Ｔｒａｃｅｌｅｓｓ ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ ｏｒｇａｎｉｃ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，” Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．１０２：２６０７－２０２４（２００２）に記載されるトレースレスリンカーである。いくつかの例では、リンカーは米国特許第６，８２１，７８３号に記載されるトレースレスリンカーである。

【０３８９】

いくつかの例では、リンカーは、リンカーと抱合部分（例えば、本明細書に記載されるＡ、Ｂ、Ｃ、あるいはＤ）の結合部位で立体障害（ｓｔｅｒｉｃ ｈｉｎｄｅｒａｎｃｅ）を及ぼす官能基を含む。いくつかの例では、立体障害はジスルフィド結合のまわりの立体障害である。立体障害を示す例示的なリンカーは、上に記載されるヘテロ二官能性リンカーなどのヘテロ二官能性リンカーを含む。場合によっては、立体障害を示すリンカーはＳＭＣＣおよびＳＰＤＢを含む。

【０３９０】

いくつかの例では、リンカーは酸切断可能リンカーである。いくつかの例では、酸切断可能リンカーは、加水切断を受けやすいヒドラゾン結合を含む。場合によっては、酸切断可能リンカーは、チオマレアミド酸（ｔｈｉｏｍａｌｅａｍｉｃ ａｃｉｄ）リンカーを含む。場合によっては、酸切断可能リンカーは、“Ａｃｉｄ－ｃｌｅａｖａｂｌｅ ｔｈｉｏｍａｌｅａｍｉｃ ａｃｉｄ ｌｉｎｋｅｒ ｆｏｒ ｈｏｍｏｇｅｎｅｏｕｓ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ，” Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．４９：８１８７－８１８９（２０１３）に記載されるチオマレアミド酸リンカーである。

【０３９１】

いくつかの例では、リンカーは、米国特許第６，８８４，８６９号；第７，４９８，２

９８号；第８，２８８，３５２号；第８，６０９，１０５号；あるいは、第８，６９７，６８８号；米国特許公開第２０１４／０１２７２３９号；第２０１３／０２８９１９号；第２０１４／２８６９７０号；第２０１３／０３０９２５６号；第２０１５／０３７３６０号；あるいは、第２０１４／０２９４８５１号；あるいはＰＣＴ公開公報ＷＯ２０１５０５７６９９；ＷＯ２０１４０８０２５１；ＷＯ２０１４１９７８５４；ＷＯ２０１４１４５０９０；あるいは、ＷＯ２０１４１７７０４２に記載されるリンカーである。

【０３９２】

いくつかの実施形態において、Ｘ、Ｙ、およびＬは独立して単結合またはリンカーである。いくつかの例では、Ｘ、Ｙ、およびＬは独立して単結合である。場合によっては、Ｘ、Ｙ、およびＬは独立してリンカーである。

【０３９３】

いくつかの例では、Ｘは単結合またはリンカーである。いくつかの例では、Ｘは単結合である。いくつかの例では、Ｘはリンカーである。いくつかの例では、リンカーはC_1－C_6アルキル基である。場合によっては、Ｘは、例えば、C_5、C_4、C_3、C_2、あるいはC_1アルキル基などのC_1－C_6アルキル基である。場合によっては、C_1－C_6アルキル基は非置換のC_1－C_6アルキル基である。リンカーの文脈において、とりわけ、Ｘの文脈において使用されるように、アルキルは最大で６つの炭素原子を含む飽和した直鎖または分岐鎖の炭化水素ラジカルを意味する。いくつかの例では、Ｘは非ポリマーリンカーである。いくつかの例では、Ｘは上に記載されるホモ二官能性リンカーあるいはヘテロ二官能性リンカーを含む。場合によっては、Ｘはヘテロ二官能性リンカーを含む。場合によっては、ＸはｓＭＣＣを含む。他の例では、Ｘは、C_1－C_6アルキル基に随意に結合したヘテロ二官能性リンカーを含む。他の例では、ＸはC_1－C_6アルキル基に随意に結合したｓＭＣＣを含む。さらなる例では、Ｘは、上に記載されるホモ二官能性リンカーあるいはヘテロ二官能性リンカーを含まない。

【０３９４】

いくつかの例では、Ｙは単結合またはリンカーである。いくつかの例では、Ｙは単結合である。他の場合には、Ｙはリンカーである。いくつかの実施形態において、ＹはC_1－C_6アルキル基である。いくつかの例では、Ｙは上に記載されるホモ二官能性あるいはヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Ｙは上に記載されるホモ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Ｙは上に記載されるヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Ｙは、上に記載されるマレイミドカプロイル（ｍｃ）などのマレイミド基、あるいは自己安定化マレイミド基を含む。いくつかの例では、ＹはＶａｌ－Ｃｉｔなどのペプチド部分を含む。いくつかの例では、ＹはＰＡＢＡなどの安息香酸基を含む。さらなる例では、Ｙは、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の組み合わせを含む。追加の例では、Ｙはｍｃ基を含む。追加の例では、Ｙはｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ基を含む。追加の例では、Ｙはｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＡ基を含む。追加の例では、Ｙはｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＡ基を含む。

【０３９５】

いくつかの例では、Ｌは単結合またはリンカーである。場合によっては、Ｌは単結合である。場合によっては、Ｌはリンカーである。いくつかの実施形態では、ＬはC_1－C_6アルキル基である。いくつかの例では、Ｌは上に記載されるホモ二官能性あるいはヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Ｌは上に記載されるホモ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Ｌは上に記載されるヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Ｌは、上に記載されるマレイミドカプロイル（ｍｃ）などのマレイミド基、あるいは自己安定化マレイミド基を含む。いくつかの例では、ＬはＶａｌ－Ｃｉｔなどのペプチド部分を含む。いくつかの例では、ＬはＰＡＢＡなどの安息香酸基を含む。さらなる例では、Ｌは、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の組み合わせを含む。追加の例では、Ｌはｍｃ基を含む。追加の例では、Ｌはｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ基を含む。追加の例では、Ｌはｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＡ基を含む。追加の例では、Ｌはｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＡ基を含む。

【０３９６】
使用の方法
いくつかの実施形態において、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む、本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、疾患または疾病の処置に使用される。幾つかの例では、疾患または疾病は癌である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患または疾病の処置のための免疫療法として使用される。いくつかの例では、免疫療法はがん免疫療法である。
【０３９７】
癌
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、癌の処置に使用される。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。いくつかの例では、癌は血液悪性腫瘍である。幾つかの例において、癌は再発性あるいは難治性の癌、または転移性癌である。いくつかの例では、固形腫瘍は、再発性あるいは難治性の固形腫瘍、あるいは転移性の固形腫瘍である。場合によっては、血液悪性腫瘍は、再発性あるいは難治性の血液系悪性腫瘍、あるいは転移性の血液悪性腫瘍である。
【０３９８】
いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。例示的な固形腫瘍としては、限定されないが、肛門癌、虫垂癌、胆管癌（すなわち、肝内胆管癌）、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、原発不明癌（ＣＵＰ）、食道癌、眼癌、ファロピウス管癌、消化器癌、腎臓癌、肝臓癌、肺癌、髄芽腫、黒色腫、口腔癌、卵巣癌、膵臓癌、副甲状腺疾患、陰茎癌、下垂体腫瘍、前立腺癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、甲状腺癌、子宮癌、膣癌、あるいは外陰癌が挙げられる。
【０３９９】
いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、固形腫瘍の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、肛門癌、虫垂癌、胆管癌（すなわち、肝内胆管癌）、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、原発不明癌（ＣＵＰ）、食道癌、眼癌、ファロピウス管癌、消化器癌、腎臓癌、肝臓癌、肺癌、髄芽腫、黒色腫、口腔癌、卵巣癌、膵臓癌、副甲状腺疾患、陰茎癌、下垂体腫瘍、前立腺癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、甲状腺癌、子宮癌、膣癌、あるいは外陰癌の処置に使用される。いくつかの例では、固形腫瘍は、再発性あるいは難治性の固形腫瘍、または転移性の固形腫瘍である。
【０４００】
いくつかの例では、癌は血液悪性腫瘍である。いくつかの実施形態では、血液悪性腫瘍は、白血病、リンパ腫、骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、あるいはホジキンリンパ腫である。幾つかの例において、血液悪性腫瘍は、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、小リンパ球性リンパ腫（ＳＬＬ）、ハイリスクのＣＬＬ、非ＣＬＬ／ＳＬＬリンパ腫、前リンパ球性白血病（ＰＬＬ）、濾胞性リンパ腫（ＦＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、多発性骨髄腫、結節外辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫、結節性辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、非バーキット高度Ｂ細胞リンパ腫、原発性縦隔洞Ｂ細胞リンパ腫（ＰＭＢＬ）、免疫芽細胞性大細胞型リンパ腫、前駆Ｂリンパ芽球性リンパ腫、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓周辺帯リンパ腫、形質細胞性骨髄腫、形質細胞腫、縦隔洞（胸腺）大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、血管内大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、原発性体腔性リンパ腫、あるいはリンパ腫様肉芽腫症を含む。
【０４０１】
いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、血液悪性腫瘍の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、白血病、リンパ腫、骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、またはホジキ

ンリンパ腫の処置に使用される。幾つかの例において、血液悪性腫瘍は、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、小リンパ球性リンパ腫（ＳＬＬ）、ハイリスクのＣＬＬ、非ＣＬＬ／ＳＬＬリンパ腫、前リンパ球性白血病（ＰＬＬ）、濾胞性リンパ腫（ＦＬ）、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、多発性骨髄腫、結節外辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫、結節性辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、非バーキット高度Ｂ細胞リンパ腫、原発性縦隔洞Ｂ細胞リンパ腫（ＰＭＢＬ）、免疫芽細胞性大細胞型リンパ腫、前駆Ｂリンパ芽球性リンパ腫、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓周辺帯リンパ腫、形質細胞性骨髄腫、形質細胞腫、縦隔洞（胸腺）大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、血管内大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、原発性体腔性リンパ腫、あるいはリンパ腫様肉芽腫症を含む。場合によっては、血液悪性腫瘍は、再発性あるいは難治性の血液系悪性腫瘍、あるいは転移性の血液悪性腫瘍である。

【０４０２】

いくつかの例では、癌は、ＫＲＡＳ関連、ＥＧＦＲ関連、ＡＲ関連の癌、ＨＰＲＴ１関連癌あるいはβ－カテニン関連癌である。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、ＫＲＡＳ関連、ＥＧＦＲ関連、ＡＲ関連の癌、ＨＰＲＴ１関連癌あるいはβ－カテニン関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、ＫＲＡＳ関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、ＥＧＦＲ関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、ＡＲ関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、ＨＰＲＴ１関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、ポリ核酸分子およびポリマーに結合した結合部分を含む本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、β－カテニン関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、癌は固形腫瘍である。いくつかの例では、癌は血液悪性腫瘍である。いくつかの例では、固形腫瘍は、再発性あるいは難治性の固形腫瘍、または転移性の固形腫瘍である。場合によっては、血液悪性腫瘍は、再発性あるいは難治性の血液系悪性腫瘍、または転移性の血液悪性腫瘍である。いくつかの例では、癌は、膀胱癌、乳癌、大腸癌、子宮内膜癌、食道癌、多形神経膠芽腫、頭頸部癌、腎癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、甲状腺癌、急性骨髄性白血病、ＣＬＬ、ＤＬＢＣＬ、あるいは多発性骨髄腫を含む。いくつかの例では、β－カテニン関連癌は、ＰＩＫ３Ｃ関連癌および／またはＭＹＣ関連の癌をさらに含む。

【０４０３】

免疫療法

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、疾患または疾病の処置のための免疫療法として使用される。いくつかの例では、免疫療法はがん免疫療法である。いくつかの例では、がん免疫療法は、能動的、受動的、あるいは組み合わせ（能動および受動）方法に分類される。能動がん免疫療法では、例えば、腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）が免疫系に提示され、これらのＴＡＡを提示する癌細胞への攻撃を引き起こす。いくつかの例では、能動がん免疫療法は、腫瘍標的化および／または免疫標的化剤（例えば、モノクローナル抗体などのチェックポイント阻害剤）、および／または、ワクチン、例えば、インサイチュワクチン接種および／または細胞ベースあるいは非細胞ベース（例えば、樹状細胞ベース、腫瘍細胞ベース、抗原、抗イディオタイプ、ＤＮＡ、あるいはベクターベース）のワクチンを含む。いくつかの例では、細胞ベースのワクチンは、患者自身の免疫系から得られ、その後、患者自身の癌によって活性化される、活性化免疫細胞を使用して生成されるワクチンである。いくつかの例では、能動がん免疫療法は、非特異的能動免疫療法および特異的能動免疫療法にさらに細分化される。いくつかの例では、非特異的能動免疫療法は、一般的な免疫系応答を誘発するために、サイトカインおよび

／または他の細胞シグナル伝達成分を利用する。場合によっては、特異的能動免疫療法は、免疫応答を誘発するために特定のＴＡＡを利用する。

【０４０４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患あるいは疾病（例えば、癌）の処置のための能動がん免疫療法として使用される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は腫瘍標的化剤を含む。いくつかの例では、腫瘍標的化剤は結合部分Ａによって包含される。他の例では、腫瘍標的化剤は、式（Ｉ）の分子と組み合わせて使用される追加の薬剤である。いくつかの例では、腫瘍標的化剤は、腫瘍指向性ポリペプチド（例えば、腫瘍指向性抗体）である。いくつかの例では、腫瘍標的化剤は、直接殺傷（例えば、シグナル伝達誘導性アポトーシス）、補体依存細胞毒性（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）などのメカニズムにより、その抗腫瘍活性を発揮する腫瘍指向性抗体である。さらなる例では、腫瘍標的化剤は、抗腫瘍Ｔ細胞を誘導して、適応免疫反応を誘発する。

【０４０５】

いくつかの実施形態において、結合部分Ａは、腫瘍指向性ポリペプチド（例えば、腫瘍指向性抗体）である。いくつかの例では、結合部分Ａは、直接殺傷（例えば、シグナル伝達誘導性アポトーシス）、補体依存細胞毒性（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）などのメカニズムによりその抗腫瘍活性を発揮する腫瘍指向性抗体である。さらなる例では、結合部分Ａは、抗腫瘍Ｔ細胞を誘導して、適応免疫反応を誘発する。

【０４０６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、免疫標的化剤を含む。いくつかの例では、免疫標的化剤は結合部分Ａによって包含される。他の例では、免疫標的化剤は、式（Ｉ）の分子と組み合わせて使用される追加の薬剤である。いくつかの例では、免疫標的化剤は、サイトカイン、チェックポイント阻害剤、あるいはそれらの組み合わせを含む。

【０４０７】

いくつかの実施形態において、免疫標的化剤はチェックポイント阻害剤である。場合によっては、免疫チェックポイント分子は、ＣＤ４および／またはＣＤ８Ｔ細胞の細胞表面上で提示される分子である。例示的な免疫チェックポイント分子としては、限定されないが、プログラム死－リガンド１（ＰＤ－Ｌ１、さらにＢ７－Ｈ１、ＣＤ２７４として知られる）、プログラム死１（ＰＤ－１）、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７Ｈ１、Ｂ７Ｈ４、ＯＸ－４０、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、２Ｂ４、ＩＤＯ１、ＩＤＯ２、ＶＩＳＴＡ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＰＤ－Ｌ２（Ｂ７－ＤＣ、ＣＤ２７３）、ＬＡＧ３、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＰＤＬ２、Ｂ７Ｈ３、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ａＲ、ＭＡＲＣＯ（コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体）、ＰＳ（ホスファチジルセリン）、ＩＣＯＳ（誘発性Ｔ細胞補助刺激分子）、ＨＡＶＣＲ２、ＣＤ２７６、ＶＴＣＮ１、ＣＤ７０、およびＣＤ１６０が挙げられる。

【０４０８】

いくつかの例では、免疫チェックポイント阻害剤は、免疫チェックポイント分子の活性を調節あるいは阻害する任意の分子を指す。いくつかの例では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗体、抗体誘導体（例えば、ＦＡｂフラグメント、ｓｃＦｖｓ、ミニボディ（ｍｉｎｏｂｏｄｉｅｓ）、ダイアボディ、アンチセンスオリゴヌクレオチド、ｓｉＲＮＡ、アプタマー、あるいはペプチドを含む。いくつかの実施形態では　免疫チェックポイント阻害剤が、プログラム死－リガンド１（ＰＤ－Ｌ、さらにＢ７－Ｈ１、ＣＤ２７４として知られる）、プログラム死１（ＰＤ－１）、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２（Ｂ７－ＤＣ、ＣＤ２７３）、ＬＡＧ３、ＴＩＭ３、２Ｂ４、Ａ２ａＲ、Ｂ７Ｈ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ７０、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３７、ＣＤ１６０、　ＣＤ２２６、ＣＤ２７６、ＤＲ３、ＧＡＬ９、ＧＩＴＲ、ＨＡＶＣＲ２、ＨＶＥＭ、ＩＤＯ１、ＩＤＯ２、ＩＣＯＳ（誘発性Ｔ細胞補助刺激

分子）、ＫＩＲ、ＬＡＩＲ１、ＬＩＧＨＴ、ＭＡＲＣＯ（コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体）、ＰＳ（ホスファチジルセリン）、ＯＸ－４０、ＳＬＡＭ、ＴＩＧＨＴ、ＶＩＳＴＡ、ＶＴＣＮ１、またはそれらの任意の組み合わせの阻害剤である。

【０４０９】

いくつかの実施形態において、例示的なチェックポイント阻害剤は以下ものを含む：

【０４１０】

ＰＤ－Ｌ１阻害剤、例えば、ＧｅｎｅｎｔｅｃｈのＭＰＤＬ３２８０Ａ（ＲＧ７４４６）、ＢｉｏＸｃｅｌｌの抗マウスＰＤ－Ｌ１抗体クローン１０Ｆ．９Ｇ２（Ｃａｔ＃　ＢＥ０１０１）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂの抗－ＰＤ－Ｌ１モノクローナル抗体ＭＤＸ－１１０５（ＢＭＳ－９３６５５９）およびＢＭＳ－９３５５５９、ＭＳＢ００１０７１８Ｃ、マウス抗－ＰＤ－Ｌ１クローン２９Ｅ．２Ａ３およびＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａのＭＥＤＩ４７３６；

【０４１１】

ＰＤ－Ｌ２阻害剤、例えば、ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅのＡＭＰ－２２４（Ａｍｐｌｉｍｍｕｎｅ）、およびｒＨＩｇＭ１２Ｂ７；

【０４１２】

ＰＤ－１阻害剤、例えば、ＢｉｏＸｃｅｌｌの抗マウスＰＤ－１抗体クローンＪ４３（Ｃａｔ＃　ＢＥ００３３－２）、ＢｉｏＸｃｅｌｌの抗マウスＰＤ－１抗体クローンＲＭＰ１－１４（Ｃａｔ＃　ＢＥ０１４６）、マウス抗－ＰＤ－１抗体クローンＥＨ１２、ＭｅｒｃｋのＭＫ－３４７５抗マウスＰＤ－１抗体（キイトルーダ、ペンブロリズマブ、ランブロリズマブ）、ＡＮＢ０１１として知られるＡｎａｐｔｙｓＢｉｏの抗－ＰＤ－１抗体、抗体ＭＤＸ－１　１０６（ＯＮＯ－４５３８）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　ＳｑｕｉｂｂのヒトｉｇＧ４モノクローナル抗体ニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ（登録商標）、ＢＭＳ－９３６５５８、ＭＤＸ１１０６、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａのＡＭＰ－５１４およびＡＭＰ－２２４、ならびにＣｕｒｅＴｅｃｈ　Ｌｔｄのピディリズマブ（ＣＴ－０１１）；

【０４１３】

ＣＴＬＡ－４阻害剤、例えば、Ｂｒｉｓｔｏｌ　Ｍｅｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂの抗－ＣＴＬＡ－４抗体イピリムマブ（Ｙｅｒｖｏｙ（登録商標）、ＭＤＸ－０１０、ＢＭＳ－７３４０１６およびＭＤＸ－１０１としても知られる）、抗ＣＴＬＡ４抗体、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅのクローン９Ｈ１０、Ｐｆｉｚｅｒのトレメリムマブ（ＣＰ－６７５，２０６、チシリムマブ）、ならびにＡｂｃａｍの抗ＣＴＬＡ４抗体クローンＢＮＩ３；

【０４１４】

ＬＡＧ３阻害剤、例えば、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅの抗－Ｌａｇ－３抗体クローンｅＢｉｏＣ９Ｂ７Ｗ（Ｃ９Ｂ７Ｗ）、ＬｉｆｅＳｐａｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓの抗－Ｌａｇ３抗体ＬＳ－Ｂ２２３７、ＩｍｍｕｔｅｐのＩＭＰ３２１（ＩｍｍｕＦａｃｔ）、抗－Ｌａｇ３抗体ＢＭＳ－９８６０１６およびＬＡＧ－３キメラ抗体Ａ９Ｈ１２；

【０４１５】

Ｂ７－Ｈ３阻害剤、例えば、ＭＧＡ２７１；

【０４１６】

ＫＩＲ阻害剤、例えば、Ｌｉｒｉｌｕｍａｂ（ＩＰＨ２１０１）；

【０４１７】

ＣＤ１３７（４１ＢＢ）阻害剤、例えば、ウレルマブ（ｕｒｅｌｕｍａｂ）（ＢＭＳ－６６３５１３Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、ＰＦ－０５０８２５６６（抗４－１ＢＢ、ＰＦ－２５６６、Ｐｆｉｚｅｒ）、またはＸｍＡｂ－５５９２（Ｘｅｎｃｏｒ）；

【０４１８】

ＰＳ阻害剤、例えば、Ｂａｖｉｔｕｘｉｍａｂ；

【０４１９】

ならびに、阻害剤、例えば、抗体あるいはその断片（例えば、モノクローナル抗体、ヒ

ト、ヒト化あるいはキメラ抗体）、ＲＮＡｉ分子、またはＴＩＭ３、ＣＤ５２、ＣＤ３０、ＣＤ２０、ＣＤ３３、ＣＤ２７、ＯＸ４０（ＣＤ１３４）、ＧＩＴＲ、イコサ、ＢＴＬＡ（ＣＤ２７２）、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＬＡＩＲ１、ＴＩＧＨＴ、ＬＩＧＨＴ、ＤＲ３、ＣＤ２２６、ＣＤ２、あるいはＳＬＡＭに対する小分子。

【０４２０】

いくつかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤を含む結合部分Ａは、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分Ａは、免疫チェックポイント阻害剤を含む二重特異性抗体あるいはその結合フラグメントである。いくつかの例では、プログラム死－リガンド１（ＰＤ－Ｌ１、さらにＢ７－Ｈ１、ＣＤ２７４として知られる）、プログラム死１（ＰＤ－１）、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２（Ｂ７－ＤＣ、ＣＤ２７３）、ＬＡＧ３、ＴＩＭ３、２Ｂ４、Ａ２ａＲ、Ｂ７Ｈ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ７０、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３７、ＣＤ１６０、ＣＤ２２６、ＣＤ２７６、ＤＲ３、ＧＡＬ９、ＧＩＴＲ、ＨＡＶＣＲ２、ＨＶＥＭ、ＩＤＯ１、ＩＤＯ２、ＩＣＯＳ（誘発性Ｔ細胞補助刺激分子）、ＫＩＲ、ＬＡＩＲ１、ＬＩＧＨＴ、ＭＡＲＣＯ（コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体）、ＰＳ（ホスファチジルセリン）、ＯＸ－４０、ＳＬＡＭ、ＴＩＧＨＴ、ＶＩＳＴＡ、ＶＴＣＮ１、またはそれらの任意の組み合わせの阻害剤を含む結合部分Ａは、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。

【０４２１】

いくつかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子は、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、免疫チェックポイント阻害剤は、プログラム死－リガンド１（ＰＤ－Ｌ１、さらにＢ７－Ｈ１、ＣＤ２７４として知られる）、プログラム死１（ＰＤ－１）、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２（Ｂ７－ＤＣ、ＣＤ２７３）、ＬＡＧ３、ＴＩＭ３、２Ｂ４、Ａ２ａＲ、Ｂ７Ｈ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ７０、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３７、ＣＤ１６０、ＣＤ２２６、ＣＤ２７６、ＤＲ３、ＧＡＬ９、ＧＩＴＲ、ＨＡＶＣＲ２、ＨＶＥＭ、ＩＤＯ１、ＩＤＯ２、ＩＣＯＳ（誘発性Ｔ細胞補助刺激分子）、ＫＩＲ、ＬＡＩＲ１、ＬＩＧＨＴ、ＭＡＲＣＯ（コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体）、ＰＳ（ホスファチジルセリン）、ＯＸ－４０、ＳＬＡＭ、ＴＩＧＨＴ、ＶＩＳＴＡ、ＶＴＣＮ１、またはそれらの任意の組み合わせの阻害剤を含む。場合によっては、式（Ｉ）の分子は、疾患または疾病（例えば、癌）の処置のために、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペンブロリズマブ（ｐｅｍｒｏｌｉｚｕｍａｂ）、ピディリズマブ、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＥＤＩ４７３６、ＭＳＢ００１０７１８Ｃ、ＭＫ－３４７５、あるいはＢＭＳ－９３６５５９と組み合わせて使用される。

【０４２２】

いくつかの実施形態において、免疫標的化剤はサイトカインである。場合によっては、サイトカインが、ケモカイン、インターフェロン、インターロイキン、および腫瘍壊死因子へと、さらに小群に分けられる。いくつかの実施形態において、ケモカインは、細胞の遊走を導く化学誘引剤としての役割を果たし、４つのサブファミリー：ＣＸＣ、ＣＣ、ＣＸ３Ｃ、およびＸＣに分類される。例示的なケモカインは、ＣＣサブファミリー：ＣＣＬ１、ＣＣＬ２（ＭＣＰ－１）、ＣＣＬ３、ＣＣＬ４、ＣＣＬ５（ＲＡＮＴＥＳ）、ＣＣＬ６、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＣＬ９（あるいはＣＣＬ１０）、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ１２、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１４、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１６、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２１、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２３、ＣＣＬ２４、ＣＣＬ２５、ＣＣＬ２６、ＣＣＬ２７、およびＣＣＬ２８；ＣＸＣサブファミリー：ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＣＸＣＬ４、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＣＸＣＬ７、ＣＸＣＬ８、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣＬ１３、ＣＸＣＬ１４、ＣＸＣＬ１５、ＣＸＣＬ１６とＣＸＣＬ１７；ＸＣサブファミリー：ＸＣＬ１およびＸＣＬ２；ならびにＣＸ３ＣサブファミリーＣＸ３ＣＬ１のケモカインを含む。

【０４２３】
インターフェロン（ＩＦＮ）は、Ｉ型インターフェロン（例えば、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－ε、ＩＦＮ－κ、およびＩＦＮ－ω）、ＩＩ型インターフェロン（例えばＩＦＮ－γ）、ならびにＩＩＩ型インターフェロンを含む。いくつかの実施形態において、ＩＦＮ－αは、ＩＦＮＡ１、ＩＦＮＡ２、ＩＦＮＡ４、ＩＦＮＡ５、ＩＦＮＡ６、ＩＦＮＡ７、ＩＦＮＡ８、ＩＦＮＡ１０、ＩＦＮＡ１３、ＩＦＮＡ１４、ＩＦＮＡ１６、ＩＦＮＡ１７、およびＩＦＮＡ２１を含む、約１３のサブタイプにさらに分類される。
【０４２４】
インターロイキンは、白血球または白血球細胞によって発現され、ＴおよびＢリンパ球および造血細胞の発生および分化を促進する。例示的なインターロイキンは、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８（ＣＸＣＬ８）、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ１４、ＩＬ１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２１、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、ＩＬ－２４、ＩＬ－２５、ＩＬ－２６、ＩＬ－２７、ＩＬ－２８、ＩＬ－２９、ＩＬ－３０、ＩＬ－３１、ＩＬ－３２、ＩＬ－３３、ＩＬ－３５、およびＩＬ－３６を含む。
【０４２５】
腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）はアポトーシスを調節するサイトカインの群である。いくつかの例では、ＴＮＦファミリー内に約１９のメンバーがあり、制限されないが、ＴＮＦα、リンフォトキシン－α（ＬＴ－α）およびリンフォトキシン－β（ＬＴ－β）Ｔ細胞抗原ｇｐ３９（ＣＤ４０Ｌ）、ＣＤ２７Ｌ、ＣＤ３０Ｌ、ＦＡＳＬ、４－１ＢＢＬ、ＯＸ４０Ｌ、および腫瘍壊死因子関連アポトーシス誘導リガンド（ＴＲＡＩＬ）を含む。
【０４２６】
いくつかの実施形態において、サイトカインと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。場合によっては、ケモカインと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。場合によっては、インターフェロンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。場合によっては、インターロイキンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。場合によっては、腫瘍壊死因子と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば癌）の処置に使用される。いくつかの例では、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ１５、ＭＣＰ－１（ＣＣＬ２）、ＭＩＰ－１α、ＲＡＮＴＥＳ、ＭＣＰ－３、ＭＩＰ５、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、あるいはＣＸＣＬ１１と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。
【０４２７】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤はワクチンを含む。いくつかの例では、ワクチンはインサイチュのワクチン接種である。いくつかの例では、ワクチンは細胞ベースのワクチンである。いくつかの例では、ワクチンは非細胞ベースのワクチンである。いくつかの例では、樹状細胞ベースのワクチンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、腫瘍細胞ベースのワクチンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、抗原ワクチンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、抗イディオタイプワクチンと組み合わせた式（Ｉ）の分子は、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、ＤＮＡワクチンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、ベクターベースのワクチンと組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。
【０４２８】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患あ

るいは疾病（例えば、癌）の処置のための受動がん免疫療法として使用される。いくつかの例では、受動方法は、適応免疫系成分、例えば、Ｔ細胞（ナチュラルキラー（ＮＫ）Ｔ細胞）、および／または外因的に生成されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）Ｔ細胞を利用して癌細胞を攻撃する。

【０４２９】

いくつかの実施形態において、Ｔ細胞ベースの治療剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。場合によっては、Ｔ細胞ベースの治療剤は、上に記載されるＣＤ細胞表面マーカーの１つ以上を認識する活性化Ｔ細胞剤である。いくつかの例では、Ｔ細胞ベースの治療剤は、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ８０、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５２、ＣＤ１５４、ＣＤ１６０、ＣＤ２００Ｒ、ＣＤ２２３、ＣＤ２２６、ＣＤ２４４、ＣＤ２５８、ＣＤ２６７、ＣＤ２７２、ＣＤ２７４、ＣＤ２７８、ＣＤ２７９、あるいはＣＤ３５７の１つ以上を認識する活性化Ｔ細胞剤を含む。いくつかの例では、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ８０、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５２、ＣＤ１５４、ＣＤ１６０、ＣＤ２００Ｒ、ＣＤ２２３、ＣＤ２２６、ＣＤ２４４、ＣＤ２５８、ＣＤ２６７、ＣＤ２７２、ＣＤ２７４、ＣＤ２７８、ＣＤ２７９、あるいはＣＤ３５７の１つ以上を認識する活性化Ｔ細胞剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。

【０４３０】

いくつかの実施形態において、ナチュラルキラー（ＮＫ）のＴ細胞ベースの治療剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの例では、ＮＫベースの治療剤は、上に記載されるＣＤ細胞表面マーカーの１つ以上を認識する活性化ＮＫ剤である。場合によっては、ＮＫベースの治療剤が、ＣＤ２、ＣＤ１１ａ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＣＤ５６、ＣＤ５８、$Cd_6$２Ｌ、ＣＤ８５ｊ、ＣＤ１５８ａ／ｂ、ＣＤ１５８ｃ、ＣＤ１５８ｅ／ｆ／ｋ、ＣＤ１５８ｈ／ｊ、ＣＤ１５９ａ、ＣＤ１６２、ＣＤ２２６、ＣＤ３１４、ＣＤ３３５、ＣＤ３３７、ＣＤ２４４、あるいはＣＤ３１９の１つ以上を認識する活性化ＮＫ剤である。いくつかの例では、ＣＤ２、ＣＤ１１ａ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＣＤ５６、ＣＤ５８、$Cd_6$２Ｌ、ＣＤ８５ｊ、ＣＤ１５８ａ／ｂ、ＣＤ１５８ｃ、ＣＤ１５８ｅ／ｆ／ｋ、ＣＤ１５８ｈ／ｊ、ＣＤ１５９ａ、ＣＤ１６２、ＣＤ２２６、ＣＤ３１４、ＣＤ３３５、ＣＤ３３７、ＣＤ２４４、あるいはＣＤ３１９の１つ以上を認識する活性化ＮＫ剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。

【０４３１】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ－Ｔ細胞ベースの治療剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。

【０４３２】

いくつかの実施形態において、エンドソーム膜を不安定にする（あるいは、エンドソーム－リソソームの膜輸送を妨害する）追加の薬剤と組み合わせた式（Ｉ）の分子が、疾患または疾病（例えば、癌）の処置に使用される。いくつかの実施形態において、追加の薬剤は有糸分裂阻害剤を含む。例示的な有糸分裂阻害剤としては、限定されないが、パクリタキセルおよびドセタキセルなどのタキサン；ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、およびビノレルビンなどのビンカアルカロイド；カバジタキセル；コルヒチン；エリブリン；エストラムスチン；エトポシド；イキサベピロン；ポドフィロトキシン；テニポシド；あるいは、グリセオフルビンが挙げられる。いくつかの例では、追加の薬剤は、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビン、ビノレルビン、カバジタキセル、コルヒチン、エリブリン、エストラムスチン、エトポシド、イクサベピロン、ポドフィロトキシン、テニポシド、あるいはグリセオフルビンを含む。いくつかの例では、追加の薬剤はタキソールを含む。いくつかの例では、追加の薬剤はパクリタキセルを含む。いくつかの例では、追加の薬剤はエトポシドを含む。他の例では、追加の薬剤はビタミンＫ３を含む。

【０４３３】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、疾患または疾病（例えば、癌）の処置における組み合わせ方法（能動および受動の両方の方法を含む）として使用される。
【０４３４】
医薬製剤
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される医薬製剤は、限定されないが、非経口（例えば、静脈内、皮下、筋肉内）、経口、鼻腔内、頬側、直腸、または経皮の投与経路を含む、複数の投与経路によって被験体に投与される。幾つかの例において、本明細書に記載される医薬組成物は、非経口（例えば、静脈内、皮下、筋肉内）投与のために製剤化される。他の例において、本明細書に記載される医薬組成物は、経口投与のために製剤化される。また他の例において、本明細書に記載される医薬組成物は、経鼻投与のために製剤化される。
【０４３５】
いくつかの実施形態において、医薬組成物としては、限定されないが、水性分散液、自己乳化分散液、固溶体、リポソーム分散液、エアロゾル、固形剤形、粉末、即時放性製剤、制御放出製剤、速溶製剤、錠剤、カプセル、丸剤、遅延放出製剤、拡張放出製剤、パルス放出製剤、多粒子製剤（例えば、ナノ粒子製剤）、および、即時放出と制御放出の混合製剤が挙げられる。
【０４３６】
いくつかの例では、医薬製剤は多粒子製剤を含む。いくつかの例では、医薬製剤はナノ粒子製剤を含む。いくつかの例では、ナノ粒子は、ｃＭＡＰ、シクロデキストリン、あるいは脂質を含む。場合によっては、ナノ粒子は、固体脂質ナノ粒子、ポリマーナノ粒子、自己乳化ナノ粒子、リポソーム、マイクロエマルジョン、あるいはミセル溶液を含む。さらなる例示的なナノ粒子は、限定されないが、常磁性ナノ粒子、超常磁性ナノ粒子、金属ナノ粒子、フラーレン様材料、無機ナノチューブ、デンドリマー（共有結合した金属キレートを有するものなど）、ナノファイバー、ナノホーン、ナノオニオン、ナノロッド、ナノロープ、および量子ドットを含む。いくつかの例では、ナノ粒子は、金属ナノ粒子、例えば、スカンジウム、チタン、バナジウム、クロム、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、イットリウム、ジルコニウム、ニオブ、モリブデン、ルテニウム、ロジウム、パラジウム、銀、カドミウム、ハフニウム、タンタル、タングステン、レニウム、オスミウム、イリジウム、白金、金、ガドリニウム、アルミニウム、ガリウム、インジウム、スズ、タリウム、鉛、ビスマス、マグネシウム、カルシウム、ストロンチウム、バリウム、リチウム、ナトリウム、カリウム、ホウ素、シリコン、リン、ゲルマニウム、ヒ素、アンチモン、およびこれらの組み合わせ、その合金またはオキシドのナノ粒子である。
【０４３７】
いくつかの例では、ナノ粒子は、コア、あるいは、コアシェルナノ粒子のようなコアとシェルを含む。
【０４３８】
いくつかの例では、ナノ粒子は、機能要素の結合のために分子（例えば、本明細書に記載されたポリ核酸分子または結合部分の１つ以上）でさらにコーティングされる。いくつかの例では、コーティングは、硫酸コンドロイチン、硫酸デキストラン、カルボキシメチルデキストラン、アルギン酸、ペクチン、カラギーナン、フコイダン、アガロペクチン、ポルフィラン、カラヤゴム、ジェランゴム、キサンタンゴム、ヒアルロン酸、グルコサミン、ガラクトサミン、キチン（あるいはキトサン）、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、リゾチーム、チトクロムＣ、リボヌクレアーゼ、トリプシノゲン、キモトリプシノーゲン、α－キモトリプシン、ポリリシン、ポリアルギニン、ヒストン、プロタミン、オバルブミン、デキストリン、あるいはシクロデキストリンを含む。いくつかの例では、ナノ粒子は、グラフェンでコーティングされたナノ粒子を含む。
【０４３９】

場合によっては、ナノ粒子は、約５００ｎｍ、４００ｎｍ、３００ｎｍ、２００ｎｍ、あるいは１００ｎｍ未満の少なくとも１つの寸法を有する。

【０４４０】

いくつかの例では、ナノ粒子製剤は、常磁性ナノ粒子、超常磁性ナノ粒子、金属ナノ粒子、フラーレン様材料、無機ナノチューブ、デンドリマー（共有結合した金属キレートを有するものなど）、ナノファイバー、ナノホーン、ナノオニオン、ナノロッド、ナノループ、または量子ドットを含む。いくつかの例では、本明細書に記載されるポリ核酸分子あるいは結合部分は、ナノ粒子に直接的あるいは間接的に結合する。いくつかの例では、本明細書に記載される少なくとも１、５、１０、１５、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、あるいは１００以上のポリ核酸分子あるいは結合部分は、ナノ粒子に直接的あるいは間接的に結合する。

【０４４１】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は、本明細書に開示される組成物との互換性および所望の剤形の放出プロファイル特質に基づいて選択される、担体またはキャリア材料を含む。模範的な担体材料としては、例えば、結合剤、懸濁剤、崩壊剤、充填剤、界面活性剤、可溶化剤、安定化剤、滑沢剤、加湿剤、希釈剤などが挙げられる。薬学的に適合可能な担体材料は、アカシア、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、マルトデキストリン、グリセリン、ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、コレステロール、コレステロールエステル、カゼイン酸ナトリウム、大豆レシチン、タウロコール酸、ホスファチジルコリン、塩化ナトリウム、リン酸三カルシウム、リン酸二カリウム、セルロースおよびセルロース抱合体、糖ステアロイル乳酸ナトリウム（ｓｕｇａｒｓ ｓｏｄｉｕｍ ｓｔｅａｒｏｙｌ ｌａｃｔｙｌａｔｅ）、カラギーナン、モノグリセリド、ジグリセリド、α化デンプンなどを含むが、これらに限定されない。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｎｉｎｅｔｅｅｎｔｈ Ｅｄ（Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ.：Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，１９９５）；Ｈｏｏｖｅｒ，Ｊｏｈｎ Ｅ.，Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ.，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ １９７５；Ｌｉｂｅｒｍａｎ，Ｈ.Ａ.ａｎｄ Ｌａｃｈｍａｎ，Ｌ.，Ｅｄｓ.，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｃｋｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ.Ｙ.，１９８０；および、Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｓｅｖｅｎｔｈ Ｅｄ.（Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ１９９９）を参照。

【０４４２】

いくつかの例では、医薬製剤は、酢酸、ホウ酸、クエン酸、乳酸、リン酸、および、塩酸などの酸；水酸化ナトリウム、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、およびトリスヒドロキシメチルアミノメタンなどの塩基、ならびに、クエン酸塩／デキストロース、重炭酸ナトリウム、および塩化アンモニウムなどの緩衝剤を含むｐＨ調節剤または緩衝剤をさらに含む。このような酸、塩基、および緩衝液は、組成物のｐＨを許容可能な範囲で維持するのに必要な量で含まれる。

【０４４３】

いくつかの例では、医薬製剤は、組成物の浸透圧を許容可能な範囲にするのに必要な量の１つ以上の塩を含む。こうした塩は、ナトリウム、カリウム、またはアンモニウムのカチオン、ならびに塩化物、クエン酸塩、アスコルビン酸塩、ホウ酸塩、リン酸塩、炭酸水素塩、硫酸塩、チオ硫酸塩、または重亜硫酸塩のアニオンを含み、適切な塩は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、および、硫酸アンモニウムを含む。

【０４４４】

いくつかの例では、希釈液がより安定した環境を提供することができることから、医薬

製剤は、化合物を安定化させるために使用される希釈液をさらに含む。緩衝液（ｐＨの制御または維持をもたらし得る）中に溶解した塩は、限定されないが、リン酸緩衝生理食塩溶液を含む当該技術分野の希釈剤として利用される。ある例では、希釈液は、組成物の容積を増大させて、圧縮を促進するか、あるいはカプセル剤充填のための均質ブレンドに十分な容積を作り出す。そのような化合物は、例えば、ラクトース、デンプン、マンニトール、ソルビトール、デキストロース、Ａｖｉｃｅｌ（登録商標）などの微結晶性セルロース；リン酸水素カルシウム、リン酸カルシウム二水和物；リン酸三カルシウム、リン酸カルシウム；無水乳糖、噴霧乾燥したラクトース；α化デンプン、Ｄｉ－Ｐａｃ（登録商標）（Ａｍｓｔａｒ）などの圧縮可能な糖；マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース・アセタート・ステアラート、スクロース系の希釈剤、粉砂糖；一塩基の硫酸カルシウム一水和物、硫酸カルシウム二水和物；乳酸カルシウム三水和物、デキストラート（ｄｅｘｔｒａｔｅｓ）；加水分解したシリアル固形物、アミロース；粉末セルロース、炭酸カルシウム；グリシン、カオリン；マンニトール、塩化ナトリウム；イノシトール、ベントナイトなどを含むことができる。

【０４４５】

場合によっては、医薬製剤は、物質の分解または崩壊を促進する崩壊剤（ｄｉｓｉｎｔｅｇｒａｔｉｏｎ ａｇｅｎｔｓ ｏｒ ｄｉｓｉｎｔｅｇｒａｎｔｓ）を含む。用語「分解する」は、胃腸液と接触した際の剤形の溶解と分散の両方を含む。崩壊剤の例は、デンプン、例えば天然のデンプン、例えばトウモロコシデンプンまたはジャガイモデンプン、α化デンプン、例えばＮａｔｉｏｎａｌ １５５１またはＡｍｉｊｅｌ（登録商標）、またはナトリウムデンプングリコラート、例えばＰｒｏｍｏｇｅｌ（登録商標）またはＥｘｐｌｏｔａｂ（登録商標）、セルロース、例えば木製品、メチル結晶セルロース、例えばＡｖｉｃｅｌ（登録商標）、Ａｖｉｃｅｌ（登録商標）ＰＨ１０１、Ａｖｉｃｅｌ（登録商標）ＰＨ１０２、Ａｖｉｃｅｌ（登録商標）ＰＨ１０５、Ｅｌｃｅｍａ（登録商標）Ｐ１００、Ｅｍｃｏｃｅｌ（登録商標）、Ｖｉｖａｃｅｌ（登録商標）、Ｍｉｎ Ｔｉａ（登録商標）、およびＳｏｌｋａ－Ｆｌｏｃ（登録商標）、メチルセルロース、クロスカルメロース、または架橋カルボキシルメチルセルロースナトリウム（Ａｃ－Ｄｉ－Ｓｏｌ（登録商標））などの架橋セルロース、架橋カルボキシメチルセルロース、または架橋クロスカルメロースナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウムなどの架橋デンプン、クロスポビドンなどの架橋ポリマー、架橋ポリビニルピロリドン、アルギン酸などのアルギン酸塩またはアルギン酸ナトリウムなどのアルギン酸の塩、Ｖｅｅｇｕｍ（登録商標）ＨＶ（ケイ酸アルミニウムマグネシウム）などの粘土、ゴム（寒天、グアー、ローカストビーン、カラヤ、ペクチン、またはトラガカントなど）、ナトリウムデンプングリコラート、ベントナイト、天然のスポンジ、界面活性剤、陽イオン交換樹脂などの樹脂、柑橘類のパルプ、ラウリル硫酸ナトリウム、デンプンを組み合わせたラウリル硫酸ナトリウムなど、を含む。

【０４４６】

いくつかの例では、医薬製剤は、ラクトース、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、第二リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、微結晶性セルロース、セルロース粉末、デキストロース、デキストラート、デキストラン、デンプン、α化デンプン、スクロース、キシリトール、ラクチトール、マンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウム、ポリエチレングリコールなどの充填剤を含む。

【０４４７】

潤滑剤と滑剤も、材料の癒着あるいは摩擦を防ぐか、減少させるか、あるいは阻害するために、本明細書に記載される医薬製剤に随意に含まれる。例示的な潤滑剤としては、例えば、ステアリン酸、水酸化カルシウム、タルク、ステアリルフマル酸ナトリウム、鉱油などの炭化水素、または水素化大豆油（Ｓｔｅｒｏｔｅｘ（登録商標））などの水素化植物油、高級脂肪酸およびそれらのアルカリ金属ならびにアルミニウムなどのアルカリ土類金属塩、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、ステアリン酸、ステアリン酸ナトリウム、グリセロール、タルク、ワックス、Ｓｔｅａｒｏｗｅｔ（登録商標）、ホウ酸、安息香酸ナ

トリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ポリエチレングリコール（例えば、ＰＥＧ－４０００）またはＣａｒｂｏｗａｘ（商標）などのメトキシポリエチレングリコール、オレイン酸ナトリウム、安息香酸ナトリウム、ベヘン酸グリセリル、ポリエチレングリコール、マグネシウムまたはラウリル硫酸ナトリウム、Ｓｙｌｏｉｄ（商標）、キャブ－Ｏ－Ｓｉｌ（登録商標）などのコロイダル－シリカ、トウモロコシデンプンなどのデンプン、シリコーン油、サーファクタントなどが挙げられる。

【０４４８】

可塑剤は、マイクロカプセル化材料またはフィルムコーティングを軟化することでそれらの脆性を抑えるために使用される化合物を含む。適切な可塑剤は、例えば、ＰＥＧ３００、ＰＥＧ４００、ＰＥＧ６００、ＰＥＧ１４５０、ＰＥＧ３３５０、およびＰＥＧ８００などのポリエチレングリコール、ステアリン酸、プロピレングリコール、オレイン酸、トリエチルセルロース、トリアセチンを含む。可塑剤は、分散剤または湿潤剤としてさらに機能し得る。

【０４４９】

可溶化剤は、トリアセチン、クエン酸トリエチル、オレイン酸エチル、カプリル酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、ドクサートナトリウム、ビタミンＥ　ＴＰＧＳ、ジメチルアセトアミド、Ｎ－メチルピロリドン、Ｎ－ヒドロキシエチルピロリドン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルシクロデキストリン、エタノール、ｎ－ブタノール、イソプロピルアルコール、コレステロール、胆汁塩、ポリエチレングリコール２００－６００、グリコフロール、トランスクトール、プロピレングリコール、およびジメチルイソソルビドなどの化合物を含む。

【０４５０】

安定化剤は、任意の抗酸化剤、緩衝剤、酸、防腐剤などの混合物を含む。

【０４５１】

懸濁化剤は、例えば、ポリビニルピロリドンＫ１２、ポリビニルピロリドンＫ１７、ポリビニルピロリドンＫ２５、またはポリビニルピロリドンＫ３０などのポリビニルピロリドン、ビニルピロリドン／酢酸ビニル共重合体（Ｓ６３０）、ポリエチレングリコール（例えば、ポリエチレングリコールは約３００～約６０００、約３３５０～約４０００、または約７０００～約５４００の分子量を有する）、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース酢酸ステアリン酸、ポリソルベート８０、ヒドロキシエチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、例えばトラガカントゴムおよびアラビアゴムなどのゴム、グアーゴム、キサンタンガムを含むキサンタン、糖類、例えばカルボキシルメチルセルロースナトリウムなどのセルロース化合物、メチルセルロース、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ポリソルベート８０、アルギン酸ナトリウム、ヒドロキシポリエトキシ化ソルビタンモノラウラート、ヒドロキシポリエトキシ化ソルビタンモノラウラート、ポビドンなどの化合物を含む。

【０４５２】

サーファクタントは、ラウリル硫酸ナトリウム、ドクセートナトリウム、またはＴｗｅｅｎ　６０または８０、トリアセチン、ビタミンＥ　ＴＰＧＳ、ソルビタンモノオレアート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレアート（ｐｏｌｙｏｘｙｅｔｈｙｌｅｎｅ　ｓｏｒｂｉｔａｎ　ｍｏｎｏｏｌｅａｔｅ）、ポリソルベート、ポロクサマー（ｐｏｌａｘｏｍｅｒｓ）、胆汁酸塩、モノステアリン酸グリセリン、エチレンオキシドおよびプロピレンオキシドのコポリマー（例えば、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ（登録商標））（ＢＡＳＦ）などの化合物を含む。付加的な界面活性剤は、ポリオキシエチレン脂肪酸グリセリドおよび植物油（例えば、ポリオキシエチレン（６０）水素化ヒマシ油）；および、ポリオキシエチレンアルキルエーテルとアルキルフェニルエーテル、例えば、オクトキシノール１０、オクトキシノール４０などを含む。しばしば、界面活性剤は、物理的安定性を高めるために、または他の目的のために含まれる。

【０４５３】

粘度増強剤は、例えば、メチルセルロース、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートステアレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、カルボマー、ポリビニルアルコール、アルギン酸塩、アカシア、キトサン、およびこれらの組み合わせを含む。

【０４５４】

湿潤剤は、オレイン酸、モノステアリン酸グリセリル、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン、モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン、ドクサートナトリウム、オレイン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ドキュセートナトリウム、トリアセチン、Ｔｗｅｅｎ８０、ビタミンＥ　ＴＰＧＳ、アンモニウム塩などの化合物を含む。

【０４５５】

治療レジメン

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される医薬組成物は治療用途のために投与される。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、１日に一回、１日に２回、１日に３回、またはそれ以上投与される。医薬組成物は、毎日、１日おき、週５日、週１日、１週おき、月２週間、月３週間、月１回、月２回、月３回、またはそれ以上投与される。医薬組成物は、少なくとも１か月、２か月、３か月、４か月、５か月、６か月、７か月、８か月、９か月、１０か月、１１か月、１２か月、１８か月、２年、３年、またはそれ以上の間投与される。

【０４５６】

いくつかの実施形態では、１以上の医薬組成物は、同時に、連続して、またはある時間間隔で投与される。いくつかの実施形態では、１以上の医薬組成物は同時に投与される。場合によっては、１つ以上の医薬組成物は連続して投与される。さらなる場合には、１以上の医薬組成物は、ある時間間隔で投与される（例えば、第１の医薬組成物の第１の投与は１日目であり、その後、少なくとも第２の医薬組成物の投与前に少なくとも１、２、３、４、５日またはそれ以上の間隔を空ける）。

【０４５７】

いくつかの実施形態において、２つ以上の様々な医薬組成物は同時投与される。いくつかの例では、２以上の異なる医薬組成物が同時に投与される。場合によっては、２つ以上の異なる医薬組成物が、投与間の間隔なしに連続して同時投与される。他の場合には、２つ以上の異なる医薬組成物は、投与間に約０．５時間、１時間、２時間、３時間、１２時間、１日、２日の間隔をおいて連続して投与される。

【０４５８】

患者の状態が改善する場合、医者の裁量により組成物の投与が継続的に行われ；代替的に、投与されている組成物の用量は、一時的に減少されるか、または特定の期間一時的に中断される（つまり、「休薬期間」）。いくつかの例では、休薬期間の長さは、ほんの一例として、２日、３日、４日、５日、６日、７日、１０日、１２日、１５日、２０日、２８日、３５日、５０日、７０日、１００日、１２０日、１５０日、１８０日、２００日、２５０日、２８０日、３００日、３２０日、３５０日、または３６５日を含む、２日～１年の間で変わる。休薬日中の投与量の減少は、ほんの一例として、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、あるいは１００％を含む、１０％～１００％である。

【０４５９】

いったん患者の状態が改善すると、必要に応じて維持量が投与される。その後、投与量または投与頻度、あるいはその両方は、症状に応じて、改善された疾患、疾病、または病気が保持されるレベルにまで随意に減少可能である。

【０４６０】

いくつかの実施形態では、そのような量に相当する所定の薬剤の量は、特定の化合物、疾患の重症度、処置を必要としている被験体または宿主の性質（例えば、体重）などの要因に左右されるが、それにもかかわらず、例えば、投与されている特定の薬剤、投与経路、および処置されている被験体または宿主を含む、症例を取り巻く特定の環境に従って、当該技術分野で既知の方法で日常的に判定される。いくつかの例では、所望の投与量は一回量で、あるいは、例えば、１日当たり２、３、あるいは４以上の下位用量として、同時に（または短時間にわたって）あるいは適切なインターバルを置いて投与された分割量として都合よく提示される。

【０４６１】

個々の処置レジメンに関する変数の数が大きいため、前述の範囲は単なる示唆的なものに過ぎず、これらの推奨値からかなり逸脱することは珍しいことではない。そのような投与量は、限定されないが、使用される化合物の活性、処置される疾患または疾病、投与の様式、個々の被験体の必要条件、処置されている疾患または疾病の重症度、および医師の判断を含む、多くの変数に依存して変更される。

【０４６２】

いくつかの実施形態では、こうした治療レジメンの毒性と治療の有効性は、限定されないが、ＬＤ５０（集団の５０％までの致死投与量）と、ＥＤ５０（集団の５０％に治療上有効な投与量）の決定を含む、細胞培養または実験動物における標準的な製薬手順によって決定される。毒性と治療効果との間の用量比が治療指数であり、これは、ＬＤ５０とＥＤ５０との間の比率として表される。高い治療指数を示す化合物が好ましい。細胞培養アッセイと動物研究から得られたデータは、ヒトで使用される一連の投与量を製剤するのに使用される。こうした化合物の投与量は、最小限の毒性を備えるＥＤ５０を含む一連の循環濃度内に位置するのが好ましい。投与量は、使用される剤形と利用される投与経路に応じて、この範囲内で変わる。

【０４６３】

キット／製品

ある実施形態において、本明細書に記載される１つ以上の組成物および方法とともに使用されるキットおよび製品が本明細書で開示される。このようなキットは、バイアル、チューブなどの１つ以上の容器を収容するために仕切られた運搬装置、包装または容器を含み、各容器は、本明細書中に記載されている方法を使用するための別個の要素の１つを備える。適切な容器は、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、および試験管を含む。一実施形態において、容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成される。

【０４６４】

本明細書で提供される製品は包装材料を含む。製薬用包装材料の例としては、限定されないが、ブリスターパック、瓶、チューブ、バッグ、容器、瓶、および選択された製剤と意図した投与および処置のモードに適する任意の包装材料が挙げられる。

【０４６５】

例えば、容器は、本明細書に開示されるエンドソーム溶解性部分Ｄに随意に結合する、式（Ｉ）：Ａ－Ｘ－Ｂ－Ｙ－Ｃの分子を含む。そのようなキットは、識別用の記載またはラベル、あるいは本明細書に記載される方法における使用に関する説明書を随意に含む。

【０４６６】

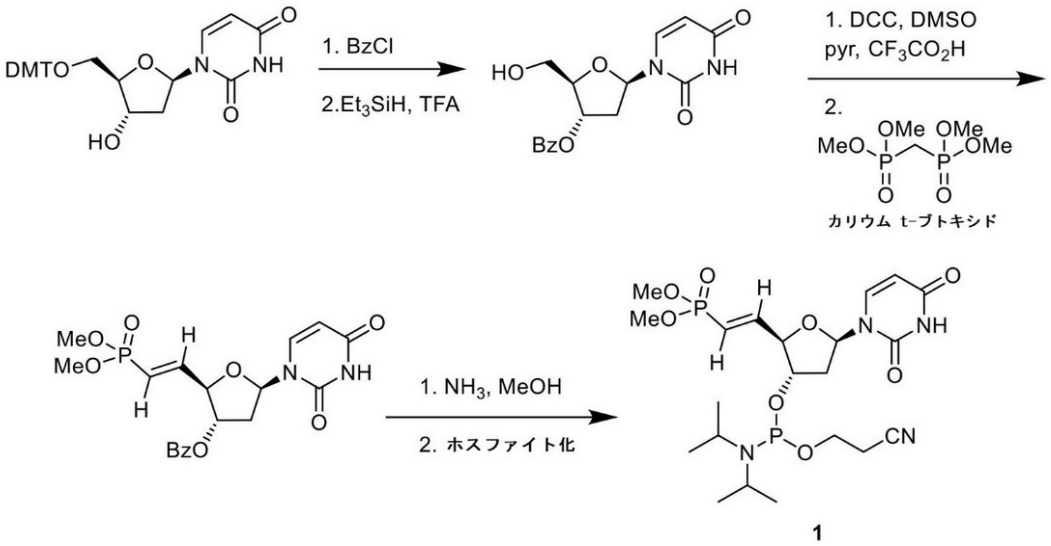
キットは典型的には、内容物および／または使用説明書を列挙するラベルと、使用説明書を備えた添付文書とを含んでいる。１セットの説明書も典型的に含まれる。

【０４６７】

一実施形態において、ラベルが容器上にあるか容器に付随する。一実施形態において、ラベルを形成する文字、数字、または他の表示が、容器自体に貼り付けられるか、成形されるか、あるいは刻まれている場合は、ラベルは容器上に取付けられる。ラベルは、例えば、添付文書として容器を保持するレセプタクルまたは運搬装置内に存在するとき、容器に付随する。一実施形態において、ラベルは、内容物が特定の治療用途に用いられるべきものであるということを示すために使用される。ラベルは、例えば、本明細書に記載の方

法で、内容物の使用方法も示している。
【０４６８】
ある実施形態では、医薬組成物は、本明細書で提供される化合物を含む１以上の単位剤形を含有するパックまたはディスペンサーデバイスで提示される。例えば、パックは、ブリスターパックなどの金属またはプラスチックホイルを含む。一実施形態において、パックまたはディスペンサーデバイスには、投与のための説明書が添付してある。一実施形態において、パックまたはディスペンサーには、医薬品の製造、使用または販売を制御する政府機関によって規定された形態の容器に付属の通知書が添付してあり、この通知書は、ヒトまたは動物の投与のための薬物の形態についての、政府機関の承認を反映するものである。このような通知書は、例えば、処方薬または承認された添付文書に関して、米国食品医薬品局により承認されたラベルである。一実施形態において、適合する製薬担体で製剤化される本明細書で提供される化合物を含む組成物も調製され、適切な容器に入れられ、示された疾病の処置のためにラベル付けされる。
【０４６９】
特定の用語
別段の定めのない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はすべて、主題が属する当該技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。前述の一般的な記載および以下の詳細な記載が典型的かつ説明的なものに過ぎず、いかなる本願の主題を限定するものではないことが理解されよう。本出願では、単数の使用は、特別に別記しない限り複数を含む。明細書および添付の請求項内で用いられる場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、その文脈が明確に他のことを定めていない限り、複数の指示対象を含む。本出願において、「または」の使用は特に明記しない限り、「および／または」を意味する。さらに、用語「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」の使用は、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」、および「含まれる（ｉｎｃｌｕｄｅｄ）」といった他の形態と同じく、限定的なものではない。
【０４７０】
本明細書で使用される場合、範囲および量は、「約」特定の値または範囲として表現可能である。「約」は正確な量も含んでいる。したがって、「約５μＬ」は、「約５μＬ」と「５μＬ」も意味する。一般に、用語「約」は、実験誤差内にあると予想される量を含んでいる。
【０４７１】
本明細書に使用される段落の見出しは、組織化するためのものに過ぎず、記載される主題を制限するものと解釈されてはならない。
【０４７２】
本明細書で使用される場合、用語「個体」、「被験体」、および「患者」は、任意の哺乳動物を意味する。いくつかの実施形態では、哺乳動物は、ヒトである。いくつかの実施形態では、哺乳動物は非ヒトである。いかなる用語も、保健従事者（例えば、医者、正看護師、臨床看護師、医師助手、看護助手、あるいはホスピスの職員）の監督（例えば、常時または断続的）を特徴とする状況に制限されない。
【実施例】
【０４７３】
これらの実施例は説明目的のみのために提供され、請求項の範囲を制限するものではない。
【０４７４】
化学合成の実施例
実施例１．化合物１－３、および５－８の調製
【０４７５】

【化４８】

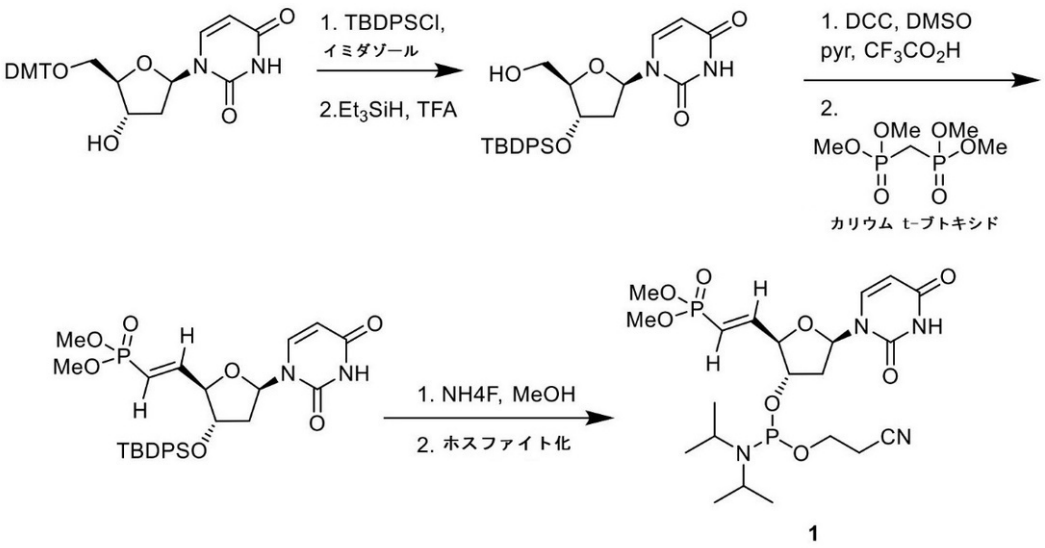


【０４７６】

あるいは以下の通りである：

【０４７７】

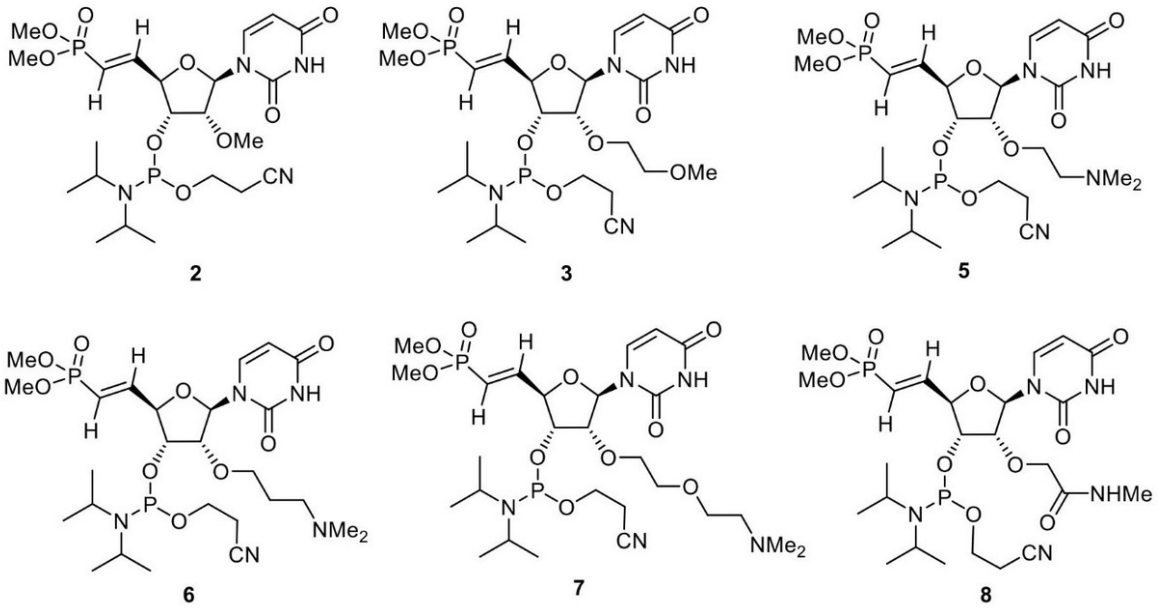
【化４９】



化合物２、３、および５－８を実施例１で例示される手順に従って調製した。

【０４７８】

【化５０】

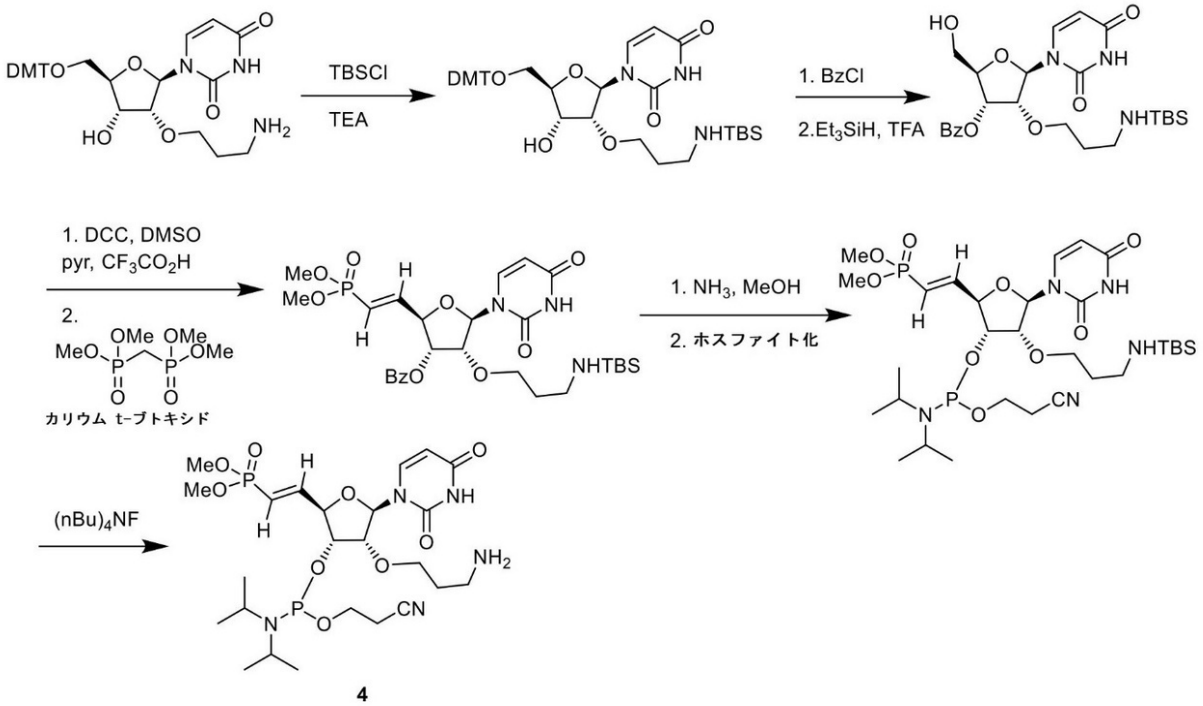


【０４７９】

実施例２：化合物４の調製

【０４８０】

【化５１】

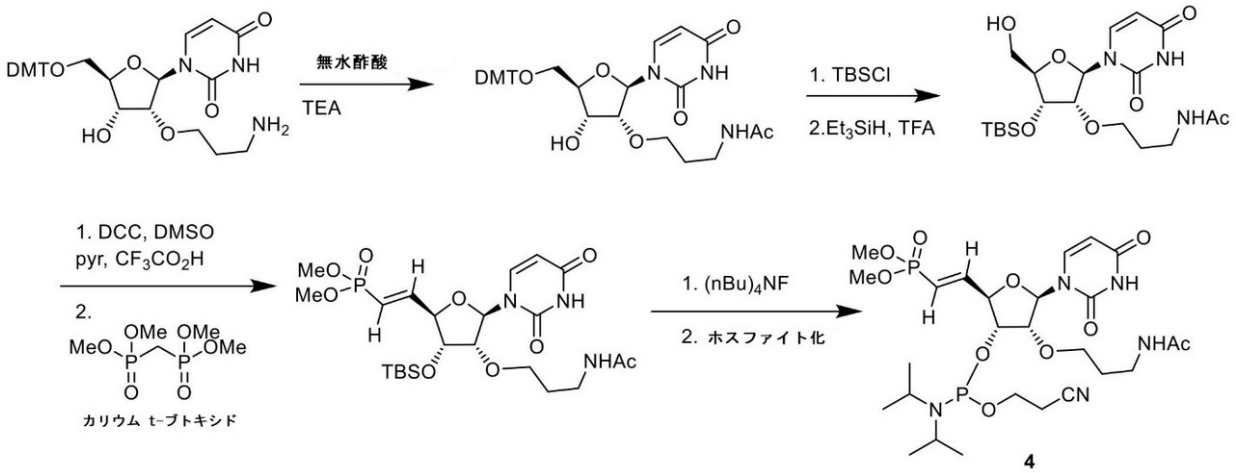


【０４８１】

あるいは以下の通りである：：

【０４８２】

【化５２】

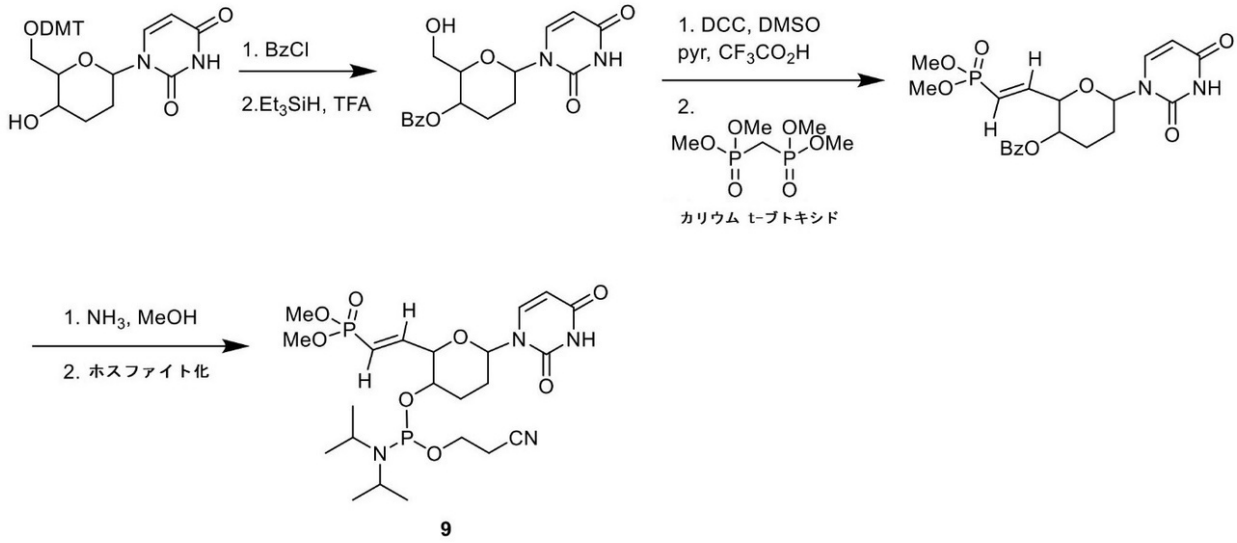


【０４８３】

実施例３：化合物９の調製

【０４８４】

【化５３】

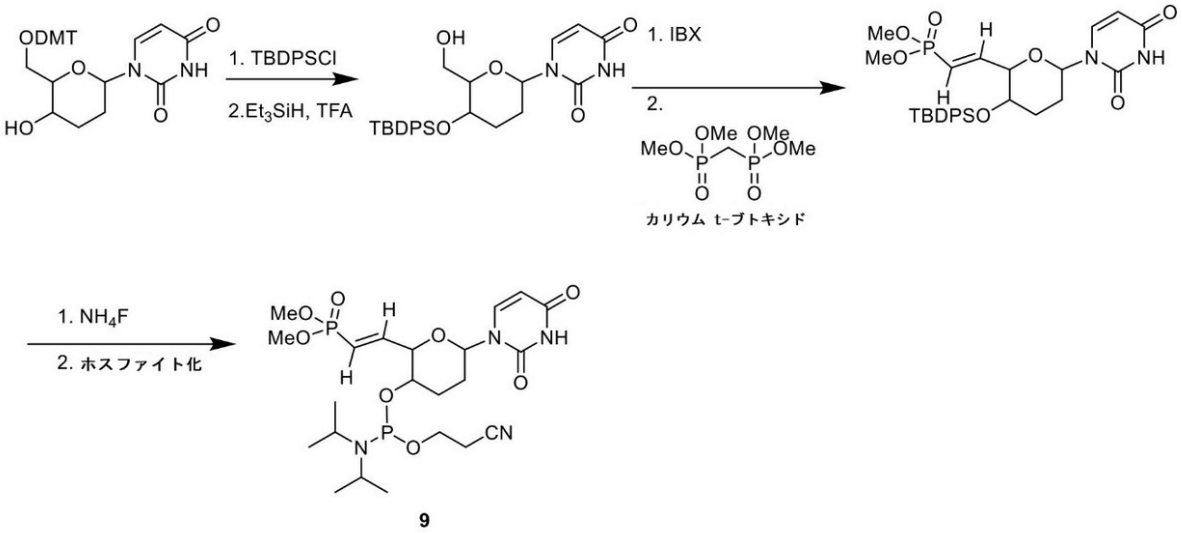


【０４８５】

あるいは以下の通りである：

【０４８６】

【化５４】

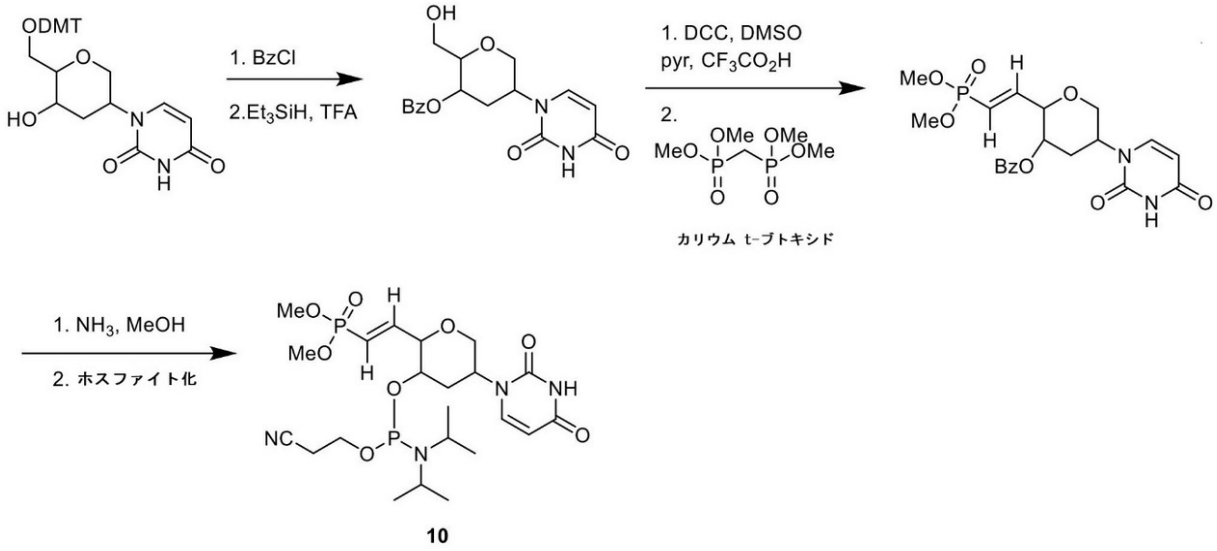


【０４８７】

実施例４：化合物１０の調製

【０４８８】

【化５５】

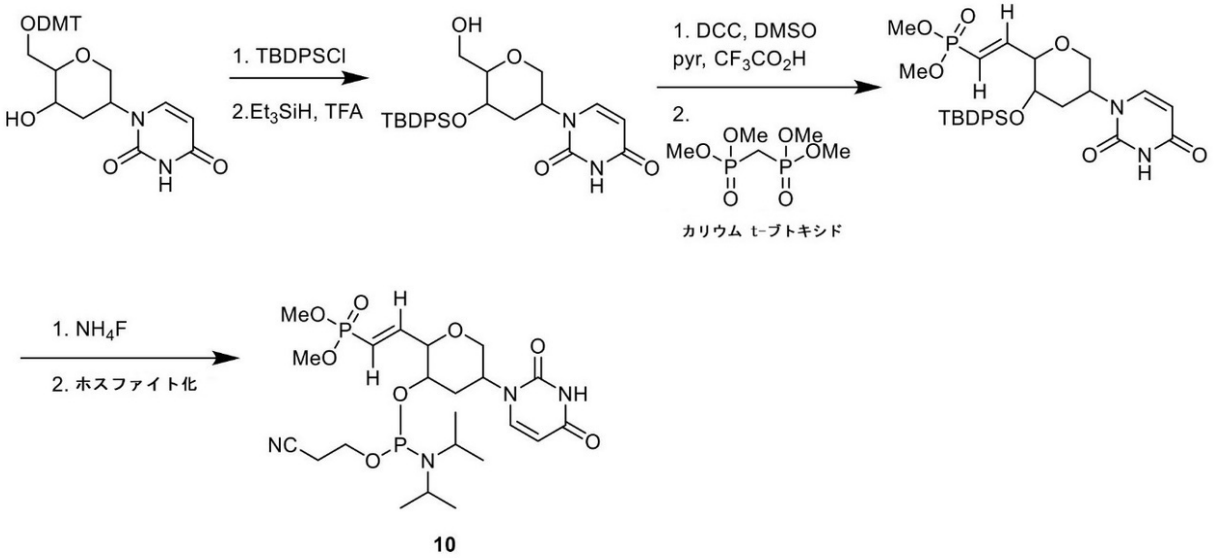


【０４８９】

あるいは以下の通りである：

【０４９０】

【化５６】

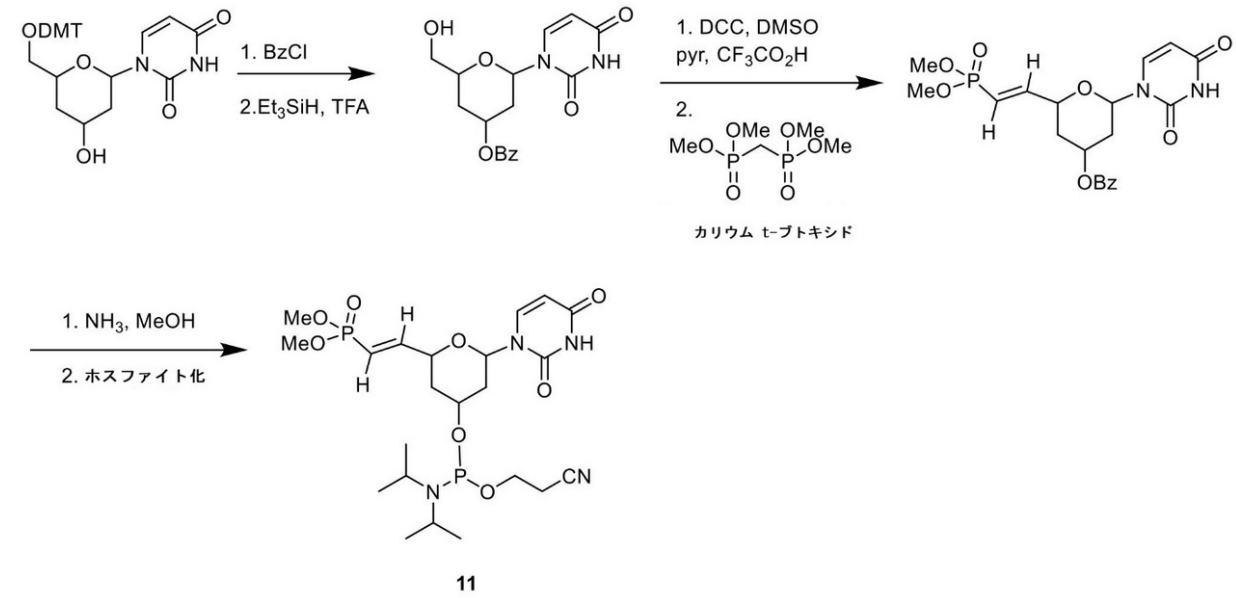


【０４９１】

実施例５．化合物１１の調製

【０４９２】

【化５７】

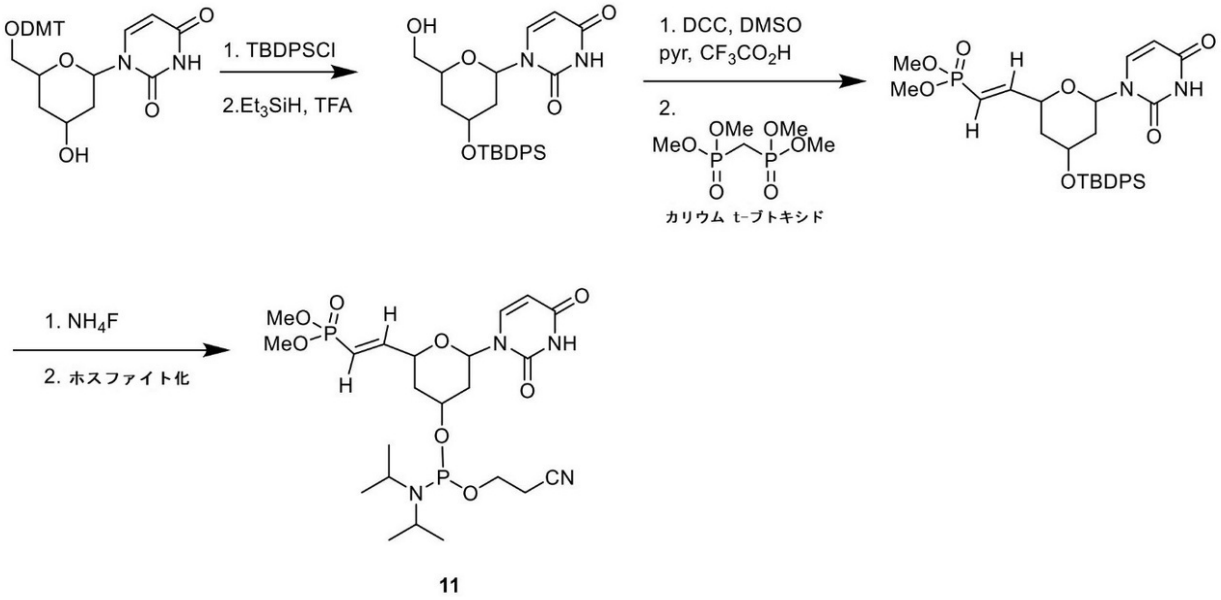


【０４９３】

あるいは以下の通りである：

【０４９４】

【化５８】

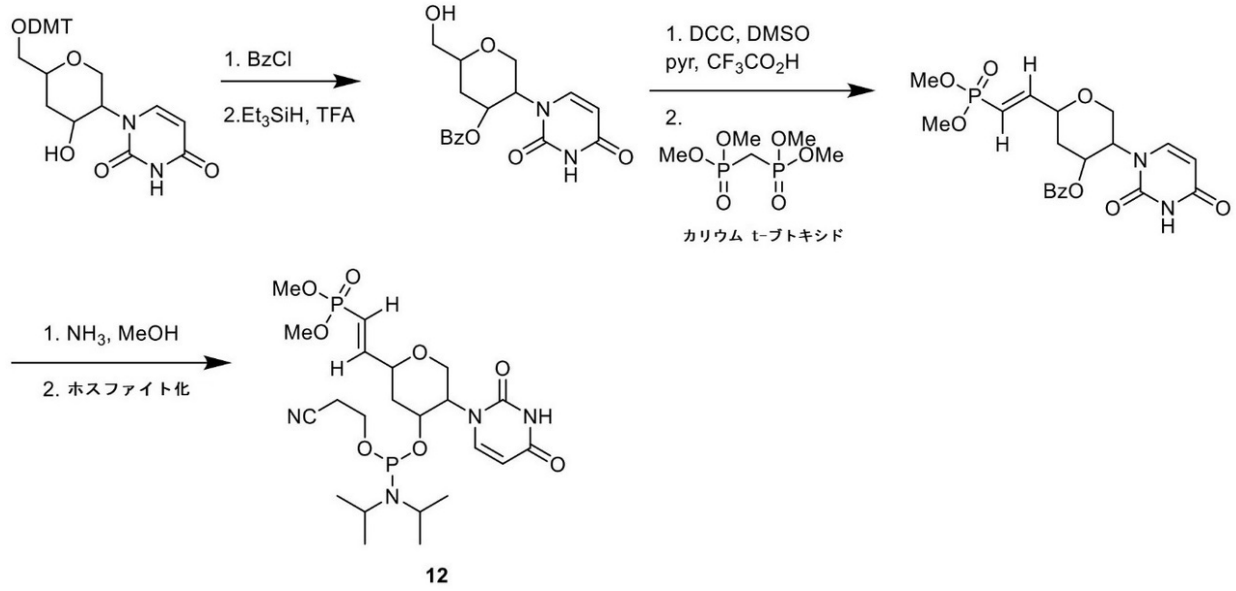


【０４９５】

実施例６．化合物１２の調製

【０４９６】

【化５９】

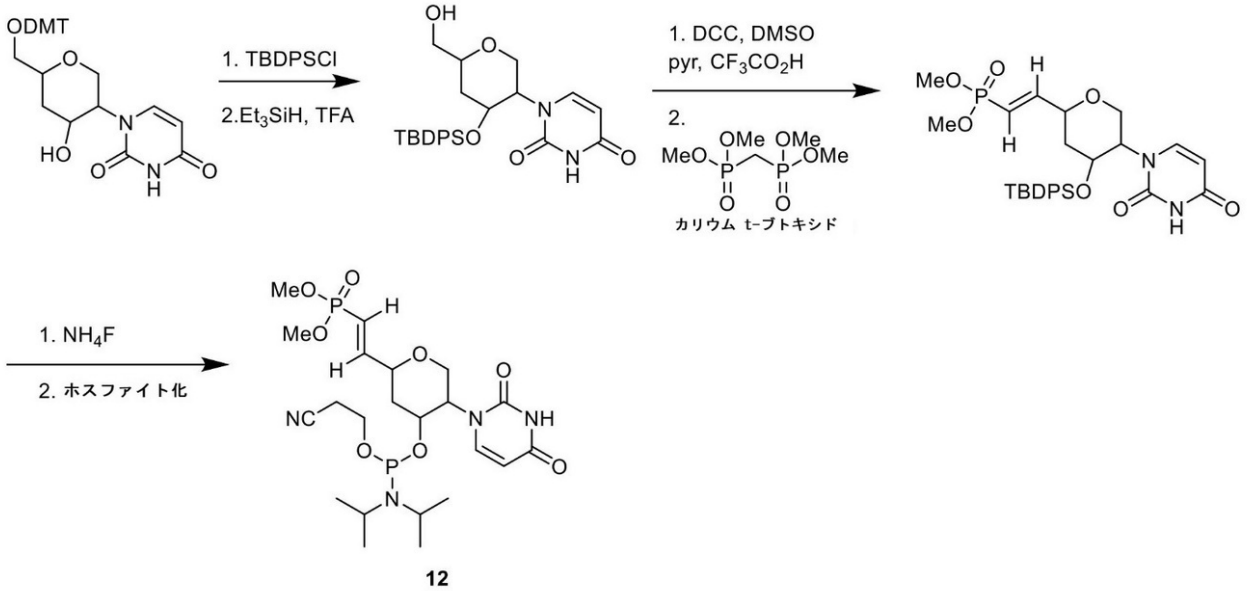


【０４９７】

あるいは以下の通りである：

【０４９８】

【化６０】

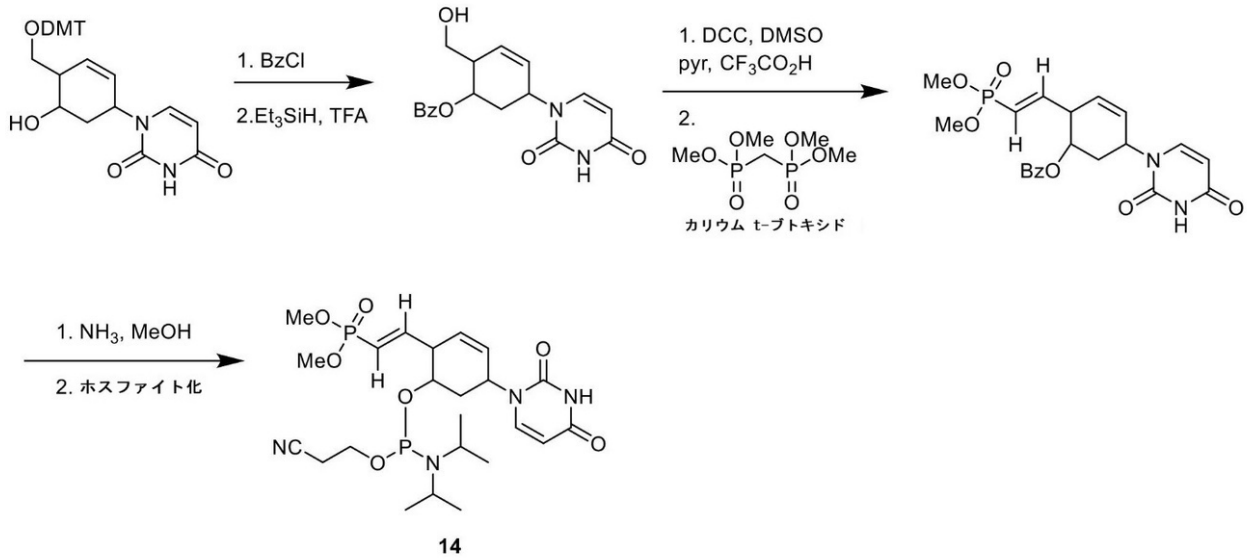


【０４９９】

実施例７．化合物１４の調製

【０５００】

【化６１】

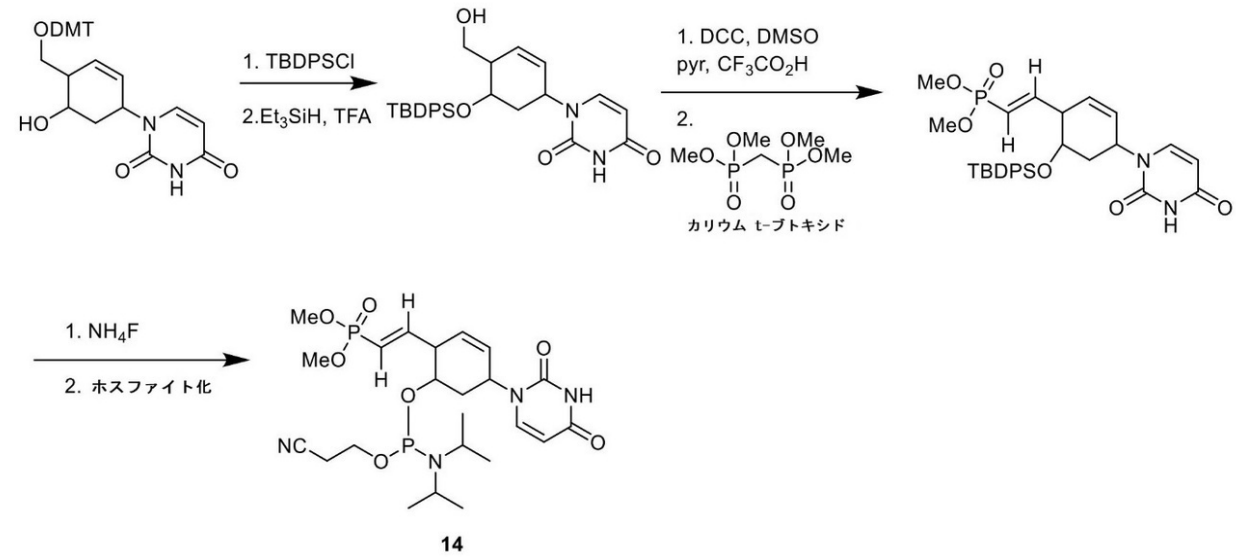


【０５０１】

あるいは以下の通りである：

【０５０２】

【化６２】

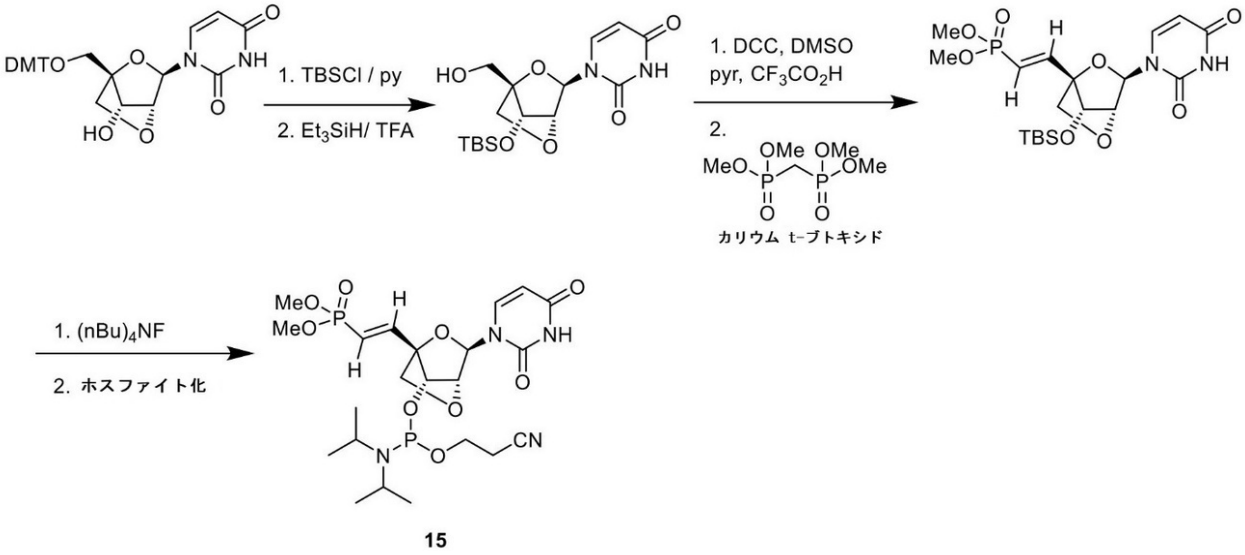


【０５０３】

実施例８：化合物１５の調製

【０５０４】

【化６３】

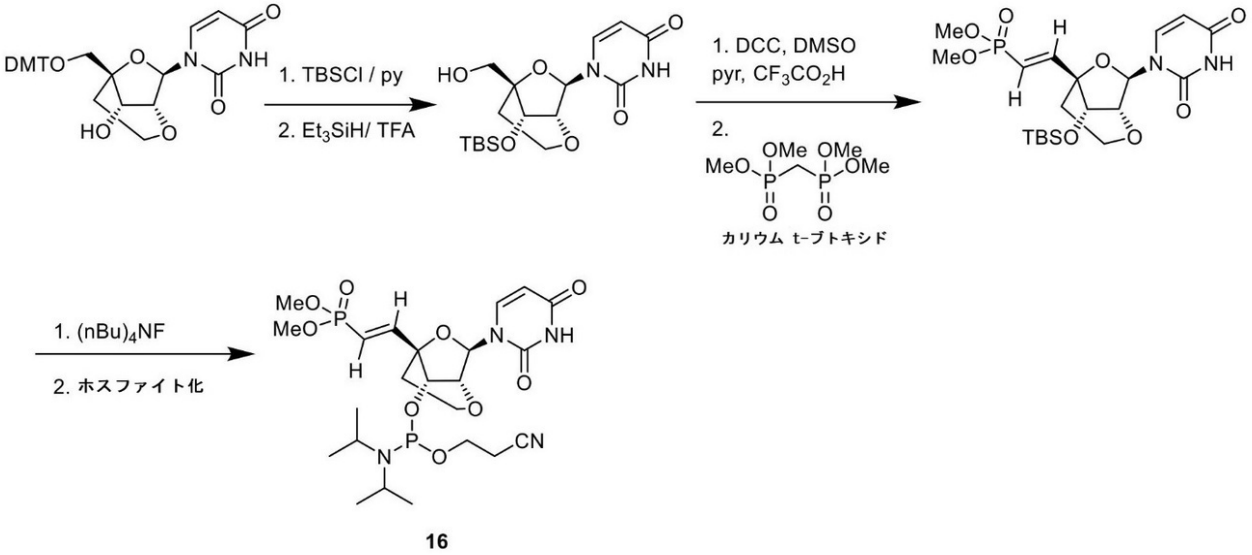


【０５０５】

実施例９．化合物１６の調製

【０５０６】

【化６４】

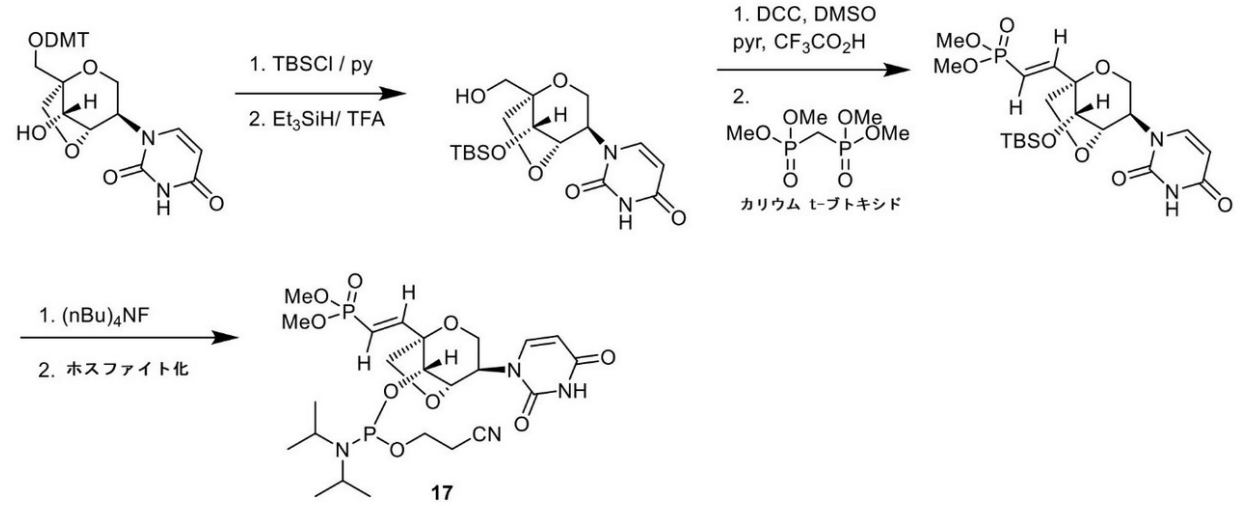


【０５０７】

実施例１０．化合物１７の調製

【０５０８】

【化６５】

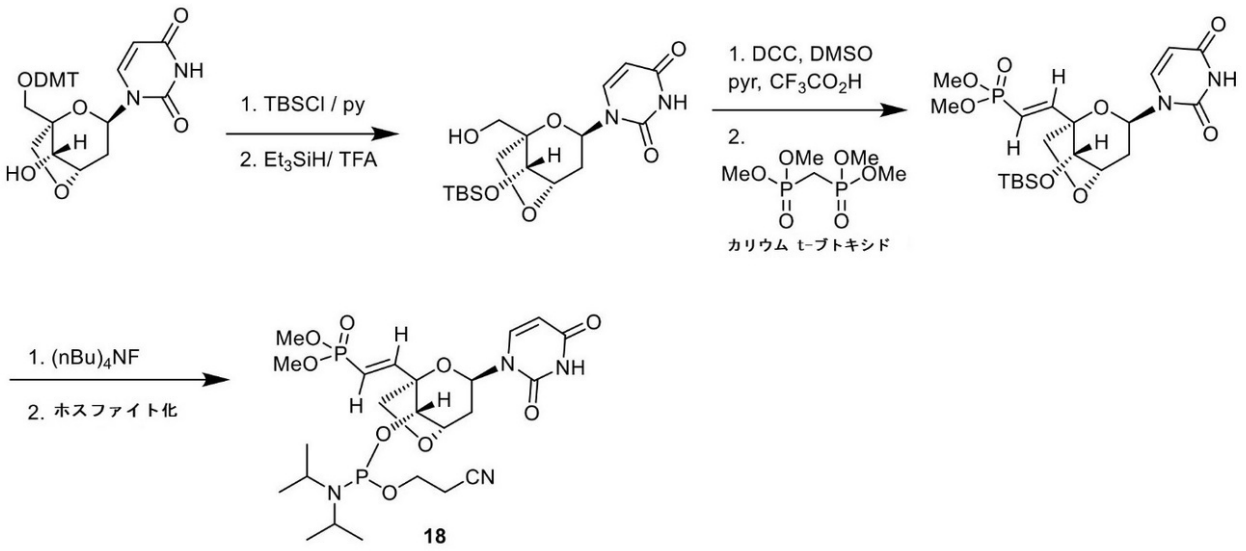


【０５０９】

実施例１１．化合物１８の調製

【０５１０】

【化６６】

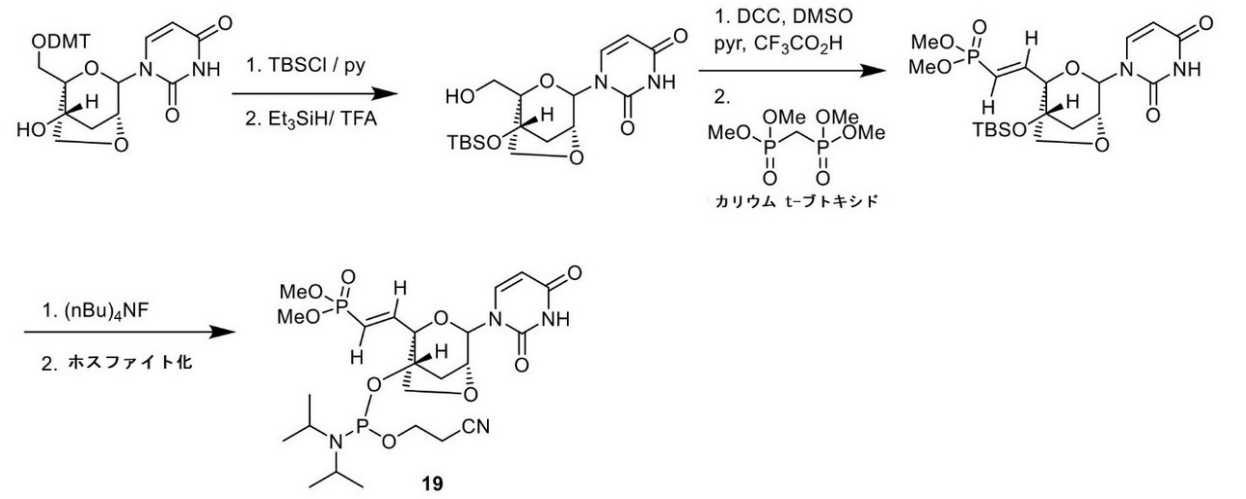


【０５１１】

実施例１２．化合物１９の調製

【０５１２】

【化６７】

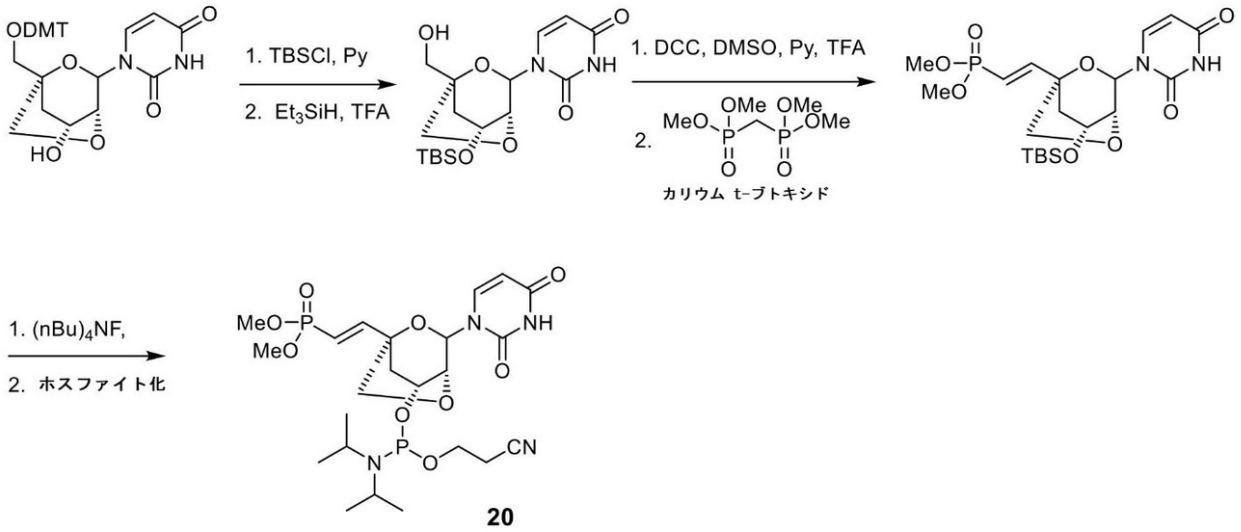


【０５１３】

実施例１３．化合物２０の調製

【０５１４】

【化６８】

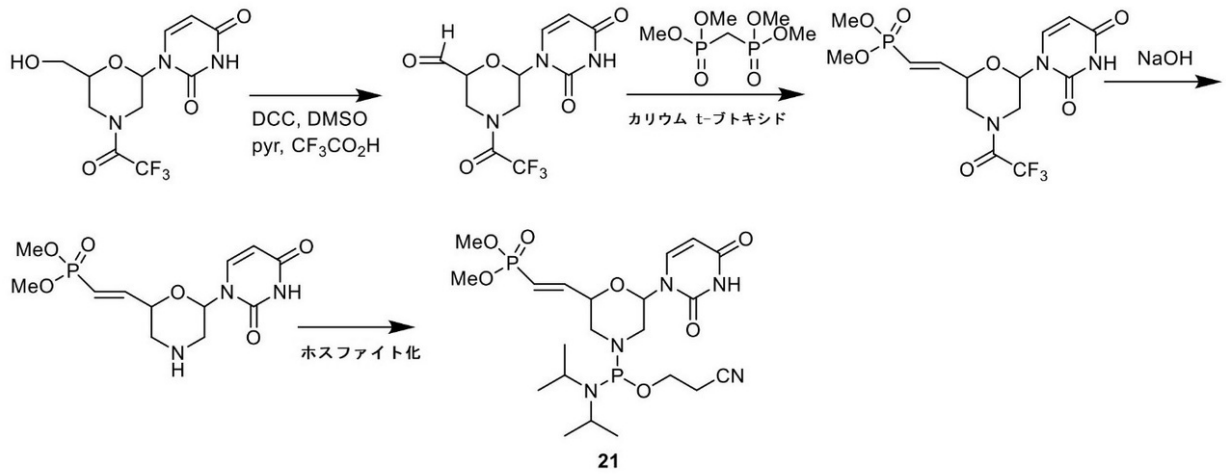


【０５１５】

実施例１４．化合物２１の調製

【０５１６】

【化６９】

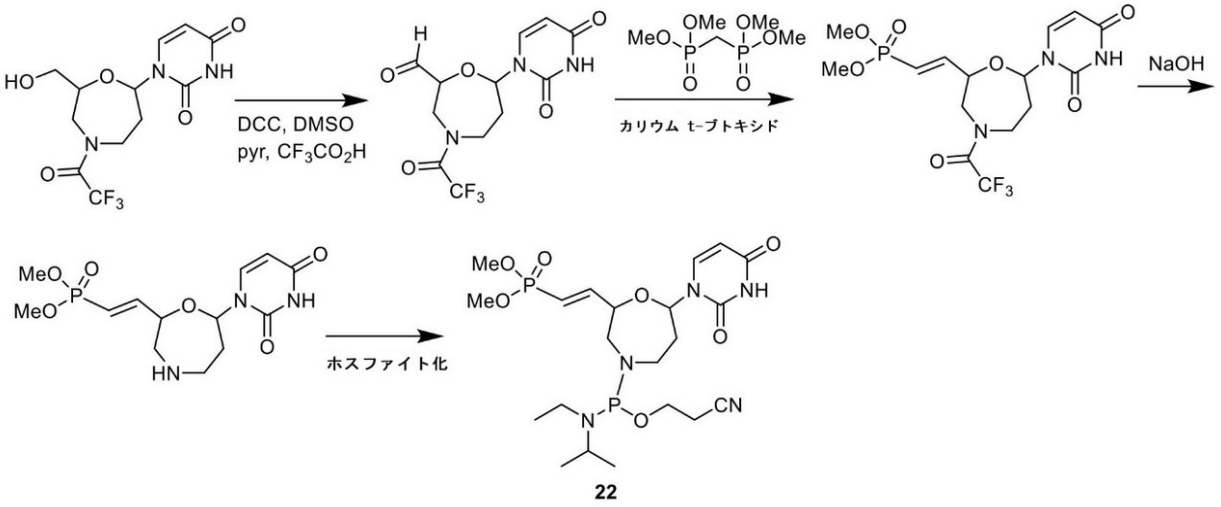


【０５１７】

実施例１５．化合物２２の調製

【０５１８】

【化７０】

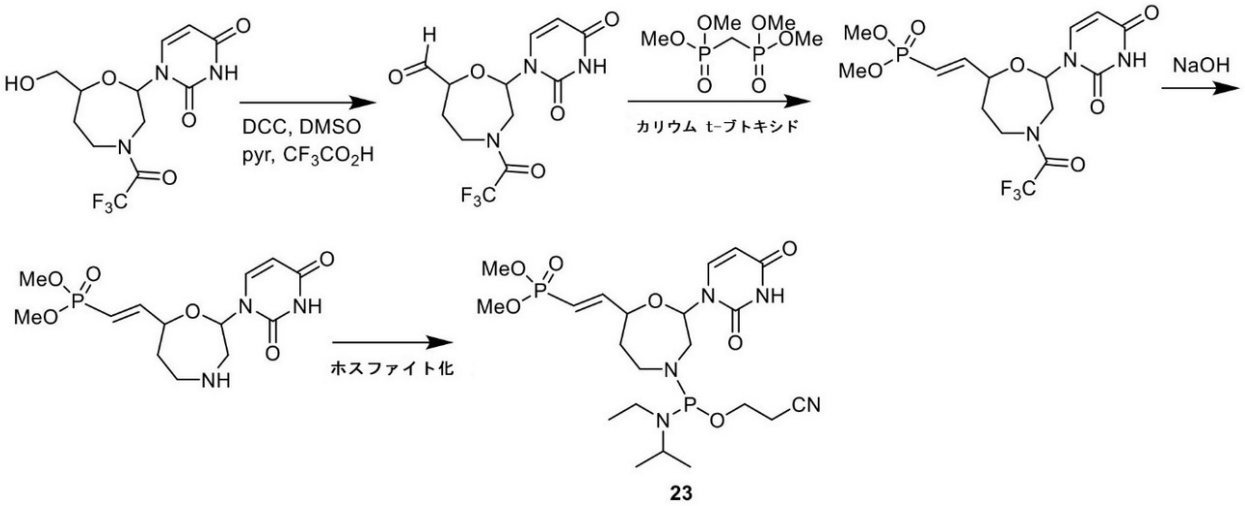


【０５１９】

実施例１６．化合物２３の調製

【０５２０】

【化７１】

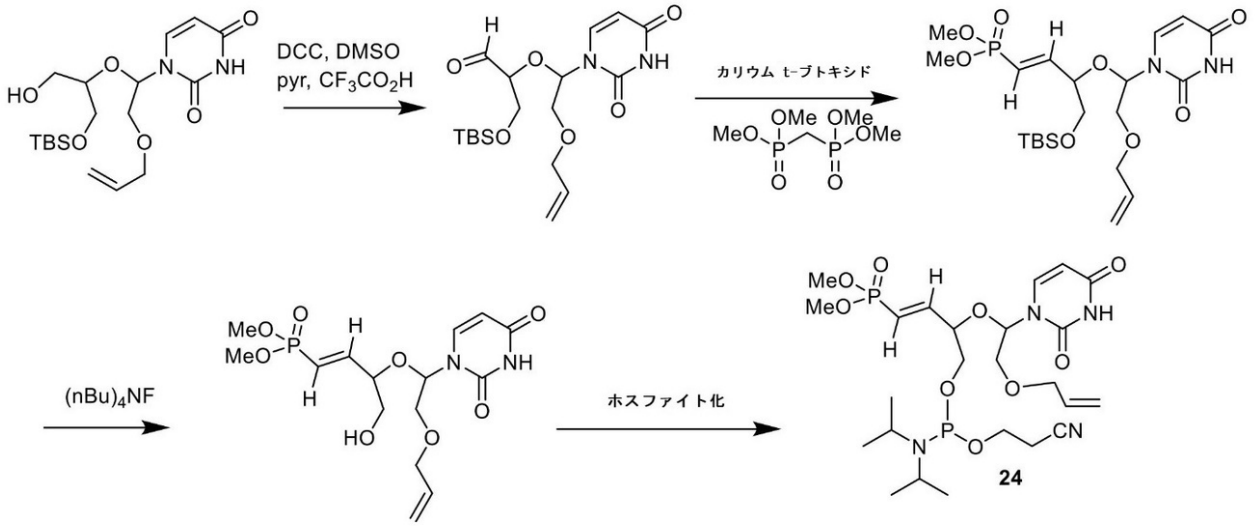


【０５２１】

実施例１７．化合物２４の調製

【０５２２】

【化７２】

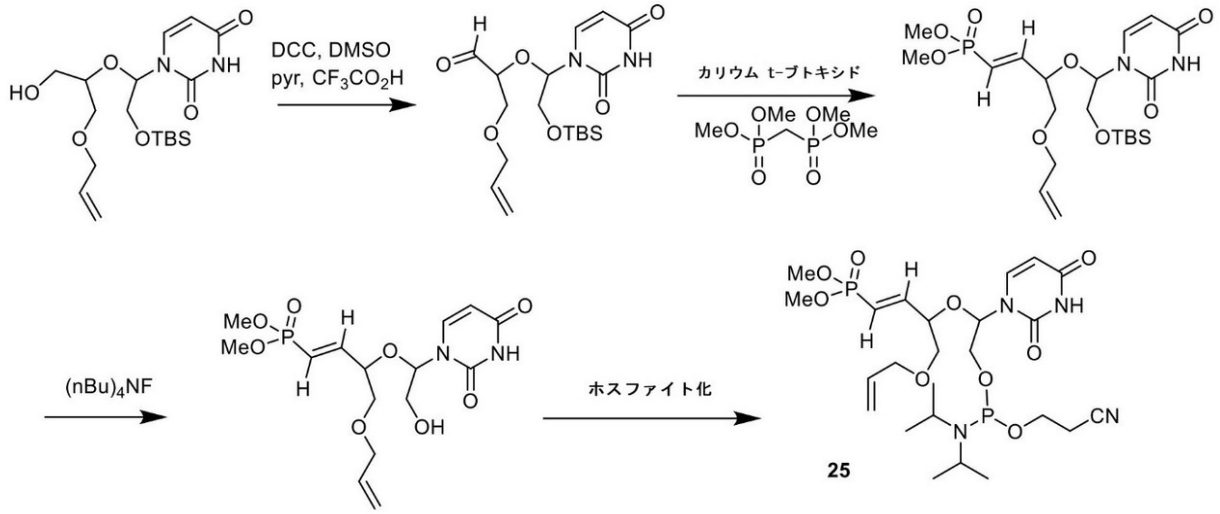


【０５２３】

実施例１８．化合物２５の調製

【０５２４】

【化７３】

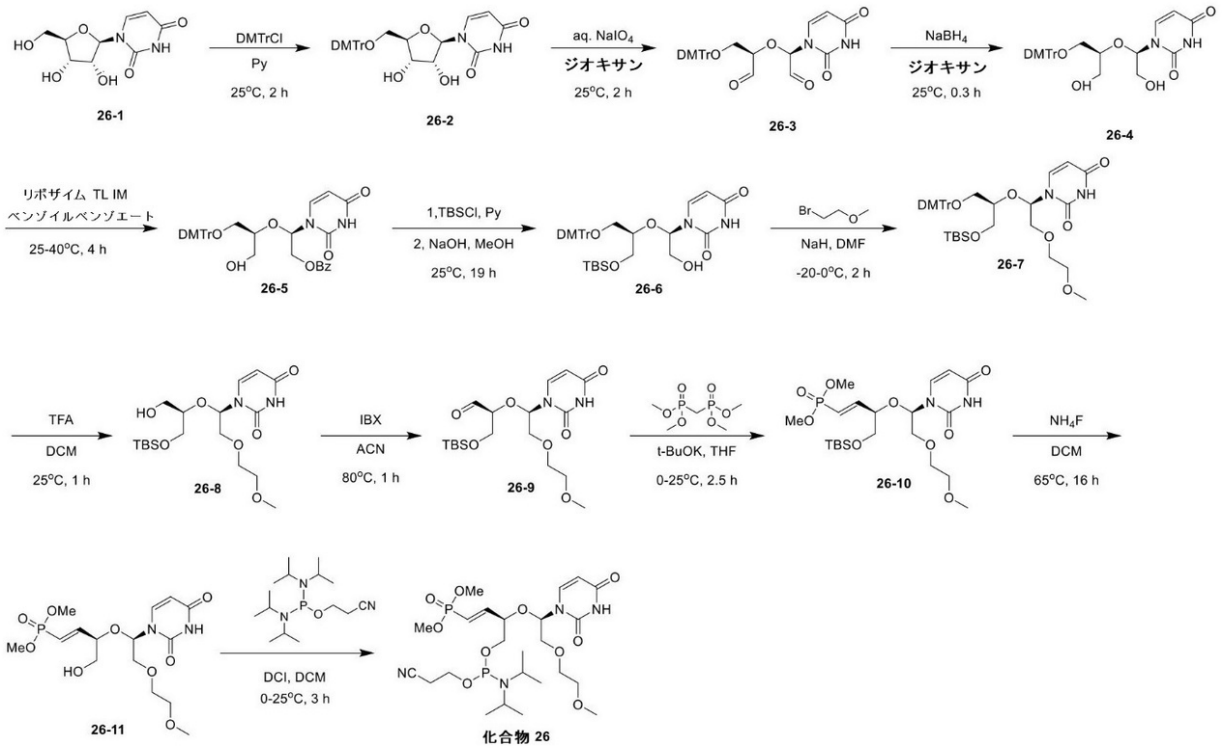


【０５２５】

実施例１９．化合物２６の調製

【０５２６】

【化７４】



【０５２７】

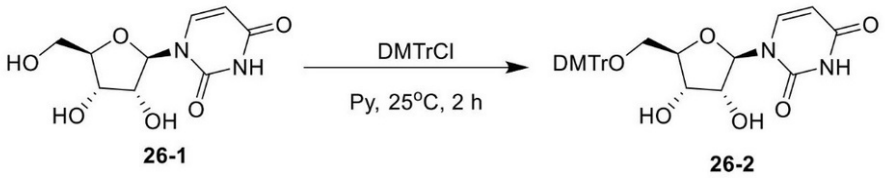
化合物２６の調製のための合成手順

【０５２８】

化合物２６－２

【０５２９】

【化７５】



【０５３０】

Ｐｙ（３５００ｍＬ）中の化合物の２６－１（５００ｇ、２．０５ｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＤＭＴｒＣｌ（７６３ｇ、２．２５ｍｏｌ、１．１０ｅｑ）を加えた。混合物を２５°Ｃで２時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝１０／１、化合物２６－２：R_f＝０．６０）は、化合物２６－１が完全に消費されたことを示した。反応混合物をＤＣＭ（５．０００Ｌ）で希釈し、$NaHCO_3$（２．００Ｌｘ２）で洗浄した。組み合わせた有機質層を、ブライン（２．００Ｌ）で洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物を、カラムクロマトグラフィー（SiO_2、石油エーテル／酢酸エチル／ＴＥＡ＝５０／１／０．５％～０／１／０．５％）によって精製した。白色固形物として化合物２６－２（７００ｇ、５６．３％の収率、９０．０％の純度）を得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ：４００ ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6 δ ｐｐｍ １１．３５（ｓ，１Ｈ），７．７２（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．３６－７．４１（ｍ，２Ｈ），７．３２（ｔ，Ｊ＝７．６Ｈｚ，２Ｈ），７．２０－７．２８（ｍ，５Ｈ），６．９０（ｄ，Ｊ＝８

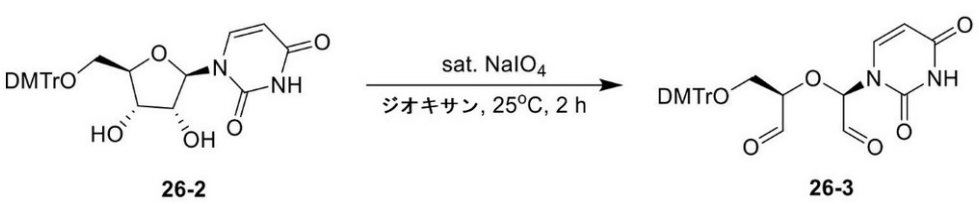
．６　Ｈｚ，　４Ｈ），　５．４８　（ｄ，　Ｊ　＝　４．８　Ｈｚ，　１Ｈ），　５．３１　（ｄ，　Ｊ　＝　８．０　Ｈｚ，　１Ｈ），　５．１４　（ｄ，　Ｊ　＝　５．６　Ｈｚ，　１Ｈ），　４．０９　（ｑ，　Ｊ　＝　５．４　Ｈｚ，　２Ｈ），　３．９２－３．９９　（ｍ，　１Ｈ），　３．７０－３．７８　（ｍ，　６Ｈ），　３．１８－３．３０　（ｍ，　２Ｈ）．

【０５３１】

化合物２６－３

【０５３２】

【化７６】



26-2　　26-3

【０５３３】

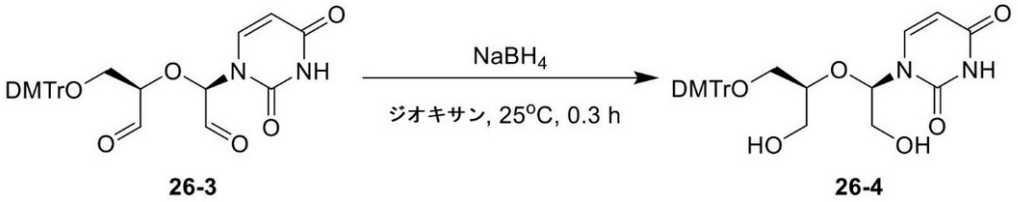
ジオキサン（２５００ｍＬ）中の化合物２６－２（２５０ｇ、４５７ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）溶液に、飽和ＮａＩＯ$_4$（１０３ｇ、４８４ｍｍｏｌ、４．８５ｍＬ、１．０６ｅｑ）溶液を加えた。混合物を２５°Ｃで２時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝１０／１、化合物２６－３：Ｒ$_f$＝０．４９）は、化合物２６－２が完全に消費されたことを示した。反応混合物を濾過した。無色の油として粗製生成物化合物２６－３（２５０ｇ）を得て、それをさらに精製することなく次の工程で使用した。

【０５３４】

化合物２６－４

【０５３５】

【化７７】



26-3　　26-4

【０５３６】

ジオキサン（３０００ｍＬ）中の化合物２６－３（２５０ｇ、４５９ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＮａＢＨ４（１７．３ｇ、４５９ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）を加えた。混合物を２５°Ｃで０．３時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝１０／１、化合物２６－４：Ｒ$_f$＝０．４１）は、化合物２６－３が完全に消費されたことを示した。アセトンを用いて反応混合物をクエンチし、２０％の酢酸で中和し、濃縮して、減圧下で残留物を得た。残留物をＤＣＭ（２．００Ｌ）で希釈し、Ｈ$_2$Ｏ（２．００Ｌ）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$上で乾燥させ、減圧下で濃縮して、残留物を得た。生成物を、さらに精製することなく次の工程で使用した。無色の油として化合物２６－４（２５０ｇ）を得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ：４００　ＭＨｚ，　ＤＭＳＯ－ｄ$_6$　δ　ｐｐｍ　１１．３５　（ｓ，　１Ｈ），　７．６５　（ｄ，　Ｊ　＝　８．０　Ｈｚ，　１Ｈ），　７．２８－７．３３　（ｍ，　４Ｈ），　７．１７－７．２１　（ｍ，　５Ｈ），　６．８６　（ｄ，　Ｊ　＝　８．０　Ｈｚ，　４Ｈ），　５．８３　（ｔ，　Ｊ　＝　６．４　Ｈｚ，　１Ｈ），　５．５３　（ｄ，　Ｊ　＝　８．０　Ｈｚ，　１Ｈ），　５．１３　（ｔ，　Ｊ　＝　８．０　Ｈｚ，　１Ｈ），　４．７５　（ｔ，　Ｊ　＝　５．２　Ｈｚ，　１Ｈ），　３．７６　（ｓ，　６Ｈ），　３．６８－３．７３　（ｍ，　１Ｈ），　３．６０－３．６４

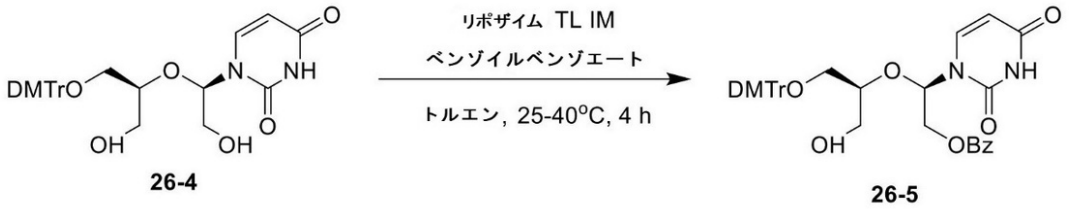
（ｍ，２Ｈ），３．４２（ｔ，Ｊ＝５．２Ｈｚ，２Ｈ），２．９６－３．０２（ｍ，２Ｈ）

【０５３７】

化合物２６－５

【０５３８】

【化７８】



【０５３９】

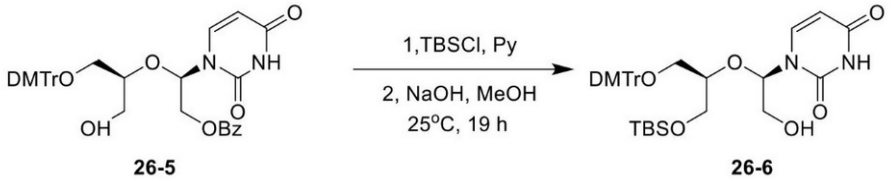
トルエン（２５００ｍＬ）中の化合物２６－４（５０．０ｇ、９１．１ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ベンゾイルベンゾエート（３０．９ｇ、１３６ｍｍｏｌ、２５．７ｍＬ、１．５０ｅｑ）およびｌｉｐｏｚｙｍｅ ＴＬ ＩＭ（３０．０ｇ、２９．２ｍｍｏｌ）を２５°Ｃで加えた。混合物を４０°Ｃで４時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝２０／１、化合物２６－５：R_f＝０．５８）は、化合物２６－４が完全に消費されたことを示した。反応混合物を濾過し、メタノール（２５０ｍＬ）の添加によってクエンチし、減圧下で濃縮することで、残留物を得て、それをカラムクロマトグラフィー（SiO_2、石油エーテル／酢酸エチル／ＴＥＡ＝１０／１／０．５％～１／２／０．５％）により精製した。白色固形物として化合物２６－５（３７．５ｇ、６３．０％の収率）を得た。

【０５４０】

化合物２６－６

【０５４１】

【化７９】



【０５４２】

Ｐｙ（１７００ｍＬ）中の化合物２６－５（３４０ｇ、５２０ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＴＢＳＣｌ（１５７ｇ、１．０４ｍｏｌ、１２７ｍＬ、２．００ｅｑ）を２５°Ｃ以下で加えた。混合物を２５°Ｃで１９時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝２０／１、化合物２６－６：R_f＝０．３７）は、化合物２６－５が完全に消費されたことを示した。水（３４０ｍＬ）を反応混合物に加えた。ヌクレオシドを含有する結果として生じる混合物を、ＭｅＯＨ（１．００Ｌ）に溶解し、その後、０°ＣでＭｅＯＨ（１．００Ｌ、ｐＨ＝１０）中のＮａＯＨを滴下で加え、次に、０°Ｃで２．５時間撹拌した。混合物を減圧下で濃縮して、残留物を得た。飽和水性NH_4Cl（１．００Ｌ）を混合物に加え、１０分間撹拌した。水（１．００Ｌ）を加えて、混合物をＤＣＭ（１．００Ｌ）で抽出し、Na_2SO_4上で乾燥させ、ろ過し、減圧下で濃縮することで残留物を得て、それをカラムクロマトグラフィー（SiO_2、石油エーテル／酢酸エチル／ＴＥＡ＝１０／１／０．５％～０／１／０．５％）により精製した。白色固形物として化合物２６－６（２５０ｇ、３３９ｍｍｏｌ、６５．２％の収率、９０．０％の純度）を得た。^1H ＮＭＲ：４００ ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6 δ ｐｐｍ １１．３５（ｓ，１Ｈ）

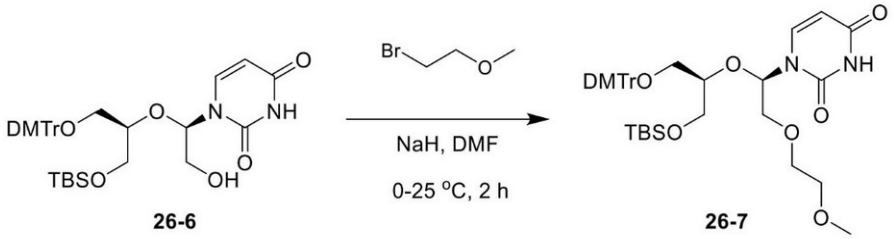
，７．６５（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．２４－７．３３（ｍ，４Ｈ），７．１４－７．２２（ｍ，５Ｈ），６．８２－６．８８（ｍ，４Ｈ），５．８３（ｔ，Ｊ＝５．８Ｈｚ，１Ｈ），５．４７－５．５７（ｍ，１Ｈ），５．１１（ｔ，Ｊ＝５．８Ｈｚ，１Ｈ），３．７２（ｄ，Ｊ＝０．８Ｈｚ，６Ｈ），３．５７－３．６７（ｍ，４Ｈ），３．４６－３．５５（ｍ，１Ｈ），２．９４－３．００（ｍ，２Ｈ），０．７２－０．７８（ｍ，９Ｈ），－０．０４（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，５Ｈ）

【０５４３】

化合物２６－７

【０５４４】

【化８０】



【０５４５】

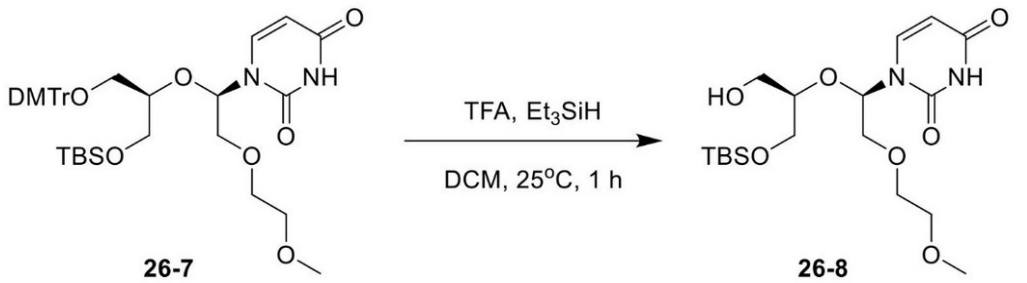
ＤＭＦ（５００ｍＬ）中の化合物２６－６（５０．０ｇ、７５．４ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＮａＨ（９．９６ｇ、２４８．ｍｍｏｌ、１．８１ｕＬ、６０％の純度、３．３０ｅｑ）を－２０°Ｃで加え、－２０°Ｃで０．５時間撹拌した。その後、アルコキシブロミド（１５．７ｇ、１１３．ｍｍｏｌ、１０．６ｍＬ、１．５０ｅｑ）を反応物に加えた。混合物を０°Ｃで１．５時間撹拌した。ＴＬＣ（石油エーテル／酢酸エチル＝１／２、化合物７：$Ｒ_{ｆ}$＝０．４３）は、化合物２６－６が完全に消費されたことを示した。反応混合物を２５°Ｃの$ＮＨ_{4}Ｃｌ$（１．００Ｌｘ２）の添加によってクエンチし、その後、酢酸エチル（５００ｍＬ）で希釈し、水（５００ｍＬ）で洗浄した。組み合わせた有機質層を、ブライン（５００ｍＬ）で洗浄し、$Ｎａ_{2}ＳＯ_{4}$上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー（$ＳｉＯ_{2}$、石油エーテル／酢酸エチル／ＴＥＡ＝１０／１／０．５％～０／１／０．５％）により精製した。無色の油として、化合物２６－７（３４．０ｇ、４７．１ｍｍｏｌ、６２．５％の収率）を得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ：４００ ＭＨｚ ＤＭＳＯ－$ｄ_{6}$ δ ｐｐｍ １１．４０（ｄ，Ｊ＝１．８Ｈｚ，１Ｈ），７．６８（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ），７．２４－７．３３（ｍ，５Ｈ），７．１４－７．２２（ｍ，５Ｈ），６．８１－６．８８（ｍ，４Ｈ），５．９６－６．０２（ｍ，１Ｈ），５．５５（ｄｄ，Ｊ＝８．０，２．０Ｈｚ，１Ｈ），３．７３（ｄ，Ｊ＝０．８Ｈｚ，６Ｈ），３．７０（ｄｄ，Ｊ＝６．０．，２．２Ｈｚ，２Ｈ），３．６２－３．６６（ｍ，２Ｈ），３．５３－３．５７（ｍ，２Ｈ），３．５０－３．５３（ｍ，１Ｈ），３．３８－３．４２（ｍ，２Ｈ），３．２０－３．２２（ｍ，３Ｈ），２．９４－３．００（ｍ，２Ｈ），０．７２－０．８２（ｍ，９Ｈ），－０．０４（ｄ，Ｊ＝７．４Ｈｚ，５Ｈ）

【０５４６】

化合物２６－８

【０５４７】

【化８１】



26-7　　26-8

【０５４８】

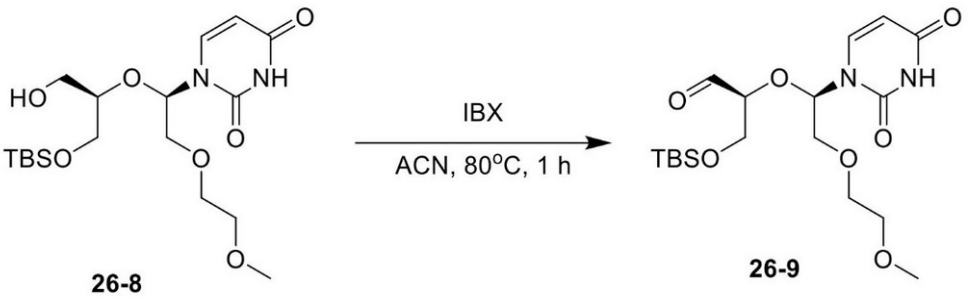
ＤＣＭ（４６８ｍＬ）中の化合物２６－７（４６．８ｇ、６４．９ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＴＦＡ（４３．１ｇ、３７８ｍｍｏｌ、２８．０ｍＬ、５．８３ｅｑ）およびＥｔ$_3$ＳｉＨ（１５．１ｇ、１２９ｍｍｏｌ、２０．７ｍＬ、２．００ｅｑ）を加えた。混合物を２５°Ｃで１時間撹拌した。ＴＬＣ（石油エーテル／酢酸エチル＝０／１、化合物２６－８：Ｒ$_f$＝０．４３）は、化合物２６－７が完全に消費されたことを示した。反応混合物をＤＣＭ（５００ｍＬ）で希釈し、Ｈ$_2$Ｏ（５００ｍＬ）で洗浄した。組み合わせた有機質層を、ＮａＨＣＯ$_3$（１５００ｍＬｘ３）およびブライン（５００ｍＬ）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー（ＳｉＯ$_2$、石油エーテル／酢酸エチル＝１０／１～０／１）により精製した。無色の油として化合物２６－８（１７．０ｇ、３６．５ｍｍｏｌ、５６．３％の収率、９０．０％の純度）を得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ：４００ ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_6$ δ ｐｐｍ １１．８７（ｓ，１Ｈ），８．１７（ｄ，Ｊ＝８．２ Ｈｚ，１Ｈ），７．７５－７．８７（ｍ，４Ｈ），７．６３－７．７４（ｍ，５Ｈ），７．３６（ｄｄ，Ｊ＝９．０，２．６ Ｈｚ，４Ｈ），６．３４（ｔ，Ｊ＝５．８ Ｈｚ，１Ｈ），６．０５（ｄ，Ｊ＝８．０ Ｈｚ，１Ｈ），５．６２（ｔ，Ｊ＝５．８ Ｈｚ，１Ｈ），４．２４（ｓ，６Ｈ），４．０９－４．２０（ｍ，４Ｈ），４．０２（ｄ，Ｊ＝４．６ Ｈｚ，１Ｈ），３．８３（ｓ，１Ｈ），２．９５－３．０９（ｍ，４Ｈ），１．２８（ｓ，９Ｈ），０．４８（ｄ，Ｊ＝８．２ Ｈｚ，６Ｈ）．

【０５４９】

化合物２６－９

【０５５０】

【化８２】



26-8　　26-9

【０５５１】

ＡＣＮ（１７０ｍＬ）中の化合物２６－８（１７．０ｇ、４０．６ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＩＢＸ（１７．１ｇ、６０．９ｍｍｏｌ、１．５０ｅｑ）を加えた。混合物を８０°Ｃで１時間撹拌した。ＬＣ－ＭＳは、化合物２６－８が完全に消費されたこ

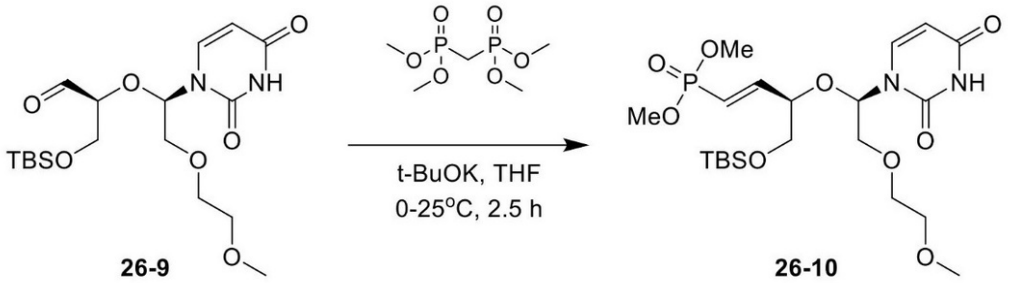
とを示した。反応混合物をろ過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。無色の油として粗生成物化合物２６－９（１７．０ｇ、粗製）を得て、それをさらに精製することなく次の工程で使用した。

【０５５２】

化合物２６－１０

【０５５３】

【化８３】



【０５５４】

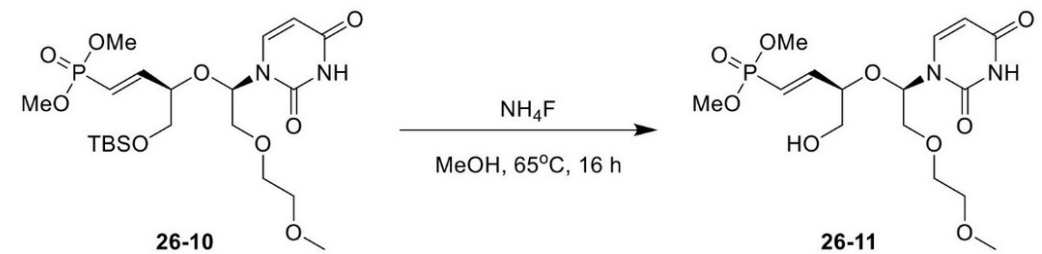
ＴＨＦ（１００ｍＬ）中の化合物テトラメチル　メチレンジホスホネート（１５．１ｇ、６５．３ｍｍｏｌ、１．６０ｅｑ）の溶液に、ｔ－ＢｕＯＫ（６．８７ｇ、６１．２ｍｍｏｌ、１．５０ｅｑ）を０°Ｃで滴下で加え、混合物を２５°Ｃで０．５時間撹拌した。その後、混合物をＴＨＦ（７０．０ｍＬ）中の化合物２６－９（１７．０ｇ、４０．８ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）に滴下で加え、０°Ｃで１時間撹拌し、２５°Ｃに到達させ、２５°Ｃで１時間撹拌した。ＴＬＣ（石油エーテル／酢酸エチル＝０／１、化合物１０：R_f＝０．０７）は、化合物２６－９が完全に消費されたことを示した。反応混合物を、NH_4Cl（５００ｍＬ）の添加によってクエンチし、その後、酢酸エチル（２００ｍＬ）で希釈し、抽出した。組み合わせた有機質層を、ブライン（２００ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー（SiO_2、石油エーテル／酢酸エチル＝１０／１～０／１）により精製した。白色固形物として化合物２６－１０（１１．４ｇ、１６．３ｍｍｏｌ、４０．１％の収率、７５．０％の純度）を得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ：４００　ＭＨｚ，　ＣＤＣｌ$_3$　δ　ｐｐｍ　９．１９　（ｓ，　１Ｈ），　７．４３　（ｄ，　Ｊ　＝　８．１６　Ｈｚ，　１Ｈ），　６．５１－６．６７　（ｍ，　１Ｈ），　６．１３　（ｔ，　Ｊ　＝　４．７８　Ｈｚ，　１Ｈ），　５．８２－５．９５　（ｍ，　１Ｈ），　５．７２　（ｄｄ，　Ｊ　＝　８．０４，　１．８８　Ｈｚ，　１Ｈ），　４．２０　（ｓ，　１Ｈ），　３．６３－３．７８　（ｍ，　１２Ｈ），　３．４５－３．５４　（ｍ，　２Ｈ），　３．３１－３．３７　（ｍ，　３Ｈ），　０．８２－０．９４　（ｍ，　９Ｈ），　０．００－０．１０　（ｍ，　６Ｈ）．

【０５５５】

化合物２６－１１

【０５５６】

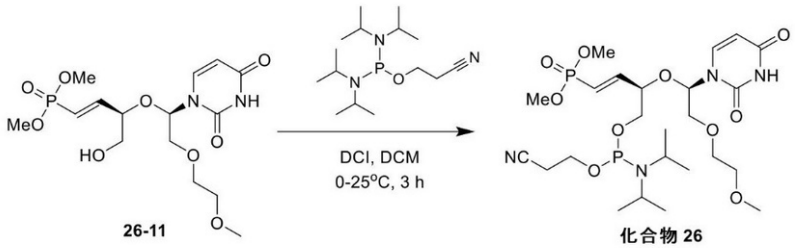
【化８４】



【０５５７】
メタノール（１１４ｍＬ）中の化合物２６－１０（１１．４ｇ、２１．ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＮＨ４Ｆ（６．４６ｇ、１７４ｍｍｏｌ、８．００ｅｑ）を加えた。混合物を６５°Ｃで１６時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝２０／１、化合物１０：R_f＝０．２８）は、化合物２６－１０が完全に消費されたことを示した。反応混合物を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー（SiO_2、酢酸エチル／ＭｅＯＨ＝１００／１～１０／１）により精製した。無色の油として化合物２６－１１（５．９０ｇ、１３．０ｍｍｏｌ、５９．６％の収率、９０．０％の純度）を得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ：４００ ＭＨｚ ＤＭＳＯ－d_6，δ ｐｐｍ １１．２９（ｓ，１Ｈ） ７．７４（ｄ，Ｊ＝８．０ Ｈｚ，１Ｈ） ６．４２－６．６２（ｍ，１Ｈ） ５．９０－５．９８（ｍ，２Ｈ） ５．６２（ｄｄ，Ｊ＝８．０，１．２ Ｈｚ，１Ｈ） ５．０１（ｔ，Ｊ＝５．６ Ｈｚ，１Ｈ） ４．１８（ｄ，Ｊ＝１．６ Ｈｚ，１Ｈ） ４．１０（ｑ，Ｊ＝５．２ Ｈｚ，１Ｈ） ３．７０－３．７６（ｍ，２Ｈ） ３．５０－３．５８（ｍ，８Ｈ） ３．４３－３．４９（ｍ，１Ｈ） ３．３６－３．４１（ｍ，２Ｈ） ３．２１（ｓ，３Ｈ） ３．１７（ｄ，Ｊ＝５．２ Ｈｚ，２Ｈ） １．９１（ｓ，１Ｈ）

【０５５８】
化合物２６

【０５５９】
【化８５】



【０５６０】
ＤＣＭ（４９．０ｍＬ）中の化合物２６－１１（４．９０ｇ、１２．０ｍｍｏｌ、１．００ｅｑ）の溶液に、ＤＣＩ（２．２７ｇ、１９．２ｍｍｏｌ、１．６０ｅｑ）および２－シアノエチルＮ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ－テトライソプロピルホスホロジアミダイト（ｔｅｔｒａｉｓｏｐｒｏｐｙｌｐｈｏｓｐｈｏｒｏｄｉａｍｉｄｉｔｅ）（６．５１ｇ、２１．６ｍｍｏｌ、６．８６ｍＬ、１．８０ｅｑ）を０°Ｃで加えた。混合物を２５°Ｃで３時間撹拌した。ＴＬＣ（ＤＣＭ／ＭｅＯＨ＝１０／１、化合物２６：R_f＝０．５８）は、化合物２６－１１が完全に消費されたことを示した。反応混合物をＤＣＭ（５０．０ｍＬ）で希釈し、水性ＮａＨＣＯ$_3$（５０．０ｍＬｘ２）で洗浄した。組み合わせた有機質層を、ブライン（５０．０ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィー（SiO_2、石油エーテル／酢酸エチル／ＴＥＡ＝１００／１／０．５％～０／１／０．５％）により精製した。無色の油として化合物２６（５．４０ｇ、８．５２ｍｍｏｌ、７０．９％の収率、９６．０％の純度）を得た。
^{31}Ｐ ｄｅｃｏｕｐｌｅｄ ^{1}Ｈ ＮＭＲ：（４００ＭＨｚ，CD_3CN）：δ ７．４２－７．４５（ｄｄ，Ｊ＝８Ｈｚ，１Ｈ），δ ６．４２－６．４７（ｄｄ，Ｊ＝１７．２ Ｈｚ，１Ｈ），５．９７－５．８４（ｍ，２Ｈ），５．５４－５．５２（ｄ，Ｊ＝８Ｈｚ，１Ｈ），４．２７－４．２３（ｍ，１Ｈ），３．７５－３．５０（ｂｒ，１２ Ｈ），３．３６－３．３０（ｂｒ，２Ｈ），３．１８（ｓ，３Ｈ），２．６０－２．５７（ｍ，２Ｈ），１．１０－１．０９（ｄ，１２Ｈ） ^{31}Ｐ ＮＭＲ （４００ ＭＨｚ，CD_3CN） δ１４８．６，

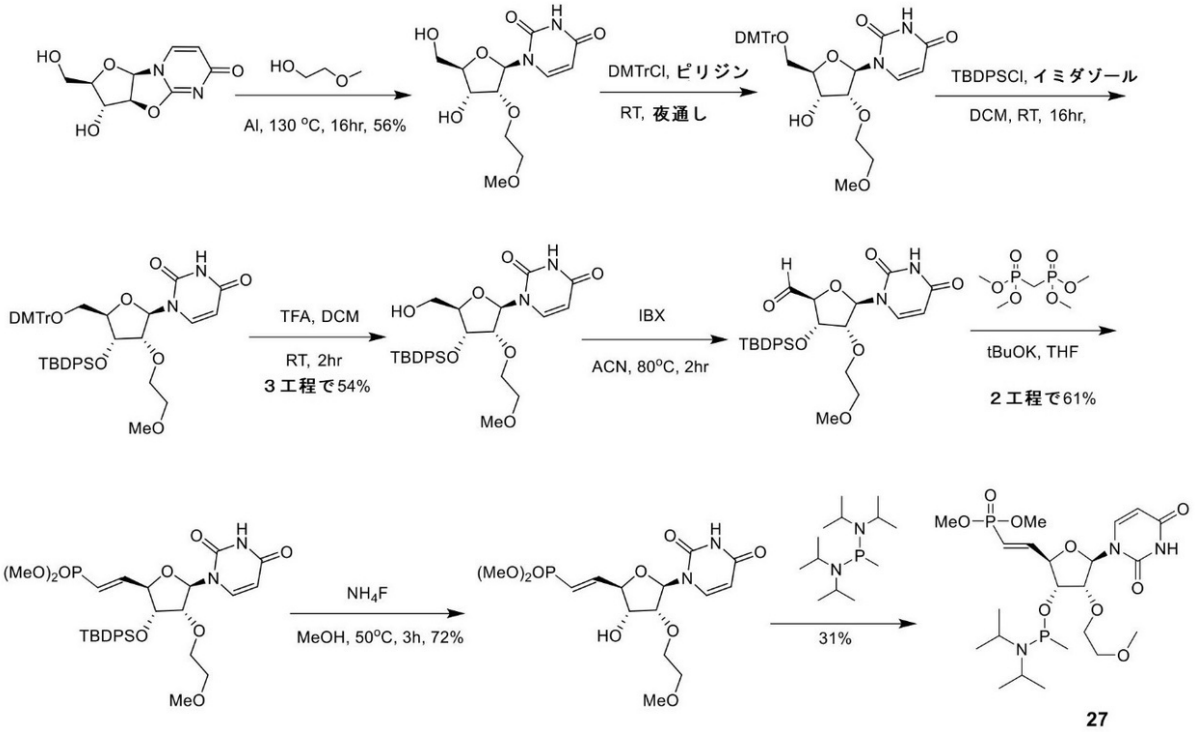
１４８．４，１９．２４，１９．２２ＭＳ（ＥＳＩ）ｃａｌｃｕｌａｔｅｄ ｆｏｒ $C_{24}H_{42}N_4O_{10}P_2$（Ｍ－Ｈ）－ ｍ／ｚ＝６０７．２，ｆｏｕｎｄ ６０７．２

【０５６１】

実施例２０．化合物２７の調製

【０５６２】

【化８６】

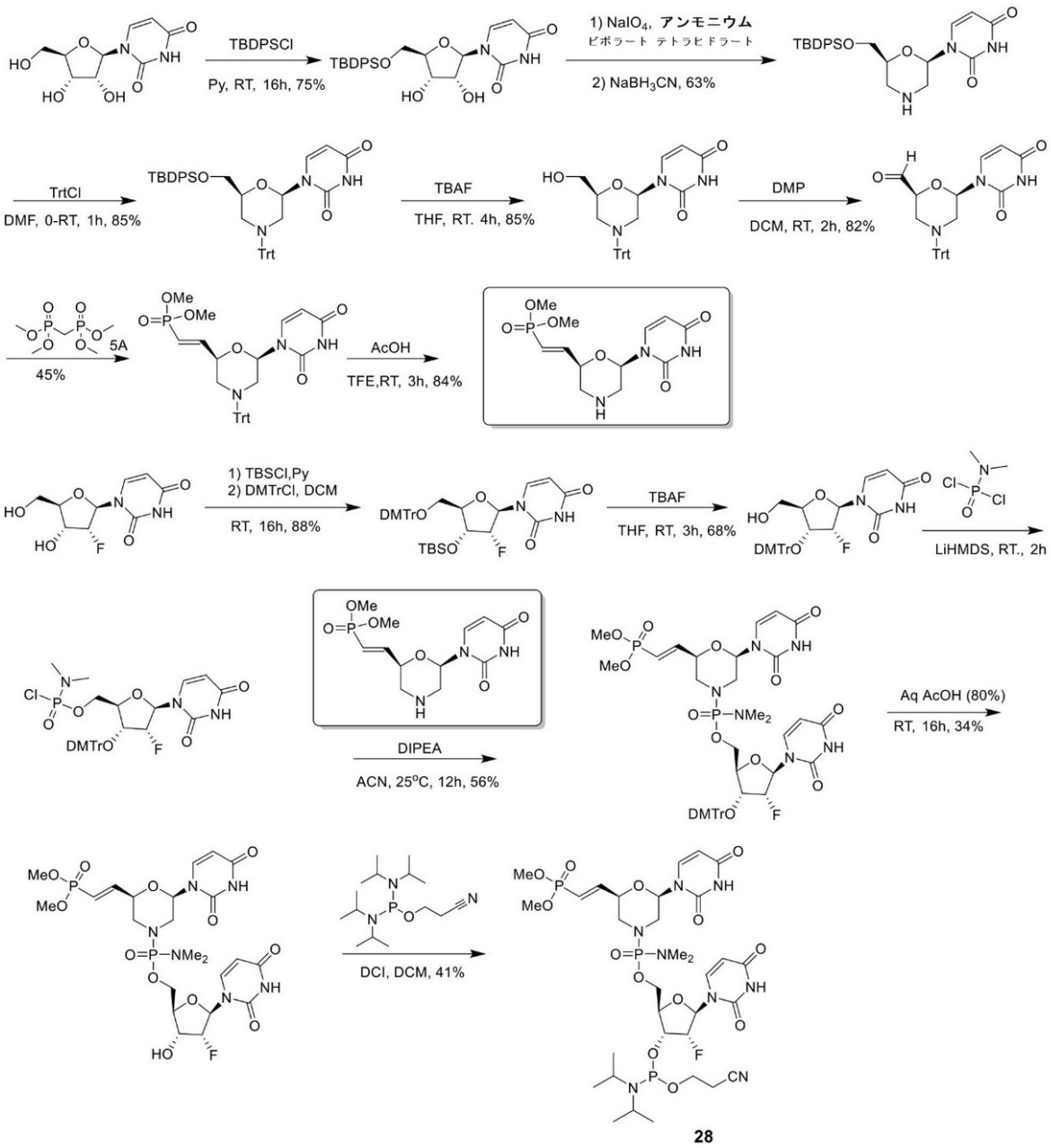


【０５６３】

実施例２１．化合物２８の調製

【０５６４】

【化８７】

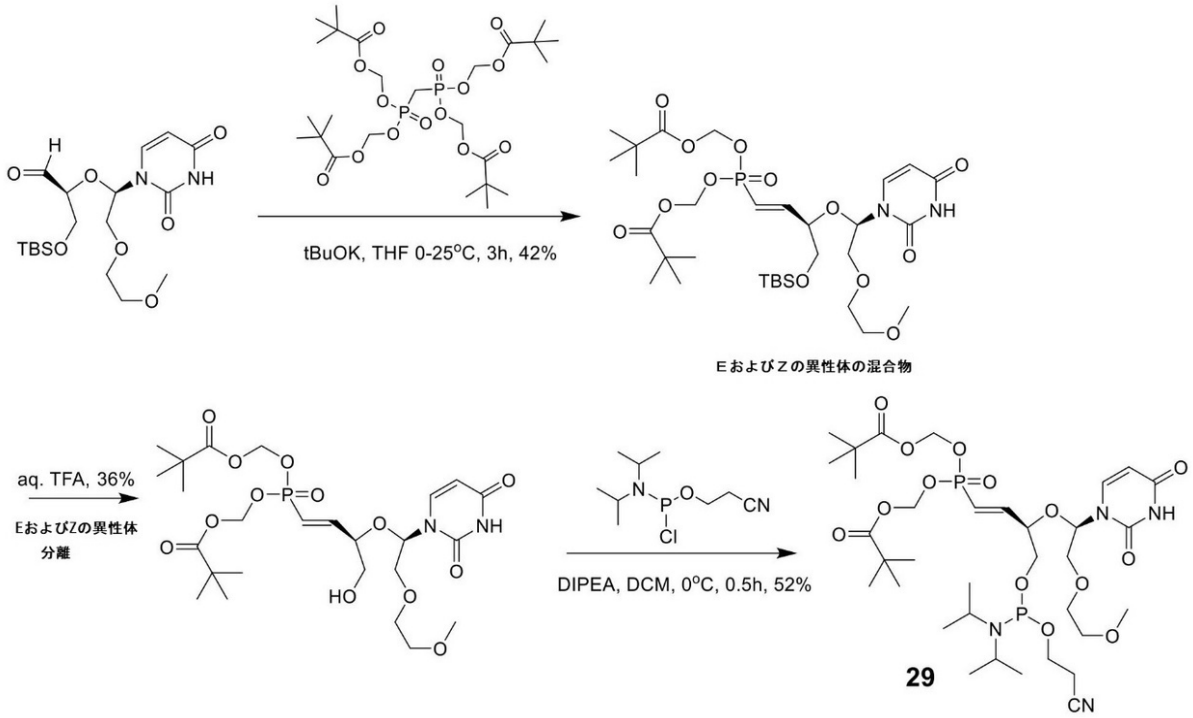


【０５６５】

実施例２２．化合物２９の調製

【０５６６】

【化８８】

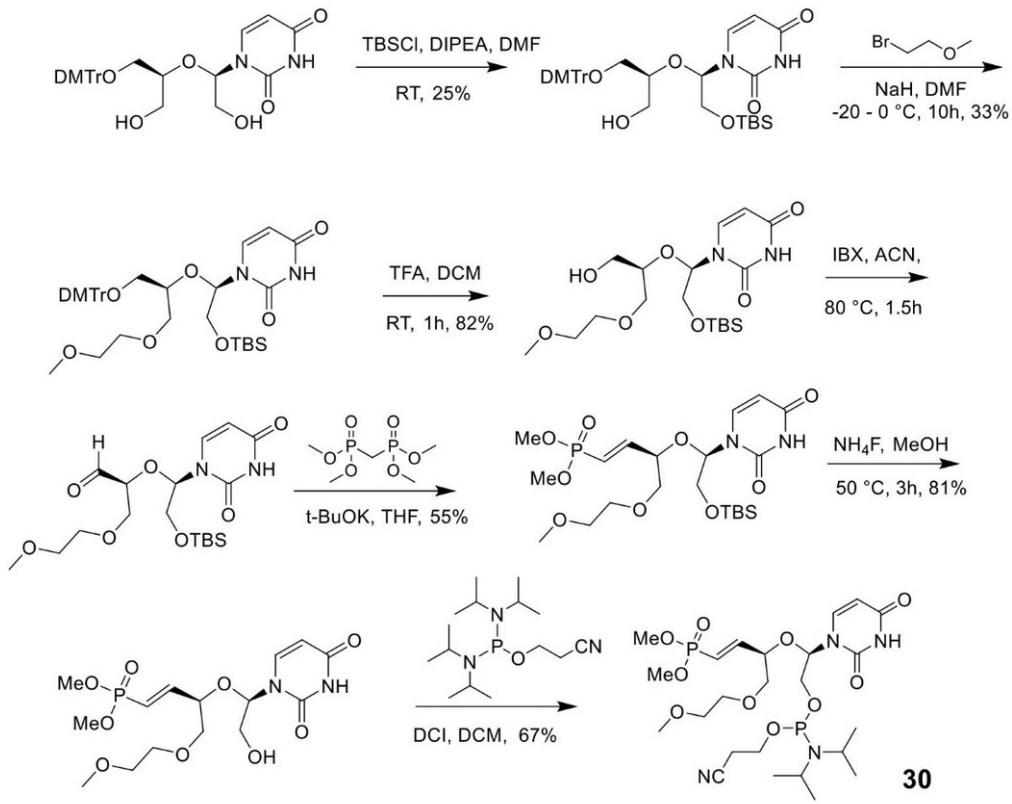


【０５６７】

実施例２３．化合物３０の調製

【０５６８】

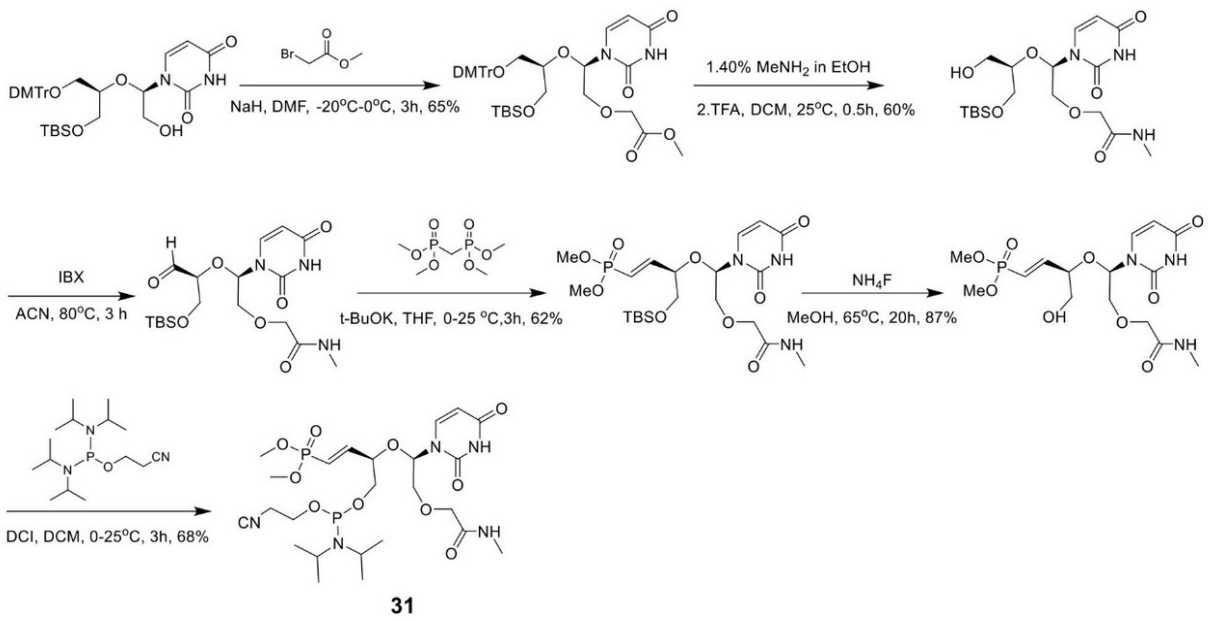
【化８９】



【０５６９】

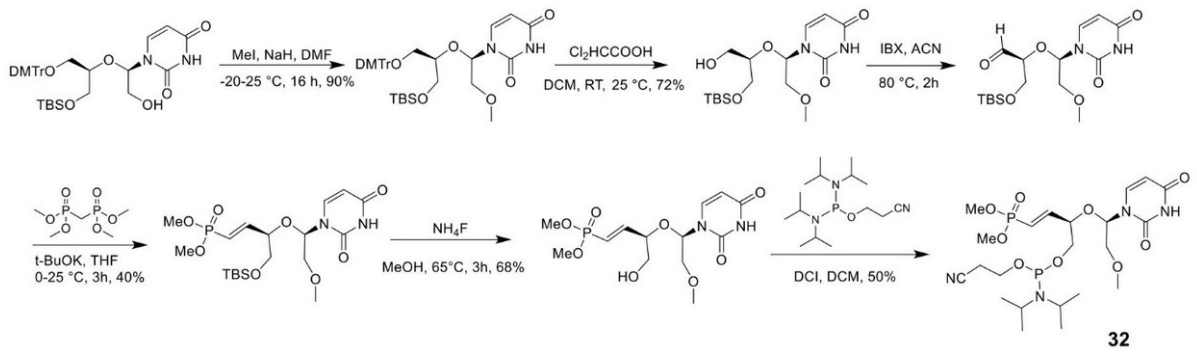
実施例２４．化合物３１の調製

【０５７０】
【化９０】



31

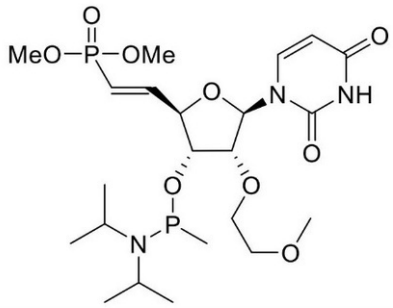
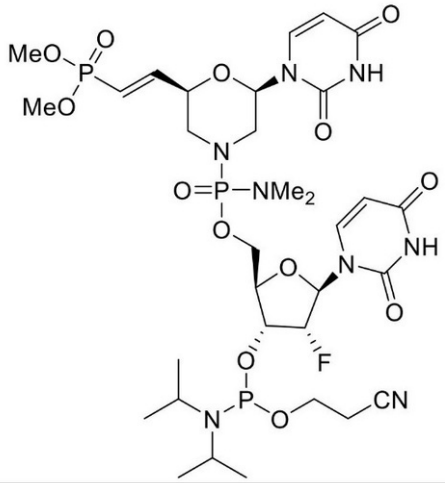
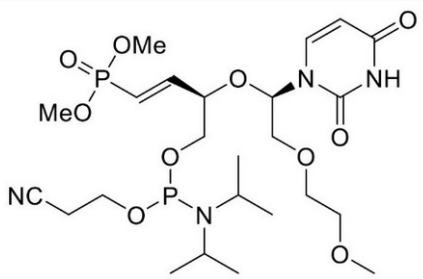
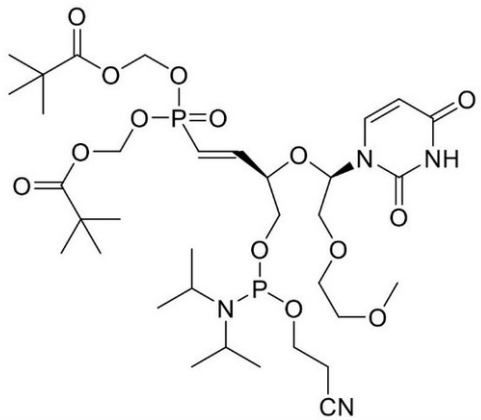
【０５７１】
実施例２５．化合物３２の調製
【０５７２】
【化９１】



32

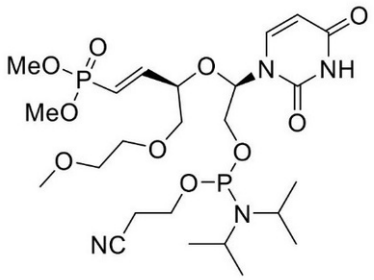
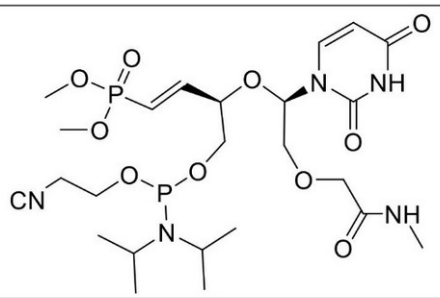
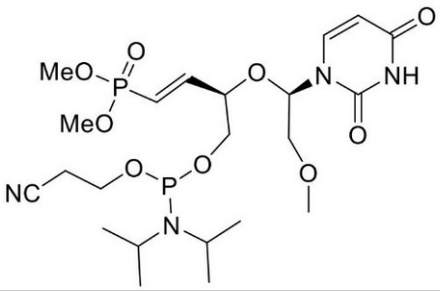
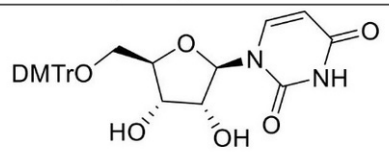
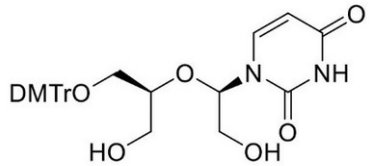
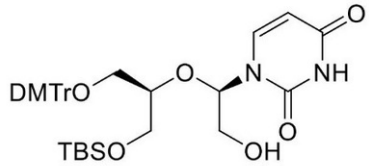
【０５７３】
実施例２６．分析データ
本明細書に記載される様々な化合物の^{31}Ｐ　ｄｅｃｏｕｐｌｅｄ　^{1}Ｈ　ＮＭＲ、^{31}Ｐ　ＮＭＲおよびＭＳ（ＥＳＩ）データが以下に示される：
【０５７４】

【表１－３】

化学構造	分析 (NMR および MS) データ
	^{31}P decoupled ^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ 7.39-7.35(dd,J =7.6Hz,1H), δ6.77(m,1H), 6.0(m,1H), 5.82-5.78 (dd,J=3.6,14Hz,1H), 5.66-5.63(dd, J=4, 8Hz,1H), 4.52-4.46(m,1H), 4.16-4.01(m, 2H), 3.73-3.47(br,12 H), 3.28(s,3H), 1.26(d,J=6.4Hz,3H), 1.18-1.16(d,J=6.4Hz, 6H), 1.09-1.08(d,J=6.4Hz,6H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ125.7, 125.5, 19.09, 18.95 MS (ESI) calculated for $C_{24}H_{42}N_4O_{10}P_2$ (M+H)+ m/z = 652.2, found 652.2
	^{31}P decoupled ^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ7.70-7.61(m,1H), δ7.55-7.48(m, 1H), 7.08-6.73(br, 1H), 6.01(br, 1H), 5.69(br, 4H), 5.3 (m, 1H), 4.78-4.49(m, 2H), 4.11(br, 3H), 3.90-3.48(br,14H), 2.83-2.59(Br,10H), 1.35-1.20(m,12H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ150.75, 150.71, 150.05, 149.99, 20.54, 20.44, 15.39, 15.29 MS (ESI) calculated for $C_{32}H_{50}FN_8O_{13}P_3$ $(M-H)^-$ m/z = 865.2, found 865.2
	^{31}P decoupled ^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ 7.42-7.45(dd, J =8Hz,1H), δ 6.42-6.47(dd, J=17.2 Hz, 1H), 5.97-5.84(m, 2H), 5.54-5.52(d, J=8Hz, 1H), 4.27-4.23(m, 1H), 3.75-3.50(br, 12 H), 3.36-3.30(br, 2H), 3.18(s, 3H), 2.60-2.57(m, 2H), 1.10-1.09(d, 12H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ148.6, 148.4, 19.24, 19.22 MS (ESI) calculated for $C_{24}H_{42}N_4O_{10}P_2$ $(M-H)^-$ m/z = 607.2, found 607.2
	^{31}P decoupled ^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ 7.55 (dd, J =8Hz,1H), δ 6.58-6.69 (m, J=17.2 Hz, 1H), 6.11-6.02 (m, 2H), 5.66-5.47 (m, 5H), 4.36-4.38 (m, 1H), 3.88-3.60 (m, 9 H), 3.46-3.44 (br, 2H), 3.29 (s, 3H), 2.69 (dt, J=1.6Hz, 6Hz, 2H), 1.20 (m, 30H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ148.69, 148.49, 16.79 MS (ESI) calculated for $C_{34}H_{58}N_4O_{14}P_2$ $(M-H)^-$ m/z = 807.3, found 807.3

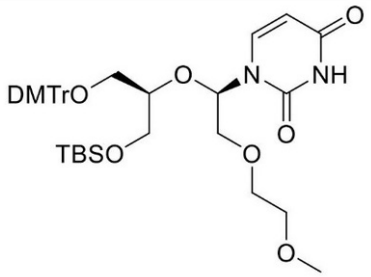
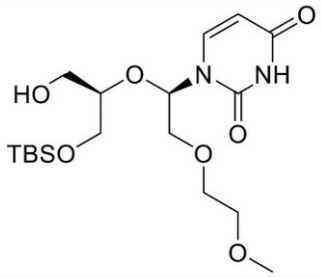
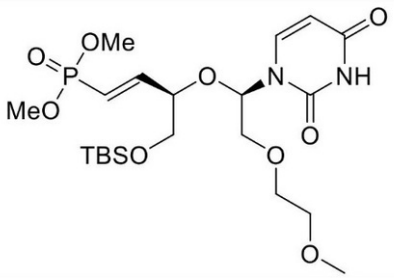
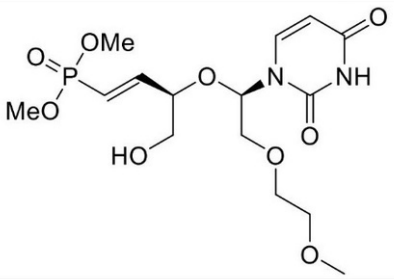
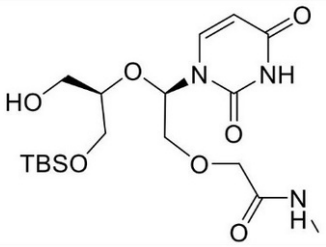
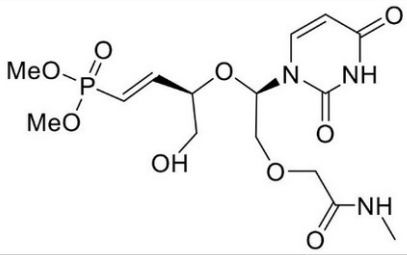
【０５７５】

【表１－４】

	^{31}P decoupled ^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ 7.55-7.52(dd, J =8Hz,1H), δ 6.58-6.52(dd, J=17.2 Hz, 1H), 6.08-5.94(m, 2H), 5.67-5.64(d, J=8Hz, 1H), 4.39-4.35(m, 1H), 3.95-3.79(br, 4 H),3.75-3.58 (br, 12H), 3.57-3.49(br, 2H), 3.33(br, 3H), 2.68-2.65(t, 2H), 1.18-1.13(m, 12H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ149.05, 148.82, 19.41, 19.38 MS (ESI) calculated for $C_{24}H_{42}N_4O_{10}P_2$ $(M-H)^-$ m/z = 607.2, found 607.2
	^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ7.55 (d, J=8Hz,1H), 6.83 (br, 1H) δ6.57 (ddd, J=5.2, 17.2, 39.2 Hz, 1H), 6.12-5.95 (m, 2H), 5.68(d, J=8Hz, 1H), 4.4 (br, 1H), 3.96 (s, 2H), 3.88-3.52 (br, 14H), 2.35-2.68 (br, 5H), 1.20 (d, J=6.8Hz, 12H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ148.6, 148.4, 19.28 MS (ESI) calculated for chemical formula: $C_{24}H_{41}N_5O_{10}P_2$ $(M-H)^-$ m/z = 620.2, found 620.2
	^{1}H NMR (400MHz, CD_3CN): δ9.02, (br,1H), δ7.51 (d, J=8Hz,1H), 6.53 (br, 1H) δ6.06 (br, 2H), 5.68(d, J=8Hz, 1H), 4.37 (m,1H), 3.87-3.7 (m, 4H), 3.69-3.63 (m, 10H), 3.35 (s, 3H), 2.70 (m, 2H), 1.22 (m, 12H) ^{31}P NMR (400 MHz, CD_3CN) δ148.7, 148.4, 19.19, 19.15 MS (ESI) calculated for chemical formula: $C_{22}H_{38}N_4O_9P_2$ $(M-H)^-$ m/z = 563.2, found 563.2
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ ppm 11.35 (s, 1 H), 7.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.36-7.41 (m, 2H), 7.32 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.20-7.28 (m, 5H), 6.90 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 5.48 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.31 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.14 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.4 Hz, 2H), 3.92-3.99 (m, 1H), 3.70-3.78 (m, 6H), 3.18-3.30 (m, 2H).
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ ppm 11.35 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.28-7.33 (m, 4H), 7.17-7.21 (m, 5H), 6.86 (d, J = 8.0 Hz, 4H), 5.83 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.53 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.13 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 4.75 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.76 (s, 6H), 3.68-3.73 (m, 1H), 3.60-3.64 (m, 2H), 3.42 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.96-3.02 (m, 2H)
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ ppm 11.35 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.24-7.33 (m, 4H), 7.14-7.22 (m, 5H), 6.82-6.88 (m, 4H), 5.83 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.47-5.57 (m, 1H), 5.11 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 3.72 (d, J = 0.8 Hz, 6H), 3.57-3.67 (m, 4H), 3.46-3.55 (m, 1H), 2.94-3.00 (m, 2H), 0.72-0.78 (m, 9H), -0.04 (d, J = 8.2 Hz, 5H)

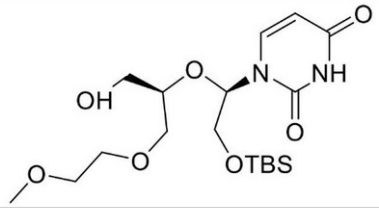
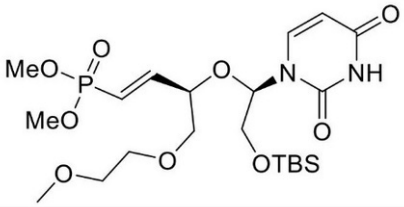
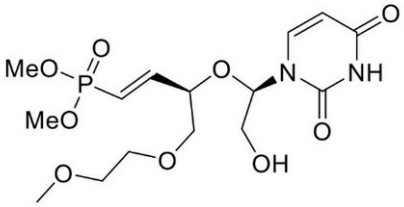
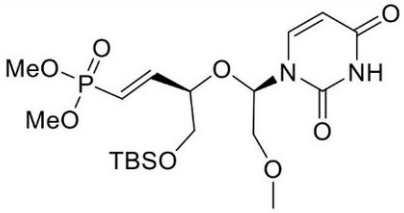
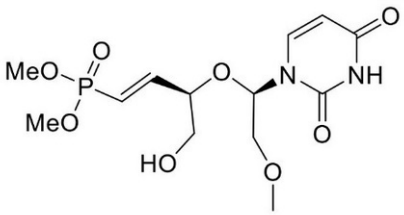
【０５７６】

【表１－５】

	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ ppm 11.40 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.24-7.33 (m, 5H), 7.14-7.22 (m, 5H), 6.81-6.88 (m, 4H), 5.96-6.02 (m, 1H), 5.55 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 3.73 (d, J = 0.8 Hz, 6H), 3.70 (dd, J = 6.0., 2.2 Hz, 2H), 3.62-3.66 (m, 2H), 3.53-3.57 (m, 2H), 3.50-3.53 (m, 1H), 3.38-3.42 (m, 2H), 3.20-3.22 (m, 3H), 2.94-3.00 (m, 2H), 0.72-0.82 (m, 9H), -0.04 (d, J = 7.4 Hz, 5H)
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ ppm 11.87 (s, 1H), 8.17 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.75-7.87 (m, 4H), 7.63-7.74 (m, 5H), 7.36 (dd, J = 9.0, 2.6 Hz, 4H), 6.34 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 6.05 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.62 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.24 (s, 6H), 4.09-4.20 (m, 4H), 4.02 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.83 (s, 1H), 2.95-3.09 (m, 4H), 1.28 (s, 9H), 0.48 (d, J = 8.2 Hz, 6H).
	^{1}H NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ δ ppm 9.19 (s, 1H), 7.43 (d, J = 8.16 Hz, 1H), 6.51-6.67 (m, 1H), 6.13 (t, J = 4.78 Hz, 1H), 5.82-5.95 (m, 1H), 5.72 (dd, J = 8.04, 1.88 Hz, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.63-3.78 (m, 12H), 3.45-3.54 (m, 2H), 3.31-3.37 (m, 3H), 0.82-0.94 (m, 9H), 0.00-0.10 (m, 6H).
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ ppm 11.29 (s, 1H) 7.74 (d, J = 8.0 Hz, 1H) 6.42-6.62 (m, 1H) 5.90-5.98 (m, 2H) 5.62 (dd, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H) 5.01 (t, J = 5.6 Hz, 1H) 4.18 (d, J = 1.6 Hz, 1H) 4.10 (q, J = 5.2 Hz, 1H) 3.70-3.76 (m, 2H) 3.50-3.58 (m, 8H) 3.43-3.49 (m, 1H) 3.36-3.41 (m, 2H) 3.21 (s, 3H) 3.17 (d, J = 5.2 Hz, 2H) 1.91 (s, 1H)
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 δ 11.30 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.61 (br d, J = 4.3 Hz, 1H), 6.03 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.61 (dd, J = 2.0, 8.0 Hz, 1H), 4.66 (br s, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.73-3.57 (m, 4H), 3.49-3.43 (m, 1H), 3.34-3.25 (m, 2H), 2.60 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 0.87 (s, 9H), 0.05 (s, 6H)
	^{1}HNMR: 400 MHz CD_3CN δ 7.52 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.98 (br s, 1H), 6.61-6.47 (m, 1H), 6.06-5.86 (m, 2H), 5.65 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.28-4.20 (m, 1H), 3.96 (s, 2H), 3.80-3.51 (m, 10H), 2.73-2.67 (m, 4H) ^{31}PNMR: 162 MHz CD_3CN, δ 19.71 (s, 1P)

【０５７７】

【表１－６】

	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO d6 11.23 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.02 Hz, 1H), 5.85 (dd, *J* = 6.56, 4.98 Hz, 1H), 5.60 (dd, *J* = 7.92, 1.66 Hz, 1H), 4.65 (t, *J* = 5.58 Hz, 1H), 3.63-3.84 (m, 2H), 3.40-3.60 (m, 7H), 3.26 (s, 3H), 0.81 (s, 9H), 0.01 (d, *J* = 6.66 Hz, 5H).
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO d6 7.72 (d, *J* = 8.22 Hz, 1H), 6.38-6.61 (m, 1H), 5.76-6.09 (m, 2H), 5.61 (dd, *J* = 8.02, 2.16 Hz, 1H), 4.29-4.43 (m, 1H), 3.66-3.92 (m, 2H), 3.41-3.63 (m, 12H), 3.17-3.26 (m, 3H), 0.73-0.87 (m, 10H), 0.01 (d, *J* = 7.04 Hz, 7H).
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO d6 11.26 (d, *J* = 1.52 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 8.04 Hz, 1H), 6.43-6.58 (m, 1H), 5.88-6.06 (m, 1H), 5.75-5.85 (m, 1H), 5.61 (dd, *J* = 7.96, 2.08 Hz, 1H), 5.14 (t, *J* = 6.02 Hz, 1H), 4.34 (br d, *J* = 1.52 Hz, 1H), 3.42-3.70 (m, 14H), 3.26 (s, 3H)
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 11.31 (s, 1H), 7.72-7.77 (m, 1H), 6.45-6.56 (m, 1H), 5.91-6.03 (m, 2H), 5.62 (dd, *J* = 8.40, 2.40 Hz, 1 H), 4.24 (br s, 1H), 3.72-3.76 (m, 1 H), 3.61-3.69 (m, 3H), 3.52-3.59 (m, 6 H), 3.26 (s, 3H), 0.87 (s, 9H), 0.06 (d, *J* = 1.60 Hz, 6H). ^{31}P NMR: 162 MHz, DMSO-d_6 19.93 (s, 1P)
	^{1}H NMR: 400 MHz, DMSO-d_6 11.31 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.00 Hz, 1H), 6.47-6.58 (m, 1H), 5.87-5.99 (m, 2H), 5.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.10-4.19 (m, 2H), 3.66 (d, *J* = 6.00 Hz, 2H), 3.56 (dd, *J* = 11.2, 4.40 Hz, 6H), 3.43-3.48 (m, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.17-3.18 (m, 2H). ^{31}P NMR: 162 MHz, DMSO-d_6 20.04 (s, 1P).

【０５７８】

分子生物学の実施例

実施例１．配列

表１、３、５、６、および７は、本明細書に記載される標的配列を示す。表２、４、８、および９は、本明細書に記載されるポリ核酸分子配列を示す。

【０５７９】

【表２】

表 1. KRAS 標的配列

Id #	NM_033360.2 における配列位置	NM_033360.2 における標的部位	SEQ ID NO:
182	182-200	AAAUGACUGAAUAUAAACUUGUG	1
183	183-201	AAUGACUGAAUAUAAACUUGUGG	2
197	197-215	AACUUGUGGUAGUUGGAGCUGGU	3
224	224-242	UAGGCAAGAGUGCCUUGACGAUA	4
226	226-244	GGCAAGAGUGCCUUGACGAUACA	5
227	227-245	GCAAGAGUGCCUUGACGAUACAG	6
228	228-246	CAAGAGUGCCUUGACGAUACAGC	7
232	232-250	AGUGCCUUGACGAUACAGCUAAU	8
233	233-251	GUGCCUUGACGAUACAGCUAAUU	9
236	236-254	CCUUGACGAUACAGCUAAUUCAG	10
237	237-255	CUUGACGAUACAGCUAAUUCAGA	11
245	245-263	UACAGCUAAUUCAGAAUCAUUUU	12
266	266-284	UUGUGGACGAAUAUGAUCCAACA	13
269	269-287	UGGACGAAUAUGAUCCAACAAUA	14
270	270-288	GGACGAAUAUGAUCCAACAAUAG	15

【０５８０】

【表３】

表 2. KRAS siRNA 配列

Id #	NM_033360.2 における配列位置	センス鎖配列 (5′-3′)	SEQ ID NO:	アンチセンス鎖配列 (5′-3′)	SEQ ID NO:
182	182-200	AUGACUGAAUAUAAACUUGTT	16	CAAGUUUAUAUUCAGUCAUTT	17
183	183-201	UGACUGAAUAUAAACUUGUTT	18	ACAAGUUUAUAUUCAGUCATT	19
197	197-215	CUUGUGGUAGUUGGAGCUGTT	20	CAGCUCCAACUACCACAAGTT	21
224	224-242	GGCAAGAGUGCCUUGACGATT	22	UCGUCAAGGCACUCUUGCCTT	23
226	226-244	CAAGAGUGCCUUGACGAUATT	24	UAUCGUCAAGGCACUCUUGTT	25
227	227-245	AAGAGUGCCUUGACGAUACTT	26	GUAUCGUCAAGGCACUCUUTT	27
228	228-246	AGAGUGCCUUGACGAUACATT	28	UGUAUCGUCAAGGCACUCUTT	29
232	232-250	UGCCUUGACGAUACAGCUATT	30	UAGCUGUAUCGUCAAGGCATT	31
233	233-251	GCCUUGACGAUACAGCUAATT	32	UUAGCUGUAUCGUCAAGGCTT	33
236	236-254	UUGACGAUACAGCUAAUUCTT	34	GAAUUAGCUGUAUCGUCAATT	35
237	237-255	UGACGAUACAGCUAAUUCATT	36	UGAAUUAGCUGUAUCGUCATT	37
245	245-263	CAGCUAAUUCAGAAUCAUUTT	38	AAUGAUUCUGAAUUAGCUGTT	39
266	266-284	GUGGACGAAUAUGAUCCAATT	40	UUGGAUCAUAUUCGUCCACTT	41
269	269-287	GACGAAUAUGAUCCAACAATT	42	UUGUUGGAUCAUAUUCGUCTT	43
270	270-288	ACGAAUAUGAUCCAACAAUTT	44	AUUGUUGGAUCAUAUUCGUTT	45

【０５８１】

【表４－１】

表 3. EGFR 標的配列

hs Id #	NM_005228.3 における 19量体 の位置	NM_005228.3 における総 23量体 の標的部位の配列	SEQ ID NO:
68	68-86	GGCGGCCGGAGUCCCGAGCUAGC	46
71	71-89	GGCCGGAGUCCCGAGCUAGCCCC	47
72	72-90	GCCGGAGUCCCGAGCUAGCCCCG	48
73	73-91	CCGGAGUCCCGAGCUAGCCCCGG	49
74	74-92	CGGAGUCCCGAGCUAGCCCCGGC	50
75	75-93	GGAGUCCCGAGCUAGCCCCGGCG	51
76	76-94	GAGUCCCGAGCUAGCCCCGGCGG	52
78	78-96	GUCCCGAGCUAGCCCCGGCGGCC	53
114	114-132	CCGGACGACAGGCCACCUCGUCG	54
115	115-133	CGGACGACAGGCCACCUCGUCGG	55
116	116-134	GGACGACAGGCCACCUCGUCGGC	56
117	117-135	GACGACAGGCCACCUCGUCGGCG	57
118	118-136	ACGACAGGCCACCUCGUCGGCGU	58
120	120-138	GACAGGCCACCUCGUCGGCGUCC	59
121	121-139	ACAGGCCACCUCGUCGGCGUCCG	60
122	122-140	CAGGCCACCUCGUCGGCGUCCGC	61
123	123-141	AGGCCACCUCGUCGGCGUCCGCC	62
124	124-142	GGCCACCUCGUCGGCGUCCGCCC	63
125	125-143	GCCACCUCGUCGGCGUCCGCCCG	64
126	126-144	CCACCUCGUCGGCGUCCGCCCGA	65
127	127-145	CACCUCGUCGGCGUCCGCCCGAG	66
128	128-146	ACCUCGUCGGCGUCCGCCCGAGU	67
129	129-147	CCUCGUCGGCGUCCGCCCGAGUC	68
130	130-148	CUCGUCGGCGUCCGCCCGAGUCC	69
131	131-149	UCGUCGGCGUCCGCCCGAGUCCC	70
132	132-150	CGUCGGCGUCCGCCCGAGUCCCC	71
135	135-153	CGGCGUCCGCCCGAGUCCCCGCC	72
136	136-154	GGCGUCCGCCCGAGUCCCCGCCU	73
141	141-159	CCGCCCGAGUCCCCGCCUCGCCG	74
164	164-182	CCAACGCCACAACCACCGCGCAC	75
165	165-183	CAACGCCACAACCACCGCGCACG	76
166	166-184	AACGCCACAACCACCGCGCACGG	77
168	168-186	CGCCACAACCACCGCGCACGGCC	78
169	169-187	GCCACAACCACCGCGCACGGCCC	79
170	170-188	CCACAACCACCGCGCACGGCCCC	80
247	247-265	CGAUGCGACCCUCCGGGACGGCC	81
248	248-266	GAUGCGACCCUCCGGGACGGCCG	82
249	249-267	AUGCGACCCUCCGGGACGGCCGG	83
251	251-269	GCGACCCUCCGGGACGGCCGGGG	84
252	252-270	CGACCCUCCGGGACGGCCGGGGC	85
254	254-272	ACCCUCCGGGACGGCCGGGGCAG	86
329	329-347	AAAGAAAGUUUGCCAAGGCACGA	87
330	330-348	AAGAAAGUUUGCCAAGGCACGAG	88
332	332-350	GAAAGUUUGCCAAGGCACGAGUA	89
333	333-351	AAAGUUUGCCAAGGCACGAGUAA	90
334	334-352	AAGUUUGCCAAGGCACGAGUAAC	91
335	335-353	AGUUUGCCAAGGCACGAGUAACA	92

【０５８２】

【表４－２】

336	336-354	GUUUGCCAAGGCACGAGUAACAA	93
337	337-355	UUUGCCAAGGCACGAGUAACAAG	94
338	338-356	UUGCCAAGGCACGAGUAACAAGC	95
361	361-379	UCACGCAGUUGGGCACUUUUGAA	96
362	362-380	CACGCAGUUGGGCACUUUUGAAG	97
363	363-381	ACGCAGUUGGGCACUUUUGAAGA	98
364	364-382	CGCAGUUGGGCACUUUUGAAGAU	99
365	365-383	GCAGUUGGGCACUUUUGAAGAUC	100
366	366-384	CAGUUGGGCACUUUUGAAGAUCA	101
367	367-385	AGUUGGGCACUUUUGAAGAUCAU	102
368	368-386	GUUGGGCACUUUUGAAGAUCAUU	103
369	369-387	UUGGGCACUUUUGAAGAUCAUUU	104
377	377-395	UUUUGAAGAUCAUUUUCUCAGCC	105
379	379-397	UUGAAGAUCAUUUUCUCAGCCUC	106
380	380-398	UGAAGAUCAUUUUCUCAGCCUCC	107
385	385-403	AUCAUUUUCUCAGCCUCCAGAGG	108
394	394-412	UCAGCCUCCAGAGGAUGUUCAAU	109
396	396-414	AGCCUCCAGAGGAUGUUCAAUAA	110
397	397-415	GCCUCCAGAGGAUGUUCAAUAAC	111
401	401-419	CCAGAGGAUGUUCAAUAACUGUG	112
403	403-421	AGAGGAUGUUCAAUAACUGUGAG	113
407	407-425	GAUGUUCAAUAACUGUGAGGUGG	114
409	409-427	UGUUCAAUAACUGUGAGGUGGUC	115
410	410-428	GUUCAAUAACUGUGAGGUGGUCC	116
411	411-429	UUCAAUAACUGUGAGGUGGUCCU	117
412	412-430	UCAAUAACUGUGAGGUGGUCCUU	118
413	413-431	CAAUAACUGUGAGGUGGUCCUUG	119
414	414-432	AAUAACUGUGAGGUGGUCCUUGG	120
416	416-434	UAACUGUGAGGUGGUCCUUGGGA	121
418	418-436	ACUGUGAGGUGGUCCUUGGGAAU	122
419	419-437	CUGUGAGGUGGUCCUUGGGAAUU	123
425	425-443	GGUGGUCCUUGGGAAUUUGGAAA	124
431	431-449	CCUUGGGAAUUUGGAAAUUACCU	125
432	432-450	CUUGGGAAUUUGGAAAUUACCUA	126
433	433-451	UUGGGAAUUUGGAAAUUACCUAU	127
434	434-452	UGGGAAUUUGGAAAUUACCUAUG	128
458	458-476	GCAGAGGAAUUAUGAUCUUUCCU	129
459	459-477	CAGAGGAAUUAUGAUCUUUCCUU	130
463	463-481	GGAAUUAUGAUCUUUCCUUCUUA	131
464	464-482	GAAUUAUGAUCUUUCCUUCUUAA	132
466	466-484	AUUAUGAUCUUUCCUUCUUAAAG	133
468	468-486	UAUGAUCUUUCCUUCUUAAAGAC	134
471	471-489	GAUCUUUCCUUCUUAAAGACCAU	135
476	476-494	UUCCUUCUUAAAGACCAUCCAGG	136
477	477-495	UCCUUCUUAAAGACCAUCCAGGA	137
479	479-497	CUUCUUAAAGACCAUCCAGGAGG	138
481	481-499	UCUUAAAGACCAUCCAGGAGGUG	139
482	482-500	CUUAAAGACCAUCCAGGAGGUGG	140
492	492-510	AUCCAGGAGGUGGCUGGUUAUGU	141
493	493-511	UCCAGGAGGUGGCUGGUUAUGUC	142
494	494-512	CCAGGAGGUGGCUGGUUAUGUCC	143
495	495-513	CAGGAGGUGGCUGGUUAUGUCCU	144
496	496-514	AGGAGGUGGCUGGUUAUGUCCUC	145

【０５８３】

【表４－３】

497	497-515	GGAGGUGGCUGGUUAUGUCCUCA	146
499	499-517	AGGUGGCUGGUUAUGUCCUCAUU	147
520	520-538	UUGCCCUCAACACAGUGGAGCGA	148
542	542-560	AAUUCCUUUGGAAAACCUGCAGA	149
543	543-561	AUUCCUUUGGAAAACCUGCAGAU	150
550	550-568	UGGAAAACCUGCAGAUCAUCAGA	151
551	551-569	GGAAAACCUGCAGAUCAUCAGAG	152
553	553-571	AAAACCUGCAGAUCAUCAGAGGA	153
556	556-574	ACCUGCAGAUCAUCAGAGGAAAU	154
586	586-604	ACGAAAAUUCCUAUGCCUUAGCA	155
587	587-605	CGAAAAUUCCUAUGCCUUAGCAG	156
589	589-607	AAAAUUCCUAUGCCUUAGCAGUC	157
592	592-610	AUUCCUAUGCCUUAGCAGUCUUA	158
593	593-611	UUCCUAUGCCUUAGCAGUCUUAU	159
594	594-612	UCCUAUGCCUUAGCAGUCUUAUC	160
596	596-614	CUAUGCCUUAGCAGUCUUAUCUA	161
597	597-615	UAUGCCUUAGCAGUCUUAUCUAA	162
598	598-616	AUGCCUUAGCAGUCUUAUCUAAC	163
599	599-617	UGCCUUAGCAGUCUUAUCUAACU	164
600	600-618	GCCUUAGCAGUCUUAUCUAACUA	165
601	601-619	CCUUAGCAGUCUUAUCUAACUAU	166
602	602-620	CUUAGCAGUCUUAUCUAACUAUG	167
603	603-621	UUAGCAGUCUUAUCUAACUAUGA	168
604	604-622	UAGCAGUCUUAUCUAACUAUGAU	169
605	605-623	AGCAGUCUUAUCUAACUAUGAUG	170
608	608-626	AGUCUUAUCUAACUAUGAUGCAA	171
609	609-627	GUCUUAUCUAACUAUGAUGCAAA	172
610	610-628	UCUUAUCUAACUAUGAUGCAAAU	173
611	611-629	CUUAUCUAACUAUGAUGCAAAUA	174
612	612-630	UUAUCUAACUAUGAUGCAAAUAA	175
613	613-631	UAUCUAACUAUGAUGCAAAUAAA	176
614	614-632	AUCUAACUAUGAUGCAAAUAAAA	177
616	616-634	CUAACUAUGAUGCAAAUAAAACC	178
622	622-640	AUGAUGCAAAUAAAACCGGACUG	179
623	623-641	UGAUGCAAAUAAAACCGGACUGA	180
624	624-642	GAUGCAAAUAAAACCGGACUGAA	181
626	626-644	UGCAAAUAAAACCGGACUGAAGG	182
627	627-645	GCAAAUAAAACCGGACUGAAGGA	183
628	628-646	CAAAUAAAACCGGACUGAAGGAG	184
630	630-648	AAUAAAACCGGACUGAAGGAGCU	185
631	631-649	AUAAAACCGGACUGAAGGAGCUG	186
632	632-650	UAAAACCGGACUGAAGGAGCUGC	187
633	633-651	AAAACCGGACUGAAGGAGCUGCC	188
644	644-662	GAAGGAGCUGCCCAUGAGAAAUU	189
665	665-683	UUUACAGGAAAUCCUGCAUGGCG	190
668	668-686	ACAGGAAAUCCUGCAUGGCGCCG	191
669	669-687	CAGGAAAUCCUGCAUGGCGCCGU	192
670	670-688	AGGAAAUCCUGCAUGGCGCCGUG	193
671	671-689	GGAAAUCCUGCAUGGCGCCGUGC	194
672	672-690	GAAAUCCUGCAUGGCGCCGUGCG	195
674	674-692	AAUCCUGCAUGGCGCCGUGCGGU	196
676	676-694	UCCUGCAUGGCGCCGUGCGGUUC	197
677	677-695	CCUGCAUGGCGCCGUGCGGUUCA	198

【０５８４】

【表４－４】

678	678-696	CUGCAUGGCGCCGUGCGGUUCAG	199
680	680-698	GCAUGGCGCCGUGCGGUUCAGCA	200
681	681-699	CAUGGCGCCGUGCGGUUCAGCAA	201
682	682-700	AUGGCGCCGUGCGGUUCAGCAAC	202
683	683-701	UGGCGCCGUGCGGUUCAGCAACA	203
684	684-702	GGCGCCGUGCGGUUCAGCAACAA	204
685	685-703	GCGCCGUGCGGUUCAGCAACAAC	205
686	686-704	CGCCGUGCGGUUCAGCAACAACC	206
688	688-706	CCGUGCGGUUCAGCAACAACCCU	207
690	690-708	GUGCGGUUCAGCAACAACCCUGC	208
692	692-710	GCGGUUCAGCAACAACCCUGCCC	209
698	698-716	CAGCAACAACCCUGCCCUGUGCA	210
700	700-718	GCAACAACCCUGCCCUGUGCAAC	211
719	719-737	CAACGUGGAGAGCAUCCAGUGGC	212
720	720-738	AACGUGGAGAGCAUCCAGUGGCG	213
721	721-739	ACGUGGAGAGCAUCCAGUGGCGG	214
724	724-742	UGGAGAGCAUCCAGUGGCGGGAC	215
725	725-743	GGAGAGCAUCCAGUGGCGGGACA	216
726	726-744	GAGAGCAUCCAGUGGCGGGACAU	217
733	733-751	UCCAGUGGCGGGACAUAGUCAGC	218
734	734-752	CCAGUGGCGGGACAUAGUCAGCA	219
736	736-754	AGUGGCGGGACAUAGUCAGCAGU	220
737	737-755	GUGGCGGGACAUAGUCAGCAGUG	221
763	763-781	UUCUCAGCAACAUGUCGAUGGAC	222
765	765-783	CUCAGCAACAUGUCGAUGGACUU	223
766	766-784	UCAGCAACAUGUCGAUGGACUUC	224
767	767-785	CAGCAACAUGUCGAUGGACUUCC	225
769	769-787	GCAACAUGUCGAUGGACUUCCAG	226
770	770-788	CAACAUGUCGAUGGACUUCCAGA	227
771	771-789	AACAUGUCGAUGGACUUCCAGAA	228
772	772-790	ACAUGUCGAUGGACUUCCAGAAC	229
775	775-793	UGUCGAUGGACUUCCAGAACCAC	230
789	789-807	CAGAACCACCUGGGCAGCUGCCA	231
798	798-816	CUGGGCAGCUGCCAAAAGUGUGA	232
800	800-818	GGGCAGCUGCCAAAAGUGUGAUC	233
805	805-823	GCUGCCAAAAGUGUGAUCCAAGC	234
806	806-824	CUGCCAAAAGUGUGAUCCAAGCU	235
807	807-825	UGCCAAAAGUGUGAUCCAAGCUG	236
810	810-828	CAAAAGUGUGAUCCAAGCUGUCC	237
814	814-832	AGUGUGAUCCAAGCUGUCCCAAU	238
815	815-833	GUGUGAUCCAAGCUGUCCCAAUG	239
817	817-835	GUGAUCCAAGCUGUCCCAAUGGG	240
818	818-836	UGAUCCAAGCUGUCCCAAUGGGA	241
819	819-837	GAUCCAAGCUGUCCCAAUGGGAG	242
820	820-838	AUCCAAGCUGUCCCAAUGGGAGC	243
821	821-839	UCCAAGCUGUCCCAAUGGGAGCU	244
823	823-841	CAAGCUGUCCCAAUGGGAGCUGC	245
826	826-844	GCUGUCCCAAUGGGAGCUGCUGG	246
847	847-865	GGGGUGCAGGAGAGGAGAACUGC	247
871	871-889	AGAAACUGACCAAAAUCAUCUGU	248
872	872-890	GAAACUGACCAAAAUCAUCUGUG	249
873	873-891	AAACUGACCAAAAUCAUCUGUGC	250
877	877-895	UGACCAAAAUCAUCUGUGCCCAG	251

【０５８５】

【表４－５】

878	878-896	GACCAAAAUCAUCUGUGCCCAGC	252
881	881-899	CAAAAUCAUCUGUGCCCAGCAGU	253
890	890-908	CUGUGCCCAGCAGUGCUCCGGGC	254
892	892-910	GUGCCCAGCAGUGCUCCGGGCGC	255
929	929-947	CCCCAGUGACUGCUGCCACAACC	256
930	930-948	CCCAGUGACUGCUGCCACAACCA	257
979	979-997	GGGAGAGCGACUGCCUGGUCUGC	258
980	980-998	GGAGAGCGACUGCCUGGUCUGCC	259
981	981-999	GAGAGCGACUGCCUGGUCUGCCG	260
982	982-1000	AGAGCGACUGCCUGGUCUGCCGC	261
983	983-1001	GAGCGACUGCCUGGUCUGCCGCA	262
984	984-1002	AGCGACUGCCUGGUCUGCCGCAA	263
989	989-1007	CUGCCUGGUCUGCCGCAAAUUCC	264
990	990-1008	UGCCUGGUCUGCCGCAAAUUCCG	265
991	991-1009	GCCUGGUCUGCCGCAAAUUCCGA	266
992	992-1010	CCUGGUCUGCCGCAAAUUCCGAG	267
994	994-1012	UGGUCUGCCGCAAAUUCCGAGAC	268
995	995-1013	GGUCUGCCGCAAAUUCCGAGACG	269
996	996-1014	GUCUGCCGCAAAUUCCGAGACGA	270
997	997-1015	UCUGCCGCAAAUUCCGAGACGAA	271
999	999-1017	UGCCGCAAAUUCCGAGACGAAGC	272
1004	1004-1022	CAAAUUCCGAGACGAAGCCACGU	273
1005	1005-1023	AAAUUCCGAGACGAAGCCACGUG	274
1006	1006-1024	AAUUCCGAGACGAAGCCACGUGC	275
1007	1007-1025	AUUCCGAGACGAAGCCACGUGCA	276
1008	1008-1026	UUCCGAGACGAAGCCACGUGCAA	277
1010	1010-1028	CCGAGACGAAGCCACGUGCAAGG	278
1013	1013-1031	AGACGAAGCCACGUGCAAGGACA	279
1014	1014-1032	GACGAAGCCACGUGCAAGGACAC	280
1015	1015-1033	ACGAAGCCACGUGCAAGGACACC	281
1016	1016-1034	CGAAGCCACGUGCAAGGACACCU	282
1040	1040-1058	CCCCCCACUCAUGCUCUACAACC	283
1042	1042-1060	CCCCACUCAUGCUCUACAACCCC	284
1044	1044-1062	CCACUCAUGCUCUACAACCCCAC	285
1047	1047-1065	CUCAUGCUCUACAACCCCACCAC	286
1071	1071-1089	UACCAGAUGGAUGUGAACCCCGA	287
1073	1073-1091	CCAGAUGGAUGUGAACCCCGAGG	288
1074	1074-1092	CAGAUGGAUGUGAACCCCGAGGG	289
1075	1075-1093	AGAUGGAUGUGAACCCCGAGGGC	290
1077	1077-1095	AUGGAUGUGAACCCCGAGGGCAA	291
1078	1078-1096	UGGAUGUGAACCCCGAGGGCAAA	292
1080	1080-1098	GAUGUGAACCCCGAGGGCAAAUA	293
1084	1084-1102	UGAACCCCGAGGGCAAAUACAGC	294
1085	1085-1103	GAACCCCGAGGGCAAAUACAGCU	295
1087	1087-1105	ACCCCGAGGGCAAAUACAGCUUU	296
1088	1088-1106	CCCCGAGGGCAAAUACAGCUUUG	297
1089	1089-1107	CCCGAGGGCAAAUACAGCUUUGG	298
1096	1096-1114	GCAAAUACAGCUUUGGUGCCACC	299
1097	1097-1115	CAAAUACAGCUUUGGUGCCACCU	300
1098	1098-1116	AAAUACAGCUUUGGUGCCACCUG	301
1104	1104-1122	AGCUUUGGUGCCACCUGCGUGAA	302
1106	1106-1124	CUUUGGUGCCACCUGCGUGAAGA	303
1112	1112-1130	UGCCACCUGCGUGAAGAAGUGUC	304

【０５８６】

【表４－６】

1116	1116-1134	ACCUGCGUGAAGAAGUGUCCCCG	305
1117	1117-1135	CCUGCGUGAAGAAGUGUCCCCGU	306
1118	1118-1136	CUGCGUGAAGAAGUGUCCCCGUA	307
1119	1119-1137	UGCGUGAAGAAGUGUCCCCGUAA	308
1120	1120-1138	GCGUGAAGAAGUGUCCCCGUAAU	309
1121	1121-1139	CGUGAAGAAGUGUCCCCGUAAUU	310
1122	1122-1140	GUGAAGAAGUGUCCCCGUAAUUA	311
1123	1123-1141	UGAAGAAGUGUCCCCGUAAUUAU	312
1124	1124-1142	GAAGAAGUGUCCCCGUAAUUAUG	313
1125	1125-1143	AAGAAGUGUCCCCGUAAUUAUGU	314
1126	1126-1144	AGAAGUGUCCCCGUAAUUAUGUG	315
1127	1127-1145	GAAGUGUCCCCGUAAUUAUGUGG	316
1128	1128-1146	AAGUGUCCCCGUAAUUAUGUGGU	317
1129	1129-1147	AGUGUCCCCGUAAUUAUGUGGUG	318
1130	1130-1148	GUGUCCCCGUAAUUAUGUGGUGA	319
1132	1132-1150	GUCCCCGUAAUUAUGUGGUGACA	320
1134	1134-1152	CCCCGUAAUUAUGUGGUGACAGA	321
1136	1136-1154	CCGUAAUUAUGUGGUGACAGAUC	322
1137	1137-1155	CGUAAUUAUGUGGUGACAGAUCA	323
1138	1138-1156	GUAAUUAUGUGGUGACAGAUCAC	324
1139	1139-1157	UAAUUAUGUGGUGACAGAUCACG	325
1140	1140-1158	AAUUAUGUGGUGACAGAUCACGG	326
1142	1142-1160	UUAUGUGGUGACAGAUCACGGCU	327
1145	1145-1163	UGUGGUGACAGAUCACGGCUCGU	328
1147	1147-1165	UGGUGACAGAUCACGGCUCGUGC	329
1148	1148-1166	GGUGACAGAUCACGGCUCGUGCG	330
1149	1149-1167	GUGACAGAUCACGGCUCGUGCGU	331
1150	1150-1168	UGACAGAUCACGGCUCGUGCGUC	332
1151	1151-1169	GACAGAUCACGGCUCGUGCGUCC	333
1152	1152-1170	ACAGAUCACGGCUCGUGCGUCCG	334
1153	1153-1171	CAGAUCACGGCUCGUGCGUCCGA	335
1154	1154-1172	AGAUCACGGCUCGUGCGUCCGAG	336
1155	1155-1173	GAUCACGGCUCGUGCGUCCGAGC	337
1156	1156-1174	AUCACGGCUCGUGCGUCCGAGCC	338
1157	1157-1175	UCACGGCUCGUGCGUCCGAGCCU	339
1160	1160-1178	CGGCUCGUGCGUCCGAGCCUGUG	340
1200	1200-1218	AUGGAGGAAGACGGCGUCCGCAA	341
1201	1201-1219	UGGAGGAAGACGGCGUCCGCAAG	342
1203	1203-1221	GAGGAAGACGGCGUCCGCAAGUG	343
1204	1204-1222	AGGAAGACGGCGUCCGCAAGUGU	344
1205	1205-1223	GGAAGACGGCGUCCGCAAGUGUA	345
1207	1207-1225	AAGACGGCGUCCGCAAGUGUAAG	346
1208	1208-1226	AGACGGCGUCCGCAAGUGUAAGA	347
1211	1211-1229	CGGCGUCCGCAAGUGUAAGAAGU	348
1212	1212-1230	GGCGUCCGCAAGUGUAAGAAGUG	349
1213	1213-1231	GCGUCCGCAAGUGUAAGAAGUGC	350
1214	1214-1232	CGUCCGCAAGUGUAAGAAGUGCG	351
1215	1215-1233	GUCCGCAAGUGUAAGAAGUGCGA	352
1216	1216-1234	UCCGCAAGUGUAAGAAGUGCGAA	353
1217	1217-1235	CCGCAAGUGUAAGAAGUGCGAAG	354
1219	1219-1237	GCAAGUGUAAGAAGUGCGAAGGG	355
1220	1220-1238	CAAGUGUAAGAAGUGCGAAGGGC	356
1221	1221-1239	AAGUGUAAGAAGUGCGAAGGGCC	357

【０５８７】

【表４－７】

1222	1222-1240	AGUGUAAGAAGUGCGAAGGGCCU	358
1223	1223-1241	GUGUAAGAAGUGCGAAGGGCCUU	359
1224	1224-1242	UGUAAGAAGUGCGAAGGGCCUUG	360
1225	1225-1243	GUAAGAAGUGCGAAGGGCCUUGC	361
1226	1226-1244	UAAGAAGUGCGAAGGGCCUUGCC	362
1229	1229-1247	GAAGUGCGAAGGGCCUUGCCGCA	363
1230	1230-1248	AAGUGCGAAGGGCCUUGCCGCAA	364
1231	1231-1249	AGUGCGAAGGGCCUUGCCGCAAA	365
1232	1232-1250	GUGCGAAGGGCCUUGCCGCAAAG	366
1233	1233-1251	UGCGAAGGGCCUUGCCGCAAAGU	367
1235	1235-1253	CGAAGGGCCUUGCCGCAAAGUGU	368
1236	1236-1254	GAAGGGCCUUGCCGCAAAGUGUG	369
1237	1237-1255	AAGGGCCUUGCCGCAAAGUGUGU	370
1238	1238-1256	AGGGCCUUGCCGCAAAGUGUGUA	371
1239	1239-1257	GGGCCUUGCCGCAAAGUGUGUAA	372
1241	1241-1259	GCCUUGCCGCAAAGUGUGUAACG	373
1261	1261-1279	ACGGAAUAGGUAUUGGUGAAUUU	374
1262	1262-1280	CGGAAUAGGUAUUGGUGAAUUUA	375
1263	1263-1281	GGAAUAGGUAUUGGUGAAUUUAA	376
1264	1264-1282	GAAUAGGUAUUGGUGAAUUUAAA	377
1266	1266-1284	AUAGGUAUUGGUGAAUUUAAAGA	378
1267	1267-1285	UAGGUAUUGGUGAAUUUAAAGAC	379
1289	1289-1307	CUCACUCUCCAUAAAUGCUACGA	380
1313	1313-1331	UAUUAAACACUUCAAAAACUGCA	381
1320	1320-1338	CACUUCAAAAACUGCACCUCCAU	382
1321	1321-1339	ACUUCAAAAACUGCACCUCCAUC	383
1322	1322-1340	CUUCAAAAACUGCACCUCCAUCA	384
1323	1323-1341	UUCAAAAACUGCACCUCCAUCAG	385
1324	1324-1342	UCAAAAACUGCACCUCCAUCAGU	386
1328	1328-1346	AAACUGCACCUCCAUCAGUGGCG	387
1332	1332-1350	UGCACCUCCAUCAGUGGCGAUCU	388
1333	1333-1351	GCACCUCCAUCAGUGGCGAUCUC	389
1335	1335-1353	ACCUCCAUCAGUGGCGAUCUCCA	390
1338	1338-1356	UCCAUCAGUGGCGAUCUCCACAU	391
1344	1344-1362	AGUGGCGAUCUCCACAUCCUGCC	392
1345	1345-1363	GUGGCGAUCUCCACAUCCUGCCG	393
1346	1346-1364	UGGCGAUCUCCACAUCCUGCCGG	394
1347	1347-1365	GGCGAUCUCCACAUCCUGCCGGU	395
1348	1348-1366	GCGAUCUCCACAUCCUGCCGGUG	396
1353	1353-1371	CUCCACAUCCUGCCGGUGGCAUU	397
1354	1354-1372	UCCACAUCCUGCCGGUGGCAUUU	398
1355	1355-1373	CCACAUCCUGCCGGUGGCAUUUA	399
1357	1357-1375	ACAUCCUGCCGGUGGCAUUUAGG	400
1360	1360-1378	UCCUGCCGGUGGCAUUUAGGGGU	401
1361	1361-1379	CCUGCCGGUGGCAUUUAGGGGUG	402
1362	1362-1380	CUGCCGGUGGCAUUUAGGGGUGA	403
1363	1363-1381	UGCCGGUGGCAUUUAGGGGUGAC	404
1366	1366-1384	CGGUGGCAUUUAGGGGUGACUCC	405
1369	1369-1387	UGGCAUUUAGGGGUGACUCCUUC	406
1370	1370-1388	GGCAUUUAGGGGUGACUCCUUCA	407
1371	1371-1389	GCAUUUAGGGGUGACUCCUUCAC	408
1372	1372-1390	CAUUUAGGGGUGACUCCUUCACA	409
1373	1373-1391	AUUUAGGGGUGACUCCUUCACAC	410

【０５８８】

【表４－８】

1374	1374-1392	UUUAGGGGUGACUCCUUCACACA	411
1404	1404-1422	CCUCUGGAUCCACAGGAACUGGA	412
1408	1408-1426	UGGAUCCACAGGAACUGGAUAUU	413
1409	1409-1427	GGAUCCACAGGAACUGGAUAUUC	414
1411	1411-1429	AUCCACAGGAACUGGAUAUUCUG	415
1412	1412-1430	UCCACAGGAACUGGAUAUUCUGA	416
1419	1419-1437	GAACUGGAUAUUCUGAAAACCGU	417
1426	1426-1444	AUAUUCUGAAAACCGUAAAGGAA	418
1427	1427-1445	UAUUCUGAAAACCGUAAAGGAAA	419
1430	1430-1448	UCUGAAAACCGUAAAGGAAAUCA	420
1431	1431-1449	CUGAAAACCGUAAAGGAAAUCAC	421

【０５８９】

【表５－１】

表 4. EGFR siRNA 配列

hs Id #	NM_005228.3 における配列位置	センス鎖配列 (5′-3′)	SEQ ID NO:	アンチセンス鎖配列 (5′-3′)	SEQ ID NO:
68	68-86	CGGCCGGAGUCCCGAGCUATT	422	UAGCUCGGGACUCCGGCCGTT	423
71	71-89	CCGGAGUCCCGAGCUAGCCTT	424	GGCUAGCUCGGGACUCCGGTT	425
72	72-90	CGGAGUCCCGAGCUAGCCCTT	426	GGGCUAGCUCGGGACUCCGTT	427
73	73-91	GGAGUCCCGAGCUAGCCCCTT	428	GGGGCUAGCUCGGGACUCCTT	429
74	74-92	GAGUCCCGAGCUAGCCCCGTT	430	CGGGGCUAGCUCGGGACUCTT	431
75	75-93	AGUCCCGAGCUAGCCCCGGTT	432	CCGGGGCUAGCUCGGGACUTT	433
76	76-94	GUCCCGAGCUAGCCCCGGCTT	434	GCCGGGGCUAGCUCGGGACTT	435
78	78-96	CCCGAGCUAGCCCCGGCGGTT	436	CCGCCGGGGCUAGCUCGGGTT	437
114	114-132	GGACGACAGGCCACCUCGUTT	438	ACGAGGUGGCCUGUCGUCCTT	439
115	115-133	GACGACAGGCCACCUCGUCTT	440	GACGAGGUGGCCUGUCGUCTT	441
116	116-134	ACGACAGGCCACCUCGUCGTT	442	CGACGAGGUGGCCUGUCGUTT	443
117	117-135	CGACAGGCCACCUCGUCGGTT	444	CCGACGAGGUGGCCUGUCGTT	445
118	118-136	GACAGGCCACCUCGUCGGCTT	446	GCCGACGAGGUGGCCUGUCTT	447
120	120-138	CAGGCCACCUCGUCGGCGUTT	448	ACGCCGACGAGGUGGCCUGTT	449
121	121-139	AGGCCACCUCGUCGGCGUCTT	450	GACGCCGACGAGGUGGCCUTT	451
122	122-140	GGCCACCUCGUCGGCGUCCTT	452	GGACGCCGACGAGGUGGCCTT	453
123	123-141	GCCACCUCGUCGGCGUCCGTT	454	CGGACGCCGACGAGGUGGCTT	455
124	124-142	CCACCUCGUCGGCGUCCGCTT	456	GCGGACGCCGACGAGGUGGTT	457
125	125-143	CACCUCGUCGGCGUCCGCCTT	458	GGCGGACGCCGACGAGGUGTT	459
126	126-144	ACCUCGUCGGCGUCCGCCCTT	460	GGGCGGACGCCGACGAGGUTT	461
127	127-145	CCUCGUCGGCGUCCGCCCGTT	462	CGGGCGGACGCCGACGAGGTT	463
128	128-146	CUCGUCGGCGUCCGCCCGATT	464	UCGGGCGGACGCCGACGAGTT	465
129	129-147	UCGUCGGCGUCCGCCCGAGTT	466	CUCGGGCGGACGCCGACGATT	467
130	130-148	CGUCGGCGUCCGCCCGAGUTT	468	ACUCGGGCGGACGCCGACGTT	469

【０５９０】

【表５－２】

131	131-149	GUCGGCGUCCGCCCGAGUCTT	470	GACUCGGGCGGACGCCGACTT	471
132	132-150	UCGGCGUCCGCCCGAGUCCTT	472	GGACUCGGGCGGACGCCGATT	473
135	135-153	GCGUCCGCCCGAGUCCCCGTT	474	CGGGGACUCGGGCGGACGCTT	475
136	136-154	CGUCCGCCCGAGUCCCCGCTT	476	GCGGGGACUCGGGCGGACGTT	477
141	141-159	GCCCGAGUCCCCGCCUCGCTT	478	GCGAGGCGGGGACUCGGGCTT	479
164	164-182	AACGCCACAACCACCGCGCTT	480	GCGCGGUGGUUGUGGCGUUTT	481
165	165-183	ACGCCACAACCACCGCGCATT	482	UGCGCGGUGGUUGUGGCGUTT	483
166	166-184	CGCCACAACCACCGCGCACTT	484	GUGCGCGGUGGUUGUGGCGTT	485
168	168-186	CCACAACCACCGCGCACGGTT	486	CCGUGCGCGGUGGUUGUGGTT	487
169	169-187	CACAACCACCGCGCACGGCTT	488	GCCGUGCGCGGUGGUUGUGTT	489
170	170-188	ACAACCACCGCGCACGGCCTT	490	GGCCGUGCGCGGUGGUUGUTT	491
247	247-265	AUGCGACCCUCCGGGACGGTT	492	CCGUCCCGGAGGGUCGCAUTT	493
248	248-266	UGCGACCCUCCGGGACGGCTT	494	GCCGUCCCGGAGGGUCGCATT	495
249	249-267	GCGACCCUCCGGGACGGCCTT	496	GGCCGUCCCGGAGGGUCGCTT	497
251	251-269	GACCCUCCGGGACGGCCGGTT	498	CCGGCCGUCCCGGAGGGUCTT	499
252	252-270	ACCCUCCGGGACGGCCGGGTT	500	CCCGGCCGUCCCGGAGGGUTT	501
254	254-272	CCUCCGGGACGGCCGGGGCTT	502	GCCCCGGCCGUCCCGGAGGTT	503
329	329-347	AGAAAGUUUGCCAAGGCACTT	504	GUGCCUUGGCAAACUUUCUTT	505
330	330-348	GAAAGUUUGCCAAGGCACGTT	506	CGUGCCUUGGCAAACUUUCTT	507
332	332-350	AAGUUUGCCAAGGCACGAGTT	508	CUCGUGCCUUGGCAAACUUTT	509
333	333-351	AGUUUGCCAAGGCACGAGUTT	510	ACUCGUGCCUUGGCAAACUTT	511
334	334-352	GUUUGCCAAGGCACGAGUATT	512	UACUCGUGCCUUGGCAAACTT	513
335	335-353	UUUGCCAAGGCACGAGUAATT	514	UUACUCGUGCCUUGGCAAATT	515
336	336-354	UUGCCAAGGCACGAGUAACTT	516	GUUACUCGUGCCUUGGCAATT	517
337	337-355	UGCCAAGGCACGAGUAACATT	518	UGUUACUCGUGCCUUGGCATT	519
338	338-356	GCCAAGGCACGAGUAACAATT	520	UUGUUACUCGUGCCUUGGCTT	521
361	361-379	ACGCAGUUGGGCACUUUUGTT	522	CAAAAGUGCCCAACUGCGUTT	523

【０５９１】

【表５－３】

362	362-380	CGCAGUUGGGCACUUUUGATT	524	UCAAAAGUGCCCAACUGCGTT	525
363	363-381	GCAGUUGGGCACUUUUGAATT	526	UUCAAAAGUGCCCAACUGCTT	527
364	364-382	CAGUUGGGCACUUUUGAAGTT	528	CUUCAAAAGUGCCCAACUGTT	529
365	365-383	AGUUGGGCACUUUUGAAGATT	530	UCUUCAAAAGUGCCCAACUTT	531
366	366-384	GUUGGGCACUUUUGAAGAUTT	532	AUCUUCAAAAGUGCCCAACTT	533
367	367-385	UUGGGCACUUUUGAAGAUCTT	534	GAUCUUCAAAAGUGCCCAATT	535
368	368-386	UGGGCACUUUUGAAGAUCATT	536	UGAUCUUCAAAAGUGCCCATT	537
369	369-387	GGGCACUUUUGAAGAUCAUTT	538	AUGAUCUUCAAAAGUGCCCTT	539
377	377-395	UUGAAGAUCAUUUUCUCAGTT	540	CUGAGAAAAUGAUCUUCAATT	541
379	379-397	GAAGAUCAUUUUCUCAGCCTT	542	GGCUGAGAAAAUGAUCUUCTT	543
380	380-398	AAGAUCAUUUUCUCAGCCUTT	544	AGGCUGAGAAAAUGAUCUUTT	545
385	385-403	CAUUUUCUCAGCCUCCAGATT	546	UCUGGAGGCUGAGAAAAUGTT	547
394	394-412	AGCCUCCAGAGGAUGUUCATT	548	UGAACAUCCUCUGGAGGCUTT	549
396	396-414	CCUCCAGAGGAUGUUCAAUTT	550	AUUGAACAUCCUCUGGAGGTT	551
397	397-415	CUCCAGAGGAUGUUCAAUATT	552	UAUUGAACAUCCUCUGGAGTT	553
401	401-419	AGAGGAUGUUCAAUAACUGTT	554	CAGUUAUUGAACAUCCUCUTT	555
403	403-421	AGGAUGUUCAAUAACUGUGTT	556	CACAGUUAUUGAACAUCCUTT	557
407	407-425	UGUUCAAUAACUGUGAGGUTT	558	ACCUCACAGUUAUUGAACATT	559
409	409-427	UUCAAUAACUGUGAGGUGGTT	560	CCACCUCACAGUUAUUGAATT	561
410	410-428	UCAAUAACUGUGAGGUGGUTT	562	ACCACCUCACAGUUAUUGATT	563
411	411-429	CAAUAACUGUGAGGUGGUCTT	564	GACCACCUCACAGUUAUUGTT	565
412	412-430	AAUAACUGUGAGGUGGUCCTT	566	GGACCACCUCACAGUUAUUTT	567
413	413-431	AUAACUGUGAGGUGGUCCUTT	568	AGGACCACCUCACAGUUATT	569
414	414-432	UAACUGUGAGGUGGUCCUUTT	570	AAGGACCACCUCACAGUUATT	571
416	416-434	ACUGUGAGGUGGUCCUUGGTT	572	CCAAGGACCACCUCACAGUTT	573
418	418-436	UGUGAGGUGGUCCUUGGGATT	574	UCCCAAGGACCACCUCACATT	575
419	419-437	GUGAGGUGGUCCUUGGGAATT	576	UUCCCAAGGACCACCUCACTT	577

【０５９２】

【表５－４】

425	425-443	UGGUCCUUGGGAAUUUGGATT	578	UCCAAAUUCCCAAGGACCATT	579
431	431-449	UUGGGAAUUUGGAAAUUACTT	580	GUAAUUUCCAAAUUCCCAATT	581
432	432-450	UGGGAAUUUGGAAAUUACCTT	582	GGUAAUUUCCAAAUUCCCATT	583
433	433-451	GGGAAUUUGGAAAUUACCUTT	584	AGGUAAUUUCCAAAUUCCCTT	585
434	434-452	GGAAUUUGGAAAUUACCUATT	586	UAGGUAAUUUCCAAAUUCCTT	587
458	458-476	AGAGGAAUUAUGAUCUUUCTT	588	GAAAGAUCAUAAUUCCUCUTT	589
459	459-477	GAGGAAUUAUGAUCUUUCCTT	590	GGAAAGAUCAUAAUUCCUCTT	591
463	463-481	AAUUAUGAUCUUUCCUUCUTT	592	AGAAGGAAAGAUCAUAAUUTT	593
464	464-482	AUUAUGAUCUUUCCUUCUUTT	594	AAGAAGGAAAGAUCAUAAUTT	595
466	466-484	UAUGAUCUUUCCUUCUUAATT	596	UUAAGAAGGAAAGAUCAUATT	597
468	468-486	UGAUCUUUCCUUCUUAAAGTT	598	CUUUAAGAAGGAAAGAUCATT	599
471	471-489	UCUUUCCUUCUUAAAGACCTT	600	GGUCUUUAAGAAGGAAAGATT	601
476	476-494	CCUUCUUAAAGACCAUCCATT	602	UGGAUGGUCUUUAAGAAGGTT	603
477	477-495	CUUCUUAAAGACCAUCCAGTT	604	CUGGAUGGUCUUUAAGAAGTT	605
479	479-497	UCUUAAAGACCAUCCAGGATT	606	UCCUGGAUGGUCUUUAAGATT	607
481	481-499	UUAAAGACCAUCCAGGAGGTT	608	CCUCCUGGAUGGUCUUUAATT	609
482	482-500	UAAAGACCAUCCAGGAGGUTT	610	ACCUCCUGGAUGGUCUUUATT	611
492	492-510	CCAGGAGGUGGCUGGUUAUTT	612	AUAACCAGCCACCUCCUGGTT	613
493	493-511	CAGGAGGUGGCUGGUUAUGTT	614	CAUAACCAGCCACCUCCUGTT	615
494	494-512	AGGAGGUGGCUGGUUAUGUTT	616	ACAUAACCAGCCACCUCCUTT	617
495	495-513	GGAGGUGGCUGGUUAUGUCTT	618	GACAUAACCAGCCACCUCCTT	619
496	496-514	GAGGUGGCUGGUUAUGUCCTT	620	GGACAUAACCAGCCACCUCTT	621
497	497-515	AGGUGGCUGGUUAUGUCCUTT	622	AGGACAUAACCAGCCACCUTT	623
499	499-517	GUGGCUGGUUAUGUCCUCATT	624	UGAGGACAUAACCAGCCACTT	625
520	520-538	GCCCUCAACACAGUGGAGCTT	626	GCUCCACUGUGUUGAGGGCTT	627
542	542-560	UUCCUUUGGAAAACCUGCATT	628	UGCAGGUUUUCCAAAGGAATT	629
543	543-561	UCCUUUGGAAAACCUGCAGTT	630	CUGCAGGUUUUCCAAAGGATT	631

【０５９３】

【表５－５】

550	550-568	GAAAACCUGCAGAUCAUC ATT	632	UGAUGAUCUGCAGGUUU UCTT	633
551	551-569	AAAACCUGCAGAUCAUCA GTT	634	CUGAUGAUCUGCAGGUUU UTT	635
553	553-571	AACCUGCAGAUCAUCAGA GTT	636	CUCUGAUGAUCUGCAGGU UTT	637
556	556-574	CUGCAGAUCAUCAGAGGA ATT	638	UUCCUCUGAUGAUCUGCA GTT	639
586	586-604	GAAAAUUCCUAUGCCUUA GTT	640	CUAAGGCAUAGGAAUUU UCTT	641
587	587-605	AAAAUUCCUAUGCCUUAG CTT	642	GCUAAGGCAUAGGAAUU UUTT	643
589	589-607	AAUUCCUAUGCCUUAGCA GTT	644	CUGCUAAGGCAUAGGAAU UTT	645
592	592-610	UCCUAUGCCUUAGCAGUC UTT	646	AGACUGCUAAGGCAUAGG ATT	647
593	593-611	CCUAUGCCUUAGCAGUCU UTT	648	AAGACUGCUAAGGCAUAG GTT	649
594	594-612	CUAUGCCUUAGCAGUCUU ATT	650	UAAGACUGCUAAGGCAUA GTT	651
596	596-614	AUGCCUUAGCAGUCUUAU CTT	652	GAUAAGACUGCUAAGGCA UTT	653
597	597-615	UGCCUUAGCAGUCUUAUC UTT	654	AGAUAAGACUGCUAAGGC ATT	655
598	598-616	GCCUUAGCAGUCUUAUCU ATT	656	UAGAUAAGACUGCUAAG GCTT	657
599	599-617	CCUUAGCAGUCUUAUCUA ATT	658	UUAGAUAAGACUGCUAA GGTT	659
600	600-618	CUUAGCAGUCUUAUCUAA CTT	660	GUUAGAUAAGACUGCUA AGTT	661
601	601-619	UUAGCAGUCUUAUCUAAC UTT	662	AGUUAGAUAAGACUGCU AATT	663
602	602-620	UAGCAGUCUUAUCUAACU ATT	664	UAGUUAGAUAAGACUGC UATT	665
603	603-621	AGCAGUCUUAUCUAACUA UTT	666	AUAGUUAGAUAAGACUG CUTT	667
604	604-622	GCAGUCUUAUCUAACUAU GTT	668	CAUAGUUAGAUAAGACU GCTT	669
605	605-623	CAGUCUUAUCUAACUAUG ATT	670	UCAUAGUUAGAUAAGAC UGTT	671
608	608-626	UCUUAUCUAACUAUGAUG CTT	672	GCAUCAUAGUUAGAUAA GATT	673
609	609-627	CUUAUCUAACUAUGAUGC ATT	674	UGCAUCAUAGUUAGAUA AGTT	675
610	610-628	UUAUCUAACUAUGAUGCA ATT	676	UUGCAUCAUAGUUAGAU AATT	677
611	611-629	UAUCUAACUAUGAUGCAA ATT	678	UUUGCAUCAUAGUUAGA UATT	679
612	612-630	AUCUAACUAUGAUGCAAA UTT	680	AUUUGCAUCAUAGUUAG AUTT	681
613	613-631	UCUAACUAUGAUGCAAAU ATT	682	UAUUUGCAUCAUAGUUA GATT	683
614	614-632	CUAACUAUGAUGCAAAUA ATT	684	UUAUUUGCAUCAUAGUU AGTT	685

【０５９４】

【表５－６】

616	616-634	AACUAUGAUGCAAAUAAA ATT	686	UUUUAUUUGCAUCAUAG UUTT	687
622	622-640	GAUGCAAAUAAAACCGGA CTT	688	GUCCGGUUUUAUUUGCAU CTT	689
623	623-641	AUGCAAAUAAAACCGGAC UTT	690	AGUCCGGUUUUAUUUGCA UTT	691
624	624-642	UGCAAAUAAAACCGGACU GTT	692	CAGUCCGGUUUUAUUUGC ATT	693
626	626-644	CAAAUAAAACCGGACUGA ATT	694	UUCAGUCCGGUUUUAUUU GTT	695
627	627-645	AAAUAAAACCGGACUGAA GTT	696	CUUCAGUCCGGUUUUAUU UTT	697
628	628-646	AAUAAAACCGGACUGAAG GTT	698	CCUUCAGUCCGGUUUUAU UTT	699
630	630-648	UAAAACCGGACUGAAGGA GTT	700	CUCCUUCAGUCCGGUUUU ATT	701
631	631-649	AAAACCGGACUGAAGGAG CTT	702	GCUCCUUCAGUCCGGUUU UTT	703
632	632-650	AAACCGGACUGAAGGAGC UTT	704	AGCUCCUUCAGUCCGGUU UTT	705
633	633-651	AACCGGACUGAAGGAGCU GTT	706	CAGCUCCUUCAGUCCGGU UTT	707
644	644-662	AGGAGCUGCCCAUGAGAA ATT	708	UUUCUCAUGGGCAGCUCC UTT	709
665	665-683	UACAGGAAAUCCUGCAUG GTT	710	CCAUGCAGGAUUUCCUGU ATT	711
668	668-686	AGGAAAUCCUGCAUGGCG CTT	712	GCGCCAUGCAGGAUUUCC UTT	713
669	669-687	GGAAAUCCUGCAUGGCGC CTT	714	GGCGCCAUGCAGGAUUUC CTT	715
670	670-688	GAAAUCCUGCAUGGCGCC GTT	716	CGGCGCCAUGCAGGAUUU CTT	717
671	671-689	AAAUCCUGCAUGGCGCCG UTT	718	ACGGCGCCAUGCAGGAUU UTT	719
672	672-690	AAUCCUGCAUGGCGCCGU GTT	720	CACGGCGCCAUGCAGGAU UTT	721
674	674-692	UCCUGCAUGGCGCCGUGC GTT	722	CGCACGGCGCCAUGCAGG ATT	723
676	676-694	CUGCAUGGCGCCGUGCGG UTT	724	ACCGCACGGCGCCAUGCA GTT	725
677	677-695	UGCAUGGCGCCGUGCGGU UTT	726	AACCGCACGGCGCCAUGC ATT	727
678	678-696	GCAUGGCGCCGUGCGGUU CTT	728	GAACCGCACGGCGCCAUG CTT	729
680	680-698	AUGGCGCCGUGCGGUUCA GTT	730	CUGAACCGCACGGCGCCA UTT	731
681	681-699	UGGCGCCGUGCGGUUCAG CTT	732	GCUGAACCGCACGGCGCC ATT	733
682	682-700	GGCGCCGUGCGGUUCAGC ATT	734	UGCUGAACCGCACGGCGC CTT	735
683	683-701	GCGCCGUGCGGUUCAGCA ATT	736	UUGCUGAACCGCACGGCG CTT	737
684	684-702	CGCCGUGCGGUUCAGCAA CTT	738	GUUGCUGAACCGCACGGC GTT	739

【０５９５】

【表５－７】

685	685-703	GCCGUGCGGUUCAGCAACATT	740	UGUUGCUGAACCGCACGGCTT	741
686	686-704	CCGUGCGGUUCAGCAACAATT	742	UUGUUGCUGAACCGCACGGTT	743
688	688-706	GUGCGGUUCAGCAACAACCTT	744	GGUUGUUGCUGAACCGCACTT	745
690	690-708	GCGGUUCAGCAACAACCCUTT	746	AGGGUUGUUGCUGAACCGCTT	747
692	692-710	GGUUCAGCAACAACCCUGCTT	748	GCAGGGUUGUUGCUGAACCTT	749
698	698-716	GCAACAACCCUGCCCUGUGTT	750	CACAGGGCAGGGUUGUUGCTT	751
700	700-718	AACAACCCUGCCCUGUGCATT	752	UGCACAGGGCAGGGUUGUUTT	753
719	719-737	ACGUGGAGAGCAUCCAGUGTT	754	CACUGGAUGCUCUCCACGUTT	755
720	720-738	CGUGGAGAGCAUCCAGUGGTT	756	CCACUGGAUGCUCUCCACGTT	757
721	721-739	GUGGAGAGCAUCCAGUGGCTT	758	GCCACUGGAUGCUCUCCACTT	759
724	724-742	GAGAGCAUCCAGUGGCGGGTT	760	CCCGCCACUGGAUGCUCUCTT	761
725	725-743	AGAGCAUCCAGUGGCGGGATT	762	UCCCGCCACUGGAUGCUCUTT	763
726	726-744	GAGCAUCCAGUGGCGGGACTT	764	GUCCCGCCACUGGAUGCUCTT	765
733	733-751	CAGUGGCGGGACAUAGUCATT	766	UGACUAUGUCCCGCCACUGTT	767
734	734-752	AGUGGCGGGACAUAGUCAGTT	768	CUGACUAUGUCCCGCCACUTT	769
736	736-754	UGGCGGGACAUAGUCAGCATT	770	UGCUGACUAUGUCCCGCCATT	771
737	737-755	GGCGGGACAUAGUCAGCAGTT	772	CUGCUGACUAUGUCCCGCCTT	773
763	763-781	CUCAGCAACAUGUCGAUGGTT	774	CCAUCGACAUGUUGCUGAGTT	775
765	765-783	CAGCAACAUGUCGAUGGACTT	776	GUCCAUCGACAUGUUGCUGTT	777
766	766-784	AGCAACAUGUCGAUGGACUTT	778	AGUCCAUCGACAUGUUGCUTT	779
767	767-785	GCAACAUGUCGAUGGACUUTT	780	AAGUCCAUCGACAUGUUGCTT	781
769	769-787	AACAUGUCGAUGGACUUCCTT	782	GGAAGUCCAUCGACAUGUUTT	783
770	770-788	ACAUGUCGAUGGACUUCCATT	784	UGGAAGUCCAUCGACAUGUTT	785
771	771-789	CAUGUCGAUGGACUUCCAGTT	786	CUGGAAGUCCAUCGACAUGTT	787
772	772-790	AUGUCGAUGGACUUCCAGATT	788	UCUGGAAGUCCAUCGACAUTT	789
775	775-793	UCGAUGGACUUCCAGAACCTT	790	GGUUCUGGAAGUCCAUCGATT	791
789	789-807	GAACCACCUGGGCAGCUGCTT	792	GCAGCUGCCCAGGUGGUUCTT	793

【０５９６】

【表５－８】

798	798-816	GGGCAGCUGCCAAAAGUGUTT	794	ACACUUUUGGCAGCUGCCCTT	795
800	800-818	GCAGCUGCCAAAAGUGUGATT	796	UCACACUUUUGGCAGCUGCTT	797
805	805-823	UGCCAAAAGUGUGAUCCAATT	798	UUGGAUCACACUUUUGGCATT	799
806	806-824	GCCAAAAGUGUGAUCCAAGTT	800	CUUGGAUCACACUUUUGGCTT	801
807	807-825	CCAAAAGUGUGAUCCAAGCTT	802	GCUUGGAUCACACUUUUGGTT	803
810	810-828	AAAGUGUGAUCCAAGCUGUTT	804	ACAGCUUGGAUCACACUUUTT	805
814	814-832	UGUGAUCCAAGCUGUCCCATT	806	UGGGACAGCUUGGAUCACATT	807
815	815-833	GUGAUCCAAGCUGUCCCAATT	808	UUGGGACAGCUUGGAUCACTT	809
817	817-835	GAUCCAAGCUGUCCCAAUGTT	810	CAUUGGGACAGCUUGGAUCTT	811
818	818-836	AUCCAAGCUGUCCCAAUGGTT	812	CCAUUGGGACAGCUUGGAUTT	813
819	819-837	UCCAAGCUGUCCCAAUGGGTT	814	CCCAUUGGGACAGCUUGGATT	815
820	820-838	CCAAGCUGUCCCAAUGGGATT	816	UCCCAUUGGGACAGCUUGGTT	817
821	821-839	CAAGCUGUCCCAAUGGGAGTT	818	CUCCCAUUGGGACAGCUUGTT	819
823	823-841	AGCUGUCCCAAUGGGAGCUTT	820	AGCUCCCAUUGGGACAGCUTT	821
826	826-844	UGUCCCAAUGGGAGCUGCUTT	822	AGCAGCUCCCAUUGGGACATT	823
847	847-865	GGUGCAGGAGAGGAGAACUTT	824	AGUUCUCCUCUCCUGCACCTT	825
871	871-889	AAACUGACCAAAAUCAUCUTT	826	AGAUGAUUUUGGUCAGUUUTT	827
872	872-890	AACUGACCAAAAUCAUCUGTT	828	CAGAUGAUUUUGGUCAGUUTT	829
873	873-891	ACUGACCAAAAUCAUCUGUTT	830	ACAGAUGAUUUUGGUCAGUTT	831
877	877-895	ACCAAAAUCAUCUGUGCCCTT	832	GGGCACAGAUGAUUUUGGUTT	833
878	878-896	CCAAAAUCAUCUGUGCCCATT	834	UGGGCACAGAUGAUUUUGGTT	835
881	881-899	AAAUCAUCUGUGCCCAGCATT	836	UGCUGGGCACAGAUGAUUUTT	837
890	890-908	GUGCCCAGCAGUGCUCCGGTT	838	CCGGAGCACUGCUGGGCACTT	839
892	892-910	GCCCAGCAGUGCUCCGGGCTT	840	GCCCGGAGCACUGCUGGGCTT	841
929	929-947	CCAGUGACUGCUGCCACAATT	842	UUGUGGCAGCAGUCACUGGTT	843
930	930-948	CAGUGACUGCUGCCACAACTT	844	GUUGUGGCAGCAGUCACUGTT	845
979	979-997	GAGAGCGACUGCCUGGUCUTT	846	AGACCAGGCAGUCGCUCUCTT	847

【０５９７】

【表５－９】

980	980-998	AGAGCGACUGCCUGGUCUGTT	848	CAGACCAGGCAGUCGCUCUTT	849
981	981-999	GAGCGACUGCCUGGUCUGCTT	850	GCAGACCAGGCAGUCGCUCTT	851
982	982-1000	AGCGACUGCCUGGUCUGCCTT	852	GGCAGACCAGGCAGUCGCUTT	853
983	983-1001	GCGACUGCCUGGUCUGCCGTT	854	CGGCAGACCAGGCAGUCGCTT	855
984	984-1002	CGACUGCCUGGUCUGCCGCTT	856	GCGGCAGACCAGGCAGUCGTT	857
989	989-1007	GCCUGGUCUGCCGCAAAUUTT	858	AAUUUGCGGCAGACCAGGCTT	859
990	990-1008	CCUGGUCUGCCGCAAAUUCTT	860	GAAUUUGCGGCAGACCAGGTT	861
991	991-1009	CUGGUCUGCCGCAAAUUCCTT	862	GGAAUUUGCGGCAGACCAGTT	863
992	992-1010	UGGUCUGCCGCAAAUUCCGTT	864	CGGAAUUUGCGGCAGACCATT	865
994	994-1012	GUCUGCCGCAAAUUCCGAGTT	866	CUCGGAAUUUGCGGCAGACTT	867
995	995-1013	UCUGCCGCAAAUUCCGAGATT	868	UCUCGGAAUUUGCGGCAGATT	869
996	996-1014	CUGCCGCAAAUUCCGAGACTT	870	GUCUCGGAAUUUGCGGCAGTT	871
997	997-1015	UGCCGCAAAUUCCGAGACGTT	872	CGUCUCGGAAUUUGCGGCATT	873
999	999-1017	CCGCAAAUUCCGAGACGAATT	874	UUCGUCUCGGAAUUUGCGGTT	875
1004	1004-1022	AAUUCCGAGACGAAGCCACTT	876	GUGGCUUCGUCUCGGAAUUTT	877
1005	1005-1023	AUUCCGAGACGAAGCCACGTT	878	CGUGGCUUCGUCUCGGAAUTT	879
1006	1006-1024	UUCCGAGACGAAGCCACGUTT	880	ACGUGGCUUCGUCUCGGAATT	881
1007	1007-1025	UCCGAGACGAAGCCACGUGTT	882	CACGUGGCUUCGUCUCGGATT	883
1008	1008-1026	CCGAGACGAAGCCACGUGCTT	884	GCACGUGGCUUCGUCUCGGTT	885
1010	1010-1028	GAGACGAAGCCACGUGCAATT	886	UUGCACGUGGCUUCGUCUCTT	887
1013	1013-1031	ACGAAGCCACGUGCAAGGATT	888	UCCUUGCACGUGGCUUCGUTT	889
1014	1014-1032	CGAAGCCACGUGCAAGGACTT	890	GUCCUUGCACGUGGCUUCGTT	891
1015	1015-1033	GAAGCCACGUGCAAGGACATT	892	UGUCCUUGCACGUGGCUUCTT	893
1016	1016-1034	AAGCCACGUGCAAGGACACTT	894	GUGUCCUUGCACGUGGCUUTT	895
1040	1040-1058	CCCCACUCAUGCUCUACAATT	896	UUGUAGAGCAUGAGUGGGGTT	897
1042	1042-1060	CCACUCAUGCUCUACAACCTT	898	GGUUGUAGAGCAUGAGUGGTT	899
1044	1044-1062	ACUCAUGCUCUACAACCCCTT	900	GGGGUUGUAGAGCAUGAGUTT	901

【０５９８】

【表５－１０】

1047	1047-1065	CAUGCUCUACAACCCCAC CTT	902	GGUGGGGUUGUAGAGCA UGTT	903
1071	1071-1089	CCAGAUGGAUGUGAACCC CTT	904	GGGGUUCACAUCCAUCUG GTT	905
1073	1073-1091	AGAUGGAUGUGAACCCCG ATT	906	UCGGGGUUCACAUCCAUC UTT	907
1074	1074-1092	GAUGGAUGUGAACCCCGA GTT	908	CUCGGGGUUCACAUCCAU CTT	909
1075	1075-1093	AUGGAUGUGAACCCCGAG GTT	910	CCUCGGGGUUCACAUCCA UTT	911
1077	1077-1095	GGAUGUGAACCCCGAGGG CTT	912	GCCCUCGGGGUUCACAUC CTT	913
1078	1078-1096	GAUGUGAACCCCGAGGGC ATT	914	UGCCCUCGGGGUUCACAU CTT	915
1080	1080-1098	UGUGAACCCCGAGGGCAA ATT	916	UUUGCCCUCGGGGUUCAC ATT	917
1084	1084-1102	AACCCCGAGGGCAAAUAC ATT	918	UGUAUUUGCCCUCGGGGU UTT	919
1085	1085-1103	ACCCCGAGGGCAAAUACA GTT	920	CUGUAUUUGCCCUCGGGG UTT	921
1087	1087-1105	CCCGAGGGCAAAUACAGC UTT	922	AGCUGUAUUUGCCCUCGG GTT	923
1088	1088-1106	CCGAGGGCAAAUACAGCU UTT	924	AAGCUGUAUUUGCCCUCG GTT	925
1089	1089-1107	CGAGGGCAAAUACAGCUU UTT	926	AAAGCUGUAUUUGCCCUC GTT	927
1096	1096-1114	AAAUACAGCUUUGGUGCC ATT	928	UGGCACCAAAGCUGUAUU UTT	929
1097	1097-1115	AAUACAGCUUUGGUGCCA CTT	930	GUGGCACCAAAGCUGUAU UTT	931
1098	1098-1116	AUACAGCUUUGGUGCCAC CTT	932	GGUGGCACCAAAGCUGUA UTT	933
1104	1104-1122	CUUUGGUGCCACCUGCGU GTT	934	CACGCAGGUGGCACCAAA GTT	935
1106	1106-1124	UUGGUGCCACCUGCGUGA ATT	936	UUCACGCAGGUGGCACCA ATT	937
1112	1112-1130	CCACCUGCGUGAAGAAGU GTT	938	CACUUCUUCACGCAGGUG GTT	939
1116	1116-1134	CUGCGUGAAGAAGUGUCC CTT	940	GGGACACUUCUUCACGCA GTT	941
1117	1117-1135	UGCGUGAAGAAGUGUCCC CTT	942	GGGGACACUUCUUCACGC ATT	943
1118	1118-1136	GCGUGAAGAAGUGUCCCC GTT	944	CGGGGACACUUCUUCACG CTT	945
1119	1119-1137	CGUGAAGAAGUGUCCCCG UTT	946	ACGGGGACACUUCUUCAC GTT	947
1120	1120-1138	GUGAAGAAGUGUCCCCGU ATT	948	UACGGGGACACUUCUUCA CTT	949
1121	1121-1139	UGAAGAAGUGUCCCCGUA ATT	950	UUACGGGGACACUUCUUC ATT	951
1122	1122-1140	GAAGAAGUGUCCCCGUAA UTT	952	AUUACGGGGACACUUCUU CTT	953
1123	1123-1141	AAGAAGUGUCCCCGUAAU UTT	954	AAUUACGGGGACACUUCU UTT	955

【０５９９】

【表５－１１】

1124	1124-1142	AGAAGUGUCCCCGUAAUUATT	956	UAAUUACGGGGACACUUCUTT	957
1125	1125-1143	GAAGUGUCCCCGUAAUUAUTT	958	AUAAUUACGGGGACACUUCTT	959
1126	1126-1144	AAGUGUCCCCGUAAUUAUGTT	960	CAUAAUUACGGGGACACUUTT	961
1127	1127-1145	AGUGUCCCCGUAAUUAUGUTT	962	ACAUAAUUACGGGGACACUTT	963
1128	1128-1146	GUGUCCCCGUAAUUAUGUGTT	964	CACAUAAUUACGGGGACACTT	965
1129	1129-1147	UGUCCCCGUAAUUAUGUGGTT	966	CCACAUAAUUACGGGGACATT	967
1130	1130-1148	GUCCCCGUAAUUAUGUGGUTT	968	ACCACAUAAUUACGGGGACTT	969
1132	1132-1150	CCCCGUAAUUAUGUGGUGATT	970	UCACCACAUAAUUACGGGGTT	971
1134	1134-1152	CCGUAAUUAUGUGGUGACATT	972	UGUCACCACAUAAUUACGGTT	973
1136	1136-1154	GUAAUUAUGUGGUGACAGATT	974	UCUGUCACCACAUAAUUACTT	975
1137	1137-1155	UAAUUAUGUGGUGACAGAUTT	976	AUCUGUCACCACAUAAUUATT	977
1138	1138-1156	AAUUAUGUGGUGACAGAUCTT	978	GAUCUGUCACCACAUAAUUTT	979
1139	1139-1157	AUUAUGUGGUGACAGAUCATT	980	UGAUCUGUCACCACAUAAUTT	981
1140	1140-1158	UUAUGUGGUGACAGAUCACTT	982	GUGAUCUGUCACCACAUAATT	983
1142	1142-1160	AUGUGGUGACAGAUCACGGTT	984	CCGUGAUCUGUCACCACAUTT	985
1145	1145-1163	UGGUGACAGAUCACGGCUCTT	986	GAGCCGUGAUCUGUCACCATT	987
1147	1147-1165	GUGACAGAUCACGGCUCGUTT	988	ACGAGCCGUGAUCUGUCACTT	989
1148	1148-1166	UGACAGAUCACGGCUCGUGTT	990	CACGAGCCGUGAUCUGUCATT	991
1149	1149-1167	GACAGAUCACGGCUCGUGCTT	992	GCACGAGCCGUGAUCUGUCTT	993
1150	1150-1168	ACAGAUCACGGCUCGUGCGTT	994	CGCACGAGCCGUGAUCUGUTT	995
1151	1151-1169	CAGAUCACGGCUCGUGCGUTT	996	ACGCACGAGCCGUGAUCUGTT	997
1152	1152-1170	AGAUCACGGCUCGUGCGUCTT	998	GACGCACGAGCCGUGAUCUTT	999
1153	1153-1171	GAUCACGGCUCGUGCGUCCTT	1000	GGACGCACGAGCCGUGAUCTT	1001
1154	1154-1172	AUCACGGCUCGUGCGUCCGTT	1002	CGGACGCACGAGCCGUGAUTT	1003
1155	1155-1173	UCACGGCUCGUGCGUCCGATT	1004	UCGGACGCACGAGCCGUGATT	1005
1156	1156-1174	CACGGCUCGUGCGUCCGAGTT	1006	CUCGGACGCACGAGCCGUGTT	1007
1157	1157-1175	ACGGCUCGUGCGUCCGAGCTT	1008	GCUCGGACGCACGAGCCGUTT	1009

【０６００】

【表５－１２】

1160	1160-1178	GCUCGUGCGUCCGAGCCUGTT	1010	CAGGCUCGGACGCACGAGCTT	1011
1200	1200-1218	GGAGGAAGACGGCGUCCGCTT	1012	GCGGACGCCGUCUUCCUCCTT	1013
1201	1201-1219	GAGGAAGACGGCGUCCGCATT	1014	UGCGGACGCCGUCUUCCUCTT	1015
1203	1203-1221	GGAAGACGGCGUCCGCAAGTT	1016	CUUGCGGACGCCGUCUUCCTT	1017
1204	1204-1222	GAAGACGGCGUCCGCAAGUTT	1018	ACUUGCGGACGCCGUCUUCTT	1019
1205	1205-1223	AAGACGGCGUCCGCAAGUGTT	1020	CACUUGCGGACGCCGUCUUTT	1021
1207	1207-1225	GACGGCGUCCGCAAGUGUATT	1022	UACACUUGCGGACGCCGUCTT	1023
1208	1208-1226	ACGGCGUCCGCAAGUGUAATT	1024	UUACACUUGCGGACGCCGUTT	1025
1211	1211-1229	GCGUCCGCAAGUGUAAGAATT	1026	UUCUUACACUUGCGGACGCTT	1027
1212	1212-1230	CGUCCGCAAGUGUAAGAAGTT	1028	CUUCUUACACUUGCGGACGTT	1029
1213	1213-1231	GUCCGCAAGUGUAAGAAGUTT	1030	ACUUCUUACACUUGCGGACTT	1031
1214	1214-1232	UCCGCAAGUGUAAGAAGUGTT	1032	CACUUCUUACACUUGCGGATT	1033
1215	1215-1233	CCGCAAGUGUAAGAAGUGCTT	1034	GCACUUCUUACACUUGCGGTT	1035
1216	1216-1234	CGCAAGUGUAAGAAGUGCGTT	1036	CGCACUUCUUACACUUGCGTT	1037
1217	1217-1235	GCAAGUGUAAGAAGUGCGATT	1038	UCGCACUUCUUACACUUGCTT	1039
1219	1219-1237	AAGUGUAAGAAGUGCGAAGTT	1040	CUUCGCACUUCUUACACUUTT	1041
1220	1220-1238	AGUGUAAGAAGUGCGAAGGTT	1042	CCUUCGCACUUCUUACACTT	1043
1221	1221-1239	GUGUAAGAAGUGCGAAGGGTT	1044	CCCUUCGCACUUCUUACACTT	1045
1222	1222-1240	UGUAAGAAGUGCGAAGGGCTT	1046	GCCCUUCGCACUUCUUACATT	1047
1223	1223-1241	GUAAGAAGUGCGAAGGGCCTT	1048	GGCCCUUCGCACUUCUUACTT	1049
1224	1224-1242	UAAGAAGUGCGAAGGGCCUTT	1050	AGGCCCUUCGCACUUCUUATT	1051
1225	1225-1243	AAGAAGUGCGAAGGGCCUUTT	1052	AAGGCCCUUCGCACUUCUUTT	1053
1226	1226-1244	AGAAGUGCGAAGGGCCUUGTT	1054	CAAGGCCCUUCGCACUUCUTT	1055
1229	1229-1247	AGUGCGAAGGGCCUUGCCGTT	1056	CGGCAAGGCCCUUCGCACUTT	1057
1230	1230-1248	GUGCGAAGGGCCUUGCCGCTT	1058	GCGGCAAGGCCCUUCGCACTT	1059
1231	1231-1249	UGCGAAGGGCCUUGCCGCATT	1060	UGCGGCAAGGCCCUUCGCATT	1061
1232	1232-1250	GCGAAGGGCCUUGCCGCAATT	1062	UUGCGGCAAGGCCCUUCGCTT	1063

【０６０１】

【表５－１３】

1233	1233-1251	CGAAGGGCCUUGCCGCAAATT	1064	UUUGCGGCAAGGCCCUUCGTT	1065
1235	1235-1253	AAGGGCCUUGCCGCAAAGUTT	1066	ACUUUGCGGCAAGGCCCUUTT	1067
1236	1236-1254	AGGGCCUUGCCGCAAAGUGTT	1068	CACUUUGCGGCAAGGCCCUTT	1069
1237	1237-1255	GGGCCUUGCCGCAAAGUGUTT	1070	ACACUUUGCGGCAAGGCCCTT	1071
1238	1238-1256	GGCCUUGCCGCAAAGUGUGTT	1072	CACACUUUGCGGCAAGGCCTT	1073
1239	1239-1257	GCCUUGCCGCAAAGUGUGUTT	1074	ACACACUUUGCGGCAAGGCTT	1075
1241	1241-1259	CUUGCCGCAAAGUGUGUAATT	1076	UUACACACUUUGCGGCAAGTT	1077
1261	1261-1279	GGAAUAGGUAUUGGUGAAUTT	1078	AUUCACCAAUACCUAUUCCTT	1079
1262	1262-1280	GAAUAGGUAUUGGUGAAUUTT	1080	AAUUCACCAAUACCUAUUCTT	1081
1263	1263-1281	AAUAGGUAUUGGUGAAUUUTT	1082	AAAUUCACCAAUACCUAUUTT	1083
1264	1264-1282	AUAGGUAUUGGUGAAUUUATT	1084	UAAAUUCACCAAUACCUAUTT	1085
1266	1266-1284	AGGUAUUGGUGAAUUUAAATT	1086	UUUAAAUUCACCAAUACCUTT	1087
1267	1267-1285	GGUAUUGGUGAAUUUAAAGTT	1088	CUUUAAAUUCACCAAUACCTT	1089
1289	1289-1307	CACUCUCCAUAAAUGCUACTT	1090	GUAGCAUUUAUGGAGAGUGTT	1091
1313	1313-1331	UUAAACACUUCAAAAACUGTT	1092	CAGUUUUUGAAGUGUUUAATT	1093
1320	1320-1338	CUUCAAAAACUGCACCUCCTT	1094	GGAGGUGCAGUUUUUGAAGTT	1095
1321	1321-1339	UUCAAAAACUGCACCUCCATT	1096	UGGAGGUGCAGUUUUUGAATT	1097
1322	1322-1340	UCAAAAACUGCACCUCCAUTT	1098	AUGGAGGUGCAGUUUUUGATT	1099
1323	1323-1341	CAAAAACUGCACCUCCAUCTT	1100	GAUGGAGGUGCAGUUUUUGTT	1101
1324	1324-1342	AAAAACUGCACCUCCAUCATT	1102	UGAUGGAGGUGCAGUUUUUTT	1103
1328	1328-1346	ACUGCACCUCCAUCAGUGGTT	1104	CCACUGAUGGAGGUGCAGUTT	1105
1332	1332-1350	CACCUCCAUCAGUGGCGAUTT	1106	AUCGCCACUGAUGGAGGUGTT	1107
1333	1333-1351	ACCUCCAUCAGUGGCGAUCTT	1108	GAUCGCCACUGAUGGAGGUTT	1109
1335	1335-1353	CUCCAUCAGUGGCGAUCUCTT	1110	GAGAUCGCCACUGAUGGAGTT	1111
1338	1338-1356	CAUCAGUGGCGAUCUCCACTT	1112	GUGGAGAUCGCCACUGAUGTT	1113
1344	1344-1362	UGGCGAUCUCCACAUCCUGTT	1114	CAGGAUGUGGAGAUCGCCATT	1115
1345	1345-1363	GGCGAUCUCCACAUCCUGCTT	1116	GCAGGAUGUGGAGAUCGCCTT	1117

【０６０２】

【表５－１４】

1346	1346-1364	GCGAUCUCCACAUCCUGCCTT	1118	GGCAGGAUGUGGAGAUCGCTT	1119
1347	1347-1365	CGAUCUCCACAUCCUGCCGTT	1120	CGGCAGGAUGUGGAGAUCGTT	1121
1348	1348-1366	GAUCUCCACAUCCUGCCGGTT	1122	CCGGCAGGAUGUGGAGAUCTT	1123
1353	1353-1371	CCACAUCCUGCCGGUGGCATT	1124	UGCCACCGGCAGGAUGUGGTT	1125
1354	1354-1372	CACAUCCUGCCGGUGGCAUTT	1126	AUGCCACCGGCAGGAUGUGTT	1127
1355	1355-1373	ACAUCCUGCCGGUGGCAUUTT	1128	AAUGCCACCGGCAGGAUGUTT	1129
1357	1357-1375	AUCCUGCCGGUGGCAUUUATT	1130	UAAAUGCCACCGGCAGGAUTT	1131
1360	1360-1378	CUGCCGGUGGCAUUUAGGGTT	1132	CCCUAAAUGCCACCGGCAGTT	1133
1361	1361-1379	UGCCGGUGGCAUUUAGGGGTT	1134	CCCCUAAAUGCCACCGGCATT	1135
1362	1362-1380	GCCGGUGGCAUUUAGGGGUTT	1136	ACCCCUAAAUGCCACCGGCTT	1137
1363	1363-1381	CCGGUGGCAUUUAGGGGUGTT	1138	CACCCCUAAAUGCCACCGGTT	1139
1366	1366-1384	GUGGCAUUUAGGGGUGACUTT	1140	AGUCACCCCUAAAUGCCACTT	1141
1369	1369-1387	GCAUUUAGGGGUGACUCCUTT	1142	AGGAGUCACCCCUAAAUGCTT	1143
1370	1370-1388	CAUUUAGGGGUGACUCCUUTT	1144	AAGGAGUCACCCCUAAAUGTT	1145
1371	1371-1389	AUUUAGGGGUGACUCCUUCTT	1146	GAAGGAGUCACCCCUAAAUTT	1147
1372	1372-1390	UUUAGGGGUGACUCCUUCATT	1148	UGAAGGAGUCACCCCUAAATT	1149
1373	1373-1391	UUAGGGGUGACUCCUUCACTT	1150	GUGAAGGAGUCACCCCUAATT	1151
1374	1374-1392	UAGGGGUGACUCCUUCACATT	1152	UGUGAAGGAGUCACCCCUATT	1153
1404	1404-1422	UCUGGAUCCACAGGAACUGTT	1154	CAGUUCCUGUGGAUCCAGATT	1155
1408	1408-1426	GAUCCACAGGAACUGGAUATT	1156	UAUCCAGUUCCUGUGGAUCTT	1157
1409	1409-1427	AUCCACAGGAACUGGAUAUTT	1158	AUAUCCAGUUCCUGUGGAUTT	1159
1411	1411-1429	CCACAGGAACUGGAUAUUCTT	1160	GAAUAUCCAGUUCCUGUGGTT	1161
1412	1412-1430	CACAGGAACUGGAUAUUCUTT	1162	AGAAUAUCCAGUUCCUGUGTT	1163
1419	1419-1437	ACUGGAUAUUCUGAAAACCTT	1164	GGUUUUCAGAAUAUCCAGUTT	1165
1426	1426-1444	AUUCUGAAAACCGUAAAGGTT	1166	CCUUUACGGUUUUCAGAAUTT	1167
1427	1427-1445	UUCUGAAAACCGUAAAGGATT	1168	UCCUUUACGGUUUUCAGAATT	1169
1430	1430-1448	UGAAAACCGUAAAGGAAAUTT	1170	AUUUCCUUUACGGUUUUCATT	1171

【０６０３】

【表５－１５】

1431	1431-1449	GAAAACCGUAAAGGAAAUCTT	1172	GAUUUCCUUUACGGUUUUCTT	1173

【０６０４】
【表６】

表 5. AR 標的配列

ID	コード	標的配列	**SEQ ID NO:**	**NM_000044.3**	エクソン	種
XD-01817K1	**17**	**CAAAGGUUCUCUGCUAGACGACA**	**1174**	**1987-2005**	**1**	**h**
XD-01827K1	**27**	**UCUGGGUGUCACUAUGGAGCUCU**	**1175**	**2819-2837**	**2**	**h**
XD-01828K1	**28**	**CUGGGUGUCACUAUGGAGCUCUC**	**1176**	**2820-2838**	**2**	**h**
XD-01829K1	**29**	**GGGUGUCACUAUGGAGCUCUCAC**	**1177**	**2822-2840**	**2**	**h**
XD-01821K1	21	UACUACAACUUUCCACUGGCUCU	1178	2207-2225	1	h
XD-01825K1	25	AAGCUUCUGGGUGUCACUAUGGA	1179	2814-2832	2	h, m
XD-01826K1	26	CUUCUGGGUGUCACUAUGGAGCU	1180	2817-2835	2	h

【０６０５】
【表７】

表 6. β-カテニン 標的配列

R #	一般名	遺伝子	標的配列			
R-1146	1797mfm	CTNNB1	CUGUUGGAUUGAUUCGAAAUU	SEQ ID NO: 1181	UUUCGAAUCAAUCCAACAGUU	SEQ ID NO: 1182
R-1147	1870mfm	CTNNB1	ACGACUAGUUCAGUUGCUUUU	SEQ ID NO: 1183	AAGCAACUGAACUAGUCGUUU	SEQ ID NO: 1184

【０６０６】

【表８】

表 7. PIK3CA* および PIK3CB* 標的配列

遺伝子記号	遺伝子 ID	名称	標的配列 (97-量体)	SEQ ID NO:
PIK3CA	5290	PIK3CA_1746	TGCTGTTGACAGTGAGCGCCAGCTCAAAGCAATTTCTACATAGTGAAGCCACAGATGTATGTAGAAATTGCTTTGAGCTGTTGCCTACTGCCTCGGA	1185
PIK3CA	5290	PIK3CA_2328	TGCTGTTGACAGTGAGCGAAAGGATGAAACACAAAAGGTATAGTGAAGCCACAGATGTATACCTTTTGTGTTTCATCCTTCTGCCTACTGCCTCGGA	1186
PIK3CA	5290	PIK3CA_2522	TGCTGTTGACAGTGAGCGCCATGTCAGAGTTACTGTTTCATAGTGAAGCCACAGATGTATGAAACAGTAACTCTGACATGATGCCTACTGCCTCGGA	1187
PIK3CA	5290	PIK3CA_3555	TGCTGTTGACAGTGAGCGCAACTAGTTCATTTCAAAATTATAGTGAAGCCACAGATGTATAATTTTGAAATGAACTAGTTTTGCCTACTGCCTCGGA	1188
PIK3CA	5290	PIK3CA_3484	TGCTGTTGACAGTGAGCGCACAGCAAGAACAGAAATAAAATAGTGAAGCCACAGATGTATTTTATTTCTGTTCTTGCTGTATGCCTACTGCCTCGGA	1189
PIK3CB	5291	PIK3CB_862	TGCTGTTGACAGTGAGCGACAAGATCAAGAAAATGTATGATAGTGAAGCCACAGATGTATCATACATTTTCTTGATCTTGCTGCCTACTGCCTCGGA	1190
PIK3CB	5291	PIK3CB_183	TGCTGTTGACAGTGAGCGCAGCAAGTTCACAATTACCCAATAGTGAAGCCACAGATGTATTGGGTAATTGTGAACTTGCTTTGCCTACTGCCTCGGA	1191
PIK3CB	5291	PIK3CB_1520	TGCTGTTGACAGTGAGCGCCCCTTCGATAAGATTATTGAATAGTGAAGCCACAGATGTATTCAATAATCTTATCGAAGGGATGCCTACTGCCTCGGA	1192
PIK3CB	5291	PIK3CB_272	TGCTGTTGACAGTGAGCGAGAGCTTGAAGATGAAACACGATAGTGAAGCCACAGATGTATCGTGTTTCATCTTCAAGCTCCTGCCTACTGCCTCGGA	1193
PIK3CB	5291	PIK3CB_948	TGCTGTTGACAGTGAGCGACACCAAAGAAAACACGAATTATAGTGAAGCCACAGATGTATAATTCGTGTTTTCTTTGGTGGTGCCTACTGCCTCGGA	1194

*種はヒトである。

【０６０７】

【表９】

表 8. PIK3CA および PIK3CB siRNA 配列

遺伝子記号	遺伝子 ID	名称	siRNA ガイド	SEQ ID NO:	siRNA パッセンジャー	SEQ ID NO:
PIK3CA	5290	PIK3CA_1746	UGUAGAAAUUGCUUUGAGCUGU	1195	AGCUCAAAGCAAUUUCUACAUA	1196
PIK3CA	5290	PIK3CA_2328	UACCUUUUGUGUUUCAUCCUUC	1197	AGGAUGAAACACAAAAGGUAUA	1198
PIK3CA	5290	PIK3CA_2522	UGAAACAGUAACUCUGACAUGA	1199	AUGUCAGAGUUACUGUUUCAUA	1200
PIK3CA	5290	PIK3CA_3555	UAAUUUUGAAAUGAACUAGUUU	1201	ACUAGUUCAUUUCAAAAUUAUA	1202
PIK3CA	5290	PIK3CA_3484	UUUUAUUUCUGUUCUUGCUGUA	1203	CAGCAAGAACAGAAAUAAAAUA	1204
PIK3CB	5291	PIK3CB_862	UCAUACAUUUUCUUGAUCUUGC	1205	AAGAUCAAGAAAAUGUAUGAUA	1206
PIK3CB	5291	PIK3CB_183	UUGGGUAAUUGUGAACUUGCUU	1207	GCAAGUUCACAAUUACCCAAUA	1208
PIK3CB	5291	PIK3CB_1520	UUCAAUAAUCUUAUCGAAGGGA	1209	CCUUCGAUAAGAUUAUUGAAUA	1210
PIK3CB	5291	PIK3CB_272	UCGUGUUUCAUCUUCAAGCUCC	1211	AGCUUGAAGAUGAAACACGAUA	1212
PIK3CB	5291	PIK3CB_948	UAAUUCGUGUUUUCUUUGGUGG	1213	ACCAAAGAAAACACGAAUUAUA	1214

【０６０８】

【表１０】

表 9. 追加のポリ核酸分子配列

	塩基開始位置	ガイド鎖	SEQ ID NO:	パッセンジャー鎖	SEQ ID NO:
EGFR R1246	333	ACUCGUGCCUUGGCAAACUUU	1215	AGUUUGCCAAGGCACGAGUUU	1216
EGFR R1195	333	ACUCGUGCCUUGGCAAACUUU	1217	AGUUUGCCAAGGCACGAGUUU	1218
EGFR R1449	333	ACUCGUGCCUUGGCAAACUUU	1219	AGUUUGCCAAGGCACGAGUUU	1220
KRAS R1450	237	UGAAUUAGCUGUAUCGUCAUU	1221	TGACGAUACAGCUAAUUCAUU	1222
KRAS R1443	237	UGAAUUAGCUGUAUCGUCAUU	1223	UGACGAUACAGCUAAUUCAUU	1224
KRAS R1194	237	UGAAUUAGCUGUAUCGUCAUU	1225	UGACGAUACAGCUAAUUCAUU	1226
CTNNB1 R1442	1248	UAAGUAUAGGUCCUCAUUAUU	1227	UAAUGAGGACCUAUACUUAUU	1228
CTNNB1 R1404	1797	TUUCGAAUCAAUCCAACAGUU	1229	CUGUUGGAUUGAUUCGAAAUU	1230
CTNNB1 R1441	1797	UUUCGAAUCAAUCCAACAGUU	1231	CUGUUGGAUUGAUUCGAAAUU	1232
CTNNB1 R1523	1797	UUUCGAAUCAAUCCAACAGUU	1233	CUGUUGGAUUGAUUCGAAAUU	1234
HPRT R1492	425	AUAAAAUCUACAGUCAUAGUU	1235	CUAUGACUGUAGAUUUUAUUU	1236
HPRT R1526	425	UUAAAAUCUACAGUCAUAGUU	1237	CUAUGACUGUAGAUUUUAAUU	1238
HPRT R1527	425	UUAAAAUCUACAGUCAUAGUU	1239	CUAUGACUGUAGAUUUUAAUU	1240
AR R1245	2822	GAGAGCUCCAUAGUGACACUU	1241	GUGUCACUAUGGAGCUCUCUU	1242

【０６０９】

実施例２．一般的な実験プロトコル

ｓｉＲＮＡの定量化のためのステムループｑＰＣＲアッセイ

【０６１０】

血漿サンプルをＴＥ緩衝液において直接希釈する。５０ｍｇの組織断片を、ＦａｓｔＰｒｅｐ－２４組織ホモジナイザー（ＭＰ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ）を使用して、１ｍＬのＴｒｉｚｏｌにおいて均質化し、その後、ＴＥ緩衝液で希釈した。未処置の動物の血漿あるいは均質化された組織へとｓｉＲＮＡをスパイクし、その後、連続的にＴＥ緩衝液で希釈することによって、標準曲線を生成する。ｓｉＲＮＡのアンチセンス鎖を、２５ｎＭの配列に特異的なステム－ループＲＴプライマーを用いるＴａｑＭａｎ　ＭｉｃｒｏＲＮＡ逆転写キットを使用して、逆転写した。ＲＴ工程からのｃＤＮＡを、１．５μＭのフォワードプライマー、０．７５μＭのリバースプライマー、および０．２μＭのプローブを有するＴａｑＭａｎ　Ｆａｓｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用したリアルタイムＰＣＲに利用する。ＶｉｉＡ　７リアルタイムＰＣＲシステム（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で標準的サイクリング条件を使用して、定量的ＰＣＲ反応を実施する。標準曲線から導出された一次方程式を使用して、Ｃｔ値を血漿または組織中濃度に変換する。

【０６１１】

ｍＲＮＡノックダウンの決定のための比較ｑＰＣＲアッセイ

【０６１２】
組織サンプルを上に記載されるようにＴｒｉｚｏｌにおいて均質化する。ＲＮｅａｓｙ ＲＮＡ単離９６ウェルプレート（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して全ＲＮＡを単離し、その後、Ｈｉｇｈ Ｃａｐａｃｉｔｙ ＲＮＡ ｔｏ ｃＤＮＡ ｋｉｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を用いて５００ｎｇのＲＮＡを逆転写する。ＶｉｉＡ ７リアルタイムＰＣＲシステムを用いて実行されたＴａｑＭａｎ ｑＰＣＲ分析によって、ＫＲＡＳ、ＥＧＦＲ、ＣＴＮＮＢ１、およびＰＰＩＢのｍＲＮＡの量を定量化する。ＥＧＦＲおよびＣＴＮＮＢ１のＴａｑＭａｎプライマーならびにプローブを、事前検証済みの遺伝子発現アッセイとしてＡｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから購入する。ＰＰＩＢ（ハウスキーピング遺伝子）を内部ＲＮＡローディングコントロールとして使用し、ＰＰＩＢのためのすべてのＴａｑＭａｎプライマーおよびプローブは、事前検証済みの遺伝子発現アッセイとしてＡｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから購入した。比較Ｃｔ方法によって結果を計算し、ここで、標的遺伝子（ＫＲＡＳ、ＣＴＮＮＢ１、あるいはＥＧＦＲ）のＣｔ値とＰＰＩＢのＣｔ値（ΔＣｔ）の間の差を計算し、その後、第２の差（ΔΔＣｔ）をとることによって、ＰＢＳ対照群に対してさらに正規化する。

【０６１３】
動物

【０６１４】
動物研究は、ＵＳＤＡ Ａｎｉｍａｌ Ｗｅｌｆａｒｅ Ａｃｔならびに“Ｇｕｉｄｅ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ ｏｆ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ａｎｉｍａｌｓ”で概説された規則を厳守する、Ｅｘｐｌｏｒａ ＢｉｏＬａｂｓのＩｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ Ａｎｉｍａｌ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）に基づくプロトコルに従って行われた。マウスはすべてＣｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ ＬａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓまたはＨａｒｌａｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓのいずれかから入手した。

【０６１５】
Ｈ３５８、ＨＣＣ８２７、およびＨｅｐ－３Ｂ２の１－７の皮下側腹部腫瘍モデル

【０６１６】
Ｈ３５８皮下側腹部腫瘍モデルについては、腫瘍細胞を接種させ、腫瘍を以下の方法に従って確立する。雌のＮＣｒ ｎｕ／ｎｕマウスを細胞注射の前日に耳標によって識別する。接種前にマウスの体重を測る。Ｈ３５８細胞を１０％のＦＢＳ／ＲＰＭＩ培地を用いて培養し、０．０５％のトリプシンおよびＣｅｌｌ Ｓｔｒｉｐｐｅｒ（ＭｅｄｉａＴｅｃｈ）で収集した。Ｍａｔｒｉｇｅｌ（１：１）を有する０．０５ｍｌのハンクス液（ＨＢＳＳ）中の５００万のＨ３５８細胞を、各マウスの右上腹部に皮下注射する（ＳＣ）。接種後７日目から開始して、平均腫瘍体積が＞１００＆≧３００ｍｍ^{3}に達するまで週２回、デジタルキャリパーを使用した腫瘍体積測定によって、腫瘍成長をモニタリングする。腫瘍が所望の体積（平均１００～３００ｍｍ^3）になると、動物を無作為化し、非常に大きいまたは小さい腫瘍を有するマウスを選別する。マウスを必要な群に分けて、腫瘍体積によって無作為化する。その後、個々の実験で記載されるようにマウスを処置する。

【０６１７】
Ｈｅｐ３Ｂの直交異方性肝腫瘍モデルについては、腫瘍細胞を接種させ、腫瘍を以下の方法で確立する。前日に雌のＮＣｒ ｎｕ／ｎｕマウスを耳標によって識別し、イソフルランを用いて麻酔をかける。その後、マウスを、体温を維持するために水循環加熱パッド上に置いた。胸骨下に小さな横切開を行い、肝臓を露出させる。２８のゲージ針を使用して、肝臓の左上葉に癌細胞をゆっくり注入する。細胞を３０度の角度で肝臓に注入し、それにより、細胞の透明な水疱を肝臓カプセルを通して見ることができる。冷たいＰＢＳ（０．１－５ｘ１０^{6}細胞）を懸濁し、希釈したマトリゲル（ＰＢＳ中３０ｘ）と混合することにより、Ｈｅｐ３Ｂ２．１ ７細胞を調製する。３０－５０ｕｌの細胞／マトリゲルを接種させる。注射後、滅菌ガーゼの小さな１片を注入箇所に置き、出血を防ぐために１分間軽く圧を加えた。その後、腹部を６－０絹縫合で閉じる。腫瘍細胞の移植後に、動物

を暖かいケージに入れ、１～２時間観察し、麻酔から完全に回復した後に動物飼育室に戻す。腫瘍移植の７－１０日後に動物を無作為化し、必要な群に分け、その後、個々の実験で記載されるように処置した。

【０６１８】

ＬＮＣａｐの皮下側腹部腫瘍モデル

【０６１９】

ＬＮＣａＰ細胞（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＲＬ－１７４０（商標））を、約８０％の培養密度まで、非必須アミノ酸およびピルビン酸ナトリウムで捕捉されたＲＰＭＩ＋１０％のＦＢＳにおいて成長させる。細胞をマトリゲルと１：１で混合し、５－７＊１０^{6}細胞を雄のＳＣＩＤマウス（６－８週齢）に皮下注射した。腫瘍は、通常、３－５週間内に１００－３５０ｍｍ^{3}のサイズに成長する。この範囲内の腫瘍を有する動物を無作為化し、尾静脈への注射によりＡＳＣで処置する。ＰＤ試験のために、動物を注射の９６時間後に屠殺し、臓器の断片を収集して、重さを測り、液体窒素で冷凍する。ＲＮＡ単離のために、臓器サンプルをＴｒｉｚｏｌにおいて均質化し、メーカーの説明書に従って、Ｑｉａｇｅｎ　ＲＮｅａｓｙ　９６　Ｐｌｕｓ　ｋｉｔを使用してＲＮＡを調製する。ＲＮＡ濃度を分光学的に決定する。ΔΔＣＴ方法および検証済みＴａｑｍａｎアッセイ（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）を使用したｑＰＣＲによって定量化された特異的標的の逆転写および発現により、ＲＮＡをｃＤＮＡに変換する。サンプルを、ＰＰＩＢの発現レベルに標準化する。

【０６２０】

ペプチド合成

【０６２１】

標準Ｆｍｏｃ化学を使用して、ペプチドを固体相上で合成する。両方のペプチドはＮ末端にシステインを有しており、および、切断されたペプチドをＨＰＬＣにより精製し、質量分析法で確認する。ＩＮＦ７ペプチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０５５に示される通りである。メリチンペプチドは、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０６０に示される通りである。

【０６２２】

抗ＥＧＦＲ抗体

【０６２３】

抗ＥＧＦＲ抗体は、ヒト表皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）に対する完全なヒトＩｇＧ１κモノクローナル抗体である。これは、チャイニーズハムスター卵巣細胞株ＤＪＴ３３において産出され、ハイブリドーマ細胞株（２Ｆ８）を産出するヒト抗ＥＧＦＲ抗体由来の抗体遺伝子を運ぶＧＳベクターでのトランスフェクションによって、ＣＨＯ細胞株ＣＨＯ－Ｋ１ＳＶから導かれたものである。標準の哺乳動物細胞の培養および精製の技術が、抗ＥＧＦＲ抗体の製造に利用される。

【０６２４】

グリカンのない抗ＥＧＦＲ抗体の理論上の分子量（ＭＷ）は１４６．６ｋＤａである。上記抗体の主要なグリコシル化されたアイソフォームの実験的なＭＷは、質量分析法によって判定されるように１４９ｋＤａである。還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥを使用することにより、軽鎖のＭＷがおよそ２５ｋＤａであり、重鎖のＭＷがおよそ５０ｋＤａであることが分かった。重鎖は２つの鎖間のジスルフィド結合によって互いに結合され、１つの軽鎖は単一の鎖間のジスルフィド結合によって各重鎖に付けられる。軽鎖には２つの鎖間のジスルフィド結合があり、重鎖には４つの鎖間のジスルフィド結合がある。上記抗体は、Ｎ－アセチル－グルコサミン、マンノース、フコース、およびガラクトースから成るグリカンを有する重鎖のＡｓｎ３０５にて、Ｎ－結合されてグリコシル化される。存在する主なグリカンは、末端ガラクトース残基を１つも含まないか、あるいは１つを含んでいる、フコシル化された二分岐の構造である。

【０６２５】

ＩｇＧ１κ抗体の荷電されたアイソフォームパターンを、画像化されたキャピラリーＩＥＦ、アガロースＩＥＦ、および分析的陽イオン交換ＨＰＬＣを使用して調べた。多数の

荷電されたアイソフォームが見られ、主なアイソフォームはおよそ８．７の等電点を持つ。

【０６２６】

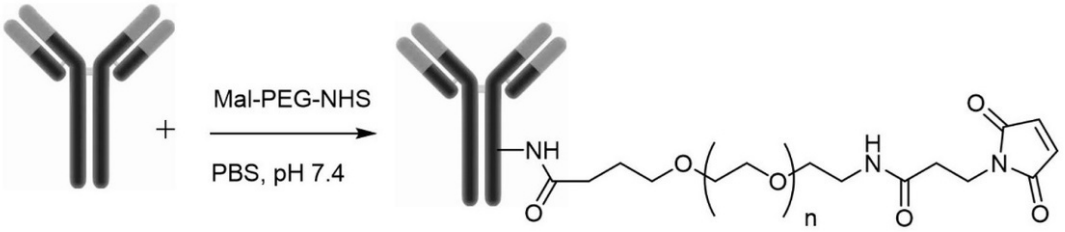
抗ＥＧＦＲ抗体の作用の主要機構は、Ａ４３１癌細胞における、ＥＧＦで誘導されたＥＧＦＲリン酸化の濃縮依存性阻害である。加えて、低い抗体濃度での抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）の誘導を、前臨床的細胞のインビトロでの研究において観察した。

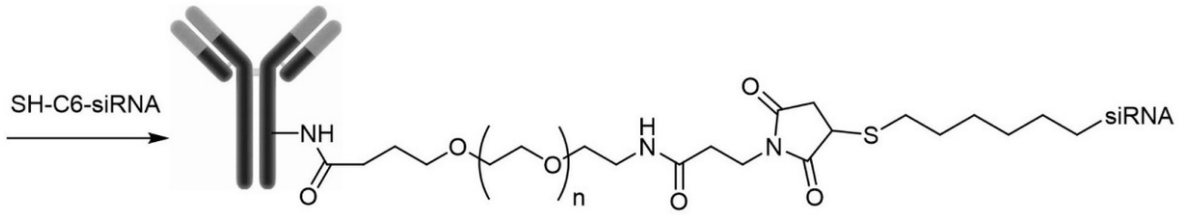
【０６２７】

実施例３：抗体－ＰＥＧ－ＥＧＦＲおよび抗体－ＥＧＦＲ抱合体の合成、精製、ならびに分析。

【０６２８】

【化９２】





結合スキーム－１

【０６２９】

工程１：マレイミド－ＰＥＧ－ＮＨＳとの抗体結合、その後の、ＳＨ－ＥＧＦＲとの抗体結合

【０６３０】

抗ＥＧＦＲ抗体（ＥＧＦＲ－Ａｂ）を、１Ｘリン酸緩衝液（ｐＨ７．４）と交換し、最大で５ｍｇ／ｍｌの濃度にする。この溶液に、２当量のＳＭＣＣリンカーあるいはマレイミド－ＰＥＧｘｋＤａ－ＮＨＳ（ｘ＝１、５、１０、２０）を加え、室温で４時間回転させる。未反応のマレイミド－ＰＥＧを、５０ｋＤａ　ＭＷＣＯ　ＡｍｉｃｏｎスピンフィルターおよびｐＢＳ　ｐＨ７．４を使用する回転濾過によって除去する。抗体－ＰＥＧＭａｌ抱合体を集めて、反応容器に移す。ＳＨ－Ｃ６－ＥＧＦＲ（２当量）をＰＢＳ中の抗体－ＰＥＧマレイミドに室温で加え、夜通し回転させた。反応混合物を分析的ＳＡＸカラムクロマトグラフィーにより分析し、未反応の抗体およびｓｉＲＮＡと共に抱合体が見られる。

【０６３１】

工程２：精製

【０６３２】

粗製反応混合物を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－１を使用するＡＫＴＡ　ｅｘｐｌｏｒｅｒ　ＦＰＬＣによって精製する。抗体－ＰＥＧ－ＥＧＦＲ抱合体を含む画分をプールし、濃縮し、ＰＢＳ（ｐＨ７．４）と緩衝液交換する。ＳＭＣＣリンカー、ＰＥＧ１ｋＤａ、ＰＥＧ５ｋＤａ、およびＰＥＧ１０ｋＤａを含む抗体ｓｉＲＮＡ抱合体を、ｓ

ｉＲＮＡ負荷に基づいて分離する。
【０６３３】
工程３：精製された抱合体の分析。単離した抱合体を、質量スペクトルまたはＳＤＳ－ＰＡＧＥのいずれかによって特徴付ける。抱合体の純度を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－２または陰イオン交換クロマトグラフィー法－３の何れかを使用する分析的ＨＰＬＣによって評価する。
【０６３４】
陰イオン交換クロマトグラフィー法－１。
１．　カラム：Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，ＴＳＫＧｅｌ　ＳｕｐｅｒＱ－５ＰＷ，　２１．５ｍｍ　ＩＤ　Ｘ　１５ｃｍ，１３ｕｍ
２．　溶媒Ａ：２０ｍＭのＴＲＩＳ緩衝液、ｐＨ８．０；溶媒Ｂ：２０ｍＭのＴＲＩＳ、１．５ＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．０；流速：６．０ｍｌ／分
３．　勾配：

	％Ａ	％Ｂ	カラム体積
ｂ．	１００	０	１．００
ｃ．	６０	４０	１８．００
ｄ．	４０	６０	２．００
ｅ．	４０	６０	５．００
ｆ．	０	１００	２．００
ｇ．	１００	０	２．００

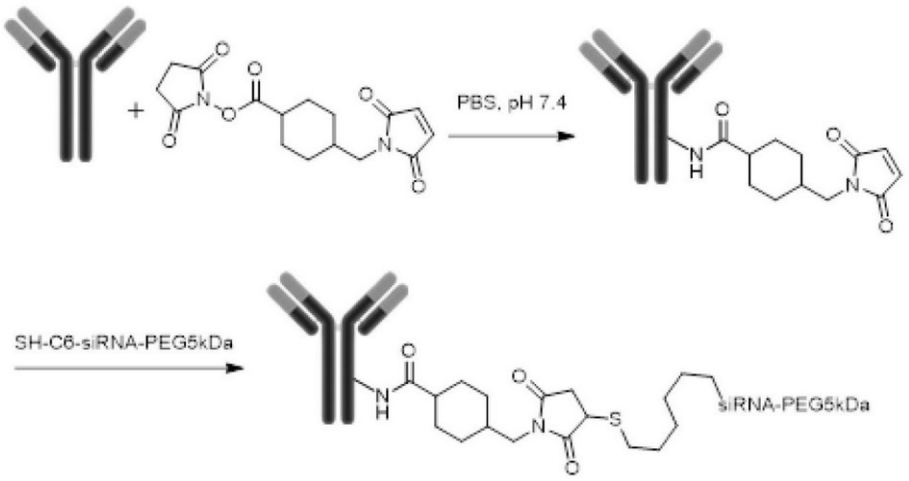
【０６３５】
陰イオン交換クロマトグラフィー法－２
１．　カラム：Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，ＰｒｏＰａｃ（商標）　ＳＡＸ－１０，　Ｂｉｏ　ＬＣ（商標），４　Ｘ　２５０ｍｍ
２．　溶媒Ａ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐＨ８、２０％のエタノール；溶媒Ｂ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐｈ８、２０％のエタノール、１．５ＭのＮａＣｌ；流速：１．０ｍｌ／分
３．　勾配：

	時間	％Ａ	％Ｂ
ｂ．	０．０	９０	１０
ｃ．	３．００	９０	１０
ｄ．	１１．００	４０	６０
ｅ．	１３．００	４０	６０
ｆ．	１５．００	９０	１０
ｇ．	２０．００	９０	１０

【０６３６】
陰イオン交換クロマトグラフィー法－３
１．　カラム：Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，　ＰｒｏＰａｃ（商標）　ＳＡＸ－１０，　Ｂｉｏ　ＬＣ（商標），　４　Ｘ　２５０　ｍｍ
２．　溶媒Ａ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐＨ８、２０％のエタノール；溶媒Ｂ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐＨ８、２０％のエタノール、１．５ＭのＮａＣｌ
３．　流速：０．７５ｍｌ／分
４．　勾配：

	時間	％Ａ	％Ｂ
ｂ．	０．０	９０	１０
ｃ．	３．００	９０	１０
ｄ．	１１．００	４０	６０
ｅ．	２３．００	４０	６０
ｆ．	２５．００	９０	１０
ｇ．	３０．００	９０	１０

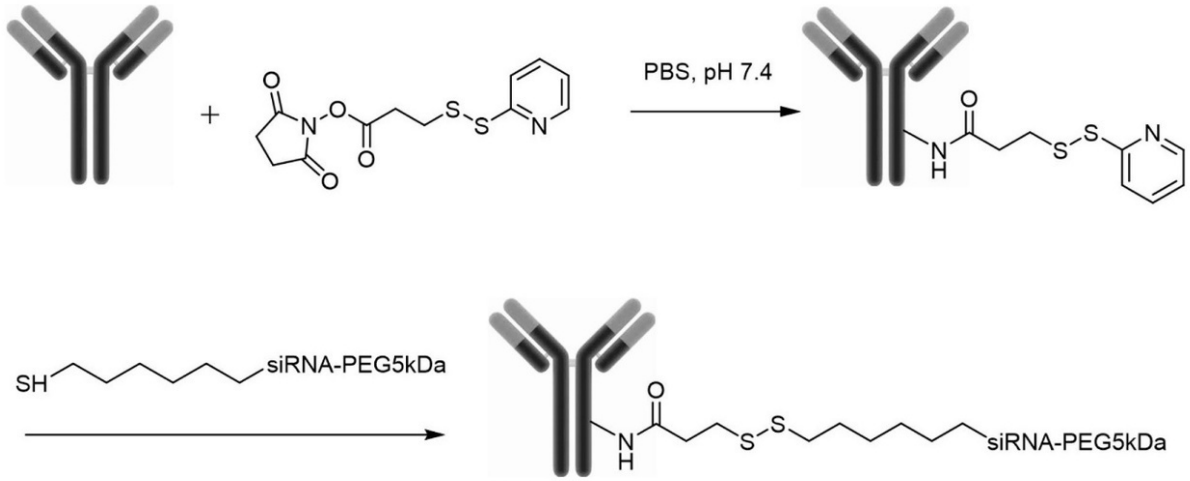
【０６３７】
実施例４：抗体－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧ抱合体の合成、精製、および分析
【０６３８】
【化９３】



結合スキーム－２

【０６３９】
工程１：ＳＭＣＣリンカーとの、その後のＳＨ－ＫＲＡＳ－ＰＥＧ５ｋＤａとの抗体抱合
【０６４０】
抗ＥＧＦＲ抗体を１Ｘリン酸緩衝液（ｐＨ７．４）と交換し、最大で５ｍｇ／ｍｌの濃度にする。この溶液に、２当量のＳＭＣＣリンカー（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルキシレート）を加え、室温で４時間回転させる。未反応のＳＭＣＣリンカーを、５０ｋＤａ　ＭＷＣＯ　ＡｍｉｃｏｎスピンフィルターおよびＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．４）を使用する回転濾過によって除去する。残余分を集めて、２当量のＳＨ－Ｃ６－ＫＲＡＳ－ＰＥＧ５ｋＤａを室温で加え、夜通し回転させる。反応混合物を分析的ＳＡＸカラムクロマトグラフィーによって分析する。
【０６４１】
工程２：精製
【０６４２】
粗製反応混合物を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－１を使用するＡＫＴＡ　ｅｘｐｌｏｒｅｒ　ＦＰＬＣによって精製する。抗体－ＫＲＡＳ－ＰＥＧ抱合体を含む画分をプールし、濃縮し、ＰＢＳ（ｐＨ７．４）と緩衝液交換した。
【０６４３】
工程３：精製された抱合体の分析
単離した抱合体を、質量スペクトルまたはＳＤＳ－ＰＡＧＥのいずれかによって特徴付ける。抱合体の純度を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－３（実施例１に記載される）を使用する分析的ＨＰＬＣによって評価する。
【０６４４】
実施例５：抗体－Ｓ－Ｓ－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧ抱合体の合成、精製、および分析
【０６４５】

【化９４】



結合スキーム－３

【０６４６】

工程１：ＳＰＤＰリンカーとの、その後のＳＨ－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧ５ｋＤａとの抗体抱合

【０６４７】

抗ＥＧＦＲ抗体を１Ｘリン酸緩衝液（ｐＨ７．４）と交換し、最大で５ｍｇ／ｍｌの濃度にする。この溶液に、２当量のＳＰＤＰリンカー（スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオナート）を加え、室温で４時間回転させる。未反応のＳＰＤＰリンカーを、５０ｋＤａのＭＷＣＯ　ＡｍｉｃｏｎスピンフィルターおよびｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液を使用する回転濾過によって除去する。残余分を集めて、２当量のＳＨ－Ｃ６－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧ５ｋＤａを室温で加え、夜通し回転させる。反応混合物を分析的ＳＡＸカラムクロマトグラフィーによって分析し、未反応の抗体と共に結合することが判定された。

【０６４８】

工程２：精製

【０６４９】

粗製反応混合物を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－１を使用するＡＫＴＡ　ｅｘｐｌｏｒｅｒ　ＦＰＬＣによって精製する。抗体－ＰＥＧ－ｓｉＲＮＡ抱合体を含む画分をプールし、濃縮し、ＰＢＳ（ｐＨ７．４）と緩衝液交換する。

【０６５０】

工程３：精製された抱合体の分析

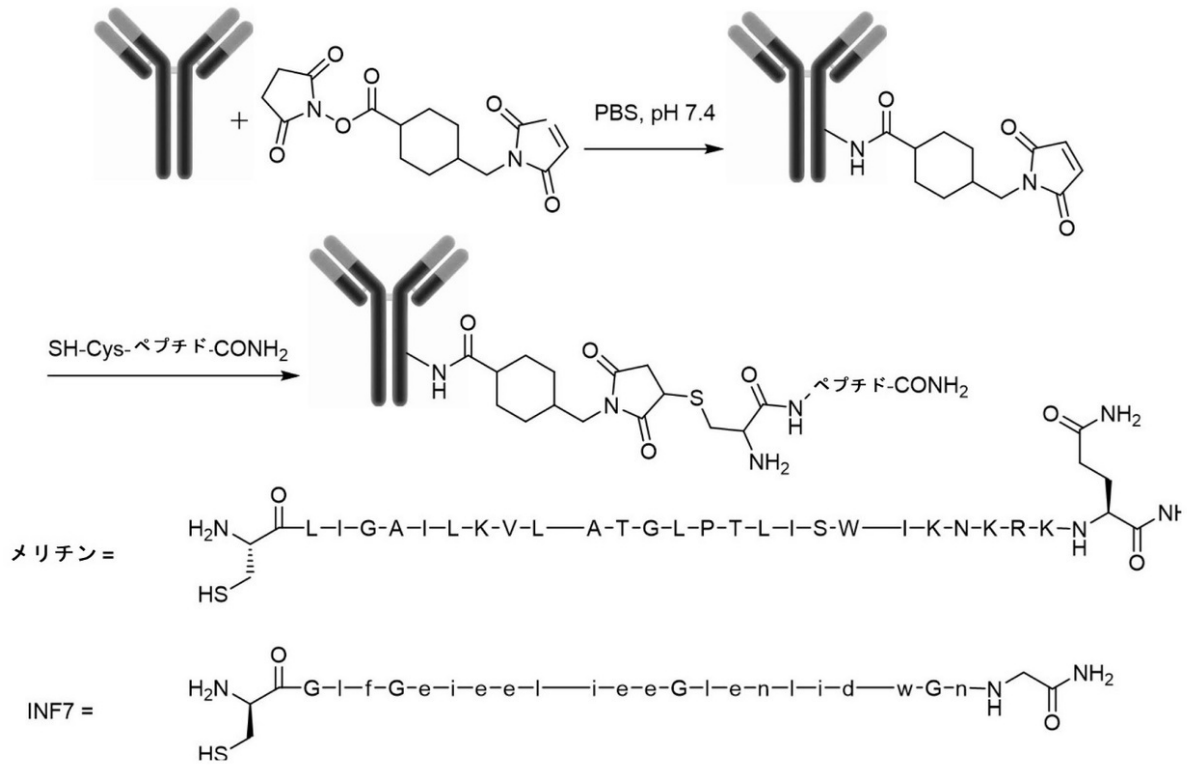
単離した抱合体を、質量スペクトルまたはＳＤＳ－ＰＡＧＥのいずれかによって特徴付ける。抱合体の純度を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－２を使用する分析的ＨＰＬＣによって評価する。

【０６５１】

実施例６：抗体－ＳＭＣＣ－エンドソームエスケープペプチド抱合体の合成、精製、および分析

【０６５２】

【化９５】



結合スキーム－４

【０６５３】

工程１：ＳＭＣＣリンカーあるいはマレイミド－ＰＥＧ－ＮＨＳとの、その後のＳＨ－Ｃｙｓ－ペプチド－ＣＯＮＨ$_2$との抗体結合

【０６５４】

抗ＥＧＦＲ抗体を１Ｘリン酸緩衝液（ｐＨ７．４）と交換し、最大で１０ｍｇ／ｍｌの濃度にする。この溶液に、３当量のＳＭＣＣリンカー（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート）あるいはマレイミド－ＰＥＧ１ｋＤａ－ＮＨＳを加え、室温で１．５時間回転させる。未反応のＳＭＣＣリンカーあるいはＰＥＧリンカーを、５０ｋＤａ　ＭＷＣＯ　ＡｍｉｃｏｎスピンフィルターおよびｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液（メリチン抱合体の場合、２５ｍＭのＭＥＳ　ｐＨ＝６．１）を使用して、回転濾過によって除去する。残余分を集めて、３当量のＳＨ－Ｃｙｓ－ペプチド－ＣＯＮＨ$_2$を室温で加え、夜通し回転させる。その後、反応混合物をＨＩＣクロマトグラフィーあるいは陽イオン交換クロマトグラフィーのいずれかによって精製して、抗ＥＧＦＲ抗体ペプチドあるいは抗ＥＧＦＲ抗体ＰＥＧ１ｋペプチドを単離する。

【０６５５】

工程２：精製

【０６５６】

粗製反応混合物を、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）法－１あるいは陽イオン交換クロマトグラフィー法－１のいずれかを使用したＡＫＴＡ　ｅｘｐｌｏｒｅｒ　ＦＰＬＣにより精製する。抗体ペプチド抱合体を含有している画分をプールし、濃縮し、およびｐＨ７．４のＰＢＳ（メリチン抱合体の１０ｍＭのアセテートの場合、ｐＨ＝６．０）と緩衝液交換する。

【０６５７】

工程３：精製された抱合体の分析

単離した抱合体を、質量スペクトルまたはＳＤＳ－ＰＡＧＥのいずれかによって特徴付

ける。純度およびペプチド負荷を、ＨＩＣ法－２あるいは陽イオン交換クロマトグラフィー法－２のいずれかを使用した分析的ＨＰＬＣによって評価する。

【０６５８】

陽イオン交換クロマトグラフィー法－１

１．　カラム：ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　ＨｉＰｒｅｐ　ＳＰ　ＨＰ　１６／１０

２．　溶媒Ａ：５０ｍＭ　ＭＥＳ　ｐＨ＝６．０；溶媒Ｂ：５０ｍＭのＭＥＳ＋０．５ＭのＮａＣｌ　ｐＨ＝６．０；流速：２．０ｍｌ／分

３．　勾配：

	％Ａ	％Ｂ	カラム体積
ｂ．	１００	０	０．１
ｃ．	１００	０	Ｆｌｕｓｈ　ｌｏｏｐ　１２ｍｌ
ｄ．	１００	０	２．５
ｅ．	０	１００	１５
ｆ．	０	１００	５
ｇ．	１００	０	０．５
ｈ．	１００	０	５

【０６５９】

陽イオン交換クロマトグラフィー法－２

１．　カラム：Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，　ＭＡｂＰａｃ（商標）　ＳＣＸ－１０，　Ｂｉｏ　ＬＣ（商標），　４　Ｘ　２５０　ｍｍ　（製品＃０７４６２５）

２．　溶媒Ａ：２０ｍＭのＭＥＳ　ｐＨ＝５．５；溶媒Ｂ：２０ｍＭのＭＥＳ＋０．３ＭのＮａＣｌ　ｐＨ＝５．５；流速：０．５ｍｌ／分

３．　勾配：

	時間	％Ａ	％Ｂ
ｂ．	０．０	１００	０
ｃ．	５	１００	０
ｄ．	５０	０	１００
ｅ．	８０	０	１００
ｆ．	８５	１００	０
ｇ．	９０	１００	０

【０６６０】

疎水性相互作用クロマトグラフィー法－１（ＨＩＣ法－１）

１．　カラム：ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｂｕｔｙｌ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　Ｈｉｇｈ　Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ　（１７－５４３２－０２）　２００ｍｌ

２．　溶媒Ａ：５０ｍＭのリン酸ナトリウム＋０．８Ｍの硫酸アンモニウム（ｐＨ＝７．０）；溶媒Ｂ：８０％、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ＝７．０）、２０％のＩＰＡ；流速：３．０ｍｌ／分

３．　勾配：

	％Ａ	％Ｂ	カラム体積
ｂ．	１００	０	０．１
ｃ．	０	１００	３
ｄ．	０	１００	１．３５
ｅ．	１００	０	０．１
ｆ．	１００	０	０．５

【０６６１】

疎水性相互作用クロマトグラフィー法－２（ＨＩＣ方法－２）

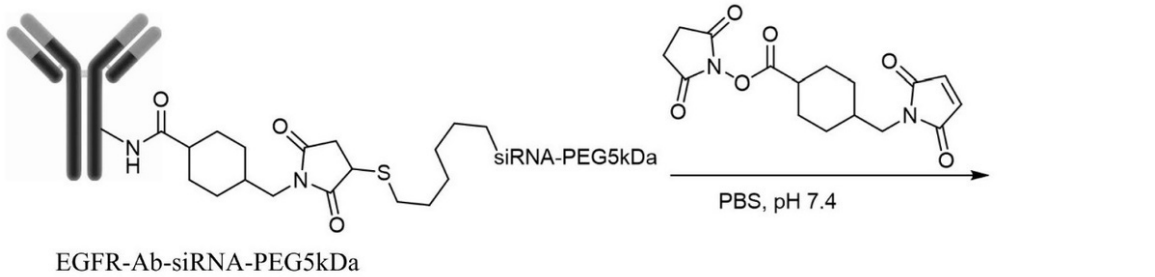
１．　カラム：Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　ＴＳＫｇｅｌ　Ｂｕｔｙｌ－ＮＰＲ　４．６ｍｍ　ＩＤ　ｘ　１０ｃｍ　２．５　μｍ

２．　溶媒Ａ：１００ｍＭのリン酸ナトリウム＋１．８Ｍの硫酸アンモニウム（ｐＨ＝７．０）；溶媒Ｂ：８０％、１００ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ＝７．０）、２０％の

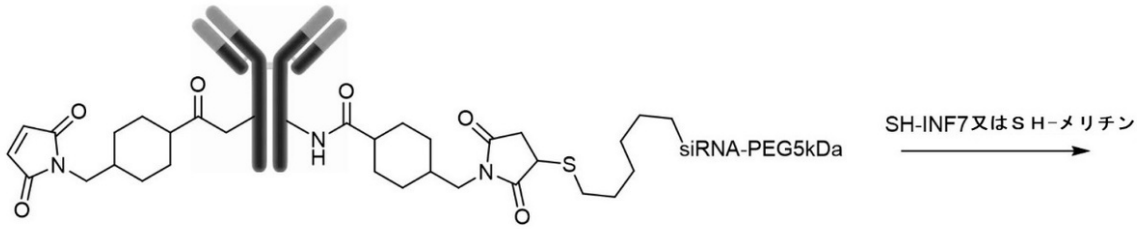
ＩＰＡ；流速：０．５ｍｌ／分
３．　勾配：

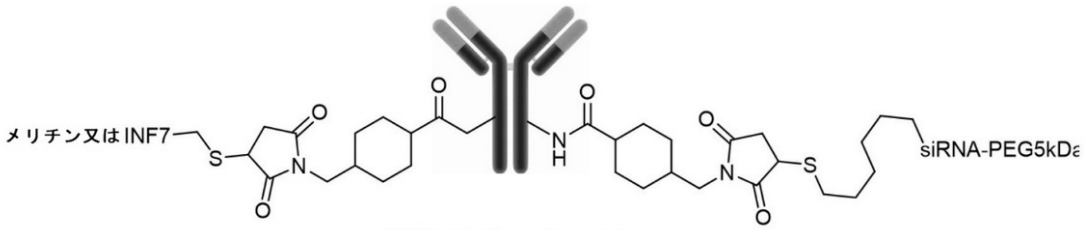
ａ．　時間	％Ａ	％Ｂ
ｂ．　０	１００	０
ｃ．　３	５０	５０
ｄ．　２１	０	１００
ｅ．　２３	０	１００
ｆ．　２５	１００	０

【０６６２】
実施例７：ＥＥＰ－抗体－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧ抱合体の合成、精製、および分析。
【０６６３】
【化９６】



EGFR-Ab-siRNA-PEG5kDa





結合スキーム－５

【０６６４】
工程１：ＰＥＧ２４リンカーの結合と、その後のＳＨ－Ｃｙｓ－ペプチド－ＣＯＮＨ$_2$のＥＧＦＲ－Ａｂ－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧへの結合
【０６６５】
ｓｉＲＮＡローディングが１のＥＧＦＲ－Ａｂ－ｓｉＲＮＡ－ＰＥＧ抱合体は、ｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液中の４当量のＰＥＧ１ｋリンカー（スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート）と結合し、室温で１．５時間回転させる。未反応のＰＥＧ１ｋリンカーを、５０ｋＤａ　ＭＷＣＯ　ＡｍｉｃｏｎスピンフィルターおよびｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液を使用する回転濾過によって除去する。残余分を集めて、４当量のＳＨ－Ｃｙｓ－ペプチド－ＣＯＮＨ$_2$を室温で加え、夜通し回転させる。
【０６６６】
工程２：精製
【０６６７】

その後、ＨＰＬＣによってモニタリングされるように、未反応のペプチドが除去されるまで、ｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液および５０のｋＤａ　Ａｍｉｃｏｎスピンフィルターを使用する回転濾過を繰り返すことによって、反応混合物を精製する。生成物は、０、１、２、３、あるいはそれ以上のペプチドが抗体骨格と結合した抱合体の混合物を含有する。

【０６６８】

工程３：精製された抱合体の分析

単離した抱合体を、質量スペクトルまたはＳＤＳ－ＰＡＧＥのいずれかによって特徴付ける。抱合体の純度およびペプチド負荷を、ＨＩＣ法－２あるいは陽イオン交換クロマトグラフィー法－２のいずれかを使用した分析的ＨＰＬＣによって評価する。

【０６６９】

実施例８．腫瘍のＰＫ／ＰＤ研究

皮下側腹部Ｈ３５８腫瘍を有するメスのＮＣｒ　ｎｕ／ｎｕマウスに、０．５ｍｇ／ｋｇでＥＧＦＲ抗体－ｓｉＲＮＡ－ＥＥＰの抱合体を投与する（ｓｉＲＮＡに基づく）。多数のＥＥＰ（エンドモリティック部分）を使用して、最適なエンドソームエスケープを示すペプチド配列を判定し、それにより、対照に比べて最良の標的遺伝子のノックダウンがもたらされる。

【０６７０】

実施例９：ナノ粒子でのＡＢＣ抱合体の製剤

典型的なＡＢＣ抱合体を、シクロデキストリンポリマー（１０ｋＤａ）、および過剰の抱合されていないｓｉＲＮＡ（ＥＤ４０－６０ｎｍ、ＰＤＩ０．１－０．２）を使用して、自己組織化したナノ粒子に包装する。これら粒子において、典型的なＡＢＣ抱合体は、抗体標的と相互に作用する自身の能力を維持する。インビボでの循環における粒子の安定性および標的結合能力を、包装ｓｉＲＮＡの修飾により調節する。

【０６７１】

ナノ粒子の形成

【０６７２】

ナノ粒子を、１．６ｍｇ／ｍＬの最終のｓｉＲＮＡ濃度で調製する。１：２０の比率でＣＹ５－ｓｉＲＮＡを含むｓｉＲＮＡを、水中で２ｘの最終濃度へと最初に希釈する。シクロデキストリンポリマー（ＣＤＰ）を、中性のｐＨの１０ｍＭのリン酸緩衝液において３：１の窒素対リンの比率（Ｎ：Ｐ）を達成するのに必要な２ｘの最終濃度に希釈する。ＣＤＰをｓｉＲＮＡに素早く加え、ピペッティングによって更に混合する。投与または分析の前に、粒子を少なくとも１５分間インキュベートする。

【０６７３】

インビトロのＥＧＦＲ結合

【０６７４】

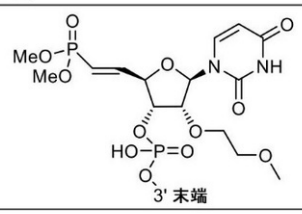
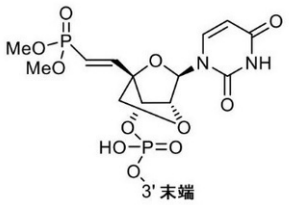
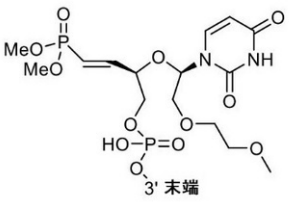
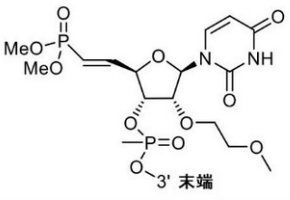
様々な量の典型的なＡＢＣ抱合体を含むナノ粒子を、１０ｎＭの最終濃度に達するまでウシ胎仔血清に希釈し、１５０ｎＭの精製されたＥＧＦＲ－Ｆｃタンパク質（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）を充填したプロテインＧ　Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）を用いて室温で１時間インキュベートする。ビーズに結合されたナノ粒子を、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０および１００ｕｇ／ｍｌのヘパリンを含む水で分裂する前に、０．０１％のＴｗｅｅｎ２０および０．０５％のＢＳＡを含むＰＢＳでビーズを２回洗浄する。インプット（ｉｎｐｕｔ）、結合されていない分画、洗浄剤、およびビーズ溶出液に含まれるＣＹ５－ｓｉＲＮＡの量を、ＴＥＣＡＮ　Ｉｎｆｉｎｉｔｅ　Ｍ２００　Ｐｒｏ（励起６３５ｎｍ；発光６７５ｎｍ）を使用した蛍光によって定量化する。

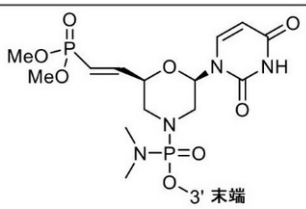
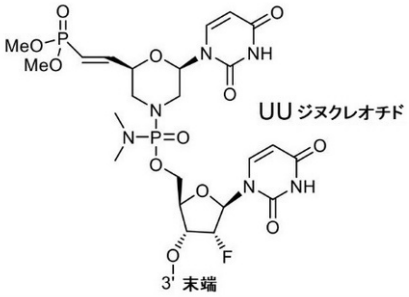
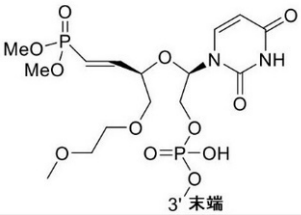
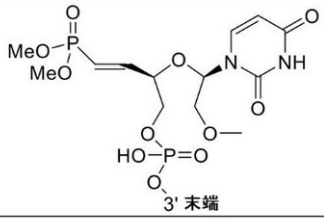
【０６７５】

実施例１０：ｓｉＲＮＡ合成

ｓｉＲＮＡ一本鎖を全て、標準のホスホロアミダイト（ｐｈｏｓｐｈａｒａｍｉｄｉｔｅ）化学を使用して固相上で完全に組み立てて、ＨＰＬＣを用いて精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。

【０６７６】
例１１－１５で使用されたビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３、１５、２６、２７および２８）は以下の表に示される。
【０６７７】
【表１１】

構造	Cmpd #
	3
	15
	26
	27

構造	Cmpd #
	28
	
	30
	32

【０６７８】
比較目的のために、化合物３を基準として使用した。
【０６７９】
化合物１５、２６、２７、２８、３０および３２は、個々のガイド鎖に組み込まれた。
【０６８０】
化合物２８は、ジヌクレオチドとして固相合成中にパッセンジャーの５’末端に組み込まれた。
【０６８１】
ｓｉＲＮＡパッセンジャー鎖はすべて、５’末端上にＣ６－NH_2結合ハンドルを含んでいた。
【０６８２】
１９塩基の相補性および３’ジヌクレオチドオーバーハングを有する２１量体の二本鎖の場合、結合ハンドルは、逆脱塩基ホスホジエステルを介してｓｉＲＮＡパッセンジャー鎖に結合された（図１Ａを参照）。
【０６８３】
１９塩基の相補性および１つの３’ジヌクレオチドオーバーハングを有する平滑末端二本鎖の場合、結合ハンドルは、末端塩基上のホスホジエステルを介してｓｉＲＮＡパッセ

ンジャー鎖に結合された（図１Ｂを参照）。
【０６８４】
精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。
【０６８５】
実施例１１．ＨＣＴ１１６細胞におけるビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造のインビトロの活性
ｓｉＲＮＡの設計および合成：２１量体のＨＰＲＴガイド鎖はマウスＨＰＲＴに対して設計された。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＡＡＡＵＣＵＡＣＡＧＵＣＡＵＡＧＵＵであった。
【０６８６】
ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物３、１５と２７）を組み込む３つのバージョンを調製した。ガイド鎖および完全に相補的な０ＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製した一本鎖を二重にし、図１Ｂに記載される二本鎖のｓｉＲＮＡを得た。
【０６８７】
インビトロの試験：様々なｓｉＲＮＡを、１００ｎＭ、１０ｎＭ、１ｎＭ、０．１ｎＭ、０．０１ｎＭ、０．００１ｎＭ、および０．０００１ｎＭの最終濃度で、ヒト結腸直腸癌ＨＣＴ１１６細胞にトランスフェクトした。メーカーの「フォワードトランスフェクション（ｆｏｒｗａｒｄ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ）」の説明書に従って、ｓｉＲＮＡを市販のトランスフェクション試薬、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉＭＡＸ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて製剤化した。トランスフェクションの２４時間前に、細胞を、１つのウェル当たり５００００の細胞で２４のウェル組織培養プレート上に３回繰り返し蒔いた。トランスフェクションの４８時間後に、細胞をＰＢＳで洗浄し、ＴＲＩｚｏｌ（登録商標）試薬（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて収集した。メーカーの説明に従って、ＲＮＡをＤｉｒｅｃｔ－ｚｏｌ－９６　ＲＮＡ　Ｋｉｔ（Ｚｙｍｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用して単離した。メーカーの説明に従って、Ｈｉｇｈ　Ｃａｐａｃｉｔｙ　ｃＤＮＡ　Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、１０μｌのＲＮＡをｃＤＮＡに逆転写した。ｃＤＮＡサンプルを、ＴａｑＭａｎ（登録商標）　Ｆａｓｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、ＨＰＲＴ特異的およびＰＰＩＢ特異的なＴａｑＭａｎ遺伝子発現プローブ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を用いるｑＰＣＲによって評価した。ＨＰＲＴ値を、各サンプル内でＰＰＩＢ遺伝子発現に正規化した。ＨＰＲＴダウンレギュレーションの定量化を基準２－$^{\Delta\Delta Ct}$方法を使用して実施した。全ての実験を３回繰り返して実行した。
【０６８８】
図２は、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＨＰＲＴ　ｓｉＲＮＡのガイド鎖の上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造をＲＩＳＣにロードし、標的のＨＰＲＴ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることを実証する、用量反応曲線を示す。アナログ（化合物１５および２７）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３）に匹敵した。
【０６８９】
実施例１２．横紋筋肉腫細胞におけるビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造のインビトロの活性
ｓｉＲＮＡの設計および合成：２１量体のミオスタチン（ＭＳＴＮ）ガイド鎖をヒトＭＳＴＮに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＵＵＡＵＵＵＧＵＵＣＵＵＵＧＣＣＵＵであった。様々な構造（化合物３、１５、２６、２７および２８）を組み込む５つのバージョンを調製した。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て

、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製した一本鎖を二重にし、図１Ａに記載される二本鎖のｓｉＲＮＡを得た。

【０６９０】

インビトロの試験：ｓｉＲＮＡの活性を、トランスフェクトされたヒト横紋筋肉腫細胞（ＳＪＣＲＨ３０、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－２０６１）において評価した。１０％の熱不活性化ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）および１０ｍＭのＨＥＰＥＳならびに１ｍＭのピルビン酸ナトリウムで補充したＲＰＭＩ－１６４０において、細胞を成長させた。ｓｉＲＮＡトランスフェクションについては、２４ウェルプレート上に２０．０００の細胞／ウェルの密度で細胞を蒔き、および、メーカーの「フォワードトランスフェクション（ｆｏｒｗａｒｄ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ）」の説明に従って、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉＭＡＸ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して、様々な濃度のｓｉＲＮＡ（０．０００１－１００ｎＭの最終濃度）でトランスフェクトした。トランスフェクションの７２時間後に細胞をＰＢＳで洗浄し、３００の□ｌ／ウェルのＴＲＩｚｏｌ（登録商標）試薬（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて収集した。メーカーの説明に従って、Ｄｉｒｅｃｔ－ｚｏｌ－９６　ＲＮＡ　Ｋｉｔ（Ｚｙｍｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用してＲＮＡを単離した。メーカーの説明に従って、Ｈｉｇｈ　Ｃａｐａｃｉｔｙ　ｃＤＮＡ　Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、１０μｌのＲＮＡをｃＤＮＡに逆転写した。ｃＤＮＡサンプルを、ＴａｑＭａｎ（登録商標）　Ｆａｓｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）およびΔΔＣｔ方法を使用して、ＭＳＴＮ特異的およびＰＰＩＢ特異的なＴａｑＭａｎ遺伝子発現プローブ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を用いるｑＰＣＲによって評価した。個々の実験を２回あるいは３回実施した。

【０６９１】

下記の表は、アナログ（化合物１５、２６、２７および２８）の最大阻害濃度の半分、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチドと比較して達成される最大ノックダウンを示す（化合物３）。

【０６９２】

【表１２】

GS の 5’ 末端上の化合物	3	28	26	15	27
IC50 (pM)	74.0	55.7	86.5	80.3	16.2
Max KD (% 未処置の対照)	87.77	86.51	84.61	85.47	87.24

【０６９３】

図３は、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＭＳＴＮ　ｓｉＲＮＡのガイド鎖の上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、ＲＩＳＣにロードし、標的のＭＳＴＮ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることを示す用量反応曲線を示す。アナログ（化合物１５、２６、２７および２８）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３）に匹敵した。

【０６９４】

実施例１３．２０１７－ＰＫ－４０７－ＷＴ：ｓｉＲＮＡのインビボのトランスフェリンｍＡｂ抱合体送達

群１－４については、２１量体のＨＰＲＴガイド鎖をマウスＨＰＲＴに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＡＡＡＵＣＵＡＣＡＧＵＣＡＵＡＧＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、上記の二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖は、化合物３ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を

利用した。パッセンジャー鎖は、逆脱塩基ホスホジエステル結合を介して５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ａを参照）。

【０６９５】

群５－８については、２１量体のＨＰＲＴガイド鎖をマウスＨＰＲＴに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＡＡＡＵＣＵＡＣＡＧＵＣＡＵＡＧＵＵであった。ガイドおよび完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製した一本鎖を二重にし、図Ｃに記載される二本鎖のｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖は、化合物１５ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を利用した。パッセンジャー鎖は、末端塩基上のホスホジエステル結合を介して５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ｂを参照）。

【０６９６】

群９－１２については、２１量体のＨＰＲＴガイド鎖をマウスＨＰＲＴに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＡＡＡＵＣＵＡＣＡＧＵＣＡＵＡＧＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖は、化合物２７ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を利用した。パッセンジャー鎖は、末端塩基上のホスホジエステル結合を介して５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ｂを参照）。

【０６９７】

群１３－１６については、２１量体のＭＳＴＮガイド鎖をヒトＭＳＴＮに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＵＵＡＵＵＵＧＵＵＣＵＵＵＧＣＣＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖は、化合物２８ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を利用した。パッセンジャー鎖は、逆脱塩基ホスホジエステル結合を介して５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ａを参照）。

【０６９８】

群１７－２０については、２１量体のＭＳＴＮガイド鎖をヒトＭＳＴＮに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＵＵＡＵＵＵＧＵＵＣＵＵＵＧＣＣＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖は、化合物３ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を利用した。パッセンジャー鎖は、逆脱塩基ホスホジエステル結合を介して５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ａを参照）。

【０６９９】

ビスマレイミド（ＢｉｓＭａｌ）リンカーを使用する抗体ｓｉＲＮＡ抱合体の合成

【０７００】

工程１：ＴＣＥＰでの抗体の還元

抗体を、１ｍＭのＤＴＰＡを有する２５ｍＭのホウ酸塩緩衝液（ｐＨ８）で緩衝液交換し、最大１０ｍｇ／ｍｌの濃度にした。この溶液に、同じホウ酸塩緩衝液中の４当量のＴＣＥＰを加え、３７°Ｃで２時間インキュベートした。結果として生じた反応混合物を、室温でｐＨ６．０の１０ｍＭの酢酸緩衝液中のＢｉｓＭａｌ－ｓｉＲＮＡ（１．２５当量

）の溶液と組み合わせて、４°Ｃで夜通し維持した。分析的ＳＡＸカラムクロマトグラフィーによる反応混合物の分析は、未反応の抗体およびｓｉＲＮＡと共に抗体ｓｉＲＮＡ抱合体を示した。反応混合物を、１０ＥＱのＮ－エチルマレイミド（１０ｍｇ／ｍＬのＤＭＳＯ中）で処理して、あらゆる残っている遊離システイン残基をキャップする。

【０７０１】

工程２：精製

粗製反応混合物を、陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－１を使用するＡＫＴＡ　Ｐｕｒｅ　ＦＰＬＣによって精製した。ＤＡＲ２１およびＤＡＲ２　Ｆａｂ－ｓｉＲＮＡの抱合体を含む分画を単離し、濃縮し、ｐＨ７．４のＰＢＳで緩衝液交換した。

陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－１

１．　カラム：Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，ＴＳＫＧｅｌ　ＳｕｐｅｒＱ－５ＰＷ，　２１．５ｍｍ　ＩＤ　Ｘ　１５ｃｍ，１３ｕｍ

２．　溶媒Ａ：２０ｍＭのＴＲＩＳ緩衝液、ｐＨ８．０；溶媒Ｂ：２０ｍＭのＴＲＩＳ、１．５ＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．０；流速：６．０ｍｌ／分

３．　勾配：

	％Ａ	％Ｂ	カラム体積	
ａ．				
ｂ．	１００	０	１	
ｃ．	８１		１９	０．５
ｄ．	５０		５０	１３
ｅ．	４０		６０	０．５
ｆ．	０		１００	０．５
ｇ．	１００	０	２	

陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－２

１．　カラム：Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，ＰｒｏＰａｃ（商標）　ＳＡＸ－１０，Ｂｉｏ　ＬＣ（商標），４　Ｘ　２５０ｍｍ

２．　溶媒Ａ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐＨ８、２０％のエタノール；溶媒Ｂ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐｈ８、２０％のエタノール、１．５ＭのＮａＣｌ；流速：０．７５ｍｌ／分

３．　勾配：

	時間	％Ａ	％Ｂ	
ａ．				
ｂ．	０．０		９０	１０
ｃ．	３．００	９０	１０	
ｄ．	１１．００	４０	６０	
ｅ．	１４．００	４０	６０	
ｆ．	１５．００	２０	８０	
ｇ．	１６．００	９０	１０	
ｈ．	２０．００	９０	１０	

【０７０２】

工程３：精製された抱合体の分析

抱合体の純度を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－２を使用する分析的ＨＰＬＣによって評価した。

【０７０３】

【表１３】

抱合体	SAX保持時間 (分)	%純度 (ピーク領域)
TfR-mAb-化合物 3-HPRT DAR 1	9.41	99
TfR-mAb-化合物 15-HPRT DAR 1	8.83	99
TfR-mAb-化合物 27-HPRT DAR 1	8.54	99
TfR-mAb-化合物 28-MSTN DAR 1	8.96	99
TfR-mAb-化合物 3-MSTN DAR 1	9.39	99

【０７０４】

インビボの試験

インビボの実験（野生型ＣＤ－１マウス）で、骨格筋におけるミオスタチン（ＭＳＴＮ）およびＨＰＲＴのｍＲＮＡダウンレギュレーションを媒介する能力について抱合体を評価した。ＰＢＳビヒクル対照および示されたＡＳＣならびに用量を、静脈内（ｉｖ）注射によりマウスに投与した（下記の表を参照）。１６８時間後、腓腹筋（ｇａｓｔｒｏｃ）組織を採取し、液体窒素中で急速冷凍した。比較ｑＰＣＲアッセイを使用して、標的組織におけるｍＲＮＡノックダウンを決定した。総ＲＮＡを組織から抽出し、逆転写して、ｍＲＮＡのレベルを、適切に設計されたプライマーおよびプローブを用いるＴａｑＭａｎ ｑＰＣＲを使用して定量化した。ＰＰＩＢ（ハウスキーピング遺伝子）を内部ＲＮＡローディングコントロールとして使用して、比較Ｃｔ方法により結果を算出し、ここで、標的遺伝子Ｃｔ値とＰＰＩＢ　Ｃｔ値（ΔＣｔ）との間の差を算出し、その後、第２の差（ΔΔＣｔ）を得ることによってＰＢＳの対照群に対して更に正規化する。

【０７０５】

【表１４】

群	試験物	N	siRNA用量 (mg/kg)	用量体積 (mL/kg)	収集時間 (h)
1	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	3	**5.0**	168
2	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	1	**5.0**	168
3	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.3	**5.0**	168
4	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.1	**5.0**	168
5	TfR1-mAb-化合物 15-HPRT DAR1	4	3.0	**5.0**	168
6	TfR1-mAb-化合物 15-HPRT DAR1	4	1	**5.0**	168
7	TfR1-mAb-化合物 15-HPRT DAR1	4	0.3	**5.0**	168
8	TfR1-mAb-化合物 15-HPRT DAR1	4	0.1	**5.0**	168
9	TfR1-mAb-化合物 27-HPRT DAR1	4	0.5	**5.0**	168
10	TfR1-mAb-化合物 27-HPRT DAR1	4	0.5	**5.0**	168
11	TfR1-mAb-化合物 27-HPRT DAR1	4	0.5	**5.0**	168
12	TfR1-mAb-化合物 27-HPRT DAR1	4	0.5	**5.0**	168
13	TfR1-mAb-化合物 28-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
14	TfR1-mAb-化合物 28-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
15	TfR1-mAb-化合物 28-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
16	TfR1-mAb-化合物 28-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
17	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
18	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
19	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
20	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
21	PBS 対照	5		**5.0**	168

【０７０６】

図４は、トランスフェリン受容体を標的とする抗ＴｆＲ　ｍＡｂに結合した時に、ｓｉＲＮＡガイド鎖上のビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が腓腹筋における標的遺伝子の用量依存的ダウンレギュレーションを示したことを示す。アナログの活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造に匹敵した。

【０７０７】

実施例１４．２０１７－ＰＫ－４２１－ＷＴ：ｓｉＲＮＡのインビボのトランスフェリンｍＡｂ抱合体送達

【０７０８】

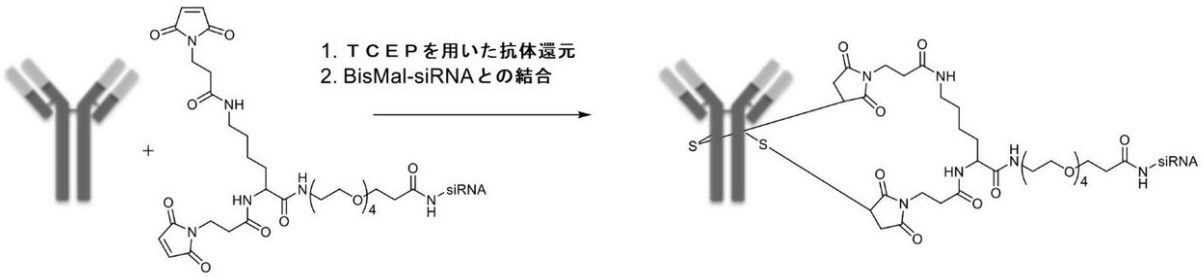
群１－１２については、２１量体のＭＳＴＮガイド鎖をヒト／マウスＭＳＴＮに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＵＵＡＵＵＵＧＵＵＣＵＵＵＧＣＣＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。３つのガイド鎖を５’末端（化合物３、１５および２６）において３つの様々なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造で生成した。パッセンジャー鎖は、逆脱塩基ホスホジエステル結合を介して５’末端上に結合ハンドルを有していた。

【０７０９】

以下に記載されるように抗ＴｆＲ１　ｍＡｂ－ＭＳＴＮ　ＤＡＲ１抱合体を合成した：

【０７１０】

【化９７】



【０７１１】

工程１：ＴＣＥＰでの抗体の還元

抗体を、１ｍＭのＤＴＰＡを有する２５ｍＭのホウ酸塩緩衝液（ｐＨ８）で緩衝液交換し、最大１０ｍｇ／ｍｌの濃度にした。この溶液に、同じホウ酸塩緩衝液中の４当量のＴＣＥＰを加え、３７°Ｃで２時間インキュベートした。結果として生じた反応混合物を、室温での１０ｍＭの酢酸緩衝液（ｐＨ６）中のＢｉｓＭａｌ－ｓｉＲＮＡ（１．２５当量）の溶液と組み合わせて、４°Ｃで夜通し維持した。分析的ＳＡＸカラムクロマトグラフィーによる反応混合物の分析は、未反応の抗体およびｓｉＲＮＡと共に抗体ｓｉＲＮＡ抱合体を示した。反応混合物を、１０ＥＱのＮ－エチルマレイミド（１０ｍｇ／ｍＬのＤＭＳＯ中）で処理して、あらゆる残っている遊離システイン残基をキャップした。

【０７１２】

工程２：精製

粗製反応混合物を、陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－１を使用するＡＫＴＡ　Ｐｕｒｅ　ＦＰＬＣによって精製した。ＤＡＲ２１およびＤＡＲ２　Ｆａｂ－ｓｉＲＮＡの抱合体を含む分画を単離し、濃縮し、ｐＨ７．４のＰＢＳで緩衝液交換した。

陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－１

１．　カラム：Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，ＴＳＫＧｅｌ　ＳｕｐｅｒＱ－５ＰＷ，　２１．５ｍｍ　ＩＤ　Ｘ　１５ｃｍ，１３ｕｍ

２．　溶媒Ａ：２０ｍＭのＴＲＩＳ緩衝液、ｐＨ８．０；溶媒Ｂ：２０ｍＭのＴＲＩＳ、１．５ＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．０；流速：６．０ｍｌ／分

３．　勾配：

	％Ａ	％Ｂ	カラム体積	
ｂ．	１００	０	１	
ｃ．	８１		１９	０．５
ｄ．	５０		５０	１３
ｅ．	４０		６０	０．５
ｆ．	０		１００	０．５
ｇ．	１００	０	２	

陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－２
１．　カラム：Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，　ＰｒｏＰａｃ（商標）　ＳＡＸ－１０，　Ｂｉｏ　ＬＣ（商標），４　Ｘ　２５０ｍｍ
２．　溶媒Ａ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐＨ８、２０％のエタノール；溶媒Ｂ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐｈ８、２０％のエタノール、１．５ＭのＮａＣｌ；流速：０．７５ｍｌ／分
３．　勾配：

	時間	％Ａ	％Ｂ
ｂ．	０．０	９０	１０
ｃ．	３．００	９０	１０
ｄ．	１１．００	４０	６０
ｅ．	１４．００	４０	６０
ｆ．	１５．００	２０	８０
ｇ．	１６．００	９０	１０
ｈ．	２０．００	９０	１０

【０７１３】
工程３：精製された抱合体の分析抱合体の純度を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－２を使用する分析的ＨＰＬＣによって評価した。
【０７１４】
【表１５】

抱合体	SAX 保持時間 (分)	%純度 (ピーク領域)
TfR-化合物 3-MSTN.mff3s DAR 1	8.99	99
TfR-化合物 15-MSTN DAR 1	9.12	99
TfR-化合物 26-MSTN DAR 1	9.09	99

【０７１５】
インビボの試験
インビボの実験（野生型ＣＤ－１マウス）で、骨格筋におけるミオスタチン（ＭＳＴＮ）のｍＲＮＡダウンレギュレーションを媒介する能力について抱合体を評価した。下記の表に記載されるように、ＰＢＳビヒクル対照および示されたＡＳＣならびに用量を、静脈内（ｉｖ）注射によりマウスに投与した。１６８時間後、腓腹筋（ｇａｓｔｒｏｃ）、大腿四頭筋（ｑｕａｄ）および心筋の組織を、液体窒素中で収集し、急速冷凍した。標的組織中のｍＲＮＡのノックダウンを、方法のセクションに記載されるように比較ｑＰＣＲアッセイを使用して判定した。総ＲＮＡを組織から抽出し、逆転写して、ｍＲＮＡのレベルを、適切に設計されたプライマーおよびプローブを用いるＴａｑＭａｎ　ｑＰＣＲを使用して定量化した。ＰＰＩＢ（ハウスキーピング遺伝子）を内部ＲＮＡローディングコントロールとして使用して、比較Ｃｔ方法により結果を算出し、ここで、標的遺伝子Ｃｔ値とＰＰＩＢ　Ｃｔ値（ΔＣｔ）との間の差を算出し、その後、第２の差（ΔΔＣｔ）を得ることによってＰＢＳの対照群に対して更に正規化する。
【０７１６】

【表１６】

群	試験物	N	siRNA用量 (mg/kg)	用量体積 (mL/kg)	収集時間 (h)
1	TfR1-mAb-化合物 26-MSTN DAR1	4	3	**5.0**	168
2	TfR1-mAb-化合物 26-MSTN DAR1	4	1	**5.0**	168
3	TfR1-mAb-化合物 26-MSTN DAR1	4	0.3	**5.0**	168
4	TfR1-mAb-化合物 26-MSTN DAR1	4	0.1	**5.0**	168
5	TfR1-mAb-化合物 15-MSTN DAR1	4	3.0	**5.0**	168
6	TfR1-mAb-化合物 15-MSTN DAR1	4	1	**5.0**	168
7	TfR1-mAb-化合物 15-MSTN DAR1	4	0.3	**5.0**	168
8	TfR1-mAb-化合物 15-MSTN DAR1	4	0.1	**5.0**	168
9	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
10	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
11	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
12	TfR1-mAb-化合物 3-MSTN DAR1	4	0.5	**5.0**	168
13	PBS 対照	5		**5.0**	168

【０７１７】

図５は、ガイド鎖の５’末端上に様々なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を含有している抗体ｓｉＲＮＡ抱合体を用いた腓腹筋（ｇａｓｔｒｏｃ）、大腿四頭筋（ｑｕａｄ）および心筋の組織腓腹筋、大腿四頭筋および心筋の組織におけるＭＳＴＮ　ｍＲＮＡダウンレギュレーションを実証する。アナログの活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造に匹敵した。

【０７１８】

実施例１５．２０１７－ＰＫ－４２２－ＷＴ：ｓｉＲＮＡのインビボのトランスフェリンｍＡｂ抱合体送達

【０７１９】

群１－４および９－１２については、２１量体のＨＰＲＴガイド鎖をマウスＨＰＲＴに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＡＡＡＵＣＵＡＣＡＧＵＣＡＵＡＧＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖を５’末端において化合物３ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造で生成した。パッセンジャー鎖は、ホスホロチオエート逆脱塩基ホスホジエステルリンカーを介して、５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ａを参照）。

【０７２０】

群５－８および１３－１６ａについては、２１量体のＨＰＲＴガイド鎖をマウスＨＰＲ

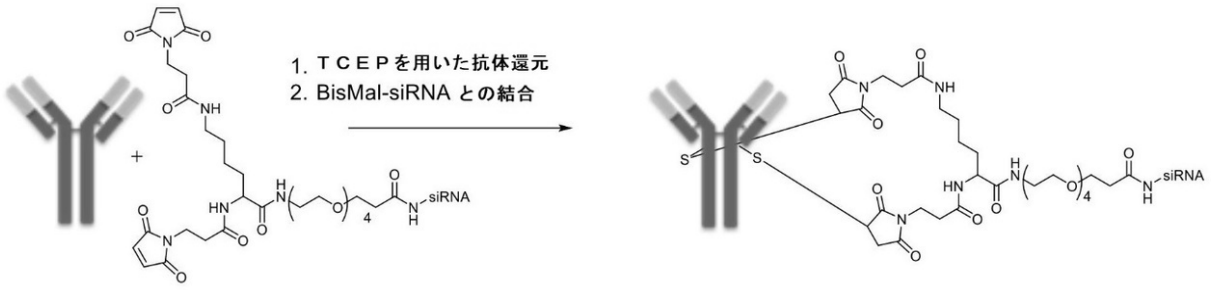
Ｔに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＡＡＡＵＣＵＡＣＡＧＵＣＡＵＡＧＵＵであった。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。ガイド鎖を５’末端において化合物２６ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造で生成した。パッセンジャー鎖は、末端ホスホロチオエート介して、５’末端上に結合ハンドルを有していた（図１Ｂを参照）。

【０７２１】

以下に記載されるように抗ＴｆＲ１　ｍＡｂ－ＨＰＲＴ　ＤＡＲ１抱合体を合成した：

【０７２２】

【化９８】



【０７２３】

工程１：ＴＣＥＰでの抗体の還元

抗体を、１ｍＭのＤＴＰＡを有する２５ｍＭのホウ酸塩緩衝液（ｐＨ８）で緩衝液交換し、最大１０ｍｇ／ｍｌの濃度にした。この溶液に、同じホウ酸塩緩衝液中の４当量のＴＣＥＰを加え、３７°Ｃで２時間インキュベートした。結果として生じる反応混合物を、室温での１０ｍＭの酢酸緩衝液（ｐＨ６）中のＢｉｓＭａｌ－ｓｉＲＮＡ（１．２５当量）の溶液と組み合わせて、４°Ｃで夜通し維持した。分析的ＳＡＸカラムクロマトグラフィーによる反応混合物の分析は、未反応の抗体およびｓｉＲＮＡと共に抗体ｓｉＲＮＡ抱合体を示した。１０ＥＱのＮ－エチルマレイミド（１０ｍｇ／ｍＬのＤＭＳＯ中）で反応混合物を処理して、あらゆる残っている遊離システイン残基をキャップする。

【０７２４】

工程２：精製

粗製反応混合物を、陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－１を使用するＡＫＴＡ　Ｐｕｒｅ　ＦＰＬＣによって精製した。ＤＡＲ２１およびＤＡＲ２　Ｆａｂ－ｓｉＲＮＡの抱合体を含む分画を単離し、濃縮し、ｐＨ７．４のＰＢＳで緩衝液交換した。陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－１

１．　カラム：Ｔｏｓｏｈ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，ＴＳＫＧｅｌ　ＳｕｐｅｒＱ－５ＰＷ，　２１．５ｍｍ　ＩＤ　Ｘ　１５ｃｍ，１３ｕｍ

２．　溶媒Ａ：２０ｍＭのＴＲＩＳ緩衝液、ｐＨ８．０；溶媒Ｂ：２０ｍＭのＴＲＩＳ、１．５ＭのＮａＣｌ、ｐＨ８．０；流速：６．０ｍｌ／分

３．　勾配：

	％Ａ	％Ｂ	カラム体積
ａ．			
ｂ．	１００	０	１
ｃ．	８１	１９	０．５
ｄ．	５０	５０	１３
ｅ．	４０	６０	０．５
ｆ．	０	１００	０．５
ｇ．	１００	０	２

陰イオン交換クロマトグラフィー（ＳＡＸ）法－２
１．　カラム：Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，ＰｒｏＰａｃ（商標）　ＳＡＸ－１０，　Ｂｉｏ　ＬＣ（商標），４　Ｘ　２５０ｍｍ
２．　溶媒Ａ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐＨ８、２０％のエタノール；溶媒Ｂ：８０％、１０ｍＭのＴＲＩＳ、ｐｈ８、２０％のエタノール、１．５ＭのＮａＣｌ；流速：０．７５ｍｌ／分
３．　勾配：

	時間	％Ａ	％Ｂ
ｂ．	０．０	９０	１０
ｃ．	３．００	９０	１０
ｄ．	１１．００	４０	６０
ｅ．	１４．００	４０	６０
ｆ．	１５．００	２０	８０
ｇ．	１６．００	９０	１０
ｈ．	２０．００	９０	１０

【０７２５】
工程３：精製された抱合体の分析
抱合体の純度を、陰イオン交換クロマトグラフィー法－２を使用する分析的ＨＰＬＣによって評価した。
【０７２６】
【表１７】

抱合体	SAX保持時間 (分)	% 純度 (ピーク領域)
TfR-化合物 3-HPRT DAR 1	9.14	99
TfR-化合物 26-HPRT DAR 1	8.54	99
ASGR-化合物 3-HPRT DAR 1	9.3	99
ASGR-化合物 26-MSTN DAR 1	8.62	99

【０７２７】
インビボの試験
インビボの実験（野生型ＣＤ－１マウス）で、筋肉および肝臓におけるＨＰＲＴのｍＲＮＡダウンレギュレーションを媒介する能力について抱合体を評価した。下記の表に記載される、ＰＢＳビヒクル対照および示されたＡＳＣならびに用量を、静脈内（ｉｖ）注射によりマウスに投与した。１６８時間後、腓腹筋（ｇａｓｔｒｏｃ）組織および肝組織を採取し、液体窒素中で急速冷凍した。標的組織中のｍＲＮＡのノックダウンを、方法のセクションに記載されるように比較ｑＰＣＲアッセイを使用して判定した。総ＲＮＡを組織から抽出し、逆転写して、適切に設計されたプライマーおよびプローブを用いるＴａｑＭａｎ　ｑＰＣＲを使用して、ｍＲＮＡのレベルを定量化した。ＰＰＩＢ（ハウスキーピング遺伝子）を内部ＲＮＡローディングコントロールとして使用して、比較Ｃｔ方法により結果を算出し、ここで、標的遺伝子Ｃｔ値とＰＰＩＢ　Ｃｔ値（ΔＣｔ）との間の差を算出し、その後、第２の差（ΔΔＣｔ）を得ることによってＰＢＳの対照群に対して更に正規化する。
【０７２８】

【表１８】

群	試験物	N	siRNA用量(mg/kg)	用量体積(mL/kg)	収集時間(時間)
1	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	1	5.0	168
2	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.3	5.0	168
3	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.1	5.0	168
4	TfR1-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.03	5.0	168
5	TfR1-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	1	5.0	168
6	TfR1-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	0.3	5.0	168
7	TfR1-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	0.1	5.0	168
8	TfR1-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	0.03	5.0	168
9	ASGR-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	1	5.0	168
10	ASGR-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.3	5.0	168
11	ASGR-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.1	5.0	168
12	ASGR-mAb-化合物 3-HPRT DAR1	4	0.03	5.0	168
13	ASGR-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	1	5.0	168
14	ASGR-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	0.3	5.0	168
15	ASGR-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	0.1	5.0	168
16	ASGR-mAb-化合物 26-HPRT DAR1	4	0.03	5.0	168
17	PBS 対照	5		5.0	168

【０７２９】

図６は、ｓｉＲＮＡガイド鎖上の修飾されたビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、マウスへのＩＶ投与後に、マウスの肝臓および腓腹筋においてＨＰＲＴ標的遺伝子の用量依存的なダウンレギュレーションを媒介することができたことを示す。筋肉のトランスフェリン受容体を標的とする抗ＴｆＲ　ｍＡｂに結合すると、ｓｉＲＮＡは、筋肉におけるＨＰＲＴダウンレギュレーションを媒介することができた。肝臓肝細胞のＡＳＧＲ受容体を標的とする抗ＡＳＧＲ　ｍＡｂに結合すると、ｓｉＲＮＡは、肝臓においてＨＰＲＴダウンレギュレーションを媒介することができた。

【０７３０】

実施例１６．ＨＣＴ１１６細胞におけるビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造のインビトロの活性

【０７３１】

ｓｉＲＮＡの設計および合成：２１量体のＳＳＢガイド鎖をマウスＳＳＢに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＣＡＵＵＡＡＡＧＵＣＵＧＵＵＧＵＵＵであった。ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物３、３０および３２）を組み込む３つのバージョンを作った。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡ

パッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を、図Ａ３に記載されるアミダイトを使用して組み込んだ。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、上記の二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。

【０７３２】

インビトロの試験：様々なｓｉＲＮＡを、１００ｎＭ、１０ｎＭ、１ｎＭ、０．１ｎＭ、０．０１ｎＭ、０．００１ｎＭ、および０．０００１ｎＭの最終濃度で、ヒト結腸直腸癌ＨＣＴ１１６細胞にトランスフェクトした。メーカーの「フォワードトランスフェクション（ｆｏｒｗａｒｄ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ）」の説明書に従って、ｓｉＲＮＡｓを市販のトランスフェクション試薬、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉＭＡＸ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて製剤化した。トランスフェクションの２４時間前に、細胞を、１つのウェル当たり５００００の細胞で２４のウェル組織培養プレート上に３回繰り返し蒔いた。トランスフェクションの４８時間後に、細胞をＰＢＳで洗浄し、ＴＲＩｚｏｌ（登録商標）試薬（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて収集した。メーカーの説明に従って、ＲＮＡをＤｉｒｅｃｔ－ｚｏｌ－９６　ＲＮＡ　Ｋｉｔ（Ｚｙｍｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用して単離した。メーカーの説明に従って、Ｈｉｇｈ　Ｃａｐａｃｉｔｙ　ｃＤＮＡ　Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、１０μｌのＲＮＡをｃＤＮＡに逆転写した。ｃＤＮＡサンプルを、ＴａｑＭａｎ（登録商標）　Ｆａｓｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、ＨＰＲＴ特異的およびＰＰＩＢ特異的なＴａｑＭａｎ遺伝子発現プローブ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を用いるｑＰＣＲによって評価した。ＨＰＲＴ値を、各サンプル内でＰＰＩＢ遺伝子発現に正規化した。ＨＰＲＴダウンレギュレーションの定量化を基準２－$^{\Delta\Delta Ct}$方法を使用して実施した。全ての実験を３回繰り返して実行した。

【０７３３】

EC_{50}値は以下の通りであった：

【０７３４】

【表１９】

サンプル	EC50 (pM)
化合物 3-SSB	4.00
化合物 30-SSB	0.44
化合物 32-SSB	1.46

【０７３５】

図７は、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＳＳＢ　ｓｉＲＮＡのガイド鎖の５’末端上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、ＲＩＳＣにロードし、標的のＳＳＢ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることを実証する、用量反応曲線を示す。アナログ（化合物３０および３２）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物３）に匹敵した。

【０７３６】

実施例１７．横紋筋肉腫細胞におけるビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造のインビトロの活性

【０７３７】

ｓｉＲＮＡの設計および合成：２１量体のミオスタチン（ＭＳＴＮ）ガイド鎖をマウスおよびヒトＭＳＴＮに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＵＵＡＵＵＵＧＵＵＣＵＵＵＧＣＣＵＵであった。様々な構造（化合物３、２６

、３０および３２）を組み込む４つのバージョンを調製した。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣを用いて精製した。ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を、上記のようにアミダイトを使用して組み込んだ。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、上記の二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。

【０７３８】

さらに、２１量体のＳＳＢガイド鎖をマウスＳＳＢに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＣＡＵＵＡＡＡＧＵＣＵＧＵＵＧＵＵＵであった。異なるビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物３、３０および３２）で３つのバージョンを作った。ガイドおよび完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を、本明細書に記載されるアミダイトを使用して組み込んだ。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、上記の二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。

【０７３９】

インビトロの試験：ｓｉＲＮＡの活性を、トランスフェクトされたヒト横紋筋肉腫細胞（ＳＪＣＲＨ３０、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－２０６１）において評価した。１０％の熱不活性化ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）および１０ｍＭのＨＥＰＥＳならびに１ｍＭのピルビン酸ナトリウムで補充したＲＰＭＩ－１６４０において、細胞を成長させた。ｓｉＲＮＡトランスフェクションについては、細胞を２４ウェルプレート上に２０．０００の細胞／ウェルの密度で蒔き、および、メーカーの「フォワードトランスフェクション（ｆｏｒｗａｒｄ　ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ）」の説明に従って、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉＭＡＸ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して、様々な濃度のｓｉＲＮＡ（０．０００１－１００ｎＭの最終濃度）でトランスフェクトした。トランスフェクションの７２時間後に細胞をＰＢＳで洗浄し、３００ｕｌ／ウェルのＴＲＩｚｏｌ（登録商標）試薬（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて収集した。メーカーの説明に従って、ＲＮＡをＤｉｒｅｃｔ－ｚｏｌ－９６　ＲＮＡ　Ｋｉｔ（Ｚｙｍｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用して単離した。メーカーの説明に従って、Ｈｉｇｈ　Ｃａｐａｃｉｔｙ　ｃＤＮＡ　Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、１０μｌのＲＮＡをｃＤＮＡに逆転写した。ｃＤＮＡサンプルを、ＴａｑＭａｎ（登録商標）　Ｆａｓｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）およびΔΔＣｔ方法を使用して、ＭＳＴＮ特異的およびＰＰＩＢ特異的なＴａｑＭａｎ遺伝子発現プローブ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を用いるｑＰＣＲによって評価した。個々の実験を２回あるいは３回実施した。

【０７４０】

図８Ａは、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＭＳＴＮ　ｓｉＲＮＡのガイド鎖の上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、ＲＩＳＣにロードし、標的のＭＳＴＮ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることを実証する、用量反応曲線を示す。アナログ（化合物２６、３０および３２）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３）に匹敵した。

【０７４１】

図８Ｂは、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＳＳＢ　ｓｉＲＮＡのガイド鎖の上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、ＲＩＳＣにロードし、標的のＳＳＢ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることを示す、用量反応曲線を示す。アナログ（３０および３２）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３）に匹敵した。

【０７４２】

実施例１８．ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造のインビトロの活性を、明らか

に健康なヒト由来の不死化骨格筋筋芽細胞（ＭＢ）：
【０７４３】
ｓｉＲＮＡの設計および合成：２１量体のミオスタチン（ＭＳＴＮ）ガイド鎖をマウスおよびヒトＭＳＴＮに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＵＵＡＵＵＵＧＵＵＣＵＵＵＧＣＣＵＵであった。様々なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物３、２６、３０および３２）を組み込む４つのバージョンを調製した。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣを用いて精製した。ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を、本明細書に記載されるアミダイトを使用して組み込んだ。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、上記の二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。
【０７４４】
さらに、２１量体のＳＳＢガイド鎖をマウスＳＳＢに対して設計した。ガイド／アンチセンス鎖の配列（５’～３’）は、ＵＵＡＣＡＵＵＡＡＡＧＵＣＵＧＵＵＧＵＵＵであった。異なるビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物３、３０および３２）を組み込む３つのバージョンを調製した。ガイド鎖および完全に相補的なＲＮＡパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、ＨＰＬＣ上で精製した。ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造を、本明細書に記載されるアミダイトを使用して組み込んだ。ＲＮＡｉの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびホスフェートの修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減らした。精製された一本鎖を二重にし、上記の二本鎖ｓｉＲＮＡを得た。
【０７４５】
インビトロの試験：ｓｉＲＮＡの活性を、明らかに健康なヒト由来の不死化骨格筋筋芽細胞（ＭＢ）（Ｄｅｎｉｓ Ｆｕｒｌｉｎｇ, Ｉｎｓｔｉｔｕｔ ｄｅ Ｍｙｏｌｏｇｉｅ, Ｆｒａｎｃｅから入手）において評価した。ＭＢ細胞を完全な骨格筋細胞増殖培地（ＰｒｏｍｏＣｅｌｌ）中で成長させた。トランスフェクションの２４時間前に、細胞を、１つのウェル当たり４０００（ＭＢ）の細胞で９６のウェル組織培養プレート上に３回繰り返し蒔いた。ｓｉＲＮＡを、５０ｎＭ、５．５５５６ｎＭ、０．６１７３ｎＭ、０．０６８６ｎＭ、０．００７６ｎＭ、０．０００８ｎＭ、および０．０００１ｎＭの最終濃度で、細胞にトランスフェクトした。メーカーの「フォワードトランスフェクション」のプロトコルの説明に従って、ｓｉＲＮＡを市販のトランスフェクション試薬、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ＲＮＡｉＭＡＸ（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて製剤化した。トランスフェクションの４８時間後に、細胞をＰＢＳで洗浄し、ＴＲＩｚｏｌ（登録商標）試薬（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて収集した。メーカーの説明に従って、ＲＮＡをＤｉｒｅｃｔ－ｚｏｌ－９６ ＲＮＡ Ｋｉｔ（Ｚｙｍｏ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用して単離した。メーカーの説明に従って、Ｈｉｇｈ Ｃａｐａｃｉｔｙ ｃＤＮＡ Ｒｅｖｅｒｓｅ Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、１０μｌのＲＮＡをｃＤＮＡに逆転写した。ｃＤＮＡサンプルを、ＴａｑＭａｎ（登録商標） Ｆａｓｔ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、ＳＳＢ特異的、ＭＳＴＮ特異的、およびＰＰＩＢ特異的なＴａｑＭａｎ遺伝子発現プローブ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を用いるｑＰＣＲによって評価した。ＳＳＢおよびＭＳＴＮの発現値を、各サンプル内でＰＰＩＢ遺伝子発現に正規化した。ＳＳＢおよびＭＳＴＮダウンレギュレーションの定量化を、基準２－ΔΔＣｔ法を使用して実施した。全ての実験を３回繰り返して実行した。
【０７４６】
図９Ａは、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＭＳＴＮ ｓｉＲＮＡのガイド鎖の上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、ＲＩＳＣにロードし、標的のＭＳＴＮ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができるこ

とを実証する、用量反応曲線を示す。アナログ（化合物２６、３０および３２）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３）に匹敵した。

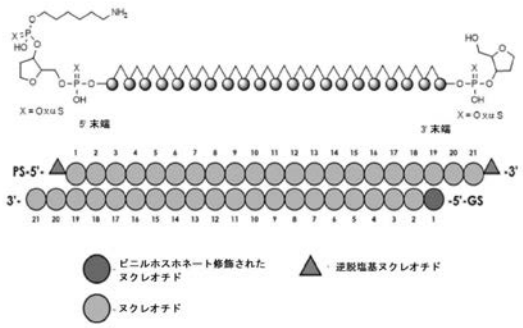
【０７４７】

図９Ｂは、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後の、ＳＳＢ　ｓｉＲＮＡのガイド鎖の上の新規なビニルホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、ＲＩＳＣにロードし、標的のＳＳＢ遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることを実証する、用量反応曲線を示す。アナログ（３０および３２）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（化合物３）に匹敵した。

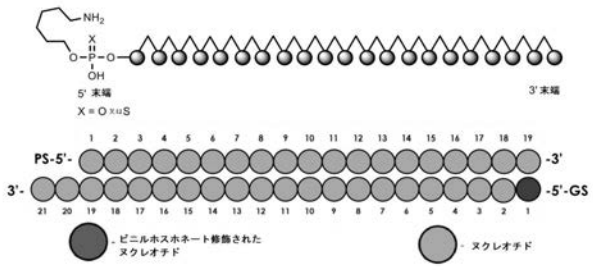
【０７４８】

本開示の好ましい実施形態が本明細書中で示され、記載されてきたが、このような実施形態はほんの一例として提供されているに過ぎないということは、当業者に明らかであろう。多くの変形、変更、および置き換えは、本開示から逸脱することなく、当業者によって想到されるものである。本明細書に記載される開示の実施形態の様々な代案が、本開示の実施において利用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定義するものであり、ならびに、この特許請求の範囲およびその同等物の範囲内の方法および構造はそれによって包含されることが、意図されている。

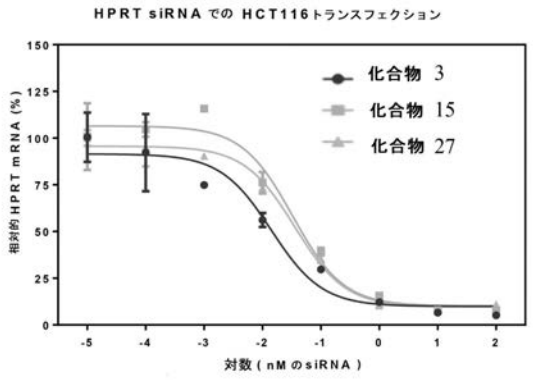
【図１Ａ】



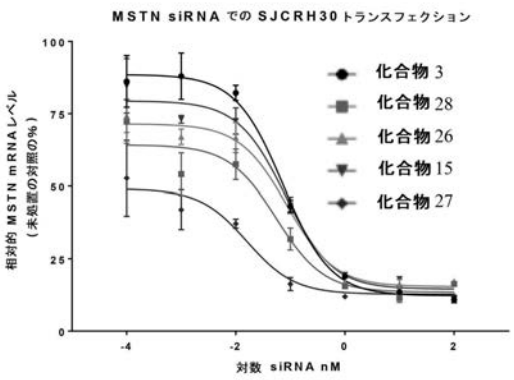
【図１Ｂ】



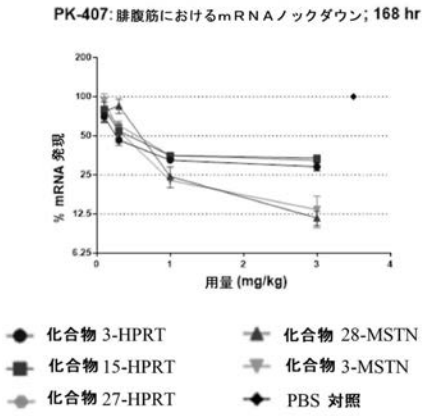
【図２】



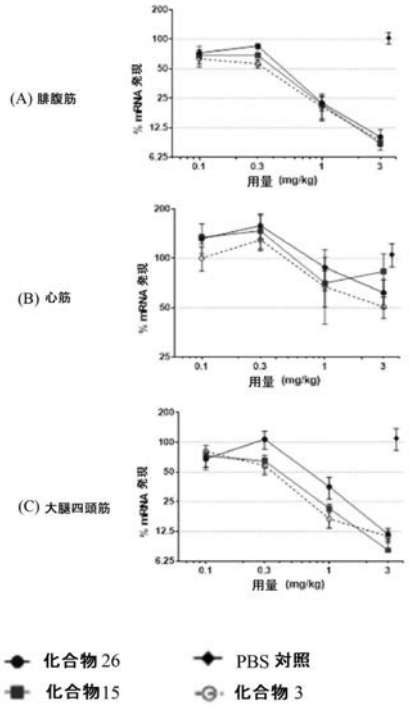
【図３】



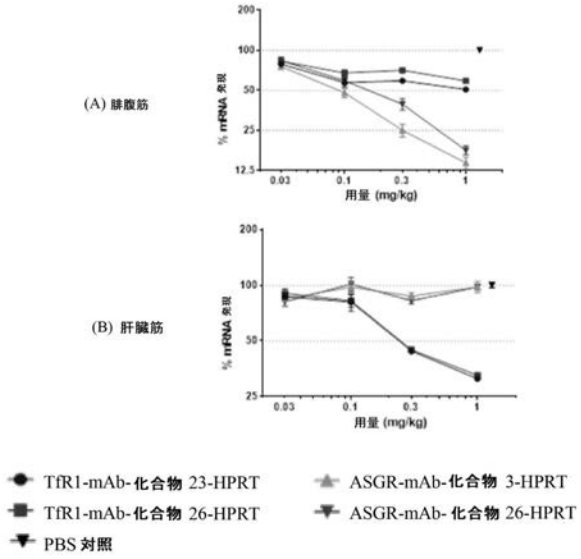
【図４】


PK-407: 腓腹筋におけるｍＲＮＡノックダウン; 168 hr
% mRNA 発現
用量 (mg/kg)
化合物 3-HPRT
化合物 15-HPRT
化合物 27-HPRT
化合物 28-MSTN
化合物 3-MSTN
PBS 対照

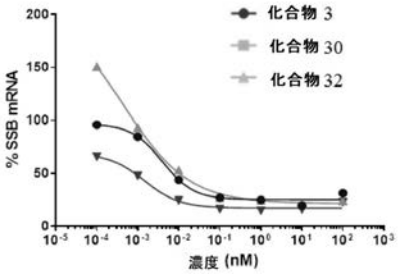
【図５】


(A) 腓腹筋
(B) 心筋
(C) 大腿四頭筋
% mRNA 発現
用量 (mg/kg)
化合物 26
化合物15
PBS 対照
化合物 3

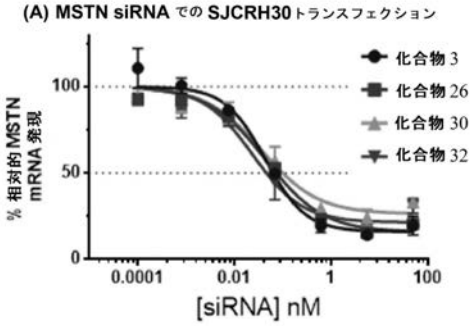
【図６】

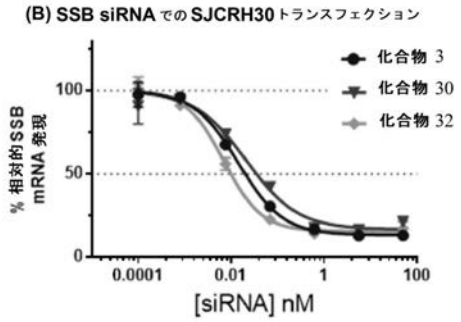

(A) 腓腹筋
(B) 肝臓筋
% mRNA 発現
用量 (mg/kg)
TfR1-mAb-化合物 23-HPRT
TfR1-mAb-化合物 26-HPRT
PBS 対照
ASGR-mAb-化合物 3-HPRT
ASGR-mAb- 化合物 26-HPRT

【図７】

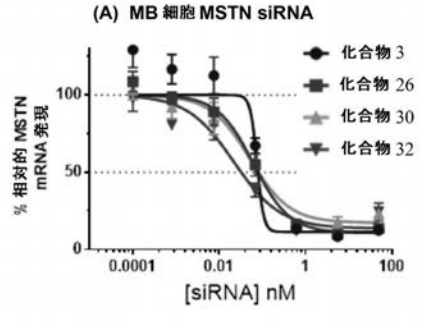

% SSB mRNA
濃度 (nM)
化合物 3
化合物 30
化合物 32

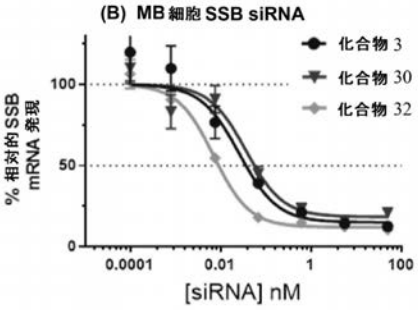
【図８】





【図９】





【配列表】
2021500862000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US18/54444

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US18/54444

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 3, 7, 17, 23, 27, 29-31

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US18/54444

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61K 31/713; C07K 16/28; C12N 15/113 (2018.01)
CPC - A61K 31/713; C07K 16/28; C12N 15/113

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2007/0004665 A1 (MCSWIGGEN, J et al.) 04 January 2007; figure 55; paragraphs [0011], [0014]-[0015], [0075], [0177]-[0178], [0371]-[0372], [0488]	1, 3, 7, 17, 23, 27, 29-31
Y	US 2017/0081425 A1 (MERCK SHARP & DOHME CORP.) 23 March 2017; paragraphs [0005], [0014], [0031], [0156], [0171]	1, 3, 7, 17, 23, 27, 29-31
Y	US 2011/0293512 A1 (VIOLETTE, SM et al.) 01 December 2011; abstract; claims 32, 50-52	27
P, X	US 2017/0281795 A1 (AVIDITY BIOSCIENCES LLC) 05 October 2017; entire document	1, 3, 7, 17, 23, 27, 29-31

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 December 2018 (22.12.2018)	15 FEB 2019
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US18/54444

-***-Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking -***-
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.
Groups I+, Claims 1-32 (in-part) and 68 (in-part) are directed towards a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety of a humanized antibody; B is a polynucleotide of the first recited moiety in claim 7; C is a polymer of polyethylene glycol; X is a bond; and Y is a bond; wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide; and wherein A and C are not attached to B at the same terminus (first exemplary compound structure).
The compound, method and composition will be searched to the extent they encompass a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety of a humanized antibody; B is a polynucleotide of the first recited moiety in claim 7; C is a polymer of polyethylene glycol; X is a bond; and Y is a bond; wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide; and wherein A and C are not attached to B at the same terminus (first exemplary compound structure). Applicant is invited to elect additional compound(s), with specified structural formula(ae) for each, to be searched. Additional compound(s) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1 (in-part), 3 (in-part), 7 (in-part), 17 (in-part), 23 (in-part), 27 (in-part), and 29-31 (in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety of a humanized antibody; B is a polynucleotide of the first recited moiety in claim 7; C is a polymer of polyethylene glycol; X is a bond; and Y is a bond; wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide; and wherein A and C are not attached to B at the same terminus (first exemplary compound structure). Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected compound(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety of a chimeric antibody; B is a polynucleotide of the first recited moiety in claim 7; C is a polymer of polyethylene glycol; X is a bond; and Y is a bond; wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide; and wherein A and C are not attached to B at the same terminus (first exemplary elected compound structure).
Groups I+ share the technical features including a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety; B is a polynucleotide; C is a polymer; X is a bond or a first non-polymeric linker; and Y is a bond or a second linker; wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide; and wherein A and C are not attached to B at the same terminus.
However, these shared technical features are previously disclosed by US 2007/0004665 A1 to McSwiggen, et al. (hereinafter 'McSwiggen') in view of US 2017/0081425 A1 (MERCK SHARP & DOHME CORP.) (hereinafter 'Merck').
McSwiggen discloses a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety; B is a polynucleotide; C is a polymer; X is a bond; and Y is a bond, wherein A and C are not attached to B at the same terminus (chemically modified siRNA molecule (B is polynucleotide) attached to PEG (C is a polymer) and a peptide (A is a binding moiety), wherein the attachments can be at the 3' end and the 5' end (X and Y are bonds); figure 55; paragraphs [0011], [0014], [0075], [0177]-[0178]), but McSwiggen does not disclose wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide. However, Merck discloses wherein a polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide (compound of formula R-(L)a-(G)b comprising a oligonucleotide comprising the first recited moiety in paragraph [0171] (5'-vinylphosphate modified non-natural nucleotide); paragraphs [0005], [0014], [0031], [0171]). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the molecule, as previously disclosed by McSwiggen, in order to have provided wherein a polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide, as previously disclosed by Merck, for providing a conjugated oligonucleotide compounds useful in the inhibition of gene expression (Merck; abstract; McSwiggen; abstract).
Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the McSwiggen and Merck references, unity of invention is lacking.
Group II, Claims 33-67 are directed toward a molecule of Formula (II).
The inventions listed as Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Groups I+ include a molecule of Formula (I), which is not present in Group II; and the special technical features of Group II include a molecule of Formula (II), which is not present in Groups I+.
The common technical features of Groups I+ and II are a molecule comprising A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety; B is a polynucleotide; C is a polymer; X is a bond or a first non-polymeric linker; and Y is a bond or a second linker; wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide; and wherein A and C are not attached to B at the same terminus.
These common technical features are disclosed by McSwiggen in view of Merck.
McSwiggen discloses a molecule of Formula (I): A-X-B-Y-C wherein, A is a binding moiety; B is a polynucleotide; C is a polymer; X is a bond; and Y is a bond, wherein A and C are not attached to B at the same terminus (chemically modified siRNA molecule (B is polynucleotide) attached to PEG (C is a polymer) and a peptide (A is a binding moiety), wherein the attachments can be at the 3' end and the 5' end (X and Y are bonds); figure 55; paragraphs [0011], [0014], [0075], [0177]-[0178]), but McSwiggen does not disclose wherein the polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide. However, Merck discloses wherein a polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide (compound of formula R-(L)a-(G)b comprising a oligonucleotide comprising the first recited moiety in paragraph [0171] (5'-vinylphosphate modified non-natural nucleotide); paragraphs [0005], [0014], [0031], [0171]). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the molecule, as previously disclosed by McSwiggen, in order to have provided wherein a polynucleotide comprises at least one 5'-vinylphosphonate modified non-natural nucleotide, as previously disclosed by Merck, for providing a conjugated oligonucleotide compounds useful in the inhibition of gene expression (Merck; abstract; McSwiggen; abstract).
Since the common technical features are previously disclosed by the McSwiggen and Merck references, these common features are not special and so Groups I+ and II lack unity.

フロントページの続き

(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,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,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ
２．ＴＲＩＴＯＮ

(72)発明者　ドパラプディ，ヴェンカタ　ラマナ
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０
(72)発明者　アリアス，ジョエル　ダニエル
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０
(72)発明者　チュウ，デイヴィッド　サイ－ホ
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０
(72)発明者　コクラン，マイケル　カラミアン
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０
(72)発明者　バーク，ロブ
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０
(72)発明者　コヴァッチ，フィリップ
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５
(72)発明者　マレコヴァ，バルボラ
アメリカ合衆国　９２０３７　カリフォルニア州　ラ・ホーヤ　ノース・トーリー・パインズ・ロード　１０９７５　スイート　１５０

Ｆターム(参考)　4B064 AG27 CA19 CC24 CE11
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA54 CA40 DA76 EA20 FA74