

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-501457

(P2025-501457A)

(43)公表日 令和7年1月22日(2025.1.22)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 6
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5	
A 6 1 P	21/02 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	21/02		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全99頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-533884(P2024-533884)	(71)出願人	591003013
(86)(22)出願日	令和4年12月5日(2022.12.5)		エフ・ホフマンーラ ロシュ アーゲー
(85)翻訳文提出日	令和6年6月5日(2024.6.5)		F. HOFFMANN-LA ROCH
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/084365		E AKTIENGESELLSCHA
(87)国際公開番号	WO2023/104693		F T
(87)国際公開日	令和5年6月15日(2023.6.15)		スイス・シーエイチー 4 0 7 0 パーゼル
(31)優先権主張番号	21212904.3		・グレンツアーヘルストラツセ 1 2 4
(32)優先日	令和3年12月7日(2021.12.7)	(74)代理人	100099759
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 青木 篤
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV)	(74)代理人	100123582
			弁理士 三橋 真二
		(74)代理人	100117019
			弁理士 渡辺 陽一
		(74)代理人	100141977
			弁理士 中島 勝

最終頁に続く

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 A C T L 6 B を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド

(57)【要約】

本発明は、アクチン様 6 B (A C T L 6 B) のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターに関する。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターは、A C T L 6 B 前駆体-mRNA に相補的、例えば完全に相補的であり、T D P - 4 3 が機能的に枯渇している症状および医学的適応症における使用などのために、T D P - 4 3 枯渇細胞における A C T L 6 B の発現を増加または回復させることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アンチセンスオリゴヌクレオチドアクチン様 6 B (A C T L 6 B) スプライスマジュレーターであって、

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、8～40ヌクレオチド長であり、A C T L 6 B 前駆体-mRNA に相補的な少なくとも 8ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む、アンチセンスオリゴヌクレオチドアクチン様 6 B (A C T L 6 B) スプライスマジュレーター。

【請求項 2】

前記 A C T L 6 B 前駆体-mRNA が、配列番号 1 の配列を有する、請求項 1 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 3】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、TDP-43 枯渇細胞におけるアクチン様 6 B (A C T L 6 B) の発現を増加させることができる、請求項 1 または請求項 2 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4】

A C T L 6 B が、配列番号 2 のヌクレオチド配列またはその断片もしくはバリエーションによってコードされる、請求項 3 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 5】

A C T L 6 B タンパク質が、配列番号 3 の配列またはその断片もしくはバリエーションを有する、請求項 3 または請求項 4 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 6】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、TDP-43 枯渇細胞における A C T L 6 B 変異体ポリペプチドの発現を低下させることができる、請求項 1～5 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 7】

前記 A C T L 6 B 変異体ポリペプチドが、A C T L 6 B のスプライシングバリエーションである、請求項 6 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 8】

前記 A C T L 6 B 変異体ポリペプチドが、野生型 A C T L 6 B ポリペプチド配列と比較された場合に、追加のエクソンによってコードされるポリペプチド配列を含む、請求項 7 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 9】

前記 A C T L 6 B 変異体ポリペプチドが、前記野生型 A C T L 6 B ポリペプチド配列と比較された場合に、挿入を含む、請求項 8 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 10】

前記挿入が、約 23 のアミノ酸の挿入である、請求項 9 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 11】

前記 A C T L 6 B 変異体ポリペプチドが、配列番号 4 のヌクレオチド配列またはその断片もしくはバリエーションによってコードされる、請求項 6～10 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 12】

前記 A C T L 6 B 変異体ポリペプチドが、配列番号 5 の配列またはその断片もしくはバリエーションを有する、請求項 6～11 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

10

20

30

40

50

【請求項 13】

前記連続ヌクレオチド配列が、前記 A C T L 6 B 前駆体-m R N A 中のスプライスエンハンサー部位に相補的である、請求項 6～12 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 14】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 199 に相補的である、請求項 1～13 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 15】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 200 に相補的である、請求項 1～14 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

10

【請求項 16】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 201 に相補的である、請求項 1～15 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 17】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 202 に相補的である、請求項 1～16 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 18】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 203 に相補的である、請求項 1～17 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 19】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 204 に相補的である、請求項 1～18 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

20

【請求項 20】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 205 に相補的である、請求項 1～19 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 21】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 6～97 および 190～193 から選択される配列に相補的である、請求項 1～20 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 22】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 26、28、29、30、31、32、33、38、39、46、47、48、52、53、55 および 72 から選択される配列に相補的である、請求項 21 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

30

【請求項 23】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 28、29、30、31、32、33 および 47 から選択される配列に相補的である、請求項 22 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 24】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 98～189 および 194～197 から選択される配列またはその少なくとも 10 個の連続するヌクレオチドである、請求項 1～23 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

40

【請求項 25】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 118、120、121、122、123、124、125、130、131、138、139、140、144、145、147 および 164 から選択される配列またはその少なくとも 10 個の連続するヌクレオチドである、請求項 24 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーター。

【請求項 26】

前記連続ヌクレオチド配列が、配列番号 120、121、122、123、124、125 および 139 から選択される配列またはその少なくとも 10 個の連続するヌクレオチ

50

ドである、請求項 25 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 27】

前記連続ヌクレオチド配列が、少なくとも 12 ヌクレオチド長である、請求項 1～26 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 28】

前記連続ヌクレオチド配列が、少なくとも 13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31 または 32 ヌクレオチド長である、請求項 1～27 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

10

【請求項 29】

前記連続ヌクレオチド配列が、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターと同じ長さである、請求項 1～28 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 30】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、単離、精製または製造される、請求項 1～29 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 31】

前記連続ヌクレオチド配列が、1 つまたは複数の修飾ヌクレオシドを含む、請求項 1～30 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

20

【請求項 32】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、モルホリノアンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項 1～31 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 33】

前記 1 つまたは複数の修飾ヌクレオシドが、2' 糖修飾ヌクレオシド、例えば、2'-O-アルキル-RNA；2'-O-メチル RNA (2'-OMe)；2'-アルコキシ-RNA；2'-O-メトキシエチル-RNA (2'-MOE)；2'-アミノ-DNA；2'-フルオロ-RNA；2'-フルオロ-DNA；アラビノ核酸 (ANA)；2'-フルオロ-ANA；ロックド核酸 (LNA) またはこれらの任意の組み合わせからなる群から独立して選択される 2' 糖修飾ヌクレオシドである、請求項 31 または請求項 32 に記載のアンチセンススプライスマジュレーターオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 34】

前記 2' 糖修飾ヌクレオシドが、親和性増強 2' 糖修飾ヌクレオシドである、請求項 33 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 35】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの前記連続ヌクレオチド配列が、2'-O-メトキシエチル-RNA (2'-MOE) ヌクレオシドを含む、請求項 1～34 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

40

【請求項 36】

前記連続ヌクレオチド配列の全てのヌクレオシドが、任意にホスホロチオアートヌクレオシド間結合によって連結された 2'-O-メトキシエチル-RNA (2'-MOE) ヌクレオシドである、請求項 35 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 37】

前記修飾ヌクレオシドの 1 つまたは複数が、ロックド核酸ヌクレオシド (LNA)、例えば、拘束されたエチルヌクレオシド (cEt) および β -D-オキシ-LNA からなる

50

群から選択される L N A ヌクレオシドである、請求項 3 1 ~ 3 6 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 3 8】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの前記連続ヌクレオチド配列が、L N A ヌクレオシドおよび D N A ヌクレオシドを含むかまたは L N A ヌクレオシドおよび D N A ヌクレオシドからなる、請求項 3 7 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 3 9】

前記連続ヌクレオチド配列が、A C T L 6 B 前駆体-m R N A 配列に少なくとも 7 5 % 相補的である、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

10

【請求項 4 0】

前記連続ヌクレオチド配列が、前記 A C T L 6 B 前駆体-m R N A 配列に対して少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 % または少なくとも 9 5 % 相補的である、請求項 3 9 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4 1】

前記連続ヌクレオチド配列が、前記 A C T L 6 B 前駆体-m R N A と完全に相補的である、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4 2】

前記連続ヌクレオチド配列が、前記 A C T L 6 B 前駆体-m R N A 配列に対して 1、2、3 またはそれより多いミスマッチを含む、請求項 1 ~ 4 0 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

20

【請求項 4 3】

相補的標的 R N A に対する前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターのギブス自由エネルギーが、約 - 1 0 Δ G 未満、例えば約 - 1 5 Δ G 未満、例えば約 - 1 7 Δ G 未満である、請求項 1 ~ 4 2 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4 4】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、3 より多いまたは 4 より多い連続する D N A ヌクレオシドの領域を含まない、請求項 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

30

【請求項 4 5】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、R N A s e H 切断を媒介することができない、請求項 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4 6】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列が、ミックスマーまたはトータルマーである、請求項 1 ~ 4 5 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

40

【請求項 4 7】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列中に存在するシトシン塩基が、シトシンおよび 5 - メチルシトシンからなる群から独立して選択される、請求項 1 ~ 4 6 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4 8】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列中に存在するシトシン塩基が、5 - メチルシトシンである、請求項 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項 4 9】

50

前記連続ヌクレオチド配列上のヌクレオシド間に位置するヌクレオシド間結合の１つまたは複数が修飾されている、請求項１～４８のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項５０】

前記連続ヌクレオチド配列上のヌクレオシド間に位置するヌクレオシド間結合の少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％または約１００％が修飾されている、請求項１～４９のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項５１】

修飾された前記ヌクレオシド間結合の１つもしくは複数または全てが、ホスホロチオアート結合を含む、請求項１～５０のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

10

【請求項５２】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター中に存在する全てのヌクレオシド間結合が、ホスホロチオアートヌクレオシド間結合である、請求項１～５１のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項５３】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、少なくとも１つのコンジュゲート部分に共有結合している、請求項１～５２のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

20

【請求項５４】

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターが、薬学的に許容され得る塩の形態である、請求項１～５３のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項５５】

前記薬学的に許容され得る塩が、ナトリウム塩またはカリウム塩である、請求項５４に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【請求項５６】

請求項１～５５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターと、薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩および／または補助剤とを含む、薬学的組成物。

30

【請求項５７】

細胞におけるＡＣＴＬ６Ｂ発現を増加させるための、インビボまたはインビトロ方法などの方法であって、請求項１～５５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは請求項５６に記載の薬学的組成物を有効量で前記細胞に投与することを含む、方法。

【請求項５８】

前記細胞が、異常なレベルのＴＤＰ－４３を発現するか、または枯渇したレベルのＴＤＰ－４３を示す、請求項５７に記載の方法。

【請求項５９】

対象における疾患を処置または予防するための方法であって、治療有効量または予防有効量の、請求項１～５５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは請求項５６に記載の薬学的組成物を、前記疾患に罹患しているかまたは罹患しやすい対象に投与することを含む、方法。

40

【請求項６０】

医薬としての使用のための、請求項１～５５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは請求項５６に記載の薬学的組成物。

【請求項６１】

対象における疾患の処置または予防における使用のための、請求項１～５５のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは請求項５

50

6 に記載の薬学的組成物。

【請求項 6 2】

対象における疾患の処置または予防のための医薬の調製のための、請求項 1 ～ 5 5 のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは請求項 5 6 に記載の薬学的組成物。

【請求項 6 3】

前記疾患が、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD）、進行性核上性麻痺（PSP）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症 3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される神経障害である、請求項 5 7 ～ 5 9 のいずれか一項に記載の方法または請求項 6 0 ～ 6 2 のいずれか一項に記載の使用のためのアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

10

【請求項 6 4】

前記疾患が、筋萎縮性側索硬化症（ALS）および前頭側頭葉変性症（FTLD）からなる群から選択される神経障害である、請求項 6 3 に記載の方法または使用のためのアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

本発明は、アクチン様 6 B（ACTL6B）のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、ACTL6B 前駆体 mRNA に相補的、例えば完全に相補的であり、TDP-43 が機能的に枯渇している症状および医学的適応症における使用などのために、TDP-43 枯渇細胞における ACTL6B の発現を増加または回復させることができる。

【背景技術】

【0002】

背景

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

30

【0003】

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

40

【0004】

ACTL6B は、神経細胞の分化中のクロマチンリモデリングに関与する。ACTL6B は、ACTL6A のスプライスマリアントであり、幹細胞が成熟ニューロンへの分化を完了すると、ACTL6A を置き換える。

【0005】

本発明者らは、ACTL6B プレ-mRNA 配列内に存在する TDP-43 結合部位により、ACTL6B のスプライシングが少なくとも部分的に TDP-43 によって制御されることを示す。

【発明の概要】

【0006】

50

発明の概要

本発明者らは、驚くべきことに、TDP-43が細胞内で枯渇すると、ACTL6B mRNAスプライシングが変化することを決定した。

【0007】

したがって、本発明者らは、ACTL6Bスプライシングパターンを改変することにより、ニューロン細胞に対するTDP-43枯渇の有害な影響を改善することができるかもしれないと仮定した。

【0008】

ここで、本発明者らは、アンチセンスオリゴヌクレオチドACTL6Bスプライスマジュレーターを使用して、ACTL6Bの発現を増加させた。

【0009】

一局面において、本発明は、アンチセンスオリゴヌクレオチドアクチン様6B (ACTL6B) スプライスマジュレーターであって、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは8~40ヌクレオチド長であり、ACTL6B前駆体-mRNAに相補的な少なくとも8ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む、アンチセンスオリゴヌクレオチドアクチン様6B (ACTL6B) スプライスマジュレーターを提供する。

【0010】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、TDP-43枯渇細胞におけるアクチン様6B (ACTL6B) の発現を増加させることが可能であり得る。

【0011】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、TDP-43枯渇細胞におけるACTL6BのスプライスバリエーションなどのACTL6B変異体ポリペプチドの発現を減少させることが可能であり得る。

【0012】

本発明者らは、驚くべきことに、TDP-43枯渇細胞において、追加のエクソンを含むACTL6Bスプライスバリエーションの増加した発現が観察されることを決定した。これは、機能的に活性な野生型 (WT) ACTL6Bポリペプチドの産生の減少をもたらす。したがって、いくつかの態様において、スプライスバリエーションは、野生型ACTL6Bポリペプチド配列と比較すると、追加のエクソンによってコードされるポリペプチド配列を含み得る。

【0013】

いくつかの態様において、変異体ACTL6Bスプライスバリエーションは、野生型ACTL6Bポリペプチド配列と比較すると、約23アミノ酸の挿入などの挿入を含み得る。

【0014】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列は、ACTL6B前駆体-mRNA中のスプライスエンハンサー部位に相補的であり得る。

【0015】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列は、配列番号199~205から選択される配列に相補的であり得る。

【0016】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列は、配列番号6~97および190~193から選択される配列に相補的であり得る。

【0017】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列は、配列番号26、28、29、30、31、32、33、38

10

20

30

40

50

、39、46、47、48、52、53、55および72から選択される配列に相補的であり得る。

【0018】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、配列番号28、29、30、31、32、33および47から
選択される配列に相補的であり得る。

【0019】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、配列番号98～189および194～197から選択される
配列またはそれらの少なくとも10個の連続するヌクレオチドであり得る。

10

【0020】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、配列番号118、120、121、122、123、124
、125、130、131、138、139、140、144、145、147および1
64、またはそれらの少なくとも10個の連続するヌクレオチドからなる群から選択され
る配列であり得る。

【0021】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、配列番号120、121、122、123、124、125
および139、またはその少なくとも10個の連続するヌクレオチドからなる群から選択
される配列であり得る。

20

【0022】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
は、少なくとも12ヌクレオチド長、例えば少なくとも13、14、15、16、17、
18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、3
1または32ヌクレオチド長であり得る。

【0023】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
と同じ長さであり得る。

30

【0024】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
は、1つまたは複数の修飾ヌクレオシド、例えば、2'-O-アルキル-RNA；2'-O-
メチルRNA（2'-OMe）；2'-アルコキシ-RNA；2'-O-メトキシエチル
-RNA（2'-MOE）；2'-アミノ-DNA；2'-フルオロ-RNA；2'-フルオ
ロ-DNA；アラビノ核酸（ANA）；2'-フルオロ-ANA；ロックド核酸（LNA
）またはこれらの任意の組み合わせからなる群から独立して選択され得る2'糖修飾ヌク
レオシドを含み得る。

【0025】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、任意にホスホロチオアートヌクレオシド間結合によって連結
された2'-O-メトキシエチル-RNA（2'-MOE）ヌクレオシドを含み得る。

40

【0026】

いくつかの態様において、修飾ヌクレオシドの1つまたは複数は、ロックド核酸ヌクレ
オシド（LNA）、例えば、拘束されたエチルヌクレオシド（cEt）およびβ-D-オ
キシ-LNAからなる群から選択されるLNAヌクレオシドであり得る。

【0027】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター
の連続ヌクレオチド配列は、ACTL6B前駆体-mRNA配列に少なくとも75%、例
えば少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%または少なくとも95%相

50

補的であり得る。

【0028】

他の態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列は、A C T L 6 B 前駆体-m R N A に完全に相補的であり得る。

【0029】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、3より多いまたは4より多い連続するDNAヌクレオシドの領域を含まなくてもよく、RNAse H切断を媒介することができなくてもよい。

【0030】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター内のヌクレオシド間結合の1つもしくは複数または全部が修飾され得る。例えば、修飾されたヌクレオシド間結合は、ホスホロチオアート結合を含み得る。

【0031】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、少なくとも1つのコンジュゲート部分に共有結合され得る。

【0032】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、ナトリウム塩またはカリウム塩などの薬学的に許容され得る塩の形態であり得る。

【0033】

別の局面において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターと、薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩および／または補助剤とを含む薬学的組成物が提供される。

【0034】

別の局面において、細胞におけるA C T L 6 B発現を増加させるための方法、例えばインビボまたはインビトロ方法であって、異常なレベルのT D P - 4 3を発現し得るかまたは枯渇したレベルのT D P - 4 3を示す、有効量で本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは薬学的組成物を前記細胞に投与することを含む、方法が提供される。

【0035】

別の局面において、本発明は、対象における疾患を処置または予防するための方法であって、治療有効量または予防有効量の、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは薬学的組成物を、前記疾患に罹患しているかまたは罹患しやすい対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0036】

別の局面において、医薬としての使用のための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは薬学的組成物が提供される。

【0037】

別の局面において、対象における疾患の処置または予防における使用のための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは薬学的組成物が提供される。

【0038】

別の局面において、対象における疾患を処置または予防するための医薬を調製するための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは薬学的組成物が提供される。

【0039】

本発明の全ての局面において、疾患は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭葉変性症（F T L D）、進行性核上性麻痺（P S P）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される神経障害であり得る。

10

20

30

40

50

【0040】

特定の態様において、疾患は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）および前頭側頭葉変性症（FTLD）からなる群から選択される神経障害であり得る。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】図1は、ACTL6B遺伝子からのNGSリードマッピングを見ることができるCLC Genomics Workbenchソフトウェアからのスクリーンショットを示す。化合物A（配列番号198）で処理された試料中に新しいエクソンが包含されることを矢印で示す。

【発明を実施するための形態】

【0042】

詳細な説明

本発明者らは、ACTL6BのスプライシングがTDP-43の影響を受けることを同定した。これは、TDP-43細胞における非機能性または低機能性のACTL6Bの産生をもたらすと考えられる。

【0043】

理論に拘束されることを望まないが、TDP-43枯渇細胞において、ACTL6Bは、追加のエクソンが包含されるようにスプライシングされ得ると考えられる。この追加のエクソンは、23アミノ酸長であり得る。この追加のエクソンの包含は、野生型ACTL6Bよりも機能的に活性が低いポリペプチドの形成をもたらし得る。このような選択的にスプライシングされたポリペプチドは、本明細書では「変異体ACTL6Bポリペプチド」、「ACTL6Bのスプライシングバリエーション」または「ACTL6Bスプライスバリエーション」と呼ばれる。

【0044】

本発明者らはまた、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターを使用して、ACTL6Bスプライシングバリエーションの産生を低下させることができることを決定した。本明細書において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターは、本発明のオリゴヌクレオチドまたは本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとも称され得る。

【0045】

本発明のオリゴヌクレオチドスプライスマジューターは、ACTL6B前駆体-mRNA中のスプライスエンハンサー部位を標的とし得る。これは、選択的スプライシングを低下させ、それによって通常のスプライシングおよび野生型ACTL6Bタンパク質の産生を増加させ得る。

【0046】

増強された野生型ACTL6B発現は、ACTL6Bの低下した発現によって特徴付けられる、またはACTL6Bの低下した発現によって引き起こされる広範な障害を処置するために望ましい。これらには、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD）、進行性核上性麻痺（PSP）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症が含まれる。

【0047】

スプライス調節

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ACTL6Bスプライスマジューターであり、すなわち、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドはACTL6B前-mRNAのスプライシングに影響を及ぼす。本明細書では、本発明のオリゴヌクレオチドは、「アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューター」と称され得る。

【0048】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュー

10

20

30

40

50

レーターは、A C T L 6 B 前駆体-m R N A に相補的であり得る。

【0049】

いくつかの態様において、A C T L 6 B 前駆体-m R N A は、配列番号 1 の配列を有し得る。配列番号 1 は、本明細書に参照配列として提供され、標的前駆体-m R N A は、配列番号 1 の対立遺伝子バリエーション、例えば 1 つまたは複数の多型を含む対立遺伝子バリエーションであり得ることが理解されよう。

【0050】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、T D P - 4 3 枯渇細胞における A C T L 6 B の発現を増加させることが可能であり得る。本明細書では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターへの曝露によって、野生型、すなわち通常にスプライシングされた A C T L 6 B の発現が増加することが予想される。

【0051】

理論に拘束されることを望むものではないが、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、A C T L 6 B 前駆体-m R N A の通常のスプライシングを増加させ得ると考えられる。これは、通常にスプライシングされた成熟 A C T L 6 B m R N A の量の増加をもたらすと考えられ、これは、続いて、野生型 A C T L 6 B タンパク質の量の増加をもたらすと考えられる。

【0052】

本明細書では、「野生型」および「通常にスプライシングされた」という用語は互換的に使用される。

【0053】

いくつかの態様において、野生型（すなわち、通常にスプライシングされた）成熟 A C T L 6 B m R N A 配列は、配列番号 2 の配列またはその断片もしくはバリエーションを有し得る。配列番号 2 は、本明細書に参照配列として提供され、通常にスプライシングされた A C T L 6 B m R N A は、配列番号 2 の対立遺伝子バリエーション、例えば 1 つまたは複数の多型を含む対立遺伝子バリエーションであり得ることが理解されよう。

【0054】

いくつかの態様において、野生型 A C T L 6 B タンパク質は、配列番号 3 の配列またはその断片もしくはバリエーションを有し得る。配列番号 3 は、本明細書に参照配列として提供され、野生型 A C T L 6 B タンパク質は、配列番号 3 の対立遺伝子バリエーション、例えば 1 つまたは複数の多型を含む対立遺伝子バリエーションであり得ることが理解されよう。

【0055】

本明細書において、「野生型 A C T L 6 B の発現を増加させる」という用語は、通常にスプライシングされた A C T L 6 B m R N A レベルを増加させること、野生型 A C T L 6 B タンパク質レベルを増加させること、または通常にスプライシングされた A C T L 6 B m R N A レベルおよび野生型 A C T L 6 B タンパク質レベルを増加させることを意味すると理解される。

【0056】

ある態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、A C T L 6 B 前駆体-m R N A の通常のスプライシングを少なくとも約 10 % 増加させ得る。より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 300 %、少なくとも約 400 %、少なくとも約 500 %、少なくとも約 600 % またはそれを超えて、A C T L 6 B 前駆体-m R N A の通常のスプライシングを増加させ得る。

【0057】

ある態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、野生型 A C T L 6 B タンパク質の量を少なくとも約 10 % 増加させ得る。より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 300 %、少なくとも約 400 %、少なくとも約 500 %、少なくとも約 600 % またはそれを超えて、野生型 A C T L 6 B タンパク質の量を増加させ得る。

【0058】

ある態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、A C T L 6 B 前駆体-mRNA の通常のスプライシングを増加させ、および野生型 A C T L 6 B タンパク質の量を少なくとも約 10 % 増加させ得る。より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 300 %、少なくとも約 400 %、少なくとも約 500 %、少なくとも約 600 % またはそれを超えて、A C T L 6 B 前駆体-mRNA の通常のスプライシングを増加させ、および野生型 A C T L 6 B タンパク質の量を増加させ得る。

【0059】

好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、TDP-43 枯渇細胞における A C T L 6 B 変異体ポリペプチドの発現を減少させることによって野生型 A C T L 6 B の量を増加させる。

【0060】

A C T L 6 B 変異体ポリペプチドは、A C T L 6 B のスプライシングバリエーションであり得る。本明細書では、「スプライシングバリエーション」または「スプライスマリエーション」という用語は、野生型 A C T L 6 B 成熟 mRNA 配列と比較して追加のエクソンを含むバリエーション成熟 mRNA を含むが、これらに限定されない。野生型 A C T L 6 B 成熟 mRNA 配列は配列番号 2 であり得る。

【0061】

いくつかの態様において、野生型 A C T L 6 B ポリペプチド配列と比較して、A C T L 6 B 成熟 mRNA 配列内に追加のエクソンが含まれると、翻訳されたポリペプチド配列中に挿入をもたらす得る。野生型 A C T L 6 B ポリペプチドは、配列番号 3 の配列を有し得る。

【0062】

いくつかの態様において、挿入は、野生型 A C T L 6 B ポリペプチド配列と比較して、約 23 アミノ酸であり得る。他の態様において、挿入は、野生型 A C T L 6 B ポリペプチド配列と比較して、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30 またはそれより多くのアミノ酸であり得る。野生型 A C T L 6 B ポリペプチドは、配列番号 3 の配列を有し得る。

【0063】

いくつかの態様において、変異体ポリペプチドは、配列番号 4 のヌクレオチド配列またはその断片もしくはバリエーションによってコードされ得る。配列番号 4 は、参照配列として本明細書に提供され、変異体 A C T L 6 B ポリペプチドをコードする核酸配列は、配列番号 4 の対立遺伝子バリエーション、例えば 1 つまたは複数の多型を含む対立遺伝子バリエーションであり得ることが理解されよう。

【0064】

他の態様において、A C T L 6 B 変異体ポリペプチドは、配列番号 5 の配列またはその

断片もしくはバリエーションを有し得る。配列番号 5 は、参照配列として本明細書に提供され、変異体 A C T L 6 B ポリペプチドは、配列番号 5 の対立遺伝子バリエーション、例えば 1 つまたは複数の多型を含む対立遺伝子バリエーションであり得ることが理解されよう。

【0065】

本明細書において、「A C T L 6 B 変異体の発現を減少させる」という用語は、選択的にスプライシングされた A C T L 6 B 成熟 m R N A レベルを減少させること、変異体 A C T L 6 B ポリペプチドレベルを減少させること、または選択的にスプライシングされた A C T L 6 B 成熟 m R N A レベルを減少させ、および変異体 A C T L 6 B ポリペプチドレベルを減少させることを意味すると理解される。

【0066】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、選択的にスプライシングされた A C T L 6 B 成熟 m R N A のレベルを対照と比較して少なくとも 10 % 減少させることができる。より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 300 %、少なくとも約 400 %、少なくとも約 500 %、少なくとも約 600 % またはそれを超えて、選択的にスプライシングされた A C T L 6 B 成熟 m R N A のレベルを減少させることができる。

【0067】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、変異体 A C T L 6 B ポリペプチドレベルを少なくとも 10 % 減少させることができる。より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 300 %、少なくとも約 400 %、少なくとも約 500 %、少なくとも約 600 % またはそれを超えて、変異体 A C T L 6 B ポリペプチドレベルを減少させることができる。

【0068】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、選択的にスプライシングされた A C T L 6 B 成熟 m R N A レベルを減少させ、および野生型 A C T L 6 B ポリペプチドレベルを少なくとも 10 % 減少させることができる。より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、対照と比較して、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 300 %、少なくとも約 400 %、少なくとも約 500 %、少なくとも約 600 % またはそれを超えて、選択的にスプライシングされた成熟 A C T L 6 B m R N A レベルを減少させ、および変異体 A C T L 6 B ポリペプチドレベルを減少させることができる。

【0069】

対照

「対照」という用語は、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの効果の測定に関して使用される場合、対照は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに曝露されていない細胞であることが一般に理解される。

【0070】

あるいは、野生型 A C T L 6 B の発現の増加または A C T L 6 B 変異体の発現の減少は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターへの曝露前に発現された野生型および／または変異体 A C T L 6 B mRNA および／またはポリペプチドの量を参照することによって決定され得る。

【0071】

他の態様において、対照は、非標的指向性オリゴヌクレオチドで処理された細胞であり得る。

【0072】

いくつかの態様において、対照は、例えば細胞が P B S で処理されるモック形質移入であり得る。

【0073】

オリゴヌクレオチド

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」という用語は、当業者によって一般的に理解されているように、2 つ以上の共有結合されたヌクレオシドを含む分子として定義される。このような共有結合されたヌクレオシドはまた、核酸分子またはオリゴマーとも称され得る。

【0074】

オリゴヌクレオチドは、通常、固相化学合成と、その後の精製および単離によって研究室で作製される。オリゴヌクレオチドの配列に言及する場合には、共有結合されたヌクレオチドまたはヌクレオシドの核酸塩基部分の配列もしくは順序、またはその修飾が言及される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、人工のものであり、化学的に合成され、典型的には精製または単離される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、1 つまたは複数の修飾ヌクレオシド、例えば 2' 糖修飾ヌクレオシドを含み得る。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、1 つまたは複数のホスホロチオアートヌクレオシド間結合などの、1 つまたは複数の修飾されたヌクレオシド間結合を含み得る。

【0075】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、一本鎖オリゴヌクレオチドである。

【0076】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、8 ～ 40 ヌクレオチド長である。

【0077】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、8 ～ 40 ヌクレオチド長であり、8 ～ 40 ヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列を含む。

【0078】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 または 40 ヌクレオチド長である。

【0079】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、少なくとも 12 ヌクレオチド長である。

【0080】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、少なくとも 14 ヌクレオチド長である。

【0081】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、少なくとも 16 ヌクレオチド長である。

10

20

30

40

50

【0082】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、少なくとも18ヌクレオチド長である。

【0083】

好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、16～20ヌクレオチド長である。

【0084】

より好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、18～20ヌクレオチド長である。

【0085】

連続ヌクレオチド配列

本明細書において使用される「連続ヌクレオチド配列」という用語は、オリゴヌクレオチドモチーフ配列であり得るまたはオリゴヌクレオチドモチーフ配列を含み得る、標的核酸に相補的な本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの領域を指す。この用語は、本明細書では「連続核酸塩基配列」という用語と互換的に使用される。

【0086】

アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、連続ヌクレオチド配列を含み、さらなるヌクレオチド、例えば、官能基（例えばコンジュゲート基）を連続ヌクレオチド配列に結合するために使用され得るヌクレオチドリンカー領域を任意に含み得る。ヌクレオチドリンカー領域は、標的核酸に対して相補的であってもよく、または相補的でなくてもよい。

【0087】

アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列は、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター自体より長くなることはできないこと、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは連続ヌクレオチド配列より短くなることはできないことが理解される。

【0088】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターのヌクレオチド配列全体が、連続ヌクレオチド配列である。

【0089】

連続ヌクレオチド配列は、標的核酸、標的配列または標的部位配列に相補的であり、場合によっては標的核酸、標的配列または標的部位配列に完全に相補的である本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター中のヌクレオチドの配列である。

【0090】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は8～40ヌクレオチド長である。

【0091】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39または40ヌクレオチド長である。

【0092】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、少なくとも12ヌクレオチド長である。

【0093】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、少なくとも14ヌクレオチド長である。

【0094】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、少なくとも16ヌクレオチド長である。

10

20

30

40

50

【0095】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、少なくとも18ヌクレオチド長である。

【0096】

好ましい態様において、連続ヌクレオチド配列は、16～20ヌクレオチド長である。

【0097】

より好ましくは、連続ヌクレオチド配列は、18～20ヌクレオチド長である。

【0098】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、連続ヌクレオチド配列からなる。

10

【0099】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、連続ヌクレオチド配列である。

【0100】

ACTL6B前駆体-mRNAを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、ACTL6B前駆体-mRNAに相補的な連続ヌクレオチド配列を含む。

【0101】

ACTL6B前駆体-mRNAは、連続ヌクレオチド配列の標的またはアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの標的として記載され得る。言い換えると、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、ACTL6B前駆体-mRNAを標的とする。

20

【0102】

いくつかの態様において、標的配列は、配列番号1の配列を有し得る。配列番号1は、本明細書に参照配列として提供され、ACTL6B前駆体-mRNA配列は、配列番号1の対立遺伝子バリエーション、例えば1つまたは複数の多型を含む対立遺伝子バリエーションであり得ることが理解されよう。これは、本明細書において標的配列として特定された全ての配列に等しく適用される。

【0103】

一局面において、本発明は、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターであって、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは8～40ヌクレオチド長であり、配列番号1に相補的な少なくとも8ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

30

【0104】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号1に対して少なくとも約75%相補的、少なくとも約80%相補的、少なくとも約85%相補的、少なくとも約90%相補的、少なくとも約95%相補的または完全に相補的（すなわち、100%相補的）である連続配列を含む。ここでの相補性は、連続ヌクレオチド配列の長さにわたって決定される。

40

【0105】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号1に対して少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%相補的または完全に相補的（すなわち、100%相補的）である連続配列を含む。

50

【0106】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、連続ヌクレオチド配列と標的核酸との間に1つ、2つまたは3つのミスマッチを含み得る連続配列を含む。

【0107】

好ましい態様において、本発明のオリゴヌクレオチドまたはその連続ヌクレオチド配列は、連続ヌクレオチド配列の長さにわたって、配列番号1と完全に相補的（100%相補的）である。

【0108】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、A C T L 6 B 前駆体-m R N A 中のスプライスエンハンサー部位に相補的である。

【0109】

本発明の一局面は、配列番号199と相補的である8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0110】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号199に対して少なくとも90%相補的、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%または100%相補的である連続配列を含む。

【0111】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号199と完全に相補的（すなわち、100%相補的）な連続配列を含む。

【0112】

本発明の一局面は、配列番号200と相補的である8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0113】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号200に対して少なくとも90%相補的、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%または100%相補的である連続配列を含む。

【0114】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号200と完全に相補的（すなわち、100%相補的）な連続配列を含む。

【0115】

本発明の一局面は、配列番号201と相補的である8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0116】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号201に対して少なくとも90%相補的、例えば少なくとも91%、例えば少なくとも92%、例えば少なくとも93%、例えば少なくとも94%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%または100%相補的である連続配列を含む。

【0117】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 201 と完全に相補的（すなわち、100%相補的）な連続配列を含む。

【0118】

本発明の一局面は、配列番号 202 と相補的である 8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0119】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 202 に対して少なくとも 90%相補的、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%または 100%相補的である連続配列を含む。

【0120】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 202 と完全に相補的（すなわち、100%相補的）な連続配列を含む。

【0121】

本発明の一局面は、配列番号 203 と相補的である 8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0122】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 203 に対して少なくとも 90%相補的、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%または 100%相補的である連続配列を含む。

【0123】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 203 と完全に相補的（すなわち、100%相補的）な連続配列を含む。

【0124】

本発明の一局面は、配列番号 204 と相補的である 8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0125】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 204 に対して少なくとも 90%相補的、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98%または 100%相補的である連続配列を含む。

【0126】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、配列番号 204 と完全に相補的（すなわち、100%相補的）な連続配列を含む。

【0127】

本発明の一局面は、配列番号 205 と相補的である 8～40ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターに関する。

【0128】

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、配列番号 205 に対して少なくとも 90% 相補的、例えば少なくとも 91%、例えば少なくとも 92%、例えば少なくとも 93%、例えば少なくとも 94%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 96%、例えば少なくとも 97%、例えば少なくとも 98% または 100% 相補的である連続配列を含む。

【0129】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、配列番号 205 と完全に相補的（すなわち、100% 相補的）な連続配列を含む。

【0130】

一態様において、標的配列は、配列番号 199 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 199 に相補的である。

【0131】

一態様において、標的配列は、配列番号 200 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 200 に相補的である。

【0132】

一態様において、標的配列は、配列番号 201 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 201 に相補的である。

【0133】

一態様において、標的配列は、配列番号 202 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 202 に相補的である。

【0134】

一態様において、標的配列は、配列番号 203 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 203 に相補的である。

【0135】

一態様において、標的配列は、配列番号 204 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 204 に相補的である。

【0136】

一態様において、標的配列は、配列番号 205 である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 205 に相補的である。

【0137】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 35、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、配列番号 62、配列番号 63、配列番号 64、配列番号 65、配列番号 66、配列番号 67、配列番号 68、配列番号 69、配列番号 70、配列番号 71、配列番号 72、配列番号 73、配列番号 74、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85、配列番号 86、配列番号 87、配列番号 88、配列番号 89、配列番号 90、配列番号 91、配列番号 92、配列番号 93、配列番号 94、配列番号 95、配列番号 96、配列番号 97、配列番号 190、配列番号 NO191、配列番号 192 および配列番号 193 からなる群から選択される標的核酸領域に対して少なくとも 75% の相補性、例えば少

10

20

30

40

50

なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90% または少なくとも 95% または 100% の相補性を有する 8 ～ 40 ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む。

【0138】

いくつかの態様において、標的配列は、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 55 および配列番号 72 からなる群から選択される。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 55 および配列番号 72 からなる群から選択される配列に相補的である。

10

【0139】

いくつかの態様において、標的配列は、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33 および配列番号 47 からなる群から選択される。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33 および配列番号 47 からなる群から選択される配列に相補的である。

【0140】

一態様において、標的配列は、配列番号 26 またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 26 またはその断片と相補的である。

20

【0141】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号 26 と完全に相補的であり得る。

【0142】

一態様において、標的配列は、配列番号 28 またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 28 またはその断片と相補的である。

【0143】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号 28 と完全に相補的であり得る。

【0144】

一態様において、標的配列は、配列番号 29 またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 29 またはその断片と相補的である。

30

【0145】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号 29 と完全に相補的であり得る。

【0146】

一態様において、標的配列は、配列番号 30 またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 30 またはその断片と相補的である。

【0147】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号 30 と完全に相補的であり得る。

40

【0148】

一態様において、標的配列は、配列番号 31 またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 31 またはその断片と相補的である。

【0149】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号 31 と完全に相補的であり得る。

【0150】

一態様において、標的配列は、配列番号 32 またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号 32 またはその断片と相補的である。

50

【0151】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号32と完全に相補的であり得る。

【0152】

一態様において、標的配列は、配列番号33またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号33またはその断片と相補的である。

【0153】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号33と完全に相補的であり得る。

【0154】

一態様において、標的配列は、配列番号38またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号38またはその断片と相補的である。

【0155】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号38と完全に相補的であり得る。

【0156】

一態様において、標的配列は、配列番号39またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号39またはその断片と相補的である。

【0157】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号39と完全に相補的であり得る。

【0158】

一態様において、標的配列は、配列番号46またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号46またはその断片と相補的である。

【0159】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号46と完全に相補的であり得る。

【0160】

一態様において、標的配列は、配列番号47またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号47またはその断片と相補的である。

【0161】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号47と完全に相補的であり得る。

【0162】

一態様において、標的配列は、配列番号48またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号48またはその断片と相補的である。

【0163】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号48と完全に相補的であり得る。

【0164】

一態様において、標的配列は、配列番号52またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号52またはその断片と相補的である。

【0165】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号52と完全に相補的であり得る。

【0166】

一態様において、標的配列は、配列番号53またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号53またはその断片と相補的である。

【0167】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号53と完全に相補的であり得る。

10

20

30

40

50

。

【0168】

一態様において、標的配列は、配列番号55またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号55またはその断片と相補的である。

【0169】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号55と完全に相補的であり得る。

。

【0170】

一態様において、標的配列は、配列番号72またはその断片である。言い換えると、いくつかの態様において、連続核酸は、配列番号72またはその断片と相補的である。

10

【0171】

別の態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号72と完全に相補的であり得る。

。

【0172】

いくつかの態様において、標的配列のいずれかの断片は、その少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個または少なくとも17個の連続するヌクレオチド、好ましくは少なくとも10個の連続するヌクレオチドであり得る。

【0173】

相補性

20

「相補性」という用語は、ヌクレオシド／ヌクレオチドのワトソン・クリック塩基対合能力を記述する。ワトソン・クリック塩基対は、グアニン（G）－シトシン（C）およびアデニン（A）－チミン（T）／ウラシル（U）である。

【0174】

オリゴヌクレオチドは修飾核酸塩基を有するヌクレオシドを含んでいてもよく、例えば5-メチルシトシンは、しばしばシトシンの代わりに用いられ、したがって、「相補性」という用語は、非修飾核酸塩基と修飾核酸塩基との間でのワトソン・クリック塩基対合を包含することが理解されよう（例えば、Hirao et al., 2012, *Accounts of Chemical Research*, 45, 2055 and Bergstrom, 2009, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.*, 37, 1.4.1を参照されたい）。

30

【0175】

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

40

【0176】

本発明において、「相補的」という用語は、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列が、標的配列、例えばACTL6B前駆体-mRNAに対して少なくとも約75%相補的、少なくとも約80%相補的、少なくとも約85%相補的、少なくとも約90%相補的または少なくとも約95%相補的である

50

ことを必要とする。いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続配列は、標的配列、例えば、A C T L 6 B 前駆体-m R N A に対して少なくとも約 75 %、少なくとも約 76 %、少なくとも約 77 %、少なくとも約 78 %、少なくとも約 79 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 81 %、少なくとも約 82 %、少なくとも約 83 %、少なくとも約 84 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 86 %、少なくとも約 87 %、少なくとも約 88 %、少なくとも約 89 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 % または少なくとも約 99 % 相補的または 100 % 相補的であり得る。

【0177】

10

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列は、1つ、2つ、3つまたはそれより多くのミスマッチを含んでいてもよく、ここで、ミスマッチとは、その標的と塩基対を形成しない、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列内のヌクレオチドである。

【0178】

「完全に相補的」という用語は、100 % の相補性を指す。

【0179】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、標的配列に完全に相補的である。

20

【0180】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、標的配列に完全に相補的である。

【0181】

同一性

本明細書で使用される場合、「同一性」という用語は、連続ヌクレオチド配列にわたって参照配列（例えば、配列モチーフ）と同一である、核酸分子（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター）内の連続ヌクレオチド配列のヌクレオチドの割合（パーセントで表される）を指す。

【0182】

したがって、同一性のパーセンテージは、（本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列中のおよび参照配列中の）2つの配列の間で同一の（一致する）整列された核酸塩基の数を数え、その数を連続ヌクレオチド配列中のヌクレオチドの総数で割り、100 を掛けることによって計算される。したがって、同一性の百分率 = $(\text{一致数} \times 100) / \text{整列された領域}$ （例えば、連続ヌクレオチド配列）の長さ。挿入および欠失は、連続ヌクレオチド配列の同一性の百分率の計算において許容されない。同一性の決定において、核酸塩基の化学的修飾は、核酸塩基がワトソン・クリック塩基対合を形成する機能的能力が保持される限り、無視されることが理解されるであろう（例えば、5-メチルシトシンは、% 同一性を計算する目的では、シトシンと同一であるとみなされる）。

30

【0183】

40

したがって、標的配列に相補的な本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーター内の連続ヌクレオチド配列も、前記標的配列と同一性の百分率を共有するように、同一性と相補性の間には関係性が存在することを理解されたい。

【0184】

ハイブリダイゼーション

本明細書で用いられる「ハイブリダイズ」または「ハイブリダイズする」という用語は、2つの核酸鎖（例えば、オリゴヌクレオチドおよび標的核酸）が対向する鎖上の塩基対間に水素結合を形成することにより二重鎖を形成することと理解されるべきである。2つの核酸鎖の間の結合の親和性が、ハイブリダイゼーションの強度である。これは、しばしば、オリゴヌクレオチドの半分が標的核酸と二重鎖を形成する温度として定義される、融

50

解温度 (T_m) の観点で記述される。生理学的条件では、 T_m は、厳密には、親和性に比例しない (Mergny and Lacroix, 2003, *Oligonucleotides* 13:515-537)。標準状態ギブス自由エネルギー ΔG° が、結合親和性をより正確に表し、 $\Delta G^\circ = -RT \ln(K_d)$ によって反応の解離定数 (K_d) に関連付けられ、式中、 R は気体定数であり、 T は絶対温度である。したがって、オリゴヌクレオチドと標的核酸の間での反応の非常に低い ΔG° は、オリゴヌクレオチドと標的核酸の間での強いハイブリダイゼーションを反映している。 ΔG° は、水性濃度が 1 M、 pH が 7、温度が 37 °C である反応に伴うエネルギーである。標的核酸に対するオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションは、自発的反応であり、自発的反応では、 ΔG° はゼロ未満である。 ΔG° は、例えば、Hansen et al., 1965, *Chem. Comm.* 36-38 および Holdgate et al., 2005, *Drug Discov Today* に記載されているような等温滴定熱量測定 (ITC) 法の使用により、実験的に測定され得る。当業者は、 ΔG° 測定のために市販の装置が入手可能であることを知るであろう。 ΔG° はまた、Santa Lucia, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA* 95-1460-1465 によって記載されている最近接モデルを使用して、Sugimoto et al., 1995, *Biochemistry* 34:11211-11216 および McTigue et al., 2004, *Biochemistry* 43:5388-5405 によって記載されている適切に得られる熱力学的パラメータを使用し、数値的に推定され得る。

10

20

30

40

50

【0185】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、10~30ヌクレオチド長であるオリゴヌクレオチドについて -10 kcal 未満の推定 ΔG° 値で標的核酸にハイブリダイズする。

【0186】

いくつかの態様において、ハイブリダイゼーションの程度または強度は、標準状態でのギブス自由エネルギー ΔG° により測定される。アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、8~30ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドに対して -10 kcal の範囲未満、例えば -15 kcal 未満、例えば -20 kcal 未満、および例えば -25 kcal 未満の推定 ΔG° 値で標的核酸にハイブリダイズし得る。いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、 $-10 \sim -60 \text{ kcal}$ 、例えば $-12 \sim -40$ 、例えば $-15 \sim -30 \text{ kcal}$ 、または $-16 \sim -27 \text{ kcal}$ 、例えば $-18 \sim -25 \text{ kcal}$ の推定 ΔG° 値で、標的核酸にハイブリダイズする。

【0187】

アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーター

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ACTL6B前駆体-mRNAに相補的な連続ヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターである。

【0188】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号98、配列番号99、配列番号100、配列番号101、配列番号102、配列番号103、配列番号104、配列番号105、配列番号106、配列番号107、配列番号108、配列番号109、配列番号110、配列番号111、配列番号112、配列番号113、配列番号114、配列番号115、配列番号116、配列番号117、配列番号118、配列番号119、配列番号120、配列番号121、配列番号122、配列番号123、配列番号124、配列番号125、配列番号126、配列番号127、配列番号128、配列番号129、配列番号130、配列番号131、配列番号132、配列番号133、配列番号134、配列番号135、配列番号136、配列番号137、配列番号138、配列番号139、配列番号140、配列番号141、配列番号142、配列番号143、配列番号144、配列番号145、配列番号146、配列番号147、配列番号148、配列番号149、配

列番号150、配列番号151、配列番号152、配列番号153、配列番号154、配列番号155、配列番号156、配列番号157、配列番号158、配列番号159、配列番号160、配列番号161、配列番号162、配列番号163、配列番号164、配列番号165、配列番号166、配列番号167、配列番号168、配列番号168、配列番号170、配列番号171、配列番号172、配列番号173、配列番号174、配列番号175、配列番号176、配列番号177、配列番号178、配列番号179、配列番号180、配列番号181、配列番号182、配列番号183、配列番号184、配列番号185、配列番号186、配列番号187、配列番号189、配列番号194、配列番号195、配列番号196および配列番号197からなる群から選択される配列またはそれらの断片である。

10

【0189】

いくつかの態様において、断片は、連続ヌクレオチド配列の少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個または少なくとも17個の連続するヌクレオチド、好ましくはその少なくとも10個の連続するヌクレオチドであり得る。

【0190】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号118、配列番号120、配列番号121、配列番号122、配列番号123、配列番号124、配列番号125、配列番号130、配列番号131、配列番号138、配列番号139、配列番号140、配列番号144、配列番号145、配列番号147、配列番号164からなる群から選択される配列またはそれらの断片である。

20

【0191】

いくつかの態様において、断片は、連続ヌクレオチド配列の少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個または少なくとも17個の連続するヌクレオチド、好ましくはその少なくとも10個の連続するヌクレオチドであり得る。

【0192】

いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号118、配列番号120、配列番号121、配列番号122、配列番号123、配列番号124、配列番号125および配列番号139からなる群から選択される配列またはそれらの断片である。

30

【0193】

いくつかの態様において、断片は、連続ヌクレオチド配列の少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個または少なくとも17個の連続するヌクレオチド、好ましくはその少なくとも10個の連続するヌクレオチドであり得る。

【0194】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号118またはその断片を含む。

40

【0195】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号118またはその断片からなる。

【0196】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号120またはその断片を含む。

【0197】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号120またはその断片からなる。

【0198】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号121またはその断片を含む。

【0199】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号121またはその断片からなる。

50

【0200】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号122またはその断片を含む。

【0201】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号122またはその断片からなる。

【0202】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号123またはその断片を含む。

【0203】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号123またはその断片からなる。

【0204】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号124またはその断片を含む。

10

【0205】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号124またはその断片からなる。

【0206】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号125またはその断片を含む。

【0207】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号125またはその断片からなる。

【0208】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号130またはその断片を含む。

【0209】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号130またはその断片からなる。

20

【0210】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号131またはその断片を含む。

【0211】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号131またはその断片からなる。

【0212】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号138またはその断片を含む。

【0213】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号138またはその断片からなる。

【0214】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号139またはその断片を含む。

30

【0215】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号139またはその断片からなる。

【0216】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号140またはその断片を含む。

【0217】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号140またはその断片からなる。

【0218】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号144またはその断片を含む。

【0219】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号144またはその断片からなる。

40

【0220】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号145またはその断片を含む。

【0221】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号145またはその断片からなる。

【0222】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号147またはその断片を含む。

【0223】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号147またはその断片からなる。

【0224】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号164またはその断片を含む。

50

【0225】

一態様において、連続ヌクレオチド配列は、配列番号164またはその断片からなる。

【0226】

いくつかの態様において、断片は、連続ヌクレオチド配列の少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個または少なくとも17個の連続するヌクレオチド、好ましくはその少なくとも10個の連続するヌクレオチドであり得る。

【0227】

ヌクレオチドおよびヌクレオシド

ヌクレオチドおよびヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチドの構成単位であり、本発明においては、天然に存在するヌクレオチドおよびヌクレオシドと、天然に存在しないヌクレオチドおよびヌクレオシドとの両方を含む。本来、DNAおよびRNAヌクレオチドなどのヌクレオチドは、リボース糖部分、核酸塩基部分および1つまたは複数のリン酸基（ヌクレオシド中には存在しない）を含む。ヌクレオシドおよびヌクレオチドはまた、「単位」または「モノマー」と互換的に称され得る。

【0228】

修飾ヌクレオシド

本明細書で使用される場合、「修飾ヌクレオシド」または「ヌクレオシド修飾」という用語は、糖部分または（核酸）塩基部分の1つまたは複数の修飾の導入によって、同等のDNAまたはRNAヌクレオシドと比較して修飾されたヌクレオシドを指す。

【0229】

有利には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、1つまたは複数の修飾ヌクレオシドを含み得る。

【0230】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列（モチーフ配列）は、例えばヌクレアーゼ耐性および／または標的核酸に対する結合親和性を増大させるために修飾され得る。有利には、高親和性修飾ヌクレオシドが使用される。

【0231】

有利には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの修飾ヌクレオシドの1つまたは複数の修飾された糖部分を含み得る。修飾ヌクレオシドという用語はまた、本明細書においては、「ヌクレオシド類縁体」または修飾「単位」または修飾「モノマー」という用語と互換的に使用され得る。非修飾DNAまたはRNA糖部分を有するヌクレオシドは、本明細書ではDNAまたはRNAヌクレオシドと称される。DNAまたはRNAヌクレオシドの塩基領域に修飾を有するヌクレオシドは、それらがワトソン・クリック塩基対合可能な場合には、依然として一般的にDNAまたはRNAと称される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターにおいて使用され得る例示的な修飾ヌクレオシドとしては、LNA、2'-O-MOE、2'-OMeおよびモルホリノヌクレオシド類縁体が挙げられる。

【0232】

修飾されたヌクレオシド間結合

有利には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、1つまたは複数の修飾されたヌクレオシド間結合を含む。

【0233】

「修飾されたヌクレオシド間結合」という用語は、2つのヌクレオシドを互いに共有結合する、ホスホジエステル（PO）結合以外の結合として当業者に一般的に理解されるように定義される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、したがって、1つまたは複数の修飾されたヌクレオシド間結合、例えば、1つまたは複数のホスホロチオアートヌクレオシド間結合を含み得る。

【0234】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列中のヌクレオシド間結合の少なくとも50%、例えば少なくとも60%、例えば少なくとも70%、例えば少なくとも75%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%またはそれより多くがホスホロチオアートである。いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列のヌクレオシド間結合の全てが、ホスホロチオアートである。

【0235】

さらなる態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたはその連続ヌクレオチド配列は、少なくとも1つの修飾されたヌクレオシド間結合を含む。連続ヌクレオチド配列内のヌクレオシド間結合の少なくとも75%、例えば全てがホスホロチオアートまたはボラノホスファートヌクレオシド間結合であれば有利である。

10

【0236】

有利には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの連続ヌクレオチド配列の全てのヌクレオシド間結合がホスホロチオアートであり得るか、または本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの全てのヌクレオシド間結合がホスホロチオアート結合であり得る。

【0237】

20

核酸塩基

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

30

【0238】

いくつかの態様において、核酸塩基部分は、プリンまたはピリミジンを修飾プリンまたはピリミジン、例えば置換プリンまたは置換ピリミジン、例えばイソシトシン、シュードイソシトシン、5-メチルシトシン、5-チオゾロ-シトシン、5-プロピニル-シトシン、5-プロピニル-ウラシル、5-プロモウラシル5-チアゾロ-ウラシル、2-チオ-ウラシル、2'-チオ-チミン、イノシン、ジアミノプリン、6-アミノプリン、2-アミノプリン、2, 6-ジアミノプリンおよび2-クロロ-6-アミノプリンから選択される核酸塩基に変えることにより修飾される。

40

【0239】

核酸塩基部分は、対応する各核酸塩基についての文字コード、例えば、A、T、G、CまたはUにより示されてもよく、各文字は、任意に等価な機能の修飾核酸塩基を含んでもよい。例えば、例示したオリゴヌクレオチドにおいて、核酸塩基部分は、A、T、G、Cおよび5-メチルシトシンから選択される。

【0240】

修飾オリゴヌクレオチド

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、修飾オリゴヌクレオチドであり得る。

50

【0241】

「修飾オリゴヌクレオチド」という用語は、1つもしくは複数の糖修飾ヌクレオシドおよび／または修飾されたヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドを記載する。「キメラオリゴヌクレオチド」という用語は、糖修飾ヌクレオシドおよびDNAヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを記述するために文献で使用されている用語である。いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターがキメラオリゴヌクレオチドであることまたはキメラオリゴヌクレオチドを含むことが好都合であり得る。

【0242】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターまたはその連続ヌクレオチド配列は、塩基対合において示された核酸塩基として機能する修飾核酸塩基を含んでもよく、例えば、メチルシトシンの代わりに5-メチルシトシンが使用され得る。イノシンは、ユニバーサル塩基として使用され得る。

【0243】

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

【0244】

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

【0245】

一態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、少なくとも1個の修飾ヌクレオシド、例えば少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個または少なくとも19個の修飾ヌクレオシドを含む。

【0246】

適切な修飾は、「修飾ヌクレオシド」、「高親和性修飾ヌクレオシド」、「糖修飾」、「2'糖修飾」および「ロックド核酸（LNA）」という見出しの下で本明細書に記載されている。

【0247】

高親和性修飾ヌクレオシド

高親和性修飾ヌクレオシドは、オリゴヌクレオチド中に組み込まれた場合に、例えば、融解温度（ T_m ）によって測定された、その相補的標的に対するオリゴヌクレオチドの親和性を高める修飾ヌクレオシドである。本発明の高親和性修飾ヌクレオシドは、好ましくは、修飾ヌクレオシドあたり $+0.5 \sim +12^\circ\text{C}$ 、より好ましくは $+1.5 \sim +10^\circ\text{C}$ 、最も好ましくは $+3 \sim +8^\circ\text{C}$ の融解温度の上昇をもたらす。数多くの高親和性修飾ヌクレオシドが当技術分野において公知であり、例えば、多くの2'置換ヌクレオシドおよびロックド核酸（LNA）が挙げられる（例えば、Freier & Altman; Nucleic Acid Res., 1997, 25, 4429-4443およびUhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 203-213を参照されたい）。

【0248】

糖修飾

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、修飾糖部分、すなわち、DNAおよびRNAに見出されるリボース糖部分と比較した場合に糖部分の修飾を有する1つまたは複数のヌクレオシドを含み得る。

【0249】

リボース糖部分の修飾を有する数多くのヌクレオシドが、親和性および／またはヌクレアーゼ耐性などのオリゴヌクレオチドのある特定の性質を改善することを主な目的として

10

20

30

40

50

作製されてきた。

【0250】

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

10

【0251】

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

【0252】

2'糖修飾ヌクレオシド

2'糖修飾ヌクレオシドは、2'位にHもしくは-OH以外の置換基を有するヌクレオシド（2'置換ヌクレオシド）、またはLNA（2'-4'バイラジカル（biradicle）架橋された）ヌクレオシドなどの、リボース環の2'炭素と第2の炭素との間に架橋を形成することができる2'結合バイラジカル（biradicle）を含むヌクレオシドである。

20

【0253】

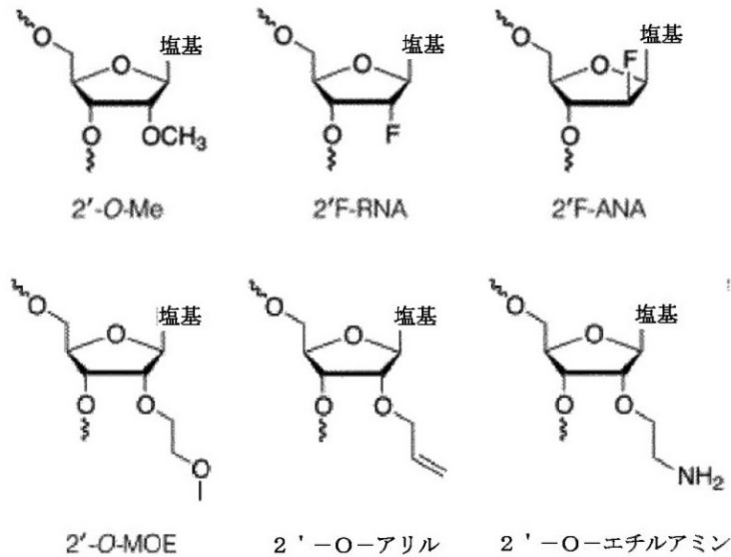
実際、2'糖置換ヌクレオシドの開発には多くの注目が集まっており、数多くの2'置換ヌクレオシドが、オリゴヌクレオチドに組み込まれた際に有益な特性を有することが見出されている。例えば、2'修飾された糖は、結合親和性の向上および／またはヌクレアーゼ耐性の増大をオリゴヌクレオチドに付与し得る。2'置換修飾ヌクレオシドの例は、2'-O-アルキル-RNA、2'-O-メチル-RNA（2' oMe）、2'-アルコキシ-RNA、2'-O-メトキシエチル-RNA（MOE）、2'-アミノ-DNA、2'-フルオロ-RNAおよび2'-F-ANAヌクレオシドである。さらなる例については、例えば、Freier & Altman; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443およびUhlmann; Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3(2), 203-213およびDeleavy and Damha, Chemistry and Biology 2012, 19, 937を参照されたい。以下は、いくつかの2'置換修飾ヌクレオシドの例示である。

30

40

50

【化 1】



10

【0254】

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

20

【0255】

一態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、1つまたは複数の糖修飾ヌクレオシド、例えば2'糖修飾ヌクレオシドを含み得る。好ましくは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、2'-O-アルキル-RNA、2'-O-メチル-RNA (2'-OMe)、2'-アルコキシ-RNA、2'-O-メトキシエチル-RNA (2'-MOE)、2'-アミノ-DNA、2'-フルオロ-DNA、アラビノ核酸 (ANA)、2'-フルオロ-ANAおよびLNAヌクレオシドからなる群から独立して選択される1つまたは複数の2'糖修飾ヌクレオシドを含む。修飾ヌクレオシドの1つまたは複数がロックド核酸 (LNA) であれば、有利である。

30

【0256】

ロックド核酸ヌクレオシド (LNAヌクレオシド)

「LNAヌクレオシド」は、リボース環の立体構造を制限または固定する、前記ヌクレオシドのリボース糖環のC2'とC4'とを結合するバイラジカル (「2'-4'架橋」とも称される) を含む2'修飾ヌクレオシドである。これらのヌクレオシドはまた、文献において、架橋核酸または二環式核酸 (BNA) とも称されている。リボースの立体構造の固定は、LNAが相補的RNAまたはDNA分子に対するオリゴヌクレオチド中に組み込まれている場合の、ハイブリダイゼーションの親和性の向上 (二重鎖の安定化) に関連している。これは、オリゴヌクレオチド/相補二重鎖の融解温度を測定することによって、日常的に決定され得る。

40

【0257】

非限定的な、例示的なLNAヌクレオシドは、国際公開第99/014226号、国際公開第00/66604号、国際公開第98/039352号、国際公開第2004/046160号、国際公開第00/047599号、国際公開第2007/134181号、国際公開第2010/077578号、国際公開第2010/036698号、国際公開第2007/090071号、国際公開第2009/006478号、国際公開第2011/156202号、国際公開第2008/154401号、国際公開第2009/067647号、国際公開第2008/150729号、Morita et al., Bioorganic & Med. Chem. Lett. 12, 73-76、Seth et al. J. Org. Chem. 2010, Vol 75 (5) pp. 1569-81および

50

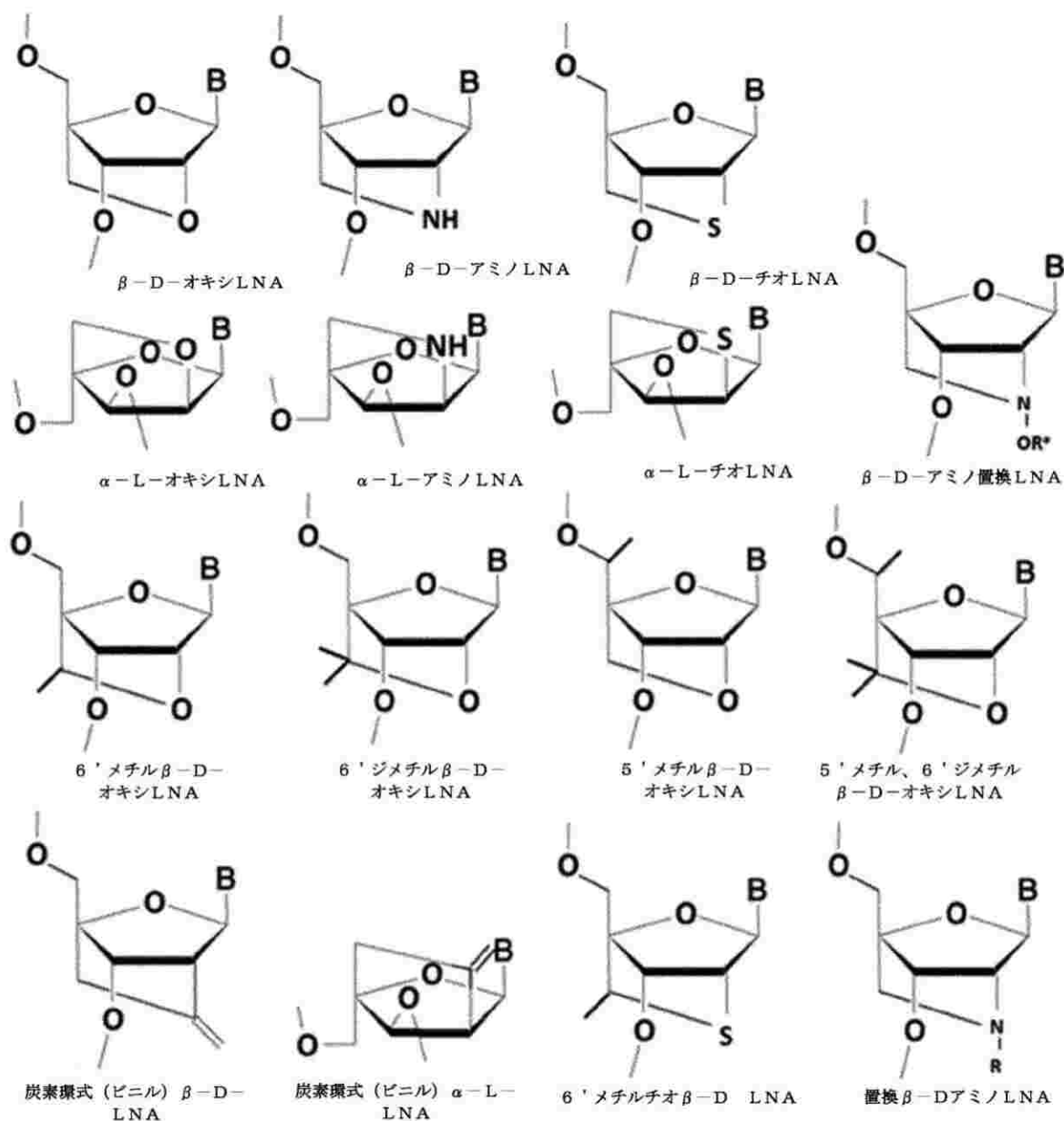
びMitsuoka et al., Nucleic Acids Research 2009, 37 (4), 1225-1238、およびWan and Seth, J. Medical Chemistry 2016, 59, 9645-9667に開示されている。

【0258】

さらなる非限定的な例示的LNAヌクレオシドを、スキーム1に開示する。

スキーム1：

【化2】



【0259】

特定のLNAヌクレオシドは、ベータ-D-オキシ-LNA、6'-メチル-ベータ-D-オキシLNA、例えば(S)-6'-メチル-ベータ-D-オキシ-LNA (ScET) およびENAである。

【0260】

特に有利なLNAは、ベータ-D-オキシ-LNAである。

【0261】

モルホリノオリゴヌクレオチド

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュ

10

20

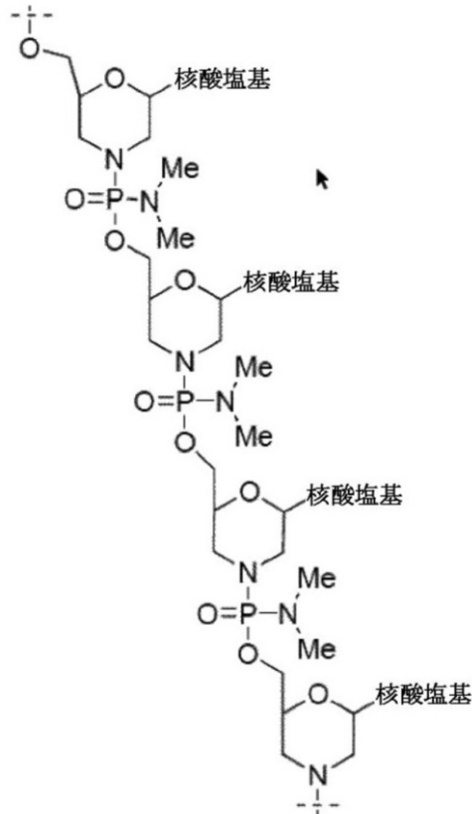
30

40

50

レーターは、モルホリノヌクレオシドを含むか、またはモルホリノヌクレオシドからなる（すなわち、モルホリノオリゴマーおよびホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー（PMO）である）。スプライス調節モルホリノオリゴヌクレオチドは、臨床使用が承認されており、例えば、デュシェンヌ型筋ジストロフィーを処置するために使用される、DM Dにおけるフレームシフト変異を標的とする30ヌクレオチドのモルホリノオリゴヌクレオチドである、エテプリルセンを参照のこと。モルホリノオリゴヌクレオチドは、例えば、4つの連続するモルホリノヌクレオチドの以下の図解に示されるように、ホスホロジアミダート基を介して連結されたメチレンモルホリン環など、リボースではなく6員のモルホリン環に結合したヌクレアーゼ（nucleases）を有する。

【化3】



【0262】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスモジュレーターは、例えば8～40ヌクレオチド長のモルホリノ、例えば16～20ヌクレオチド長、例えば18～20ヌクレオチド長のモルホリノであり得る。

【0263】

RNase Hの活性および動員

アンチセンスオリゴヌクレオチドのRNase H活性とは、相補的RNA分子との二重鎖にあるときにRNase Hを動員するその能力を指す。国際公開第01/23613号は、RNase Hを動員する能力を決定するために使用され得る、RNase H活性を決定するためのインビトロ方法を提供す。典型的には、相補的な標的核酸配列が提供されたときに、 $pmol/l/分$ で測定して、オリゴヌクレオチドが、試験されている修飾オリゴヌクレオチドと同じ塩基配列を有するが、DNAモノマーのみを含有し、オリゴヌクレオチド中の全てのモノマー間にホスホロチオアート結合を有するオリゴヌクレオチドを使用し、および国際公開第01/23613号（参照により本明細書に組み入れられる）の実施例91～95により提供される方法論を使用したときに決定された初速度の少なくとも5%、例えば少なくとも10%、少なくとも20%または20%超の初速度を有する場合に、オリゴヌクレオチドは、RNase Hを動員することができるとみなされる。R

【 0 2 6 4 】

10

20

30

40

50

【0269】

あるいは、ミックスマーは、MLMLMLMLMLMLMLMLMLなどの修飾ヌクレオシドの混合物を含んでいてもよく、L=LNAおよびM=2'-O-MOEヌクレオシドである。

【0270】

有利には、ミックスマーおよびトータルマー中のヌクレオシド間ヌクレオシドはホスホロチオアートであってもよく、またはミックスマー中のヌクレオシド結合の大部分はホスホロチオアートであってもよい。

【0271】

ミックスマーおよびトータルマーは、例として、ホスホジエステルまたはホスホロジチオアートなどの他のヌクレオシド間結合を含み得る。 10

【0272】

いくつかの態様において、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターは、オリゴヌクレオチドミックスマーもしくはトータルマーであるか、またはオリゴヌクレオチドミックスマーもしくはトータルマーを含む。いくつかの態様において、連続ヌクレオチド配列は、ミックスマーまたはトータルマーである。

【0273】

オリゴヌクレオチドにおける領域D'またはD''

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターは、いくつかの態様において、標的核酸に相補的なオリゴヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列、例えばミックスマーまたはトータルマー領域と、さらなる5'および/または3'ヌクレオシドとを含み得る。さらなる5'および/または3'ヌクレオシドは、標的核酸に相補的、例えば完全に相補的であってもよく、または相補的、例えば完全に相補的でなくてもよい。このよう 20
なさらなる5'および/または3'ヌクレオシドは、本明細書では領域D'およびD''と称され得る。

【0274】

領域D'またはD''の付加は、連続ヌクレオチド配列、例えばミックスマーまたはトータルマーをコンジュゲート部分または別の官能基に連結する目的のために使用され得る。連結のために用いられる場合、コンジュゲート部分を有する連続ヌクレオチド配列は、生体切断可能なリンカーとしての役割を果たし得る。あるいは、コンジュゲート部分を有する 30
連続ヌクレオチド配列はエキソヌクレアーゼ(exonuclease)保護を提供するために、または合成もしくは製造を容易にするために使用され得る。

【0275】

領域D'またはD''は、独立して、1、2、3、4もしくは5個の追加のヌクレオチドを含むか、または1、2、3、4もしくは5個の追加のヌクレオチドからなり得、1、2、3、4または5個の追加のヌクレオチドは標的核酸に相補的であってもよく、または相補的でなくてもよい。FまたはF'領域に隣接するヌクレオチドは、DNAもしくはRNAまたはこれらの塩基修飾バージョンなどの、糖修飾ヌクレオチドではない。D'またはD'領域は、ヌクレアーゼ感受性の生体切断可能なリンカーとしての役割を果たし得る(リンカーの定義を参照されたい)。いくつかの態様において、追加の5'および/または3'末端 40
ヌクレオチドは、ホスホジエステル結合で結合されており、DNAまたはRNAである。領域D'またはD''としての使用に好適なヌクレオチドベースの生体切断可能なリンカーは、国際公開第2014/076195号に開示されており、これには例としてホスホジエステル結合されたDNAジヌクレオチドが含まれる。ポリオリゴヌクレオチド構築物における生体切断可能なリンカーの使用は国際公開第WO2015/113922号に開示されており、それらは単一のオリゴヌクレオチド内で複数のアンチセンス構築物を結合するために使用されている。

【0276】

一態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターは、ミックスマーまたはトータルマーを構成し得る連続ヌクレオチド配列に加えて、領域 50

D'および／またはD''を含み得る。

【0277】

いくつかの態様において、領域D'またはD''とミックスマーまたはトータルマー領域との間に位置するヌクレオチド間結合は、ホスホジエステル結合であり得る。

【0278】

コンジュゲート

本発明は、少なくとも1つのコンジュゲート部分に共有結合したアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターを包含する。いくつかの態様において、これは本発明のコンジュゲートと称され得る。

【0279】

いくつかの態様において、本発明は、少なくとも1つのコンジュゲート部分に共有結合したアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターを提供する。

【0280】

本明細書で使用される「コンジュゲート」という用語は、非ヌクレオチド部分（コンジュゲート部分または領域Cまたは第3の領域）に共有結合されているアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターを指す。コンジュゲート部分は、任意に領域D'またはD''などのリンカー基を介して、アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターに共有結合していてもよい。

【0281】

オリゴヌクレオチドコンジュゲートおよびそれらの合成は、Manoharan in Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications, S. T. Crooke, ed., Ch. 16, Marcel Dekker, Inc., 2001およびManoharan, Antisense and Nucleic Acid Drug Development, 2002, 12, 103による包括的な概説にも報告されている。

【0282】

いくつかの態様において、非ヌクレオチド部分（コンジュゲート部分）は、炭水化物（例えば、GalNAc）、細胞表面受容体リガンド、原薬、ホルモン、親油性物質、ポリマー、タンパク質、ペプチド、毒素（例えば、細菌毒素）、ビタミン、ウイルスタンパク質（例えば、カプシド）またはこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0283】

リンカー

結合またはリンカーは、1つまたは複数の共有結合を介して関心対象の1つの化学基またはセグメントを関心対象の別の化学基またはセグメントに連結する、2つの原子間の接続である。コンジュゲート部分は、直接または連結部分（例えば、リンカーまたはテザー）を介してアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターに付着させることができる。リンカーは、第3の領域、例えばコンジュゲート部分（領域C）を、第1の領域、例えば、標的核酸に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターまたは連続ヌクレオチド配列（領域A）に共有結合する役割を果たす。

【0284】

本発明のいくつかの態様において、本発明のコンジュゲートまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューレーターは、任意に、標的核酸に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジューターまたは連続ヌクレオチド配列（領域Aまたは第1の領域）と、コンジュゲート部分（領域Cまたは第3の領域）との間に位置するリンカー領域（第2の領域もしくは領域Bおよび／または領域Y）を含み得る。

【0285】

領域Bは、哺乳動物の体内で通常遭遇するまたは遭遇するものに類似した条件下で切断可能である生理学的に不安定な結合を含むか、またはそれからなる生体切断可能なリンカーを指す。生理学的に不安定なリンカーが化学的変換（例えば、切断）を受ける条件には、pH、温度、酸化条件もしくは還元条件または酸化剤もしくは還元剤などの化学条件、

10

20

30

40

50

ならびに哺乳動物の細胞で見られるまたは遭遇するものに類似した塩濃度が含まれる。哺乳動物の細胞内条件には、タンパク質分解酵素または加水分解酵素またはヌクレアーゼなどの哺乳動物細胞に通常存在する酵素活性の存在も含まれる。一態様において、生体切断可能なリンカーは、S1ヌクレアーゼ切断の影響を受けやすい。いくつかの態様において、ヌクレアーゼ感受性リンカーは、少なくとも2つの連続するホスホジエステル結合を含むDNAヌクレオシドなどの1～5個のヌクレオシドを含む。ホスホジエステルを含有する生体切断可能なリンカーは、国際公開第2014/076195号により詳細に記載されている。

【0286】

領域Yは、必ずしも生体切断可能ではないが、主にコンジュゲート部分（領域Cまたは第3の領域）をオリゴヌクレオチド（領域Aまたは第1の領域）に共有結合させる役割を果たすリンカーを指す。領域Yリンカーは、エチレングリコール、アミノ酸単位またはアミノアルキル基などの反復単位の鎖構造またはオリゴマーを含み得る。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターコンジュゲートは、以下の領域要素A-C、A-B-C、A-B-Y-C、A-Y-B-CまたはA-Y-Cから構築され得る。いくつかの態様において、リンカー（領域Y）は、例えばC6～C12アミノアルキル基を含むC2～C36アミノアルキル基などのアミノアルキルである。いくつかの態様において、リンカー（領域Y）は、C6アミノアルキル基である。

【0287】

塩

本明細書で使用される「塩」という用語は、その一般的に知られている意味、すなわちアニオンおよびカチオンのイオン集合（ionic assembly）に合致する。

【0288】

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、薬学的に許容され得る塩の形態であり得る。言い換えると、本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの薬学的に許容され得る塩を提供する。

【0289】

いくつかの態様において、薬学的に許容され得る塩は、ナトリウム塩またはカリウム塩であり得る。

【0290】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの薬学的に許容され得るナトリウム塩を提供する。

【0291】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの薬学的に許容され得るナトリウム塩を提供する。

【0292】

アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの送達

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターであって、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、脂質ベースの送達ビヒクルに被包されているか、デンドリマーに共有結合しているか、もしくはデンドリマーに被包されているか、またはアプタマーにコンジュゲートされている、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを提供する。

【0293】

これは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを標的とされる細胞に送達すること、および／またはアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの薬物動態を改善することを目的とし得る。

【0294】

脂質ベースの送達ビヒクルの例としては、水中油型エマルジョン、ミセル、リポソームおよび脂質ナノ粒子が挙げられる。

【0295】

薬学的組成物

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターと、薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩および／または補助剤とを含む、薬学的組成物を提供する。

【0296】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターと、薬学的に許容され得る塩とを含む、薬学的組成物を提供する。

【0297】

例えば、塩は、ナトリウム塩またはカリウム塩などの金属カチオンを含み得る。

10

【0298】

本発明は、本発明の薬学的組成物であって、前記薬学的組成物は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターと、水性希釈剤または溶媒とを含む、本発明の薬学的組成物を提供する。

【0299】

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターのリン酸緩衝生理食塩水溶液などの溶液を提供する。いくつかの態様において、本発明のリン酸緩衝生理食塩水溶液などの溶液は無菌溶液である。

【0300】

A C T L 6 B 発現を増加させるための方法

20

本発明は、A C T L 6 B を発現している細胞などの細胞において野生型 A C T L 6 B の発現を増強、上方制御または回復させるための方法であって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物を有効量で前記細胞に投与することを含む、方法を提供する。

【0301】

いくつかの態様において、方法は、インビトロ法である。

【0302】

いくつかの態様において、方法は、インビボ法である。

【0303】

いくつかの態様において、細胞は動物細胞、好ましくはマウス細胞、ラット細胞、ハムスター細胞もしくはサル細胞または好ましくはヒト細胞などの哺乳動物細胞である。

30

【0304】

いくつかの態様において、細胞は、哺乳動物細胞である。

【0305】

いくつかの態様において、細胞はヒト細胞である。

【0306】

いくつかの態様において、細胞は、野生型 A C T L 6 B の低下した発現に関連する疾患に罹患しているかまたは罹患しやすい対象の一部であるか、またはそれに由来する。このような疾患には、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭葉変性症（F T L D）、進行性核上性麻痺（P S P）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症 3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0307】

処置

本明細書で使用される「処置」という用語は、既存の疾患（例えば、本明細書で言及される疾患または障害）の処置、または疾患の予防（p r e v e n t i o n）、すなわち予防（p r o p h y l a x i s）の両方を指す。したがって、本明細書で言及される処置は、いくつかの態様において、予防的であり得ることが認識されよう。

【0308】

50

本発明は、治療有効量または予防有効量の、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物を、疾患に罹患しているか、または疾患に罹患しやすい対象に投与することを含む、疾患を処置または予防するための方法を提供する。

【0309】

疾患は、野生型 A C T L 6 B の低下した発現に関連し得る。

【0310】

いくつかの態様において、本発明は、治療有効量または予防有効量の、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物を、野生型 A C T L 6 B の低下した発現に関連する疾患に罹患しているか、または罹患しやすい対象に投与することを含む、野生型 A C T L 6 B の低下した発現に関連する疾患を処置または予防するための方法を提供する。

【0311】

一態様において、疾患は神経障害である。

【0312】

一態様において、疾患は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭葉変性症（F T L D）、進行性核上性麻痺（P S P）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症 3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される。

【0313】

いくつかの態様において、対象は、動物、好ましくはマウス、ラット、ハムスターまたはサルまたはヒトなどの哺乳動物である。

【0314】

いくつかの態様において、対象はヒトである。

【0315】

本発明は、医薬としての使用のための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを提供する。

【0316】

本発明は、医薬の調製のための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを提供する。

【0317】

本発明は、治療における使用のための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを提供する。

【0318】

本発明は、医薬としての使用のための、本発明の薬学的組成物を提供する。

【0319】

本発明は、医薬の調製のための、本発明の薬学的組成物を提供する。

【0320】

本発明は、治療における使用のための、本発明の薬学的組成物を提供する。

【0321】

本発明は、神経障害の処置における医薬としての使用のための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを提供する。

【0322】

本発明は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭葉変性症（F T L D）、進行性核上性麻痺（P S P）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症 3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される疾患の処置における医薬としての使用のための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターを提供する。

【0323】

本発明は、神経障害の処置または予防のための医薬の調製のための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの使用を提供する。

【0324】

本発明は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD）、進行性核上性麻痺（PSP）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される疾患の処置または予防のための医薬の調製のための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターの使用を提供する。

10

【0325】

本発明は、神経障害の処置において医薬としての使用のための本発明の薬学的組成物を提供する。

【0326】

本発明は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD）、進行性核上性麻痺（PSP）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される疾患の処置における医薬としての使用のための、本発明の薬学的組成物を提供する。

【0327】

本発明は、神経障害の処置または予防のための医薬の調製のための、本発明の薬学的組成物の使用を提供する。

20

【0328】

本発明は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD）、進行性核上性麻痺（PSP）、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、アルツハイマー病、パーキンソン病、自閉症、海馬硬化性認知症、ダウン症候群、ハンチントン病、ポリグルタミン病、例えば脊髄小脳失調症3、ミオパシーおよび慢性外傷性脳症からなる群から選択される疾患の処置または予防のための医薬の調製のための、本発明の薬学的組成物の使用を提供する。

【0329】

投与

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物は、局所的（皮膚、吸入、眼または耳など）または経腸的（経口的にまたは消化管を通してなど）または非経口的（静脈内、皮下、筋肉内、脳内、脳室内または髄腔内など）に投与され得る。

30

【0330】

好ましい態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉内注射または注入、髄腔内または頭蓋内、例えば脳内または脳室内投与を含む非経口経路によって投与される。一態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、脳内または脳室内に投与される。別の態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターは、髄腔内に投与される。

40

【0331】

本発明は、髄腔内投与のための剤形である医薬の調製のための、記載した本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物の使用も提供する。

【0332】

本発明は、脳内または脳室内（intraventricular）投与のための剤形である医薬の調製のための、記載した本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物の使用も提供する。

50

【0333】

本発明は、脳室内 (intracerebroventricular) 投与のための剤形である医薬の調製のための、記載した本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物の使用も提供する。

【0334】

併用療法

いくつかの態様において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドスプライスマジュレーターまたは本発明の薬学的組成物は、1つまたは複数の他の治療剤との併用処置における使用のためのものである。

【実施例】

【0335】

実施例1：TDP43 mRNA スプライス調節の新規標的としてのACTL6Bの同定。

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

【0336】

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

【0337】

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

【0338】

TDP43をノックダウンするために、化合物A (配列番号198) を0日目に5μMで培養培地に添加し、他のウェルでは、対照として、代わりにPBSを添加した。実験全体の間、細胞培養培地の半分を週に3回交換した (2、5、7、10、12、14および17日目)。MagnaPure溶解緩衝液 (Roche) を使用して細胞を20日目に回収し、DNase処理工程を含み製造業者の指示に従ってRNAをMagnaPure 96システム (Roche) で単離した。KAPA mRNA HyperPrep Kit Illumina (登録商標) Platforms (Roche) を使用して、100ngの総RNAからNGSライブラリーを調製した。ライブラリーを、150bpのリード長でNovaSeq6000シーケンサー (Illumina) においてペアードエンドシーケンシングに供した。データ分析は、CLC Genomics Workbench 21を使用して行った。hg38ゲノムアセンブリを使用して巨大なギャップマッピング分析を行うことによって、まずデータを分析し、続いて転写物を発見した。予測された新規スプライス事象を手作業での目視検査によって調査して、実際のスプライス事象を同定した。

【0339】

TDP43の喪失に際して、新しい69塩基対のエクソンがACTL6Bに包含されることが発見された。新しいエクソンの最初の塩基および最後の塩基は、ACTL6Bがマイナスの向きに配置されたhg38ヒト遺伝子アノテーションによれば、100,650,643および100,650,575である。

【0340】

図1は、ACTL6B遺伝子からのNGSリードマッピングを見ることができるCLC

10

20

30

40

50

Genomics Workbenchソフトウェアからのスクリーンショットを示す。化合物 A（配列番号 198）で処理された試料中に新しいエクソンが包含されることが、矢印で示されている。この試料中の全 mRNA の約 99% がこのエクソンを含有する。非処理試料については、このエクソンの包含は、リードの 0.5% 未満で見られた。

【0341】

実施例 2：ASO を使用した、TDP43 の欠如によって引き起こされる誤った ACTL6B mRNA スプライシングの救済。

本実施例において、本発明者らは、TDP43 の標的である ACTL6B に対して適切なスプライシングを誘導する ASO の能力を示す。ヒトグルタミン酸作動性ニューロン（Fujifilms）を、10,000 個の生きた星状膠細胞（Fujifilms）と一緒に、200 μ l の培養培地中、ラミニンおよびポリ（エチレンイミン）溶液（Sigma Aldrich）でコーティングした 96 ウェルプレート中に、60,000 生細胞で播種した（-1 日目）。TDP-43 をノックダウンするために、化合物 A（配列番号 198）を 0 日目に 5 μ M で培養培地に添加した（プレート当たり 4 つの対照ウェルを除く）。実験全体の間、細胞培養培地の半分を週に 3 回交換した（2、5、7、9、12、14、16 および 19 日目）。隠れた ACTL6B エクソンを標的とする ASO を 5 日目に 10 μ M で培養培地に添加した。合計 96 個の異なる ASO を添加した（配列番号 98～189 および 194～197）。プレート当たり少なくとも 12 個のウェルに、ベースライン基準としての役割を果たすために化合物 A（配列番号 198）のみを入れた。実験は、2 連で行った。合計で 4 つの 96 ウェルプレートを用いた。

【0342】

Magnapure 溶解緩衝液（Roche）を使用して細胞を 20 日目に回収し、DNase 処理工程を含み製造業者の指示に従って RNA を MagNA pure 96 システム（Roche）で単離した。cDNA 合成の前に、精製 RNA を 90 で 30 秒変性させた。RT-qPCR 用の iScript Advanced cDNA Synthesis キット（BioRad）を製造者の説明書に従って使用して cDNA を作製した。

【0343】

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

【0344】

2 つの重複実験からの発現値を表 1 に示す。

（Integrated DNA technologies（IDT））で合成された以下の PCR プローブアッセイを使用した：

TARDBP

プライマー 1：CAGCTCATCCTCAGTCATGTC、

プライマー 2：GATGGTGTGACTGCAAACTTC、

プローブ：／5Cy5／CAGCGCCCCACAAACACTTTTCT／3IAB RQSp／）

ACTL6B wt（ex4～ex5）：

プライマー 1：TCTGAGCCAAACCTGCAC、

プライマー 2：ATCAGCTCTGTCTCAGCTTCTCC、

プローブ：／5HEX／CGAGGCTCC／ZEN／GTGGAACACACG／3IABkFQ／）

【0345】

以下の CY5.5 標識 HPRT1 プローブを BioRad から購入した：dHsaCPE13136107。

表 1：オリゴヌクレオチドへの曝露後の TDP43 および ACTL6B WT の産生
表 2 に示されるデータを、ハウスキーピング遺伝子 HPRT1 の発現に対して正規化し、最後に、TDP43 ノックダウンまたは CA リピート ASO を受けなかった対照ウェル (PBS) の平均発現値に対して正規化した。与えられた条件の全てに対する平均発現が最後の列に示されている。KD (「ノックダウン」は、TDP43 mRNA を分解するギャップマー ASO による処理のみを受けたウェルを記載する)

【表 1 - 1】

オリゴ配列 番号	プレート A	プレート B	プレート A	プレート B	平均 ACTL6B WT 値
	TDP43	TDP43	ACTL6B WT	ACTL6B WT	
PBS	108.4	97.4	117.2	65.3	
PBS	110.3	99.1	95.7	74.3	

10

20

30

40

50

【表 1－2】

PBS	101.2	105.5	122.6	127.8	
PBS	80.1	98.0	64.4	132.6	
PBS	101.8	94.9	111.8	81.7	
PBS	82.4	83.7	75.3	115.4	
PBS	100.6	106.6	106.4	63.2	
PBS	115.2	114.8	106.5	139.7	100
KD	4.0	5.5	1.6	0.0	
KD	5.7	5.9	0.4	0.6	
KD	5.1	6.3	1.2	0.6	
KD	5.7	8.4	1.9	0.0	
KD	4.0	6.7	1.9	0.8	
KD	5.5	4.4	2.1	0.9	
KD	6.0	4.6	0.9	1.5	
KD	7.4	5.6	1.1	1.7	
KD	5.4	5.3	2.3	1.4	
KD	5.4	9.0	1.4	1.3	
KD	6.9	5.8	0.4	1.1	
KD	4.5	5.3	2.3	0.6	
KD	4.9	3.1	0.8	1.9	
KD	5.8	5.2	1.6	0.0	
KD	5.8	5.0	0.0	0.5	
KD	5.4	7.3	0.9	0.5	
KD	5.3	7.7	1.6	0.0	
KD	6.0	6.2	0.8	1.9	
KD	6.7	4.3	0.0	1.0	
KD	3.8	4.0	0.3	0.0	
KD	5.7	3.4	0.4	0.0	
KD	5.9	4.0	0.8	0.0	
KD	2.2	6.9	0.6	0.8	
KD	5.7	5.4	0.0	1.0	
KD	4.9	4.4	1.0	0.4	
KD	4.9	6.2	1.2	0.6	
KD	5.0	6.2	1.2	0.5	
KD	6.7	4.5	0.6	2.0	
KD	8.0	4.9	1.0	1.4	
KD	5.0	4.7	0.7	0.4	
KD	5.2	4.8	1.2	0.0	
KD	4.6	2.8	1.3	0.9	
KD	5.0	5.0	1.6	0.0	
KD	9.0	4.6	2.0	1.2	
KD	7.5	6.1	0.3	0.0	
KD	7.3	5.8	1.7	0.0	
KD	7.5	7.2	2.3	1.4	

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

KD	4.9	3.8	0.0	0.7	
KD	3.6	5.1	0.0	0.0	
KD	4.9	5.8	0.3	0.5	
KD	5.1	5.8	1.1	0.9	0.9
配列番号 98	3.6	4.3	0.8	1.1	0.9
配列番号 99	4.2	2.7	2.4	1.1	1.8
配列番号 100	3.5	2.7	5.3	5.7	5.5
配列番号 101	3.3	1.8	4.7	3.2	4.0
配列番号 102	2.1	4.1	1.9	0.8	1.4
配列番号 103	3.3	2.9	1.3	0.0	0.7
配列番号 104	5.5	3.6	0.6	0.9	0.8
配列番号 105	2.7	2.5	3.4	1.3	2.3
配列番号 106	2.2	2.6	0.4	1.1	0.8
配列番号 107	2.4	2.9	0.8	0.0	0.4
配列番号 108	1.9	5.3	0.7	0.9	0.8
配列番号 109	3.7	1.8	2.9	3.1	3.0
配列番号 110	2.5	2.4	2.5	4.0	3.3
配列番号 111	1.2	2.5	2.1	4.8	3.5
配列番号 112	2.4	2.5	2.6	8.5	5.6
配列番号 113	2.1	2.7	2.1	2.6	2.4
配列番号 114	3.3	3.9	1.1	2.0	1.5
配列番号 115	2.9	2.5	4.4	3.3	3.9
配列番号 116	2.6	3.4	8.3	9.8	9.1
配列番号 117	6.0	5.5	15.7	11.9	13.8
配列番号 118	5.3	2.9	27.3	23.7	25.5
配列番号 119	2.9	2.2	23.3	18.2	20.7

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

配列番号 120	13.3	3.8	39.0	52.5	45.7
配列番号 121	13.4	3.0	38.7	52.9	45.8
配列番号 122	3.2	2.6	30.7	53.8	42.3
配列番号 123	4.4	4.3	52.8	69.9	61.4
配列番号 124	3.5	1.5	54.3	56.4	55.4
配列番号 125	2.0	3.8	46.5	66.9	56.7
配列番号 126	3.8	4.4	21.4	22.4	21.9
配列番号 127	3.2	3.0	13.1	12.1	12.6
配列番号 128	2.3	3.0	9.9	7.9	8.9
配列番号 129	5.8	4.1	17.5	5.4	11.5
配列番号 130	3.5	5.3	25.9	39.4	32.7
配列番号 131	3.2	3.1	28.0	37.0	32.5
配列番号 132	3.8	3.4	19.5	19.2	19.3
配列番号 133	1.7	2.6	14.8	12.0	13.4
配列番号 134	5.3	2.3	9.2	4.4	6.8
配列番号 135	4.2	3.0	16.5	23.5	20.0
配列番号 136	5.7	1.6	17.4	8.2	12.8
配列番号 137	3.7	2.6	22.0	25.1	23.6
配列番号 138	2.5	2.8	22.1	32.4	27.2
配列番号 139	1.9	5.0	56.2	61.7	58.9
配列番号 140	1.7	1.9	25.4	27.4	26.4
配列番号 141	3.3	1.5	2.6	3.9	3.3
配列番号 142	5.8	4.6	4.1	3.2	3.7

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

配列番号 143	3.3	3.4	27.0	12.7	19.9
配列番号 144	3.1	1.5	29.9	32.6	31.2
配列番号 145	4.2	2.7	30.4	23.2	26.8
配列番号 146	2.0	4.3	13.5	30.7	22.1
配列番号 147	2.3	3.0	25.8	31.8	28.8
配列番号 148	3.5	4.7	10.6	15.7	13.1
配列番号 149	2.8	1.9	2.2	8.9	5.5
配列番号 150	2.0	2.9	5.6	22.6	14.1
配列番号 151	3.1	2.2	2.3	6.2	4.3
配列番号 152	1.3		6.0		6.0
配列番号 153	2.9	2.9	6.2	8.5	7.4
配列番号 154	2.7	2.7	2.4	3.9	3.1
配列番号 155	2.2	5.0	10.6	7.4	9.0
配列番号 156	3.3	1.9	11.1	34.5	22.8
配列番号 157	3.5	3.5	8.4	5.0	6.7
配列番号 158	3.9	3.0	14.1	17.9	16.0
配列番号 159	3.0	3.8	19.6	18.5	19.1
配列番号 194	2.6	2.4	21.3	19.9	20.6
配列番号 160	3.8	3.2	14.9	18.7	16.8
配列番号 161	3.1	1.5	13.8	10.1	11.9
配列番号 162	3.5	3.9	25.7	22.7	24.2
配列番号 163	3.2	5.0	16.3		16.3
配列番号 164		2.5		31.6	31.6

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

配列番号 165	6.0	3.0	18.5	25.9	22.2
配列番号 166	3.9	4.6	25.7	20.7	23.2
配列番号 167	2.9	4.0	7.2	9.1	8.1
配列番号 168	4.1	2.3	6.7	4.3	5.5
配列番号 169	3.6	5.1	2.1	1.1	1.6
配列番号 170	3.0	2.0	2.1	3.0	2.6
配列番号 171	1.7	2.8	1.4	6.4	3.9
配列番号 172	8.4	2.7	1.9	2.9	2.4
配列番号 173	3.2	3.8	1.5	1.5	1.5
配列番号 195	4.7	2.6	0.9	1.6	1.2
配列番号 174	3.0	2.8	0.5	1.8	1.2
配列番号 175	3.8	3.5	0.4	0.0	0.2
配列番号 176	3.9	3.3	1.4	0.5	0.9
配列番号 177	3.4	3.4	2.8	2.3	2.6
配列番号 178	5.2	4.4	0.0	1.7	0.8
配列番号 179	5.4	5.9	10.9	21.2	16.0
配列番号 180	4.7	1.9	14.1	16.4	15.2
配列番号 181	4.3	4.9	3.4	9.2	6.3
配列番号 196	2.6	4.9	3.5	3.0	3.3
配列番号 182	3.4	4.8	0.4	1.7	1.1
配列番号 183	4.5	3.6	1.5	1.1	1.3
配列番号 184	4.9	3.6	0.4	0.0	0.2
配列番号 185	3.4		0.0		0.0

10

20

30

40

50

【表 1－7】

配列番号 197	4.7	4.5	1.3	0.6	0.9
配列番号 186	7.1	4.1	9.5	7.9	8.7
配列番号 187	3.6	6.7	10.0	3.9	7.0
配列番号 188	2.7	2.5	4.8	4.2	4.5
配列番号 189	2.9	5.2	3.8	2.4	3.1

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

化合物表

Hel mアノテーションキー:

[LR] (G) は、β-D-オキシ-LNAグアニンヌクレオシドであり、

[LR] (T) は、β-D-オキシ-LNAチミンヌクレオシドであり、

[LR] (A) は、β-D-オキシ-LNAアデニンヌクレオシドであり、

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

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

[MOE] (T) は、2'-O-メトキシエチル-RNAチミンヌクレオシドであり、

[MOE] (A) は、2'-O-メトキシエチル-RNAアデニンヌクレオシドであり、

[MOE] [5meC] は、2'-O-メトキシエチル-RNA 5-メチルシトシンヌクレオシドであり、

[dR] (G) は、DNAグアニンヌクレオシドであり、

[dR] (T) は、DNAチミンヌクレオシドであり、

[dR] (A) は、DNAアデニンヌクレオシドであり、

[dR] [C] は、DNAシトシンヌクレオシドであり、

[mR] (G) は、2'-O-メチルRNAグアニンヌクレオシドであり、

[mR] (U) は、2'-O-メチルRNA DNAウラシルヌクレオシドであり、

[mR] (A) は、2'-O-メチルRNA DNAアデニンヌクレオシドであり、

[mR] [C] は、2'-O-メチルRNA DNAシトシンヌクレオシドである。

天然の類縁体配列	オリゴ配列番号	HELM	標的配列	標的配列番号
5'- ATAGTGAGATGCTGTCTC- 3'	配列番号 98	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])}\$\$\$\$V2.0	GAGACAGCATCTCAC TAT	配列番号 6

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

5'- ACATAGTGAGATGCTGTC- 3'	配列番号 99	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A E)(A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP]).[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0	GACAGCATCTCACTA TGT	配列番号 7
5'- CAACATAGTGAGATGCTG- 3'	配列番号 100	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G))\$\$\$\$V2.0	CAGCATCTCACTATG TTG	配列番号 8
5'- GACAACATAGTGAGATGC- 3'	配列番号 101	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[M OE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0	GCATCTCACTATGTT GTC	配列番号 9
5'- TGGACAACATAGTGAGAT- 3'	配列番号 102	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP]	ATCTCACTATGTTGT CCA	配列番号 10

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

			-.[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)]\$\$\$\$V2.0			
5'- CCTGGACAACATAGTGAG- 3'	配列番号 103		RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)]\$\$\$\$V2.0		配列番号 11	
5'- AGCCTGGACAACATAGTG- 3'	配列番号 104		RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)]\$\$\$\$V2.0		配列番号 12	
5'- CTAGCCTGGACAACATAG- 3'	配列番号 105		RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)]\$\$\$\$V2.0		配列番号 13	

10

20

30

40

【表 2-4】

[illegible]

10

20

30

40

【表 2 - 5】

5'- GTTCGAAACTAGCCTGGA- 3'	配列番号 109	[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP]. [MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE](A)}\$\$\$V 2.0			配列番号 17
5'- GAGTTCGAAACTAGCCTG- 3'	配列番号 110	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[M OE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP]. [MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE](A)}\$\$\$V2.0	TCCAGGCTAGTTTCG AAC		配列番号 18
5'- AGGAGTTCGAAACTAGCC- 3'	配列番号 111	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MO E](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[	CAGGCTAGTTTCGAA CTC	GGCTAGTTTCGAACT CCT	配列番号 19

10

20

30

40

【表 2 - 6】

5'- CCAGGAGTTCGAAACTAG- 3'	配列番号 112	sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC]) [sP].[MOE]([5meC]))\$V2.0 RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE]]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP]].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[s P].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[M OE](A)[sP].[MOE](G)]\$V2.0	CTAGTTTCGAACTCC TGG	配列番号 20
5'- ACCCAGGAGTTCGAAACT- 3'	配列番号 113	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)]\$ \$V2.0	AGTTTCGAACTCCTG GGT	配列番号 21
5'- GAACCCAGGAGTTCGAAA- 3'	配列番号 114	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC]) [sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP]].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[M OE](A)[sP].[MOE](A)]\$V2.0	TTTCGAACTCCTGGG TTC	配列番号 22

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

5'- TTGAACCCAGGAGTTCGA- 3'	配列番号 115	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)]\$\$\$V2.0	TCGAACTCCTGGGTT CAA	配列番号 23
5'- GCTTGAACCCAGGAGTTC- 3'	配列番号 116	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])]\$\$\$V2.0	GAACTCCTGGGTTCA AGC	配列番号 24
5'- TTGCTTGAACCCAGGAGT- 3'	配列番号 117	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])]\$\$\$V2.0	ACTCCTGGGTTCAAG CAA	配列番号 25

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

5'- GATTGCTTGAACCCAGGA- 3'	配列番号 118	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)]\$\$\$V2.0	TCCTGGGTTCAAGCAATC	配列番号 26
5'- AGGATTGCTTGAACCCAG- 3'	配列番号 119	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)]\$\$\$V2.0	CTGGGTTCAAGCAATCCT	配列番号 27
5'- GGAGGATTGCTTGAACCC- 3'	配列番号 120	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])]\$\$\$V2.0	GGGTTCAAGCAATCCTCC	配列番号 28

10

20

30

40

50

【表 2-9】

5'- CAGGAGGATTGCTTGAAC- 3'	配列番号 121	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}\$\$\$\$V2.0	GTTCAGCAATCCTC CTG	配列番号 29
5'- GGCAGGAGGATTGCTTGA- 3'	配列番号 122	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])}\$\$\$\$V2.0	TCAAGCAATCCTCCT GCC	配列番号 30
5'- GAGGCAGGAGGATTGCTT- 3'	配列番号 123	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)]\$\$\$V2.0	AAGCAATCCTCCTGC CTC	配列番号 31
5'- CCGAGGCAGGAGGATTGC- 3'	配列番号 124	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])}\$\$\$\$V2.0	GCAATCCTCCTGCCT CGG	配列番号 32

10

20

30

40

【表 2 - 1 0】

[illegible]

【表 2 - 1 1】

5'- TTGGGAGGCCGAGGCGAGG -3'	配列番号 128	E]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[M OE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)}\$\$\$\$V2.0			配列番号 36
5'- CTTTGGGAGGCCGAGGCA- 3'	配列番号 129	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[M OE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G) [sP].[MOE](G)}\$\$\$\$V2.0	CCTGCCCTCGGCCTCC CAA		配列番号 37
5'- CACTTTGGGAGGCCGAGG- 3'	配列番号 130	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE (A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MO E](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T) [sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP]. [MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)}\$\$\$\$V2.0	TGCCTCGGCCTCCCA AAG		配列番号 38
		RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE] (A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MO E](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T) [sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP]. [MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE](G)[sP]}\$\$\$\$V2.0	CCTCGGCCTCCCAA GTG		

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 2】

5'- AGCACTTTGGGAGGCCGA- 3'	配列番号 131	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)]\$\$\$V2.0	TGGGCTCCCAAAGT GCT	配列番号 39
5'- CCAGCACTTTGGGAGGCC- 3'	配列番号 132	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])}\$\$\$V2.0	GGCCTCCCAAAGTGC TGG	配列番号 40
5'- TCCCAGCACTTTGGGAGG- 3'	配列番号 133	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)]\$\$\$V2.0	CCTCCCAAAGTGCTG GGA	配列番号 41

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 3】

5'- AATCCCAGCACTTTGGGA- 3'	配列番号 134	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](A)]\$\$\$V2.0	TCCCAAAGTGCTGGG ATT	配列番号 42
5'- ATAATCCCAGCACTTTGG- 3'	配列番号 135	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)]\$\$\$V2.0	CCAAAGTGCTGGGAT TAT	配列番号 43
5'- CTATAATCCCAGCACTTT-3'	配列番号 136	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)]\$\$\$V2.0	AAAGTGCTGGGATTA TAG	配列番号 44

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 4】

5'- GCCTATAATCCCAGCACT-3'	配列番号-137	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MO E](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](T)}\$\$\$\$V2.0	AGTGCTGGGATTATA GGC	配列番号 45
5'- ACGCCTATAATCCCAGCA- 3'	配列番号-138	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A) [sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE] ([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](A)}\$\$\$\$V2.0	TGCTGGGATTATAGG CGT	配列番号 46
5'- TTAGGCCTATAATCCCAG-3'	配列番号-139	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[s P].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC]) [sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP] .[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G) }\$\$\$\$V2.0	CTGGGATTATAGCG TAA	配列番号 47

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 5】

5'- GCTTAGCGCCTATAATCCC-3'	配列番号 140	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MO E](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T) [sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP]. [MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5m eC])\$\$\$\$V2.0	GGGATTATAGGCGTA AGC	配列番号 48
5'- TGGCTTAGCGCCTATAATC-3'	配列番号 141	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC]) [sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP]. [MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP] .[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[s P].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP]. [MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](T)[sP].[MOE]([5meC])\$\$\$\$V 2.0	GATTATAGGCGTAAG CCA	配列番号 49
5'- GGTGGCTTAGCGCCTATAA- 3'	配列番号 142	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP]. [MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP] .[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MO E](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP]. [MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP] .[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[M OE](A)[sP].[MOE](A)\$\$\$\$V2.0	TTATAGGCGTAAGCC ACC	配列番号 50

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 7】

5'- CCAGACAGGGTGGCTTAC- 3'	配列番号 146	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE] E]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] 5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP] .[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MO E](A)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V 2.0	GTAAGCCACCCCTGTC TGG	配列番号 54
5'- GGCCAGACAGGGTGGCTT- 3'	配列番号 147	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G) [sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP]. [MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[M OE](T)[sP].[MOE](T))\$\$\$\$V2.0	AAGCCACCCCTGTCGTG GCC	配列番号 55
5'- CAGGCCAGACAGGGTGGC- 3'	配列番号 148	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE]](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G) [sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE] 5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$ \$\$V2.0	GCCACCCCTGTCCTGGC CTG	配列番号 56

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 8】

5'- CACAGGCCAGACAGGGTG- 3'	配列番号 149	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE] [A][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE] E][A][sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE] [5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]](G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE](G)]\$\$\$ V2.0	CACCCCTGTCCTGGCCT GTG	配列番号 57
5'- TGCACAGGCCAGACAGGG- 3'	配列番号 150	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE] A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] G)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)][sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)]\$ \$\$V2.0	CCCTGTCCTGGCCTGT GCA	配列番号 58
5'- TTTGCACAGGCCAGACAG- 3'	配列番号 151	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[M OE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP]].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[M OE]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])][sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP]. [MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)]\$\$\$V 2.0	CTGTCTGGCCTGTGC AAA	配列番号 59

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 9】

5'- CATTTGCAGGCCAGAC- 3'	配列番号 152	RNA1{[MOE]([5meC])[sP].[MOE] [A][sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP]].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])]}\$\$\$\$V2.0	GTCTGGCCTGTGCAA ATG	配列番号 60
5'- AACATTTGCAGGCCAG- 3'	配列番号 153	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A) [sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[M OE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE](G)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE]([5meC])[s P].[MOE](A)[sP].[MOE](G)}\$\$\$\$ V2.0	CTGGCCTGTGCAAAT GTT	配列番号 61
5'- AAAACATTTGCAGGCC- 3'	配列番号 154	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](A)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP]].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MO E](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE]([5meC])}\$\$\$\$ V2.0	GGCCTGTGCAAATGT TTT	配列番号 62

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 0】

5'- TTAAAAACATTTGCACAGG- 3'	配列番号 155	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP]].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[M OE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] [5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](G)[s P].[MOE](G)}\$\$\$\$V2.0	CCTGTGCAAAATGTTT TAA	配列番号 63
5'- ATTTAAAAACATTTGCACA-3'	配列番号 156	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] [5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC)]}[sP].[MOE](A)}\$\$\$\$V2.0	TGTGCAAAATGTTTTA AAT	配列番号 64
5'- GCATTTAAAAACATTTGCA-3'	配列番号 157	RNA1{[MOE](G)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MO E](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] [5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)}\$\$\$\$V2.0	TGCAAAATGTTTAAA TGC	配列番号 65
5'- ATGCATTTAAAAACATTTTG-3'	配列番号 158	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](G)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].	CAAATGTTTAAATG CAT	配列番号 66

10

20

30

40

50

10

20

30

40

【表 2 - 2 3】

5'- TCACAGTCACACACACAT-3'	配列番号 165	meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m 5meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (T)][sP].[MOE](G)[sP].[MOE]([5m eC]))\$\$\$\$V2.0	配列番号 73	
5'- ACTCACAGTCACACACAC- 3'	配列番号 166	RNA1{[MOE](T)][sP].[MOE]([5m eC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (G)][sP].[MOE](T)][sP].[MOE]([5m eC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE] 5meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE] ([5meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC)][sP].[MOE](A)[sP].[M OE](T))\$\$\$\$V2.0	配列番号 74	ATGTGTGTGTGACTG TGA
5'- ACACTCACAGTCACACAC- 3'	配列番号 167	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC)][sP].[MOE](T)][sP].[MOE] 5meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MOE] ([5meC)][sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC]))\$\$\$\$V2.0	配列番号 75	GTGTGTGTGACTGTG AGT GTGTGTGACTGTGAG TGT

10

20

30

40

50

10

20

30

40

【表 2 - 2 6】

5'- ACATACACATATATTCAC-3'	配列番号 174	-.[MOE][A][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE][A][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0			配列番号 82
5'- ACACATACACATATATTC-3'	配列番号 175	RNA1{[MOE][A][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE][A][sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0		GTGAATATATGTGTATGT	配列番号 83
5'- ACACACATACACATATAT-3'	配列番号 176	RNA1{[MOE][A][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE][A][sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0		GAATATATGTGTATGT	配列番号 84

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 9】

5'- ACACACAAAACTCACACAC- 3'	配列番号 183	5meC)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] ([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[M OE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0	GTGTGTGAGTTGTGTG TGT	配列番号 91
5'- TCACACACAAAACTCACAC-3'	配列番号 184	RNA1{[MOE](T)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] (A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE] ([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MO E]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[M OE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0	GTGTGAGTTGTGTG TGA	配列番号 92
5'- ATTCACACACAAAACTCAC-3'	配列番号 185	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](A)	GTGAGTTGTGTGTG AAT	配列番号 93

10

20

30

40

50

【表 2 - 3 0】

5'- TCACATTTCACACACAAAC-3'	配列番号 186	[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC]))\$\$\$\$V2.0		[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC]))\$\$\$\$V2.0	配列番号 94	
5'- ACTCACATTTCACACACAA-3'	配列番号 187	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([T])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([E](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0		RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([T])[sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5m eC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5 meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([E](A)[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC]))\$\$\$\$V2.0	配列番号 95	GTTTGTGTGTGAATG TGA
5'- ATACTCACATTTCACACAC-3'	配列番号 188	RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC]) [sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])		RNA1{[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](A)[sP].[MOE]([5meC]) [sP].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE]([5me C])[sP].[MOE](A)[sP].[MOE](T)[s P].[MOE](T)[sP].[MOE]([5meC])	配列番号 96	TTGTGTGTGAATGTG AGT GTGTGTGAATGTGAG TAT

10

20

30

40

50

10

20

30

40

【表 2 - 3 3】

	10
LR](A)[sP].[LR]([5meC])[sP].[LR]([5meC])}\$\$\$\$V2.0	20
	30
	40

【配列表フリーテキスト】

【0346】

配列

配列番号1

ACTL6B前駆体-mRNA

GRCh38. p13、7番染色体：100,643,097-100,656,44

8リバース鎖

GAGTCCCGCCCCGCCAGGGATCCCGGGAGCTGTCCGGCC
GCCTCGGTGCTGATCCCGCCACCGCCCCACGGGGCCGCTAGC

A G C G C A G C G G G C A C T A T G A G C G G G G G C G T C T A C G G C G G A G
G T G A G C G A G C C T C G G G C C C C C G G C T C C C G C A G C C C T G C G T
T C C A A A C C C G C G C C A T C C A T C C G A G C T C T G G G C A C C C C G G
G G C C T G T C A C C T C C G C G C A C G A G C G G G T C G A G T C T C A G G C
T C G G G T C T C C C G C C A C C C C T G C G C T C G G T C C T C C C C A G A C
G C C C C G C G C G C A C A G G G C C C T A C C T T G C A A C C C A C C T C C A
C C T G G C C C C G G G C C C C T T C C T T T C C C G T C G G G A G G G T G C C
C T G A G C A A G G C C A T T G G G C A A G A A G G G A C C C T G G C G G T G T
G A T G C C C C C A C C C C C A G T C C C A G G A C C T C G G A C T C C A G G C
C C A G C T C C C A C C G G C C C C A G A C T G G T G T T G A A A G T G G C G A
G A C T G T G G C T C T G C C C T G A C T T T C T C T C G G A G C T A C C T A G
C G G G A G A G A G T T C G G G G G A G G T C C C C T T A C A G G C C T G T C T
C C C C G C A C A G A T G A G G T G G G G G C G C T G G T C T T T G A C A T T G
G C T C C T T C T C A G T C C G C G C T G G G T A C G C T G G G G A G G A C T G
T C C C A A G G T G A G C C T T C C A G T C T C C T C T C C A A A T C C T A G G
G G C T T C G G A C C C T T C T T C A G G C T T T C C A G T G A C C C A G G G C
T C T C C C A G A T C G C C C A G A A G C T C T G C T G A G C G G G A A T A T G
G G A A T A A A C C C A G G G G C G G T C T G A G G A C C C T G C T G T G G G G
C T G G A C A G G G G C A A G A G G G T G A C C T C T C T C C C T G C C A A T A
C T C C C C C A A C C C T T C C C C A C C A G G C T G A C T T C C C C A C C A C
A G T G G G G C T G C T G G C C G C G G A G G A G G G G G G C G G G C T G G A G
C T G G A G G G G G A C A A A G A G A A G A A A G G G A A G A T C T T C C A C A
T C G A C A C C A A T G C C C T G C A C G T G C C T C G G G A T G G A G C G G A
G G T C A T G T C G C C C C T C A A G A A T G G C A T G A G T A A G G G G C C C
C C A C C C A T C A C C T C C T G A C A G A A A A G G A G C C C G C T C C C C A
C A A T C T G G G T C A T A G C A G C C C C C A C T C C C C G C G G A G T C T T
C C T T G C A G C C C C A G G G T T C T T C T G G C T G C C A G G G T T C T T C
T C G C T G G G T T C C C T T C C C A G G G G C C C A C C A G G T T T C T G G G
A A G G G G G G C G T T C C C C T G G A G C T G G A C T C A C T G A C C C T C C
T T T G G G C T T G G C C T T T C T C C C T C C T T T T C T T C C T G T C C C T
G T C C C C T G C C T G C C T T C T T G C G T C T C T G C A C G C T G C T C T T
C T G G C C C C A G T C G A G G A C T G G G A G T G C T T C C G A G C C A T C C
T G G A T C A C A C C T A C A G C A A A C A C G T C A A G T C T G A G C C A A A
C C T G C A C C C A G T G C T C A T G T C C G A G G C T C C G G T G A G T G C C
T C C T C C A T C C T C A T G T C C A A C C C T G A T C T C C A C T G C A C C T
C C T T C C C A C C A T C C A C C T C T C C T C C T C T C C C C T C A A G C C A
C T G C T C T G A G C C A C T T C C C T T C C C T T T T C A G A C T C C C C T C
A C C C A T C C C A A A C A A T T T C C T T C C T T C T T G G C T A A G T C T C
C A T C C C T C C T G C T C T C T T C T T G C T C T A T G C A C T C T G C T G C
C C T T C T C T G T C T C C A A G T C C T T T T T A A A T T T T T T T T T T T
G A C A C A G T C T C A C T C C G T C A C C C A G G C T G G A G T G C A A T G G
T G A G A T C T C A G C C T C T G C C T C C C G A C A T C A A A G G A A T C T C
C T G C C T C A G C C T C C T G A G T A T C T G G G A T T A C A G G C A C C C G
C C A C C A C G C C T G G C T A A T T T T T T G T A T T T T T A G T A G A C A G
G G G G T T T C G C C T T G T T G G C C A G G C T G G T C T C G A A C T C C T G
A C C T C A G G T G A T C C A C C C G C C T T G G C C T C C C A A A G T G T T G
G G A T T A C A G G C A T G A G G C A C C A C G C C C A G C C T C C A A G T C C
T T T T T T G A C C T T T T C A C T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T
A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T A T T
T G T T G G C T C A C A C C T G T A A T C C C A A C A C T T T G G G A A G C C A

10

20

30

40

50

A G G C A G G A G G A T C A C T T G A G C C C A G G A G T T T G A G A C C A C C
C T A G G C A A T A T G G C A A G A C C C G T C T C T T T T A T T A A A A C A A
T A A A A A T T A A A A A T T T T T T G C C G G G T G T G G T G G C T C A C G C
C T G T A A T C C C A G C A C T T T G G G A G G C C G A G G C G G G T G G A T C
A C G A G G T C A A G A G A T C A A G A C C A T C C T G G A T A A C A C G G T G
A A A C C C C A T C T C T A C T A A A A A T A C A A A A A A T T A G C C A G G C
A T G G T G G C G G G C A C C T G T A G T C C C A G C T A C T C G G G A G G C T
G A G G C A G G A G A A T G G C G T G A A C C C G G G A G G C G G A G C T T G C
A G T G A G C T G A G A T C G C A C C A C T G C A C T C C A G C C T G G G C A A
C A G A G C G A G A C T C T G T C T C A A A A A A A A A A A A A A T T T A A A A 10
C C T C A T T T T A A A A A A A T G T T C T T A C C C A C C T C C T T A T A A A T
T C C T C T T T A T A A A A G C A A C T G T T T T T C T C C T T T T T A G C T A
A T G T T G G G G G T A T T T T C T T C C A T A T C T C T A A T A C T A C A C T
T A A A T T G C T G C C T G T G G A G T G T T T A G T T T T A G G T A T T A T C
G C T G A A T T T T C C A C T T T A G A A A A T G A T C G C T T A G C T C T C T
T T T C C T C C C C A G C C T A T G C C A C A C G T A T T T C T T A T C A C C C
T C C T T T A A G T A C A G T G G G T T T T G T T G T T G T T G T T G T T G T T
G T T T G G G G T T T T G T T T G T T G T T T G T T T T T G A G A C T T T G C C
T C A A A A A C A G G G G G T C T G C T C A G T T T G T C A C C C A G G T T G G
A T T G C A G T G G C A C A A T T C T T C A G C C T T G G T C T C C T G G G C T 20
C A A G T G A T C C T C T C A T T T C A G T C T C C A G A G T A G C T G G A A C
T A C A G G C A T A A G C C A C C A T G C C C A G C T G A T T T T T A A A T T T
T T T T T A G A G A C A G G G T T T C A T C A T G T T G T C C A G G C T G G T C
T T G A A T T C C T G G G C T C A A G C A A T C T G C C C G C C T C G G C C T C
C C A A A A G G C T G G G A T T A C A G G C G A G A T C C A C C A C A C C C A G
C C C A G T T G T A T T T T A G A C T T T A A A A G A A A T C A G T A T T C A G
T A T T T A C A T T C T T T T T A A A T T A G A A A T A A T T T T A A G A G A A
T C T T T T G C A G A G A T G G G G T C T C A T C A T A T T G C C C A G G C T G
G C T T C A A A C T C C T G T G C T T A A G C G A T C C T T C T A C T T C A G C
T A A C A A A G T G C T G G G A T T A C A G G C A T G A G T C A C T G T G C T C 30
A G C C C A A T A T T T A C A C T C C T A T T A C T A T G T A T G C T A A T C A
G G C C T G A G A C A G G C A A T A C A C C A T G A T C A C C T T T C C T T T C
T T G T G C A A C T T T T T G T T T T C C T A G A A C T G G A A A A A A A A T G
T G T T C A A T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T
T T T T T T T T T T G A G A C G G A G T T T T G C T C T G T C A C C A G G C T G
G A G T G C A G T G G T G C G A T C T C A G C T C A C T G C A A G C T C C G C C
T C C C G G G T T C A A G T G A T T C T C C T G C C T C A G C C T C C T G A G T
A G C T G G G A C T A C A G G T G C G T G C C A C C A C G C C C A G C T A A T T
T T T G T A T T T T T A G T A G A G A C G G G G T T T C A C C A T G T T G G C C
G G G A T G G T C T C G A T C T C T T G A C C T C G T G A T C C A C C G A C C T 40
T G G C C T C C C A A A G T G C T G G G A T T A C A G G C G T A A G C C A C C A
T C C C A G C C C T G T G T T T G A T T A T A T T T G G T C T G G T T T T C T A
T C T A C T T A A C A G T G T G A A C C C T A A A T C A T T C A T C A A T T G T
A T C T T T T G T C A A G A C G T C A A T T C C A T T A G A T A T T T T A T C A
A T T T C T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T G A G A C A T A G T C T T G C T C T
G T T G C C C A G G C T G G A G T G C C A T G G C G C G A T C T C G G C T C A C
T G C A A G C T C C A C C T C C T G G G T T C T C C T G C C T C A G C C T C C C
G A G T A G C T G G G A C T A C A G G T G C C C A C C A C C A C A T C C G A C T
A A T T T T T T G T A T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T T G A G A T G G A G T C T
C A C T C T G T T G C C C A G G C T G G A G T G C A G T G G T G C G A T C T C G 50

GCTCACTGAAAGCTCCATTTCTCTCTGCTCAGCCTCCCAA
GTAGCTGGGACTCACACCATTTCTCTCTGCTCGGCCTCCCA
AGTAGCTGGGACTATAGGCACCCACCAACGCCCCGGCTA
ATTTTTTTGTATTTTTTAGTAGAGGCGGGGGTTTCACCGTTGTT
AGCCAGGATGGTCTCCATCTCTCTGACCTCGCGATCCGCCG
GCCTCGGCCTCCCAAAGTGTCTGGGATTACAGGCGTGTAGCC
ACCACACCTGGCCTCTCATCAATTTCTTTCTTGAAGAAA
TTTCTTTCAGGAGCCCCACTGACCTGGTCCAGTTTGCAC TAG
TAGCCCTCTGCCAGGGGACAGACCTGTCTATGCTGGGCATCT
TCCTTTCACCATCATCTTGTAGAAATCCTTTTGCCTCTGTCC
TGGTTAGAAAGTCTCTGTTTCTCTGTACTTTGACTCCTTTTCTT
GACTTATTCTTTTGTTTTTCATGGAGCAGGTCTCTTCAGTAA
CTGCCTTAGAAAAGGTCTATGAGAGGCGCAGAGACAGTGGCTC
ACTCCTGTAAATCCCAGCAGCTTTGGGAGGCGCTTGTAGTCCAG
GAGTTTGTAGACCAGCCTGGGCAATATACTGATACCTTTATC
TCTACCAAAAATATAAAAAATTAGCTGGCCCATGGTGGTGTGCA
TGCTTGTAGTACCAGCTACTCGGAAGGCTGTAGGCAAGAGGA
ATTGCTTGTACCCAGGAGGCGAGAGATTGCAGTCAAGCCTAG
ATCATGCCACTGAACCTCCAGCCTGGGCGACAGAGTGTAGAC
TCCATTTAAAAAAATAAATTAATTAATAATAATCTAAAAA
AAAAACTTTTTTTTTTTTTTTTGTAGATGAAGTGTCACTCTTGT
CCCCCAGGCTGGAGTGTCAATGGCGTGTATCTTGGCTCACTG
CAACCTCCGCTTCCCGGGTTCAAGGATTCTCCTGCTCAG
CATCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCGACCTCCCATCACAC
CTGGCTAATTTTTTGTATTTTTTAGTAGAGACGGGGTTTTCAC
CATGTTGGCCAGGCTGGTCTCAAACTCCTGACCTCAGGTG
A
TCTGCCCGCCTTGGCCTCCCAAAGCGCTGGGATTACAGGCG
ATGAGCCACCGCGGCCCAGCATCTAAAAAATAATTTAAAAA
TAAGGTCTATGGGAAGTATATTTTTTTGTAGACTTTTGTGTGT
CTCACCTTGTAGTTGTATAGCTTAGCTAGGTATCCCATGTCCA
GGTTAGAAATCATTTATTTCTTTCAGAAATCTTGAAGGCACTTT
TCCATTTGTCTTCTTCCAGCATATATCGTTTGCCATTTAGGA
AGGATGAAAACCATCTGATTTCTGATCCTCTGTATGTAAATGT
TTTTTCTTTCTGAAAGTTTATAGAAATTTTTTACTTTATCCTC
AGTGTGGTGTATTTTTCATTTCTATGGCTCTAGGCGACTTAGTA
TGTCTCTTCTATTTCTGAAAACATATGTCTTTCAATTCAGTG
AAAAAGAATTATTTATTTAATTAATTAATTTCTCTCCATTT
TCTCTCTTGGGATTTTCTGTATTGTGATTTTGTGTGCCCCC
TGAATTGGTCCCCCTAATTTAATTTCCCTTTTCTCTTATATT
TTCCATCTCTTTTACCTTTTCTCTTTTGGTTTCCAAGATATT
CCCTCCACTTTTATGTTTCCAATCCTTCTATTGAGTTTTTTCA
TTTCTGTTCATGTAGTTTTTAATTTCCCAACAAGCTCCTTACT
TTAAATTTTTTTTTTTTAAATGAGACAGCATCTCACTATGTTG
TCCAGGCTAGTTTTCGAACTCCTGGGGTTCAAGCAATCCTCC
TGCTCTGGCCTCCCAAAGTGTCTGGGATTATAGGCGTAAGC
CACCTGTCTGGCCTGTGTCAAATGTTTTAAATGCATGTGT
GTGTGACTGTGTAGTGTGAATATATGTGTGTGTGTGTGT
GAGTTTGTGTGTGTGAATGTGTAGTATATATGTGTGTGTGT
GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT

10

20

30

40

50

GTATAGTGTGAATGCATGTGTGTGTGTTTATGTGTGTCTGTG
AATGTGAGTGTATGTGTGTGTGTTTGAGTGTATGTGTGTG
TGTGTGCAAGTGAATGCATGTGTGTATGACCGTGAGTGTA
TGTGTGAGTGTTTAGGTTGTGTATGTGTGTGCAAGTGT
GGATGTGTGTGTGTGACCGTGAGTGTATGTGTGTGAGTGAGT
GGGTTGCGTGTGCGTGGATGTGGGTCTGTGCGCTCTCCCTT
CCTGAATCCTCCCCCTCTGCACCTTTCTCCACAGTGGAAACA
CACGGGGCCAAGCGGGAGAAAGCTGACAGAGCTGATGTTTGA
GCAGTACAACATTCCTGCGCTTCTTCTTATGCAAGACGGCT
GTGCTCACCGCGGTATCCTCTGGACTGAGCTGCTCTGACTG
GGTGGAGGGCTGGGGGTGGGGGCTGTGCTGAGCTCAGCTGT
GATGAGCTGGAGGGGTGAGGCGCTGGTTCTCTGAAGATCAGT
GTCCCAATGGGCGAGACACCTCCCTCTGCCCCACTAGTGCA
GAAGGCCCAAGTGGACTGAGCACCTCCGACTCTGGGGGTGGC
CAGATCAGCGGGCCCCCTTTCCGGTTCCCGGATCAGGCTGAG
CAGACAGTGAGCTGGGGCCCCGGGAGAGAGTGGGGGCTGGAA
CTGGACAGAGGAGGGAGACGTGTAGAACAACTGCGGCAGTC
CCTTCCCAAGAACTCCTTCAACACTGACTGTTTTTAGGAT
CTGCGCTTGCATTGAACCCCTGTGCTATGCACTGGGGGTGATA
GCGACCCCTAATTTTCAGGGGAATCTGTAGGACACAACCAAAA
ATAAAGGGGGCTGGCCAGGCGCGGTGGCTCACGCGCTGTAA
CCCAGCATTTTGGGAGGCCAAGGCGGGCAGATCACTTGAG
GTCAGGAGTTAGAGACCAGTCCGGGCCAACATGGGCAAAAGC
CCGTGTCTACTAAAAAATGGAAAAAATTAGCCAGGCGATAGTG
GTGGGCACCTGTAGTCCAGCTACTTTGGGAGGCTGAGGCA
GGAGAATCTCTTGAACCCAGGAGGCGAGAGGTGTCAGTGAG
CTATTGCATTCCAGCCTGGGCGACAAAAACGAAACTCAGTT
TCAAAAAAATAAATAAATAAAGTAACCTGGGGGTGCGC
CGGGTGTGGTGGCTCATGCGCTGTAAATCCCGGCACTTTGGG
AGGCCGAGGCGGGGCAGATCACGAGGTCAGGAGATCGAGAC
CATCCTGGCTAACACCGGTGAAATCCCATCTCTACTAAAAA
TACGAAAAAATTGGCCGGGCGGTGGTGGCAGGCACTGTAGT
CCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCGAGGAGAAATGGCATGAA
CCCGGGAGGCGGGAGCTTGCAGTGAGCTGAGATTGCGCCAC
TGCACCTCCAGCCTGGGAGACAGCAAGACTCCATCTCAAAA
AAAAAAGAAAGTAACCTGGGGGTCTCAGAGCGCTTTCTC
CAGGAGATGAGTCATCACCGAGGGGGAGAGATTTGCAGACT
GGGGATGGGCTGGACCCCGGTAGAGCAGAGAGTGACCAAGA
CAAGATCTGGGCCCCAGGCCCCCTCACTTGCTGCTGCTGTCT
CTTTGACTTACCCATCCGATGCCAGCTTTGCAAAACGGGGCG
GTCCACTGGCCTCGTGTGCTGGACAGTGAGGCGCACCCACACC
ACGGCCATTCCAGTACATGACGGCTACGTTCTGCAAGCAAG
GTGGGGCTTCCGGCAGGGGGGTGGGGGTGCTCCAGGAGGACC
AGGTCCTGACAGTGCCTTCTCTTAGGCGATCGTCAAGTCC
CCTCTGGCAGGGGACTTCACTCTCCATGCAGTGCCGGGGAGC
TGTTCCAGGAGATGGCCATTGACATCATCCCACTTACAT
GATCGCAGCCAAGGTGGGGGCTCTGGGGGACATGGAGCTGC
CACTAGAGTCTTGGCCACTCGCCCCCATGGCCGTCAAACCT
CTGACACATGAGATATCAGAGCAGAGAGCAGCAGGCTCCC
CAGTGGGTCTTGGCTCCAGTTCTCTCTTTTATAAATCGAGG

10

20

30

40

50

CATCCGAAATCCAGACAGGCTGAGGGATATGCTGAGGGTCA
TGAAACCAGCTGGCAGACAGCAGGATGTGTGAGGGGCCAGT
GTGGTGGGTCTAGGGTCCAATATAGACCCAGGTTCAAGT
TCTGCCCTCTGCCGTGCAAGAGCTGCAGGACCCGGTCAAGGCA
TGGTGGCTCACACCTGTAAATCCCAGCACCTTCGGGGAGGGCTG
AGGCAGGCAGATCGCTTTGAGCTCACTTCGAGACCAGCCCT
GGGCAACATGGTGAAGCCACGTCCTCTACTAAAACTGCAAG
AACTAGCCAAGCATGGTGGTGCATGCCCTGTAGTCCCAGCT
ACTTGGGAGGGCTGAGACTGGAGAATCACCTGAACCCCGGA
GGCAGAGGTTGCAGTGAGCCGAGATCGCGCCCACTGCACTC
CAGCCTGGGCGACCCGAGTGAGACTCCATCTGAAAAA
AAAAAAGAGCTGTGTGACCAACAGCATGATATCAAAGC
TCCCTGGGCTCAGGTTTGTCTTATGTAAAGTGGAAACGGC
AGTAGGCAGTAGCCAGGGTGCTGTGAGTATGAAGTGACAC
TGTGTGCTTAGCTCCATTCCGTGCCCTCACATGGATCATG
ACCCCTAGGAGGGCCATTCCCTTGAGGTTCTGTCACTGCT
GTATTCTCTGGTGTCTCCAGATCAGCTGCACCCACCGCAT
GAAAGGCACACATGGAGAGAGAGGCATGCCCCATTCTCTC
TCCTCTCCATCAGGGAAGGGTGAGAAACCCCTCTTGCAGG
CAGCACAGCAGAGCCTGCAGCGCCAGGTAGCTGCAGAGCT
GGGAACAGTGCCAGGAAGGTGGGGGGTGAGGGTGGG
CTAGGAAGGGTGTTCTACACTGTGCCCCCAACAGGAGCC
TGTCCGGGAGGGTGCCCCCACAACCTGGGAAGAAAGGAG
AAGCTACCCCAAGGTCTCCAAGTCTTGGCATAACTACATGT
GTAATGTGAGCCTCTGGAGAGGGGCCACCTGAACCCCCCT
CCCCCTGCCATGAATCGGGGGCGGGACAGAGGCCCCCGCATG
GGAGGGGGAGCAGGGAGGGGGAGCGGGGGCAGGGGGTGCTG
CTCACGGGGGAAGGCAGGCCCTCACCACTCCGCTGGGGATT
TCAGGAGGTTGATCCAGGACTTCCAGGCCCTCCGTGCTGCAG
GTCTCAGACTCCCCCTACGATGAACAGTGAGTGTTGGCTCA
GGGCTTTGGGGTGGGAGAGAGGGGCAGAAACCGGCACCTCTTG
GGGTGGGCTGGGGGGCTCTGGTGCTGCCCAACGCACTGATC
CTTCTTGAGCACCCCAAGGCAGAGTCTCTGCTCCCTTCTGGG
TAGGGTGGCTGCACAAATGCCCACAGTGCACTACGAGATG
CCCAATGGCTACAATAACAGACTACGGCGCGCGAGCGACTCC
GCATCCCTGAGGGGCCCTGTTTGTATCCCTCGAAACGTCAAAGGT
TTGGCTGTGTGGCGAGGACTGGGGTGGGTGCTGGCTGCAG
TCCCTGGATCCTGGGGCGTGGGGGGAGGCTGGGGAAGGATTG
CAGGGGTCTGGGGGGGAAGGGGGGAGAGAGGCCACAGCCCCA
GTCACCTCTCTCTGCAAGGGCCTGTGCGGGGAACACCATGTT
GGGTGTGGGCCACGTTGGTGACCAACCAAGCATCGGCATGTGT
GACATTGATATTGCGCCCGGTGAGGCCAGGCCGGAGCTGAG
GCTCGGCAAAAGGGGGCCAGGGGGAAGTTGGGGAGACGGGGTT
GGGGGGCTGCCCCCGCAGCTCACTCCTTCTCCCTGCTCTC
AGGGCCTGTACGGGAGTGTCATTGTCAACCGGCGGGGAACAC
ACTGCTGCAGGGCTTCACTGACAGGCTCAATCGAGAGCTT
TCCCAGAAAGACCCCAACCGGTAGGAGCCCCACCCCTGACCCA
GAGCCCTGGACACCCCGTCCCTGGCTCAGCTGTCCAGGACTG
AGTCCCTTTCATCCTTCCCATGTCTCTTCTCTGTTCTGGC
CACCAAGAGCAGAAACCCCTGCCCTGTGGCTTCCCAAGTCT

10

20

30

40

50

T C C C C T C T C C C C C A A G C C C T G T C C C T T C C C A G A A C C T A G G
T G T C T G C T T C C C C C A G C C C C T T T T T A C C C C C A G A G C A T G C
G A C T G A A A C T C A T T G C C A G C A A C A G C A C C A T G G A G C G C A A
G T T C A G C C C C T G G A T C G G G G G T T C C A T C C T G G C C T C A C T G
G T G A G A G G A A A G G G A C C T G G C C T A G C A C T G A C T G T G G G G G
A
G A G G G G A G A C C C A G A C A G T G C C C G C C A C T T T G A C T G C C T C
T T C G T T C A T T C A T T C A T T C A A C A A A C A T T T A G T T T T G A G A
A A T G T C A G T C A A T G A A T G T T C C C A G A A G G G T G A A C A G G A C
A C A A A T C G G G G G G C A G G G G C C C G G T A T G G T G G C C C A C A C C
T G T C A T C C C A G C A C T T T G G G T G G C T G A A G T G G G G G G A T G G
C T T G A G G C T A G G A G T T G A A A A C C C A G C A G G G G A A C A T A G C
A A G A C C C A T C T C T A C T T T T A C A A A C T G G G G A G A A G A G G C T
G C G C A C A G T G G C T C A T G C C G G T A A T C C C T G C A G T T T G G G A
G G C C G A G A C G G G T G G A T C A C T T G A G C T C A G G A G T T C G A G A
C C A G C C T G G C C A A C A T G A C G A A A C C T T G T C T C T A C T A A A A
A T C C A A A A A T T A G C C A G G C A T G G T G G T G C A T G C C T G T A A T
C C C A G C T A T T C A G G A G G C T G A G G C A G G A G A A T C T C T T G A A
C C C A G G A G A C G G A G A C T G C A G T G A G C T G A G A T C G T G C C A C
T G C A C T C C A G C C T G G G T G A C G C A G T A A G A C T C T C A A A A A A
A A A A A A A A A T T G G G A G T A G A G G G A C A G G T A G T T G G A G A G A
T T G G T C A G G A T G A G A T T T T G G T G A T A C A C C C A C T G T G C T C
A G T C A G C A G A G G G G A G A C C C T G A T G T T T T G G G G C A A G G G A
G T G A T G T G G C A A T G C A G G C A T G A T T G G A A A G A C T G C C A G G
C A T G A G T C T T T G G G G T C G G G G T A T G A G C T G G G G T C A A G G G
G A C C T T A C A A G G A G G C T G T T T T G A T T G T C C C G G A G T C A T A
G C A T G G G T A G C A G T G G G G A T G G G G T G G A C A G C A A G G G G C A
A C T A G T A A A G G A G G C A G G C A G G T T G G T T C T G G G G C A G G A G
G T G G T A A G T T C A G T C T G G A C C T G C T G C T G G G T T C G A A G G A
A G G T A C T G A G C A G G G A G C T G G A G T T G C A A C C C G C A T C T G G
A G G G T A T C A G T C A C A C A G A G G G G A C A G T G G G G C C A T G A C A
G A C A A G G A G G A C A T C C A C G A G A A A G G A A G T C C C C C A G G G A
G A C A G A A A C C A G G G T C A G A A A G A C A G A G G C T G G C A G T C T G
A A C T T A G C T C A G G G C T G A A G C A T G T C A G C C A C A C A G T T C T
T G T T T T T T T C C T T T T T T G T T T T T G T T T T T G T T T T C G A G A
C A G T C T C A C T G T C G C C C A G G C T G G A G T G C A G T G G A G C A A T
C T T G G C T C A C T G C A A C C T C C A T C T C C T G G G T T C A A G C G A T
T C T T C T G C C T C A G C C T C C C G A G T A G C T G G G A T T A C A T G C G
T G A G C C A C C A C G C C T G G C T A A T T T T T G G A T T G T T A A T A G A
G A T G G G G T T T C A C C G T G T T G G C T A A G C T T G T C T C A A A C T C
C T G A C C T C A A G T G A T C T G C C C A T C T T G G C C T C C C A A A G T G
C T G G G A T T A C A G G T G T G A G C C A C C A T G C C C G G C C T G A A A T
T A A G T A T T A A T A A T A T A T C C T G G A C A A G T G G A G T G G C T C A
C A C C T G T A A T C C C A G C A C T T T G A G A G G C C A A G G C G G G A G G
A T C A T T T G A G C C C A A A A T T T C T A G A C C A G C C T G G G C A A C A
A A G C G A G A C C T C A T C T C T A C A A A A A A T T T A A A A A G C A A C T
G G C A A T G T G G C G C A T A C C T G T A G T C C C A C C T A C T T G G G A G
G C C A A G G T T G G A G G A T C A C T G G A A C C T G G A A G G T T G A G G C
T G C A G T G A G C T G T G C C A C T G C A T T C C A A C C T G G G T G A C A G
A G C A A G A T C C T G T C T C A A A A A A A A C C C A A A A A A A T T G G G T

10

20

30

40

50

GTGTATTTTCCACTTAGAGCACGTCCTCAATTTGGACCAGG
GCTGGTGAGCTACAGGAAGCTAGTGGCCACTGCATTGGAC
AGCACATGTGTGTAGGCTGAGAAAGATCAAAGAAGCCCAG
CCGTGGTAGCTCACGCCCTGTAATCCCAACATTTATGGGGAGG
CTGAGGTTGGAACGATTACTTTGAGCCCAGGAGTTTGGAGACC
AGGCTGGGGCAACATAGTGAGACACCATCTCTACAAAAAAT
AAAAAATTAGGCTGGGGCGCGGTGGCTCACGCTTGTAAATCCC
AGCACTTTGGGAGGGCCGAGGGCGGGCGGATCATCTGAGGTC
AGGAGTTTGGAGACCAGCTTTGGCCAACATGGCGAAACCCTG
TCTCTACTAAAAAATAAAAAAATTAGCCGGGGCGTGTGGCA
CGCGCCTGTAAATCCCAGCTACCCAGCAGGCTGAAGCAGGA
GAATCGCTGGAACCTGGGAGGGCGGAGGCTGCAGTGAGCCA
AGATCGCACCACTGCATTCCAGCCTGGGGCGACAGAGCAAG
ACTCCATCTCAAAAAAATAAAAAAATAAAAAATAATT
AAATTAATAATTTTAAAAAATAAGAGAGAAGGGACACTCTG
AGATGCTCATTTGCAGGAACCCCTCAAGGGGGCAAGTTGTAA
GCCGAAGGCTGCAGATGGGGTGCCACAGTGTTGGAAATGGT
GAGGTGGAGGGAATATCTTCTTGGGAAAGAGGGAGACTG
GCGGTGTTCCAAAGCCCTGATGGAGTGAGAAAGAGGACACC
TGGTGGGGGAAGGACTGTGTGTGTGTGTAGGGGGTGTTGAGTG
CCAGGTGCAGGTTGCCCTGGCCCTGGGGGCTGTGCGTGCCATC
CCCCCAGCTCAGGAACAGGGGCTAGCTCAGGGGCAGAGACT
GCTGTTCAATAATACTTTGTTGAATGAATGAATTAATTGATT
GAATGATATGAAGAGGATACTCTCCCTCTGAATATGAAAG
GGGACAGACCAGAGGAGGGGAGGATGAGGTGGGGAGGGGGCT
TCAGAGGGATGTGAACCCAAGGGGTGGTTGGGGGCTGTTG
GAGGATTCCCAGGGGCTGCACCTGCTGTCCACACCTCCC
TCCAAGGCCACCCCTGACCCCTGATATTACCCCTCCACCCA
GGGCACTTTCCAGCAGATGTGGATCTCCAAGCAGGAATAT
GAGGAGGGCGGGGAAGCAGTGCGTGAGAGCGAAAGTGCCCT
GATGGCACTCCTCCCCACACACCTGCTCCCAAGCTCAGAT
GGAAGTCCCTTAACCCCCCATGCCACATTGCCCTCCTC
CTTCCCTCTTGTCTCATTAATGGTGATGTTTCTGGGTT
GAAAGAAGTAATAAATGTTTTAAGAAAAA

配列番号 2

ACTL6B野生型成熟mRNA配列

GAGTCCCGCCCCCGCCAGGGGATCCCCGGGAGCTGTCCGGGCC
GCCCTCGGTGCTGATCCCGCCACCGCCACGGGGCCGCTAGC
AGCGCAGCGGGGCACTATGAGCGGGGGCGTCTACGGCGGGAG
ATGAGGTGGGGGCGCTGGTCTTTGACATTTGGCTCCTTCTC
AGTCCGCGCTGGGTACGCTGGGGAGGACTGTCCCAAGGCT
GACTTCCCCACCAACAGTGGGGGCTGCTGGCCCGCGGAGGAGG
GGGGCGGGGCTGGAGGCTGGAGGGGGGACAAAGAGAAAGAGG
GAAGATCTTCCACATCGACACCAATGCCCTGCACGTGCCCT
CGGGATGGAGCGGAGGTGATGTCGCCCTCAAGAAATGGCA
TGATCGAGGACTGGGAGTGCTTCCGAGCCATCCTGGATCA
CACCTACAGCAAAACAGTCAAGTCTGAGCCAAACCTGCAC
CCAGTGCTCATGTCCGAGGCTCCGTGGAAACACACGGGGCCA
AGCGGGAGAAAGCTGACAGAGCTGATGTTTCGAGCAGTACAA
CATTCTGCTTCTTCTTATGCAAGACGGGCTGTGCTCACCC

G C C T T T G C A A A C G G G C G G T C C A C T G G C C T C G T G C T G G A C A
G T G G A G C C A C C C A C A C C A C G G C C A T T C C A G T A C A T G A C G G
C T A C G T T C T G C A G C A A G G C A T C G T C A A G T C C C C T C T G G C A
G G G G A C T T C A T C T C C A T G C A G T G C C G G G A G C T G T T C C A G G
A G A T G G C C A T T G A C A T C A T C C C A C C T T A C A T G A T C G C A G C
C A A G G A G C C T G T C C G G G A G G G T G C C C C C C C A A A C T G G A A G
A A G A A G G A G A A G C T A C C C C A G G T C T C C A A G T C C T G G C A T A
A C T A C A T G T G T A A T G A G G T G A T C C A G G A C T T C C A G G C C T C
C G T G C T G C A G G T C T C A G A C T C C C C C T A C G A T G A A C A G G T G
G C T G C A C A A A T G C C C A C A G T G C A C T A C G A G A T G C C C A A T G
G C T A C A A T A C A G A C T A C G G C G C C G A G C G A C T C C G C A T C C C
T G A G G G C C T G T T T G A T C C C T C G A A C G T C A A G G G C C T G T C G
G G G A A C A C C A T G T T G G G T G T G G G C C A C G T G G T G A C C A C C A
G C A T C G G C A T G T G T G A C A T T G A T A T T C G C C C G G G C C T G T A
C G G G A G T G T C A T T G T C A C C G G C G G G A A C A C A C T G C T G C A G
G G C T T C A C T G A C A G G C T C A A T C G A G A G C T T T C C C A G A A G A
C C C C A C C G A G C A T G C G A C T G A A A C T C A T T G C C A G C A A C A G
C A C C A T G G A G C G C A A G T T C A G C C C C T G G A T C G G G G G T T C C
A T C C T G G C C T C A C T G G G C A C T T T C C A G C A G A T G T G G A T C T
C C A A G C A G G A A T A T G A G G A G G G C G G G A A G C A G T G C G T G G A
G C G A A A G T G C C C C T G A T G G C A C T C C T C C C C A C A C A C C T G C
T C C C A A G C T C A G A T G G A A G T C C C T T A A C C C C C A T G C C A C A
T T G C C C C C C T C C T C C T T T C C C T C T T G T C C T C A T T A A T G G T
G A T G T T T C T G G G T T G A A A G A A G T A A A A A T G T T T T A A G A A A
A A A A A

配列番号 3

A C T L 6 B 野生型タンパク質配列

M S G G V Y G G D E V G A L V F D I G S F S V R A G Y A G E D C P K A D F P T
T V G L L A A E E G G G L E L E G D K E K K G K I F H I D T N A L H V P R D G A
E V M S P L K N G M I E D W E C F R A I L D H T Y S K H V K S E P N L H P V L M
S E A P W N T R A K R E K L T E L M F E Q Y N I P A F F L C K T A V L T A F A N
G R S T G L V L D S G A T H T T A I P V H D G Y V L Q Q G I V K S P L A G D F I
S M Q C R E L F Q E M A I D I I P P Y M I A A K E P V R E G A P P N W K K K E K
L P Q V S K S W H N Y M C N E V I Q D F Q A S V L Q V S D S P Y D E Q V A A Q M
P T V H Y E M P N G Y N T D Y G A E R L R I P E G L F D P S N V K G L S G N T M
L G V G H V V T T S I G M C D I D I R P G L Y G S V I V T G G N T L L Q G F T D
R L N R E L S Q K T P P S M R L K L I A S N S T M E R K F S P W I G G S I L A S
L G T F Q Q M W I S K Q E Y E E G G K Q C V E R K C P *

配列番号 4

A C T L 6 B 変異体成熟 mRNA

G A G T C C C G C C C C G C C A G G G A T C C C G G G A G C T G T C C G G C C
G C C T C G G T G C T G A T C C C G C C A C C G C C C A C G G G C C G C T A G C
A G C G C A G C G G G C A C T A T G A G C G G G G G C G T C T A C G G C G G A G
A T G A G G T G G G G G C G C T G G T C T T T G A C A T T G G C T C C T T C T C
A G T C C G C G C T G G G T A C G C T G G G G A G G A C T G T C C C A A G G C T
G A C T T C C C C A C C A C A G T G G G G C T G C T G G C C G C G G A G G A G G
G G G G C G G G C T G G A G C T G G A G G G G G A C A A A G A G A A G A A A G G
G A A G A T C T T C C A C A T C G A C A C C A A T G C C C T G C A C G T G C C T
C G G G A T G G A G C G G A G G T C A T G T C G C C C C T C A A G A A T G G C A
T G A T C G A G G A C T G G G A G T G C T T C C G A G C C A T C C T G G A T C A

CACCTACAGCAAACACGTC AAGTCTGAGCCAAACCTGCAC
CCAGTGCTCATGTCCGAGGCTCCGGGCTAGTTTTCGAACCTCC
TGGGGTTCAAGCAATCCTCCTGCCTCGGGCCTCCCAAAGTG C
TGGGATTATAGGCTTGGAAACACACGGGGCCAAGCGGGAGGAAG
CTGACAGAGCTGATGTTTCGAGCAGTACAACATTTCTGCTCT
TCTTCTTATGCAAGACGGGCTGTGCTCACCGGCCTTTTGCAAA
CGGGCGGGTCCACTGGCCTCGTGCTGGACAGTGGAGCCACC
CACACCACGGGCCATTTCCAGTACATGACGGCTACGTTCTGC
AGCAAAGGCATCGTCAAGTCCCCCTCTGGCAGGGGACTTTCAT
CTCCATGCAGTGCCGGGAGCTGTTTCCAGGAGATGGCCATT
GACATCATCCCCACCTTACATGATCGCAGCCAAGGAGCCTG
TCCGGGAGGGGTGCCCCCCCAAACTGGGAAGAAAGAGGAGAA
GCTACCCCAGGTCTCCAAGTCTTGGCATAACTACATGTGT
AATGAGGTGATCCAGGACTTCCAGGCCCTCCGTGCTGCAGG
TCTCAGACTCCCCCTACGATGAACAGGTGGCTGCACAAAT
GCCCACAGTGCACCTACGAGATGCCCAATGGCTACAATACA
GACTACGGCGGCCGAGCGACTCCGCATCCCTGAGGGGCTGT
TTGATCCCTCGAAACGTCAAGGGCCTGTCTGGGGGAACACCAT
GTTGGGTGTGGGGCCACGTGGTGACCAACCAGCATCGGGCATG
TGTGACATTGATATTTCGCCCGGGCCTGTACGGGAGTGTCA
TTGTCAACCGGCGGGGAACACACTGCTGCAGGGGCTTCACTGA
CAGGCTCAATCGAGAGCTTTTCCCAGAAAGACCCCAACCGAGC
ATGCGACTGAAACTCATTTGCCAGCAACAGCACCATGGAGC
GCAAGTTTCAGCCCCCTGGATCGGGGGGTTTCCATCCTGGCCTC
ACTGGGCACTTTTCCAGCAGATGTGGATCTCCAAGCAGGAA
TATGAGGAGGGGCGGGGAAGCAGTGCGTGAGCGAAAGTGCC
CCTGATGGCACTCCTCCCCACACACCTGCTCCCAAGCTCA
GATGGAAGTCCCTTAACCCCCCATGCCACATTGCCCCCCCTC
CTCCTTTTCCCTCTTGTCTCTCATTAATGGTGATGTTTCTGG
GTTGAAAGAAAGTA AAAAATGTTTAAAGAAAAAAA

10

20

30

配列番号 5

ACTL6B変異体タンパク質配列

MSGGVYGGDEVGALVFDIGSF SVRAGYAGEDCPKADFPT
TVGLLAAEEGGGLELEGGDKEKKGKIFHIDTNALHVP RDGA
EVMSP LKNGMIEDWECFRAILDHTYSKHVKSEPNLHPVLM
SEAPASFELLGSSNP PASASQSAGIIGWNTRAKREKLTEL
MFEQYNIPAFFLCKTAVLTAFANGRSTGLVLD SGATHTTA
IPVHDGYVLQQGIVKSPLAGDFISMQCRELFQEMAI DIIP
PYMIAAKEPVREGAPPNWKKKEKLPQVSKSWHNYMCNEVI
QDFQASVLQVSDSPYDEQVAAQMPTVHYEMPNGYNTDYGA
ERLRIPEGLFDPSNVKGLSGNTMLGVGHVVTTSIGMCDID
IRPGLYGSVIVTGGNTLLQGFTDRLNRELSQKTPPSMRLK
LIASNSTMERKFSPWIGGSILASLGTFQQMWISKQEYEEG
GKQCVERKCP*

40

配列番号 6～97

ASO標的配列

配列番号 98～189

ASO配列

配列番号 190～193

ASO標的配列

50

配列番号 194 ~ 197

A S O 配列

配列番号 198

T C C A C A C T G A A C A A A C C

配列番号 199

標的領域 1

G A G A C A G C A T C T C A C T A T G T T G T C C A G G C T A G T T T C G A A
C T C C T G G G T T C A A G C A A T C C T C C T G C C T C G G C C T C C C A A A
G T G C T G G G A T T A T A G G C G T A A G C C A C C C T G T C T G G C C T G T
G C A A A T G T T T T A A A T G C A T G T G T G T G T G A C T G T G A G T G T G
A A T A T A T G T G T A T G T G T G T G T G T G A G T T T G T G T G T G A A T G
T G A G T A T A T

10

配列番号 200

標的領域 2

A C T C C T G G G T T C A A G C A A T C C T C C T G C C T C G G C C T C C C A
A A G T G C T G G G A T T A T A G G C G T A A G C C A C C C T G T C T G G C C T
G T G C A A A T G T T T T A A A T G C A T G T G T G T G T G A C T G T G A G T G
T G A A T A T A T G T G T A T G T G T G T G T G T G A G T

配列番号 201

標的領域 3

T C C T G G G T T C A A G C A A T C C T C C T G C C T C G G C C T C C C A A A
G T G C T G G G A T T A T A G G C G T A A G C C A C C C T G T C T G G C C T G T
G C A A A T G T T T T A A A T G C A T G T G T G T G T G A C T G T G A G T

20

配列番号 202

標的領域 4

T C C T G G G T T C A A G C A A T C C T C C T G C C T C G G C C T C C C A A A
G T G C T G G G A T T A T A G G C G T A A G C C A C C C T G T C T G G C C

配列番号 203

標的領域 5

G G G T T C A A G C A A T C C T C C T G C C T C G G C C T C C C A A A G T G C
T G G G A T T A T A G G C G T A A

30

配列番号 204

標的領域 6

A A G C A A T C C T C C T G C C T C G G C C

配列番号 205

標的領域 7

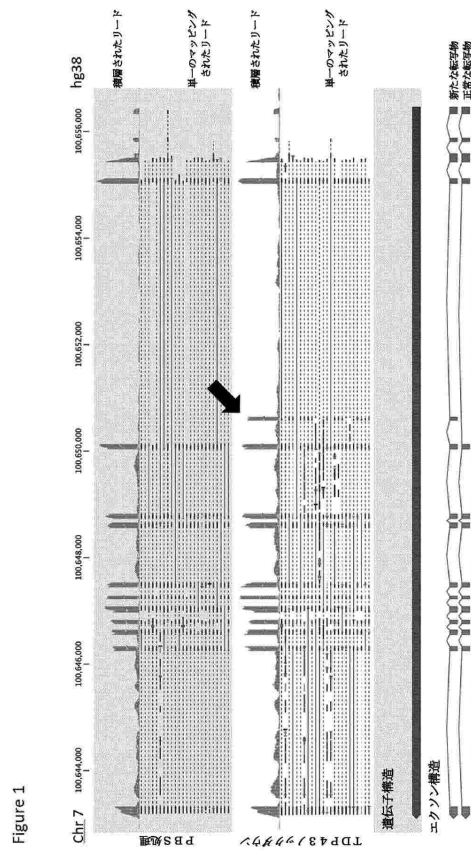
C T G G G A T T A T A G G C G T A A

40

50

【図面】

【図 1】



10

20

【配列表】

2025501457000001.xml

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	
	International application No. PCT/EP2022/084365
Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/084365

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/113
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/106382 A1 (COLD SPRING HARBOR LABORATORY [US]; STOKE THERAPEUTICS INC [US]) 22 June 2017 (2017-06-22) figure 1 paragraph [0004] paragraph [0437] examples 2, 3 sequences 9529, 20447, 21359, 22271, 2307 paragraph [0424] paragraph [0448] paragraph [0469] paragraph [0436] paragraph [0434] paragraph [0429] paragraph [0446] -/-	1-12, 14-18, 21, 22, 24, 25, 27-41, 44-56, 59-62

☒ 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

29 March 2023

Date of mailing of the international search report

11/04/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Solyga-Zurek, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/084365

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	paragraph [0449] ----- WO 2017/106370 A1 (COLD SPRING HARBOR LABORATORY [US]; STOKE THERAPEUTICS INC [US]) 22 June 2017 (2017-06-22) figure 1 paragraph [0004] claims 30-32, 82-84 paragraph [0266] - paragraph [0268] sequences 26195, 25602, 26193, 4615, 25604 paragraph [0255] paragraph [0279] -----	1-12, 14-18, 21,22, 24,25, 27-36, 39-41, 44-46, 49-52, 56,59-62
X	WO 2015/051283 A1 (RANA THERAPEUTICS INC [US]) 9 April 2015 (2015-04-09) claim 7 page 36, line 15 - page 37, line 25 page 45, line 30 - page 46, line 13 sequences 2656-2659 page 63, line 7 - page 65, line 12 page 50, line 1 - page 51, line 3 page 52, line 1 - page 55, line 4 page 55, line 24 - page 55, line 26 page 49, line 1 - page 49, line 4 page 2, line 1 - page 2, line 15 -----	1-12, 20-26, 30-42, 45-53, 56,59-64
X	PERRONE BENEDETTA ET AL: "Alternative Splicing of ALS Genes: Misregulation and Potential Therapies", CELLULAR AND MOLECULAR NEUROBIOLOGY, SPRINGER NEW YORK, US, vol. 40, no. 1, 5 August 2019 (2019-08-05), pages 1-14, XP036976756, ISSN: 0272-4340, DOI: 10.1007/s10571-019-00717-0 [retrieved on 2019-08-05]	13,43, 57,63,64
A	page 9, left-hand column, paragraph 2 - page 10, left-hand column, paragraph 1 page 6, left-hand column, paragraph 2 -----	19,58

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/084365

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017106382 A1	22-06-2017	CA 3005246 A1 EP 3389725 A1 EP 4104867 A2 JP 7049249 B2 JP 2019500349 A JP 2022062141 A WO 2017106382 A1	22-06-2017 24-10-2018 21-12-2022 06-04-2022 10-01-2019 19-04-2022 22-06-2017
WO 2017106370 A1	22-06-2017	CA 3005128 A1 EP 3390634 A1 JP 7036723 B2 JP 2019500348 A JP 2022046724 A WO 2017106370 A1	22-06-2017 24-10-2018 15-03-2022 10-01-2019 23-03-2022 22-06-2017
WO 2015051283 A1	09-04-2015	EP 3052632 A1 JP 2016534035 A US 2016222391 A1 WO 2015051283 A1	10-08-2016 04-11-2016 04-08-2016 09-04-2015

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	25/14 (2006.01)	A 6 1 P	25/16
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/14
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 P	25/00
		A 6 1 K	31/7088

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

(74)代理人 100138210

弁理士 池田 達則

(74)代理人 100170852

弁理士 白樫 依子

(72)発明者 ラース ヨーンソン

デンマーク国, 2 9 7 0 ヘルスホルム, フレムティドスバイ 3, セー／オー ロシュ イノベーション センター コペンハーゲン アクティーゼルスカブ

(72)発明者 ビティーナ ノアボ

デンマーク国, 2 9 7 0 ヘルスホルム, フレムティドスバイ 3, セー／オー ロシュ イノベーション センター コペンハーゲン アクティーゼルスカブ

(72)発明者 ヨーナス ビケソー

デンマーク国, 2 9 7 0 ヘルスホルム, フレムティドスバイ 3, セー／オー ロシュ イノベーション センター コペンハーゲン アクティーゼルスカブ

F ターム (参考) 4B065 AA90X AB01 AC20 BA02 CA44

4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA17 MA55 MA56 MA58
MA66 NA14 ZA01 ZA02 ZA15 ZA16 ZA94 ZB21 ZC02