(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-518731
(P2022-518731A)
(43)公表日　令和4年3月16日(2022.3.16)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/7125(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7125		４Ｃ０５７
Ｃ０７Ｈ	*21/04 (2006.01)*	Ｃ０７Ｈ	21/04	Ｚ	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*47/61 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/61		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*17/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全105頁）　最終頁に続く

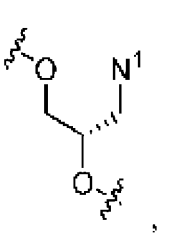
(21)出願番号　特願2021-541717(P2021-541717)
(86)(22)出願日　令和2年1月22日(2020.1.22)
(85)翻訳文提出日　令和3年9月16日(2021.9.16)
(86)国際出願番号　PCT/US2020/014512
(87)国際公開番号　WO2020/154344
(87)国際公開日　令和2年7月30日(2020.7.30)
(31)優先権主張番号　62/795,359
(32)優先日　平成31年1月22日(2019.1.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/900,011
(32)優先日　令和1年9月13日(2019.9.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/822,527
最終頁に続く

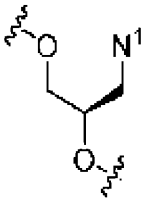
(71)出願人　521317782
コロ バイオ， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３９， ケンブリッジ， ワン ケンドール スクエア， ビルディング ６００， スイート ６－４０１
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　フレーリー， アンドリュー ダブリュ．
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３９， ケンブリッジ， ワン ケンドール スクエア， ビルディング ６００， スイート ６－４０１， シー／オー コロ バイオ， インコーポレイテッド
(72)発明者　ロビネット， スティーブン
最終頁に続く

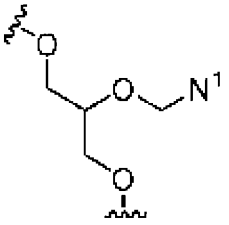
(54)【発明の名称】　ＲＮＡ編集オリゴヌクレオチド及びその使用

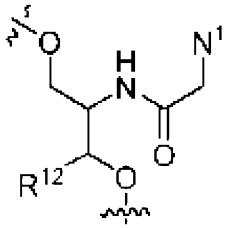
(57)【要約】
本開示は、ｍＲＮＡ中のアデノシンの脱アミノ化が、例えば、治療結果を必要とする対象において治療結果をもたらす障害を処置するのに有用な組成物及び方法を特徴とする。
【選択図】なし

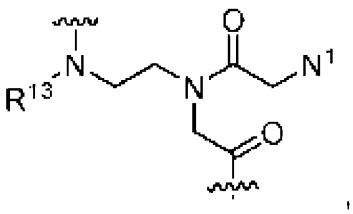
【特許請求の範囲】
【請求項１】
オリゴヌクレオチドであって、構造：
［Ａｍ］－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－［Ｂｎ］
を含み、式中、Ａ及びＢの各々がヌクレオチドであり、
ｍ及びｎが各々、独立して１～５０の整数であり、
Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３が各々、独立してヌクレオチドであり、Ｘ１、Ｘ２、またはＸ３のうち少なくとも１つが、式Ｉ～ＶＩ：

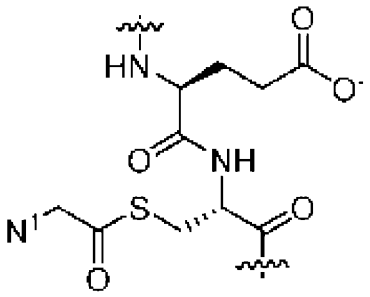

式Ｉ


式ＩＩ


式ＩＩＩ


式ＩＶ


式Ｖ


式ＶＩ

のいずれか１つの構造を有し、
式中、Ｎ１が、水素または核酸塩基であり、
Ｒ１２が、水素、ヒドロキシ、フルオロ、ハロゲン、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ヘテロアルキル、またはＣ１～Ｃ６アルコキシであり、
Ｒ１３が、水素またはＣ１～Ｃ６アルキルであり、
Ｘ１、Ｘ２、またはＸ３のうち少なくとも１つが、前記式Ｉ～ＩＶのいずれか１つの構造を有する、前記オリゴヌクレオチド。
【請求項２】
［Ａｍ］及び／または［Ｂｎ］の前記ヌクレオチドの少なくとも８０％が、核酸塩基、糖、及びヌクレオシド間結合を含む、請求項１に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項３】
Ｒ１２が、水素、ハロゲン、Ｃ１～Ｃ６アルキル、またはＣ１～Ｃ６ヘテロアルキルである、請求項１または２に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項４】
前記ハロゲンがフルオロである、請求項１～３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項５】
Ｒ１２が、水素またはＣ１～Ｃ６アルキルである、請求項１～４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項６】
Ｒ１２が水素である、請求項１～５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項７】

Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうち少なくとも１つが前記式Ｉの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１～６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項８】
Ｘ１が前記式Ｉの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項７に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項９】
Ｘ２が前記式Ｉの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項７または８に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１０】
Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうち少なくとも１つが前記式ＩＩの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１～６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１１】
Ｘ１が前記式ＩＩの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１０に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１２】
Ｘ２が前記式ＩＩの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１１または１２に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１３】
Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうち少なくとも１つが前記式ＩＶの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１～６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１４】
Ｘ１が前記式ＩＶの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１５】
Ｘ２が前記式ＩＶの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１３または１４に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１６】
Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうち少なくとも１つが前記式ＩＩＩの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１～６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１７】
Ｘ１が前記式ＩＩＩの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１６に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１８】
Ｘ２が前記式ＩＩＩの構造を有し、Ｎ１が核酸塩基である、請求項１６または１７に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項１９】
Ｘ２が前記式Ｉの構造を有しない、請求項１～８及び１０～１８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２０】
Ｘ３が前記式Ｉの構造を有しない、請求項１～１９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２１】
Ｘ２が前記式ＩＩの構造を有しない、請求項１～１１及び１３～２０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２２】
Ｘ３が前記式ＩＩの構造を有しない、請求項１～２１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２３】
Ｘ２が前記式ＩＶの構造を有しない、請求項１～１４及び１６～２２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項２４】
X^2が前記式Ｉまたは式ＩＩの構造を有する、請求項１～６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２５】
X^1が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^2及びX^3の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^2が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1及びX^3の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^3が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1及びX^2の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^1及びX^2の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^3が、リボヌクレオチド、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^1及びX^3の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^2が、リボヌクレオチド、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^2及びX^3の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1が、リボヌクレオチド、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドである、請求項１～２４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２６】
X^1が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^2及びX^3の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^2が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1及びX^3の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^3が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1及びX^2の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^1及びX^2の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^3が、リボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^1及びX^3の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^2が、リボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、X^2及びX^3の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1が、リボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドである、請求項２５に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項２７】
X^1が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^2及びX^3の各々がリボヌクレオチドであり、X^2が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、X^1

及びＸ３の各々がリボヌクレオチドであり、Ｘ３が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１及びＸ２の各々がリボヌクレオチドであり、Ｘ１及びＸ２の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ３がリボヌクレオチドであり、Ｘ１及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ２がリボヌクレオチドであり、Ｘ２及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１がリボヌクレオチドである、請求項２６に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項２８】

Ｘ１がヒポキサンチン核酸塩基を含む、請求項１～２７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項２９】

Ｘ１がウラシル核酸塩基を含む、請求項１～２７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３０】

Ｘ１がシトシン核酸塩基を含む、請求項１～２７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３１】

Ｘ３がヒポキサンチン核酸塩基を含む、請求項１～３０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３２】

Ｘ３がグアニン核酸塩基を含む、請求項１～３０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３３】

Ｘ３がアデニン核酸塩基を含む、請求項１～３０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３４】

Ｘ２がシトシン核酸塩基を含む、請求項１～３３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３５】

Ｘ２がウラシル核酸塩基を含む、請求項１～３３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３６】

Ｘ２が核酸塩基を含まない、請求項１～３３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３７】

Ｘ２が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドではない、請求項１～３６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３８】

Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３が、２’－Ｏ－メチルヌクレオチドではない、請求項１～３７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項３９】

［Ａｍ］が、少なくとも１個のヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを含む、請求項１～３８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４０】

［Ａｍ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－アミノヌクレオチド、少なくとも１個のアラビノ核酸ヌクレオチド、少なくとも１個の二環式ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個の拘束エチル（ｃＥｔ）ヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、請求項１～３９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４１】

［Ａｍ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－メチルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個のｃＥｔヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、請求項４０に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４２】

［Ａｍ］が、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチドを含む、請求項１～４１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４３】

［Ａｍ］が、少なくとも１つのホスホロチオエート結合を含む、請求項１～４２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４４】

［Ａｍ］が、少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含む、請求項１～４３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４５】

少なくとも１つのホスホロチオエート結合が立体的に純粋である、請求項４３または４４に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４６】

［Ｂｎ］が、少なくとも１個のヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを含む、請求項１～４５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４７】

［Ｂｎ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－アミノヌクレオチド、少なくとも１個のアラビノ核酸ヌクレオチド、少なくとも１個の二環式ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個のｃＥｔヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、請求項１～４６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４８】

［Ｂｎ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－メチルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個のｃＥｔヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、請求項４７に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項４９】

［Ｂｎ］が、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチドを含む、請求項１～４８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５０】

［Ｂｎ］が、少なくとも１つのホスホロチオエート結合を含む、請求項１～４９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５１】

［Ｂｎ］が、少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含む、請求項１～５０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５２】

少なくとも１つのホスホロチオエート結合が立体的に純粋である、請求項５０または請求項５１に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項５３】

［Ａｍ］及び［Ｂｎ］の全て合わせた前記ヌクレオチドの少なくとも２０％が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドである、請求項１～５２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

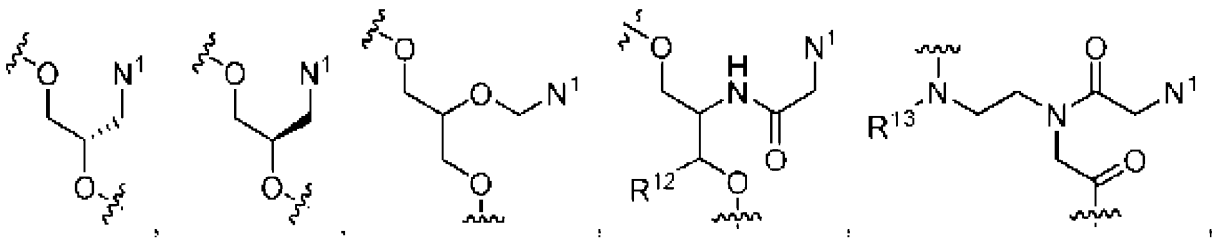
【請求項５４】

前記オリゴヌクレオチドが、さらに５’キャップ構造を含む、請求項１～５３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

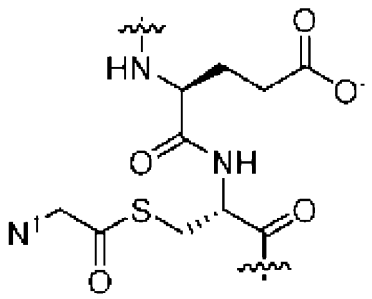
【請求項５５】
前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも１個の代替核酸塩基を含む、請求項１～５４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項５６】
前記５’末端ヌクレオチドが２’－アミノヌクレオチドである、請求項１～５５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項５７】
全て合わせたＡ及びＢが、１８～８０個のヌクレオチドからなる、請求項１～５６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項５８】
ｍが５～４０である、請求項１～５７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項５９】
ｎが５～４０である、請求項１～５８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項６０】
ｍ及びｎが各々、独立して５～４０の整数であり、Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうち少なくとも１つが、前記式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、または式ＩＶの構造を有し、式中、Ｎ１が核酸塩基であり、前記式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、または式ＩＶの構造を有しないＸ１、Ｘ２、及びＸ３の各々が、リボヌクレオチドであり、［Ａｍ］及び［Ｂｎ］が各々、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチド及び少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含み、［Ａｍ］及び［Ｂｎ］の全て合わせた前記ヌクレオチドの少なくとも２０％が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドである、請求項１に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項６１】
前記オリゴヌクレオチドが、１つ以上のＲＮＡに作用するアデノシンデアミナーゼ（ＡＤＡＲ）動員ドメインをさらに含む、請求項１～６０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【請求項６２】
標的化部分に複合化された、請求項１～６１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含む、複合体。
【請求項６３】
前記標的化部分が、脂質、ステロール、炭水化物、及び／またはペプチドである、請求項６１に記載の複合体。
【請求項６４】
複合物であって、
請求項１～６１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたは請求項６２もしくは６３に記載の複合体と、
ｍＲＮＡとを含み、
前記オリゴヌクレオチドまたは前記複合体及び前記ｍＲＮＡが互いにハイブリダイズされ、前記複合物が、前記ｍＲＮＡのアデノシンに第１ミスマッチを含む、前記複合物。
【請求項６５】
前記複合物が、前記第１ミスマッチの５’側に４個のヌクレオチドである第２ミスマッチを含む、請求項６４に記載の複合物。
【請求項６６】
前記複合物が、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または８つのミスマッチを含む、請求項６４または６５に記載の複合物。
【請求項６７】
前記ｍＲＮＡが、治療結果をもたらすために脱アミノ化される可能性のあるアデノシンを含む、請求項６４～６６のいずれか１項に記載の複合物。
【請求項６８】
前記ｍＲＮＡが、対応する天然ｍＲＮＡと比較して、グアノシンからアデノシンへの変異を含む、請求項６４～６６のいずれか１項に記載の複合物。

【請求項６９】
前記グアノシンからアデノシンへの変異が、ミスセンス変異またはナンセンス変異である、請求項６８に記載の複合物。
【請求項７０】
前記第１ミスマッチが、前記ｍＲＮＡの開始コドン中のアデノシンにある、請求項６４～６９のいずれか１項に記載の複合物。
【請求項７１】
前記第１ミスマッチが、前記ｍＲＮＡの終止コドン中のアデノシンにある、請求項６４～６９のいずれか１項に記載の複合物。
【請求項７２】
前記終止コドンが未成熟終止コドンである、請求項７１に記載の複合物。
【請求項７３】
請求項６４～７２のいずれか１項に記載の複合物の作製方法であって、細胞を請求項１～６１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたは請求項６２もしくは６３に記載の複合体と接触させることを含む、前記方法。
【請求項７４】
ｍＲＮＡ中のアデノシンの脱アミノ化方法であって、細胞を請求項１～６１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたは請求項６２もしくは６３に記載の複合体と接触させることを含む、前記方法。
【請求項７５】
障害の処置を必要とする対象の障害の処置方法であって、有効量の請求項１～６１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたは請求項６２もしくは６３に記載の複合体を前記対象に投与することを含む、前記方法。
【請求項７６】
前記障害が、嚢胞性線維症、白皮症、アルファ－１－アンチトリプシン欠損症、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、喘息、１１サラセミア、Ｃａｄａｓｉｌ症候群、シャルコー・マリー・トゥース病、慢性閉塞性肺疾患、遠位型脊髄性筋萎縮症、デュシェンヌ型／ベッカー型筋ジストロフィー、栄養障害型表皮水疱症、表皮水疱症、ファブリー病、第Ｖ因子ライデン関連障害、家族性大腸腺腫症、ガラクトース血症、ゴーシェ病、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ欠損症、血友病、遺伝性ヘモクロマトーシス、ハンター症候群、ハンチントン病、ハーラー症候群、炎症性腸疾患、遺伝性多凝集症候群、レーバー先天性黒内障、レッシュ・ナイハン症候群、リンチ症候群、マルファン症候群、ムコ多糖症、筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィーＩ型及びＩＩ型、神経線維腫、ニーマン・ピック病Ａ型、Ｂ型及びＣ型、ＮＹ－ＥＳＯ－１関連がん、パーキンソン病、ポイツ・ジェガース症候群、フェニルケトン尿症、ポンペ病、原発性線毛疾患、プロトロンビン変異関連障害、肺高血圧症、網膜色素変性症、サンドホフ病、重症複合免疫不全症候群、鎌状赤血球貧血、脊髄性筋萎縮症、シュタルガルト病、テイ・サックス病、アッシャー症候群、Ｘ連鎖性免疫不全、スタージ・ウェーバー症候群、レット症候群、またはがんである、請求項７５に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】
【０００１】
ＲＮＡに作用するアデノシンデアミナーゼ（ＡＤＡＲ）は、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）に結合し、脱アミノ化によってアデノシンをイノシンに変換する酵素である。ＲＮＡでは、イノシンは翻訳及び複製のためにグアノシンと同様に機能する。したがって、ｍＲＮＡ中におけるアデノシンからイノシンへの変換は、コードされたタンパク質及びその機能の変化につながる可能性のあるコドン変化をもたらし得る。ヒトで発現される既知のＡＤＡＲタンパク質には、ＡＤＡＲ１、ＡＤＡＲ２、及びＡＤＡＲ３の３つが存在する。ＡＤＡＲ１及びＡＤＡＲ２が全身で発現されるのに対して、ＡＤＡＲ３は脳でのみ発現される。ＡＤＡＲ１及びＡＤＡＲ２は触媒活性があるが、ＡＤＡＲ３は不活性であると考えられて

いる。
【０００２】
合成一本鎖オリゴヌクレオチドは、ＡＤＡＲタンパク質を利用して、標的ＲＮＡ中の特定のアデノシンを脱アミノ化させることによって標的ＲＮＡを編集できることが示されている。オリゴヌクレオチドは、脱アミノ化されるアデノシンの反対側の少なくとも１つのミスマッチを除いて、標的ＲＮＡに相補的である。しかしながら、これまでに開示された方法は、療法としてそれらの使用を可能にするために必要な選択性及び／または安定性を有するとは示されていない。したがって、ＡＤＡＲタンパク質を利用して、治療上有効な手法で標的ＲＮＡを選択的に編集できる新規オリゴヌクレオチドが必要である。
【発明の概要】
【０００３】
本発明は、標的ｍＲＮＡ中でアデノシン、例えば、治療結果を必要とする対象に治療結果をもたらすように脱アミノ化される可能性のある、例えば、アデノシンを脱アミノ化するのに有用な組成物及び方法を特徴とする。
【０００４】
ＲＮＡに作用するアデノシンデアミナーゼ（ＡＤＡＲ）は、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）のある特定の構造モチーフを認識し、アデノシンをイノシンへと編集する編集酵素であり、コードされたタンパク質及びその機能の変化につながる可能性のあるアミノ酸コドンの再コード化をもたらす。編集部位の周囲の核酸塩基、特に編集部位のすぐ５’側にある核酸塩基及び編集部位のすぐ３’側にある核酸塩基は、編集部位と共にトリプレットと称され、アデノシンの脱アミノ化において重要な役割を果たす。編集部位に対して５’位のＵ及び３’位のＧの優先度が、過剰発現したヒトＡＤＡＲ２及びＡＤＡＲ１によって効率的に編集された酵母ＲＮＡの分析から明らかとなった。Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１８）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，５７：１６４０－１６５１、Ｅｉｆｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１３）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，５２：７８５７－７８６９、及びＥｇｇｉｎｇｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１１）Ｎａｔ．Ｃｏｍｍｕｎ．，３１９：１－９を参照のこと。選択された転写物の特定の部位にＡＤＡＲを動員し、隣接する塩基に関係なくアデノシンを脱アミノ化することは、疾患の処置に大いに期待できる。ｄｓＲＮＡ／ＡＤＡＲ複合物の編集部位に関する構造的及びモデリング研究に基づいて、ガイドオリゴヌクレオチド中に組み込まれ得るいくつかの構造的特徴は、その特性によって、ＡＤＡＲの動員を増加させ、標的ＲＮＡの編集効率を増加させ得ると確認されている。化学修飾、例えば、グリコール核酸（ＧＮＡ）、柔軟な核酸（ＦＮＡ）及びセリノール核酸（ＳＮＡ）などを有する、ＡＤＡＲタンパク質を動員し、標的ＲＮＡ中において異なる周囲の塩基組成を有するアデノシンを脱アミノ化できる新規オリゴヌクレオチドが示されている。加えて、構造活性相関（ＳＡＲ）研究によって、トリプレット修飾に加えて、ガイドオリゴヌクレオチド中の全てではないが、一部のヌクレオシドのリボースに対する２’－Ｏ－メチル（２’－ＯＭｅ）修飾が、効率的なＡＤＡＲ結合及び編集と相性が良いことが明らかとなった。
【０００５】
本発明の例示的な実施形態が、以下に列挙される段落に記載される。
【０００６】
Ｅ１．オリゴヌクレオチドであって、構造：
［Ａｍ］－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－［Ｂｎ］
を含み、式中、Ａ及びＢの各々がヌクレオチドであり、
ｍ及びｎが各々、独立して１～５０の整数であり、
Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３が各々、独立してヌクレオチドであり、Ｘ１、Ｘ２、またはＸ３のうち少なくとも１つが、式Ｉ～ＶＩ：



式Ｉ　式ＩＩ　式ＩＩＩ　式ＩＶ　式Ｖ



式ＶＩ

のいずれか１つの構造を有し、
式中、Ｎ１が、水素または核酸塩基であり、
Ｒ１２が、水素、ヒドロキシ、フルオロ、ハロゲン、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ヘテロアルキル、またはＣ１～Ｃ６アルコキシであり、
Ｒ１３が、水素またはＣ１～Ｃ６アルキルであり、
Ｘ１、Ｘ２、またはＸ３のうち少なくとも１つが、前記式Ｉ～ＩＶのいずれか１つの構造を有する、前記オリゴヌクレオチド。

【０００７】

Ｅ２．［Ａｍ］及び／または［Ｂｎ］の前記ヌクレオチドの少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、または１００％）が、核酸塩基、糖、及びヌクレオシド間結合を含む、Ｅ１に記載のオリゴヌクレオチド。

【０００８】

Ｅ３．Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシル核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がシトシン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシル核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がシトシン核酸塩基を含むか、Ｘ１がウラシル核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がウラシル核酸塩基を含み

、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、X^1がウラシル核酸塩基を含み、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がウラシル核酸塩基を含むか、X^1がウラシル核酸塩基を含み、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がシトシン核酸塩基を含むか、X^1がシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がアデニン核酸塩基を含むか、X^1がシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、X^1がシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がウラシル核酸塩基を含むか、あるいはX^1がシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシンもしくはウラシル核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がシトシン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【０００９】

Ｅ４．R^{12}が、水素、ハロゲン、C_1～C_6アルキル、またはC_1～C_6ヘテロアルキルである、Ｅ１～Ｅ３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１０】

Ｅ５．前記ハロゲンがフルオロである、Ｅ１～Ｅ４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１１】

Ｅ６．R^{12}が、水素またはC_1～C_6アルキル（例えば、CH_3）である、Ｅ１～Ｅ５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１２】

Ｅ７．R^{12}が水素である、Ｅ１～Ｅ５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１３】

Ｅ８．X^1、X^2、及びX^3のうち少なくとも１つが前記式Ｉの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１～Ｅ７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１４】

Ｅ９．X^1が前記式Ｉの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ８に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１５】

Ｅ１０．X^2が前記式Ｉの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ８またはＥ９に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１６】

Ｅ１１．X^1、X^2、及びX^3のうち少なくとも１つが前記式ＩＩの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１～Ｅ７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１７】

Ｅ１２．X^1が前記式ＩＩの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１１に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１８】

Ｅ１３．X^2が前記式ＩＩの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１１またはＥ１２に記載のオリゴヌクレオチド。

【００１９】

Ｅ１４．X^1、X^2、及びX^3のうち少なくとも１つが前記式ＩＶの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１～Ｅ７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００２０】

Ｅ１５．X^1が前記式ＩＶの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１４に記載のオリゴヌクレオチド。

【００２１】

Ｅ１６．X^2が前記式ＩＶの構造を有し、N^1が核酸塩基である、Ｅ１４またはＥ１５に

記載のオリゴヌクレオチド。
【００２２】
Ｅ１７．Ｘ^{1}、Ｘ^{2}、及びＸ^{3}のうち少なくとも１つが前記式ＩＩＩの構造を有し、Ｎ^{1}が核酸塩基である、Ｅ１～Ｅ７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２３】
Ｅ１８．Ｘ^{1}が前記式ＩＩＩの構造を有し、Ｎ^{1}が核酸塩基である、Ｅ１７に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２４】
Ｅ１９．Ｘ^{2}が前記式ＩＩＩの構造を有し、Ｎ^{1}が核酸塩基である、Ｅ１７またはＥ１８に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２５】
Ｅ２０．Ｘ^{2}が前記式Ｉの構造を有しない、Ｅ１～Ｅ９及びＥ１１～Ｅ１９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２６】
Ｅ２１．Ｘ^{3}が前記式Ｉの構造を有しない、Ｅ１～Ｅ２０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２７】
Ｅ２２．Ｘ^{2}が前記式ＩＩの構造を有しない、Ｅ１～Ｅ１２及びＥ１４～Ｅ２１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２８】
Ｅ２３．Ｘ^{3}が前記式ＩＩの構造を有しない、Ｅ１～Ｅ２２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００２９】
Ｅ２４．Ｘ^{2}が前記式ＩＶの構造を有しない、Ｅ１～Ｅ１５及びＥ１７～Ｅ２３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００３０】
Ｅ２５．Ｘ^{2}が前記式Ｉまたは式ＩＩの構造を有する、Ｅ１～Ｅ７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００３１】
Ｅ２６．Ｘ^{1}が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ^{2}及びＸ^{3}の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ^{2}が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ^{1}及びＸ^{3}の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ^{3}が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ^{1}及びＸ^{2}の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ^{1}及びＸ^{2}の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ^{3}が、リボヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ^{1}及びＸ^{3}の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ^{2}が、リボヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチ

ド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ２及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１が、リボヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｃ1～Ｃ6アルキルヌクレオチド、２’－アミノヌクレオチド、アラビノ核酸ヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、ＬＮＡヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドである、Ｅ１～Ｅ２５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３２】

Ｅ２７．Ｘ１が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ２及びＸ３の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ２が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１及びＸ３の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ３が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１及びＸ２の各々が、独立してリボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ１及びＸ２の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ３が、リボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ１及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ２が、リボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドであり、Ｘ２及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１が、リボヌクレオチド、２’－Ｆ－ヌクレオチド、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、またはＤＮＡヌクレオチドである、Ｅ２６に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３３】

Ｅ２８．Ｘ１が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ２及びＸ３の各々がリボヌクレオチドであり、Ｘ２が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１及びＸ３の各々がリボヌクレオチドであり、Ｘ３が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１及びＸ２の各々がリボヌクレオチドであり、Ｘ１及びＸ２の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ３がリボヌクレオチドであり、Ｘ１及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ２がリボヌクレオチドであり、Ｘ２及びＸ３の各々が、前記式Ｉ～ＶＩのいずれか１つの構造を有する場合、Ｘ１がリボヌクレオチドである、Ｅ２７に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３４】

Ｅ２９．Ｘ１がヒポキサンチン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ２８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３５】

Ｅ３０．Ｘ１がウラシル核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ２８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３６】

Ｅ３１．Ｘ１がシトシン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ２８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３７】

Ｅ３２．Ｘ３がヒポキサンチン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ３１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

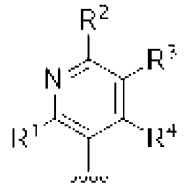
【００３８】

Ｅ３３．Ｘ３がグアニン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ３１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００３９】

Ｅ３４．Ｘ３がアデニン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ３１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００４０】
Ｅ３５．Ｘ^{2}がシトシン核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ３４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４１】
Ｅ３６．Ｘ^{2}がウラシル核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ３４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４２】
Ｅ３７．Ｘ^{2}が核酸塩基を含まない、Ｅ１～Ｅ３４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４３】
Ｅ３８．Ｘ^{2}が、構造：



（式中、Ｒ^{1}が、水素、トリフルオロメチル、場合により置換されるアミノ、ヒドロキシル、もしくは場合により置換されるＣ１～Ｃ６アルコキシであり、
Ｒ^{2}が、水素、場合により置換されるアミノ、もしくは場合により置換されるＣ１～Ｃ６アルキルであり、
Ｒ^{3}及びＲ^{4}が、独立して水素、ハロゲン、もしくは場合により置換されるＣ１～Ｃ６アルキルである）
を有する核酸塩基、またはその塩を含む、Ｅ１～Ｅ３４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４４】
Ｅ３９．Ｘ^{2}が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドではない、Ｅ１～Ｅ３８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４５】
Ｅ４０．Ｘ^{1}、Ｘ^{2}、及びＸ^{3}が、２’－Ｏ－メチルヌクレオチドではない、Ｅ１～Ｅ３９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４６】
Ｅ４１．［Ａｍ］が、少なくとも１個のヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを含む、Ｅ１～Ｅ４０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４７】
Ｅ４２．［Ａｍ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－Ｃ$_{1}$～Ｃ６アルキルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－アミノヌクレオチド、少なくとも１個のアラビノ核酸ヌクレオチド、少なくとも１個の二環式ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個の拘束エチル（ｃＥｔ）ヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、Ｅ１～Ｅ４１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４８】
Ｅ４３．［Ａｍ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－メチルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個のｃＥｔヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、Ｅ４２に記載のオリゴヌクレオチド。
【００４９】
Ｅ４４．［Ａｍ］が、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチドを含む、Ｅ１

～Ｅ４３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５０】
Ｅ４５．［Ａｍ］が、少なくとも１つのホスホロチオエート結合を含む、Ｅ１～Ｅ４４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５１】
Ｅ４６．［Ａｍ］が、少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含む、Ｅ１～Ｅ４５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５２】
Ｅ４７．少なくとも１つのホスホロチオエート結合が立体的に純粋である、Ｅ４５またはＥ４６に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５３】
Ｅ４８．［Ｂｎ］が、少なくとも１個のヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを含む、Ｅ１～Ｅ５７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５４】
Ｅ４９．［Ｂｎ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－C_1～C_6アルキルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－アミノヌクレオチド、少なくとも１個のアラビノ核酸ヌクレオチド、少なくとも１個の二環式ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個のｃＥｔヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、Ｅ１～Ｅ４８のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５５】
Ｅ５０．［Ｂｎ］が、少なくとも１個の２’－Ｏ－メチルヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｆ－ヌクレオチド、少なくとも１個の２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド、少なくとも１個のｃＥｔヌクレオチド、少なくとも１個のＬＮＡヌクレオチド、及び／または少なくとも１個のＤＮＡヌクレオチドを含む、Ｅ４９に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５６】
Ｅ５１．［Ｂｎ］が、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチドを含む、Ｅ１～Ｅ５０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５７】
Ｅ５２．［Ｂｎ］が、少なくとも１つのホスホロチオエート結合を含む、Ｅ１～Ｅ５１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５８】
Ｅ５３．［Ｂｎ］が、少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含む、Ｅ１～Ｅ５２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００５９】
Ｅ５４．少なくとも１つのホスホロチオエート結合が立体的に純粋である、Ｅ５０またはＥ５３に記載のオリゴヌクレオチド。
【００６０】
Ｅ５５．［Ａｍ］及び［Ｂｎ］の全て合わせた前記ヌクレオチドの少なくとも２０％（例えば、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または１００％）が、２’－Ｏ－メチルヌクレオチドである、Ｅ１～Ｅ５４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００６１】
Ｅ５６．前記オリゴヌクレオチドが、さらに５’キャップ構造を含む、Ｅ１～Ｅ５５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００６２】
Ｅ５７．前記５’キャップ構造が、２，２，７－トリメチルグアノシンキャップである、Ｅ５６に記載のオリゴヌクレオチド。
【００６３】

Ｅ５８．前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも１個の代替核酸塩基を含む、Ｅ１～Ｅ５７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００６４】

Ｅ５９．前記代替核酸塩基が、５－メチルシトシン、５－ヒドロキシシトシン、５－メトキシシトシン、Ｎ^4－メチルシトシン、Ｎ^3－メチルシトシン、Ｎ^4－エチルシトシン、シュードイソシトシン、５－フルオロシトシン、５－ブロモシトシン、５－ヨードシトシン、５－アミノシトシン、５－エチニルシトシン、５－プロピニルシトシン、ピロロシトシン、５－アミノメチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン、ナフチリジン、５－メトキシウラシル、シュードウラシル、ジヒドロウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、２－チオチミン、４－チオチミン、５，６－ジヒドロチミン、５－ハロウラシル、５－プロピニルウラシル、５－アミノメチルウラシル、５－ヒドロキシメチルウラシル、ヒポキサンチン、７－デアザグアニン、８－アザ－７－デアザグアニン、７－アザ－２，６－ジアミノプリン、チエノグアニン、Ｎ^1－メチルグアニン、Ｎ^2－メチルグアニン、６－チオグアニン、８－メトキシグアニン、８－アリルオキシグアニン、７－アミノメチル－７－デアザグアニン、７－メチルグアニン、イミダゾピリドピリミジン、７－デアザアデニン、３－デアザアデニン、８－アザ－７－デアザアデニン、８－アザ－７－デアザアデニン、Ｎ^1－メチルアデニン、２－メチルアデニン、Ｎ^6－メチルアデニン、７－メチルアデニン、８－メチルアデニン、または８－アジドアデニンである、Ｅ５８に記載のオリゴヌクレオチド。

【００６５】

Ｅ６０．前記代替核酸塩基が、２－アミノ－プリン、２，６－ジアミノ－プリン、３－デアザ－アデニン、７－デアザ－アデニン、７－メチル－アデニン、８－アジド－アデニン、８－メチル－アデニン、５－ヒドロキシメチル－シトシン、５－メチル－シトシン、ピロロ－シトシン、７－アミノメチル－７－デアザ－グアニン、７－デアザ－グアニン、７－メチル－グアニン、８－アザ－７－デアザ－グアニン、チエノ－グアニン、ヒポキサンチン、４－チオ－ウラシル、５－メトキシ－ウラシル、ジヒドロ－ウラシル、またはシュードウラシルである、Ｅ５８に記載のオリゴヌクレオチド。

【００６６】

Ｅ６１．前記代替核酸塩基が、５－メチル－シトシンまたは２－アミノ－プリンである、Ｅ５８に記載のオリゴヌクレオチド。

【００６７】

Ｅ６２．前記５’末端ヌクレオチドが２’－アミノヌクレオチドである、Ｅ１～Ｅ６１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００６８】

Ｅ６３．全て合わせたＡ及びＢが、１８～８０個のヌクレオチド（例えば、２７～７１個、３６～６２個、４５～５３個、または４７～５１個のヌクレオチド）からなる、Ｅ１～Ｅ６２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００６９】

Ｅ６４．ｍが、５～４０（例えば、８～３６、１２～３２、１６～２８、２０～２４、または３０～４０）である、Ｅ１～Ｅ６３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００７０】

Ｅ６５．ｎが、５～４０（例えば、７～１７、８～３６、１２～３２、１６～２８、または２０～２４）である、Ｅ１～Ｅ６４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００７１】

Ｅ６６．ｍ及びｎが各々、独立して５～４０の整数であり、Ｘ^1、Ｘ^2、及びＸ^{3}のうち少なくとも１つが、前記式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、または式ＩＶの構造を有し、式中、Ｎ^{1}が核酸塩基であり、前記式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、または式ＩＶの構造を有しないＸ^1、Ｘ^2、及びＸ^{3}の各々が、リボヌクレオチドであり、［Ａｍ］及び［Ｂｎ］が各々、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチド及び少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含み、［Ａｍ］及び［Ｂｎ］の全て合わせた前記ヌクレオチドの少なくと

も２０％が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドである、Ｅ１に記載のオリゴヌクレオチド。

【００７２】

Ｅ６７．Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、Ｘ１がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含むか、Ｘ１がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、Ｘ１がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含むか、Ｘ１がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、あるいはＸ１がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含む、Ｅ６６に記載のオリゴヌクレオチド。

【００７３】

Ｅ６８．前記オリゴヌクレオチドが、１つ以上のＲＮＡに作用するアデノシンデアミナーゼ（ＡＤＡＲ）動員ドメインをさらに含む、Ｅ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００７４】

Ｅ６９．前記オリゴヌクレオチドが、１つのＡＤＡＲ動員ドメインを含む、Ｅ６８に記載のオリゴヌクレオチド。

【００７５】

Ｅ７０．前記ＡＤＡＲ動員ドメインが、前記オリゴヌクレオチドの５’末端にある、Ｅ６

９に記載のオリゴヌクレオチド。
【００７６】
Ｅ７１．前記ＡＤＡＲ動員ドメインが、前記オリゴヌクレオチドの３’末端にある、Ｅ６９に記載のオリゴヌクレオチド。
【００７７】
Ｅ７２．前記オリゴヌクレオチドが、第１ＡＤＡＲ動員ドメイン及び第２ＡＤＡＲ動員ドメインを含む、Ｅ６８に記載のオリゴヌクレオチド。
【００７８】
Ｅ７３．前記第１ＡＤＡＲ動員ドメインが、前記オリゴヌクレオチドの前記５’末端にあり、前記第２ＡＤＡＲ動員ドメインが、前記オリゴヌクレオチドの前記３’末端にある、Ｅ７２に記載のオリゴヌクレオチド。
【００７９】
Ｅ７４．前記オリゴヌクレオチドが、式ＶＩＩ：
Ｃ－$Ｌ_1$－Ｄ－$Ｌ_2$－［Ａｍ］－$Ｘ^1$－$Ｘ^2$－$Ｘ^3$－［Ｂｎ］
式ＶＩＩ
の構造を含み、式中：
［Ａｍ］－$Ｘ^1$－$Ｘ^2$－$Ｘ^3$－［Ｂｎ］が、Ｅ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドであり、
Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
$Ｌ_1$がループ領域であり、
Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
$Ｌ_2$が任意のリンカーであり、
前記オリゴヌクレオチドが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含み、前記二本鎖構造が、ＣのヌクレオチドとＤのヌクレオチドとの間に少なくとも１つのミスマッチを含み、ＣまたはＤが、少なくとも１個の代替核酸塩基を含む、Ｅ６８～７３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８０】
Ｅ７５．Ｃ及びＤが、少なくとも１個の代替核酸塩基を含む、Ｅ７４に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８１】
Ｅ７６．$Ｌ_1$が連結ヌクレオシドを含む、Ｅ７４またはＥ７５に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８２】
Ｅ７７．$Ｌ_1$が連結ヌクレオシドからなる、Ｅ７６に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８３】
Ｅ７８．$Ｌ_1$が、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ７４～Ｅ７７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８４】
Ｅ７９．ＣまたはＤが、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ７４～Ｅ７７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８５】
Ｅ８０．Ｃ及びＤが、各々独立して少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ７５～Ｅ７８に記載のオリゴヌクレオチド。
【００８６】
Ｅ８１．前記オリゴヌクレオチドが、式ＶＩＩＩ：
Ｃ－$Ｌ_1$－Ｄ－$Ｌ_2$－［Ａｍ］－$Ｘ^1$－$Ｘ^2$－$Ｘ^3$－［Ｂｎ］
式ＶＩＩＩ
の構造を含み、式中：

［Ａｍ］－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－［Ｂｎ］が、Ｅ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドであり、
Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
Ｌ１が、連結ヌクレオシドからならないループ領域であり、
Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
Ｌ２が任意のリンカーであり、
前記オリゴヌクレオチドが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含み、前記二本鎖構造が、ＣのヌクレオチドとＤのヌクレオチドとの間に少なくとも１つのミスマッチを含む、Ｅ６８～Ｅ７３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００８７】
Ｅ８２．Ｌ１が、式ＩＸ：
Ｆ１－（Ｇ１）ｊ－（Ｈ１）ｋ－（Ｇ２）ｍ－（Ｉ）－（Ｇ３）ｎ－（Ｈ２）ｐ－（Ｇ４）ｑ－Ｆ２
式ＩＸ
の構造を有し、式中、Ｆ１が前記ループ領域とＣとの間の結合であり、Ｆ２がＤと［Ａｍ］との間の結合またはＤと場合により、前記リンカーとの間の結合であり、Ｇ１、Ｇ２、Ｇ３、及びＧ４が各々、独立して場合により置換されるＣ１～Ｃ２アルキル、場合により置換されるＣ１～Ｃ３ヘテロアルキル、Ｏ、Ｓ、及びＮＲＮから選択され、ＲＮが、水素、場合により置換されるＣ１～４アルキル、場合により置換されるＣ２～４アルケニル、場合により置換されるＣ２～４アルキニル、場合により置換されるＣ２～６ヘテロシクリル、場合により置換されるＣ６～１２アリール、または場合により置換されるＣ１～７ヘテロアルキルであり、Ｃ１及びＣ２が各々、独立してカルボニル、チオカルボニル、スルホニル、またはホスホリルから選択され、ｊ、ｋ、ｍ、ｎ、ｐ、及びｑが各々、独立して０または１であり、Ｉが、場合により置換されるＣ１～１０アルキル、場合により置換されるＣ２～１０アルケニル、場合により置換されるＣ２～１０アルキニル、場合により置換されるＣ２～６ヘテロシクリル、場合により置換されるＣ６～１２アリール、場合により置換されるＣ２～Ｃ１０ポリエチレングリコール、もしくは場合により置換されるＣ１～１０ヘテロアルキル、またはＦ１－（Ｇ１）ｊ－（Ｈ１）ｋ－（Ｇ２）ｍ－（Ｉ）－（Ｇ３）ｎ－（Ｈ２）ｐ－（Ｇ４）ｑ－Ｆ２を連結する化学結合である、Ｅ８１に記載のオリゴヌクレオチド。

【００８８】
Ｅ８３．Ｌ１が、炭水化物含有連結部分を含む、Ｅ８１またはＥ８２に記載のオリゴヌクレオチド。

【００８９】
Ｅ８４．前記ＣまたはＤが、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ８１～Ｅ８３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９０】
Ｅ８５．Ｃ及びＤが各々、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ８１～Ｅ８３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９１】
Ｅ８６．前記オリゴヌクレオチドが、式Ｘ：
Ｃ－Ｌ１－Ｄ－Ｌ２－［Ａｍ］－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－［Ｂｎ］
式Ｘ
の構造を含み、式中：
［Ａｍ］－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－［Ｂｎ］が、Ｅ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドであり、
Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、

L_1が、少なくとも１個の代替核酸塩基または少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合を含むループ領域であり、
Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
L_2が任意のリンカーであり、
前記オリゴヌクレオチドが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含み、前記二本鎖構造が、ＣのヌクレオチドとＤのヌクレオチドとの間に少なくとも１つのミスマッチを含む、Ｅ６８～Ｅ７３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９２】

Ｅ８７．L_1が、少なくとも１個の代替核酸塩基及び少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合を含む、Ｅ８６に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９３】

Ｅ８８．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＩ：
$C-L_1-D-L_2-[A_m]-X^1-X^2-X^3-[B_n]$
式ＸＩ
の構造を含み、式中：
$[A_m]-X^1-X^2-X^3-[B_n]$が、Ｅ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドであり、
Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
L_1が、少なくとも１つの代替糖部分を含むループ領域であり、前記代替糖部分が、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキル糖部分、２’－アミノ糖部分、２’－フルオロ糖部分、２’－Ｏ－ＭＯＥ糖部分、アラビノ核酸（ＡＮＡ）糖部分、デオキシリボース糖部分、及び二環式核酸からなる群から選択され、
Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、
L_2が任意のリンカーであり、
前記オリゴヌクレオチドが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含み、前記二本鎖構造が、ＣのヌクレオチドとＤのヌクレオチドとの間に少なくとも１つのミスマッチを含む、Ｅ６８～Ｅ７３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９４】

Ｅ８９．前記二環式糖部分が、オキシ－ＬＮＡ糖部分、チオ－ＬＮＡ糖部分、アミノ－ＬＮＡ糖部分、ｃＥｔ糖部分、及びエチレン架橋型（ＥＮＡ）糖部分、及びＬＮＡ糖部分から選択される、Ｅ８７に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９５】

Ｅ９０．前記ＡＮＡ糖部分が、２’－フルオロ－ＡＮＡ糖部分である、Ｅ８８またはＥ８９に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９６】

Ｅ９１．ＣまたはＤが、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ８６～Ｅ９０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９７】

Ｅ９２．Ｃ及びＤが各々、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む、Ｅ８６～Ｅ９０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９８】

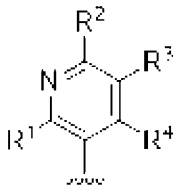
Ｅ９３．Ｃが、Ｄの少なくとも５個の隣接する核酸塩基に相補的である、Ｅ７４～Ｅ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【００９９】

Ｅ９４．Ｃの前記核酸塩基の少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、または１００％）が、Ｄの前記核酸塩基

と相補的である、Ｅ７４～Ｅ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１００】
Ｅ９５．Ｃが、配列番号．１、４、７、１０、１３、１６、１９、２２、２５、２８、３１、及び３４のいずれか１つに示される核酸塩基配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する核酸塩基配列を含む、Ｅ７４～Ｅ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０１】
Ｅ９６．Ｄが、配列番号．２、５、８、１１、１４、１７、２０、２３、２６、２９、３２、及び３５のいずれか１つに示される核酸塩基配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する核酸塩基配列を含む、Ｅ７４～Ｅ９５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０２】
Ｅ９７．Ｃ－Ｌ$_1$－Ｄが、配列番号．３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、２７、３０、３３、及び３６のいずれか１つに示される核酸塩基配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する核酸塩基配列を含む、Ｅ７４～Ｅ９６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０３】
Ｅ９８．前記少なくとも１個の代替核酸塩基が、５－メチルシトシン、５－ヒドロキシシトシン、５－メトキシシトシン、Ｎ^4－メチルシトシン、Ｎ^3－メチルシトシン、Ｎ^4－エチルシトシン、シュードイソシトシン、５－フルオロシトシン、５－ブロモシトシン、５－ヨードシトシン、５－アミノシトシン、５－エチニルシトシン、５－プロピニルシトシン、ピロロシトシン、５－アミノメチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン、ナフチリジン、５－メトキシウラシル、シュードウラシル、ジヒドロウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、２－チオチミン、４－チオチミン、５，６－ジヒドロチミン、５－ハロウラシル、５－プロピニルウラシル、５－アミノメチルウラシル、５－ヒドロキシメチルウラシル、ヒポキサンチン、７－デアザグアニン、８－アザ－７－デアザグアニン、７－アザ－２，６－ジアミノプリン、チエノグアニン、Ｎ^1－メチルグアニン、Ｎ^2－メチルグアニン、６－チオグアニン、８－メトキシグアニン、８－アリルオキシグアニン、７－アミノメチル－７－デアザグアニン、７－メチルグアニン、イミダゾピリドピリミジン、７－デアザアデニン、３－デアザアデニン、８－アザ－７－デアザアデニン、８－アザ－７－デアザアデニン、Ｎ^1－メチルアデニン、２－メチルアデニン、Ｎ^6－メチルアデニン、７－メチルアデニン、８－メチルアデニン、または８－アジドアデニンからなる群から選択される、Ｅ７４～Ｅ８０、Ｅ８４～Ｅ８７、Ｅ９１、及びＥ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０４】
Ｅ９９．前記少なくとも１個の代替核酸塩基が、２－アミノ－プリン、２，６－ジアミノ－プリン、３－デアザ－アデニン、７－デアザ－アデニン、７－メチル－アデニン、８－アジド－アデニン、８－メチル－アデニン、５－ヒドロキシメチル－シトシン、５－メチル－シトシン、ピロロ－シトシン、７－アミノメチル－７－デアザ－グアニン、７－デアザ－グアニン、７－メチル－グアニン、８－アザ－７－デアザ－グアニン、チエノ－グアニン、ヒポキサンチン、４－チオ－ウラシル、５－メトキシ－ウラシル、ジヒドロ－ウラシル、またはシュードウラシルからなる群から選択される、Ｅ７４～Ｅ８０、Ｅ８４～Ｅ８７、Ｅ９１、またはＥ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０５】
Ｅ１００．前記少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、２’－アルコキシヌクレオシド間結合、及びアルキルホスフェートヌクレオシド間結合からなる群から選択される、Ｅ７４～Ｅ８０、Ｅ８４～Ｅ８７、Ｅ９１、またはＥ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０６】
Ｅ１０１．前記少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合が、少なくとも１つのホスホロ

チオエートヌクレオシド間結合である、Ｅ１００に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０７】
Ｅ１０２．前記少なくとも１つの代替糖部分が、２’－Ｏ－アルキル糖部分、２’－Ｏ－メチル糖部分、２’－アミノ糖部分、２’－フルオロ糖部分、２’－Ｏ－ＭＯＥ糖部分、ＡＮＡ糖部分、デオキシリボース糖部分、及び二環式核酸からなる群から選択される、Ｅ７９、Ｅ８１、Ｅ８４、Ｅ８５、Ｅ８９、またはＥ９２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０８】
Ｅ１０３．前記二環式糖部分が、オキシ－ＬＮＡ糖部分、チオ－ＬＮＡ糖部分、アミノ－ＬＮＡ糖部分、ｃＥｔ糖部分、及びエチレン架橋型（ＥＮＡ）糖部分、及びＬＮＡ糖部分から選択される、Ｅ１０２に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１０９】
Ｅ１０４．前記ＡＮＡ糖部分が、２’－フルオロ－ＡＮＡ糖部分である、Ｅ１０２またはＥ１０３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１０】
Ｅ１０５．前記少なくとも１つの代替糖部分が、２’－Ｏ－メチル糖部分、２’－フルオロ糖部分、または２’－Ｏ－ＭＯＥ糖部分である、Ｅ１０２に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１１】
Ｅ１０６．前記少なくとも１つのミスマッチが、ＡからＣの対のミスマッチ、ＧからＧの対のミスマッチ、またはＣからＡの対のミスマッチである、Ｅ７５～Ｅ１０５のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１２】
Ｅ１０７．前記オリゴヌクレオチドが、Ｃのヌクレオチドと Ｄのヌクレオチドとの間に少なくとも２つのミスマッチを含む、Ｅ１０６に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１３】
Ｅ１０８．前記少なくとも２つのミスマッチが、少なくとも３個の連結ヌクレオシドによって分離されている、Ｅ１０７に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１４】
Ｅ１０９．前記少なくとも２つのミスマッチが、３個の連結ヌクレオシドによって分離されている、Ｅ１０８に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１５】
Ｅ１１０．前記少なくとも１つのミスマッチが、代替核酸塩基を有するヌクレオシドを含む、Ｅ７４～Ｅ１０９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１６】
Ｅ１１１．前記代替核酸塩基が、構造：



（式中、Ｒ１が、水素、トリフルオロメチル、場合により置換されるアミノ、ヒドロキシル、もしくは場合により置換されるＣ１～Ｃ６アルコキシであり、
Ｒ２が、水素、場合により置換されるアミノ、もしくは場合により置換されるＣ１～Ｃ６アルキルであり、
Ｒ３及びＲ４が、独立して水素、ハロゲン、もしくは場合により置換されるＣ１～Ｃ６アルキルである）
を有するか、またはその塩である、Ｅ１１０に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１１７】

Ｅ１１２．Ｃ－Ｌ$_1$－ＤがＡＤＡＲ動員ドメインである、Ｅ７４～Ｅ１１１のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１１８】

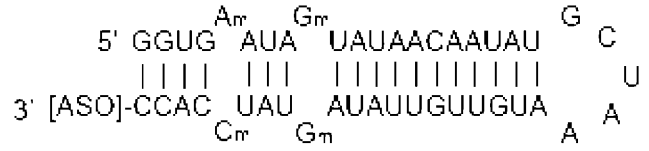
Ｅ１１３．前記１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメインが、グルタミン酸イオンチャネル型受容体ＡＭＰＡ型サブユニット２（ＧｌｕＲ２）ＡＤＡＲ動員ドメインである、Ｅ６９～Ｅ７３またはＥ１１２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１１９】

Ｅ１１４．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．３７のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１２０】

Ｅ１１５．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＩＩ：



式ＸＩＩ

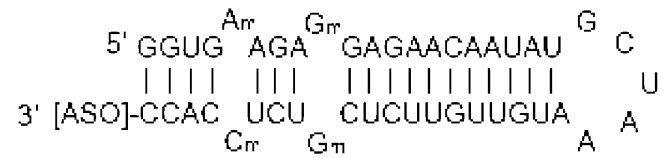
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１１４に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１２１】

Ｅ１１６．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．３８のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１２２】

Ｅ１１７．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＩＩＩ：



式ＸＩＩＩ

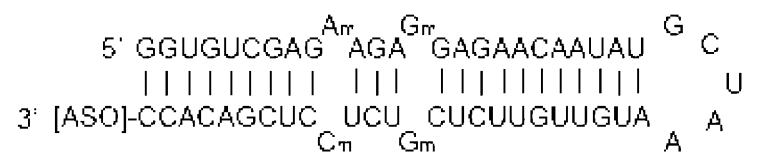
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１１６に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１２３】

Ｅ１１８．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．３９のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１２４】

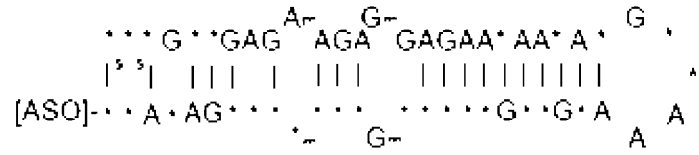
Ｅ１１９．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＩＶ：



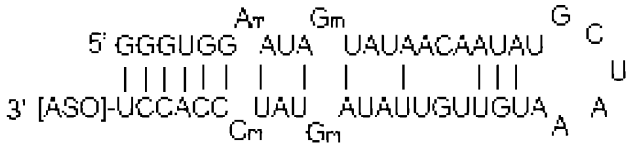
式ＸＩＶ

の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１１８に記載のオリゴヌクレオチド

。
【０１２５】
Ｅ１２０．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４０のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１７に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１２６】
Ｅ１２１．前記１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメインが、少なくとも１個のヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを含む、Ｅ６８～Ｅ７３またはＥ１１２～Ｅ１２０のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１２７】
Ｅ１２２．前記ヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドが、２’－Ｏ－メチルヌクレオチドである、Ｅ１２１に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１２８】
Ｅ１２３．前記１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメインが、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合を含む、Ｅ６８～Ｅ７３またはＥ１１８～Ｅ１２２のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１２９】
Ｅ１２４．前記代替ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、Ｅ１２３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３０】
Ｅ１２５．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＶ：

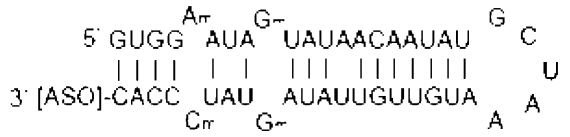


式ＸＶ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、＊が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドであり、ｓがホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１２１～Ｅ１２４のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３１】
Ｅ１２６．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４１のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３２】
Ｅ１２７．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＶＩ：



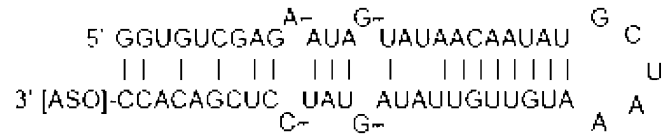
式ＸＶＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１２６に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３３】
Ｅ１２８．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４２のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３４】

Ｅ１２９．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＶＩＩ：

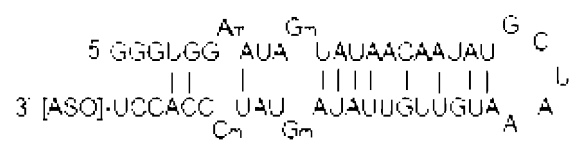


式ＸＶＩＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１２８に記載のオリゴヌクレオチド。

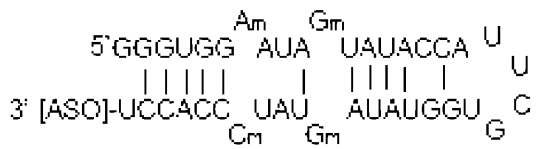
【０１３５】
Ｅ１３０．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４３のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３６】
Ｅ１３１．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＶＩＩＩ：



式ＸＶＩＩＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１３０に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３７】
Ｅ１３２．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４４のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３８】
Ｅ１３３．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＩＸ：



式ＸＩＸ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１３２に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１３９】
Ｅ１３４．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４５のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１４０】
Ｅ１３５．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＸ：



式ＸＸ

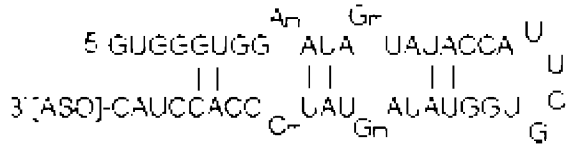
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１３４に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４１】

Ｅ１３６．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４６のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４２】

Ｅ１３７．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＸＩ：



式ＸＸＩ

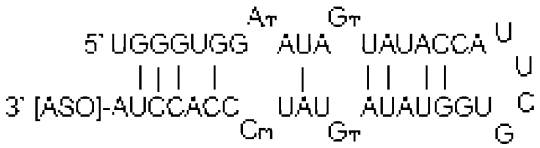
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１３６に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４３】

Ｅ１３８．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４７のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４４】

Ｅ１３９．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＸＩＩ：



式ＸＸＩＩ

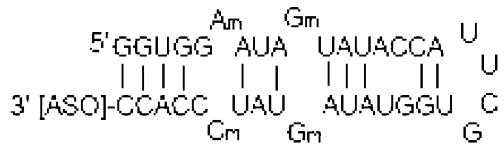
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１３８に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４５】

Ｅ１４０．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４８のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４６】

Ｅ１４１．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＸＩＩＩ：



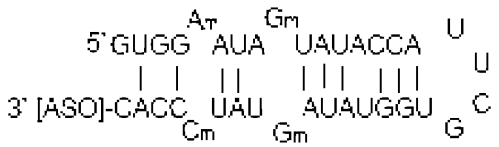
式ＸＸＩＩＩ

の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１４０に記載のオリゴヌクレオチド。

【０１４７】

Ｅ１４２．前記ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．４９のヌクレオチド配

列を有する、Ｅ１１３に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１４８】
Ｅ１４３．前記オリゴヌクレオチドが、式ＸＸＩＶ：



式ＸＸＩＶ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］がＥ１～Ｅ６７のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す、Ｅ１４２に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１４９】
Ｅ１４４．前記１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメインが、Ｚ－ＤＮＡ　ＡＤＡＲ動員ドメインである、Ｅ６８～Ｅ７３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１５０】
Ｅ１４５．前記１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメインが、ＭＳ２　ＡＤＡＲ動員ドメインである、Ｅ６８～Ｅ７３のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１５１】
Ｅ１４６．前記ＭＳ２　ＡＤＡＲ動員ドメインが、配列番号．５０のヌクレオチド配列を有する、Ｅ１４５に記載のオリゴヌクレオチド。
【０１５２】
Ｅ１４７．標的化部分に複合化されたＥ１～Ｅ１４６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含む、複合体。
【０１５３】
Ｅ１４８．前記標的化部分が、脂質、ステロール、炭水化物、及び／またはペプチドである、Ｅ１４７に記載の複合体。
【０１５４】
Ｅ１４９．前記オリゴヌクレオチドが、ステロールに複合化される、Ｅ１４８に記載の複合体。
【０１５５】
Ｅ１５０．前記ステロールがコレステロールである、Ｅ１４９に記載の複合体。
【０１５６】
Ｅ１５１．前記オリゴヌクレオチドが、炭水化物に複合化される、Ｅ１４８～Ｅ１５０のいずれか１項に記載の複合体。
【０１５７】
Ｅ１５２．前記炭水化物が、Ｎ－アセチルガラクトサミンである、Ｅ１５１に記載の複合体。
【０１５８】
Ｅ１５３．前記オリゴヌクレオチドが、ペプチドに複合化される、Ｅ１４８～Ｅ１５２のいずれか１項に記載の複合体。
【０１５９】
Ｅ１５４．前記ペプチドが細胞膜透過性ペプチドである、Ｅ１５３に記載の複合体。
【０１６０】
Ｅ１５５．前記オリゴヌクレオチドが、脂質に複合化される、Ｅ１４８～Ｅ１５４のいずれか１項に記載の複合体。
【０１６１】
Ｅ１５６．前記脂質が、リトコール酸、ドコサヘキサエン酸、またはドコサン酸である、Ｅ１５５に記載の複合体。

【０１６２】
Ｅ１５７．複合物であって、
Ｅ１～Ｅ１４６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたはＥ１４７～Ｅ１５６のいずれか１項に記載の複合体と、
ｍＲＮＡとを含み、
前記オリゴヌクレオチドまたは前記複合体及び前記ｍＲＮＡが互いにハイブリダイズされ、前記複合物が、前記ｍＲＮＡのアデノシンに第１ミスマッチを含む、前記複合物。
【０１６３】
Ｅ１５８．前記複合物が、前記第１ミスマッチの５’側に４個のヌクレオチドである第２ミスマッチを含む、Ｅ１５７に記載の複合物。
【０１６４】
Ｅ１５９．前記複合物が、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または８つのミスマッチを含む、Ｅ１５７またはＥ１５８に記載の複合物。
【０１６５】
Ｅ１６０．前記ｍＲＮＡが、治療結果をもたらすために脱アミノ化される可能性のあるアデノシンを含む、Ｅ１５７～Ｅ１５９のいずれか１項に記載の複合物。
【０１６６】
Ｅ１６１．前記ｍＲＮＡが、対応する天然ｍＲＮＡと比較して、グアノシンからアデノシンへの変異を含む、Ｅ１５７～Ｅ１５９のいずれか１項に記載の複合物。
【０１６７】
Ｅ１６２．前記グアノシンからアデノシンへの変異が、ミスセンス変異またはナンセンス変異である、Ｅ１６１に記載の複合物。
【０１６８】
Ｅ１６３．前記第１ミスマッチが、前記ｍＲＮＡの開始コドン中のアデノシンにある、Ｅ１５７～Ｅ１６２のいずれか１項に記載の複合物。
【０１６９】
Ｅ１６４．前記第１ミスマッチが、前記ｍＲＮＡの終止コドン中のアデノシンにある、Ｅ１５７～Ｅ１６２のいずれか１項に記載の複合物。
【０１７０】
Ｅ１６５．前記終止コドンが未成熟終止コドンである、Ｅ１６４に記載の複合物。
【０１７１】
Ｅ１６６．Ｅ１５７～Ｅ１６５のいずれか１項に記載の複合物の作製方法であって、細胞をＥ１～Ｅ１４６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたはＥ１４７～Ｅ１５６のいずれか１項に記載の複合体と接触させることを含む、前記方法。
【０１７２】
Ｅ１６７．ｍＲＮＡ中のアデノシンの脱アミノ化方法であって、細胞をＥ１～Ｅ１４６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたはＥ１４７～Ｅ１５６のいずれか１項に記載の複合体と接触させることを含む、前記方法。
【０１７３】
Ｅ１６８．障害の処置を必要とする対象の障害の処置方法であって、有効量のＥ１～Ｅ１４６のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドまたはＥ１４７～Ｅ１５６のいずれか１項に記載の複合体を前記対象に投与することを含む、前記方法。
【０１７４】
Ｅ１６９．前記障害が、嚢胞性線維症、白皮症、アルファ－１－アンチトリプシン欠損症、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、喘息、１１サラセミア、Ｃａｄａｓｉｌ症候群、シャルコー・マリー・トゥース病、慢性閉塞性肺疾患、遠位型脊髄性筋萎縮症、デュシェンヌ型／ベッカー型筋ジストロフィー、栄養障害型表皮水疱症、表皮水疱症、ファブリー病、第Ｖ因子ライデン関連障害、家族性大腸腺腫症、ガラクトース血症、ゴーシェ病、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ欠損症、血友病、遺伝性ヘモクロマトーシス、ハンター症候群、ハンチントン病、ハーラー症候群、炎症性腸疾患、遺伝性多凝集症候

群、レーバー先天性黒内障、レッシュ・ナイハン症候群、リンチ症候群、マルファン症候群、ムコ多糖症、筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィーＩ型及びＩＩ型、神経線維腫、ニーマン・ピック病Ａ型、Ｂ型及びＣ型、ＮＹ－ＥＳＯ－１関連がん、パーキンソン病、ポイツ・ジェガース症候群、フェニルケトン尿症、ポンペ病、原発性線毛疾患、プロトロンビン変異関連障害（例えば、プロトロンビンＧ２０２１０Ａ変異）、肺高血圧症、網膜色素変性症、サンドホフ病、重症複合免疫不全症候群、鎌状赤血球貧血、脊髄性筋萎縮症、シュタルガルト病、テイ・サックス病、アッシャー症候群、Ｘ連鎖性免疫不全、スタージ・ウェーバー症候群、レット症候群、またはがんである、Ｅ１６８に記載の方法。

【０１７５】

Ｅ１７０．前記方法が、ＡＤＡＲ融合タンパク質を前記細胞に、または前記対象に投与することをさらに含む、Ｅ１６７～Ｅ１６９のいずれか１項に記載の方法。

【０１７６】

Ｅ１７１．前記ＡＤＡＲ融合タンパク質が、ＡＤＡＲ融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクター構築物を使用して、前記細胞に、または前記対象に投与される、Ｅ１７０に記載の方法。

【０１７７】

Ｅ１７２．前記ＡＤＡＲ融合タンパク質が、ＭＳ２バクテリオファージコートタンパク質に融合されたＡＤＡＲのデアミナーゼドメインを含む、Ｅ１７０またはＥ１７１に記載の方法。

【０１７８】

Ｅ１７３．前記ＡＤＡＲのデアミナーゼドメインが、ＡＤＡＲ１のデアミナーゼドメインである、Ｅ１７２に記載の方法。

【０１７９】

Ｅ１７４．前記ＡＤＡＲのデアミナーゼドメインが、ＡＤＡＲ２のデアミナーゼドメインである、Ｅ１７２に記載の方法。

【０１８０】

Ｅ１７５．投与が、非経口投与、髄腔内投与、または頭蓋内投与を含む、Ｅ１６８～Ｅ１７４に記載の方法。

【０１８１】

化学用語

本明細書で用いられる専門用語は、特定の実施形態の記載を目的とし、限定することを意図するものではない。

【０１８２】

以下の化学的定義のいずれについても、原子記号に続く数字は、特定の化学部分に存在するその元素の原子の総数を示す。理解されることになるように、本明細書に記載されるようなＨ原子などの他の原子、または置換基は、原子の原子価を満たすために必要に応じて存在する場合がある。例えば、非置換Ｃ$_2$アルキル基は、式－ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$を有する。本明細書で定義される基と共に使用される場合、炭素原子の数への言及は、アセタール及びケタール基の二価炭素を含むが、アシル、エステル、カーボネート、またはカルバメート基のカルボニル炭素を含まない。ヘテロアリール基の酸素、窒素、または硫黄原子の数への言及は、複素環の一部を形成する原子のみを含む。

【０１８３】

特定の置換基が同じ構造内に複数回存在する可能性がある場合、置換基の各例は、その置換基の考え得る定義の一覧から独立して選択されてよい。

【０１８４】

「アルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、１～２０個の炭素原子（例えば、１～１６個の炭素原子、１～１０個の炭素原子、１～６個の炭素原子、または１～３個の炭素原子）の分岐鎖または直鎖一価飽和脂肪族炭化水素ラジカルを指す。

【０１８５】

アルキレンは二価のアルキル基である。「アルケニル」という用語は、本明細書で使用さ

れる場合、単独でまたは他の基と組み合わせて、炭素－炭素二重結合を有し、２～２０個の炭素原子（例えば、２～１６個の炭素原子、２～１０個の炭素原子、２～６個の炭素原子、または２個の炭素原子）を有する直鎖または分岐鎖炭化水素残基を指す。

【０１８６】

「ハロゲン」という用語は、本明細書で使用される場合、フッ素（フルオロ）、塩素（クロロ）、臭素（ブロモ）、またはヨウ素（ヨード）ラジカルを意味する。

【０１８７】

「ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、構成炭素原子のうち１つ以上が、窒素、酸素、または硫黄で置き換えられている、本明細書で定義されるようなアルキル基を指す。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、アルキル基について本明細書に記載されるように、１個、２個、３個、または４個の置換基でさらに置換され得る。ヘテロアルキル基の例は「アルコキシ」であり、本明細書で使用される場合、アルキル－Ｏ－（例えば、メトキシ及びエトキシ）を指す。ヘテロアルキレンは、二価のヘテロアルキル基である。「ヘテロアルケニル」という用語は、本明細書で使用される場合、構成炭素原子のうち１つ以上が、窒素、酸素、または硫黄で置き換えられている、本明細書で定義されるようなアルケニル基を指す。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、アルケニル基について本明細書に記載されるように、１個、２個、３個、または４個の置換基でさらに置換され得る。ヘテロアルケニル基の例は「アルケノキシ」であり、本明細書で使用される場合、アルケニル－Ｏを指す。ヘテロアルケニレンは、二価のヘテロアルケニル基である。「ヘテロアルキニル」という用語は、本明細書で使用される場合、構成炭素原子のうち１つ以上が、窒素、酸素、または硫黄で置き換えられている、本明細書で定義されるようなアルキニル基を指す。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、アルキニル基について本明細書に記載されるように、１個、２個、３個、または４個の置換基でさらに置換され得る。ヘテロアルキニル基の例は「アルキノキシ」であり、本明細書で使用される場合、アルキニル－Ｏ－を指す。ヘテロアルキニレンは、二価のヘテロアルキニル基である。

【０１８８】

「ヒドロキシ」という用語は、本明細書で使用される場合、－ＯＨ基を表す。

【０１８９】

アルキル、ヘテロアルキル基は、置換または非置換であってよい。置換される場合、別段の指定がない限り、一般に１～４個の置換基が存在することになる。置換基としては、例えば、アルキル（例えば、非置換及び置換、置換基は、本明細書に記載される任意の基、例えば、アリール、ハロ、ヒドロキシを含む）、アリール（例えば、置換及び非置換フェニル）、カルボシクリル（例えば、置換及び非置換シクロアルキル）、ハロ（例えば、フルオロ）、ヒドロキシル、ヘテロアルキル（例えば、置換及び非置換メトキシ、エトキシ、またはチオアルコキシ）、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、アミノ（例えば、NH_2またはモノもしくはジアルキルアミノ）、アジド、シアノ、ニトロ、あるいはチオールが挙げられる。アリール、カルボシクリル（例えば、シクロアルキル）、ヘテロアリール、及びヘテロシクリル基もまた、アルキル（非置換及び置換アリールアルキル（例えば、置換及び非置換ベンジル）など）で置換されてよい。

【０１９０】

本発明の化合物は、１つ以上の不斉炭素原子を有し得、光学的に純粋なエナンチオマー、例えば、ラセミ体などのエナンチオマーの混合物、光学的に純粋なジアステレオマー、ジアステレオマーの混合物、ジアステレオマーラセミ体、またはジアステレオマーラセミ体の混合物の形態で存在し得る。光学活性型は、例えば、ラセミ体の分割によって、不斉合成または不斉クロマトグラフィー（キラル吸着剤または溶離液を用いたクロマトグラフィー）によって得られ得る。すなわち、開示される化合物のいくつかは、様々な立体異性体形態で存在する場合がある。立体異性体は、それらの空間配置のみが異なる化合物である。エナンチオマーは、それらの鏡像を重ね合わせることができない立体異性体の対であり、最も一般的な理由としては、それらが、キラル中心として機能する不斉置換炭素原子を

含有するためである。「エナンチオマー」は、互いの鏡像であり、重ね合わせることができない分子対の一方を意味する。ジアステレオマーは、鏡像のような関係ではない立体異性体であり、最も一般的な理由としては、それらが、２つ以上の不斉置換炭素原子を含有し、１つ以上のキラル炭素原子周囲の置換基の配置を表すためである。化合物のエナンチオマーは、１つ以上の周知の技術及び方法、例えば、キラルクロマトグラフィー及びそれに基づく分離方法などを使用して、例えば、ラセミ体からエナンチオマーを分離することによって調製され得る。本明細書に記載される化合物のエナンチオマーをラセミ混合物から分離する適切な技術及び／または方法は、当業者によって容易に決定され得る。「ラセミ体」または「ラセミ混合物」は、２つのエナンチオマーを含有する化合物を意味し、そのような混合物は光学活性を一切示さない、すなわち、それらは偏光面を回転させない。「幾何異性体」は、炭素－炭素二重結合との、シクロアルキル環との、または架橋二環式系との関係において置換基原子の配向が異なる異性体を意味する。炭素－炭素二重結合の両側の原子（Ｈ以外）は、Ｅ（置換基が炭素－炭素二重結合の反対側にある）配置またはＺ（置換基が同じ側に配向されている）配置であってよい。「Ｒ」「Ｓ」「Ｓ＊」、「Ｒ＊」、「Ｅ」、「Ｚ」、「シス」、及び「トランス」は、コア分子に対する配置を示す。開示される化合物のいくつかは、アトロプ異性形態で存在する場合がある。アトロプ異性体は、単結合周りの束縛回転から生じる立体異性体であり、回転に対する立体ひずみ障壁が、配座異性体の単離を可能にするのに十分なほど高い。本発明の化合物は、異性体特異的合成または異性体混合物からの分割のいずれかによって個々の異性体として調製されてよい。従来の分割技術としては、光学活性酸を使用して異性体対の各異性体における遊離塩基の塩を形成すること（続いて、遊離塩基の分別結晶及び再生）、光学活性アミンを使用して異性体対の各異性体における酸形態の塩を形成すること（続いて、遊離酸の分別結晶及び再生）、光学的に純粋な酸、アミンもしくはアルコールを使用して異性体対の各々の異性体におけるエステルもしくはアミドを形成すること（続いて、キラル補助基のクロマトグラフィー分離及び除去）、または様々な周知のクロマトグラフィー法を使用して出発物質もしくは最終生成物のいずれかの異性体混合物を分割することが挙げられる。開示される化合物の立体化学が構造によって命名または描写される場合、命名または描写される立体異性体は、他の立体異性体と比較して少なくとも６０重量％、７０重量％、８０重量％、９０重量％、９９重量％、または９９．９重量％である。単一のエナンチオマーが構造によって命名または描写される場合、描写または命名されるエナンチオマーは、少なくとも６０重量％、７０重量％、８０重量％、９０重量％、９９重量％、または９９．９重量％の光学純度である。単一のジアステレオマーが構造によって命名または描写される場合、描写または命名されるジアステレオマーは、少なくとも６０重量％、７０重量％、８０重量％、９０重量％、９９重量％、または９９．９重量％の純度である。光学純度パーセントは、エナンチオマーの重量の、エナンチオマーの重量とその光学異性体の重量に対する比である。重量によるジアステレオマー純度は、１つのジアステレオマー重量の、全てのジアステレオマーの重量に対する比である。開示される化合物の立体化学が構造によって命名または描写される場合、命名または描写される立体異性体は、他の立体異性体と比較して少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％、９９％、また９９．９％のモル分率純度である。単一のエナンチオマーが構造によって命名または描写される場合、描写または命名されるエナンチオマーは、少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％、９９％、また９９．９％のモル分率純度である。単一のジアステレオマーが構造によって命名または描写される場合、描写または命名されるジアステレオマーは、少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％、９９％、また９９．９％のモル分率純度である。モル分率による純度パーセントは、エナンチオマーのモル数の、エナンチオマーのモル数とその光学異性体のモル数に対する比である。同様に、モル分率による純度パーセントは、ジアステレオマーのモル数の、ジアステレオマーのモル数とその異性体のモル数に対する比である。開示される化合物が立体化学を示すことなく構造によって命名または描写され、化合物が少なくとも１つのキラル中心を有する場合、名称または構造が、対応する光学異性体を含まない化合物のエナンチオマー、化合物のラセミ混合物、またはその対応する光学異性体

と比較して１つのエナンチオマーで濃縮された混合物のいずれかを包含すると理解されるべきである。開示される化合物が立体化学を示すことなく構造によって命名または描写され、２つ以上のキラル中心を有する場合、名称または構造が、他のジアステレオマーを含まないジアステレオマー、他のジアステレオマー対を含まない多数のジアステレオマー、ジアステレオマーの混合物、ジアステレオマー対の混合物、一方のジアステレオマーが他方のジアステレオマー（複数可）と比較して濃縮されているジアステレオマーの混合物、または１つ以上のジアステレオマーが他のジアステレオマーと比較して濃縮されているジアステレオマーの混合物を包含すると理解されるべきである。本発明は、これらの形態の全てを包含する。

【０１９１】

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての専門用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。方法及び材料は、本開示で使用するために本明細書に記載され、当該技術分野において既知の他の好適な方法及び材料も使用され得る。材料、方法、及び例は単に例示にすぎず、限定することを意図するものではない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリー、及び他の参考文献は、それら全体が参照によって組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含む本明細書が優先されることになる。

【０１９２】

定義

便宜上、本明細書、実施例、及び添付の特許請求の範囲に使用されるいくつかの用語及び語句の意味が、以下に提供される。別段の記載がない限り、または文脈から暗に示されていない限り、以下の用語及び語句は、以下に提供される意味を含む。定義は、特定の実施形態について記載することを助けるために提供され、技術の範囲が特許請求の範囲によってのみ限定されるため、請求される技術を限定することを意図するものではない。別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての専門用語及び科学用語は、本技術が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。当該技術分野における用語の使用方法と本明細書で提供されるその定義との間に明らかな矛盾がある場合、本明細書内で提供される定義が優先されることとする。

【０１９３】

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

【０１９４】

本明細書で使用される場合、「約」及び「およそ」という用語は、記載されている値の１０％以内で上下する値を指す。例えば、「約５ｎＭ」という用語は、４．５～５．５ｎＭの範囲を示す。

【０１９５】

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

【０１９６】

本明細書で使用される場合、「以下」または「未満」は、語句に隣接する値及び論理的に下回る値または整数から、文脈から論理的である通り、ゼロまでとして理解される。例え

ば、「５個以下の非修飾ヌクレオチド」を有するオリゴヌクレオチドは、５個、４個、３個、２個、１個、または０個の非修飾ヌクレオチドを有する。「以下」が一連の数または範囲の前に存在する場合、「以下」は、一連の数または範囲内の各数を変更できると理解される。

【０１９７】

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

【０１９８】

本明細書で使用される場合、「併用療法」または「組み合わせて投与される」とは、２つ（以上）の異なる薬剤または処置が、特定の疾患または状態に対して定義された処置レジメンの一部として対象に投与されることを意味する。処置レジメンは、対象に対する別個の薬剤の効果が重なるように、各薬剤の用量及び投与の周期を定義する。いくつかの実施形態では、２つ以上の薬剤の送達は同時または並行であり、薬剤は共製剤化されてよい。いくつかの実施形態では、２つ以上の薬剤は共製剤化されず、所定のレジメンの一部として逐次的手法で投与される。いくつかの実施形態では、２つ以上の薬剤または処置を組み合わせて投与することは、症状、または障害に関連する他のパラメータの減少が、単独でまたは他のものが存在しない場合に送達される１つの薬剤または処置を用いて観察されるものよりも大きくなるようなものである。２つの処置の効果は、部分的に相加的、完全に相加的、または相加的を超えるもの（例えば、相乗的）であり得る。各治療剤の逐次的投与または実質的に同時投与は、任意の適切な経路、例えば、経口経路、静脈内経路、筋肉内経路、及び粘膜組織を介する直接吸収を含むが、これらに限定されない経路によって実施され得る。治療剤は同じ経路によって、または異なる経路によって投与され得る。例えば、組合せの第１治療剤が静脈内注射によって投与されてよい一方で、組合せの第２治療剤は経口投与されてよい。

【０１９９】

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

【０２００】

「核酸塩基」及び「塩基」という用語は、核酸ハイブリダイゼーションにおいて水素結合を形成するヌクレオシド及びヌクレオチド中に存在するプリン（例えば、アデニン及びグアニン）ならびにピリミジン（例えば、ウラシル、チミン、及びシトシン）部分を含む。本発明の文脈においては、核酸塩基という用語はまた、天然に存在する核酸塩基とは異なる場合があるが、核酸ハイブリダイゼーション中に機能する代替核酸塩基を包含する。この文脈においては、「核酸塩基」は、天然に存在する核酸塩基、例えば、アデニン、グアニン、シトシン、チミジン、ウラシル、キサンチン、及びヒポキサンチンなどに加えて、代替核酸塩基の両方を指す。そのようなバリアントは、例えば、Ｈｉｒａｏ　ｅｔ　ａｌ

（２０１２）Ａｃｃｏｕｎｔｓ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ｖｏｌ ４５，ｐａｇｅ ２０５５及びＢｅｒｇｓｔｒｏｍ（２００９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｓｕｐｐｌ．３７ １．４．１に記載されている。

【０２０１】

いくつかの実施形態では、核酸塩基部分は、プリンまたはピリミジンを修飾プリンまたはピリミジン、例えば、置換プリンまたは置換ピリミジンなど、例えば、イソシトシン、シュードイソシトシン、５－メチルシトシン、５－チオゾロ－シトシン、５－プロピニル－シトシン、５－プロピニル－ウラシル、５－ブロモウラシル、５－チアゾロ－ウラシル、２－チオ－ウラシル、シュードウラシル、１－メチルシュードウラシル、５－メトキシウラシル、２’－チオ－チミン、ヒポキサンチン、ジアミノプリン、６－アミノプリン、２－アミノプリン、２，６－ジアミノプリン、及び２－クロロ－６－アミノプリンから選択される「代替核酸塩基」などに変化させることによって修飾される。

【０２０２】

核酸塩基部分は、対応する各核酸塩基、例えば、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｃ、またはＵの文字コードによって示される場合があり、各文字は、場合により同等の機能を持つ代替核酸塩基を含む場合がある。いくつかの実施形態では、例えば、ギャップマーについては、５－メチルシトシンＬＮＡヌクレオシドが使用されてよい。

【０２０３】

「糖」または「糖部分」は、フラノース環を有する天然に存在する糖を含む。糖は、ヌクレオシドのフラノース環を置き換えできる構造として定義される「代替糖」も含む。ある特定の実施形態では、代替糖は、非フラノース（もしくは４’－置換フラノース）環または環系もしくは開放系である。そのような構造は、６員環などの天然のフラノース環と比較して単純な変化を含むか、またはペプチド核酸で使用される非環系の場合と同様により複雑な場合がある。代替糖はまた、フラノース環が、例えば、モルホリノまたはヘキシトール環系などの別の環系で置き換えられている糖代用物を含んでよい。モチーフを有するオリゴヌクレオチドの調製に有用な糖部分としては、β－Ｄ－リボース、β－Ｄ－２’－デオキシリボース、置換糖（２’、５’及びビス置換糖など）、４’－Ｓ－糖（４’－Ｓ－リボース、４’－Ｓ－２’－デオキシリボース及び４’－Ｓ－２’－置換リボースなど）、二環式代替糖（２’－Ｏ－CH_2－４’または２’－Ｏ－（CH_2）$_2$－４’架橋リボース由来の二環式糖など）ならびに糖代用物（リボース環がモルホリノまたはヘキシトール環系で置き換えられている場合など）が挙げられるが、これらに限定されない。各位置で使用される複素環式塩基及びヌクレオシド間結合の種類は多様であり、モチーフを決定する要因ではない。代替糖部分を有する大半のヌクレオシドでは、複素環式核酸塩基は、一般にハイブリダイゼーションを可能にするために維持される。

【０２０４】

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

【０２０５】

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

【０２０６】
「ヌクレオシド」という用語は、核酸塩基及び糖部分を有するオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのモノマー単位を指す。ヌクレオシドは、天然に存在するものに加えて、本明細書に記載されるものなどの、代替ヌクレオシドを含んでよい。ヌクレオシドの核酸塩基は、天然に存在する核酸塩基または代替核酸塩基であってよい。同様に、ヌクレオシドの糖部分は、天然に存在する糖または代替糖であってよい。
【０２０７】
「代替ヌクレオシド」という用語は、代替糖または代替核酸塩基、例えば、本明細書に記載されるものなどを有するヌクレオシドを指す。
【０２０８】
「ヌクレアーゼ耐性ヌクレオチド」という用語は、本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ分解を制限するヌクレオチドを指す。ヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドは、一般にヌクレアーゼの基質としては十分に機能しないことによってオリゴヌクレオチドの安定性を増加させる。ヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドは、当該技術分野において既知であり、例えば、２’－Ｏ－メチルヌクレオチド及び２’－フルオロヌクレオチドである。
【０２０９】
「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」という用語は、本明細書で使用される場合、２つ以上の共有結合的に連結したヌクレオシドを含む分子として当業者によって一般に理解されるように定義される。そのような共有結合したヌクレオシドは、核酸分子またはオリゴマーと称される場合もある。オリゴヌクレオチドは通常、実験室において固相化学合成とそれに続く精製によって作製される。オリゴヌクレオチドの配列に言及する場合、共有結合的に連結したヌクレオチドまたはヌクレオシドの核酸塩基部分、またはその修飾物の配列または順序を参照する。本発明のオリゴヌクレオチドは人工のものであってよく、化学的に合成され、典型的には精製または単離される。オリゴヌクレオチドはまた、（ｉ）フラノース誘導体によって、もしくは塩基部分の共有結合点として使用される場合のある環式もしくは非環式の任意の構造によって置き換えられている１つ以上のフラノース部分を有する化合物、（ｉｉ）ホスホルアミデートもしくはホスホロチオエート結合の場合と同様に修飾されているか、もしくはホルムアセタールもしくはリボアセタール結合の場合と同様に好適な結合部分で完全に置き換えられているかのいずれかである１つ以上のホスホジエステル結合を有する化合物、及び／または（ｉｉｉ）塩基部分の共有結合点として使用される場合のある環式もしくは非環式の任意の構造によって置き換えられている１つ以上の連結フラノース－ホスホジエステル結合部分を有する化合物を含むことを意図する。本発明のオリゴヌクレオチドは、１つ以上の代替ヌクレオシドまたはヌクレオチド（例えば、本明細書に記載されるものを含む）を含んでよい。オリゴヌクレオチドが、糖部分または核酸塩基を欠く組成物を含むが、依然として標的配列と対合を形成できるか、またはそれにハイブリダイズできるとさらに理解される。
【０２１０】
「オリゴヌクレオチド」は、短いポリヌクレオチド（例えば、１００個以下の連結ヌクレオシド）を指す。
【０２１１】
オリゴヌクレオチドは、ＡＤＡＲ媒介経路を介して所望の標的ＲＮＡのアデノシンの脱アミノ化を可能にする任意の長さのものであってよく、約１０～５０塩基対長、例えば、約１５～５０塩基対長または約１８～５０塩基対長、例えば、約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、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０塩基対長、例えば、約１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～

２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２塩基対長などの範囲であってよい。上に列挙される範囲及び長さに対して中間の範囲及び長さもまた、本発明の一部であると企図される。

【０２１２】

「ギャップマー」という用語は、本明細書で使用される場合、１つ以上の親和性増強代替ヌクレオシド（ウイングまたはフランク）を含む領域が５’側及び３’側に隣接しているＲＮａｓｅ　Ｈ動員オリゴヌクレオチド（ギャップ）の領域を含むオリゴヌクレオチドを指す。様々なギャップマー設計が本明細書に記載される。ヘッドマー及びテイルマーは、ウイングの一方が欠けている、すなわち、オリゴヌクレオチドの一方の末端のみが親和性増強代替ヌクレオシドを含む、ＲＮａｓｅ　Ｈを動員できるオリゴヌクレオチドである。ヘッドマーの場合、３’ウイングが欠けていて（すなわち、５’ウイングが親和性増強代替ヌクレオシドを含む）、テイルマーの場合、５’ウイングが欠けている（すなわち、３’ウイングが親和性増強代替ヌクレオシドを含む）。「混合ウイングギャップマー」は、ウイング領域が、少なくとも１個の代替ヌクレオシド、例えば、少なくとも１個のＤＮＡヌクレオシドあるいは少なくとも１個の２’置換代替ヌクレオシドなど、例えば、２’－Ｏ－アルキル－ＲＮＡ、２’－Ｏ－メチル－ＲＮＡ、２’－アルコキシ－ＲＮＡ、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－アミノ－ＤＮＡ、２’－フルオロ－ＲＮＡ、２’－Ｆ－ＡＮＡヌクレオシド（複数可）、または二環式ヌクレオシド（例えば、ロックドヌクレオシドもしくはｃＥｔヌクレオシド）などを含む、ギャップマーを指す。いくつかの実施形態では、混合ウイングギャップマーは、代替ヌクレオシドを含む一方のウイング（例えば、５’側または３’側）を有し、他方のウイング（それぞれ３’側または５’側）は、２’置換代替ヌクレオシド（複数可）を含む。

【０２１３】

「リンカー」または「連結基」という用語は、１つ以上の共有結合によって、目的の１つの化学基またはセグメントを別の目的の化学基またはセグメントに連結する２つの原子間における結合である。複合体部分は、直接または連結部分（例えば、リンカーもしくはテザー）を介してオリゴヌクレオチドに結合され得る。リンカーは、第３領域、例えば、複合体部分をオリゴヌクレオチド（例えば、領域ＡまたはＣの末端）に共有結合させるのに役立つ。本発明のいくつかの実施形態では、本発明の複合体またはオリゴヌクレオチド複合体は場合により、オリゴヌクレオチドと複合体部分との間に配置されるリンカー領域を含んでよい。いくつかの実施形態では、複合体とオリゴヌクレオチドとの間のリンカーは、生化学的に切断可能である。生化学的に切断可能なリンカーを含有するホスホジエステルは、ＷＯ２０１４／０７６１９５により詳細に記載されている（参照によって本明細書に組み込まれる）。

【０２１４】

本明細書で使用される場合、「ＡＤＡＲ動員ドメイン」という用語は、本発明のオリゴヌクレオチドに共有結合的に連結され、ＡＤＡＲ酵素の動員及び結合領域として機能するステムループ構造（例えば、ＡＤＡＲ動員ドメイン）を形成する場合があるヌクレオチド配列を指す。そのようなＡＤＡＲ動員ドメインを含むオリゴヌクレオチドは、「ａｘｉｏｍｅｒ　ＡＯＮ」または「自己ループ化ＡＯＮ」と称されてよい。ＡＤＡＲ動員ドメイン部分は、細胞内に存在する内因性ＡＤＡＲ酵素を動員するように機能する可能性がある。そのようなＡＤＡＲ動員ドメインは、修飾組換えＡＤＡＲ酵素の複合化実体または存在を必要としない。あるいは、ＡＤＡＲ動員部分は、ＡＤＡＲ融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクター構築物を介して細胞に、または対象に送達されている組換えＡＤＡＲ融合タンパク質を動員するように機能する場合がある。そのようなＡＤＡＲ融合タンパク質は、別のタンパク質に、例えば、ＭＳ２バクテリオファージコートタンパ

ク質に融合されたＡＤＡＲ１またはＡＤＡＲ２酵素のデアミナーゼドメインを含む場合がある。ＡＤＡＲ動員ドメインは、天然基質（例えば、ＧｌｕＲ２受容体プレｍＲＮＡ、例えば、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインなど）、Ｚ－ＤＮＡ構造、またはＡＤＡＲ融合タンパク質の一部である別のタンパク質を動員することで知られているドメイン、例えば、ＡＤＡＲのｄｓＲＮＡ結合領域によって認識されることで知られているＭＳ２　ＡＤＡＲ動員ドメインに基づくヌクレオチド配列であってよい。ＡＤＡＲ動員ドメインのステムループ構造は、２つの別個の核酸鎖によって形成される分子間ステムループ構造、または単一の核酸鎖内で形成される分子内ステムループ構造であり得る。

【０２１５】

本明細書で使用される場合、「Ｚ－ＤＮＡ」という用語は、ＤＮＡ二重らせんまたはＲＮＡステムループ構造の左巻きコンフォメーションを指す。そのようなＤＮＡまたはｄｓＲＮＡヘリックスは、ジグザグパターンで左巻きになっている（より一般的に見られるＢ－ＤＮＡ型のような右巻きとは対照的に）。Ｚ－ＤＮＡは既知の高親和性ＡＤＡＲ結合基質であり、ヒトＡＤＡＲ１酵素に結合することが示されている。

【０２１６】

本明細書で使用される場合、別段の指示がない限り、「相補的」という用語は、第２ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列に関連して第１ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列について記載するために使用される場合、当業者によって理解されることになるように、第１ヌクレオチドまたはヌクレオシド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドが、第２ヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドと、ある特定の条件下でハイブリダイズして二本鎖構造を形成する能力を指す。そのような条件は、例えば、ストリンジェントな条件であり得、ストリンジェントな条件としては、４００ｍＭ　ＮａＣｌ、４０ｍＭ　ＰＩＰＥＳ（ｐＨ６．４）、１ｍＭ　ＥＤＴＡ、５０℃、または７０℃で１２～１６時間、続いて洗浄が挙げられ得る（例えば、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｓａｍｂｒｏｏｋ，ｅｔ　ａｌ．（１９８９）Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓを参照のこと）。生物内部で発生し得るような他の条件、例えば、生理学的に関連する条件などが適用され得る。当業者は、ハイブリダイズしたヌクレオチドまたはヌクレオシドの最終的な用途に従って、２つの配列の相補性試験に最適な条件のセットを決定できることになる。

【０２１７】

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

【０２１８】

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

【０２１９】

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

【０２２０】

インビトロでの細胞との接触は、例えば、細胞をオリゴヌクレオチドと共にインキュベートすることによって行われてよい。インビボでの細胞との接触は、例えば、細胞が位置する組織中に、もしくはその近傍にオリゴヌクレオチドを注射することによって、またはオリゴヌクレオチド剤を別の領域、例えば、血流もしくは皮下腔に、薬剤がその後、接触する細胞が位置する組織に到達することになるように注射することによって行われてよい。例えば、オリゴヌクレオチドは、目的の部位、例えば、肝臓にオリゴヌクレオチドを誘導するリガンド、例えば、ＧａｌＮＡｃ３を含有してよい、及び／またはそれに結合されてよい。インビトロ及びインビボでの接触方法の組合せも可能である。例えば、細胞はまた、インビトロでオリゴヌクレオチドと接触し、その後、対象中に移植されてよい。

【０２２１】

一実施形態では、細胞をオリゴヌクレオチドと接触させることは、細胞中への取込みまたは吸収を促進またはもたらすことによってオリゴヌクレオチドを細胞中に「導入する」または「送達する」ことを含む。オリゴヌクレオチドの吸収または取込みは、補助されない拡散性もしくは活性な細胞プロセスを通じて、または補助剤もしくはデバイスによって行われ得る。細胞中へのオリゴヌクレオチドの導入は、インビトロ及び／またはインビボであってよい。例えば、インビボ導入では、オリゴヌクレオチドは、組織部位に注射され得るか、または全身投与され得る。細胞中へのインビトロ導入は、当該技術分野において既知の方法、例えば、エレクトロポレーション法及びリポフェクション法などを含む。さらなるアプローチが以下に記載されている、及び／または当該技術分野において既知である。

【０２２２】

本明細書で使用される場合、「脂質ナノ粒子」または「ＬＮＰ」は、医薬活性分子、例えば、核酸分子、例えば、オリゴヌクレオチドなどを封入する脂質層を含む小胞である。ＬＮＰは、安定した核酸－脂質粒子を指す。ＬＮＰは通常、カチオン性のイオン性脂質、非カチオン性脂質、及び粒子の凝集を防ぐ脂質（例えば、ＰＥＧ－脂質複合体）を含有する。ＬＮＰは、例えば、米国特許第６，８５８，２２５号、同第６，８１５，４３２号、同第８，１５８，６０１号、及び同第８，０５８，０６９号に記載されていて、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０２２３】

本明細書で使用される場合、「リポソーム」という用語は、少なくとも１つの二重層、例えば、１つの二重層または複数の二重層中に配置された両親媒性脂質で構成される小胞を指す。リポソームは、親油性材料から形成される膜及び水性内部を有する単層及び多層小胞を含む。水性部分は、オリゴヌクレオチド組成物を含有する。親油性材料は水性内部を

水性外部から分離し、これは通常、オリゴヌクレオチド組成物を含まないが、いくつかの例では、それを含む場合がある。リポソームは「立体的に安定化した」リポソームも含み、本用語は、本明細書で使用される場合、１つ以上の特殊な脂質を含むリポソームを指し、その脂質がリポソーム中に組み込まれる場合、そのような特殊な脂質を欠いているリポソームと比較して循環寿命の延長をもたらす。

【０２２４】

「ミセル」は、特定の種類の分子集合体として本明細書で定義され、その場合に親水性部分が周囲の水相と接触したままで、分子の全ての疎水性部分が内側に向くように、両親媒性分子が球状構造に配置されている。環境が疎水性である場合、逆の配置が存在する。

【０２２５】

「相補的」ポリヌクレオチドは、標準的なワトソン・クリック相補性規則に従って塩基対合できるものである。具体的には、プリンはピリミジンと塩基対合して、シトシンと対合したグアニン（Ｇ：Ｃ）の組合せ及びＤＮＡの場合にはチミンと対合したアデニン（Ａ：Ｔ）、またはＲＮＡの場合にはウラシルと対合したアデニン（Ａ：Ｕ）のいずれかの組合せを形成することになる。２つのポリヌクレオチドは、それらが互いに完全に相補的でなくとも、各々が他方に対して実質的に相補的である少なくとも１つの領域を有することを条件として、互いにハイブリダイズする可能性があると理解される。

【０２２６】

本明細書で使用される場合、本明細書に記載される（例えば、細胞または対象中において）治療効果をもたらす薬剤の「有効量」、「治療有効量」、及び「十分な量」という用語は、ヒトを含む対象に投与される場合、臨床結果を含む、有益なまたは所望の結果をもたらすのに十分な量を指し、したがって、「有効量」またはその同義語は、それが適用されている状況に依存する。例えば、障害を処置する状況では、それは、投与しない場合に得られる応答と比較した場合に、処置応答を達成するのに十分な量の薬剤である。所与の薬剤の量は、様々な要因、例えば、所与の薬剤、医薬製剤、投与経路、疾患または障害の種類、処置されている対象または宿主の識別情報（例えば、年齢、性別、及び／または体重）などに応じて変動することになるが、それにもかかわらず、当業者によって日常的に決定され得る。また、本明細書で使用される場合、薬剤の「治療有効量」は、対照と比較した場合に、対象に有益なまたは所望の結果をもたらす量である。本明細書で定義されるように、薬剤の治療有効量は、当該技術分野において既知の日常的な方法により、当業者によって容易に決定されてよい。投与レジメンは、最適な治療応答を提供するために調整されてよい。

【０２２７】

「予防有効量」は、本明細書で使用される場合、障害を有する、またはそれを有する素因のある対象に投与される場合、疾患または疾患の１つ以上の症状を予防または改善するのに十分な量のオリゴヌクレオチドを含むことを意図する。疾患の改善は、疾患の経過を遅らせること、または後に発症する疾患の重症度を減少させることを含む。「予防有効量」は、オリゴヌクレオチド、薬剤の投与方法、疾患リスクの程度、ならびに処置される患者の病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、もしあれば、先行処置または併用処置の種類、及び他の個々の特性に応じて変動する場合がある。

【０２２８】

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

【０２２９】

予防有効量はまた、例えば、ヒトを含む対象に投与される場合、本明細書に記載される障害のうち１つ以上の発症を、予測される発症と比較した場合に、少なくとも１２０日、例えば、少なくとも６か月、少なくとも１２か月、少なくとも２年、少なくとも３年、少な

くとも４年、少なくとも５年、少なくとも１０年またはそれを超えて遅延させるのに十分な量を指してよい。

【０２３０】

「タンパク質のレベルを決定する」とは、直接的または間接的のいずれかの、当該技術分野における既知の方法によるタンパク質、またはタンパク質をコードするｍＲＮＡの検出を意味する。「直接決定する」とは、物理的実体または値を得るためにプロセスを実施すること（例えば、試料でアッセイもしくは試験を実施すること、またはその用語が本明細書で定義されるように「試料を分析すること」）を意味する。「間接的に決定する」は、別の団体または供給源（例えば、物理的実体または値を直接取得した第三者の実験室）から物理的実体または値を受け取ることを指す。タンパク質レベルを測定する方法としては一般に、ウェスタンブロッティング、イムノブロッティング、酵素結合免疫吸着法（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、免疫沈降、免疫蛍光法、表面プラズモン共鳴、化学発光、蛍光偏光、リン光、免疫組織化学分析、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型（ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ）質量分析、液体クロマトグラフィー（ＬＣ）質量分析、マイクロサイトメトリー、顕微鏡法、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）、及びフローサイトメトリーに加えて、酵素活性または他のタンパク質パートナーとの相互作用を含むが、これらに限定されないタンパク質の特性に基づくアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。ｍＲＮＡレベルを測定する方法は、当該技術分野において既知である。

【０２３１】

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

１００×（分数Ｘ／Ｙ）

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

【０２３２】

「レベル」とは、参照と比較した場合、タンパク質、またはタンパク質をコードするｍＲＮＡのレベルまたは活性を意味する。参照は、本明細書で定義されるように、任意の有用な参照であり得る。タンパク質の「レベル減少」または「レベル増加」とは、参照と比較した場合に、タンパク質レベルの減少または増加（例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、約１００％、約１５０％、約２００％、約３００％、約４００％、約５００％、もしく

はそれを超える減少もしくは増加、参照と比較した場合に、約１０％、約１５％、約２０％、約５０％、約７５％、約１００％、もしくは約２００％超の減少もしくは増加、約０．０１倍、約０．０２倍、約０．１倍、約０．３倍、約０．５倍、約０．８倍未満、もしくはそれ未満の減少もしくは増加、または約１．２倍、約１．４倍、約１．５倍、約１．８倍、約２．０倍、約３．０倍、約３．５倍、約４．５倍、約５．０倍、約１０倍、約１５倍、約２０倍、約３０倍、約４０倍、約５０倍、約１００倍、約１０００倍超、もしくはそれを超える増加）を意味する。タンパク質のレベルは、質量／体積（例えば、ｇ／ｄＬ、ｍｇ／ｍＬ、μｇ／ｍＬ、ｎｇ／ｍＬ）または試料中の総タンパク質もしくはｍＲＮＡと比較したパーセンテージで表されてよい。

【０２３３】

「医薬組成物」という用語は、本明細書で使用される場合、薬学的に許容される賦形剤と共に製剤化され、好ましくは哺乳動物の疾患処置を目的とした治療レジメンの一部として政府の規制機関の承認によって製造または販売される、本明細書に記載される化合物を含有する組成物を表す。医薬組成物は、例えば、単位剤形（例えば、錠剤、カプセル、カプレット、ジェルキャップ、もしくはシロップ）で経口投与用に、局所投与用に（例えば、クリーム、ゲル、ローション、もしくは軟膏として）、静脈内投与用に（例えば、粒状塞栓物質を含まず、静脈内使用に好適な溶媒系中の滅菌溶液として）、髄腔内注射用に、脳室内注射用に、実質内注射用に、または任意の他の薬学的に許容される製剤で製剤化され得る。

【０２３４】

「薬学的に許容される賦形剤」は、本明細書で使用される場合、本明細書に記載される化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁または溶解できるビヒクル）を指し、患者において実質的に非毒性かつ非炎症性であるという性質を有する。賦形剤としては、例えば、抗接着剤、抗酸化剤、結合剤、コーティング剤、圧縮助剤、崩壊剤、染料（色味）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、皮膜形成剤またはコーティング剤、香味料、芳香剤、流動化剤（流動促進剤）、滑沢剤、防腐剤、印刷インク、吸着剤、懸濁化剤または分散剤、甘味料、及び水和水が挙げられてよい。例示的な賦形剤としては、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（二塩基性）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスポビドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微結晶セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポビドン、アルファ化デンプン、プロピルパラベン、パルミチン酸レチニル、シェラック、二酸化ケイ素、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、クエン酸ナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、ソルビトール、デンプン（トウモロコシ）、ステアリン酸、スクロース、タルク、二酸化チタン、ビタミンＡ、ビタミンＥ、ビタミンＣ、及びキシリトールが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２３５】

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

製中にその場で、または遊離塩基基を好適な有機酸と反応させることによって別々に調製され得る。

【０２３６】

本明細書に記載される化合物は、薬学的に許容される塩として調製できるように、イオン性基を有してよい。これらの塩は、無機もしくは有機酸を含む酸付加塩であってよいか、または塩は、本明細書に記載される化合物の酸性形態の場合、無機もしくは有機塩基から調製されてよい。多くの場合、化合物は、薬学的に許容される酸または塩基の付加生成物として調製される薬学的に許容される塩として調製または使用される。好適な薬学的に許容される酸及び塩基ならびに適切な塩の調製方法は、当該技術分野において周知である。塩は、無機及び有機の酸及び塩基を含む、薬学的に許容される非毒性の酸及び塩基から調製されてよい。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、及び吉草酸塩が挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムに加えて、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、及びエチルアミンを含むが、これらに限定されない非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、及びアミンカチオンが挙げられる。

【０２３７】

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

【０２３８】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、本発明による組成物が、例えば、実

験、診断、予防、及び／または治療目的で投与される場合がある任意の生物を指す。典型的な対象としては、任意の動物（例えば、哺乳動物、例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなど）が挙げられる。対象は、処置を求めるか、もしくは処置の必要がある、処置を必要としている、処置を受けている、将来的に処置を受けている、または特定の疾患もしくは状態について訓練を受けた専門家によって管理下にあるヒトもしくは動物である場合がある。

【０２３９】

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

【０２４０】

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

【０２４１】

本発明の１つ以上の実施形態に関する詳細が、以下の記載に示される。本発明の他の特徴、目的、及び利点は、記載から、及び特許請求の範囲から明らかとなる。

【発明を実施するための形態】

【０２４２】

本発明者らは、修飾オリゴヌクレオチドを利用して、ｍＲＮＡ中の標的アデノシンを脱アミノ化できることを見出した。したがって、本発明は、ｍＲＮＡ上で標的アデノシン、例えば、治療結果を必要とする対象に治療結果をもたらすように脱アミノ化される可能性のある、例えば、アデノシンを脱アミノ化するのに有用な組成物及び方法を特徴とする。

【０２４３】

Ｉ．障害

本発明はまた、本明細書に記載されるような、哺乳動物、好ましくはヒト細胞中において標的ＲＮＡ配列を変化させる方法に使用するための本発明のオリゴヌクレオチドを提供する。同様に、本発明は、本明細書に記載されるような、哺乳動物、好ましくはヒト細胞中において標的ＲＮＡ配列を変化させるための医薬の製造における本発明のオリゴヌクレオチド構築物の使用を提供する。

【０２４４】

本発明はまた、細胞中において標的ＲＮＡ配列中に存在する少なくとも１個の特定の標的アデノシンを脱アミノ化する方法に関し、本方法は、細胞に、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドを提供するステップ、オリゴヌクレオチドの細胞による取込みを可能にするステップ、標的ＲＮＡ配列へのオリゴヌクレオチドのアニーリングを可能にするステップ、野生型酵素に見られるような天然ｄｓＲＮＡ結合ドメインを含む哺乳動物ＡＤＡＲ酵素が、標的ＲＮＡ配列中の標的アデノシンをイノシンに脱アミノ化することを可能にするステップ、及び場合により、ＲＮＡ配列中のイノシンの存在を同定するステップを含む。

【０２４５】

したがって、本発明はまた、互いに隣接する２個のアデノシンが、ＡＤＡＲなどのＲＮＡ編集酵素によって同時脱アミノ化されるオリゴヌクレオチド及び方法に関する。この特定の場合では、ＵＡＡ終止コドンはＵＩＩ　Ｔｒｐをコードするコドンに変換される。標的コドン内の標的アデノシンの脱アミノ化に起因する改変の他の例は、以下の表１及び２に提供される。

表１

標的コドン	標的コドンによってコードされるアミノ酸	改変コドン	改変コドンによってコードされるアミノ酸
ＡＡＡ	Ｌｙｓ	ＩＡＡ	Ｇｌｕ
		ＡＩＡ	Ａｒｇ
		ＩＩＡ	Ｇｌｙ
		ＡＩＩ	Ａｒｇ
		ＩＡＩ	Ｇｌｕ
		ＩＩＩ	Ｇｌｙ
ＡＡＣ	Ａｓｎ	ＩＡＣ	Ａｓｐ
		ＡＩＣ	Ｓｅｒ
		ＩＩＣ	Ｇｌｙ
ＡＡＧ	Ｌｙｓ	ＩＡＧ	Ｇｌｕ
		ＡＩＧ	Ａｒｇ
		ＩＩＧ	Ｇｌｙ
ＡＡＵ	Ａｒｇ	ＩＡＵ	Ａｓｐ
		ＡＩＵ	Ｓｅｒ
		ＩＩＵ	Ｇｌｙ
ＡＣＡ	Ｔｈｒ	ＩＣＡ	Ａｌａ
		ＩＣＩ	Ａｌａ
ＡＣＣ	Ｔｈｒ	ＩＣＣ	Ａｌａ
ＡＣＧ	Ｔｈｒ	ＩＣＧ	Ａｌａ
ＡＣＵ	Ｔｈｒ	ＩＣＵ	Ａｌａ
ＡＧＡ	Ａｒｇ	ＩＧＡ	Ｇｌｙ
		ＩＧＩ	Ｇｌｙ
ＡＧＣ	Ｓｅｒ	ＩＧＣ	Ｇｌｙ
ＡＧＧ	Ａｒｇ	ＩＧＧ	Ｇｌｙ
ＡＧＵ	Ｓｅｒ	ＩＧＵ	Ｇｌｙ
ＡＵＡ	Ｉｌｅ	ＩＵＡ	Ａｓｐ
		ＡＵＩ	Ｍｅｔ
		ＩＵＩ	Ｖａｌ
ＡＵＣ	Ｉｌｅ	ＩＵＣ	Ｖａｌ
ＡＵＧ	Ｍｅｔ	ＩＵＧ	Ｖａｌ
ＡＵＵ	Ｉｌｅ	ＩＵＵ	Ｖａｌ
ＣＡＡ	Ｇｌｎ	ＣＩＡ	Ａｒｇ
		ＣＩＩ	Ａｒｇ
ＣＡＣ	Ｈｉｓ	ＣＩＣ	Ａｒｇ
ＣＡＧ	Ｇｌｎ	ＣＩＧ	Ａｒｇ
ＣＡＵ	Ｈｉｓ	ＣＩＵ	Ａｒｇ
ＧＡＡ	Ｇｌｕ	ＧＩＡ	Ｇｌｙ

標的コドン	標的コドンによってコードされるアミノ酸	改変コドン	改変コドンによってコードされるアミノ酸
		ＧＩＩ	Ｇｌｙ
ＧＡＣ	Ａｓｐ	ＧＩＣ	Ｇｌｙ
ＧＡＧ	Ｇｌｕ	ＧＩＧ	Ｇｌｙ
ＧＡＵ	Ａｓｐ	ＧＩＵ	Ｇｌｙ
ＵＡＡ	終止	ＵＩＩ	Ｔｒｐ
ＵＧＡ	終止	ＵＧＩ	Ｔｒｐ
ＵＡＣ	Ｔｙｒ	ＵＩＣ	Ｃｙｓ
ＵＡＧ	終止	ＵＩＧ	Ｔｒｐ
ＵＡＵ	Ｔｙｒ	ＵＩＵ	Ｃｙｓ

表２．標的コドン塩基組成及び得られる改変コドン

標的コドン	改変コドン
ＡＡＡ	ＡＩＡ
ＡＡＣ	ＡＩＣ
ＡＡＧ	ＡＩＧ
ＡＡＵ	ＡＩＵ
ＣＡＡ	ＣＩＡ
ＣＡＣ	ＣＩＣ
ＣＡＧ	ＣＩＧ
ＣＡＵ	ＣＩＵ
ＧＡＡ	ＧＩＡ
ＧＡＣ	ＧＩＣ
ＧＡＧ	ＧＩＧ
ＧＡＵ	ＧＩＵ
ＵＡＡ	ＵＩＡ
ＵＡＣ	ＵＩＣ
ＵＡＧ	ＵＩＧ
ＵＡＵ	ＵＩＵ

【０２４６】

アデノシンからイノシンへの脱アミノ化は、標的位置の変異型Ａから影響を受けなくなるタンパク質をもたらす可能性があるため、イノシンへの脱アミノ化の同定は、機能的読取

り、例えば、機能性タンパク質が存在するかどうかに関する評価、またはさらにアデノシンの存在によって引き起こされる疾患が（部分的に）逆転するという評価であってよい。本明細書で言及される疾患の各々に関する機能評価は一般に、当業者に既知の方法に従うことになる。標的アデノシンの存在が異常なスプライシングを引き起こす場合、読取りは、異常なスプライシングが依然として生じているか否か、または少ないかどうかに関する評価であってよい。一方で、標的アデノシンの脱アミノ化にスプライス部位の導入が望まれる場合には、必要な種類のスプライシングが実際に生じているかどうかを確認するために同様のアプローチが使用され得る。標的アデノシンの脱アミノ化後にイノシンの存在を同定するための非常に好適な手法は、当然のことながら、当業者に周知の方法を使用する、ＲＴ－ＰＣＲ及びシーケンシングである。

【０２４７】

一般に、本発明によるオリゴヌクレオチド構築物を使用して逆転され得る任意の標的ＲＮＡの変異はＧからＡの変異であり、オリゴヌクレオチド構築物は、それに応じて設計され得る。本発明によるオリゴヌクレオチド構築物を使用して標的とされる可能性がある変異はまた、アデノシンデアミナーゼを動員する場合にＣからＡ、ＵからＡ（ＤＮＡレベルでのＴからＡ）を含む。後者の状況でのＲＮＡ編集は必ずしも変異を野生型に戻す場合があるとは限らないが、編集されたヌクレオチドは元の変異に対して改善をもたらす場合がある。例えば、インフレーム終止コドンを引き起こす変異（翻訳時に切断型タンパク質を生じさせる）は、その位置の元のアミノ酸ではない場合があるが、少なくともある機能性、少なくとも切断型タンパク質よりも多くの機能性を有する（全長）タンパク質を生じさせるアミノ酸をコードするコドンに変更される可能性がある。

【０２４８】

本発明は、遺伝子疾患、例えば、嚢胞性線維症、白皮症、アルファ－１－アンチトリプシン（Ａ１ＡＴ）欠損症、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、喘息、１１サラセミア、Ｃａｄａｓｉｌ症候群、シャルコー・マリー・トゥース病、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、遠位型脊髄性筋萎縮症（ＤＳＭＡ）、デュシェンヌ型／ベッカー型筋ジストロフィー、栄養障害型表皮水疱症、表皮水疱症、ファブリー病、第Ｖ因子ライデン関連障害、家族性大腸腺腫症、ガラクトース血症、ゴーシェ病、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ欠損症、血友病、遺伝性ヘモクロマトーシス、ハンター症候群、ハンチントン病、ハーラー症候群、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、遺伝性多凝集症候群、レーバー先天性黒内障、レッシュ・ナイハン症候群、リンチ症候群、マルファン症候群、ムコ多糖症、筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィーＩ型及びＩＩ型、神経線維腫、ニーマン・ピック病Ａ型、Ｂ型及びＣ型、ＮＹ－ＥＳＯ－１関連がん、パーキンソン病、ポイツ・ジェガース症候群、フェニルケトン尿症、ポンペ病、原発性線毛疾患、プロトロンビン変異関連障害（例えば、プロトロンビンＧ２０２１０Ａ変異）、肺高血圧症、網膜色素変性症、サンドホフ病、重症複合免疫不全症候群（ＳＣＩＤ）、鎌状赤血球貧血、脊髄性筋萎縮症、シュタルガルト病、テイ・サックス病、アッシャー症候群、Ｘ連鎖性免疫不全、スタージ・ウェーバー症候群、レット症候群、ならびに様々ながん型（例えば、ＢＲＣＡ１及び２連鎖乳癌及び卵巣癌）などの処置に特に好適である。

【０２４９】

本発明のオリゴヌクレオチドは、アデノシン変異を脱アミノ化し、タンパク質活性の増加をもたらす可能性がある。

【０２５０】

ある特定の実施形態では、処置は、遺伝子の変異と診断されているが、まだ疾患症状を有しない対象（例えば、乳幼児、例えば、１か月～１２か月齢の対象または２歳未満の対象など）に対して実施される。他の実施形態では、処置は、少なくとも１つの症状を有する個体に対して実施される。

【０２５１】

処置は、乳児期から始まり成人期までの、あらゆる年齢の対象で実施されてよい。対象は、例えば、出生時、６か月、または１歳、２歳、３歳、４歳、５歳、６歳、７歳、８歳、

９歳、１０歳、１１歳、１２歳、１３歳、１５歳、もしくは１８歳で処置を開始してよい。

【０２５２】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、インビトロ及び／またはインビボでタンパク質活性を増加させる（例えば、１００％、１５０％、２００％、３００％、４００％、５００％、６００％、７００％、８００％、９００％、１０００％以上の増加、または１．２倍、１．４倍、１．５倍、１．８倍、２．０倍、３．０倍、３．５倍、４．５倍、５．０倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、１００倍、１０００倍超、もしくはそれを超える増加）。

【０２５３】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、脳内でのタンパク質活性を増加させる（例えば、１００％、１５０％、２００％、３００％、４００％、５００％、６００％、７００％、８００％、９００％、１０００％以上の増加、または１．２倍、１．４倍、１．５倍、１．８倍、２．０倍、３．０倍、３．５倍、４．５倍、５．０倍、１０倍、１５倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、１００倍、１０００倍超、もしくはそれを超える増加）。

【０２５４】

ＩＩ．オリゴヌクレオチド剤

本発明のオリゴヌクレオチドは、ＡＤＡＲ酵素を動員して標的ｍＲＮＡ上の選択されたアデノシンを脱アミノ化できる少なくとも１つのミスマッチを除いて、標的ｍＲＮＡに相補的である。いくつかの実施形態では、１個のアデノシンのみが脱アミノ化される。いくつかの実施形態では、１個、２個、または３個のアデノシンが脱アミノ化される。オリゴヌクレオチドは、標的アデノシンの反対側、例えば、Ｘ２にミスマッチを含む。本発明のオリゴヌクレオチドは、安定性を高めるための、及び／または脱アミノ化効率を高めるための修飾（例えば、代替ヌクレオチド）をさらに含んでよい。

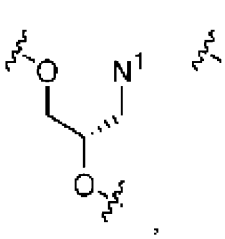
【０２５５】

Ａ．代替オリゴヌクレオチド

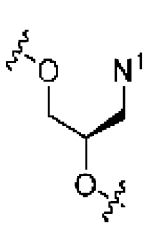
一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が天然に存在し、当該技術分野において既知の、かつ本明細書に記載される、例えば、化学修飾及び／または複合化を含まない。別の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、安定性または他の有益な特性を増強するために化学修飾される（例えば、代替ヌクレオチド）。理論に束縛されるものではないが、ある特定の修飾がヌクレアーゼ耐性及び／または血清安定性を増加させ得るか、または免疫原性を減少させ得ると考えられている。例えば、本発明のポリヌクレオチドは、ＤＮＡもしくはＲＮＡ中において天然に存在することが見出されたヌクレオチド（例えば、アデニン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、もしくはイノシン）を含有してよいか、またはヌクレオチドの１つ以上の構成要素（例えば、核酸塩基、糖、もしくはホスホリンカー部分）に対して１つ以上の化学修飾を有するヌクレオチドを含有してよい。本発明のオリゴヌクレオチドは、天然に存在するホスホジエステル結合を介して互いに連結されてよいか、またはホスホロチオレート、３’－メチレンホスホネート、５’－メチレンホスホネート、３’－ホスホアミデート、２’－５’ホスホジエステル、グアニジニウム、Ｓ－メチルチオ尿素、もしくはペプチド結合を介して共有結合的に連結されるように修飾されてよい。

【０２５６】

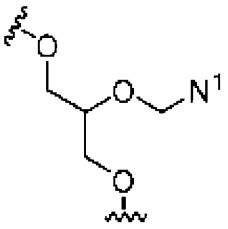
いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式Ｉ～ＶＩ：



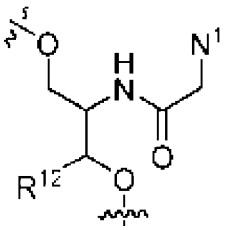
式Ｉ



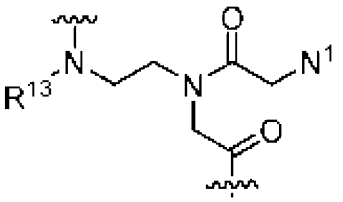
式ＩＩ



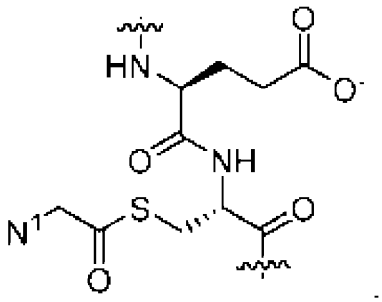
式ＩＩＩ



式ＩＶ



式Ｖ



式ＶＩ

のいずれか１つの構造を有する。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式Ｉのいずれか１つの構造を有する。

【０２５８】

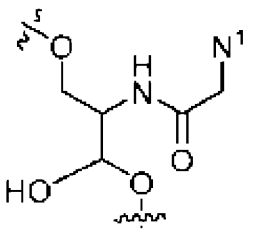
いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式ＩＩのいずれか１つの構造を有する。

【０２５９】

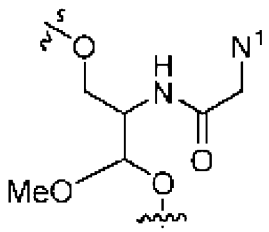
いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式ＩＩＩのいずれか１つの構造を有する。

【０２６０】

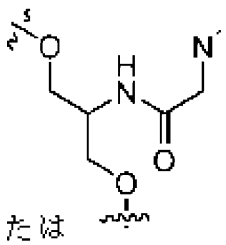
いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式ＩＶのいずれか１つの構造を有する、例えば、構造：



、



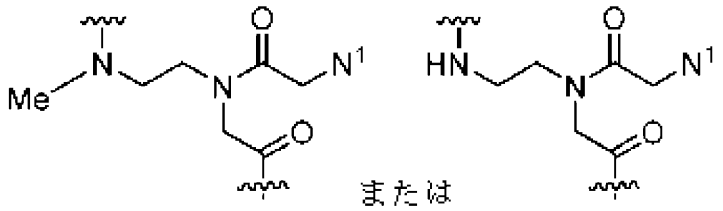
、または



を有する。

【０２６１】

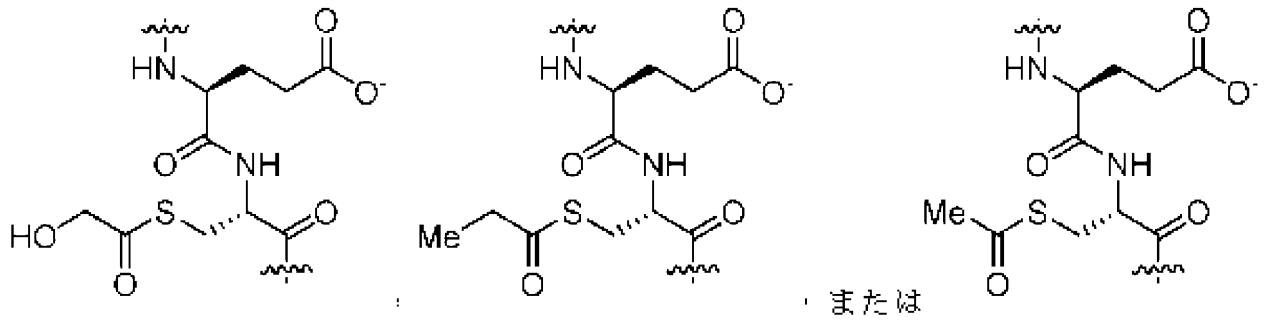
いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式Ｖのいずれか１つの構造を有する、例えば、構造：



を有する。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、式ＶＩのいずれか１つの構造を有する、例えば、構造：



を有する。

【０２６３】

本発明のある特定の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドの実質的に全てが、代替ヌクレオチドである。本発明の他の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドの全てが、代替ヌクレオチドである。「ヌクレオチドの実質的に全てが代替ヌクレオチドである」本発明のオリゴヌクレオチドは、完全にではないが、大部分が修飾されていて、５個、４個、３個、２個、または１個以下の天然に存在するヌクレオチドを含み得る。本発明のさらに他の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、５個、４個、３個、２個、または１個以下の代替ヌクレオチドを含み得る。

【０２６４】

本発明のいくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、構造：

［Ａｍ］－Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－［Ｂｎ］

を含み、式中、Ａ及びＢの各々がヌクレオチドであり、ｍ及びｎが各々、独立して５～４０の整数であり、Ｘ１、Ｘ２、及びＸ３のうち少なくとも１つが、式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、または式ＩＶの構造を有し、式中、Ｎ１が核酸塩基であり、式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、または式ＩＶの構造を有しないＸ１、Ｘ２、及びＸ３の各々が、リボヌクレオチドであり、［Ａｍ］及び［Ｂｎ］が各々、少なくとも５個の末端２’－Ｏ－メチルヌクレオチド及び少なくとも４つの末端ホスホロチオエート結合を含み、［Ａｍ］及び［Ｂｎ］の全て合わせたヌクレオチドの少なくとも２０％が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がアデニン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、Ｘ３がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、Ｘ１がアデニン核酸塩基を含み、Ｘ２がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩

基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含むか、X^1がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がアデニン核酸塩基を含むか、X^1がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、X^1がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、X^1がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含むか、X^1がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がアデニン核酸塩基を含むか、X^1がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、X^1がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、X^1がウラシルまたはチミン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含むか、X^1がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がアデニン核酸塩基を含むか、X^1がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がグアニンまたはヒポキサンチン核酸塩基を含むか、X^1がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がウラシルまたはチミン核酸塩基を含むか、あるいはX^1がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含み、X^2がシトシン、５－メチルシトシン、ウラシル、もしくはチミン核酸塩基を含むか、または核酸塩基を含まず、X^3がシトシンまたは５－メチルシトシン核酸塩基を含む。

【０２６５】

本発明の例示的なオリゴヌクレオチドが、以下の表３に示される。表３では、Ａ、Ｃ、Ｇ及びＵはリボヌクレオシドであり、ｍＡ、ｍＣ、ｍＧ及びｍＵは２’－Ｏ－メチルリボヌクレオシドであり、ｓｇＣは（Ｓ）－（－）－ＧＮＡ－Ｃを表し、ｒｇＣは（Ｒ）－（＋）－ＧＮＡ－Ｃを表し、ｓＣはＳＮＡ－シチジン（ＳＮＡ－Ｃ）を表し、ｆｘＣはＦＮＡ－シチジン（ＦＮＡ－Ｃ）を表し、アスタリスクは、ホスホロチオエート結合を示す（残りの結合はホスホジエステル結合である）。

表３．本発明の例示的なオリゴヌクレオチド

５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧＣＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５１
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧｓｇＣＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５２
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧＣｓｇＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５３
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧｓｇＣｓｇＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５４
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧｒｇＣＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５５
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧＣｒｇＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５６
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧｓＣＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５７
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧＣｓＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５８
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧｆｘＣＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.５９
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣＵＵＧＵＧＵＣＵＡＣＵＧＵＡＣＡＧＡＡＵＡＣＵＧＣＣＧＣｆｘＣＡＧＣＵＧＧＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６０
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧＣＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６１
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧｓｇＣＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６２
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧＣｓｇＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６３

５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧｓｇＣｓｇＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６４
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧｒｇＣＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６５
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧＣｒｇＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６６
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧｓＣＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６７
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧＣｓＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６８
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧｆｘＣＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.６９
５’－ｍＣ＊ｍＡ＊ｍＵ＊ｍＡ＊ｍＡＵＵＣｍＵｍＵＧＵＧｍＵｍＣＵＡＣｍＵｍＧＵＡＣｍＡｍＧＡＡＵｍＡｍＣＵＧＣｍＣｍＧＣｆｘＣＡｍＧｍＣＵＧｍＧｍＡＵｍＵ＊ｍＵ＊ｍＣ＊ｍＣ＊ｍＣ－３’	配列番号.７０

【０２６６】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、ＡＤＡＲ酵素の動員ドメイン（例えば、ＡＤＡＲ動員ドメイン）として機能するステムループ構造を含む。そのようなオリゴヌクレオチドは、「ａｘｉｏｍｅｒ　ＡＯＮ」または「自己ループ化ＡＯＮ」と称されてよい。動員部分は、細胞内に存在する天然ＡＤＡＲ酵素を、標的配列と標的化部分とのハイブリダイゼーションによって形成されるｄｓＲＮＡに動員するように機能する。動員部分は、天然基質（例えば、グルタミン酸イオンチャネル型受容体ＡＭＰＡ型サブユニット２（ＧｌｕＲ２）受容体、例えば、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインなど）またはＡＤＡＲ酵素のｄｓＲＮＡ結合領域によって認識されることで知られているＺ－ＤＮＡ構造（例えば、Ｚ－ＤＮＡ　ＡＤＡＲ動員ドメイン）のいずれかを模倣するステムループ構造であってよい。ＧｌｕＲ２及びＺ－ＤＮＡ　ＡＤＡＲ動員ドメインは、ＡＤＡＲに対する高親和性結合パートナーであるため、修飾組換えＡＤＡＲ酵素の複合化実体または存在は必要ない。ステムループ構造は、２つの別個の核酸鎖によって形成される分子間ステムループ構造、または単一の核酸鎖内で形成される分子内ステムループ構造であり得る。動員部分のステムループ構造は、ＷＯ２０１６／０９７２１２、ＵＳ２０１８／０２０８９２４、Ｍｅｒｋｌｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，３７

：１３３－８（２０１９）、Ｋａｔｒｅｋａｒ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｔｈｏｄｓ，１６（３）：２３９－４２（２０１９）、Ｆｕｋｕｄａ ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ｒｅｐｏｒｔｓ，７：４１４７８（２０１７）に記載されているステムループ構造であってよく、そのＡＤＡＲ動員部分のステムループ構造が参照によって本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメイン（例えば、１つまたは２つのＡＤＡＲ動員ドメイン）を含む。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、式ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、Ｘ、またはＸＩのいずれか１つの構造を有するものを含む。一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、式ＸＸＶ：

Ｃ－Ｌ$_1$－Ｄ

式ＸＸＶ

の構造を有するＡＤＡＲ動員ドメインを含むものを含み、式中、Ｃが約１０～５０個の連結ヌクレオシド長（例えば、約１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、４６、４７、４８、４９、または５０個の連結ヌクレオシド長）の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、Ｌ$_1$がループ領域であり、Ｄが約１０～５０個の連結ヌクレオシド長（例えば、約１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、４６、４７、４８、４９、または５０個の連結ヌクレオシド長）の一本鎖オリゴヌクレオチドである。

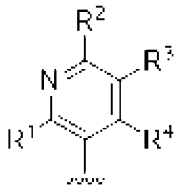
【０２６８】

いくつかの実施形態では、Ｃは、２本の鎖が好適な条件下でハイブリダイズし、二本鎖を形成するようにＤに相補的である領域を含む。一般に、二本鎖構造は、５～５０個の連結ヌクレオシド長、例えば、５～４９個、５～４５個、５～４０個、５～３５個、５～３０個、５～２５個、５～２０個、５～１５個、５～１０個、５～６個、８～５０個、８～４５個、８～４０個、８～３５個、８～３０個、８～２５個、８～２０個、８～１５個、８～１０個、１５～５０個、１５～４５個、１５～４０個、１５～３５個、１５～３０個、１５～２５個、１５～２０個、１５～１６個、２０～５０個、２０～４５個、２０～４０個、２０～３５個、２０～３０個、２０～２５個、２５～５０個、２５～４５個、２５～４０個、２５～３５個、または２５～３０個の連結ヌクレオシド長である。上に列挙される範囲及び長さに対して中間の範囲及び長さもまた、本発明の一部であると企図される。いくつかの実施形態では、Ｃは、Ｄの少なくとも５個の隣接する核酸塩基（例えば、５個、１０個、１５個、２０個、２５個、３０個、またはそれを超える隣接する核酸塩基）に相補的であり、オリゴヌクレオチドは、１０～５０個の連結ヌクレオシド長（例えば、少なくとも１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、４６、４７、４８、４９、または５０個の連結ヌクレオシド長）の二本鎖構造を形成する。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、二本鎖構造は、ＣのヌクレオチドとＤのヌクレオチドとの間に少なくとも１つのミスマッチ（例えば、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、または５つのミスマッチ）を含む。いくつかの実施形態では、ミスマッチは、ＡからＣの対のミスマッチである。いくつかの実施形態では、ＡからＣのミスマッチのＡヌクレオシドはＣ鎖上にあり、ＡからＣのミスマッチのＣヌクレオシドはＤ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＡからＣのミスマッチのＡヌクレオシドはＤ鎖上にあり、ＡからＣのミスマッチのＣヌクレオシドはＣ鎖上にある。他の実施形態では、ミスマッチは、ＧからＧの対のミスマッチである。さらに他の実施形態では、ミスマッチは、ＣからＡの対のミスマッチである。いくつかの実施形態では、ＣからＡのミスマッチのＣヌクレオシドはＣ鎖上にあり、ＣからＡのミスマッチのＡヌクレオシドはＤ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＣからＡのミスマッチのＣヌクレオシドはＤ鎖上にあり、ＣからＡのミスマッチのＡヌクレオシドはＣ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ミスマッチは、ＩからＧの対のミスマッチである。いくつかの実施形態では、ＩからＧのミスマッチのＩヌクレオシドはＣ鎖上にあり、ＩからＧのミスマッチのＧヌクレオシドはＤ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＩからＧのミスマッチのＩヌクレオシドはＤ鎖上にあり、ＩからＧのミスマッチのＧヌク

レオシドはＣ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ミスマッチは、ＧからＩの対のミスマッチである。いくつかの実施形態では、ＧからＩのミスマッチのＧヌクレオシドはＣ鎖上にあり、ＧからＩのミスマッチのＩヌクレオシドはＤ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ＧからＩのミスマッチのＧヌクレオシドはＤ鎖上にあり、ＧからＩのミスマッチのＩヌクレオシドはＣ鎖上にある。いくつかの実施形態では、ミスマッチは、代替核酸塩基を有するヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、代替核酸塩基は、構造：



（式中、Ｒ^{1}が、水素、トリフルオロメチル、場合により置換されるアミノ、ヒドロキシル、もしくは場合により置換されるＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルコキシであり、
Ｒ^{2}が、水素、場合により置換されるアミノ、もしくは場合により置換されるＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり、
Ｒ^{3}及びＲ^{4}が、独立して水素、ハロゲン、もしくは場合により置換されるＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルである）を有するか、またはその塩である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{1}は、水素結合供与基（例えば、ヒドロキシル基、アミノ基）である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{1}は、水素結合受容基（例えば、アルコキシ基）である。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、二本鎖構造は２つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、ミスマッチは、少なくとも３個の連結ヌクレオシド分だけ離れている。例えば、ミスマッチが「３個のヌクレオチドによって分離されている」場合、オリゴヌクレオチドは、構造Ｍ$_{1}$－Ｎ$_{1}$－Ｎ$_{2}$－Ｎ$_{3}$－Ｍ$_{2}$を含み、式中、Ｍ$_{1}$が第１ミスマッチであり、Ｎ$_{1}$、Ｎ$_{2}$、及びＮ$_{3}$が対合核酸塩基であり、Ｍ$_{2}$が第２ミスマッチである。いくつかの実施形態では、Ｍ$_{1}$はＡからＣの対のミスマッチであり、Ｍ$_{2}$はＧからＧの対のミスマッチである。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、ループ領域Ｌ$_{1}$は、連結ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、Ｌ$_{1}$は、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。

【０２７２】

他の実施形態では、ループ領域は、式ＩＸ：
Ｆ^{1}－（Ｇ^{1}）$_{j}$－（Ｈ^{1}）$_{k}$－（Ｇ^{2}）$_{m}$－（Ｉ）－（Ｇ^{3}）$_{n}$－（Ｈ^{2}）$_{p}$－（Ｇ^{4}）$_{q}$－Ｆ^{2}
式ＩＸ
の構造を有し、式中、Ｆ^{1}がループ領域とＣとの間の結合であり、Ｆ^{2}がＤとヌクレオチドとの間の結合またはＤと場合により、リンカーとの間の結合であり、Ｇ^{1}、Ｇ^{2}、Ｇ^{3}、及びＧ^{4}が各々、独立して場合により置換されるＣ１～Ｃ２アルキル、場合により置換されるＣ１～Ｃ３ヘテロアルキル、Ｏ、Ｓ、及びＮＲ^{N}から選択され、Ｒ^{N}が、水素、場合により置換されるＣ$_{1}$～$_{4}$アルキル、場合により置換されるＣ$_{2}$～$_{4}$アルケニル、場合により置換されるＣ$_{2}$～$_{4}$アルキニル、場合により置換されるＣ$_{2}$～$_{6}$ヘテロシクリル、場合により置換されるＣ$_{6}$～$_{12}$アリール、または場合により置換されるＣ$_{1}$～$_{7}$ヘテロアルキルであり、Ｃ^{1}及びＣ^{2}が各々、独立してカルボニル、チオカルボニル、スルホニル、またはホスホリルから選択され、ｊ、ｋ、ｍ、ｎ、ｐ、及びｑが各々、独立して０または１であり、Ｉが、場合により置換されるＣ$_{1}$～$_{10}$アルキル、場合により置換されるＣ$_{2}$～$_{10}$アルケニル、場合により置換されるＣ$_{2}$～$_{10}$アルキニル、場合により置換されるＣ$_{2}$～$_{6}$ヘテロシクリル、場合により置換されるＣ$_{6}$～$_{12}$アリール、場合により置

換されるＣ２～Ｃ１０ポリエチレングリコール、もしくは場合により置換されるＣ１～１０ヘテロアルキル、またはＦ１－（Ｇ１）ｊ－（Ｈ１）ｋ－（Ｇ２）ｍ－（Ｉ）－（Ｇ３）ｎ－（Ｈ２）ｐ－（Ｇ４）ｑ－Ｆ２を連結する化学結合である。いくつかの実施形態では、リンカーは任意である。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、ループ領域Ｌ１は、炭水化物含有連結部分を含む。

【０２７４】

一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が天然に存在し、当該技術分野において既知の、かつ本明細書に記載される、例えば、化学修飾及び／または複合化を含まない。別の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドのうち１個以上が、安定性または他の有益な特性を増強するために化学修飾される（例えば、代替ヌクレオチド）。理論に束縛されるものではないが、ある特定の修飾がヌクレアーゼ耐性及び／または血清安定性を増加させ得るか、または免疫原性を減少させ得ると考えられている。例えば、本発明のポリヌクレオチドは、ＤＮＡもしくはＲＮＡ中において天然に存在することが見出されたヌクレオチド（例えば、アデニン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、もしくはイノシン）を含有してよいか、またはヌクレオチドの１つ以上の構成要素（例えば、核酸塩基、糖、もしくはホスホリンカー部分）に対して１つ以上の化学修飾を有するヌクレオチドを含有してよい。本発明のオリゴヌクレオチドは、天然に存在するホスホジエステル結合を介して互いに連結されてよいか、またはホスホロチオレート、３’－メチレンホスホネート、５’－メチレンホスホネート、３’－ホスホアミデート、２’－５’ホスホジエステル、グアニジニウム、Ｓ－メチルチオ尿素、もしくはペプチド結合を介して共有結合的に連結されるように修飾されてよい。

【０２７５】

いくつかの実施形態では、Ｃは、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。いくつかの実施形態では、Ｄは、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。いくつかの実施形態では、Ｃ及びＤの両方とも、各々が少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。

【０２７６】

本発明のある特定の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドの実質的に全てが、代替ヌクレオチドである。本発明の他の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオチドの全てが、代替ヌクレオチドである。「ヌクレオチドの実質的に全てが代替ヌクレオチドである」本発明のオリゴヌクレオチドは、完全にではないが、大部分が修飾されていて、５個、４個、３個、２個、または１個以下の天然に存在するヌクレオチドを含み得る。本発明のさらに他の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、５個、４個、３個、２個、または１個以下の代替ヌクレオチドを含み得る。

【０２７７】

一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、式ＸＸＶの構造を有するＡＤＡＲ動員ドメインを含み、式中、Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、Ｌ１がループ領域であり、Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、Ｃは、Ｄの少なくとも５個の隣接する核酸塩基に相補的であり、オリゴヌクレオチドは、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含む。いくつかの実施形態では、二本鎖構造は、少なくとも１つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、ＣまたはＤは、少なくとも１個の代替核酸塩基を含む。いくつかの実施形態では、Ｃ及びＤは各々、少なくとも１個の代替核酸塩基を含む。いくつかの実施形態では、Ｃ及び／またはＤは、独立して少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合及び／または少なくとも１つの代替糖部分をさらに含む。いくつかの実施形態では、Ｌ１は連結ヌクレオチドを含む。他の実施形

態では、L_1は連結ヌクレオシドからなる。いくつかの実施形態では、L_1は、少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。

【０２７８】

別の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、式ＸＸＶの構造を有するＡＤＡＲ動員ドメインを含み、式中、Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、L_1が連結ヌクレオシドからならないループ領域であり、Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、Ｃは、Ｄの少なくとも５個の隣接する核酸塩基に相補的であり、オリゴヌクレオチドは、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含む。いくつかの実施形態では、二本鎖構造は、少なくとも１つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、L_1は、本明細書に記載されるような、式ＩＸの構造を有する。いくつかの実施形態では、L_1は、炭水化物含有連結部分を含む。いくつかの実施形態では、Ｃ及び／またはＤは、独立して少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。

【０２７９】

別の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、式ＸＸＶの構造を有するＡＤＡＲ動員ドメインを含み、式中、Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、L_1が、少なくとも１個の代替核酸塩基または少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合を含むループ領域であり、Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、Ｃは、Ｄの少なくとも５個の隣接する核酸塩基に相補的であり、オリゴヌクレオチドは、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含む。いくつかの実施形態では、二本鎖構造は、少なくとも１つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、L_1は、少なくとも１個の代替核酸塩基及び少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合を含む。

【０２８０】

別の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、式ＸＸＶの構造を有するＡＤＡＲ動員ドメインを含み、式中、Ｃが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドであり、L_1が、２’－Ｏ－メチル糖部分ではない少なくとも１つの代替糖部分（例えば、代替糖部分が、２’－Ｏ－C_1～C_6アルキル糖部分、２’－アミノ糖部分、２’－フルオロ糖部分、２’－Ｏ－ＭＯＥ糖部分、ＬＮＡ糖部分、アラビノ核酸（ＡＮＡ）糖部分、２’－フルオロ－ＡＮＡ糖部分、デオキシリボース糖部分、及び二環式核酸からなる群から選択される）を含むループ領域であり、Ｄが、１０～５０個の連結ヌクレオシド長の一本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、Ｃは、Ｄの少なくとも５個の隣接する核酸塩基に相補的であり、オリゴヌクレオチドは、１０～５０個の連結ヌクレオシド長のＣ及びＤによって形成される二本鎖構造を含む。いくつかの実施形態では、二本鎖構造は、少なくとも１つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、Ｃ及び／またはＤは、独立して少なくとも１個の代替核酸塩基、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合、及び／または少なくとも１つの代替糖部分を含む。

【０２８１】

いくつかの実施形態では、Ｃは、配列番号．１、４、７、１０、１３、１６、１９、２２、２５、２８、３１、及び３４のいずれか１つに示される核酸塩基配列に対して少なくとも５０％の配列同一性（例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性）を有する核酸塩基配列を含み、Ｄは、Ｃの核酸塩基配列に相補的な核酸塩基配列を含み、配列は、本明細書に記載されるような少なくとも１つのミスマッチを含む。他の実施形態では、Ｄは、配列番号．２、５、８、１１、１４、１７、２０、２３、２６、２９、３２、及び３５のいずれか１つに示される核酸塩基配列に対して少なくとも５０％の配列同一性（例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％

、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性）を有する核酸塩基配列を含み、Ｃは、Ｄの核酸塩基配列に相補的な核酸塩基配列を含み、配列は、本明細書に記載されるような少なくとも１つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、Ｃ－Ｌ$_1$－Ｄは、配列番号．３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、２７、３０、３３、及び３６のいずれか１つに示される核酸塩基配列に対して少なくとも５０％の配列同一性（例えば、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性）を有する核酸塩基配列を含み、配列は、本明細書に記載されるような少なくとも１つのミスマッチを含む。

【０２８２】

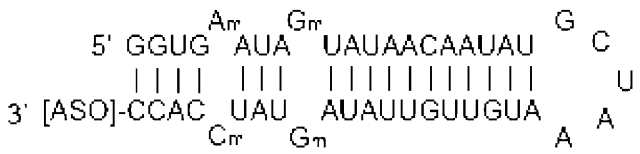
配列番号．１～３６の核酸塩基配列が、以下に提供される：

表４

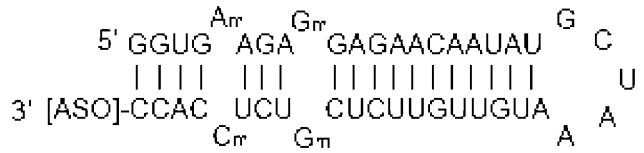
ＧＧＵＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．１
ＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＡＣＣ	配列番号．２
ＧＧＵＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵ ＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＡＣＣ	配列番号．３
ＧＧＵＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．４
ＡＵＧＵＵＧＵＵＣＵＣＧＵＣＵＣＣＡＣＣ	配列番号．５
ＧＧＵＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵ ＧＵＵＣＵＣＧＵＣＵＣＣＡＣＣ	配列番号．６
ＧＧＵＧＵＣＧＡＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．７
ＡＵＧＵＵＧＵＵＣＵＣＧＵＣＵＣＣＵＣＧＡＣＡＣＣ	配列番号．８
ＧＧＵＧＵＣＧＡＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡ ＡＵＧＵＵＧＵＵＣＵＣＧＵＣＵＣＣＵＣＧＡＣＡＣＣ	配列番号．９
ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．１０
ＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ	配列番号．１１
ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧ ＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ	配列番号．１２
ＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．１３
ＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣ	配列番号．１４
ＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵ ＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣ	配列番号．１５
ＧＧＵＧＵＣＧＡＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．１６
ＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＵＣＧＡＣＡＣＣ	配列番号．１７
ＧＧＵＧＵＣＧＡＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡ ＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＵＣＧＡＣＡＣＣ	配列番号．１８
ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵ	配列番号．１９
ＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ	配列番号．２０
ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧ ＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ	配列番号．２１
ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡ	配列番号．２２
ＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ	配列番号．２３
ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧ ＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ	配列番号．２４
ＧＵＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡ	配列番号．２５
ＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵＡＣ	配列番号．２６
ＧＵＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵ ＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵＡＣ	配列番号．２７
ＵＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡ	配列番号．２８
ＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵＡ	配列番号．２９
ＵＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡ ＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵＡ	配列番号．３０
ＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡ	配列番号．３１

ＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣ	配列番号．３２
ＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵ ＡＵＣＣＣＡＣＣ	配列番号．３３
ＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡ	配列番号．３４
ＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣ	配列番号．３５
ＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡ ＵＣＣＣＡＣ	配列番号．３６

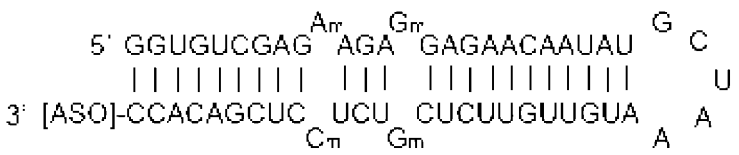
【０２８３】
配列番号．１～３６の配列は非修飾及び／または非複合化配列として記載されているが、本発明のオリゴヌクレオチドのＲＮＡは、以下で詳細に記載されるように代替ヌクレオシドある、及び／または複合化されている、配列番号．１～３６に示される配列のいずれか１つを含んでよいと理解されることになる。
【０２８４】
いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、５’キャップ構造をさらに含んでよい。いくつかの実施形態では、５’キャップ構造は、２，２，７－トリメチルグアノシンキャップである。
【０２８５】
本発明のオリゴヌクレオチドは、以下でさらに述べられるように当該技術分野において既知の標準的な方法によって、例えば、自動ＤＮＡ合成装置、例えば、Ｂｉｏｓｅａｒｃｈ、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃから市販されているものなどの使用によって合成され得る。
【０２８６】
オリゴヌクレオチド化合物は、液相もしくは固相有機合成またはその両方を使用して調製され得る。有機合成は、非天然または代替ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドが容易に調製され得るという利点を提供する。本発明の一本鎖オリゴヌクレオチドは、液相もしくは固相有機合成またはその両方を使用して調製され得る。
【０２８７】
さらに、本明細書で同定される任意の配列について、より長いまたはより短い配列を生成するために連結ヌクレオシドを系統的に付加または除去することのいずれかによって、さらなる最適化が達成され得ると企図される。さらに、そのような最適化配列は、例えば、本明細書に記載されるような、または当該技術分野において既知のような代替ヌクレオシド、代替糖部分、及び／または代替ヌクレオシド間結合、例えば、さらに分子を最適化する（例えば、血清安定性もしくは循環半減期の増加、熱安定性の増加、膜貫通送達の増強、特定の位置もしくは細胞型への標的化、及び／またはＲＮＡ編集酵素（例えば、ＡＤＡＲ）との相互作用の増加）ための、当該技術分野において既知のような、及び／または本明細書で述べられる代替ヌクレオシド、代替糖部分、及び／または代替ヌクレオシド間結合を含むものの導入によって調整され得る。
【０２８８】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、１つのＡＤＡＲ動員ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ動員ドメインは、オリゴヌクレオチドの５’末端にある。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ動員ドメインは、オリゴヌクレオチドの３’末端にある。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第１ＡＤＡＲ動員ドメイン及び第２ＡＤＡＲ動員ドメインを含む。いくつかの実施形態では、第１ＡＤＡＲ動員ドメインは、オリゴヌクレオチドの５’末端にあり、第２ＡＤＡＲ動員ドメインは、オリゴヌクレオチドの３’末端にある。いくつかの実施形態では、１つ以上のＡＤＡＲ動員ドメインが、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインである。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．３７のヌクレオチド配列を有する：
ＧＧＵＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＡＣＣ（配列番号．３７）
【０２８９】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＩＩ：



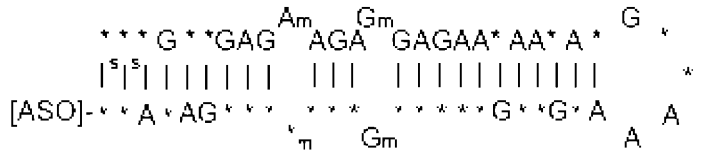
式ＸＩＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．３８のヌクレオチド配列を有する：
ＧＧＵＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＣＵＣＧＵＣＵＣＣＡＣＣ（配列番号．３８）
【０２９０】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＩＩＩ：



式ＸＩＩＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．３９のヌクレオチド配列を有する：
ＧＧＵＧＵＣＧＡＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＣＵＣＧＵＣＵＣＣＵＣＧＡＣＡＣＣ（配列番号．３９）
【０２９１】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＩＶ：



式ＸＩＶ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。
【０２９２】
いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４０のヌクレオチド配列を有する：
＊ｓ＊ｓ＊Ｇ＊＊ＧＡＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡ＊ＡＡ＊Ａ＊Ｇ＊＊ＡＡＡ＊Ｇ＊＊Ｇ＊＊＊＊＊Ｇ＊＊＊＊＊＊＊＊ＧＡ＊Ａ＊＊（配列番号．４０）
式中、＊が２’－Ｏ－メチルヌクレオチドであり、ｓが２つの連結ヌクレオチド間のホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＶ：



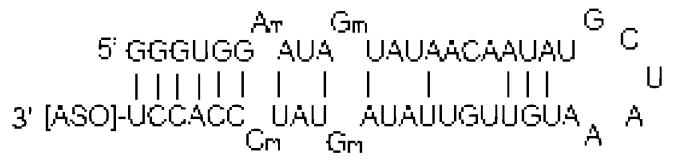
式ＸＶ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が請求項１～３８のいずれか１項または請求項４５～４９のいずれか１項に記載のオリゴヌクレオチドを含み、＊が２’－Ｏ－メチルヌクレオチ

ドであり、ｓがホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ動員ドメインは、少なくとも１個のヌクレアーゼ耐性ヌクレオチド（例えば、２’－Ｏ－メチルヌクレオチド）をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ動員ドメインは、少なくとも１つの代替ヌクレオシド間結合（例えば、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合）を含む。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４１のヌクレオチド配列を有する：

ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ（配列番号．４１）

【０２９３】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＶＩ：



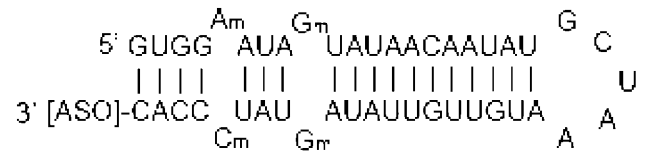
式ＸＶＩ

の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４２のヌクレオチド配列を有する：

ＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣ（配列番号．４２）

【０２９４】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＶＩＩ：



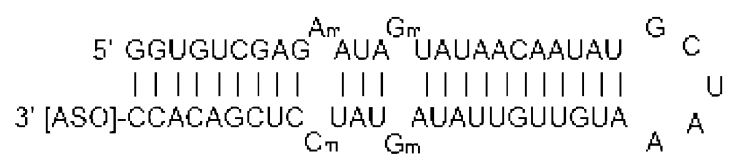
式ＸＶＩＩ

の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４３のヌクレオチド配列を有する：

ＧＧＵＧＵＣＧＡＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＵＣＧＡＣＡＣＣ（配列番号．４３）

【０２９５】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＶＩＩＩ：



式ＸＶＩＩＩ

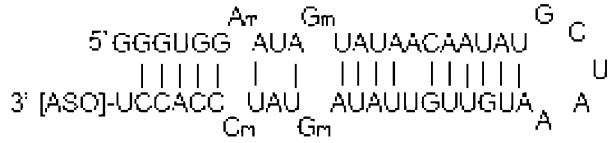
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍ

がミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４４のヌクレオチド配列を有する：

ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＡＣＡＡＵＡＵＧＣＵＡＡＡＵＧＵＵＧＵＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ（配列番号．４４）

【０２９６】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＩＸ：



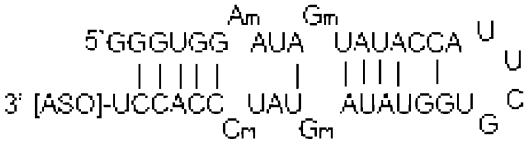
式ＸＩＸ

の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４５のヌクレオチド配列を有する：

ＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵ（配列番号．４５）

【０２９７】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＸ：



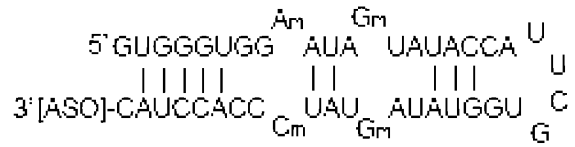
式ＸＸ

の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４６のヌクレオチド配列を有する：

ＧＵＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵＡＣ（配列番号．４６）

【０２９８】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＸＩ：

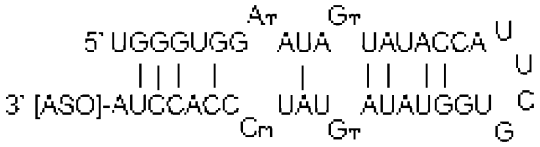


式ＸＸＩ

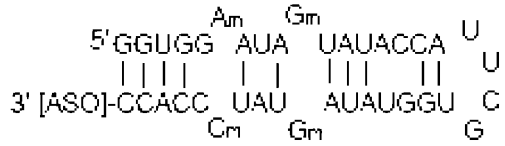
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４７のヌクレオチド配列を有する：

ＵＧＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣＵＡ（配列番号．４７）

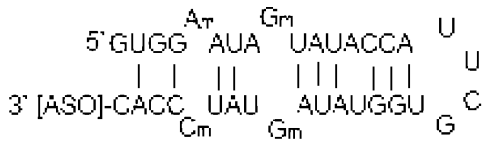
【０２９９】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＸＩＩ：



式ＸＸＩＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４８のヌクレオチド配列を有する：
ＧＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣＣ（配列番号．４８）
【０３００】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＸＩＩＩ：



式ＸＸＩＩＩ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。いくつかの実施形態では、ＧｌｕＲ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．４９のヌクレオチド配列を有する：
ＧＵＧＧＡＡＵＡＧＵＡＵＡＣＣＡＵＵＣＧＵＧＧＵＡＵＡＧＵＡＵＣＣＣＡＣ（配列番号．４９）
【０３０１】
いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下に示されるような、式ＸＩＶ：



式ＸＩＶ
の構造を含み、式中、［ＡＳＯ］が、本発明のオリゴヌクレオチドのいずれかを含み、ｍがミスマッチヌクレオチドを示す。
【０３０２】
いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ動員ドメインは、Ｚ－ＤＮＡ　ＡＤＡＲ動員ドメインである。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ動員ドメインは、ＭＳ２　ＡＤＡＲ動員ドメインである。いくつかの実施形態では、ＭＳ２バクテリオファージステムループ構造は、ＡＤＡＲ動員ドメイン（例えば、ＭＳ２　ＡＤＡＲ動員ドメイン）として使用されてよい。ＭＳ２ステムループは、ＭＳ２バクテリオファージコートタンパク質に結合することが知られていて、それがＡＤＡＲのデアミナーゼドメインに融合される場合（例えば、ＡＤＡＲ融合タンパク質）、標的特異的脱アミノ化に使用され得る。いくつかの実施形態では

、ＭＳ２　ＡＤＡＲ動員ドメインは、以下に示される通り、５’から３’の方向に配列番号．５０のヌクレオチド配列を有する：
ＡＣＡＴＧＡＧＧＡＴＣＡＣＣＣＡＴＧＴ（配列番号．５０）
【０３０３】
いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ融合タンパク質は、ＡＤＡＲ融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクター構築物を使用して、細胞に、または対象に投与される。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲ融合タンパク質は、ＭＳ２バクテリオファージコートタンパク質に融合されたＡＤＡＲのデアミナーゼドメインを含む。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲのデアミナーゼドメインは、ＡＤＡＲ１のデアミナーゼドメインである。いくつかの実施形態では、ＡＤＡＲのデアミナーゼドメインは、ＡＤＡＲ２のデアミナーゼドメインである。ＡＤＡＲ融合タンパク質は、Ｋａｔｒｅｋａｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｔｈｏｄｓ，１６（３）：２３９－４２（２０１９）に記載されている融合タンパク質であってよく、そのＡＤＡＲ融合タンパク質が参照によって本明細書に組み込まれる。
【０３０４】
本発明で注目される核酸は、当該技術分野で十分に確立された方法、例えば、“Ｃｕｒｒｅｎｔ　ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，”Ｂｅａｕｃａｇｅ，Ｓ．Ｌ．ｅｔ　ａｌ．（Ｅｄｒｓ．），Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，ＵＳＡ（これは参照によって本明細書に組み込まれる）に記載されているものなどによって合成及び／または修飾され得る。代替ヌクレオチド及びヌクレオシドとしては、修飾、例えば、末端修飾、例えば、５’末端修飾（リン酸化、複合化、逆結合）もしくは３’末端修飾（複合化、ＤＮＡヌクレオチド、逆結合など）、塩基修飾、例えば、安定化塩基、不安定化塩基、もしくは広範囲なレパートリーのパートナーと塩基対合する塩基との置換、塩基（脱塩基ヌクレオチド）、もしくは複合化塩基の除去、糖修飾（例えば、２’位もしくは４’位の）もしくは糖の置換、及び／またはホスホジエステル結合の修飾もしくは置換を含む、骨格修飾を含むものが挙げられる。核酸塩基はまた、核酸塩基が糖部分のＣ１位から異なる位置（例えば、Ｃ２、Ｃ３、Ｃ４、またはＣ５）に移動しているイソヌクレオシドであってよい。本明細書に記載される実施形態に有用なオリゴヌクレオチド化合物の具体例としては、修飾骨格または非天然ヌクレオシド間結合を含有する代替ヌクレオシドが挙げられるが、これに限定されない。修飾骨格を有するヌクレオチド及びヌクレオシドは、とりわけ、骨格中にリン原子を有しないものを含む。本明細書の目的のために、及び当該技術分野において言及される時もあるように、ＲＮＡのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有しない代替ＲＮＡもまた、オリゴヌクレオシドであると見なされ得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、そのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有することになる。
【０３０５】
代替ヌクレオシド間結合としては、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、メチル及び他のアルキルホスホネート、例えば、３’－アルキレンホスホネート及びキラルホスホネートを含むもの、ホスフィナート、ホスホルアミデート、例えば、３’－アミノホスホルアミデート及びアミノアルキルホスホルアミデートを含むもの、チオノホスホルアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびに通常の３’－５’結合を有するボロノホスフェート、これらの２’－５’結合類似体、及びヌクレオシド単位の隣接する対が、３’－５’～５’－３’または２’－５’～５’－２’で連結されている反転極性を有するものが挙げられる。様々な塩、混合塩、及び遊離酸形態も含まれる。
【０３０６】
上記のリン含有結合の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第３，６８７，８０８号、同第４，４６９，８６３号、同第４，４７６，３０１号、同第５，０２３，２４３号、同第５，１７７，１９５号、同第５，１８８，８９７号、同第５，２６４，４

２３号、同第５，２７６，０１９号、同第５，２７８，３０２号、同第５，２８６，７１７号、同第５，３２１，１３１号、同第５，３９９，６７６号、同第５，４０５，９３９号、同第５，４５３，４９６号、同第５，４５５，２３３号、同第５，４６６，６７７号、同第５，４７６，９２５号、同第５，５１９，１２６号、同第５，５３６，８２１号、同第５，５４１，３１６号、同第５，５５０，１１１号、同第５，５６３，２５３号、同第５，５７１，７９９号、同第５，５８７，３６１号、同第５，６２５，０５０号、同第６，０２８，１８８号、同第６，１２４，４４５号、同第６，１６０，１０９号、同第６，１６９，１７０号、同第６，１７２，２０９号、同第６，２３９，２６５号、同第６，２７７，６０３号、同第６，３２６，１９９号、同第６，３４６，６１４号、同第６，４４４，４２３号、同第６，５３１，５９０号、同第６，５３４，６３９号、同第６，６０８，０３５号、同第６，６８３，１６７号、同第６，８５８，７１５号、同第６，８６７，２９４号、同第６，８７８，８０５号、同第７，０１５，３１５号、同第７，０４１，８１６号、同第７，２７３，９３３号、同第７，３２１，０２９号、及び米国特許第ＲＥ３９４６４号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０３０７】

結合内にリン原子を含まない代替ヌクレオシド間結合は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合、混合ヘテロ原子及びアルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合、または１つ以上の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環式ヌクレオシド間結合によって形成される骨格を有する。これらとしては、モルホリノ結合（ヌクレオシドの糖部分から一部が形成される）、シロキサン骨格、スルフィド、スルホキシド及びスルホン骨格、ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、アルケン含有骨格、スルファメート骨格、メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格、スルホネート及びスルホンアミド骨格、アミド骨格を有するもの、ならびに混合Ｎ、Ｏ、Ｓ、及びCH_2構成要素部分を有する他のものが挙げられる。

【０３０８】

上記のオリゴヌクレオシドの調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第５，０３４，５０６号、同第５，１６６，３１５号、同第５，１８５，４４４号、同第５，２１４，１３４号、同第５，２１６，１４１号、同第５，２３５，０３３号、同第５，６４，５６２号、同第５，２６４，５６４号、同第５，４０５，９３８号、同第５，４３４，２５７号、同第５，４６６，６７７号、同第５，４７０，９６７号、同第５，４８９，６７７号、同第５，５４１，３０７号、同第５，５６１，２２５号、同第５，５９６，０８６号、同第５，６０２，２４０号、同第５，６０８，０４６号、同第５，６１０，２８９号、同第５，６１８，７０４号、同第５，６２３，０７０号、同第５，６６３，３１２号、同第５，６３３，３６０号、同第５，６７７，４３７号、及び同第５，６７７，４３９号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０３０９】

他の実施形態では、好適なオリゴヌクレオチドは、ヌクレオチド単位の糖及びヌクレオシド間結合の両方、すなわち、骨格が置換されているものを含む。塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。１つのそのようなオリゴマー化合物である、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されている模倣物は、ペプチド核酸（ＰＮＡ）と称される。ＰＮＡ化合物では、ヌクレオシドの糖は、アミド含有骨格、特にアミノエチルグリシン骨格で置換される。核酸塩基は保持され、骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合される。ＰＮＡ化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第５，５３９，０８２号、同第５，７１４，３３１号、及び同第５，７１９，２６２号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。本発明のオリゴヌクレオチドでの使用に好適な追加のＰＮＡ化合物は、例えば、Ｎｉｅｌｓｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，１９９１，２５４，１４９７－１５００に記載されている。

【０３１０】
本発明で注目されるいくつかの実施形態は、ホスホロチオエート骨格を有するオリゴヌクレオチド及びヘテロ原子骨格を有するオリゴヌクレオチド、ならびに特に－ＣＨ２－ＮＨ－ＣＨ２－、－ＣＨ２－Ｎ（ＣＨ３）－Ｏ－ＣＨ２－［メチレン（メチルイミノ）またはＭＭＩ骨格として知られる］、上述した米国特許第５，４８９，６７７号の－ＣＨ２－Ｏ－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＨ２－、－ＣＨ２－Ｎ（ＣＨ３）－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＨ２－及び－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＨ２－ＣＨ２－［式中、天然のホスホジエステル骨格が－Ｏ－Ｐ－Ｏ－ＣＨ２－として表される］、ならびに上述した米国特許第５，６０２，２４０号のアミド骨格を含む。いくつかの実施形態では、本明細書で注目されるオリゴヌクレオチドは、上述した米国特許第５，０３４，５０６号のモルホリノ骨格構造を有する。他の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）を含み、その場合に、Ｓｕｍｍｅｒｔｏｎ，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖ．１９９７，７：６３－７０に記載されるように、デオキシリボース部分がモルホリン環によって置換され、荷電ホスホジエステルサブユニット間結合が、非荷電ホスホロジアミデート結合によって置換される。

【０３１１】
代替ヌクレオシド及びヌクレオチドはまた、１つ以上の置換糖部分を含有し得る。オリゴヌクレオチド、例えば、本明細書で注目されるオリゴヌクレオチドは、２’位に以下のうち１つを含み得る：ＯＨ、Ｆ、Ｏ－、Ｓ－、もしくはＮ－アルキル、Ｏ－、Ｓ－、もしくはＮ－アルケニル、Ｏ－、Ｓ－もしくはＮ－アルキニル、またはＯ－アルキル－Ｏ－アルキル、式中、アルキル、アルケニル及びアルキニルは、置換または非置換Ｃ１～Ｃ１０アルキルまたはＣ２～Ｃ１０アルケニル及びアルキニルであり得る。例示的で好適な修飾としては、－Ｏ［（ＣＨ２）ｎＯ］ｍＣＨ３、－Ｏ（ＣＨ２）ｎＯＣＨ３、－Ｏ（ＣＨ２）ｎ－ＮＨ２、－Ｏ（ＣＨ２）ｎＣＨ３、－Ｏ（ＣＨ２）ｎ－ＯＮＨ２、及び－Ｏ（ＣＨ２）ｎ－ＯＮ［（ＣＨ２）ｎＣＨ３］２が挙げられ、式中、ｎ及びｍが１～約１０である。他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、２’位に以下のうち１つを含む：Ｃ１～Ｃ１０低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリール、アラルキル、Ｏ－アルカリールもしくはＯ－アラルキル、ＳＨ、ＳＣＨ３、ＯＣＮ、Ｃｌ、Ｂｒ、ＣＮ、ＣＦ３、ＯＣＦ３、ＳＯＣＨ３、ＳＯ２ＣＨ３、ＯＮＯ２、ＮＯ２、Ｎ３、ＮＨ２、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリール、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、ＲＮＡ切断基、レポーター基、インターカレーター、オリゴヌクレオチドの薬物動態特性を改善するための基、またはオリゴヌクレオチドの薬力学的特性を改善するための基、及び同様の特性を有する他の置換基。いくつかの実施形態では、修飾は、２’－メトキシエトキシ（２’－Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２ＯＣＨ３であって、２’－Ｏ－（２－メトキシエチル）または２’－ＭＯＥとしても知られる）（Ｍａｒｔｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｈｅｌｖ．Ｃｈｉｎ．Ａｃｔａ，１９９５，７８：４８６－５０４）、すなわち、アルコキシ－アルコキシ基を含む。２’－Ｏ－ＭＯＥヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドに対していくつかの有益な特性を付与し、これらとしては非修飾オリゴヌクレオチドと比較した場合のヌクレアーゼ耐性の増加、薬物動態特性の改善、非特異的タンパク質結合の減少、毒性の減少、免疫賦活特性の減少、及び標的親和性の増強が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３１２】
別の例示的な代替物は、本明細書中以下の実施例に記載されるような、２’－ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、２’－ＤＭＡＯＥとしても知られる－Ｏ（ＣＨ２）２ＯＮ（ＣＨ３）２基、及び２’－ジメチルアミノエトキシエトキシ（当該技術分野において、２’－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチルまたは２’－ＤＭＡＥＯＥとしても知られる）、すなわち、２’－Ｏ－（ＣＨ２）２－Ｏ－（ＣＨ２）２－Ｎ（ＣＨ３）２を含有する。さらなる例示的な代替物としては、５’－Ｍｅ－２’－Ｆヌクレオチド、５’－Ｍｅ－２’－ＯＭｅヌクレオチド、５’－Ｍｅ－２’－デオキシヌクレオチド（これらの３つのファミリーにおけるＲ及びＳ異性体の両方）、２’－アルコキシアルキル、及び２’－ＮＭＡ（Ｎ－メチルアセトアミド）が挙げられる。

【０３１３】
他の代替物としては、２’－メトキシ（２’－ＯＣH3）、２’－アミノプロポキシ（２’－ＯＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＮＨ２）及び２’－フルオロ（２’－Ｆ）が挙げられる。同様の修飾もまた、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド及びヌクレオチド上における他の位置、特に３’末端ヌクレオチド上の、または２’－５’結合オリゴヌクレオチド中の糖の３’位及び５’末端ヌクレオチドの５’位で行われ得る。オリゴヌクレオチドは、ペントフラノシル糖の代わりに、シクロブチル部分などの糖模倣物も有し得る。そのような修飾糖構造の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第４，９８１，９５７号、同第５，１１８，８００号、同第５，３１９，０８０号、同第５，３５９，０４４号、同第５，３９３，８７８号、同第５，４４６，１３７号、同第５，４６６，７８６号、同第５，５１４，７８５号、同第５，５１９，１３４号、同第５，５６７，８１１号、同第５，５７６，４２７号、同第５，５９１，７２２号、同第５，５９７，９０９号、同第５，６１０，３００号、同第５，６２７，０５３号、同第５，６３９，８７３号、同第５，６４６，２６５号、同第５，６５８，８７３号、同第５，６７０，６３３号、及び同第５，７００，９２０号が挙げられるが、これらに限定されず、そのいくつかが本出願と所有者が共通である。前述した特許の各々の内容全体が、参照によって本明細書に組み込まれる。
【０３１４】
本発明のオリゴヌクレオチドは、核酸塩基（当該技術分野では単に「塩基」と称されることが多い）代替物（例えば、修飾物または置換物）も含み得る。非修飾または天然核酸塩基としては、プリン塩基のアデニン（Ａ）及びグアニン（Ｇ）、ならびにピリミジン塩基のチミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）及びウラシル（Ｕ）が挙げられる。代替核酸塩基としては、他の合成及び天然核酸塩基、例えば、５－メチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン、５－ホルミルシトシン、５－カルボキシシトシン、ピロロシトシン、ジデオキシシトシン、ウラシル、５－メトキシウラシル、５－ヒドロキシデオキシウラシル、ジヒドロウラシル、４－チオウラシル、シュードウラシル、１－メチル－シュードウラシル、デオキシウラシル、５－ヒドロキシブチニル－２’－デオキシウラシル、キサンチン、ヒポキサンチン、７－デアザ－キサンチン、チエノグアニン、８－アザ－７－デアザグアニン、７－メチルグアニン、７－デアザグアニン、６－アミノメチル－７－デアザグアニン、８－アミノグアニン、２，２，７－トリメチルグアニン、８－メチルアデニン、８－アジドアデニン、７－メチルアデニン、７－デアザアデニン、３－デアザアデニン、２，６－ジアミノプリン、２－アミノプリン、７－デアザ－８－アザ－アデニン、８－アミノ－アデニン、チミン、ジデオキシチミン、５－ニトロインドール、２－アミノアデニン、アデニン及びグアニンの６－メチル及び他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの２－プロピル及び他のアルキル誘導体、２－チオウラシル、２－チオチミン及び２－チオシトシン、５－ハロウラシル及びシトシン、５－プロピニルウラシル及びシトシン、６－アゾウラシル、シトシン及びチミン、４－チオウラシル、８－ハロ、８－アミノ、８－チオール、８－チオアルキル、８－ヒドロキシル及び他の８－置換アデニン及びグアニン、５－ハロ、特に５－ブロモ、５－トリフルオロメチル及び他の５－置換ウラシル及びシトシン、８－アザグアニン及び８－アザアデニン、ならびに３－デアザグアニンなどが挙げられる。さらなる核酸塩基としては、米国特許第３，６８７，８０８号に開示されるもの、Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，Ｈｅｒｄｅｗｉｊｎ，Ｐ．ｅｄ．Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ，２００８に開示されるもの、Ｔｈｅ Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ Ｏｆ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ａｎｄ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，ｐａｇｅｓ ８５８－８５９，Ｋｒｏｓｃｈｗｉｔｚ，Ｊ．Ｌ，ｅｄ．Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，１９９０に開示されるもの、Ｅｎｇｌｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ａｎｇｅｗａｎｄｔｅ Ｃｈｅｍｉｅ，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｅｄｉｔｉｏｎ，３０：６１３によって開示されるもの、及びＳａｎｇｈｖｉ，Ｙ Ｓ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １５，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐａｇｅｓ ２８９－３０２，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ

．，Ｅｄ．，ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，１９９３によって開示されるものが挙げられる。これらの核酸塩基のいくつかは、本発明で注目されるオリゴマー化合物の結合親和性を増加させるのに特に有用である。これらとしては、５－置換ピリミジン、６－アザピリミジン、ならびにＮ－２、Ｎ－６及びＯ－６置換プリン、例えば、２－アミノプロピルアデニン、５－プロピニルウラシル、及び５－プロピニルシトシンを含むものが挙げられる。５－メチルシトシン置換は、核酸二本鎖安定性を０．６～１．２℃増加させることが示されていて（Ｓａｎｇｈｖｉ，Ｙ．Ｓ．，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ　Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．，Ｅｄｓ．，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ　Ｒａｔｏｎ，１９９３，ｐｐ．２７６－２７８）、とりわけ、２’－Ｏ－メトキシエチル糖修飾と組み合わされる場合に、例示的な塩基置換である。

【０３１５】

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

【０３１６】

他の実施形態では、ヌクレオチド中の糖部分はリボース分子であってよく、場合により２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－ＭＯＥ、２’－Ｆ、２’－アミノ、２’－Ｏ－プロピル、２’－アミノプロピル、または２’－ＯＨ修飾を有する。

【０３１７】

本発明のオリゴヌクレオチドは、１つ以上の二環式糖部分を含み得る。「二環式糖」は、２個の原子の架橋によって修飾されるフラノシル環である。「二環式ヌクレオシド」（「ＢＮＡ」）は、糖環の２個の炭素原子を連結させる架橋を含む糖部分を有し、それによって二環式環系を形成するヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、架橋は、糖環の４’－炭素と２’－炭素とを連結させる。したがって、いくつかの実施形態では、本発明の薬剤は、１個以上のロックドヌクレオシドを含んでよい。ロックドヌクレオシドは修飾リボース部分を有するヌクレオシドであり、その場合にリボース部分は、２’及び４’炭素を連結させる追加の架橋を含む。言い換えれば、ロックドヌクレオシドは、４’－CH_2－Ｏ－２’架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオシドである。この構造は、３’エンド構造コンフォメーション中のリボースを効果的に「ロック」する。オリゴヌクレオチドへのロックドヌクレオシドの付加は、血清中のオリゴヌクレオチド安定性を高め、オフターゲット効果を減少させることが示されている（Ｇｒｕｎｗｅｌｌｅｒ，Ａ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　３１（１２）：３１８５－３１９３）。本発明のポリヌクレオチドに使用するための二環式ヌクレオシドの例としては、４’リボシル環原子と２’リボシル環原子との間に架橋を含むヌクレオシドが挙げられるが、これに限定されない。ある特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド剤は、４’から２’の架橋を含む１個以上の二環式ヌクレオシドを含む。そのような４’から２’の架橋二環式ヌクレオシドの例としては、４’－（CH_2）－Ｏ－２’（ＬＮＡ）、４’－（CH_2）－Ｓ－２’、４’－（CH_2）$_2$－Ｏ－２’（ＥＮＡ）、４’－ＣＨ（CH_3）－Ｏ－２’（「拘束エチル」または「ｃＥｔ」とも称される）ならびに４’－ＣＨ（CH_2OC

Ｈ３）－Ｏ－２’（及びその類似体、例えば、米国特許第７，３９９，８４５号を参照のこと）、４’－Ｃ（ＣＨ３）（ＣＨ３）－Ｏ－２’（及びその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，２８３号を参照のこと）、４’－ＣＨ２－Ｎ（ＯＣＨ３）－２’（及びその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，４２５号を参照のこと）、４’－ＣＨ２－Ｏ－Ｎ（ＣＨ３）２－２’（例えば、米国特許公報第２００４／０１７１５７０号を参照のこと）、４’－ＣＨ２－Ｎ（Ｒ）－Ｏ－２’（式中、ＲがＨ、Ｃ１～Ｃ１２アルキル、または保護基である）（例えば、米国特許第７，４２７，６７２号を参照のこと）、４’－ＣＨ２－Ｃ（Ｈ）（ＣＨ３）－２’（例えば、Ｃｈａｔｔｏｐａｄｈｙａｙａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００９，７４，１１８－１３４を参照のこと）、ならびに４’－ＣＨ２－Ｃ（＝ＣＨ２）－２’（及びその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，４２６号を参照のこと）が挙げられるが、これらに限定されない。前述した特許の各々の内容全体が、参照によって本明細書に組み込まれる。

【０３１８】

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

【０３１９】

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

【０３２０】

本発明のオリゴヌクレオチドはまた、１個以上の拘束エチルヌクレオチドを含むように修飾され得る。本明細書で使用される場合、「拘束エチルヌクレオチド」または「ｃＥｔ」は、４’－ＣＨ（ＣＨ３）－Ｏ－２’架橋を含む二環式糖部分を含むロックド核酸である。一実施形態では、拘束エチルヌクレオチドは、本明細書において「Ｓ－ｃＥｔ」と称されるＳコンフォメーションである。

【０３２１】

本発明のオリゴヌクレオチドはまた、１個以上の「立体配座的に制限されたヌクレオチド」（「ＣＲＮ」）を含んでよい。ＣＲＮは、リボースのＣ２’及びＣ４’炭素またはリボースのＣ３及び－－Ｃ５’炭素を連結させるリンカーを有するヌクレオチド類似体である。ＣＲＮは、リボース環を安定したコンフォメーションにロックし、ｍＲＮＡに対するハイブリダイゼーション親和性を高める。リンカーは、安定性及び親和性のために酸素を最適な位置に配置するのに十分な長さであり、リボース環のパッカリングを低減させる。

【０３２２】

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

【０３２３】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、ＵＮＡ（アンロックド核酸）ヌクレオチドである１つ以上のモノマーを含む。ＵＮＡはアンロックド非環式核酸であり、糖の結合のいずれかが除去されていて、アンロックされた「糖」残基を形成する。一例では、ＵＮＡはまた、Ｃ１’～Ｃ４’間の結合（すなわち、Ｃ１’炭素とＣ４’炭素との間の共有炭素－酸素－炭素結合）が除去されているモノマーを包含する。別の例では、糖のＣ２’－Ｃ３’結合（すなわち、Ｃ２’炭素とＣ３’炭素との間の共有炭素－炭素結合）が除去

されている（Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｓｙｍｐ．Ｓｅｒｉｅｓ，５２，１３３－１３４（２００８）及びＦｌｕｉｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｓｙｓｔ．，２００９，１０，１０３９を参照し、参照によって本明細書に組み込まれる）。

【０３２４】

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

【０３２５】

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

【０３２６】

リボース分子はまた、シクロヘキセン核酸（ＣｅＮＡ）を生成するためのシクロヘキセンまたはグリコール核酸（ＧＮＡ）を生成するためのグリコールなどの非糖で置換され得る。ヌクレオチド分子の末端に対する安定化修飾としては、可能性としてＮ－（アセチルアミノカプロイル）－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６－ＮＨＡｃ）、Ｎ－（カプロイル－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６）、Ｎ－（アセチル－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－ＮＨＡｃ）、チミジン－２’－Ｏ－デオキシチミジン（エーテル）、Ｎ－（アミノカプロイル）－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６－アミノ）、２－ドコサノイル－ウリジン－３’’－リン酸、逆塩基ｄＴ（ｉｄＴ）などが挙げられ得る。本修飾の開示は、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１１／００５８６１号に見出され得る。

【０３２７】

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

【０３２８】

本発明の例示的なオリゴヌクレオチドは、糖修飾ヌクレオシドを含み、ＤＮＡまたはＲＮＡヌクレオシドも含む場合がある。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、糖修飾ヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドを含む。本発明のオリゴヌクレオチド中への代替ヌクレオシドの組込みは、標的核酸に対するオリゴヌクレオチドの親和性を増強する場合がある。その場合、代替ヌクレオシドは、親和性増強代替ヌクレオチドと称され得る。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも１個の代替ヌクレオシド、例えば、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個または少なくとも１６個などの代替ヌクレオシドを含む。他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、１～１０個の代替ヌクレオシド、例えば、２～９個の代替ヌクレオシドなど、例えば、３～８個の代替ヌクレオシドなど、例えば、４～７個の代替ヌクレオシドなど、例えば、６個または７個の代替ヌクレオシドなどを含む。一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは代替物を含んでよく、それらは、これらの３種類の代替物（代替糖部分、代替核酸塩基、及び代替ヌクレオシド間結合）、またはそれらの組合せから独立して選択される。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、代替糖部分を含む１個以上のヌクレオシド、例えば、２’糖代替ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、２’－Ｏ－アルキル－ＲＮＡ、２’－Ｏ－メチル－ＲＮＡ、２’－ア

ルコキシ－ＲＮＡ、２’－Ｏ－メトキシエチル－ＲＮＡ、２’－アミノ－ＤＮＡ、２’－フルオロ－ＤＮＡ、ＡＮＡ、２’－フルオロ－ＡＮＡ、及びＢＮＡ（例えば、ＬＮＡ）ヌクレオシドからなる群から独立して選択される１個以上の２’糖代替ヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態では、１個以上の代替ヌクレオシドがＢＮＡである。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、代替ヌクレオシドの少なくとも１個がＢＮＡ（例えば、ＬＮＡ）である、例えば、代替ヌクレオシドの少なくとも２個など、例えば、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、または少なくとも８個などがＢＮＡである。よりさらなる実施形態では、全ての代替ヌクレオシドがＢＮＡである。

【０３３１】

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

【０３３２】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、２’－Ｏ－ＭＯＥ－ＲＮＡである少なくとも１個の代替ヌクレオシド、例えば、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、または１０個などの２’－Ｏ－ＭＯＥ－ＲＮＡヌクレオシド単位を含む。いくつかの実施形態では、２’－Ｏ－ＭＯＥ－ＲＮＡヌクレオシド単位は、ホスホロチオエート結合によって連結される。いくつかの実施形態では、代替ヌクレオシドの少なくとも１個が、２’－フルオロ－ＤＮＡである、例えば、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、または１０個などの２’－フルオロ－ＤＮＡヌクレオシド単位である。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、少なくとも１個のＢＮＡ単位及び少なくとも１個の２’置換代替ヌクレオシドを含む。本発明のいくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、２’糖修飾ヌクレオシド及びＤＮＡ単位の両方を含む。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドまたはその隣接ヌクレオチド領域は、ギャップマーオリゴヌクレオチドである。

【０３３３】

Ｂ．リガンドに複合化されるオリゴヌクレオチド

本発明のオリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、または細胞取込みを増強する１つ以上のリガンド、部分、または複合体に化学的に連結されてよい。そのような部分としては、脂質部分、例えば、コレステロール部分（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃｉｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８６：６５５３－６５５６）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，４：１０５３－１０６０）、チオエーテル、例えば、ベリル－Ｓ－トリチルチオール（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，６６０：３０６－３０９、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｂｉｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，３：２７６５－２７７０）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２０：５３３－５３８）、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，（１９９１）ＥＭＢＯ Ｊ，１０：１１１１－１１１８、Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．，２５９：３２７－３３０、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，７５：４９－５４）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールもしくはトリエチル－アンモニウム１，２

－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，３６：３６５１－３６５４、Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１８：３７７７－３７８３）、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ＆Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１４：９６９－９７３）、またはアダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，３６：３６５１－３６５４）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ １２６４：２２９－２３７）、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ－カルボニルオキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，２７７：９２３－９３７）などが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３３４】

一実施形態では、リガンドは、それが組み込まれるオリゴヌクレオチド剤の分布、標的化、または寿命を変化させる。いくつかの実施形態では、リガンドは、例えば、そのようなリガンドが存在しない種と比較した場合に、選択された標的、例えば、分子、細胞もしくは細胞型、コンパートメント、例えば、細胞もしくは器官のコンパートメント、組織、器官、または体の部位に対して親和性増強をもたらす。

【０３３５】

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

【０３３６】

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

【０３３７】

リガンドの他の例としては、色素、挿入剤（例えば、アクリジン）、架橋剤（例えば、ソラレン、マイトマイシンＣ）、ポルフィリン（ＴＰＰＣ４、テキサフィリン、サフィリン）、多環芳香族炭化水素（例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン）、人工エンドヌクレアーゼ（例えば、ＥＤＴＡ）、親油性分子、例えば、コレステロール、コール酸、アダ

マンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル、もしくはフェノキサジン）及びペプチド複合体（例えば、アンテナペディアペプチド、Ｔａｔペプチド）、アルキル化剤、リン酸塩、アミノ、メルカプト、ＰＥＧ（例えば、ＰＥＧ－４０Ｋ）、ＭＰＥＧ、［ＭＰＥＧ］$_2$、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射性標識マーカー、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進剤（例えば、アスピリン、ビタミンＥ、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ（例えば、イミダゾール、ビスイミダゾール、ヒスタミン、イミダゾールクラスター、アクリジン－イミダゾール複合体、テトラアザ大環状分子のＥｕ３＋錯体）、ジニトロフェニル、ＨＲＰ、またはＡＰが挙げられる。

【０３３８】

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

【０３３９】

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

【０３４０】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチドに結合したリガンドは、薬物動態モジュレーター（ＰＫモジュレーター）として機能する。ＰＫモジュレーターとしては、親油性物質、胆汁酸、ステロイド、リン脂質類似体、ペプチド、タンパク質結合剤、ＰＥＧ、ビタミンなどが挙げられる。例示的なＰＫモジュレーターとしては、コレステロール、脂肪酸、コール酸、リトコール酸、ジアルキルグリセリド、ジアシルグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、ナプロキセン、イブプロフェン、ビタミンＥ、ビオチンなどが挙げられるが、これらに限定されない。複数のホスホロチオエート結合を含むオリゴヌクレオチドは、血清タンパク質に結合することも知られていて、それゆえ、骨格中に複数のホスホロチオエート結合を含む、短オリゴヌクレオチド、例えば、約５塩基、１０塩基、１５塩基、または２０塩基のオリゴヌクレオチドも、リガンドとして（例えば、ＰＫ調節リガンドとして）本発明に適している。加えて、血清成分（例えば、血清タンパク質）と結合するアプタマーもまた、本明細書に記載される実施形態においてＰＫ調節リガンドとしての使用に好適である。

【０３４１】

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

【０３４２】

本発明の複合体に使用されるオリゴヌクレオチドは、固相合成の周知の技術によって簡便かつ日常的に作製されてよい。そのような合成用の装置は、例えば、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａｌｉｆ．）を含むいくつかの供給業

者によって販売されている。当該技術分野において既知のそのような合成を目的とした他の任意の手段が、追加で、または代わりに用いられてよい。同様の技術を使用して、ホスホロチオエート及びアルキル化誘導体などの他のオリゴヌクレオチドを調製することも知られている。

【０３４３】

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

【０３４４】

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

【０３４５】

ｉ．脂質複合体

一実施形態では、リガンドまたは複合体は、脂質または脂質ベースの分子である。そのような脂質または脂質ベースの分子は、好ましくは血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）と結合する。ＨＳＡ結合リガンドは、標的組織、例えば、体内の非腎臓標的組織への複合体の分布を可能にする。例えば、標的組織は、肝臓の実質細胞を含む肝臓であり得る。ＨＳＡと結合し得る他の分子もまた、リガンドとして使用され得る。例えば、ネプロキシンまたはアスピリンが使用され得る。脂質または脂質ベースのリガンドは、（ａ）複合体の耐分解性を増加させ得る、（ｂ）標的細胞もしくは細胞膜への標的化もしくは輸送を増加させ得る、及び／または（ｃ）血清タンパク質、例えば、ＨＳＡへの結合を調整するために使用され得る。

【０３４６】

脂質ベースのリガンドは、標的組織への複合体の結合を阻害する、例えば、制御するために使用され得る。例えば、より強力にＨＳＡに結合する脂質または脂質ベースのリガンドは、腎臓を標的とする可能性が低いため、体内から排出される可能性が低いことになる。ＨＳＡにあまり強力に結合しない脂質または脂質ベースのリガンドは、複合体の標的を腎臓にするために使用され得る。

【０３４７】

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

【０３４８】

ｉｉ．細胞透過剤

別の態様では、リガンドは、細胞透過剤、好ましくはらせん状の細胞透過剤である。好ましくは、薬剤は両親媒性である。例示的な薬剤は、ｔａｔまたはアンテナペディアなどのペプチドである。薬剤がペプチドである場合、それは修飾され得、ペプチジル模倣物、逆転異性体、非ペプチドまたはシュードペプチド結合、及びＤ－アミノ酸の使用を含む。ヘリックス剤は、好ましくはアルファヘリックス剤であり、これは好ましくは親油性及び疎油性相を有する。

【０３４９】

リガンドは、ペプチドまたはペプチド模倣物であり得る。ペプチド模倣物（本明細書では

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

【０３５０】

ペプチドまたはペプチド模倣物は、例えば、細胞透過性ペプチド、カチオン性ペプチド、両親媒性ペプチド、または疎水性ペプチド（例えば、主にＴｙｒ、Ｔｒｐ、もしくはＰｈｅからなる）であり得る。ペプチド部分は、デンドリマーペプチド、拘束ペプチドまたは架橋ペプチドであり得る。別の代替案では、ペプチド部分は、疎水性膜移行配列（ＭＴＳ）を含み得る。例示的な疎水性ＭＴＳ含有ペプチドは、アミノ酸配列ＡＡＶＡＬＬＰＡＶＬＬＡＬＬＡＰ（配列番号．７１）を有するＲＦＧＦである。疎水性ＭＴＳを含有するＲＦＧＦ類似体（例えば、アミノ酸配列ＡＡＬＬＰＶＬＬＡＡＰ（配列番号．７２））もまた、標的化部分であり得る。ペプチド部分は「送達」ペプチドであり得、これはペプチド、オリゴヌクレオチド、及びタンパク質を含む大きな極性分子を、細胞膜を横断して運ぶことができる。例えば、ＨＩＶ　Ｔａｔタンパク質（ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲＰＰＱ、配列番号．７３）及びショウジョウバエアンテナペディアタンパク質（ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ、配列番号．７４）に由来する配列が、送達ペプチドとして機能できることが分かっている。ペプチドまたはペプチド模倣物は、ＤＮＡのランダム配列によってコードされる、例えば、ファージディスプレイライブラリー、または１ビーズ１化合物（ＯＢＯＣ）コンビナトリアルライブラリー（Ｌａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３５４：８２－８４，１９９１）から同定されるペプチドなどであり得る。細胞標的化の目的で組み込まれたモノマー単位によってオリゴヌクレオチド剤につながれたペプチドまたはペプチド模倣物の例は、アルギニン－グリシン－アスパラギン酸（ＲＧＤ）－ペプチド、またはＲＧＤ模倣物である。ペプチド部分は、長さが約５個のアミノ酸～約４０個のアミノ酸の範囲であり得る。ペプチド部分は、安定性を増加させるか、またはコンフォメーション特性を誘導するなどのために構造修飾を有し得る。以下に記載される構造修飾のいずれも、利用され得る。

【０３５１】

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

【０３５２】

細胞透過性ペプチドは、細胞、例えば、微生物細胞、例えば、細菌もしくは真菌細胞など、または哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞などを透過できる。微生物細胞透過性ペプチドは、例えば、α－ヘリックス直鎖ペプチド（例えば、ＬＬ－３７もしくはセクロピンＰ１）、ジスルフィド結合含有ペプチド（例えば、α－デフェンシン、β－デフェンシン、もしくはバクテネシン）、または１個もしくは２個の主要なアミノ酸のみを含有するペプチド（例えば、ＰＲ－３９もしくはインドリシジン）であり得る。細胞透過性ペプチドはまた、核局在化シグナル（ＮＬＳ）も含み得る。例えば、細胞透過性ペプチドは、ＭＰＧなどの２部構成の両親媒性ペプチドであり得、ＭＰＧはＨＩＶ－１　ｇｐ４１の融合ペプチドドメイン及びＳＶ４０ラージＴ抗原のＮＬＳから得られる（Ｓｉｍｅｏｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．３１：２７１７－２７２４，２００３）。

【０３５３】

ｉｉｉ．炭水化物複合体

本発明の組成物及び方法のいくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは炭水化物をさ

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

【０３５４】

一実施形態では、本発明の組成物及び方法に使用するための炭水化物複合体は単糖である。

【０３５５】

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

【０３５６】

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

【０３５７】

ｉｖ．リンカー

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

【０３５８】

リンカーとしては通常、直接結合または原子、例えば、酸素または硫黄など、単位、例えば、ＮＲ^{8}、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）ＮＨ、ＳＯ、ＳＯ$_{2}$、ＳＯ$_{2}$ＮＨなど、または原子鎖、例えば、これらに限定されないが、置換または非置換アルキル、置換または非置換アルケニル、置換または非置換アルキニル、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールアルキニル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルアルケニル、ヘテロシクリルアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アルキルアリールアルキル、アルキルアリールアルケニル、アルキルアリールアルキニル、アルケニルアリールアルキル、アルケニルアリールアルケニル、アルケニルアリールアルキニル、アルキニルアリールアルキル、アルキニルアリールアルケニル、アルキニルアリールアルキニル、アルキルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロアリールアルケニル、アルキルヘテロアリールアルキニル、アルケニルヘテロアリールアルキル、アルケニルヘテロアリールアルケニル、アルケニルヘテロアリールアルキニル、アルキニルヘテロアリールアルキル、アルキニルヘテロアリールアルケニル、アルキニルヘテロアリールアルキニル、アルキルヘテロシクリルアルキル、アルキルヘテロシクリルアルケニル、アルキルヘテロシクリルアルキニル、アルケニルヘテロシクリルアルキル、アルケニルヘテロシクリルアルケニル、アルケニルヘテロシクリルアルキニル、アルキニルヘテロシクリルアルキル、アルキニルヘテロシクリルアルケニル、アルキニルヘテロシクリルアルキニル、アルキルアリール、アルケニルアリール、アルキニルアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニルヘテロアリール、アルキニルヘテロアリールなどが挙げられ、その１つ以上のメチレンが、Ｏ、Ｓ、Ｓ（Ｏ）、ＳＯ$_{2}$、Ｎ（Ｒ^{8}）、Ｃ（Ｏ）、置換または非置換

アリール、置換または非置換ヘテロアリール、置換または非置換複素環式（式中、Ｒ８が水素、アシル、脂肪族または置換脂肪族である）によって割り込み、または終結され得る。一実施形態では、リンカーは、約１～２４個の原子、２～２４個、３～２４個、４～２４個、５～２４個、６～２４個、６～１８個、７～１８個、８～１８個の原子、７～１７個、８～１７個、６～１６個、７～１７個、または８～１６個の原子である。

【０３５９】

切断可能な連結基は、細胞の外側で十分に安定しているが、標的細胞中に侵入すると切断されて、リンカーが一緒に保持している２つの部分を放出する連結基である。好ましい実施形態では、切断可能な連結基は、対象の血中、または第２参照条件下（これは例えば、血中もしくは血清中で見られる条件を模倣する、もしくは表すように選択され得る）よりも、標的細胞中または第１参照条件下（これは例えば、細胞内条件を模倣する、もしくは表すように選択され得る）で、少なくとも約１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、もしくはそれを超えて、または少なくとも約１００倍速く切断される。

【０３６０】

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

【０３６１】

切断可能な連結基、例えば、ジスルフィド結合などは、ｐＨの影響を受けやすい可能性がある。ヒト血清のｐＨは７．４である一方で、平均細胞内ｐＨはわずかに低く、約７．１～７．３の範囲である。エンドソームはより酸性のｐＨを有し、その範囲は５．５～６．０であり、リソソームはおよそ５．０のより一層酸性なｐＨを有する。いくつかのリンカーは、好ましいｐＨで切断される切断可能な連結基を有し、切断されることで細胞内部のリガンドから、または細胞の所望のコンパートメント中にカチオン性脂質を放出することになる。

【０３６２】

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

【０３６３】

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

【０３６４】

一般に、切断可能な候補連結基の適合性は、候補連結基を切断する分解剤（または条件）の能力を試験することによって評価され得る。血中で切断に抵抗する能力について、または他の非標的組織と接触する場合に、切断可能な候補連結基をさらに試験することも望ましいことになる。したがって、第１条件と第２条件との間の切断に対する相対的感受性を決定することができ、その場合に、第１条件は標的細胞中における切断を示すように選択され、第２条件は他の組織または生体液、例えば、血液または血清中における切断を示すように選択される。評価は、無細胞系で、細胞中で、細胞培養下で、臓器もしくは組織培

養下で、または動物全体で実施され得る。無細胞または培養条件で初期評価を行い、動物全体でさらに評価することによって確認することが有用であり得る。好ましい実施形態では、有用な候補化合物は、血液もしくは血清（または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）と比較した場合に、細胞中（または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）で少なくとも約２倍、４倍、１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、または約１００倍速く切断される。

【０３６５】

ａ．酸化還元切断可能な連結基

一実施形態では、切断可能な連結基は、還元または酸化時に切断される酸化還元切断可能な連結基である。還元的に切断可能な連結基の例は、ジスルフィド連結基（－－Ｓ－－Ｓ－－）である。切断可能な候補連結基が好適な「還元的に切断可能な連結基」であるか、または例えば、特定のオリゴヌクレオチド部分及び特定の標的化剤と共に使用するのに適しているかどうかを決定するために、本明細書に記載される方法を用いることができる。例えば、候補は、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）との、または細胞、例えば、標的細胞中で観察されることになる切断速度を模倣する、当該技術分野において既知の試薬を使用する他の還元剤とのインキュベーションによって評価され得る。候補はまた、血液または血清条件を模倣するように選択された条件下でも評価され得る。一実施形態では、候補化合物は、血中において最大で約１０％切断される。他の実施形態では、有用な候補化合物は、血液（または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）と比較した場合に、細胞中（または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）で少なくとも約２倍、４倍、１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、または約１００倍速く分解される。候補化合物の切断速度は、細胞内媒体を模倣するように選択された条件下で標準的な酵素反応速度論アッセイを使用して決定され、細胞外媒体を模倣するように選択された条件と比較され得る。

【０３６６】

ｂ．リン酸ベースの切断可能な連結基

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

【０３６７】

ｃ．酸切断可能な連結基

別の実施形態では、切断可能なリンカーは、酸切断可能な連結基を含む。酸切断可能な連結基は、酸性条件下で切断される連結基である。好ましい実施形態では、酸切断可能な連結基は、約６．５以下（例えば、約６．０、５．７５、５．５、５．２５、５．０、もしくはそれ未満）のｐＨを有する酸性環境中において、または一般酸として機能し得る酵素などの薬剤によって切断される。細胞中では、特定の低ｐＨ細胞小器官、例えば、エンドソーム及びリソソームなどが、酸切断可能な連結基に切断環境を提供し得る。酸切断可能な連結基の例としては、ヒドラゾン、エステル、及びアミノ酸のエステルが挙げられるが、これらに限定されない。酸切断可能な基は、一般式－Ｃ＝ＮＮ－－、Ｃ（Ｏ）Ｏ、または－－ＯＣ（Ｏ）を有し得る。好ましい実施形態は、エステルの酸素に結合した炭素（アルコキシ基）が、アリール基、置換アルキル基、または三級アルキル基、例えば、ジメチルペンチルもしくはｔ－ブチルなどの場合である。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。

【０３６８】
ｄ．エステルベースの連結基
別の実施形態では、切断可能なリンカーは、エステルベースの切断可能な連結基を含む。エステルベースの切断可能な連結基は、細胞中のエステラーゼ及びアミダーゼなどの酵素によって切断される。エステルベースの切断可能な連結基の例としては、アルキレン、アルケニレン及びアルキニレン基のエステルが挙げられるが、これらに限定されない。エステル切断可能な連結基は、一般式－－Ｃ（Ｏ）Ｏ－－、または－－ＯＣ（Ｏ）－－を有する。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。
【０３６９】
ｅ．ペプチドベースの切断基
さらに別の実施形態では、切断可能なリンカーは、ペプチドベースの切断可能な連結基を含む。ペプチドベースの切断可能な連結基は、細胞中のペプチダーゼ及びプロテアーゼなどの酵素によって切断される。ペプチドベースの切断可能な連結基は、アミノ酸間で形成されるペプチド結合であり、オリゴペプチド（例えば、ジペプチド、トリペプチドなど）及びポリペプチドを生成する。ペプチドベースの切断可能な基は、アミド基（－－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－－）を含まない。アミド基は、任意のアルキレン、アルケニレン、またはアルキニレン間で形成され得る。ペプチド結合は、アミノ酸間で形成される特殊な種類のアミド結合であり、ペプチド及びタンパク質を生成する。ペプチドベースの切断基は一般に、ペプチド及びタンパク質を生成する、アミノ酸間で形成されるペプチド結合（すなわち、アミド結合）に限定され、アミド官能基全体を含む訳ではない。ペプチドベースの切断可能な連結基は、一般式－－ＮＨＣＨＲＡＣ（Ｏ）ＮＨＣＨＲＢＣ（Ｏ）－－を有し、式中、ＲＡ及びＲＢは２個の隣接アミノ酸のＲ基である。これらの候補は、上に記載されているものと同様の方法を使用して評価され得る。
【０３７０】
一実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、リンカーを介して炭水化物に複合化される。リンカーは、二価及び三価の分岐リンカー基を含む。本発明の組成物及び方法のリンカーを有する例示的なオリゴヌクレオチド炭水化物複合体としては、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１８／１９５１６５号の式２４～３５に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。
【０３７１】
オリゴヌクレオチド複合体の調製を教示する代表的な米国特許としては、米国特許第４，８２８，９７９号、同第４，９４８，８８２号、同第５，２１８，１０５号、同第５，５２５，４６５号、同第５，５４１，３１３号、同第５，５４５，７３０号、同第５，５５２，５３８号、同第５，５７８，７１７号、同第５，５８０，７３１号、同第５，５９１，５８４号、同第５，１０９，１２４号、同第５，１１８，８０２号、同第５，１３８，０４５号、同第５，４１４，０７７号、同第５，４８６，６０３号、同第５，５１２，４３９号、同第５，５７８，７１８号、同第５，６０８，０４６号、同第４，５８７，０４４号、同第４，６０５，７３５号、同第４，６６７，０２５号、同第４，７６２，７７９号、同第４，７８９，７３７号、同第４，８２４，９４１号、同第４，８３５，２６３号、同第４，８７６，３３５号、同第４，９０４，５８２号、同第４，９５８，０１３号、同第５，０８２，８３０号、同第５，１１２，９６３号、同第５，２１４，１３６号、同第５，０８２，８３０号、同第５，１１２，９６３号、同第５，２１４，１３６号、同第５，２４５，０２２号、同第５，２５４，４６９号、同第５，２５８，５０６号、同第５，２６２，５３６号、同第５，２７２，２５０号、同第５，２９２，８７３号、同第５，３１７，０９８号、同第５，３７１，２４１号、同第５，３９１，７２３号、同第５，４１６，２０３号、同第５，４５１，４６３号、同第５，５１０，４７５号、同第５，５１２，６６７号、同第５，５１４，７８５号、同第５，５６５，５５２号、同第５，５６７，８１０号、同第５，５７４，１４２号、同第５，５８５，４８１号、同第５，５８７，３７１号、同第５，５９５，７２６号、同第５，５９７，６９６号、同第５，５９９，９２３号、同第５，５９９，９２８号及び同第５，６８８，９４１号、同第６，２９４，６

６４号、同第６，３２０，０１７号、同第６，５７６，７５２号、同第６，７８３，９３１号、同第６，９００，２９７号、同第７，０３７，６４６号、同第８，１０６，０２２号が挙げられるが、これらに限定されず、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０３７２】

ある特定の場合では、オリゴヌクレオチドのヌクレオチドは、非リガンド基によって修飾され得る。多数の非リガンド分子が、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、または細胞取込みを増強するためにオリゴヌクレオチドに複合化されていて、そのような複合化を実施するための手順が科学文献中で利用可能である。そのような非リガンド部分としては、脂質部分、例えば、コレステロール（Ｋｕｂｏ，Ｔ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ，２００７，３６５（１）：５４－６１、Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１９８９，８６：６５５３）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９４，４：１０５３）、チオエーテル、例えば、ヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１９９２，６６０：３０６、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９３，３：２７６５）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９２，２０：５３３）、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．，１９９１，１０：１１１、Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．，１９９０，２５９：３２７、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，１９９３，７５：４９）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６：３６５１、Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９０，１８：３７７７）、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ＆Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１９９５，１４：９６９）、またはアダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６：３６５１）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，１９９５，１２６４：２２９）、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９６，２７７：９２３）などが挙げられている。そのようなオリゴヌクレオチド複合体の調製を教示する代表的な米国特許は、上に列挙されている。典型的な複合化プロトコールは、配列の１つ以上の位置にアミノリンカーを有するオリゴヌクレオチドの合成を含む。次いで、アミノ基が、適切なカップリングまたは活性化試薬を使用して、複合化されている分子と反応する。複合化反応は、オリゴヌクレオチドが依然として固体支持体に結合している状態で、またはオリゴヌクレオチド切断後の溶液相中におけるいずれかで実施され得る。ＨＰＬＣによるオリゴヌクレオチド複合体の精製は通常、純粋な複合体を提供する。

【０３７３】

ＩＩＩ．医薬用途

本発明のオリゴヌクレオチドは、アデノシンの脱アミノ化によって処置される可能性がある任意の障害を処置するために使用されてよい。例えば、任意の障害は、グアノシンからアデノシンへの変異、未成熟終止コドンの導入、または望ましくないタンパク質の発現によって引き起こされる。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、対象に投与される場合、グアノシンからアデノシンへの変異の補正をもたらし得る。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、所望のタンパク質が発現されるように、未成熟終止コドンの停止をもたらし得る。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌ

クレオチドは、望ましくないタンパク質の発現の阻害をもたらし得る。

【０３７４】

本発明によるオリゴヌクレオチドを使用して編集するための特に興味深い標的アデノシンは、同時または翻訳後修飾、例えば、グリコシル化、ヒドロキシル化、ミリストイル化、ならびにプロテアーゼによるタンパク質切断（タンパク質を成熟させるため、及び／または細胞内経路の一部として）などについて、重要な機能、または特性、例えば、触媒部位、他のタンパク質の結合部位、基質による結合、局在化ドメインなどを定義するアミノ酸残基のコドンの一部である標的アデノシンである。

【０３７５】

多くの遺伝子疾患がＧからＡの変異によって引き起こされ、変異した標的アデノシンでのアデノシン脱アミノ化が変異を野生型に逆転させることになるため、それらは本発明のオリゴヌクレオチドによって処置される可能性がある疾患である。しかしながら、野生型への復帰は、有益な効果を得るのに必ずしも必要とは限らない場合がある。野生型ヌクレオチドがＧ以外である場合、標的中におけるＡからＧへの修飾も有益な場合がある。ある特定の状況では、それが当てはまると予測される場合もあるが、他の状況ではある試験を要する場合もある。ある特定の状況では、野生型がＧではない場合、標的ＲＮＡ中のＡからＧへの修飾は、サイレント（異なるアミノ酸に翻訳されない）、もしくはさもなければ、重要ではない（例えば、アミノ酸が置換されるが、タンパク質構造及び機能を破壊しない保存的置換を構成する）場合があるか、またはアミノ酸が変化に対してある一定の耐性を有する機能ドメインの一部である。本発明に従って編集することによってもたらされるＡからＧの移行が非コードＲＮＡ、またはＲＮＡの非コード部分にある場合、結果はまた重要ではないか、または元の変異よりも軽度な場合がある。当業者は、本発明の適用性が非常に広く、疾患の予防または処置に限定されることさえないと理解することになる。本発明はまた、転写物を修飾してその効果を試験するために使用されてよく、たとえ、そのような修飾が、例えば、細胞または非ヒト動物モデルにおいて疾患状態を誘発する場合であっても、または特にその場合に使用されてもよい。

【０３７６】

本発明によるオリゴヌクレオチドで予防及び／または処置され得る遺伝子疾患の例は、標的ＲＮＡ中における１個以上のアデノシンの修飾が（可能性として）有益な変化をもたらすことになる任意の疾患である。

【０３７７】

本発明は変異の補正に限定されず、その理由としては、代わりに本発明によるオリゴヌクレオチドを適用することによって野生型配列を変異配列に変化させることが有用な場合があるからである。野生型アデノシンを修飾することが有利な場合がある一例は、例えば、エクソンのスプライシングに必要な分岐部位に存在するアデノシンを修飾することによって、エクソンのスキッピングをもたらすことである。別の例は、アデノシンがタンパク質結合の認識配列を定義する、もしくはその一部であるか、またはＲＮＡの安定性を定義する二次構造に関与している場合である。上述の通り、それゆえ、本発明は疾患のための研究ツールを提供し、既存の変異よりも有害性が少ない新規変異を導入するために使用され得る。

【０３７８】

本明細書に開示されるオリゴヌクレオチドを使用するアデノシンの脱アミノ化は、任意のレベルのアデノシン脱アミノ化、例えば、標的配列内の少なくとも１個の脱アミノ化アデノシン（例えば、標的配列中の少なくとも１個、２個、３個、またはそれを超える脱アミノ化アデノシン）を含む。

【０３７９】

アデノシン脱アミノ化は、対照レベルと比較した、標的配列内のアデノシンの絶対または相対レベルの減少によって評価されてよい。対照レベルは、当該技術分野で利用される任意の種類の対照レベル、例えば、投薬前ベースラインレベル、または未処置もしくは対照（例えば、緩衝剤のみの対照もしくは不活性な薬剤対照など）で処置された同様の対象、

細胞、もしくは試料から決定されるレベルであってよい。

【０３８０】

ＡＤＡＲの酵素活性によってアデノシンがイノシンに変換されるため、アデノシン脱アミノ化は、あるいは、対照レベルと比較した標的配列内のイノシンの絶対または相対レベルの増加によって評価され得る。同様に、対照レベルは、当該技術分野で利用される任意の種類の対照レベル、例えば、投薬前ベースラインレベル、または未処置もしくは対照（例えば、緩衝剤のみの対照もしくは不活性な薬剤対照など）で処置された同様の対象、細胞、もしくは試料から決定されるレベルであってよい。

【０３８１】

標的配列内のアデノシン及び／またはイノシンのレベルは、ポリヌクレオチド配列のヌクレオチド組成を決定する、当該技術分野において既知の方法のいずれかを使用して評価され得る。例えば、標的配列内のアデノシンまたはイノシンの相対または絶対レベルは、核酸シーケンシング技術、例えば、サンガーシーケンシング法、次世代シーケンシング（ＮＧＳ、例えば、パイロシーケンシング、可逆的ターミネーター化学によるシーケンシング、ライゲーションによるシーケンシング、及びリアルタイムシーケンシング）、例えば、市販のプラットフォーム（例えば、Ｉｌｌｕｍｉｎａ、Ｑｉａｇｅｎ、Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ、Ｒｏｃｈｅ、及びＯｘｆｏｒｄ Ｎａｎｏｐｏｒｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）上で提供されるものなどを含むが、これらに限定されない技術を使用して評価され得る。ＮＧＳの標的配列のクローン増幅は、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｒｏｃｈｅ、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ、Ｃｅｐｈｅｉｄ、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ、またはＢｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから市販されているプラットフォーム上でリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（ｑＰＣＲとしても知られる）を使用して実施されてよい。さらに、エマルジョンＰＣＲ法が、Ｂｉｏ－Ｒａｄ ＬａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓによるＤｒｏｐｌｅｔ Ｄｉｇｉｔａｌ ＰＣＲなどの市販のプラットフォームを使用する、標的配列の増幅に使用され得る。

【０３８２】

ある特定の実施形態では、代理マーカーは、標的配列内のアデノシン脱アミノ化を検出するために使用され得る。例えば、許容される診断及びモニタリング基準によって実証されるような、本開示のオリゴヌクレオチドを用いた、ＧからＡの変異が関与する遺伝性障害を有する対象の効果的な処置は、臨床的に関連するアデノシン脱アミノ化を実証すると理解され得る。ある特定の実施形態では、本方法は、例えば、本開示のオリゴヌクレオチドで対象を処置した後の臨床的に関連する転帰によって実証されるような、臨床的に関連するアデノシン脱アミノ化を含む。

【０３８３】

目的の遺伝子におけるアデノシン脱アミノ化は、第１細胞または細胞群（そのような細胞が、例えば、対象に由来する試料中に存在する場合がある）によって発現されるｍＲＮＡのレベルの増加または減少によって現れる場合があり、その場合に目的の遺伝子が転写され、その細胞（複数可）が処理されていて（例えば、細胞（複数可）を本開示のオリゴヌクレオチドと接触させることによって、または細胞が存在する、もしくは存在していた対象に本発明のオリゴヌクレオチドを投与することによって）、脱アミノ化は、目的の遺伝子の発現が、第１細胞または細胞群と実質的に同一であるが、細胞（複数可）がそのように処理されていない第２細胞または細胞群（オリゴヌクレオチドで処理されていないか、または目的の遺伝子を標的とするオリゴヌクレオチドで処理されていない対照細胞（複数可））と比較した場合に、増加または減少するように現れる。目的の遺伝子に関するｍＲＮＡレベルの増加または減少の程度は、以下の式で表されてよい：

$$\frac{(\text{対照細胞中のmRNA}) - (\text{処理細胞中のmRNA})}{(\text{対照細胞中のmRNA})} \times 100\%$$

【０３８４】

他の実施形態では、遺伝子のレベル変化は、目的の遺伝子の発現、例えば、目的の遺伝子のタンパク質発現またはタンパク質下流のシグナル伝達に機能的に関連するパラメータの減少に関して評価されてよい。目的の遺伝子のレベル変化は、発現構築物から内因性または異種のいずれかで、目的の遺伝子を発現する任意の細胞中において、及び当該技術分野において既知の任意のアッセイによって決定されてよい。

【０３８５】

目的の遺伝子に関する発現レベルの変化は、細胞または細胞群によって発現される目的の遺伝子によって産生されるタンパク質のレベル（例えば、対象に由来する試料中で発現されるタンパク質のレベル）の増加または減少によって現れる場合がある。上で説明されるように、ｍＲＮＡ抑制の評価のために、処理細胞または細胞群におけるタンパク質発現のレベル変化は、対照細胞または細胞群におけるタンパク質レベルのパーセンテージとして同様に表されてよい。

【０３８６】

目的の遺伝子発現の変化を評価するために使用されてよい対照細胞または細胞群は、本開示のオリゴヌクレオチドとまだ接触していない細胞または細胞群を含む。例えば、対照細胞または細胞群は、オリゴヌクレオチドで対象を処置する前の個々の対象（例えば、ヒトまたは動物対象）に由来する場合がある。

【０３８７】

細胞または細胞群によって発現される目的の遺伝子に関するｍＲＮＡのレベルは、ｍＲＮＡ発現を評価する当該技術分野において既知の任意の方法を使用して決定されてよい。一実施形態では、試料中における目的の遺伝子の発現レベルは、転写されたポリヌクレオチド、またはその一部、例えば、目的の遺伝子のｍＲＮＡを検出することによって決定される。ＲＮＡは、例えば、酸性フェノール／グアニジンイソチオシアネート抽出（ＲＮＡｚｏｌ　Ｂ、Ｂｉｏｇｅｎｅｓｉｓ）、ＲＮＥＡＳＹ（商標）ＲＮＡ調製キット（Ｑｉａｇｅｎ）またはＰＡＸｇｅｎｅ（ＰｒｅＡｎａｌｙｔｉｘ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を使用することを含む、ＲＮＡ抽出技術を使用して細胞から抽出されてよい。リボ核酸ハイブリダイゼーションを利用する典型的なアッセイ形式としては、核ランオンアッセイ、ＲＴ－ＰＣＲ、ＲＮａｓｅ保護アッセイ、ノーザンブロッティング、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション、及びマイクロアレイ分析が挙げられる。目的の遺伝子の循環ｍＲＮＡは、ＰＣＴ公開ＷＯ２０１２／１７７９０６に記載されている方法を使用して検出されてよく、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、目的の遺伝子の発現レベルは、核酸プローブを使用して決定される。「プローブ」という用語は、本明細書で使用される場合、特定の配列に、例えば、ｍＲＮＡまたはポリペプチドに選択的に結合できる任意の分子を指す。プローブは当業者によって合成され得るか、または適切な生物学的調製物から得られ得る。プローブは、特に標識されるように設計されてよい。プローブとして利用され得る分子の例としては、ＲＮＡ、ＤＮＡ、タンパク質、抗体、及び有機分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８８】

単離ｍＲＮＡは、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）分析、及びプローブアレイを含むが、これらに限定されないハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイに使用され得る。ｍＲＮＡレベルを決定する１つの方法は、単離ｍＲＮＡを、目的の遺伝子のｍＲＮＡにハイブリダイズし得る核酸分子（プローブ）と接触させることを含む。一実施形態では、ｍＲＮＡは、例えば、単離ｍＲＮＡをアガロースゲル上に泳動させ、ｍＲＮＡをゲルからニトロセルロースなどの膜に移動させることによって、固体表面上に固定化され、プローブと接触する。代替の実施形態では、プローブ（複数可）が固体表面上に固定化され、ｍＲＮＡは、例えば、ＡＦＦＹＭＥＴＲＩＸ遺伝子チップアレイ中でプローブ（複数可）と接触する。当業者は、目的の遺伝子に関するｍＲＮＡレベルの決定に使用するために、既知のｍＲＮＡ検出方法を容易に適合させ得る。

【０３８９】

試料中における目的の遺伝子の発現レベルを決定する代替方法は、試料中における、例え

ば、ｍＲＮＡの核酸増幅及び／または逆転写酵素（ｃＤＮＡを調製するため）のプロセスを含み、例えば、その手段とは、ＲＴ－ＰＣＲ（Ｍｕｌｌｉｓ，１９８７、米国特許第４，６８３，２０２号に記載されている実験的実施形態）、リガーゼ連鎖反応（Ｂａｒａｎｙ（１９９１）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８９－１９３）、自家持続配列複製法（Ｇｕａｔｅｌｌｉ ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：１８７４－１８７８）、転写増幅システム（Ｋｗｏｈ ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１１７３－１１７７）、Ｑ－ベータレプリカーゼ（Ｌｉｚａｒｄｉ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ６：１１９７）、ローリングサークル複製（Ｌｉｚａｒｄｉ ｅｔ ａｌ．、米国特許第５，８５４，０３３号）または任意の他の核酸増幅方法であり、それに続いて、当業者に周知の技術を使用して増幅した分子を検出することを含む。これらの検出スキームは、核酸分子が非常に少ない数で存在する場合、そのような分子の検出に特に有用である。本発明の特定の態様では、目的の遺伝子の発現レベルは、定量的蛍光発生ＲＴ－ＰＣＲ（すなわち、ＴＡＱＭＡＮ（商標）システム）またはＤＵＡＬ－ＧＬＯ（登録商標）ルシフェラーゼアッセイによって決定される。

【０３９０】

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

【０３９１】

いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ発現のレベルは、分岐ＤＮＡ（ｂＤＮＡ）アッセイまたはリアルタイムＰＣＲ（ｑＰＣＲ）を使用して評価される。このＰＣＲ法の使用は、本明細書に提示される実施例に記載かつ例示されている。そのような方法は、目的の遺伝子の核酸検出にも使用され得る。

【０３９２】

目的の遺伝子の発現によって産生されるタンパク質のレベルは、タンパク質レベルを測定する、当該技術分野において既知の任意の方法を使用して決定されてよい。そのような方法としては、例えば、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）、超拡散クロマトグラフィー、流体またはゲル沈降反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法（単純または二重）、免疫電気泳動、ウェスタンブロッティング、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着法（ＥＬＩＳＡ）、免疫蛍光アッセイ、電気化学発光アッセイなどが挙げられる。そのようなアッセイは、目的の遺伝子によって産生されるタンパク質の存在または複製を示すタンパク質の検出にも使用され得る。さらに、上記のアッセイは、タンパク質機能の回復または変化をもたらす目的のｍＲＮＡ配列の変化を報告するために使用され、それによって、対象に治療効果及び利益を提供する、対象の障害を処置する、及び／または対象の障害の症状を減少させる場合がある。

【０３９３】

本発明の方法のいくつかの実施形態では、本開示のオリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドが対象内の特定の部位に送達されるように、対象に投与される。目的の遺伝子の発現変化は、対象内の特定の部位に由来する試料中における目的の遺伝子によって産生されるｍＲＮＡまたはタンパク質のレベルまたはレベル変化の測定値を使用して評価されてよい。

【０３９４】

他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下のうち１つ（またはそれを超えて、例えば、以下のうち２つ以上、３つ以上、４つ以上）をもたらすのに効果的な量及び時間で投

与される：（ａ）目的の遺伝子の標的配列内でアデノシンの数を減少させること、（ｂ）障害の発症遅延、（ｃ）対象の生存期間の増加、（ｄ）対象の無増悪生存期間の増加、（ｅ）タンパク質機能の回復または変化、及び（ｆ）症状の減少。

【０３９５】

ＧからＡの変異と関連する障害の処置はまた、未処置集団と比較して、処置された対象の集団における死亡率の低下をもたらし得る。例えば、死亡率は、２％超（例えば、５％、１０％、または２５％超）低下する。処置された対象の集団における死亡率の低下は、任意の再現可能な手段によって、例えば、集団について、化合物または本明細書に記載される化合物の薬学的に許容される塩を用いた処置開始後の、単位時間あたりの疾患関連死の平均数を算出することによって測定されてよい。集団の死亡率の低下はまた、例えば、集団について、化合物または本明細書に記載される化合物の薬学的に許容される塩を用いた処置の第１ラウンドの完了後における、単位時間あたりの疾患関連死の平均数を算出することによって測定されてもよい。

【０３９６】

Ａ．オリゴヌクレオチドの送達

本発明のオリゴヌクレオチドを細胞、例えば、対象、例えば、ヒト対象など（例えば、それを必要とする対象、例えば、障害を有する対象など）の細胞に送達することは、様々な異なる方法で達成され得る。例えば、送達は、インビトロまたはインビボのいずれかで、本発明のオリゴヌクレオチドと細胞を接触させることによって実施されてよい。インビボ送達はまた、オリゴヌクレオチドを含む組成物を対象に投与することによって直接実施されてもよい。あるいは、インビボ送達は、オリゴヌクレオチドの発現をコードし、誘導する１つ以上のベクターを投与することによって間接的に実施されてよい。細胞と接触するインビトロ及びインビボ方法の組合せも可能である。上で述べられるように、細胞との接触は直接的または間接的であってよい。さらに、細胞との接触は、本明細書に記載される、または当該技術分野において既知の任意のリガンドを含む、標的化リガンドを介して達成されてよい。いくつかの実施形態では、標的化リガンドは、炭水化物部分、例えば、ＧａｌＮＡｃ３リガンド、または目的の部位にオリゴヌクレオチドを誘導する任意の他のリガンドである。細胞は中枢神経系、または筋細胞の細胞を含み得る。それらの代替物が以下でさらに述べられる。

【０３９７】

細胞とオリゴヌクレオチドとの接触は、インビトロまたはインビボで行われてよい。本発明のオリゴヌクレオチドと共に使用するために適合され得る（例えば、Ａｋｈｔａｒ Ｓ．ａｎｄ Ｊｕｌｉａｎ Ｒ Ｌ．，（１９９２）Ｔｒｅｎｄｓ Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．２（５）：１３９－１４４及びＷＯ９４／０２５９５を参照し、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる）。インビボ送達の場合、オリゴヌクレオチド分子を送達するための考慮すべき要因としては、例えば、送達される分子の生物学的安定性、非特異的効果の防止、及び標的組織中における送達される分子の蓄積が挙げられる。オリゴヌクレオチドの非特異的効果は、局所投与によって、例えば、組織への直接注射もしくは移植または調製物を局所投与することによって最小限に抑えられ得る。処置部位への局所投与は、薬剤の局所濃度を最大化し、さもなければ薬剤によって害され得る、または薬剤を分解し得る、全身組織への薬剤の曝露を制限し、より低い総用量のオリゴヌクレオチド分子の投与を可能にする。

【０３９８】

疾患の処置を目的としてオリゴヌクレオチドを全身投与する場合、オリゴヌクレオチドは、代替核酸塩基、代替糖部分、及び／または代替ヌクレオシド間結合を含み得るか、または代わりに薬物送達システムを使用して送達され得、両方の方法は、インビボでのエンド及びエキソヌクレアーゼによるオリゴヌクレオチドの急速な分解を防ぐように機能する。オリゴヌクレオチドまたは医薬担体の修飾はまた、オリゴヌクレオチド組成物の標的組織に対する標的化を可能にし、望ましくないオフターゲット効果を回避し得る。オリゴヌクレオチド分子は、コレステロールなどの親油基への化学的結合によって修飾され、細胞取

込みを増強し、分解を防止し得る。代替の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、薬物送達システム、例えば、ナノ粒子、脂質ナノ粒子、ポリプレックスナノ粒子、リポプレックスナノ粒子、デンドリマー、ポリマー、リポソーム、またはカチオン性送達システムなどを使用して送達され得る。正荷電カチオン性送達システムは、オリゴヌクレオチド分子（負荷電）の結合を促進し、さらに負荷電細胞膜での相互作用を増強して、細胞によるオリゴヌクレオチドの効率的な取込みを可能にする。カチオン性脂質、デンドリマー、またはポリマーは、オリゴヌクレオチドに結合され得るか、またはオリゴヌクレオチドを包む小胞もしくはミセルを形成するように誘導され得るかのいずれかである。小胞またはミセルの形成は、全身に投与される場合にオリゴヌクレオチドの分解をさらに防止する。一般に、当該技術分野において既知の核酸の送達に関する任意の方法が、本発明のオリゴヌクレオチドの送達に適合可能であってよい。カチオン性オリゴヌクレオチド複合物の作製及び投与方法は、当業者の能力の範囲内で十分に行われる（例えば、Ｓｏｒｅｎｓｅｎ，ＤＲ．，ｅｔ　ａｌ．（２００３）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ　３２７：７６１－７６６、Ｖｅｒｍａ，Ｕ　Ｎ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．９：１２９１－１３００、Ａｒｎｏｌｄ，Ａ　Ｓ　ｅｔ　ａｌ．，（２００７）Ｊ．Ｈｙｐｅｒｔｅｎｓ．２５：１９７－２０５を参照し、それらの内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる）。オリゴヌクレオチドの全身送達に有用な薬物送達システムのいくつかの非限定的な例としては、ＤＯＴＡＰ（Ｓｏｒｅｎｓｅｎ，Ｄ　Ｒ．，ｅｔ　ａｌ（２００３），上記、Ｖｅｒｍａ，Ｕ　Ｎ．ｅｔ　ａｌ．，（２００３），上記）、Ｏｌｉｇｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ、「固体核酸脂質粒子」（Ｚｉｍｍｅｒｍａｎｎ，Ｔ　Ｓ．ｅｔ　ａｌ．，（２００６）Ｎａｔｕｒｅ　４４１：１１１－１１４）、カルジオリピン（Ｃｈｉｅｎ，Ｐ　Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．１２：３２１－３２８、Ｐａｌ，Ａ．ｅｔ　ａｌ．，（２００５）Ｉｎｔ　Ｊ．Ｏｎｃｏｌ．２６：１０８７－１０９１）、ポリエチレンイミン（Ｂｏｎｎｅｔ　Ｍ　Ｅ．ｅｔ　ａｌ．，（２００８）Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．Ａｕｇ　１６、印刷前に電子出版、Ａｉｇｎｅｒ，Ａ．（２００６）Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．７１６５９）、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＲＧＤ）ペプチド（Ｌｉｕ，Ｓ．（２００６）Ｍｏｌ．Ｐｈａｒｍ．３：４７２－４８７）、及びポリアミドアミン（Ｔｏｍａｌｉａ，Ｄ　Ａ．ｅｔ　ａｌ．，（２００７）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．３５：６１－６７、Ｙｏｏ，Ｈ．ｅｔ　ａｌ．，（１９９９）Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．１６：１７９９－１８０４）が挙げられる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、全身投与のためにシクロデキストリンと複合物を形成する。オリゴヌクレオチド及びシクロデキストリンの投与方法及び医薬組成物は、米国特許第７，４２７，６０５号に見出され得、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、ポリプレックスまたはリポプレックスナノ粒子によって送達される。オリゴヌクレオチドならびにポリプレックスナノ粒子及びリポプレックスナノ粒子の投与方法及び医薬組成物は、米国特許出願第２０１７／０１２１４５４号、同第２０１６／０３６９２６９号、同第２０１６／０２７９２５６号、同第２０１６／０２５１４７８号、同第２０１６／０２３０１８９号、同第２０１５／０３３５７６４号、同第２０１５／０３０７５５４号、同第２０１５／０１７４５４９号、同第２０１４／０３４２００３号、同第２０１４／０１３５３７６号、及び同第２０１３／０３１７０８６号に見出され得、それら全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０３９９】

ｉ．膜分子集合体の送達方法

本発明のオリゴヌクレオチドはまた、当該技術分野において既知のポリマー、生分解性微粒子、またはマイクロカプセル送達デバイスを含む、様々な膜分子集合体送達方法を使用して送達され得る。例えば、コロイド分散系は、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド剤の標的送達のために使用されてよい。コロイド分散系としては、高分子複合物、ナノカプセル、マイクロスフェア、ビーズ、及び脂質ベース系、例えば、水中油型エマルジョン、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを含むものが挙げられる。リポソームは、イン

ビトロ及びインビボで送達ビヒクルとして有用な人工膜小胞である。サイズが０．２～４．０μｍの範囲である、大型単層小胞（ＬＵＶ）が、大きな巨大分子を含有する水性緩衝液のかなりの割合を封入し得ることが示されている。リポソームは、活性成分の作用部位への移送及び送達に有用である。リポソーム膜は生体膜と構造的に類似しているため、リポソームが組織に適用されると、リポソーム二重層が細胞膜の二重層と融合する。リポソームと細胞との融合が進むにつれて、オリゴヌクレオチドを含む内部の水性内容物が細胞中に送達され、そこでオリゴヌクレオチドは標的ＲＮＡに特異的に結合し得、ＲＮａｓｅＨ媒介遺伝子サイレンシングを媒介し得る。いくつかの場合には、リポソームはまた、例えば、オリゴヌクレオチドを特定の細胞型に誘導するために、特異的に標的化される。リポソームの組成は通常、リン脂質の組合せであり、通常はステロイド、特にコレステロールとの組合せである。他のリン脂質または他の脂質も使用されてよい。リポソームの物理的特性は、ｐＨ、イオン強度、及び二価カチオンの存在に依存する。

【０４００】

オリゴヌクレオチドを含有するリポソームは、様々な方法で調製され得る。一例では、リポソームの脂質成分は、脂質成分でミセルが形成されるように界面活性剤中に溶解される。例えば、脂質成分は、両親媒性カチオン性脂質または脂質複合体であり得る。界面活性剤は高い臨界ミセル濃度を有し得、非イオン性であってよい。例示的な界面活性剤としては、コール酸塩、ＣＨＡＰＳ、オクチルグルコシド、デオキシコール酸塩、及びラウロイルサルコシンが挙げられる。次いで、オリゴヌクレオチド調製物が、脂質成分を含むミセルに添加される。脂質上のカチオン性基がオリゴヌクレオチドと相互作用し、オリゴヌクレオチドの周囲で凝集してリポソームを形成する。凝集後、例えば、透析によって界面活性剤が除去され、オリゴヌクレオチドのリポソーム調製物を生成する。

【０４０１】

必要に応じて、凝集を助ける担体化合物が、例えば、添加を制御することによって、凝集反応中に添加され得る。例えば、担体化合物は、核酸以外のポリマー（例えば、スペルミンまたはスペルミジン）であり得る。凝集を促すために、ｐＨも調整され得る。

【０４０２】

送達ビヒクルの構造成分としてポリヌクレオチド／カチオン性脂質複合物を組み込んでいる、安定したポリヌクレオチド送達ビヒクルを作製する方法は、例えば、ＷＯ９６／３７１９４にさらに記載され、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。リポソーム形成としてはまた、Ｆｅｉｇｎｅｒ，Ｐ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．，（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８：７４１３－７４１７、米国特許第４，８９７，３５５号、米国特許第５，１７１，６７８号、Ｂａｎｇｈａｍ ｅｔ ａｌ．，（１９６５）Ｍ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２３：２３８、Ｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，（１９７９）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ５５７：９、Ｓｚｏｋａ ｅｔ ａｌ．，（１９７８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．７５：４１９４、Ｍａｙｈｅｗ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ７７５：１６９、Ｋｉｍ ｅｔ ａｌ．，（１９８３）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ７２８：３３９、及びＦｕｋｕｎａｇａ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ．１１５：７５７に記載される例示的な方法の１つ以上の態様が挙げられ得る。送達ビヒクルとしての使用を目的とした、適切なサイズの脂質凝集体を調製するために一般的に使用される技術としては、超音波処理及び凍結融解に加えて押出しが挙げられる（例えば、Ｍａｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９８６）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ８５８：１６１を参照のこと）。顕微溶液化は、一貫して小さく（５０～２００ｎｍ）、比較的均一な凝集体が必要な場合に使用され得る（Ｍａｙｈｅｗ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ７７５：１６９）。それらの方法は、オリゴヌクレオチド調製物をリポソーム中にパッケージングするために容易に適合される。

【０４０３】

リポソームは大きく２つのクラスに分類される。カチオン性リポソームは正荷電リポソー

ムであり、これは負荷電核酸分子と相互作用して、安定した複合物を形成する。正荷電核酸／リポソーム複合物は、負荷電細胞表面に結合し、エンドソーム中に内在化される。エンドソーム内の酸性ｐＨにより、リポソームは破裂し、その内容物を細胞質に放出する（Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．，１４７：９８０－９８５）。

【０４０４】

ｐＨ感受性または負に帯電したリポソームは、核酸と複合化するのではなく、核酸を捕捉する。核酸及び脂質の両方が同様に帯電しているため、複合物形成ではなく反発が生じる。それにもかかわらず、一部の核酸はそれらのリポソームの水性内部内に捕捉される。ｐＨ感受性リポソームは、チミジンキナーゼ遺伝子をコードする核酸を培養下で細胞単層に送達するために使用されている。外来遺伝子の発現が標的細胞中で検出された（Ｚｈｏｕ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｒｅｌｅａｓｅ，１９：２６９－２７４）。

【０４０５】

リポソーム組成物の１つの主な種類としては、天然由来のホスファチジルコリン以外のリン脂質が挙げられる。中性リポソーム組成物は、例えば、ジミリストイルホスファチジルコリン（ＤＭＰＣ）またはジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）から形成され得る。アニオン性リポソーム組成物は一般に、ジミリストイルホスファチジルグリセロールから形成される一方で、アニオン性融合リポソームは、主にジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）から形成される。別の種類のリポソーム組成物は、ホスファチジルコリン（ＰＣ）、例えば、ダイズＰＣ、及びタマゴＰＣなどから形成される。別の種類は、リン脂質及び／またはホスファチジルコリン及び／またはコレステロールの混合物から形成される。

【０４０６】

リポソームをインビトロ及びインビボで細胞中に導入する他の方法の例としては、米国特許第５，２８３，１８５号、米国特許第５，１７１，６７８号、ＷＯ９４／００５６９、ＷＯ９３／２４６４０、ＷＯ９１／１６０２４、Ｆｅｉｇｎｅｒ，（１９９４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６９：２５５０、Ｎａｂｅｌ，（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．９０：１１３０７、Ｎａｂｅｌ，（１９９２）Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．３：６４９、Ｇｅｒｓｈｏｎ，（１９９３）Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：７１４３、及びＳｔｒａｕｓｓ，（１９９２）ＥＭＢＯ　Ｊ．１１：４１７が挙げられる。

【０４０７】

非イオン性リポソームシステムもまた、皮膚への薬物送達におけるそれらの有用性を決定するために検査されていて、特に非イオン性界面活性剤及びコレステロールを含むシステムが検査されている。ＮＯＶＡＳＯＭＥ（商標）Ｉ（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）及びＮＯＶＡＳＯＭＥ（商標）ＩＩ（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が、シクロスポリン－Ａをマウス皮膚の真皮に送達するために使用された。結果は、そのような非イオン性リポソームシステムが、皮膚の異なる層へのシクロスポリンＡの沈着を促進するのに効果的であったことを示した（Ｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９４）Ｓ．Ｔ．Ｐ．Ｐｈａｒｍａ．Ｓｃｉ．，４（６）：４６６）。

【０４０８】

リポソームはまた、立体的に安定化したリポソーム、例えば、循環寿命の向上をもたらす特殊な脂質を欠くリポソームと比較して、１つ以上のそのような特殊な脂質を含むものであってよい。立体的に安定化したリポソームの例は、リポソームの小胞形成脂質部分の一部が、（Ａ）モノシアロガングリオシドＧＭ１などの、１つ以上の糖脂質を含むか、または（Ｂ）ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部分などの、１つ以上の親水性ポリマーで誘導体化されているものである。いかなる特定の理論にも束縛されることを望むものではないが、少なくともガングリオシド、スフィンゴミエリン、またはＰＥＧ誘導体化脂質を含

有する立体的に安定化したリポソームについて、それらの立体的に安定化したリポソームの循環半減期の向上は、細網内皮系（ＲＥＳ）の細胞中への取込み減少に起因すると、当該技術分野では考えられている（Ａｌｌｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８７）ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，２２３：４２、Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，５３：３７６５）。

【０４０９】

１つ以上の糖脂質を含む様々なリポソームが、当該技術分野において既知である。Ｐａｐａｈａｄｊｏｐｏｕｌｏｓ　ｅｔ　ａｌ．（Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，（１９８７），５０７：６４）は、モノシアロガングリオシドＧＭ１、硫酸ガラクトセレブロシド、及びホスファチジルイノシトールが、リポソームの血中半減期を改善する能力を報告した。これらの知見は、Ｇａｂｉｚｏｎ　ｅｔ　ａｌ．（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．，（１９８８），８５：６９４９）によって詳述された。米国特許第４，８３７，０２８号及びＷＯ８８／０４９２４は両方ともＡｌｌｅｎ　ｅｔ　ａｌ．によるものであり、これらは（１）スフィンゴミエリン及び（２）ガングリオシドＧＭ１または硫酸ガラクトセレブロシドエステルを含むリポソームを開示している。米国特許第５，５４３，１５２号（Ｗｅｂｂ　ｅｔ　ａｌ．）は、スフィンゴミエリンを含むリポソームを開示している。１，２－ｓｎ－ジミリストイルホスファチジルコリンを含むリポソームは、ＷＯ９７／１３４９９（Ｌｉｍ　ｅｔ　ａｌ）に開示されている。

【０４１０】

一実施形態では、カチオン性リポソームが使用される。カチオン性リポソームは、細胞膜に融合できるという利点を持つ。非カチオン性リポソームは、原形質膜と効率的に融合できないが、インビボでマクロファージによって取り込まれ、オリゴヌクレオチドをマクロファージに送達するために使用され得る。

【０４１１】

リポソームのさらなる利点としては、天然リン脂質から得られるリポソームは、生体適合性かつ生分解性であること、リポソームは、幅広い水溶性及び脂溶性薬物を組み込むことができること、リポソームは、それらの内部コンパートメント中に封入されたオリゴヌクレオチドを代謝及び分解から保護し得ること（Ｒｏｓｏｆｆの“Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｄｏｓａｇｅ　Ｆｏｒｍｓ，”Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｒｉｅｇｅｒ　ａｎｄ　Ｂａｎｋｅｒ（Ｅｄｓ．），１９８８，ｖｏｌｕｍｅ　１，ｐ．２４５）が挙げられる。リポソーム製剤の調製における重要な考慮事項は、脂質表面電荷、小胞サイズ及びリポソームの水分量である。

【０４１２】

正荷電合成カチオン性脂質のＮ－［１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド（ＤＯＴＭＡ）は、小さなリポソームを形成するために使用され得、このリポソームは核酸と自然に相互作用し、組織培養細胞の細胞膜の負荷電脂質と融合してオリゴヌクレオチドを送達できる脂質－核酸複合物を形成する（例えば、ＤＯＴＭＡ及びＤＮＡとのその使用に関する記載については、Ｆｅｉｇｎｅｒ，Ｐ．Ｌ．ｅｔ　ａｌ．，（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８：７４１３－７４１７、及び米国特許第４，８９７，３５５号を参照のこと）。

【０４１３】

ＤＯＴＭＡ類似体の１，２－ビス（オレオイルオキシ）－３－（トリメチルアンモニア）プロパン（ＤＯＴＡＰ）は、ＤＮＡ複合化小胞を形成するためにリン脂質と組み合わせて使用され得る。ＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮ（商標）（Ｂｅｔｈｅｓｄａ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，Ｍｄ．）は、負荷電ポリヌクレオチドと自然に相互作用して複合物を形成する正荷電ＤＯＴＭＡリポソームを含む、生体組織培養細胞中への高アニオン性核酸の送達のための効果的な薬剤である。十分に正に帯電したリポソームが使用される場合、得られる複合物の正味電荷も正となる。そのようにして調製される正荷電複合物は、負荷電細胞表面に自然に結合し、原形質膜と融合して、機能性核酸を、例えば、組織培養細胞中に効率的に送達する。別の市販のカチオン性脂質

である１，２－ビス（オレオイルオキシ）－３，３－（トリメチルアンモニア）プロパン（「ＤＯＴＡＰ」）（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｍａｎｎｈｅｉｍ，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，Ｉｎｄ．）は、オレオイル部分が、エーテル結合ではなくエステルによって連結されているという点でＤＯＴＭＡとは異なる。

【０４１４】

報告された他のカチオン性脂質化合物としては、例えば、２種類の脂質のうち１つに複合化されているカルボキシスペルミンを含む、様々な部分に複合化されているものが挙げられ、これらとしては、５－カルボキシスペルミルグリシンジオクタオレオイルアミド（「ＤＯＧＳ」）（ＴＲＡＮＳＦＥＣＴＡＭ（商標）、Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．）及びジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン５－カルボキシスペルミル－アミド（「ＤＰＰＥＳ」）（例えば、米国特許第５，１７１，６７８号を参照のこと）などの化合物が挙げられる。

【０４１５】

別のカチオン性脂質複合体としては、ＤＯＰＥと組み合わせてリポソームに製剤化されているコレステロールによる脂質の誘導体化（「ＤＣ－Ｃｈｏｌ」）が挙げられる（Ｇａｏ，Ｘ．ａｎｄ Ｈｕａｎｇ，Ｌ．，（１９９１）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．１７９：２８０を参照のこと）。ポリリジンをＤＯＰＥに複合化させることによって作製されたリポポリリジンは、血清の存在下におけるトランスフェクションに効果的であると報告されている（Ｚｈｏｕ，Ｘ．ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ １０６５：８）。ある特定の細胞株では、複合化カチオン性脂質を含有するそれらのリポソームは、ＤＯＴＭＡ含有組成物よりも低い毒性を呈し、より効率的なトランスフェクションを提供すると言われている。他の市販のカチオン性脂質製品としては、ＤＭＲＩＥ及びＤＭＲＩＥ－ＨＰ（Ｖｉｃａｌ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ，Ｃａｌｉｆ．）ならびにＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（ＤＯＳＰＡ）（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，Ｍｄ．）が挙げられる。オリゴヌクレオチドの送達に好適な他のカチオン性脂質は、ＷＯ９８／３９３５９及びＷＯ９６／３７１９４に記載されている。

【０４１６】

リポソーム製剤は局所投与に特に適していて、リポソームは他の製剤に比べていくつかの利点を提示する。そのような利点としては、投与された薬物の高い全身吸収に関連する副作用の減少、所望の標的における投与された薬物の蓄積増加、及びオリゴヌクレオチドを皮膚に投与する能力が挙げられる。いくつかの実行では、リポソームは、オリゴヌクレオチドを表皮細胞に送達するために、また真皮組織、例えば、皮膚へのオリゴヌクレオチドの浸透を増強するために使用される。例えば、リポソームは局所的に適用され得る。リポソームとして製剤化された薬物の皮膚への局所送達が記録されている（例えば、Ｗｅｉｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ，ｖｏｌ．２，４０５－４１０及びｄｕ Ｐｌｅｓｓｉｓ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ａｎｔｉｖｉｒａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１８：２５９－２６５、Ｍａｎｎｉｎｏ，Ｒ．Ｊ．ａｎｄ Ｆｏｕｌｄ－Ｆｏｇｅｒｉｔｅ，Ｓ．，（１９９８）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ６：６８２－６９０、Ｉｔａｎｉ，Ｔ．ｅｔ ａｌ．，（１９８７）Ｇｅｎｅ ５６：２６７－２７６、Ｎｉｃｏｌａｕ，Ｃ．ｅｔ ａｌ．（１９８７）Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１４９：１５７－１７６、Ｓｔｒａｕｂｉｎｇｅｒ，Ｒ．Ｍ．ａｎｄ Ｐａｐａｈａｄｊｏｐｏｕｌｏｓ，Ｄ．（１９８３）Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１０１：５１２－５２７、Ｗａｎｇ，Ｃ．Ｙ．ａｎｄ Ｈｕａｎｇ，Ｌ．，（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８４：７８５１－７８５５を参照のこと）。

【０４１７】

非イオン性リポソームシステムもまた、皮膚への薬物送達におけるそれらの有用性を決定するために検査されていて、特に非イオン性界面活性剤及びコレステロールを含むシステムが検査されている。ＮＯＶＡＳＯＭＥ Ｉ（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）及びＮＯＶＡＳＯＭＥ ＩＩ（ジス

テアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が、薬物をマウス皮膚の真皮に送達するために使用された。オリゴヌクレオチドを含むそのような製剤は、皮膚障害を処置するのに有用である。

【０４１８】

リポソームの標的化はまた、例えば、器官特異性、細胞特異性、及び細胞小器官特異性に基づいて可能であり、当該技術分野において既知である。リポソーム標的送達システムの場合、リポソーム二重層との安定した会合中で標的化リガンドを維持するために、脂質基がリポソームの脂質二重層中に組み込まれ得る。様々な連結基が、脂質鎖を標的化リガンドに結合するために使用され得る。追加の方法が当該技術分野において既知であり、例えば、米国特許出願公報第２００６００５８２５５号に記載されていて、その連結基が参照によって本明細書に組み込まれる。

【０４１９】

オリゴヌクレオチドを含むリポソームは、高度に変形可能に作製され得る。そのような変形能は、リポソームがリポソームの平均半径よりも小さい細孔を貫通することを可能にし得る。例えば、トランスファーソームはさらに別の種類のリポソームであり、薬物送達ビヒクルの魅力的な候補である高度に変形可能な脂質凝集体である。トランスファーソームは、非常に変形しやすいため、それらが液滴よりも小さい細孔を容易に貫通できる脂肪滴として記載され得る。トランスファーソームは、標準的なリポソーム組成物に表面縁活性化剤、通常は界面活性剤を添加することによって作製され得る。オリゴヌクレオチドを含むトランスファーソームは、オリゴヌクレオチドを皮膚のケラチノサイトに送達するために、例えば、感染によって皮下に送達され得る。無傷の哺乳動物の皮膚を通過するために、脂質小胞は、好適な経皮勾配の影響下で、各々の直径が５０ｎｍ未満の一連の微細孔を通過しなければならない。さらに、脂質特性によって、それらのトランスファーソームは自己最適化（例えば、皮膚の細孔の形状に適応する）、自己修復でき、しばしば断片化することなくそれらの標的に到達し、多くの場合に自己充填し得る。トランスファーソームは、血清アルブミンを皮膚に送達するために使用されている。血清アルブミンのトランスファーソーム媒介送達は、血清アルブミンを含有する溶液の皮下注射と同じくらい効果的であることが示されている。

【０４２０】

本発明に適している他の製剤は、２００８年１月２日出願の米国仮特許出願第６１／０１８，６１６号、２００８年１月２日出願の同第６１／０１８，６１１号、２００８年３月２６日出願の同第６１／０３９，７４８号、２００８年４月２２日出願の同第６１／０４７，０８７号及び２００８年５月８日出願の同第６１／０５１，５２８号に記載されている。２００７年１０月３日出願のＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２００７／０８０３３１号も、本発明に適している製剤について記載している。

【０４２１】

界面活性剤は、エマルジョン（マイクロエマルジョンを含む）及びリポソームなどの製剤に幅広い用途を見出す。天然及び合成の両方である、多くの異なる種類の界面活性剤に関する特性を分類及びランク付けする最も一般的な方法は、親水性／親油性バランス（ＨＬＢ）の使用によるものである。親水基（「ヘッド」としても知られる）の性質は、製剤に使用される異なる界面活性剤を分類するための最も有用な手段を提供する（ＲｉｅｇｅｒのＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８８，ｐ．２８５）。

【０４２２】

界面活性剤分子がイオン化されていない場合、それは非イオン性界面活性剤として分類される。非イオン性界面活性剤は、医薬品及び化粧品に幅広い用途を見出し、幅広いｐＨ値に対して使用可能である。一般に、それらのＨＬＢ値は、それらの構造に応じて２～約１８の範囲である。非イオン性界面活性剤としては、非イオン性エステル、例えば、エチレングリコールエステル、プロピレングリコールエステル、グリセリルエステル、ポリグリ

セリルエステル、ソルビタンエステル、スクロースエステル、及びエトキシル化エステルなどが挙げられる。非イオン性アルカノールアミド及びエーテル、例えば、脂肪アルコールエトキシレート、プロポキシル化アルコール、及びエトキシル化／プロポキシル化ブロックポリマーなども、このクラスに含まれる。ポリオキシエチレン界面活性剤は、非イオン性界面活性剤クラスの最も一般的なメンバーである。

【０４２３】

界面活性剤分子が水中に溶解または分散している場合、それが負電荷を保有する場合に界面活性剤はアニオン性として分類される。アニオン性界面活性剤としては、石鹸などのカルボキシレート、アシルラクチレート、アミノ酸のアシルアミド、アルキルサルフェート及びエトキシル化アルキルサルフェートなどの硫酸のエステル、アルキルベンゼンスルホネートなどのスルホネート、アシルイセチオネート、アシルタウレート及びスルホスクシネート、ならびにホスフェートが挙げられる。アニオン性界面活性剤クラスの最も重要なメンバーは、アルキルサルフェート及び石鹸である。

【０４２４】

界面活性剤分子が水中に溶解または分散している場合、それが正電荷を保有する場合に界面活性剤はカチオン性として分類される。カチオン性界面活性剤としては、第四級アンモニウム塩及びエトキシル化アミンが挙げられる。第四級アンモニウム塩は、このクラスで最も使用されているメンバーである。

【０４２５】

界面活性剤分子が正または負電荷のいずれかを保有する能力を有している場合、界面活性剤は両性として分類される。両性界面活性剤としては、アクリル酸誘導体、置換アルキルアミド、Ｎ－アルキルベタイン、及びホスファチドが挙げられる。

【０４２６】

医薬品、製剤及びエマルジョンにおける界面活性剤の使用が概説されている（ＲｉｅｇｅｒのＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８８，ｐ．２８５）。

【０４２７】

本発明の方法に使用するためのオリゴヌクレオチドはまた、ミセル製剤として提供され得る。ミセルは特定の種類の分子集合体であり、その場合に親水性部分が周囲の水相と接触したままで、分子の全ての疎水性部分が内側に向くように、両親媒性分子が球状構造に配置されている。環境が疎水性である場合、逆の配置が存在する。

【０４２８】

ｉｉ．脂質ナノ粒子ベースの送達方法

本発明のオリゴヌクレオチドは、脂質製剤、例えば、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）、または他の核酸－脂質粒子中に完全に封入されてよい。ＬＮＰは、それらが静脈内（ｉ．ｖ．）注射後に循環寿命の延長を示し、遠位部位（例えば、投与部位から物理的に離れている部位）に蓄積するため、全身投与に極めて有用である。ＬＮＰは「ｐＳＰＬＰ」を含み、これはＰＣＴ公開第ＷＯ００／０３６８３号に記載されるような封入された凝集剤－核酸複合物を含む。本発明の粒子は通常、約５０ｎｍ～約１５０ｎｍ、より典型的には約６０ｎｍ～約１３０ｎｍ、より典型的には約７０ｎｍ～約１１０ｎｍ、最も典型的には約７０ｎｍ～約９０ｎｍの平均直径を有し、実質的に非毒性である。加えて、本発明の核酸－脂質粒子中に存在する場合の核酸は、水溶液中でヌクレアーゼによる分解に対して耐性がある。核酸－脂質粒子及びそれらの調製方法は、例えば、米国特許第５，９７６，５６７号、同第５，９８１，５０１号、同第６，５３４，４８４号、同第６，５８６，４１０号、同第６，８１５，４３２号、米国公報第２０１０／０３２４１２０号及びＰＣＴ公開第ＷＯ９６／４０９６４号に開示されている。

【０４２９】

一実施形態では、脂質対薬物比（質量／質量比）（例えば、脂質対オリゴヌクレオチド比）は、約１：１～約５０：１、約１：１～約２５：１、約３：１～約１５：１、約４：１～約１０：１、約５：１～約９：１、または約６：１～約９：１の範囲内となる。上に列

挙した範囲の中間の範囲もまた、本発明の一部であると企図される。

【０４３０】

カチオン性脂質の非限定的な例としては、Ｎ，Ｎ－ジオレイル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアンモニウムクロリド（ＤＯＤＡＣ）、Ｎ，Ｎ－ジステアリル－Ｎ，Ｎ－ジメチルアンモニウムブロミド（ＤＤＡＢ）、Ｎ－－（１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド（ＤＯＴＡＰ）、Ｎ－－（１－（２，３－ジオレオイルオキシ）プロピル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド（ＤＯＴＭＡ）、Ｎ，Ｎ－ジメチル－２，３－ジオレオイルオキシ）プロピルアミン（ＤＯＤＭＡ）、１，２－ジリノレイルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎＤＭＡ）、１，２－ジリノレニルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｅｎＤＭＡ）、１，２－ジリノレイルカルバモイルオキシ－３－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎ－Ｃ－ＤＡＰ）、１，２－ジリノレイオキシ－３－（ジメチルアミノ）アセトキシプロパン（ＤＬｉｎ－ＤＡＣ）、１，２－ジリノレイオキシ－３－モルホリノプロパン（ＤＬｉｎ－ＭＡ）、１，２－ジリノレオイル－３－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎＤＡＰ）、１，２－ジリノレイルチオ－３－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎ－Ｓ－ＤＭＡ）、１－リノレオイル－２－リノレイルオキシ－３－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎ－２－ＤＭＡＰ）、１，２－ジリノレイルオキシ－３－トリメチルアミノプロパンクロリド塩（ＤＬｉｎ－ＴＭＡ．Ｃｌ）、１，２－ジリノレオイル－３－トリメチルアミノプロパンクロリド塩（ＤＬｉｎ－ＴＡＰ．Ｃｌ）、１，２－ジリノレイルオキシ－３－（Ｎ－メチルピペラジノ）プロパン（ＤＬｉｎ－ＭＰＺ）、もしくは３－（Ｎ，Ｎ－ジリノレイルアミノ）－１，２－プロパンジオール（ＤＬｉｎＡＰ）、３－（Ｎ，Ｎ－ジオレイルアミノ）－１，２－プロパンジオール（ＤＯＡＰ）、１，２－ジリノレイルオキソ－３－（２－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノ）エトキシプロパン（ＤＬｉｎ－ＥＧ－ＤＭＡ）、１，２－ジリノレニルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎＤＭＡ）、２，２－ジリノレイル－４－ジメチルアミノメチル－［１，３］－ジオキソラン（ＤＬｉｎ－Ｋ－ＤＭＡ）もしくはそれらの類似体、（３ａＲ，５ｓ，６ａＳ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－２，２－ジ（（９Ｚ，１２Ｚ）－オクタデカ－９，１２－ジエニエテトラヒドロ－－３ａＨ－シクロペンタ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－アミン（ＡＬＮ１００）、（６Ｚ，９Ｚ，２８Ｚ，３１Ｚ）－ヘプタトリアコンタ－６，９，２８，３１－テトラエン－１９－イル４－（ジメチルアミノ）ブタノエート（ＭＣ３）、１，１’－（２－（４－（２－（（２－（ビス（２－ヒドロキシドデシル）アミノ）エチル）（２－ヒドロキシドデシル）アミノ）エチル）ピペラジン－１－イエエチルアザンジイエジドデカン－２－オール（Ｔｅｃｈ　Ｇ１）、またはそれらの混合物が挙げられる。カチオン性脂質は、例えば、粒子中に存在する総脂質の約２０ｍｏｌ％～約５０ｍｏｌ％または約４０ｍｏｌ％を含み得る。

【０４３１】

イオン性／非カチオン性脂質は、アニオン性脂質または中性脂質であり得、これらとしては、ジステアロイルホスファチジルコリン（ＤＳＰＣ）、ジオレオイルホスファチジルコリン（ＤＯＰＣ）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（ＤＯＰＧ）、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（ＤＰＰＧ）、ジオレオイル－ホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（ＰＯＰＣ）、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＰＯＰＥ）、ジオレオイル－ホスファチジルエタノールアミン４－（Ｎ－マレイミドメチル）－シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＤＯＰＥ－ｍａｌ）、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＰＰＥ）、ジミリストイルホスホエタノールアミン（ＤＭＰＥ）、ジステアロイル－ホスファチジル－エタノールアミン（ＤＳＰＥ）、１６－Ｏ－モノメチルＰＥ、１６－Ｏ－ジメチルＰＥ、１８－１－トランスＰＥ、１－ステアロイル－２－オレオイル－ホスファチジルエタノールアミン（ＳＯＰＥ）、コレステロール、またはそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。非カチオン性脂質は、コレステロールが含まれる場合、例えば、粒子中に存在する総脂質の約５ｍｏｌ％～約９０ｍｏｌ％、約１０ｍｏｌ％、または約５８ｍｏｌ％であり得る。

【０４３２】
粒子の凝集を阻害する複合化脂質は、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）－脂質であり得、例えば、ＰＥＧ－ジアシルグリセロール（ＤＡＧ）、ＰＥＧ－ジアルキルオキシプロピル（ＤＡＡ）、ＰＥＧ－リン脂質、ＰＥＧ－セラミド（Ｃｅｒ）、またはそれらの混合物を含むが、これらに限定されない。ＰＥＧ－ＤＡＡ複合体は、例えば、ＰＥＧ－ジラウリルオキシプロピル（Ｃｉ$_2$）、ＰＥＧ－ジミリスチルオキシプロピル（Ｃｉ$_4$）、ＰＥＧ－ジパルミチルオキシプロピル（Ｃｉ$_6$）、またはＰＥＧ－ジステアリルオキシプロピル（Ｃ］$_8$）であり得る。粒子の凝集を防止する複合化脂質は、例えば、粒子中に存在する総脂質の０ｍｏｌ％～約２０ｍｏｌ％または約２ｍｏｌ％であり得る。
【０４３３】
いくつかの実施形態では、核酸－脂質粒子は、例えば、粒子中に存在する総脂質の約１０ｍｏｌ％～約６０ｍｏｌ％または約５０ｍｏｌ％でコレステロールをさらに含む。
【０４３４】
Ｂ．併用療法
本発明の方法は単独で、または追加の治療剤、例えば、同じ障害もしくはそれと関連する症状を処置する他の薬剤と組み合わせて、または障害に対する他の種類の療法と組み合わせて使用され得る。併用処置では、治療化合物のうち１つ以上の投与量が、単独で投与される場合に標準的な投与量から減少してよい。例えば、用量は、薬物の組合せ及び順列から経験的に決定されてよいか、またはアイソボログラム分析によって推定されてよい（例えば、Ｂｌａｃｋ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｌｏｇｙ ６５：Ｓ３－Ｓ６（２００５））。この場合に、組み合わせた場合の化合物の投与量は治療効果を提供するはずである。
【０４３５】
いくつかの実施形態では、第２治療剤は、化学療法剤（例えば、障害の処置に有用な細胞傷害剤または他の化学化合物）である。
【０４３６】
第２薬剤は、非薬物治療である治療剤であってよい。例えば、第２治療剤は理学療法である。
【０４３７】
本明細書に記載される混合実施形態のいずれにおいても、第１及び第２治療剤は、同時にまたは連続していずれかの順序で投与される。第１治療剤は、第２治療剤の前後で即時に、最大１時間、最大２時間、最大３時間、最大４時間、最大５時間、最大６時間、最大７時間、最大８時間、最大９時間、最大１０時間、最大１１時間、最大１２時間、最大１３時間、１４時間、最大１６時間、最大１７時間、最大１８時間、最大１９時間、最大２０時間、最大２１時間、最大２２時間、最大２３時間、最大２４時間または最大１～７日、１～１４日、１～２１日もしくは１～３０日で投与されてよい。
【０４３８】
ＩＶ．医薬組成物
本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、好ましくは、インビボでの投与に好適な生体適合性形態でヒト対象に投与するための医薬組成物に製剤化される。
【０４３９】
本明細書に記載される化合物は、遊離塩基の形態で、塩、溶媒和物の形態で、及びプロドラッグとして使用されてよい。全ての形式が、本明細書に記載される方法の範囲内である。本発明の方法においては、記載される化合物またはその塩、溶媒和物、もしくはプロドラッグは、当業者によって理解されることになるように、選択される投与経路に応じて様々な形式で患者に投与されてよい。本明細書に記載される化合物は、例えば、経口、非経口、髄腔内、脳室内、実質内、頬側、舌下、経鼻、直腸、パッチ、ポンプ、腫瘍内、または経皮投与によって投与され、医薬組成物はそれに応じて製剤化されてよい。非経口投与としては、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、経上皮、経鼻、肺内、髄腔内、脳室内、実質内、直腸、及び局所投与方法が挙げられる。非経口投与は、選択される期間にわたって持続注入によって行われてよい。

【０４４０】
本明細書に記載される化合物は、例えば、不活性希釈剤と共に、もしくは吸収可能な食用担体と共に経口投与されてよいか、または化合物はハードもしくはソフトシェルゼラチンカプセル中に密封されてよいか、または化合物は錠剤へと圧縮されてよいか、または化合物は食事の食べ物に直接組み込まれてよい。経口治療投与の場合、本明細書に記載される化合物は賦形剤と共に組み込まれ、摂取可能な錠剤、バッカル錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、及びウエハ剤の形態で使用されてよい。本明細書に記載される化合物はまた、非経口投与されてもよい。本明細書に記載される化合物の溶液は、ヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性剤と適切に混合された水中で調製され得る。分散液はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、ＤＭＳＯ、及びそれらの混合物中においてアルコールと共に、またはそれ無しで、ならびに油中で調製され得る。それらの調製物は、通常の保存及び使用条件下で、微生物の成長を阻止するために防腐剤を含有してよい。好適な製剤の選択及び調製を目的とした従来の手順及び成分は、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（２０１２，２２ｎｄ ｅｄ．）中に、及び２０１８年に公開されたＴｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａ：Ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｆｏｒｍｕｌａｒｙ（ＵＳＰ ４１ ＮＦ ３６）中に記載されている。注射用途に好適な医薬形態としては、滅菌注射用溶液または分散液を即時調製するための、滅菌水溶液または分散液及び滅菌粉末が挙げられる。全ての場合で、本形式は無菌でなければならず、シリンジによって容易に投与される可能性がある程度まで流体でなければならない。経鼻投与用の組成物は、エアロゾル、点滴、ゲル、及び粉末として簡便に製剤化されてよい。エアロゾル製剤は通常、生理学的に許容される水性または非水性溶媒中における活性物質の溶液または微細懸濁液を含み、通常、噴霧デバイスで使用するためのカートリッジまたは詰め替えの形態を取り得る、密閉容器内に無菌形態で、単回または複数回用量で提示される。あるいは、密閉容器は、一体型の分注デバイス、例えば、単回用量の鼻吸入器または使用後の廃棄を目的とした絞り弁を備えたエアロゾルディスペンサーなどであってよい。剤形がエアロゾルディスペンサーを含む場合、それは噴射剤を含有することになり、これは圧縮ガス、例えば、圧縮空気または有機噴射剤など、例えば、フルオロクロロ炭化水素などであり得る。エアロゾル剤形はまた、ポンプ噴霧器の形態を取り得る。頬側または舌下投与に好適な組成物としては、錠剤、ロゼンジ剤、及びトローチ剤が挙げられ、活性成分が担体、例えば、糖、アカシア、トラガカント、ゼラチン、及びグリセリンなどと共に製剤化される。直腸投与用の組成物は、カカオバターなどの従来の坐剤基剤を含有する坐剤の簡便な形態である。本明細書に記載される化合物は、例えば、腫瘍内注射として腫瘍内に投与されてよい。腫瘍内注射は、腫瘍血管系への直接注射であり、個々の固形の到達可能な腫瘍に対して特に企図されている。局所、局部、または全身投与も適切な場合がある。本明細書に記載される化合物は、例えば、およそ１ｃｍの間隔を空けて、腫瘍に注射または複数回注射を投与することによって有利に接触してよい。外科的介入の場合、本発明は、手術不能な腫瘍を切除の対象にするなどのために、術前に使用されてよい。連続投与はまた、該当する場合、例えば、腫瘍に、または腫瘍血管系にカテーテルを移植することによって適用されてよい。

【０４４１】
本明細書に記載される化合物は、本明細書で述べられるように、動物、例えば、ヒトに単独で、または薬学的に許容される担体と組み合わせて投与されてよく、その割合は、化合物の溶解度及び化学的性質、選択された投与経路、ならびに標準的な薬務によって決定される。

【０４４２】
Ｖ．投与量
本明細書に記載される組成物（例えば、オリゴヌクレオチドを含む組成物）の投与量は、多くの要因、例えば、化合物の薬力学的特性、投与方法、レシピエントの年齢、健康状態、及び体重、症状の性質及び程度、処置の頻度、及びもしあれば、併用処置の種類、なら

びに処置される動物における化合物のクリアランス速度などに応じて変動し得る。当業者は、上記の要因に基づいて適切な投与量を決定できる。本明細書に記載される組成物は、臨床応答に応じて、適宜調整されてよい好適な投与量で最初に投与されてよい。いくつかの実施形態では、組成物（例えば、オリゴヌクレオチドを含む組成物）の投与量は、予防または治療有効量である。

【０４４３】

ＶＩ．キット

本発明はまた、（ａ）本明細書に記載される細胞または対象中においてｍＲＮＡ中のアデノシンの脱アミノ化をもたらすオリゴヌクレオチド剤を含む医薬組成物、及び（ｂ）本明細書に記載される方法のいずれかを実施するための説明書を含む添付文書を含むキットを特徴とする。いくつかの実施形態では、キットは、（ａ）本明細書に記載される細胞または対象中においてｍＲＮＡ中のアデノシンの脱アミノ化をもたらすオリゴヌクレオチド剤を含む医薬組成物、（ｂ）追加の治療剤、及び（ｃ）本明細書に記載される方法のいずれかを実施するための説明書を含む添付文書を含む。

【実施例】

【０４４４】

一般的な方法

全てのガイドオリゴヌクレオチドを、標準的なβ－シアノエチルホスホロアミダイト化学及び汎用固体支持体、例えば、多孔性ガラス粉体（ＣＰＧ）などを使用して、自動ＲＮＡ／ＤＮＡ合成装置上で化学的に合成した。Ｎ－保護ＧＮＡ、ＦＮＡ、及びＳＮＡのホスホロアミダイトを、報告された手順を利用して合成した。Ｓｃｈｌｅｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，（２０１７）Ｊ．Ａｍ．ＣｈｅｍＳｏｃ．，１３９：８５３７－８５４６、Ｈｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，（２００８）Ｊ．Ａｍ．ＣｈｅｍＳｏｃ．，１３０：４１２－４１３、Ｏｇｉｌｖｉｅ ｅｔ ａｌ．，（１９８３）Ｃａｎ．Ｊ．Ｃｈｅｍ．，６２：２４１－２５２、Ｂｅｎｈｉｄａ ｅｔ ａｌ．，（１９９８）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，３９：６１６７－６１７０、Ｒａｍａｓａｍｙ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，６：１７９９－１８０４、及びＫａｓｈｉｄａ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．，５０：１２８５－１２８８を参照のこと。ＲＮＡの他の５’－Ｏ－ＤＭＴ－３’－ホスホロアミダイト、２’－Ｏ－メチル－ＲＮＡ及びＤＮＡモノマー、すなわち、Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｕ、及びＴを、商業的供給元から購入した。全てのオリゴヌクレオチドを、ＢｉｏＳｐｒｉｎｇ ＧｍｂＨ（Ｆｒａｎｋｆｕｒｔ，Ｇｅｒｍａｎｙ）によって２００ｎｍｏｌスケールで合成した。合成後、オリゴヌクレオチドを固体支持体から切断して脱保護し、標準的なプロトコールを使用するＨＰＬＣシステムによって精製した。オリゴヌクレオチドを脱塩し、透析して凍結乾燥した。分析用の逆相ＨＰＬＣによって決定した通り、各凍結乾燥オリゴの純度は９５％以上であった。オリゴヌクレオチドの配列完全性を、ＥＳＩ－ＭＳによって決定した。

【０４４５】

ヒトＡＤＡＲ２配列（ＮＭ＿００１１１２．４）を、ＢａｍＨＩ及びＸｂａＩ制限部位（Ｑｕｉｎｔａｒａ Ｂｉｏ，Ｂｅｒｋｅｌｅｙ，ＣＡ）を使用してＣＭＶプロモーターの制御下でｐｃＤＮＡ３．１プラスミドにクローニングし、正確なインサートの配列を検証した。これ以降、このプラスミドをＡＤＡＲ２／ｐｃＤＮＡ３．１と表すことになる。編集実験のために、２μｇのＡＤＡＲ２／ｐｃＤＮＡ３．１プラスミドを、１０ｃｍディッシュあたり、２５μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ３０００及び２４μＬのＰ３０００（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して、５×１０^{6}ＨＥＫ２９３Ｔ細胞（ＡＴＣＣ）にトランスフェクトした。４時間後、培養培地に加温した新しい培地（ＤＭＥＭ Ｈｉｇｈ Ｇｌｕｃｏｓｅ、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を補充した。トランスフェクションの１２～１６時間後、トランスフェクトＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、各ウェルの最終濃度が１００ｎＭになるようにガイドオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。全てのトランスフェクションを、製造業者の指示に従って、９６ウェルフォーマ

ットにおいてＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　３０００（０．４μＬ／１ウェルあたり）を用いて実施した。２回目のトランスフェクションの１２～１６時間後、細胞を氷冷ＰＢＳで１回洗浄し、製造業者の指示に従って、ＫｉｎｇＦｉｓｈｅｒ　Ｆｌｅｘ　Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）に適合したＤｙｎａ　Ｂｅａｄｓ　ｍＲＮＡ　Ｄｉｒｅｃｔ　Ｋｉｔ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して、全ｍＲＮＡの単離を実施した。試料を、溶出前にＴＵＲＢＯ　ＤＮａｓｅ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で処理した。得られた単離ｍＲＮＡを、製造業者（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）の指示に従って、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＶ　Ｖｉｌｏを使用するｃＤＮＡ合成に使用した。１μｌのｃＤＮＡを、遺伝子特異的プライマーを使用するＰＣＲ（Ｐｌａｔｉｎｕｍ　ＩＩ　Ｈｏｔ－Ｓｔａｒｔ　ＰＣＲ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）用の鋳型として使用し、サンガーシーケンシング用のアンプリコンを生成した（表５）。サンガーシーケンシングを、Ｑｕｉｎｔａｒａ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｂｅｒｋｅｌｅｙ，ＣＡ）によって実施した。アデノシンからグアノシンへの編集収率を、アデノシン及びグアノシンのピーク高さを測定し、グアノシンのピーク高さを、アデノシン及びグアノシンを組み合わせた合計のピーク高さの測定値で割ることによって定量した。

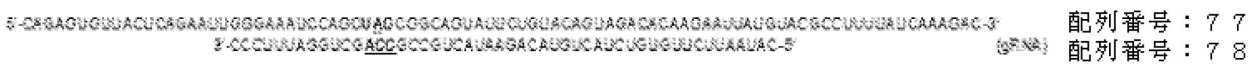
表５．ＲＴ－ＰＣＲに使用したプライマー

名称	配列（５’から３’）	配列番号
ＲＡＢ７Ａ部位１フォワード	ＡＣＡＧＴＡＴＣＣＡＴＴＴＡＴＴＡＴＧＴＡＡＴＧＣＴＴＣＴＴＡＧ	７５
ＲＡＢ７Ａ部位１リバース	ＴＧＡＡＡＧＧＡＧＣＧＣＣＴＴＣＴＡＧＡＡＣ	７６

【０４４６】

実施例１：ヒトＲＡＢ７Ａ　３’－ＵＴＲ標的（ＵＡＧ）を標的とする新規ヌクレオチド修飾を有するガイドオリゴヌクレオチドの設計

ヒトＲＡＢ７Ａ（３’－ＵＴＲ）を標的とするガイドオリゴヌクレオチド：



配列番号：７７

配列番号：７８

以下の表６に示すのは、ＵＡＧトリプレットを有するヒトＲＡＢ７Ａを標的とする例示的な修飾ガイドオリゴヌクレオチドである。表６では、Ａ、Ｃ、Ｇ及びＵはリボヌクレオシドであり、下線付きの太字は中央トリプレットであり、ｍＡ、ｍＣ、ｍＧ及びｍＵは２’－Ｏ－メチルリボヌクレオシドであり、ｓｇＣは（Ｓ）－（－）－ＧＮＡ－Ｃ（式Ｉ、Ｎ１＝シトシン）を表し、ｒｇＣは（Ｒ）－（＋）－ＧＮＡ－Ｃ（式ＩＩ、Ｎ１＝シトシン）を表し、ｓＣはＳＮＡ－シチジン（ＳＮＡ－Ｃ、式ＩＶ、Ｒ１２＝水素、Ｎ１＝シトシン）を表し、ｆｘＣはＦＮＡ－シチジン（ＦＮＡ－Ｃ、式ＩＩＩ、Ｎ１＝シトシン）を表し、アスタリスクは、ホスホロチオエート結合を示す（残りの結合はホスホジエステル結合である）。

表６．ヒトＲＡＢ７Ａ　３’－ＵＴＲ標的（ＵＡＧ）を標的とするガイドオリゴヌクレオチド

配列番号	２０％の２’－Ｏ－メチル修飾（５’から３’）を含む配列	編集（％）	ＳＤ
51	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**CCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	22.35	7.42
52	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**sgCCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	20.41	3.01
53	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**CsgCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	6.79	2.12
54	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**sgCsgCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	8.01	1.53
55	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**rgCCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	15.99	4.27
56	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**CrgCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	11.55	10.90

配列番号	２０％の２’－Ｏ－メチル修飾（５’から３’）を含む配列	編集（％）	ＳＤ
57	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**sCCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	23.34	3.77
58	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**CsCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	4.80	0.43
59	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**fxCCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3	20.52	3.92
60	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCUUGUGUCUACUGUACAGAAUACUGCCG**CfxCA**GCUGGAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	10.52	1.67

配列番号	５０％の２’－Ｏ－メチル修飾（５’から３’）を含む配列	編集（％）	ＳＤ
61	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**CCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	17.17	5.26

配列番号	５０％の２’－Ｏ－メチル修飾（５’から３’）を含む配列	編集（％）	SD
62	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**sgCCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	25.76	6.50
63	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**CsgCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	3.81	1.08
64	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**sgCsgCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	9.87	4.58
65	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**rgCCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	18.31	5.37
66	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**CrgCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	5.13	3.11
67	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**sCCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	25.10	6.14
68	5'-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**CsCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3'	5.05	2.51

配列番号	５０％の２’－Ｏ－メチル修飾（５’から３’）を含む配列	編集（％）	SD
69	5′-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**fxCCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3′	22.89	5.83
70	5′-mC*mA*mU*mA*mAUUCmUmUGUGmUmCUACmUmGUACmAmGA AUmAmCUGCmCmG**CfxCA**mGmCUGmGmAUmU*mU*mC*mC*mC-3′	4.90	2.63

【０４４７】
他の実施形態
本明細書で言及される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、個々の刊行物、特許、または特許出願が、参照によって全体が組み込まれていると具体的かつ個別に示された場合と同程度に、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。本出願の用語が、参照によって本明細書に組み込まれる文書中で異なって定義されていることが見出される場合、本明細書で提供される定義が、その用語の定義として機能することになる。
【０４４８】
本発明は、その特定の実施形態に関連して記載されてきたが、本発明はさらなる修正が可能であり、本出願が、一般に本発明の原理に従い、本発明が属する当該技術分野内において既知の、または慣行に含まれ、前述される本質的特徴に適合する可能性があり、特許請求の範囲に従うような本開示からの逸脱を含む、本発明の任意の変更、使用、または適合を網羅することを意図すると理解されることになる。
【配列表】
202251873100000 1.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/014512

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 31/7125; A61K 31/7088; C07H 21/00 (2020.01)
CPC - A61K 31/7125; A61K 31/7088; C07H 21/00; C12N 15/111 (2020.02)

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

B. - FIELDS SEARCHED

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

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC - 514/44R (keyword delimited)

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2005/0272075 A1 (JACOBSEN et al) 08 December 2005 (08.12.2005) entire document	1, 2
A	US 5,399,676 A (FROEHLER) 21 March 1995 (21.03.1995) entire document	1, 2
A	US 2017/0233731 A1 (SIRNA THERAPEUTICS INC) 17 August 2017 (17.08.2017) entire document	1, 2
A	ZHOU et al., Fine Tuning of Electrostatics around the Internucleotidic Phosphate through Incorporation of Modified 2' ,4' -Carbocyclic-LNAs and -ENAs Leads to Significant Modulation of Antisense Properties, Journal of Organic Chemistry, Vol. 74, No. 1, 04 December 2008, Pgs. 118-134	1, 2
P, A	WO 2019/152416 A1 (METRO INTERNATIONAL BIOTECH LLC et al) 08 August 2019 (08.08.2019) entire document	1, 2

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 April 2020	07 MAY 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/014512

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 4-59, 61-76
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

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

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

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

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 2

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/014512

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Claims 1 and 2 have been analyzed subject to the restriction that the claims read on an oligonucleotide comprising the structure shown in instant claim 1: wherein each of A and B is a nucleotide; m and n are each, independently 1; X1 is Formula I, and X2 and X3 are each, independently a nucleotide, wherein N1 is hydrogen.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-3 and 60 are drawn to oligonucleotides.

The first invention of Group I+ is restricted based on the proviso wherein at least one of X1, X2, or X3 has the structure of any one of Formula I-IV; and is restricted to an oligonucleotide comprising the structure shown in instant claim 1: wherein each of A and B is a nucleotide; m and n are each, independently 1; X1 is Formula I, and X2 and X3 are each, independently a nucleotide, wherein N1 is hydrogen. It is believed that claims 1 and 2 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on the above embodiment.

Applicant is invited to elect additional formula(e) for each additional compound to be searched in a specific combination by paying an additional fee for each set of election. Each additional elected formula(e) requires the selection of a single definition for each compound variable. An exemplary election would be an oligonucleotide comprising the structure shown in instant claim 1: wherein each of A and B is a nucleotide; m and n are each, independently 1; X1 and X2 are independently Formula I, and X3 is a nucleotide, wherein N1 is hydrogen. Additional formula(e) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulae do not share a significant structural element requiring the selection of alternatives for the compound variables A, B, m, n, X1, X2, X3 and accordingly these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of an oligonucleotide comprising the core structure shown in instant claim 1, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art as disclosed by US 2005/0272075 A1 to Jacobsen et al.

US 2005/0272075 A1 to Jacobsen et al. teach an oligonucleotide comprising the core structure shown in instant claim 1 (Para. [0074], The oligonucleotide may be immobilized to the solid support via its 5′ - or 3′ -end (or via the terminus of a linker attached to the 5′ - or 3′ -end; Para. [0073], the term "linker" means a thermochemically and photochemically non-active distance making group that is used to join two or more different nucleotide moieties of the types defined above. Linkers...polyoxyethylene Such as polyethylene glycol).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28		
Ａ６１Ｐ	*21/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00		
Ａ６１Ｐ	*11/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/06		
Ａ６１Ｐ	*11/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00		
Ａ６１Ｐ	*21/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/04		
Ａ６１Ｐ	*1/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/00		
Ａ６１Ｐ	*7/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/00		
Ａ６１Ｐ	*7/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/04		
Ａ６１Ｐ	*25/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/14		
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ	*25/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/16		
Ａ６１Ｐ	*3/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/00		
Ａ６１Ｐ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12		
Ａ６１Ｐ	*27/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/02		
Ａ６１Ｐ	*37/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/02		
Ａ６１Ｐ	*7/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/06		
Ｃ１２Ｎ	*15/10*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/10	２００Ｚ	
			Ｃ１２Ｎ	15/10		ＺＮＡ

(32)優先日 平成31年3月22日(2019.3.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３９， ケンブリッジ， ワン ケンドール スクエア，ビルディング ６００， スイート ６－４０１， シー／オー コロ バイオ， インコーポレイテッド バーミンガム， ネッサン
(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３９， ケンブリッジ， ワン ケンドール スクエア，ビルディング ６００， スイート ６－４０１， シー／オー コロ バイオ， インコーポレイテッド プッタ， マリカルジュナ レディ
(72)発明者 アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３９， ケンブリッジ， ワン ケンドール スクエア，ビルディング ６００， スイート ６－４０１， シー／オー コロ バイオ， インコーポレイテッド

Ｆターム（参考） 4C057 BB04 DD03 MM01
4C076 AA95 CC01 CC07 CC10 CC14 CC16 CC18 CC21 CC27 CC41 EE30 EE59
4C084 AA13 NA13 NA14 ZA02 ZA16 ZA22 ZA33 ZA42 ZA51 ZA55 ZA59 ZA66 ZA89 ZA94 ZB07 ZB26 ZC21
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 NA13 NA14 ZA02 ZA16 ZA22 ZA33 ZA42 ZA51 ZA53 ZA55 ZA59 ZA66 ZA89 ZA94 ZB07 ZB26 ZC21