

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7707065号
(P7707065)

(45)発行日 令和7年7月14日(2025.7.14)

(24)登録日 令和7年7月4日(2025.7.4)

(51)国際特許分類		F I		
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A
A 6 1 K	31/713 (2006.01)	A 6 1 K	31/713	
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 K	14/46 (2006.01)	C 0 7 K	14/46	
請求項の数 51 (全107頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2021-528936(P2021-528936)	(73)特許権者	504456798	
(86)(22)出願日	令和1年11月22日(2019.11.22)		サノファイ	
(65)公表番号	特表2022-513111(P2022-513111 A)		S A N O F I	
(43)公表日	令和4年2月7日(2022.2.7)		フランス国7 5 0 1 7パリ、アヴェニ	
(86)国際出願番号	PCT/EP2019/082216	(74)代理人	100127926	
(87)国際公開番号	WO2020/104649		弁理士 結田 純次	
(87)国際公開日	令和2年5月28日(2020.5.28)	(74)代理人	100140132	
審査請求日	令和4年11月18日(2022.11.18)		弁理士 竹林 則幸	
(31)優先権主張番号	18306562.2	(72)発明者	ボードー・ブルナー	
(32)優先日	平成30年11月23日(2018.11.23)		ドイツ連邦共和国6 5 9 2 6フランクフ	
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		ルト・アム・マイン、ビルディング・カ	
			ー7 0 3、インダストリーパルク・ヘキ	
			スト、パテント・デパートメント、サノ	
			フィーアベンティス・ドイチュラント・	
			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 A N G P T L 8を阻害するための新規のRNA組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

アンジオポエチン様タンパク質8（A N G P T L 8）遺伝子のRNA転写物上の標的配列を標的とすることによってヒトA N G P T L 8遺伝子の発現を阻害する二本鎖リボ核酸（d s R N A）であって、該d s R N Aは、センス配列を含むセンス鎖、およびアンチセンス配列を含むアンチセンス鎖を含み、センス配列は、標的配列と少なくとも9 5 %同一であり、標的配列は、配列番号5 2 9のヌクレオチド3 1 5～3 3 3である、前記d s R N A。

【請求項2】

センス鎖およびアンチセンス鎖は、1 5～2 5の連続するヌクレオチドの領域にわたり互いに相補的である、請求項1に記載のd s R N A。

【請求項3】

センス鎖およびアンチセンス鎖は、3 0ヌクレオチド長を超えない、請求項1または2に記載のd s R N A。

【請求項4】

d s R N Aは、配列番号1 5 5のヌクレオチド配列と少なくとも9 5 %同一であるアンチセンス配列を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載のd s R N A。

【請求項5】

センス配列およびアンチセンス配列は、相補的であり、
a) センス配列は、配列番号2 3のヌクレオチド配列を含むか；または

b) アンチセンス配列は、配列番号 1 5 5 のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の dsRNA。

【請求項 6】

dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖はそれぞれ、配列番号 2 3 および 1 5 5 のヌクレオチド配列を含む、請求項 5 に記載の dsRNA。

【請求項 7】

dsRNA は、1 つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドを含み、該 1 つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つは、2'-デオキシ-2'-フルオロリボヌクレオチド、2'-デオキシリボヌクレオチド、または 2'-O-メチルリボヌクレオチドである、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

10

【請求項 8】

dsRNA は、そのセンスまたはアンチセンス鎖の 3' 末端に反転 2'-デオキシリボヌクレオチドを含む、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 9】

センス鎖およびアンチセンス鎖の一方または両方は、

a) 1 つもしくはそれ以上のヌクレオチドを含む 5' オーバーハング；および／または
b) 1 つもしくはそれ以上のヌクレオチドを含む 3' オーバーハング
をさらに含む、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 10】

dsRNA 中のオーバーハングは、2 または 3 ヌクレオチドを含む、請求項 9 に記載の dsRNA。

20

【請求項 11】

dsRNA 中のオーバーハングは、1 つまたはそれ以上のチミンを含む、請求項 9 または 10 に記載の dsRNA。

【請求項 12】

センス配列およびアンチセンス配列は、交互の 2'-O-メチルリボヌクレオチドおよび 2'-デオキシ-2'-フルオロリボヌクレオチドを含む、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 13】

a) センス鎖は、配列番号 2 8 7 のヌクレオチド配列を含み；ならびに／または
b) アンチセンス鎖は、配列番号 4 1 9 のヌクレオチド配列を含む、
請求項 1 に記載の dsRNA。

30

【請求項 14】

dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖はそれぞれ、配列番号 2 8 7 および 4 1 9 のヌクレオチド配列を含む、請求項 13 に記載の dsRNA。

【請求項 15】

dsRNA は、リンカーを用いて、または用いずに 1 つまたはそれ以上のリガンドとコンジュゲートされている、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 16】

リガンドは、コレステロール誘導体または親油性部分である、請求項 15 に記載の dsRNA。

40

【請求項 17】

リガンドは、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) であり、dsRNA は、1 つまたはそれ以上の GalNAc とコンジュゲートされている、請求項 15 に記載の dsRNA。

【請求項 18】

dsRNA は、小分子干渉 RNA (siRNA) である、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 19】

dsRNA は、短ヘアピン RNA (shRNA) である、請求項 1～17 のいずれか 1

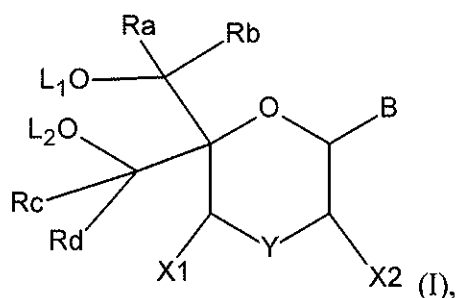
50

項に記載の dsRNA。

【請求項 20】

dsRNA の一方または両方の鎖は、1 つまたはそれ以上の、

【化 1】



10

の構造を有する化合物または薬学的に許容されるその塩を含み、式中：

- － B は、複素環式核酸塩基であり、
- － L1 および L2 の一方は、式 (I) の化合物を前記鎖と連結するヌクレオシド間連結基であり、L1 および L2 の他方は、H、保護基、リン部分もしくは式 (I) の化合物を前記鎖と連結するヌクレオシド間連結基であり、
- － Y は、O、NH、NR1 もしくは N-C(=O)-R1 であり、式中、R1 は、以下であり：

20

- ・ (C1～C20) アルキル基、
- ・ (C3～C8) シクロアルキル基、
- ・ 基-[C(=O)]m-R2-(O-CH2-CH2)p-R3 (式中

m は、0 もしくは 1 を意味する整数であり、

p は、0 から 10 の範囲の整数であり、

R2 は、(C1～C20) アルキレン基であり、

R3 は、水素原子、(C1～C6) アルキル基、(C1～C6) アルコキシ基、(C3～C8) シクロアルキル基、(C3～C14) ヘテロ環、(C6～C14) アリール基もしくは (C5～C14) ヘテロアリール基からなる群から選択されるか、もしくは

30

R3 は、細胞標的化部分である)、

- － X1 および X2 はそれぞれ、独立して水素原子、(C1～C6) アルキル基であり、
- － Ra、Rb、Rc および Rd のそれぞれは、独立して、H もしくは (C1～C6) アルキル基である、

請求項 1～19 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 21】

前記 (C1～C20) アルキル基は、ハロゲン原子、(C1～C6) アルキル基、(C3～C8) シクロアルキル基、(C3～C14) ヘテロ環、(C6～C14) アリール基、(C5～C14) ヘテロアリール基、-O-Z1、-N(Z1)(Z2)、-S-Z1、-CN、-C(=J)-O-Z1、-O-C(=J)-Z1、-C(=J)-N(Z1)(Z2)、および -N(Z1)-C(=J)-Z2 から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換され、式中、J は、O もしくは S であり、Z1 および Z2 のそれぞれは、独立して、H、(C1～C6) アルキル基である、請求項 20 に記載の dsRNA。

40

【請求項 22】

前記 Z1 および Z2 のそれぞれは、独立して、H、ハロゲン原子および (C1～C6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C1～C6) アルキル基である、請求項 21 に記載の dsRNA。

【請求項 23】

前記 (C3～C8) シクロアルキル基は、ハロゲン原子および (C1～C6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換されている、請求項 20 に記載

50

の dsRNA。

【請求項 24】

前記 (C1～C20) アルキレン基は、(C1～C6) アルキル基、 $-O-Z3$ 、 $-N(Z3)(Z4)$ 、 $-S-Z3$ 、 $-CN$ 、 $-C(=K)-O-Z3$ 、 $-O-C(=K)-Z3$ 、 $-C(=K)-N(Z3)(Z4)$ 、もしくは $-N(Z3)-C(=K)-Z4$ によって置換されており、式中、Kは、OもしくはSであり、Z3およびZ4のそれぞれは、独立して、H、(C1～C6) アルキル基である、請求項 20 に記載の dsRNA。

【請求項 25】

前記 Z3 および Z4 のそれぞれは、独立して、H、ハロゲン原子および (C1～C6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C1～C6) アルキル基である、請求項 24 に記載の dsRNA。

【請求項 26】

1 つまたはそれ以上の式 (I) の化合物を含み、式中、Y は、
 a) R1 が、非置換 (C1～C20) アルキル基である、NR1；
 b) R1 が、メチル、イソプロピル、ブチル、オクチル、およびヘキサデシルを含む群から選択されるアルキル基を含む非置換 (C1～C16) アルキル基である、NR1；
 c) R1 が、(C3～C8) シクロアルキル基である、NR1；
 d) R1 が、シクロヘキシル基である、NR1；
 e) R1 が、(C6～C14) アリール基によって置換された (C1～C20) アルキル基である、NR1；
 f) R1 が、フェニル基によって置換されたメチル基である、NR1；
 g) $N-C(=O)-R1$ ；または
 h) R1 が、メチルまたはペンタデシルである、 $N-C(=O)-R1$
 である、請求項 20～25 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 27】

前記 (C3～C8) シクロアルキル基は、ハロゲン原子および (C1～C6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換されている、請求項 26 に記載の dsRNA。

【請求項 28】

Y が $N-C(=O)-R1$ であり、R1 が置換された (C1～C20) アルキル基である、請求項 26 に記載の dsRNA。

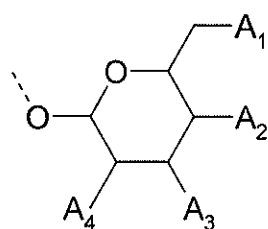
【請求項 29】

1 つまたはそれ以上の式 (I) の化合物または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、B は、ピリミジンおよびプリンからなる群から選択される、請求項 20～28 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 30】

R3 は、式 (II)：

【化 2】



(II)

または薬学的に許容されるその塩であり、式中、A1、A2 および A3 は、OH であり、A4 は、OH もしくは $NHC(=O)-R5$ であり、式中、R5 は、(C1～C6) アル

キル基である、請求項 20～29 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 31】

前記 R5 はハロゲン原子によって置換された (C1～C6) アルキル基である、請求項 30 に記載の dsRNA。

【請求項 32】

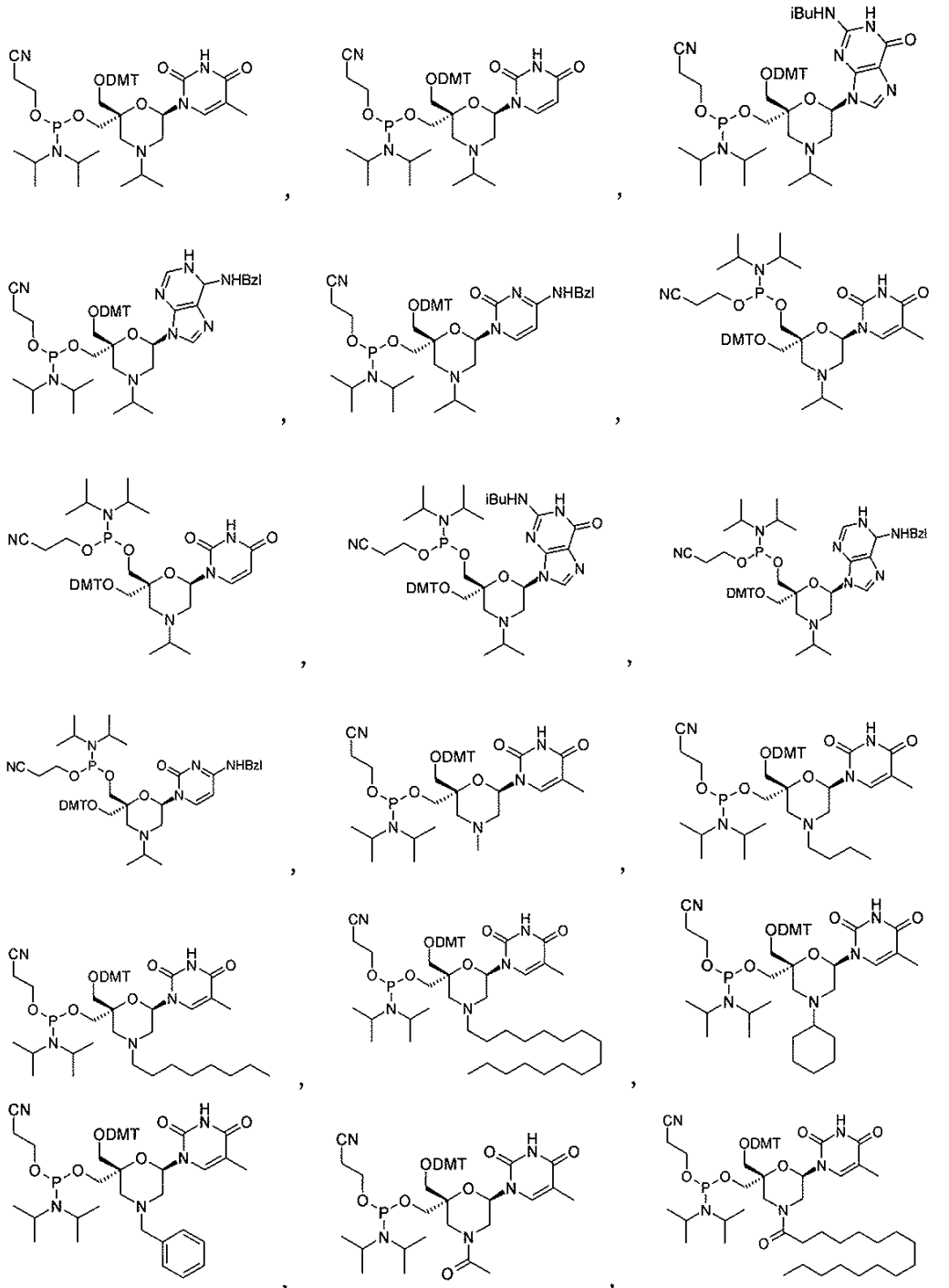
R3 は、N-アセチルガラクトサミン、または薬学的に許容されるその塩である、請求項 20～31 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 33】

前記式 (I) の化合物が、

【化 3】

10



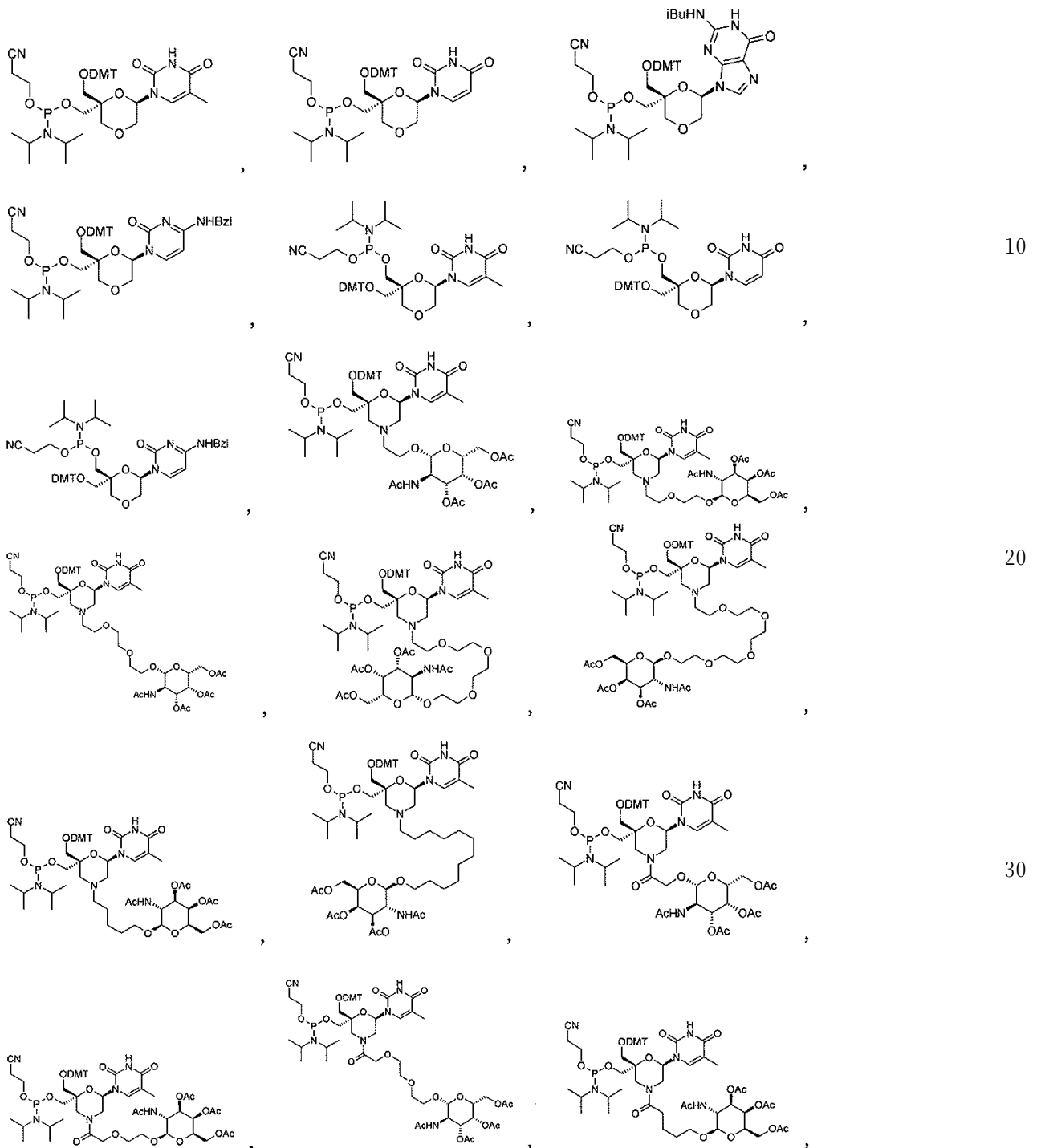
20

30

40

50

【化 4】



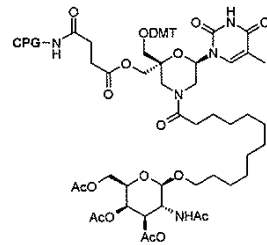
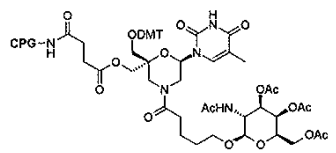
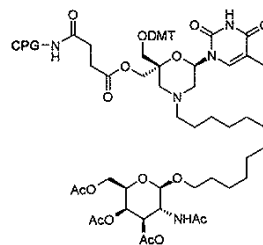
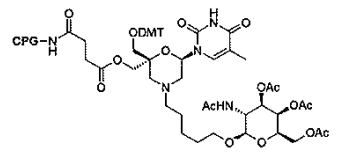
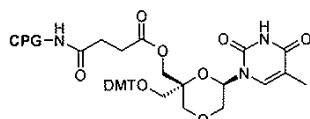
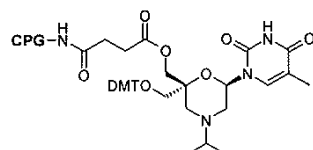
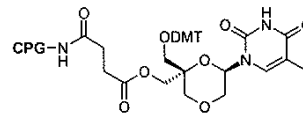
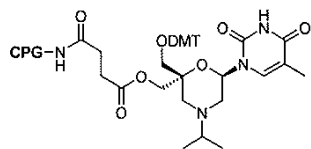
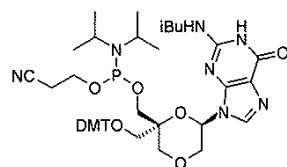
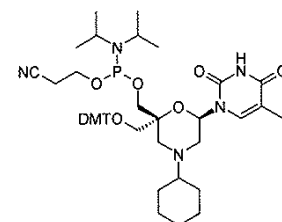
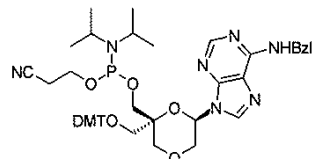
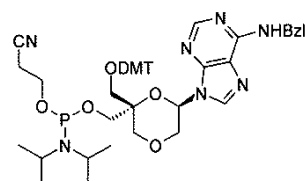
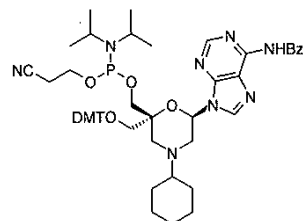
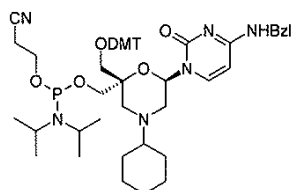
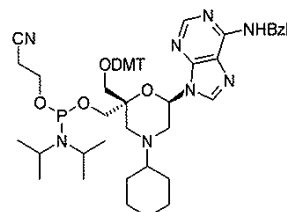
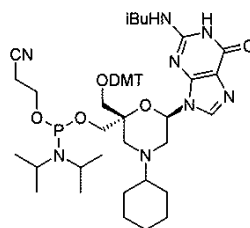
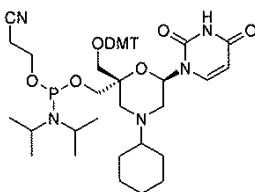
10

20

30

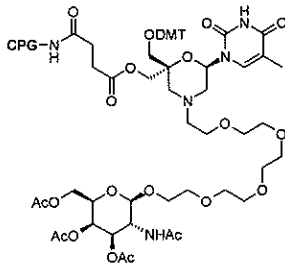
40

50



、および

【化 6】



10

からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上のヌクレオチドを含む、請求項 20 ～ 32 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 34】

2 から 10 個の式 (I) の化合物、または薬学的に許容されるその塩を含む、請求項 20 ～ 33 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

【請求項 35】

2 から 10 個の式 (I) の化合物は、センス鎖上にある、請求項 34 に記載の dsRNA。

【請求項 36】

センス鎖は、5' 末端に 2 から 5 つの式 (I) の化合物を含み、および／または 3' 末端に 1 から 3 つの式 (I) の化合物を含む、請求項 20 ～ 35 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

20

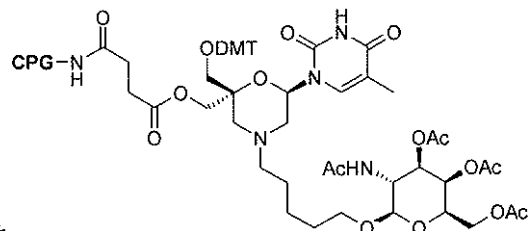
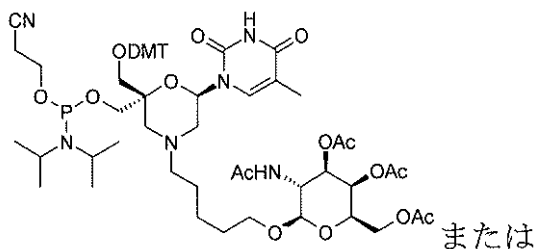
【請求項 37】

a) センス鎖の 5' 末端にある 2 から 5 つの式 (I) の化合物は、lgt3 および／もしくは lgt7 を含み；ならびに／または

b) センス鎖の 3' 末端にある 1 から 3 つの式 (I) の化合物は、lt4 もしくは lt3 を含み、

前記 lgt3 が

【化 7】



30

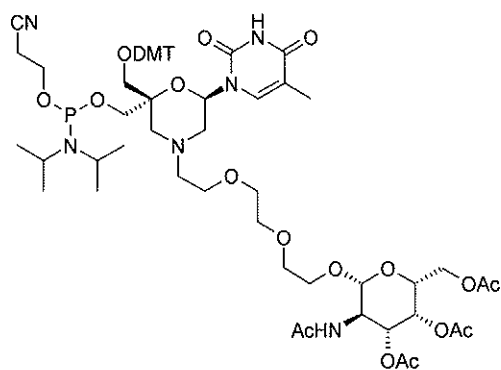
であり、

前記 lgt7 が

40

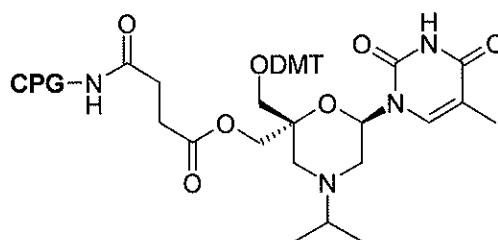
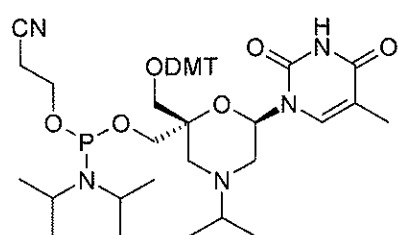
50

【化 8】



10

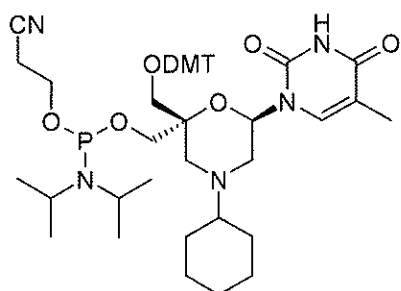
であり、
前記し T 3 が
【化 9】



または

20

であり、
前記し T 4 が
【化 10】



30

である、請求項 36 に記載の dsRNA。

40

【請求項 38】

a) 前記センス鎖の 5' 末端にある 2 から 5 つの式 (I) の化合物は、3 つの連続した し g T 3 ヌクレオチドを含む；ならびに／または

b) 前記センス鎖の 3' 末端にある 1 から 3 つの式 (I) の化合物は、2 つの連続した し T 4 を含む、請求項 37 に記載の dsRNA。

【請求項 39】

リン酸ジエステル、リン酸トリエステル、ホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、アルキル-ホスホナートおよびホスホルアミダート骨格連結基、または薬学的に許容されるその塩からなる群から独立して選択される 1 つまたはそれ以上のヌクレオシド間連結基を含む、請求項 1 ～ 38 のいずれか 1 項に記載の dsRNA。

50

【請求項 40】

配列番号 23、155、287、または 419 のいずれかの核酸配列を含む、請求項 1 に記載の dsRNA。

【請求項 41】

請求項 1～40 のいずれか 1 項に記載の dsRNA および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 42】

ANGPTL8 発現を阻害することを必要とするヒトにおいて ANGPTL8 発現を阻害する際に使用するための、請求項 1～40 のいずれか 1 項に記載の dsRNA を含む医薬組成物または請求項 41 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 43】

ANGPTL8 発現を阻害することを必要とするヒトにおいて ANGPTL8 発現を阻害するための医薬の製造における、請求項 1～40 のいずれか 1 項に記載の dsRNA または請求項 41 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 44】

ヒトの肝臓における ANGPTL8 遺伝子の発現は、dsRNA によって阻害される、請求項 42 に記載の医薬組成物。

【請求項 45】

ヒトの肝臓における ANGPTL8 遺伝子の発現は、dsRNA によって阻害される、請求項 43 に記載の使用。

20

【請求項 46】

ANGPTL8 関連状態を処置または予防することを必要とするヒトにおいて ANGPTL8 関連状態を処置または予防する際に使用するための、請求項 1～40 のいずれか 1 項に記載の dsRNA を含む医薬組成物または請求項 41 に記載の医薬組成物。

【請求項 47】

ANGPTL8 関連状態を処置または予防することを必要とするヒトにおいて ANGPTL8 関連状態を処置または予防するための医薬の製造における、請求項 1～40 のいずれか 1 項に記載の dsRNA または請求項 41 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 48】

ANGPTL8 関連状態は、脂質代謝障害である、請求項 46 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 49】

ANGPTL8 関連状態は、脂質代謝障害である、請求項 47 に記載の使用。

【請求項 50】

脂質代謝障害は、高トリグリセライド血症である、請求項 48 に記載の医薬組成物。

【請求項 51】

脂質代謝障害は、高トリグリセライド血症である、請求項 49 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

40

基準として役立つ核酸配列が本明細書に開示されている。同じ配列を特許事項のために標準的な要件に従った形式の配列表に提示する。標準的な配列表といかなる配列の相違がある場合も、本明細書に記載されている配列が基準であるものとする。本出願は、電子的に ASCII 形式で提出された配列表を含み、その全体を参照によって本明細書に組み入れる。2019年11月15日に作成された上記 ASCII コピーの名称は、022548__P1058__SL.txt であり、サイズは 244,191 バイトである。

【背景技術】

【0002】

アンジオポエチン様タンパク質 8 (ANGPTL8) は、脂質および場合によってはグルコース代謝に関与すると考えられている ANGPTL ファミリーメンバーである。主に

50

ヒトの肝臓組織で発現される22 kDaのタンパク質であるANGPTL8は、ベータトロフィン、リパシン (lipasin)、再栄養により誘導される脂肪および肝臓タンパク質、肝細胞がん関連タンパク質TD26、LOC55908RIFL、およびC19ORF80としても知られている。循環ANGPTL8のレベルは、トリグリセリドレベルと正の相関がある。肝臓におけるANGPTL8の過剰発現は、高トリグリセライド血症に関連し、一方、その不活性化は、血漿トリグリセリドレベルを低下させる（非特許文献1；非特許文献2）。上昇したレベルの血中トリグリセリド（例えば、150 mg/dLまたはそれ以上）は、例えば、肥満、高血圧、高コレステロールレベル、高血糖、およびメタボリックシンドロームなどのリスク因子の一因となることによって、心臓疾患、心臓発作、卒中、およびアテローム動脈硬化症などの心血管系症状のリスクを有意に増加させる。非常に高いレベルの血中トリグリセリド（例えば、500 mg/dLまたはそれ以上）は、膵炎のリスクを有意に増加させる。

【0003】

二本鎖RNA分子 (dsRNA) は、RNA干渉 (RNAi) として知られている高度に保存された制御機構において、遺伝子発現をブロックすることが示された。これは、アンチセンスオリゴヌクレオチド、antisense RNA、およびantagomirなどの一本鎖オリゴヌクレオチドの作用機序とは異なる作用機構のようである。RNA干渉技術において、小分子干渉RNA (siRNA) などの二本鎖RNAは、RNA誘導サイレンシング複合体 (RISC) と結合し、ここでは、一方の鎖 (「パッセンジャー鎖」または「センス鎖」) が取り除かれ、残りの鎖 (「ガイド鎖」または「アンチセンス鎖」) はRISCと協働して、相補的なRNA (標的RNA) と結合する。標的RNAは、結合を受けると、RISC中のRNAエンドヌクレアーゼアルゴノート (AGO) によって切断された後、RNAエキソヌクレアーゼによってさらに分解される。RNAiは、現在、異常なまたは望ましくない遺伝子の発現が原因となる障害を処置するための新しいクラスの治療用薬剤を開発するために使用されている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【文献】Quagliariniら、Proc. Natl. Acad. Sci. (2012年) 109 (48) : 19751~6頁

【文献】Wangら、Proc. Natl. Acad. Sci. (2013年) 110 : 16109~14頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

トリグリセリドおよび脂質代謝の制御におけるANGPTL8の重要性、ならびに上昇したトリグリセリドレベルに関連する疾患の罹患率のため、ANGPTL8発現の阻害剤を特定すること、ならびにそのような阻害剤を効能および細胞傷害性などの望ましくない副作用に関して試験することが継続して必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

ANGPTL8遺伝子の発現を阻害するために有用なdsRNAが、本明細書において提供される。上昇したレベルのトリグリセリドに関連する状態に対する現在利用可能な処置と比較して、本明細書において提供されるdsRNAは、優れた臨床効果をもたらすことが可能である。本開示のRNA薬剤は、上昇したトリグリセリドレベルを正常な範囲に低下させることができるか、または正常なトリグリセリドレベルを維持することができ、結果として全般的に改善された健康状態をもたらす。本開示のRNA薬剤は、上昇したトリグリセリドレベルによって全体または一部特徴づけられる脂質代謝障害などの状態（例えば、高トリグリセライド血症および膵炎などの関連疾患）を処置するために使用することができる。

【0007】

したがって、本明細書において、ANGPTL8遺伝子のRNA転写物上の標的配列と結合することによって、ヒトアンジオポエチン様タンパク質8（ANGPTL8）遺伝子の発現を阻害する二本鎖リボ核酸（dsRNA）が提供される。dsRNAは、センス配列を含むセンス鎖、およびアンチセンス配列を含むアンチセンス鎖を含み、センス配列は、標的配列と少なくとも90%同一である。いくつかの実施形態において、本dsRNAのセンス鎖およびアンチセンス鎖は、15～25の連続するヌクレオチドの領域にわたり互いに相補的である。いくつかの実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖は、30ヌクレオチド長を超えない。

【0008】

いくつかの実施形態において、本dsRNAの標的配列は、配列番号529のヌクレオチド211～229、315～333、455～473、456～474、457～475、458～476、459～477、573～591、648～666、843～861、844～862、851～869、455～474、455～475、455～476、455～477、456～475、456～476、456～477、457～476、または457～477である。さらに別の実施形態において、標的配列は、配列番号529のヌクレオチド315～333、457～475、458～476、または459～477である。いくつかの実施形態において、本dsRNAの標的配列は、配列番号529のヌクレオチド315～333、457～475、458～476、または459～477である。本明細書中で使用される場合、配列番号Zの範囲「x～y」と定義される標的配列は、配列番号Zの核酸配列の位置xのヌクレオチドから開始し、位置yのヌクレオチドで終了する標的配列からなる。実例として、明確にするために、範囲「211～229」と定義される標的配列は、配列番号529の核酸配列の位置211のヌクレオチドから開始し、位置229のヌクレオチドで終了する標的配列からなる。

【0009】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、配列番号138、155、172～176、199、232、255、256、および263からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも90%同一であるアンチセンス配列を含む。

【0010】

いくつかの実施形態において、本dsRNAのセンス配列およびアンチセンス配列は、相補的であり、この場合、a) センス配列は、配列番号6、23、40～44、67、100、123、124、および131からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含むか；またはb) アンチセンス配列は、配列番号138、155、172～176、199、232、255、256、および263からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。

【0011】

いくつかの実施形態において、dsRNAのセンス鎖およびアンチセンス鎖はそれぞれ、a) 配列番号6（センス鎖）および138（アンチセンス鎖）；b) 配列番号23および155；c) 配列番号40および172；d) 配列番号41および173；e) 配列番号42および174；f) 配列番号43および175；g) 配列番号44および176；h) 配列番号67および199；i) 配列番号100および232；j) 配列番号123および255；k) 配列番号124および256；またはl) 配列番号131および263のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAのセンス鎖およびアンチセンス鎖はそれぞれ、a) 配列番号23および155；b) 配列番号42および174；c) 配列番号43および175；またはd) 配列番号44および176のヌクレオチド配列を含む。

【0012】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、1つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドを含み、この場合、1つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドのうちの少なくとも1つは、2'-デオキシ-2'-フルオロ-リボヌクレオチド、2'-デオキシリボヌクレオチド、ま

10

20

30

40

50

たは 2'-O-メチル-リボヌクレオチドである。さらに別の実施形態において、dsRNA は、2つまたはそれ以上の 2'-O-メチル-リボヌクレオチドおよび 2つまたはそれ以上の 2'-デオキシ-2'-フルオロ-リボヌクレオチドを（例えば、交互のパターンで）含む。いくつかの実施形態において、センス配列およびアンチセンス配列は、交互の 2'-O-メチルリボヌクレオチドおよび 2'-デオキシ-2'-フルオロリボヌクレオチドを含む。

【0013】

いくつかの実施形態において、dsRNA は、そのセンスまたはアンチセンス鎖の 3' 末端に反転 2'-デオキシリボヌクレオチドを含む。

【0014】

いくつかの実施形態において、本 dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖の一方または両方は、a) 1つもしくはそれ以上のヌクレオチドを含む 5' オーバーハング；および／または b) 1つもしくはそれ以上のヌクレオチドを含む 3' オーバーハングを含む。さらに別の実施形態において、dsRNA 中のオーバーハングは、2 または 3 つのヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、dsRNA 中のオーバーハングは、1つまたはそれ以上のチミンを含む。

【0015】

いくつかの実施形態において、本 dsRNA 中の、センス鎖は、配列番号 270、287、304～308、331、364、387、388、および 395 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含み；ならびに／またはアンチセンス鎖は、配列番号 402、419、436～440、463、496、519、520、および 527 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。さらに別の実施形態において、dsRNA のセンス鎖およびアンチセンス鎖はそれぞれ、a) 配列番号 270 および 402；b) 配列番号 287 および 419；c) 配列番号 304 および 436；d) 配列番号 305 および 437；e) 配列番号 306 および 438；f) 配列番号 307 および 439；g) 配列番号 308 および 440；h) 配列番号 331 および 463；i) 配列番号 364 および 496；j) 配列番号 387 および 519；k) 配列番号 388 および 520；または l) 配列番号 395 および 527 のヌクレオチド配列を含む。

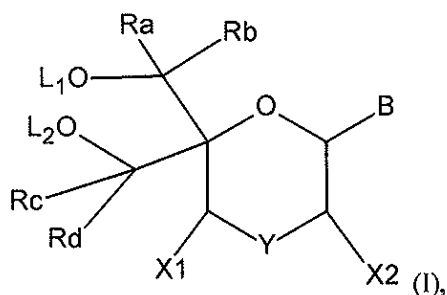
【0016】

いくつかの実施形態において、本 dsRNA は、リンカーを用いて、または用いずに 1つまたはそれ以上のリガンドとコンジュゲートされている。リガンドは、例えば、コレステロール誘導体または親油性部分が可能である。本 dsRNA はまた、1つまたはそれ以上の N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 基とコンジュゲートされている場合もある。

【0017】

いくつかの実施形態において、本 dsRNA の一方または両方の鎖は、

【化 1】



の構造を有する 1つまたはそれ以上の化合物または薬学的に許容されるその塩を含み、式中：

— B は、複素環式核酸塩基であり、

— L 1 および L 2 の一方は、式 (I) の化合物を前記鎖と連結するヌクレオシド間連結基であり、L 1 および L 2 の他方は、H、保護基、リン部分もしくは式 (I) の化合物を前記鎖と連結するヌクレオシド間連結基であり、

— Y は、O、NH、NR 1 もしくは $N-C(=O)-R 1$ であり、式中、R 1 は、以下であり：

- ・ 場合により、ハロゲン原子、(C 1 ~ C 6) アルキル基、(C 3 ~ C 8) シクロアルキル基、(C 3 ~ C 1 4) ヘテロ環、(C 6 ~ C 1 4) アリール基、(C 5 ~ C 1 4) ヘテロアリール基、 $-O-Z 1$ 、 $-N(Z 1)(Z 2)$ 、 $-S-Z 1$ 、 $-CN$ 、 $-C(=J)-O-Z 1$ 、 $-O-C(=J)-Z 1$ 、 $-C(=J)-N(Z 1)(Z 2)$ 、および $-N(Z 1)-C(=J)-Z 2$ から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C 1 ~ C 2 0) アルキル基 (式中、

J は、O もしくは S であり、

Z 1 および Z 2 のそれぞれは、独立して、H、場合により、ハロゲン原子および (C 1 ~ C 6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C 1 ~ C 6) アルキル基である)、

- ・ 場合により、ハロゲン原子および (C 1 ~ C 6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C 3 ~ C 8) シクロアルキル基、

- ・ 基 $-[C(=O)]_m-R 2-(O-CH_2-CH_2)_p-R 3$ (式中、

m は、0 もしくは 1 を意味する整数であり、

p は、0 から 1 0 の範囲の整数であり、

R 2 は、場合により、(C 1 ~ C 6) アルキル基、 $-O-Z 3$ 、 $-N(Z 3)(Z 4)$ 、 $-S-Z 3$ 、 $-CN$ 、 $-C(=K)-O-Z 3$ 、 $-O-C(=K)-Z 3$ 、 $-C(=K)-N(Z 3)(Z 4)$ 、もしくは $-N(Z 3)-C(=K)-Z 4$ によって置換された (C 1 ~ C 2 0) アルキレン基であり、

K は、O もしくは S であり、

Z 3 および Z 4 のそれぞれは、独立して、H、場合により、ハロゲン原子および (C 1 ~ C 6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C 1 ~ C 6) アルキル基であり、

R 3 は、水素原子、(C 1 ~ C 6) アルキル基、(C 1 ~ C 6) アルコキシ基、(C 3 ~ C 8) シクロアルキル基、(C 3 ~ C 1 4) ヘテロ環、(C 6 ~ C 1 4) アリール基もしくは (C 5 ~ C 1 4) ヘテロアリール基からなる群から選択されるか、

もしくは R 3 は、細胞標的化部分である)、

— X 1 および X 2 はそれぞれ、独立して水素原子、(C 1 ~ C 6) アルキル基であり、

— R a、R b、R c および R d のそれぞれは、独立して、H もしくは (C 1 ~ C 6) アルキル基である。

【0018】

いくつかの実施形態において、dsRNA は、1 つまたはそれ以上の式 (I) の化合物を含み、式中、Y は、a) R 1 が、非置換 (C 1 ~ C 2 0) アルキル基である、NR 1 ; b) R 1 が、メチル、イソプロピル、ブチル、オクチル、およびヘキサデシルを含む群から選択されるアルキル基を含む非置換 (C 1 ~ C 1 6) アルキル基である、NR 1 ; c) R 1 が、場合により、ハロゲン原子および (C 1 ~ C 6) アルキル基から選択される 1 つもしくはそれ以上の基によって置換された (C 3 ~ C 8) シクロアルキル基である、NR 1 ; d) R 1 が、シクロヘキシル基である、NR 1 ; e) R 1 が、(C 6 ~ C 1 4) アリール基によって置換された (C 1 ~ C 2 0) アルキル基である、NR 1 ; f) R 1 が、フェニル基によって置換されたメチル基である、NR 1 ; g) R 1 が、場合により置換された (C 1 ~ C 2 0) アルキル基である、 $N-C(=O)-R 1$; または h) R 1 が、メチルもしくはペンタデシルである、 $N-C(=O)-R 1$ である。

【0019】

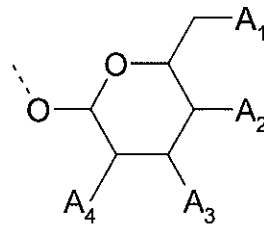
いくつかの実施形態において、dsRNA は、1 つまたはそれ以上の式 (I) の化合物または薬学的に許容されるその塩を含み、式中、B は、ピリミジン、置換ピリミジン、プ

リンおよび置換プリンからなる群から選択される。

【0020】

いくつかの実施形態において、R3は、式（II）：

【化2】



(II)

10

または薬学的に許容されるその塩であり、式中、A1、A2およびA3は、OHであり、A4は、OHもしくはNH₂C(=O)-R5であり、式中、R5は、場合により、ハロゲン原子によって置換された（C1～C6）アルキル基である。

【0021】

いくつかの実施形態において、R3は、N-アセチル-ガラクトサミン、または薬学的に許容されるその塩である。

20

【0022】

いくつかの実施形態において、本dsRNAは、表AおよびBの1つまたはそれ以上のヌクレオチドを含む。

【0023】

いくつかの実施形態において、本dsRNAは、2から10個の式（I）の化合物、または薬学的に許容されるその塩を含み、化合物は、場合によりセンス鎖上にある。

【0024】

いくつかの実施形態において、dsRNAのセンス鎖は、5'末端に2から5つの式（I）の化合物を含み、および／または3'末端に1から3つの式（I）の化合物を含む。さらに別の実施形態において、センス鎖の5'末端にある2から5つの式（I）の化合物は、LgT3および／もしくはLgT7を含み、場合により、3つの連続したLgT3ヌクレオチドを含む；ならびに／またはセンス鎖の3'末端にある1から3つの式（I）の化合物は、LT4もしくはLT3を含み、場合により、2つの連続したLT4を含む。

30

【0025】

いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、リン酸ジエステル、リン酸トリエステル、ホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、アルキル-ホスホナートおよびホスホルアミデート骨格連結基、からなる群から独立して選択される1つまたはそれ以上のヌクレオチド間連結基、または薬学的に許容されるその塩を含む。

【0026】

いくつかの実施形態において、本dsRNAは、小分子干渉RNA（siRNA）である。いくつかの実施形態において、本dsRNAは、短ヘアピンRNA（shRNA）である。本開示は、そのようなdsRNAをコードするDNAベクターを包含する。いくつかの実施形態において、dsRNAは、表1～4から選択される。

40

【0027】

本開示は、本明細書に記載のdsRNAまたはDNAベクター、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物をさらに提供する。

【0028】

ANGPTL8発現を阻害することを必要とするヒトにおいてANGPTL8発現を阻害する際に使用するための、またはANGPTL8関連状態を処置もしくは予防することを必要とするヒトにおいてANGPTL8関連状態を処置もしくは予防する際に使用する

50

ための本 dsRNA、DNAベクター、または組成物も本開示において提供される。

【0029】

本 dsRNA、DNAベクター、もしくは組成物を哺乳動物に投与することによって、ANGPTL8 発現を阻害すること、または ANGPTL8 関連状態を処置もしくは予防することを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト）において ANGPTL8 発現を阻害する方法、または ANGPTL8 関連状態を処置もしくは予防する方法が、本開示においてさらに提供される。

【0030】

ANGPTL8 発現を阻害すること、または ANGPTL8 関連状態を処置もしくは予防することを必要とする哺乳動物（例えば、ヒト）において、ANGPTL8 発現を阻害するため、または ANGPTL8 関連状態を処置もしくは予防するための薬剤の製造における本 dsRNA または DNAベクターの使用、ならびに製造品（例えば、キット）が、本開示においてさらに提供される。

【0031】

いくつかの実施形態において、dsRNA は、処置方法においてヒトの肝臓における ANGPTL8 遺伝子の発現を阻害する。特定の実施形態において、ANGPTL8 関連状態は、脂質代謝障害、例えば、高トリグリセライド血症および膵炎などの関連疾患である。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1A】それぞれ、0.1 または 1 nM の示した 132 個の試験 siRNA による処理後のヒト Hep3B 細胞溶解物中における ANGPTL8 mRNA 発現の RT-qPCR 分析を示すグラフである。mRNA の発現は、非標的化 siRNA 対照により処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図1B】それぞれ、0.1 または 1 nM の示した 132 個の試験 siRNA による処理後のヒト Hep3B 細胞溶解物中における ANGPTL8 mRNA 発現の RT-qPCR 分析を示すグラフである。mRNA の発現は、非標的化 siRNA 対照により処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図1C】それぞれ、0.1 または 1 nM の示した 132 個の試験 siRNA による処理後のヒト Hep3B 細胞溶解物中における ANGPTL8 mRNA 発現の RT-qPCR 分析を示すグラフである。mRNA の発現は、非標的化 siRNA 対照により処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図2】18 個の選択された試験 siRNA のヒト Hep3B 細胞における細胞傷害効果を示すグラフである。生存率（Cell Titer-Glo アッセイ）および毒性（Toxilight アッセイ）に関して分析される前に、細胞を 5 または 50 nM の示した siRNA で処理した。得られた読み取りの比を、非標的化 siRNA 対照に関する結果と比較して示す。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図3】3 人のドナーから単離され、ANGPTL8 を標的とする選択された GalNAc コンジュゲート siRNA または対照をトランスフェクションされたヒト末梢血単核細胞（PBMC）の上清に放出されるインターフェロン α （IFN α ）タンパク質の量を示す免疫刺激のグラフである。タンパク質濃度を ELISA によって求めた。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図4】自然な取り込み（free uptake）後のヒト初代肝細胞における 12 個の選択された GalNAc コンジュゲート試験 siRNA の細胞傷害効果を示すグラフである。生存率（Cell Titer-Glo アッセイ）および毒性（Toxilight アッセイ）に関して分析される前に、細胞を 1、5、または 25 μ M の示した siRNA で処理した。得られた読み取りの比を、未処理対照に関する結果に対して、毒性陽性対照および非標的化 siRNA 対照と比較して示す。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図5A】示した複数の用量の選択された GalNAc-siRNA（自然な取り込み）による処理後のカニクイザル初代肝細胞溶解物における ANGPTL8 mRNA 発現の RT-qPCR 分析を示すグラフである。mRNA 発現は、非標的化 siRNA 対照によ

10

20

30

40

50

り処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図5B】示した複数の用量の選択されたGalNAc-siRNA（自然な取り込み）による処理後のカニクイザル初代肝細胞溶解物におけるANGPTL8 mRNA発現のRT-qPCR分析を示すグラフである。mRNA発現は、非標的化siRNA対照により処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図5C】示した複数の用量の選択されたGalNAc-siRNA（自然な取り込み）による処理後のカニクイザル初代肝細胞溶解物におけるANGPTL8 mRNA発現のRT-qPCR分析を示すグラフである。mRNA発現は、非標的化siRNA対照により処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図5D】示した複数の用量の選択されたGalNAc-siRNA（自然な取り込み）による処理後のカニクイザル初代肝細胞溶解物におけるANGPTL8 mRNA発現のRT-qPCR分析を示すグラフである。mRNA発現は、非標的化siRNA対照により処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図6】0日目に15mg/kgで選択されたGalNAc-siRNAにより皮下処置されたマウスの経時的なバイシストロン性ANGPTL3・ANGPTL8コンストラクトからのANGPTL8発現の間接的な観察として血清ANGPTL3タンパク質レベルを示すグラフである。処置マウスは、肝臓特異的なバイシストロン性アデノ随伴ウイルスベクターからヒトANGPTL3および8を発現し、この場合、mRNAのノックダウンは、両タンパク質の発現の低下につながる。ヒトANGPTL3レベルを、ELISAによって定量した。エラーバーは、平均の標準誤差を示す。記号「◆」の曲線は、siRNA#023-cに対応する。記号「■」の曲線は、siRNA#042-cに対応する。記号「▲」の曲線は、siRNA#043-cに対応する。記号「▼」の曲線は、siRNA#044-cに対応する。

【図7A】それぞれ、1nM、10nM、または100nMの2×54個の試験siRNAによる細胞の処理後のヒト初代肝細胞におけるANGPTL8 mRNA発現のRT-qPCR分析を示すグラフである。Neg. Ctrl.：陰性対照（未処理細胞および非標的化siRNA対照により処理された細胞LV2）。Pos. Ctrl.：親コンストラクトsiRNA#023-cおよびsiRNA#042-cにより処理された細胞。mRNAの発現は、LV2で処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図7B】それぞれ、1nM、10nM、または100nMの2×54個の試験siRNAによる細胞の処理後のヒト初代肝細胞におけるANGPTL8 mRNA発現のRT-qPCR分析を示すグラフである。Neg. Ctrl.：陰性対照（未処理細胞および非標的化siRNA対照により処理された細胞LV2）。Pos. Ctrl.：親コンストラクトsiRNA#023-cおよびsiRNA#042-cにより処理された細胞。mRNAの発現は、LV2で処理された細胞と比較して表される。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図8】3人のドナーから単離され、100nM濃度のそれぞれの親配列（siRNA#023-cおよびsiRNA#042-c）とともに24個の選択された修飾GalNAc ANGPTL8 siRNAまたは対照を24時間トランスフェクションされたヒト末梢血単核細胞（PBMC）の上清に放出されたインターフェロンα2a（IFN-α2a）タンパク質の量によって示される免疫刺激を示すグラフである。タンパク質濃度をELISAによって求めた。エラーバーは、標準偏差を示す。

【図9】それぞれの親配列（siRNA#023-cおよびsiRNA#042-c）とともに24個の選択された修飾GalNAc ANGPTL8 siRNAのヒトHep3B細胞における細胞傷害効果を示すグラフである。生存率（CellTiter-Gloアッセイ）および毒性（ToxiLightアッセイ）に関して分析される前に、細胞に、5または50nM濃度の示したsiRNAを72時間トランスフェクションした。得られた読み取りの比を、非標的化siRNA対照に関する結果と比較して示す。エラーバーは、標準偏差を示す。

10

20

30

40

50

【図10A】0日目に6mg/kgで選択されたGalNAc-siRNAにより皮下処置されたマウスにおける経時的なバイシストロン性ANGPTL3-ANGPTL8 AAV8コンストラクトからのANGPTL8発現に関する代用インジケータとして血清ANGPTL3タンパク質レベルを示すグラフである。血清ANGPTL3レベルを、ELISAによって測定した。図10A：siRNA#023-cおよびその修飾バリエーション。

【図10B】0日目に6mg/kgで選択されたGalNAc-siRNAにより皮下処置されたマウスにおける経時的なバイシストロン性ANGPTL3-ANGPTL8 AAV8コンストラクトからのANGPTL8発現に関する代用インジケータとして血清ANGPTL3タンパク質レベルを示すグラフである。血清ANGPTL3レベルを、ELISAによって測定した。図10B：siRNA#042-cおよびその修飾バリエーション。エラーバーは、平均の標準誤差を示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0033】

本開示は、アンジオポエチン様タンパク質8 (ANGPTL8) 遺伝子の発現を阻害する新規の二本鎖RNA (dsRNA) を提供する。いくつかの実施形態において、dsRNAは、小分子干渉RNA (siRNA) である。dsRNAは、脂質代謝障害（例えば、脂質異常症、高トリグリセライド血症、および膵炎などの関連疾患）などの状態を処置するために使用することができる。別に明記されない限り、「ANGPTL8」は、本明細書ではヒトANGPTL8を指す。ヒトANGPTL8タンパク質のmRNA配列は、NCBI参照配列番号NM_018687.6 (配列番号529) として入手可能であり、そのポリペプチド配列は、NCBI参照配列番号NP_061157.3 (配列番号530) として入手可能である。特定の実施形態において、本開示は、カニクイザルANGPTL8に言及する。カニクイザルANGPTL8タンパク質のmRNA配列は、NCBI参照配列番号XM_005588007.1 (配列番号531) として入手可能であり、そのポリペプチド配列は、NCBI参照配列番号XP_005588064.1 (配列番号532) として入手可能である。

20

【0034】

本開示のdsRNAは、1つまたはそれ以上の以下の特性を有する場合もある：(i) インビトロにおいて少なくとも24、28、32、48、52、56、60、または72時間の半減期を有する；(ii) ヒト初代PBMCから分泌されるインターフェロンαの産生を増加させない；(iii) インビトロにおいてヒトANGPTL8発現の阻害に関して少なくとも300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、または600nMのIC₅₀値を有する；ならびに(iv) ヒトANGPTL3およびANGPTL8を発現するC57BL/6マウスにおいてインビボでANGPTL8のタンパク質レベルを少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%低下させる。

30

【0035】

いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、少なくとも1つの以下の特性を有する：(i) インビトロにおいて少なくとも24時間の半減期を有する；(ii) ヒト初代PBMCから分泌されるインターフェロンαの産生を増加させない、(iii) インビトロにおいてヒトANGPTL8発現の阻害に関して少なくとも475nMのIC₅₀値を有する；ならびに(iv) ヒトANGPTL3およびANGPTL8を発現するC57BL/6マウスにおいてインビボでヒトANGPTL8のタンパク質レベルを少なくとも80%低下させる。特定の実施形態において、dsRNAは、すべての上記の特性を有する。

40

【0036】

本明細書に記載のdsRNA (「単離された」dsRNA) が天然には存在しないことを当業者は理解するであろう。

【0037】

I. 二本鎖RNA

50

本開示の特定の態様は、ANGPTL8を標的とする二本鎖リボ核酸（dsRNA）分子に関する。本明細書中で使用される場合、「二本鎖RNA」または「dsRNA」という用語は、2本の逆平行で実質的に相補的な核酸鎖を有する二本鎖構造を含むオリゴリボヌクレオチド分子を指す。二本鎖構造を形成する2本の鎖は、1つのより大きなRNA分子の異なる部分である場合もあり、またはそれらは別個のRNA分子にある場合もある。2本の鎖が別個のRNA分子上にある場合、dsRNA構造は、小分子干渉RNA（siRNA）として機能することができる。2本の鎖が1つのより大きな分子の一部であり、第1の鎖の3'末端と第2の鎖の5'末端との間で連続したヌクレオチドの鎖によって連結されている場合、連結するRNA鎖は、「ヘアピンループ」と言及され、RNA分子は、「短ヘアピンRNA」、または「shRNA」と呼ばれる場合もある。RNA鎖は、同じまたは異なる数のヌクレオチドを有する場合もある。二本鎖構造に加えて、dsRNAは、1つまたはそれ以上（例えば、1、2、もしくは3つ）のヌクレオチドのオーバーハングを含む場合もある。

【0038】

本明細書中で使用される場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、長さが少なくとも10塩基のヌクレオチド（例えば、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、またはいずれかのタイプのヌクレオチドの修飾形態）の高分子形態を指す。この用語は、一および二本鎖形態を含む。

【0039】

「dsRNA」は、天然に存在するリボヌクレオチド、および／またはその化学修飾アナログを含むことができる。本明細書中で使用される場合、「dsRNA」は、リボース含有ヌクレオチドを有するものに限定されない。dsRNAは、本明細書において、その一部またはすべてのヌクレオチド中のリボース部分は、結果として生じた二本鎖分子がRNA干渉によって標的遺伝子の発現を阻害することができる限り、別の部分によって置換されている二本鎖ポリヌクレオチド分子を包含する。dsRNAは、1つまたはそれ以上のデオキシリボヌクレオチドまたはその化学修飾アナログを含むこともできるが、60%を超えない（例えば、50%、40%、30%、20%、もしくは10%を超えない）。

【0040】

本開示のdsRNAは、センス配列を含むセンス鎖、およびアンチセンス配列を含むアンチセンス鎖を含み、センス鎖およびアンチセンス鎖は、ハイブリダイズして、二本鎖構造を形成する程、十分に相補的である。「アンチセンス配列」という用語は、実質的または完全に相補的で、生理的条件下で細胞において標的RNA配列と結合する配列を指す。「標的配列」は、標的遺伝子、例えば、ANGPTL8遺伝子から転写されたRNA分子（例えば、一次RNA転写物またはメッセンジャーRNA転写物）上のヌクレオチド配列を指す。「センス配列」という用語は、アンチセンス配列と実質的または完全に相補的な配列を指す。

【0041】

本開示のANGPTL8標的dsRNAは、センス配列を含むセンス鎖およびアンチセンス配列を含むアンチセンス鎖を含み、センスおよびアンチセンス配列は、互いに実質的または完全に相補的である。別に指示がある場合を除いて、「相補的な」という用語は、本明細書においては、特定の条件、例えば、生理的条件下において、第2の連続するヌクレオチド配列を含む別のポリヌクレオチドとハイブリダイズし、二本鎖構造を形成する、第1の連続するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドの能力を指す。これは、第1または第2の連続するヌクレオチド配列の全長にわたり2つのポリヌクレオチドの塩基対合を含むことができ；この場合、2つのヌクレオチド配列は、互いに「完全に相補的である」と見なされる。例えば、dsRNAが21ヌクレオチド長の第1のオリゴヌクレオチドおよび23ヌクレオチド長の第2のオリゴヌクレオチドを含み、2つのオリゴヌクレオチドが21の連続的な塩基対を形成する場合、2つのオリゴヌクレオチドは、互いに「完全に相補的である」と言及される。第1のポリヌクレオチド配列が、第2のポリヌクレオチド配列と「実質的に相補的である」と言及される場合、2つの配列は、ハイブリダイゼー

10

20

30

40

50

ションの長さの80%またはそれ以上（例えば、90%またはそれ以上）にわたり互いに塩基対を作ることができ、ミスマッチ塩基対は20%を超えない（例えば、10%を超えない）（例えば、20ヌクレオチドの二本鎖に対して、4つを超えないまたは2つを超えないミスマッチ塩基対）。2つのオリゴヌクレオチドが、1つまたはそれ以上の一本鎖オーバーハングと二本鎖を形成するように設計される場合、そのようなオーバーハングは、相補性の判定に関してミスマッチと見なされないものとする。2つの配列の相補性は、ワトソン・クリック塩基対および／または非ワトソン・クリック塩基対に基づく場合もある。本明細書中で使用される場合、mRNAの「少なくとも一部と実質的に相補的である」ポリヌクレオチドは、目的とするmRNA（例えば、ANGPTL8をコードするmRNA）の連続的な部分と実質的に相補的であるポリヌクレオチドを指す。

10

【0042】

いくつかの実施形態において、ANGPTL8標的dsRNAはsiRNAであり、この場合、センスおよびアンチセンス鎖が互いに共有結合していない。いくつかの実施形態において、ANGPTL8標的dsRNAのセンスおよびアンチセンス鎖は、例えば、ヘアピンループ（shRNAの場合など）により、またはヘアピンループ以外の手段によって（「共有結合性リンカー」と呼ばれる結合構造によってなど）互いに共有結合している。

【0043】

I. 1 長さ

いくつかの実施形態において、（センス鎖中の）センス配列および（アンチセンス鎖中の）アンチセンス配列のそれぞれは、9～30ヌクレオチド長である。例えば、各配列は、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30の上限および9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20の独立して選択される下限を有するヌクレオチド長の任意の範囲が可能である。いくつかの実施形態において、各配列中のヌクレオチドの数は、15～25（すなわち、各配列において15から25ヌクレオチド）、15～30、16～29、17～28、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、または19～21が可能である。

20

【0044】

いくつかの実施形態において、各配列は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長よりも大きい。いくつかの実施形態において、各配列は、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、または31ヌクレオチド長未満である。いくつかの実施形態において、各配列は、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長である。

30

【0045】

いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス配列はそれぞれ、少なくとも15であり、25を超えないヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス配列はそれぞれ、少なくとも17（例えば、少なくとも19）であり、23を超えないヌクレオチド長である。例えば、配列は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25ヌクレオチド長である。

40

【0046】

センス配列およびアンチセンス配列は、同じか、または異なる長さの場合もある。例えば、アンチセンス配列は、19のヌクレオチドを有することができるが、センス配列は、17のヌクレオチドを有することができる。別の例において、アンチセンス配列およびセンス配列はともに、19のヌクレオチドを有する。

【0047】

いくつかの実施形態において、ANGPTL8標的dsRNAは、同じ長さまたは異なる長さのセンスおよびアンチセンス鎖を有する。例えば、センス鎖は、アンチセンス鎖よ

50

りも1、2、3、4、5、6、または7ヌクレオチド長いこともある。あるいは、センス鎖は、アンチセンス鎖よりも1、2、3、4、5、6、または7ヌクレオチド短いこともある。

【0048】

いくつかの実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖のそれぞれは、9～36ヌクレオチド長である。例えば、各鎖は、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、または36の上限および9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20の独立して選択される下限を有するヌクレオチド長の任意の範囲が可能である。いくつかの実施形態において、各鎖中のヌクレオチドの数は、15～25、15～30、16～29、17～28、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、または19～21が可能である。

10

【0049】

いくつかの実施形態において、各鎖は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長よりも大きい。いくつかの実施形態において、各鎖は、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、または37ヌクレオチド長未満である。いくつかの実施形態において、各鎖は、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、または36ヌクレオチド長である。

20

【0050】

いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖はそれぞれ、少なくとも15であり、25を超えないヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖はそれぞれ、少なくとも19であり、23を超えないヌクレオチド長である。例えば、鎖は、19、20、21、22、または23ヌクレオチド長である。

【0051】

いくつかの実施形態において、センス鎖は、任意の修飾ヌクレオチドを含む21、22、23、または24のヌクレオチドを有することができるが、アンチセンス鎖は、任意の修飾ヌクレオチドを含む21のヌクレオチドを有することができ；特定の実施形態において、センス鎖は、17、18、または19のヌクレオチドを有するセンス配列を有することができるが、アンチセンス鎖は、19のヌクレオチドを有するアンチセンス配列を有することができる。

30

【0052】

I. 2 オーバーハング

いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、センスおよびアンチセンス鎖の一方または両方の3'末端、5'末端、または両末端に1つまたはそれ以上のオーバーハングを含む。いくつかの実施形態において、1つまたはそれ以上のオーバーハングは、dsRNAの安定性および／または阻害活性を向上させる。

40

【0053】

「オーバーハング」は、本明細書では、dsRNAの第1の鎖の3'末端が第2の鎖の5'末端を超えて延びる場合、または逆の場合のdsRNAの二本鎖構造から突出する対になっていないヌクレオチドを指す。「平滑末端」とは、dsRNAのその末端対になっていないヌクレオチドがない、すなわち、ヌクレオチドオーバーハングがないことを意味する。「平滑末端の」dsRNAは、その全長にわたり二本鎖である、すなわち、二本鎖分子のいずれの末端にもヌクレオチドオーバーハングがないdsRNAである。dsRNAの3'末端および／または5'末端にコンジュゲートされた化学的キャップまたは非ヌクレオチド化学的部分は、dsRNAがオーバーハングを有するか否かを判断する際にここで

50

は考慮されない。

【0054】

いくつかの実施形態において、オーバーハングは、1つもしくはそれ以上、2つもしくはそれ以上、3つもしくはそれ以上、または4つもしくはそれ以上のヌクレオチドを含む。例えば、オーバーハングは、1、2、3、または4つのヌクレオチドを含むこともある。

【0055】

いくつかの実施形態において、本開示のオーバーハングは、1つまたはそれ以上のヌクレオチド（例えば、リボヌクレオチドもしくはデオキシリボヌクレオチド、その天然に存在するもしくは化学修飾アナログ）を含む。いくつかの実施形態において、オーバーハングは、1つもしくはそれ以上のチミンまたはその化学修飾アナログを含む。特定の実施形態において、オーバーハングは、1つまたはそれ以上のチミンを含む。

10

【0056】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の3'末端に位置するオーバーハングを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の5'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の3'末端に位置するオーバーハングおよびアンチセンス鎖の5'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の3'末端に位置するオーバーハングを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の5'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の3'末端に位置するオーバーハングおよびセンス鎖の5'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、dsRNAのセンスおよびアンチセンス鎖の両方の3'末端に位置するオーバーハングを含む。

20

【0057】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の5'末端に位置するオーバーハングを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の3'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の5'末端に位置するオーバーハングおよびアンチセンス鎖の3'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の5'末端に位置するオーバーハングを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の3'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の5'末端に位置するオーバーハングおよびセンス鎖の3'末端に平滑末端を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、dsRNAのセンスおよびアンチセンス鎖の両方の5'末端に位置するオーバーハングを含む。

30

【0058】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の3'末端に位置するオーバーハングおよびアンチセンス鎖の5'末端にオーバーハングを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、センス鎖の3'末端に位置するオーバーハングおよびセンス鎖の5'末端にオーバーハングを含む。

【0059】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、2つの平滑末端を有する。

40

【0060】

いくつかの実施形態において、オーバーハングは、センス鎖がアンチセンス鎖よりも長いことの結果である。いくつかの実施形態において、オーバーハングは、アンチセンス鎖がセンス鎖よりも長いことの結果である。いくつかの実施形態において、オーバーハングは、ねじれた同じ長さのセンスおよびアンチセンス鎖の結果である。いくつかの実施形態において、オーバーハングは、標的mRNAとのミスマッチを生じる。いくつかの実施形態において、オーバーハングは、標的mRNAと相補的である。

【0061】

特定の実施形態において、本開示のdsRNAは、5'-CCA-[センス配列]-invdTの配列を有するセンス鎖、および5'-[アンチセンス配列]-dTdT-3'の配

50

列を有するアンチセンス鎖を含み、トリヌクレオチド C C A は、修飾される場合もある（例えば、2'-O-メチル-C および 2'-O-メチル-A）。

【0062】

I. 3 標的および dsRNA 配列

本開示の dsRNA のアンチセンス鎖は、ANGPTL8 RNA（例えば、mRNA）中の 12～30 ヌクレオチド長の標的配列と実質的または完全に相補的なアンチセンス配列を含む。例えば、標的配列は、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 の上限および 12、13、14、15、16、17、18、または 19 の独立して選択される下限を有するヌクレオチド長の任意の範囲が可能である。いくつかの実施形態において、標的配列中のヌクレオチドの数は、15～25、15～30、16～29、17～28、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、または 19～21 が可能である。

10

【0063】

いくつかの実施形態において、標的配列は、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 ヌクレオチド長よりも大きい。いくつかの実施形態において、標的配列は、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 ヌクレオチド長未満である。いくつかの実施形態において、標的配列は、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、標的配列は、少なくとも 15 であり、25 を超えないヌクレオチド長；例えば、少なくとも 19 であり、23 を超えないヌクレオチド長、または 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、もしくは 25 ヌクレオチド長である。

20

【0064】

標的配列は、ANGPTL8 mRNA 転写物の 5' 非コード領域、コード領域、または 3' 非コード領域にあることもある。標的配列は、非コードおよびコード領域の接合部に位置する場合もある。

【0065】

いくつかの実施形態において、dsRNA アンチセンス鎖は、標的配列と 1 つまたはそれ以上のミスマッチ（例えば、1、2、3 もしくは 4 つのミスマッチ）を有するアンチセンス配列を含む。特定の実施形態において、アンチセンス配列は、ヒト ANGPTL8 mRNA 配列中の対応する部分と完全に相補的であり、カニクイザル ANGPTL8 mRNA 配列中の対応する部分と完全に相補的または実質的に相補的（例えば、少なくとも 1 つもしくは 2 つのミスマッチを含む）である。そのような dsRNA の利点の 1 つは、カニクイザルなどの非ヒト霊長類における dsRNA の臨床前インビボ試験を可能にすることである。特定の実施形態において、dsRNA センス鎖は、（例えば、ヒトまたはカニクイザル ANGPTL8 mRNA 中の）標的配列と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であるセンス配列を含む。

30

40

【0066】

いくつかの実施形態において、ヒト ANGPTL8 mRNA 配列（配列番号 529）中の標的配列は、以下のヌクレオチドに、またはそのあたり（例えば、その 3 ヌクレオチド以内）に開始および終了ヌクレオチド位置を有する：それぞれ、211 および 229、315 および 333、455 および 473、456 および 474、457 および 475、458 および 476、459 および 477、573 および 591、648 および 666、843 および 861、844 および 862、851 および 869、455 および 474、455 および 475、455 および 476、455 および 477、456 および 475、456 および 476、456 および 477、457 および 476、または 457 および 477。特定の実施形態において、標的配列は、ヒト ANGPTL8 mRNA 配列のヌク

50

レオチド位置 3 1 5 ~ 3 3 3、4 5 7 ~ 4 7 5、4 5 8 ~ 4 7 6、または 4 5 9 ~ 4 7 7 に対応し、この場合、開始および終了位置は、番号をつけた位置の 3 ヌクレオチド以内で変動する場合もある。いくつかの実施形態において、標的配列は、表 1 にセンス配列として列挙されている配列、または列挙されている配列の少なくとも 8 0 % (例えば、少なくとも 9 0 %) のヌクレオチドを含む配列である。

【0 0 6 7】

いくつかの実施形態において、本開示の d s R N A は、表 1 に示されるセンス配列を含むセンス鎖を含む。例えば、センス鎖は、配列番号 6、2 3、4 0 ~ 4 4、6 7、1 0 0、1 2 3、1 2 4、および 1 3 1 から選択される配列、または上記の選択された配列由来の少なくとも 1 5、1 6、1 7、もしくは 1 8 の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。特定の実施形態において、センス鎖は、配列番号 2 3 および 4 2 ~ 4 4 から選択される配列を含む。

10

【0 0 6 8】

いくつかの実施形態において、本開示の d s R N A は、表 1 に示されるアンチセンス配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖は、配列番号 1 3 8、1 5 5、1 7 2 ~ 1 7 6、1 9 9、2 3 2、2 5 5、2 5 6、および 2 6 3 から選択される配列、または上記の選択された配列由来の少なくとも 1 5、1 6、1 7、もしくは 1 8 の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。特定の実施形態において、アンチセンス鎖は、配列番号 1 5 5 および 1 7 4 ~ 1 7 6 から選択される配列を含む。

20

【0 0 6 9】

いくつかの実施形態において、本開示の d s R N A は、表 1 に示されるセンス配列を含むセンス鎖および表 1 に示されるアンチセンス配列を含むアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、それぞれ、以下の配列を含む：

配列番号 6 および 1 3 8 ；

配列番号 2 3 および 1 5 5 ；

配列番号 4 0 および 1 7 2 ；

配列番号 4 1 および 1 7 3 ；

配列番号 4 2 および 1 7 4 ；

配列番号 4 3 および 1 7 5 ；

配列番号 4 4 および 1 7 6 ；

配列番号 6 7 および 1 9 9 ；

配列番号 1 0 0 および 2 3 2 ；

配列番号 1 2 3 および 2 5 5 ；

配列番号 1 2 4 および 2 5 6 ；または

配列番号 1 3 1 および 2 6 3 。

30

【0 0 7 0】

特定の実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、それぞれ、以下の配列を含む：

配列番号 2 3 および 1 5 5 ；

配列番号 4 2 および 1 7 4 ；

配列番号 4 3 および 1 7 5 ；または

配列番号 4 4 および 1 7 6 。

40

【0 0 7 1】

いくつかの実施形態において、アンチセンス配列は、配列番号 6、2 3、4 0 ~ 4 4、6 7、1 0 0、1 2 3、1 2 4、および 1 3 1 から選択される配列と完全に相補的である。いくつかの実施形態において、アンチセンス配列は、配列番号 6、2 3、4 0 ~ 4 4、6 7、1 0 0、1 2 3、1 2 4、および 1 3 1 から選択される配列と実質的に相補的であり、アンチセンス配列は、選択された配列に対して少なくとも 1 つのミスマッチ (例えば、1、2、3 または 4 つのミスマッチ) を含む。

【0 0 7 2】

50

いくつかの実施形態において、アンチセンス配列は、配列番号 23 および 42～44 から選択される配列と完全に相補的である。いくつかの実施形態において、アンチセンス配列は、配列番号 23 および 42～44 から選択される配列と実質的に相補的であり、アンチセンス配列は、選択された配列に対して少なくとも 1 つのミスマッチ（例えば、1、2、3 または 4 つのミスマッチ）を含む。

【0073】

いくつかの実施形態において、ANGPTL8 標的 dsRNA のアンチセンス配列は、標的配列に対して 1 つまたはそれ以上のミスマッチを含む（例えば、一般集団における個体間の対立遺伝子の差のため）。例えば、アンチセンス配列は、標的配列に対して 1 つまたはそれ以上のミスマッチ（例えば、1、2、3 または 4 つのミスマッチ）を含む。いくつかの実施形態において、1 つまたはそれ以上のミスマッチは、相補性の領域の中心に位置しない。いくつかの実施形態において、1 つまたはそれ以上のミスマッチは、相補性の領域の 5' および／または 3' 末端の 5、4、3、2、もしくは 1 ヌクレオチド以内に位置する。例えば、19 のヌクレオチドのアンチセンス配列を含む dsRNA に関して、いくつかの実施形態では、アンチセンス配列は、それと ANGPTL8 mRNA 中のその標的配列の間の相補性の領域の中心の 9 ヌクレオチド以内にいかなるミスマッチも含まない。

【0074】

下記表 1 は、例となる siRNA コンストラクト (CNST) のセンスおよびアンチセンス配列を列挙する。NM_018687.6 (配列番号 529) の開始 (ST) および終了 (ED) ヌクレオチド位置を示す。「SEQ」は、配列番号を指す。

【0075】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1 例となる siRNA コンストラクトの配列

CNST 番号	ST	ED	センス配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス配列 (5'-3')	SEQ
001	5	23	CUUAGACCCUCAGUCAUGC	1	GCAUGACUGAGGGUCUAAG	133
002	99	117	CAGAACUGGCACAGCAUGA	2	UCAUGCUGUGCCAGUUCUG	134
003	100	118	AGAACUGGCACAGCAUGAG	3	CUCAUGCUGUGCCAGUUCU	135
004	197	215	CUGACAAAGGCCAGGAACA	4	UGUUCCUGGCCUUUGUCAG	136
005	198	216	UGACAAAGGCCAGGAACAG	5	CUGUUCCUGGCCUUUGUCA	137
006	211	229	GAACAGCCUGGGUCUCUAU	6	AUAGAGACCCAGGCUGUUC	138
007	212	230	AACAGCCUGGGUCUCUAUG	7	CAUAGAGACCCAGGCUGUU	139
008	222	240	GUCUCUAUGGCCGCACAAU	8	AUUGUGCGGCCAUAGAGAC	140
009	288	306	AACUUCGGGCAAGCCUGUU	9	AACAGGCUUGCCCGAAGUU	141
010	297	315	CAAGCCUGUUGGAGACUCA	10	UGAGUCUCCAACAGGCUUG	142
011	298	316	AAGCCUGUUGGAGACUCAG	11	CUGAGUCUCCAACAGGCUU	143
012	299	317	AGCCUGUUGGAGACUCAGA	12	UCUGAGUCUCCAACAGGCU	144
013	300	318	GCCUGUUGGAGACUCAGAU	13	AUCUGAGUCUCCAACAGGC	145
014	301	319	CCUGUUGGAGACUCAGAUG	14	CAUCUGAGUCUCCAACAGG	146
015	302	320	CUGUUGGAGACUCAGAUGG	15	CCAUCUGAGUCUCCAACAG	147
016	303	321	UGUUGGAGACUCAGAUGGA	16	UCCAUCUGAGUCUCCAACA	148
017	304	322	GUUGGAGACUCAGAUGGAG	17	CUCCAUCUGAGUCUCCAAC	149
018	305	323	UUGGAGACUCAGAUGGAGG	18	CCUCCAUCUGAGUCUCCAA	150
019	310	328	GACUCAGAUGGAGGAGGAU	19	AUCCUCCUCCAUCUGAGUC	151
020	312	330	CUCAGAUGGAGGAGGAUUAU	20	AUAUCCUCCUCCAUCUGAG	152
021	313	331	UCAGAUGGAGGAGGAUAUU	21	AAUAUCCUCCUCCAUCUGA	153
022	314	332	CAGAUGGAGGAGGAUAUUC	22	GAAUAUCCUCCUCCAUCUG	154
023	315	333	AGAUGGAGGAGGAUAUUCU	23	AGAAUAUCCUCCUCCAUCU	155
024	316	334	GAUGGAGGAGGAUAUUCUG	24	CAGAAUAUCCUCCUCCAUC	156
025	317	335	AUGGAGGAGGAUAUUCUGC	25	GCAGAAUAUCCUCCUCCA	157
026	318	336	UGGAGGAGGAUAUUCUGCA	26	UGCAGAAUAUCCUCCUCCA	158
027	319	337	GGAGGAGGAUAUUCUGCAG	27	CUGCAGAAUAUCCUCCUCC	159

10

20

30

40

50

【表 2】

CNST 番号	ST	ED	センス配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス配列 (5'-3')	SEQ
028	320	338	GAGGAGGAUAUUCUGCAGC	28	GCUGCAGAAUAUCCUCCUC	160
029	321	339	AGGAGGAUAUUCUGCAGCU	29	AGCUGCAGAAUAUCCUCCU	161
030	328	346	UAUUCUGCAGCUGCAGGCA	30	UGCCUGCAGCUGCAGAAUA	162
031	416	434	CUAGAAGUCCAGCUGAGGA	31	UCCUCAGCUGGACUUCUAG	163
032	417	435	UAGAAGUCCAGCUGAGGAG	32	CUCCUCAGCUGGACUUCUA	164
033	448	466	CCUGCCUACCGAGAAUUU	33	AAAUUCUCGGUAGGCAGGG	165
034	449	467	CCUGCCUACCGAGAAUUUG	34	CAAAUUCUCGGUAGGCAGG	166
035	450	468	CUGCCUACCGAGAAUUUGA	35	UCAAAUUCUCGGUAGGCAG	167
036	451	469	UGCCUACCGAGAAUUUGAG	36	CUCAAAUUCUCGGUAGGCA	168
037	452	470	GCCUACCGAGAAUUUGAGG	37	CCUCAAAUUCUCGGUAGGC	169
038	453	471	CCUACCGAGAAUUUGAGGU	38	ACCUCAAAUUCUCGGUAGG	170
039	454	472	CUACCGAGAAUUUGAGGUC	39	GACCUCAAAUUCUCGGUAG	171
040	455	473	UACCGAGAAUUUGAGGUCU	40	AGACCUCAAAUUCUCGGUA	172
041	456	474	ACCGAGAAUUUGAGGUCUU	41	AAGACCUCAAAUUCUCGGU	173
042	457	475	CCGAGAAUUUGAGGUCUUA	42	UAAGACCUCAAAUUCUCGG	174
043	458	476	CGAGAAUUUGAGGUCUUA	43	UUAAGACCUCAAAUUCUCG	175
044	459	477	GAGAAUUUGAGGUCUUA	44	UUUAAGACCUCAAAUUCUC	176
045	460	478	AGAAUUUGAGGUCUUAAG	45	CUUUAAGACCUCAAAUUCU	177
046	461	479	GAAUUUGAGGUCUUAAGG	46	CCUUAAGACCUCAAAUUC	178
047	462	480	AAUUUGAGGUCUUAAGGC	47	GCCUUAAGACCUCAAAU	179
048	463	481	AUUUGAGGUCUUAAGGCU	48	AGCCUUAAGACCUCAAAU	180
049	464	482	UUUGAGGUCUUAAGGCUC	49	GAGCCUUAAGACCUCAAA	181
050	465	483	UUGAGGUCUUAAGGCUCA	50	UGAGCCUUAAGACCUCAA	182
051	466	484	UGAGGUCUUAAGGCUCAC	51	GUGAGCCUUAAGACCUCA	183
052	467	485	GAGGUCUUAAGGCUCACG	52	CGUGAGCCUUAAGACCUC	184
053	468	486	AGGUCUUAAGGCUCACGC	53	GCGUGAGCCUUAAGACCU	185
054	469	487	GGUCUUAAGGCUCACGCU	54	AGCGUGAGCCUUAAGACC	186
055	470	488	GUCUUAAGGCUCACGCUG	55	CAGCGUGAGCCUUAAGAC	187
056	471	489	UCUUAAGGCUCACGUGA	56	UCAGCGUGAGCCUUAAGA	188
057	472	490	CUUAAGGCUCACGCUGAC	57	GUCAGCGUGAGCCUUAAG	189
058	473	491	UUAAGGCUCACGCUGACA	58	UGUCAGCGUGAGCCUUA	190

10

20

30

40

50

【表 3】

CNST 番号	ST	ED	センス配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス配列 (5'-3')	SEQ
059	474	492	UAAAGGCUCACGCUGACAA	59	UUGUCAGCGUGAGCCUUUA	191
060	475	493	AAAGGCUCACGCUGACAAG	60	CUUGUCAGCGUGAGCCUUU	192
061	486	504	CUGACAAGCAGAGCCACA	61	AUGUGGCUCUGCUUGUCAG	193
062	487	505	UGACAAGCAGAGCCACAUC	62	GAUGUGGCUCUGCUUGUCA	194
063	489	507	ACAAGCAGAGCCACAUCCU	63	AGGAUGUGGCUCUGCUUGU	195
064	490	508	CAAGCAGAGCCACAUCUA	64	UAGGAUGUGGCUCUGCUUG	196
065	491	509	AAGCAGAGCCACAUCCUAU	65	AUAGGAUGUGGCUCUGCUU	197
066	492	510	AGCAGAGCCACAUCCUAUG	66	CAUAGGAUGUGGCUCUGCU	198
067	573	591	GACAGAUCCAGGAGAGACU	67	AGUCUCUCCUGGAUCUGUC	199
068	574	592	ACAGAUCCAGGAGAGACUC	68	GAGUCUCUCCUGGAUCUGU	200
069	576	594	AGAUCCAGGAGAGACUCCA	69	UGGAGUCUCUCCUGGAUCU	201
070	610	628	AGCCUGAAUCUGCCUGGAU	70	AUCCAGGCAGAUUCAGGCU	202
071	613	631	CUGAAUCUGCCUGGAUGGA	71	UCCAUCAGGCAGAUUCAG	203
072	614	632	UGAAUCUGCCUGGAUGGAA	72	UCCAUCAGGCAGAUUCA	204
073	615	633	GAAUCUGCCUGGAUGGAAC	73	GUCCAUCAGGCAGAUUC	205
074	616	634	AAUCUGCCUGGAUGGAACU	74	AGUCCAUCAGGCAGAUU	206
075	617	635	AUCUGCCUGGAUGGAACUG	75	CAGUCCAUCAGGCAGAU	207
076	618	636	UCUGCCUGGAUGGAACUGA	76	UCAGUCCAUCAGGCAGAU	208
077	624	642	UGGAUGGAACUGAGGACCA	77	UGGUCCUCAGUCCAUCCA	209
078	626	644	GAUGGAACUGAGGACCAAU	78	AUUGGUCCUCAGUCCAUC	210
079	627	645	AUGGAACUGAGGACCAAUC	79	GAUUGGUCCUCAGUCCA	211
080	628	646	UGGAACUGAGGACCAAUCA	80	UGAUUGGUCCUCAGUCCA	212
081	629	647	GGAACUGAGGACCAAUCAU	81	AUGAUUGGUCCUCAGUCC	213
082	630	648	GAACUGAGGACCAAUCAUG	82	CAUGAUUGGUCCUCAGUUC	214
083	631	649	AACUGAGGACCAAUCAUGC	83	GCAUGAUUGGUCCUCAGUU	215
084	632	650	ACUGAGGACCAAUCAUGCU	84	AGCAUGAUUGGUCCUCAGU	216
085	633	651	CUGAGGACCAAUCAUGCUG	85	CAGCAUGAUUGGUCCUCAG	217
086	634	652	UGAGGACCAAUCAUGCUGC	86	GCAGCAUGAUUGGUCCUCA	218
087	635	653	GAGGACCAAUCAUGCUGCA	87	UGCAGCAUGAUUGGUCCUC	219
088	636	654	AGGACCAAUCAUGCUGCAA	88	UUGCAGCAUGAUUGGUCCU	220
089	637	655	GGACCAAUCAUGCUGCAAG	89	CUUGCAGCAUGAUUGGUCC	221

10

20

30

40

50

【表 4】

CNST 番号	ST	ED	センス配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス配列 (5'-3')	SEQ
090	638	656	GACCAUCAUGCUGCAAGG	90	CCUUGCAGCAUGAUUGGUC	222
091	639	657	ACCAAUCAUGCUGCAAGGA	91	UCCUUGCAGCAUGAUUGGU	223
092	640	658	CCAAUCAUGCUGCAAGGAA	92	UCCUUGCAGCAUGAUUGG	224
093	641	659	CAAUCAUGCUGCAAGGAAC	93	GUUCCUUGCAGCAUGAUUG	225
094	642	660	AAUCAUGCUGCAAGGAACA	94	UGUCCUUGCAGCAUGAUU	226
095	643	661	AUCAUGCUGCAAGGAACAC	95	GUGUCCUUGCAGCAUGAU	227
096	644	662	UCAUGCUGCAAGGAACACU	96	AGUGUCCUUGCAGCAUGA	228
097	645	663	CAUGCUGCAAGGAACACUU	97	AAGUGUCCUUGCAGCAUG	229
098	646	664	AUGCUGCAAGGAACACUUC	98	GAAGUGUCCUUGCAGCAU	230
099	647	665	UGCUGCAAGGAACACUCC	99	GGAAGUGUCCUUGCAGCA	231
100	648	666	GCUGCAAGGAACACUCCA	100	UGGAAGUGUCCUUGCAGC	232
101	698	716	UGCCUGUUCACUGGGAUCA	101	UGAUCCAGUGAACAGGCA	233
102	702	720	UGUUCACUGGGAUCAGCCA	102	UGGCUGAUCCAGUGAACA	234
103	734	752	CACUUCUGAGCACAGAGCA	103	UGCUCUGGCUCAGAAGUG	235
104	735	753	ACUUCUGAGCACAGAGCAG	104	CUGCUCUGGCUCAGAAGU	236
105	740	758	UGAGCACAGAGCAGAGACA	105	UGUCUCUGCUCUGGCUCA	237
106	742	760	AGCACAGAGCAGAGACAGA	106	UCUGUCUCUGCUCUGGCU	238
107	770	788	GGACAAAGGCAGAGGAUGU	107	ACAUCCUCUGCCUUUGUCC	239
108	771	789	GACAAAGGCAGAGGAUGUA	108	UACAUCCUCUGCCUUUGUC	240
109	772	790	ACAAAGGCAGAGGAUGUAG	109	CUACAUCCUCUGCCUUUGU	241
110	773	791	CAAAGGCAGAGGAUGUAGC	110	GCUACAUCCUCUGCCUUUG	242
111	774	792	AAAGGCAGAGGAUGUAGCC	111	GGCUACAUCCUCUGCCUUU	243
112	779	797	CAGAGGAUGUAGCCCCAUU	112	AAUGGGGCUACAUCCUCUG	244
113	780	798	AGAGGAUGUAGCCCCAUUG	113	CAAUGGGGCUACAUCCUCU	245
114	820	838	UGUACCCUUCAUGCCUAC	114	GUAGGCAUGAAAGGGUACA	246
115	821	839	GUACCCUUCAUGCCUACA	115	UGUAGGCAUGAAAGGGUAC	247
116	822	840	UACCCUUCAUGCCUACAC	116	GUGUAGGCAUGAAAGGGUA	248
117	823	841	ACCCUUCAUGCCUACACA	117	UGUGUAGGCAUGAAAGGGU	249
118	824	842	CCCUUCAUGCCUACACAC	118	GUGUGUAGGCAUGAAAGGG	250
119	825	843	CCUUCAUGCCUACACACC	119	GGUGUGUAGGCAUGAAAGG	251
120	826	844	CUUUC AUGCCUACACACC	120	GGGUGUGUAGGCAUGAAAG	252

10

20

30

40

50

【表 5】

CNST 番号	ST	ED	センス配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス配列 (5'-3')	SEQ
121	827	845	UUUCAUGCCUACACACCCC	121	GGGGUGUGUAGGCAUGAAA	253
122	842	860	CCCCUCAUUAAGCAGAGU	122	ACUCUGCUUUAAGAGGGG	254
123	843	861	CCCUCAUUAAGCAGAGUC	123	GACUCUGCUUUAAGAGGG	255
124	844	862	CCUCAUUAAGCAGAGUCG	124	CGACUCUGCUUUAAGAGG	256
125	845	863	CUCAUUAAGCAGAGUCGU	125	ACGACUCUGCUUUAAGAG	257
126	846	864	UCAUUAAGCAGAGUCGUG	126	CACGACUCUGCUUUAAGA	258
127	847	865	CAUUAAGCAGAGUCGUGG	127	CCACGACUCUGCUUUAUG	259
128	848	866	AUUAAGCAGAGUCGUGGC	128	GCCACGACUCUGCUUUAU	260
129	849	867	UUAAGCAGAGUCGUGGCA	129	UGCCACGACUCUGCUUUA	261
130	850	868	UAAAGCAGAGUCGUGGCAU	130	AUGCCACGACUCUGCUUUA	262
131	851	869	AAAGCAGAGUCGUGGCAUC	131	GAUGCCACGACUCUGCUUU	263
132	852	870	AAGCAGAGUCGUGGCAUCU	132	AGAUGCCACGACUCUGCUU	264

10

20

【0076】

I. 4 ヌクレオチド修飾

本開示の dsRNA は、例えば、細胞取り込み、標的配列に対する親和性、阻害活性、および／または安定性を向上させるために1つまたはそれ以上の修飾を含むことができる。修飾としては、例えば、末端修飾、塩基修飾、糖修飾／置換、および骨格修飾を含む、当該技術分野において既知の任意の修飾を挙げることができる。末端修飾としては、例えば、5'末端修飾（例えば、リン酸化、コンジュゲーション、および反転結合（*inverted linkage*））ならびに3'末端修飾（例えば、コンジュゲーション、DNA ヌクレオチド、および反転結合）を挙げることができる。塩基修飾としては、例えば、安定化塩基、不安定化塩基もしくは広範なレパートリーのパートナーと塩基対を作る塩基による置換、塩基の除去（ヌクレオチドの脱塩基修飾）、またはコンジュゲートされた塩基を挙げることができる。糖修飾または置換としては、例えば、糖部分の2'もしくは4'位における修飾、または糖部分の置換を挙げることができる。骨格修飾としては、例えば、1つまたはそれ以上のホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、リン酸トリエステル、メチルおよびその他のアルキルホスホナート、ホスフィナート、ならびにホスホルアミダートによる、例えば、リン酸ジエステル結合の修飾または置換を挙げることができる。

30

【0077】

本明細書中で使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、天然に存在するもしくは修飾ヌクレオチド、または代替置換部分を含む。修飾ヌクレオチドは、天然に存在しないヌクレオチドであり、本明細書において、「ヌクレオチドアナログ」とも呼ばれる。当業者は、ヌクレオチドのグアニン、シトシン、アデニン、ウラシル、またはチミンを、修飾ヌクレオチドの塩基対合特性を実質的に変えることなく他の部分によって置換することができることを理解するであろう。例えば、塩基としてイノシンを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むヌクレオチドと塩基対を作ることができる。したがって、本開示のヌクレオチド配列中のウラシル、グアニン、またはアデニンを含むヌクレオチドは、例えば、イノシンを含むヌクレオチドによって置換することができる。そのような置換部分を含む配列は、本開示の実施形態として含まれる。修飾ヌクレオチドは、リボース部分が非リボース部分により置換されたヌクレオチドも可能である。

40

50

【0078】

本開示のdsRNAとしては、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-デオキシ修飾ヌクレオチド、2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、チオホスフェートおよびホスホロチオアートなどの代替ヌクレオチド間結合を含む修飾ヌクレオチド、リン酸トリエステル修飾ヌクレオチド、末端でコレステロール誘導体または親油性部分と連結された修飾ヌクレオチド、ペプチド核酸（PNA；例えば、Nielsenら、Science（1991年）254：1497～1500頁を参照）、拘束エチル（constrained ethyl）（cEt）修飾ヌクレオチド、反転デオキシ修飾ヌクレオチド（inverted deoxy modified nucleotide）、反転ジデオキシ修飾ヌクレオチド（inverted dideoxy modified nucleotide）、ロックド核酸（locked nucleic acid）修飾ヌクレオチド、ヌクレオチドの脱塩基修飾、2'-アミノ修飾ヌクレオチド、2'-アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノ修飾ヌクレオチド、ホスホルアミダート修飾ヌクレオチド、オリゴヌクレオチドの糖または塩基の他の部位に修飾を含む修飾ヌクレオチド、ならびに非天然塩基含有修飾ヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない、当該技術分野において既知の1つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドを含むことができる。いくつかの実施形態において、1つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドのうちの少なくとも1つは、2'-O-メチルヌクレオチド、5'-ホスホロチオアートヌクレオチド、またはコレステロール誘導体、親油性もしくはその他の標的化部分と連結された末端ヌクレオチドである。オリゴヌクレオチドのヌクレオチド中への2'-O-メチル、2'-O-エチル、2'-O-プロピル、2'-O-アルキル、2'-O-アミノアルキル、または2'-デオキシ-2'-フルオロ（すなわち、2'-フルオロ）基の組み込みにより、オリゴヌクレオチドに向上したハイブリダイゼーション特性および／または向上したヌクレアーゼ安定性を付与することができる。さらに、ホスホロチオアート骨格を含むオリゴヌクレオチド（例えば、dsRNAの1つまたはそれ以上の位置の隣接する2つのヌクレオチド間のホスホロチオアート結合）は、向上したヌクレアーゼ安定性を有する場合もある。いくつかの実施形態において、dsRNAは、ロックド核酸（LNA）単位などの修飾リボースを有するヌクレオチドを含むことができる。

【0079】

いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、1つまたはそれ以上の2'-O-メチルヌクレオチドおよび1つまたはそれ以上の2'-フルオロヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、2つまたはそれ以上の2'-O-メチルヌクレオチドおよび2つまたはそれ以上の2'-フルオロヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、2つまたはそれ以上の2'-O-メチルヌクレオチド（OMe）および2つまたはそれ以上の2'-フルオロヌクレオチド（F）を交互のパターン、例えば、パターンOMe-F-OMe-FまたはパターンF-OMe-F-OMeで含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、それぞれ2'-O-メチルヌクレオチドである最大10の連続するヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、それぞれが2'-フルオロヌクレオチドである最大10の連続するヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、アンチセンス鎖の5'または3'末端に2つまたはそれ以上の2'-フルオロヌクレオチドを含む。

【0080】

いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、1つまたはそれ以上のホスホロチオアート基を含む。いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、2つもしくはそれ以上、3つもしくはそれ以上、4つもしくはそれ以上、5つしくはそれ以上、6つしくはそれ以上、7つしくはそれ以上、8つしくはそれ以上、9つしくはそれ以上、または10個もしくはそれ以上のホスホロチオアート基を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、いかなるホスホロチオアート基も含まない。

【0081】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、1つまたはそれ以上のリン酸トリエステ

ル基を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、2つもしくはそれ以上、3つもしくはそれ以上、4つもしくはそれ以上、5つもしくはそれ以上、6つもしくはそれ以上、7つもしくはそれ以上、8つもしくはそれ以上、9つもしくはそれ以上、または10個もしくはそれ以上のリン酸トリエステル基を含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、いかなるリン酸トリエステル基も含まない。

【0082】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、dsRNAの二本鎖部分内に、例えば、デオキシリボヌクレオシドオーバーハングを含む、デオキシリボヌクレオシドなどの修飾リボヌクレオシド、および1つまたはそれ以上のデオキシリボヌクレオシドを含む。ただし、いかなる状況でも、「dsRNA」という用語に二本鎖のDNA分子が含まれることは自明のことである。

【0083】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、2つもしくはそれ以上、3つもしくはそれ以上、4つもしくはそれ以上、5つもしくはそれ以上、6つもしくはそれ以上、7つもしくはそれ以上、8つもしくはそれ以上、9つもしくはそれ以上、または10個もしくはそれ以上の本明細書に記載されている異なる修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、最大2つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大3つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大4つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大5つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大6つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大7つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大8つの連続的な修飾ヌクレオチド、最大9つの連続的な修飾ヌクレオチド、または最大10個の連続的な修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、連続的な修飾ヌクレオチドは、同じ修飾ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、連続的な修飾ヌクレオチドは、2つもしくはそれ以上、3つもしくはそれ以上、4つもしくはそれ以上、5つもしくはそれ以上、6つもしくはそれ以上、7つもしくはそれ以上、8つもしくはそれ以上、9つもしくはそれ以上、または10個もしくはそれ以上の異なる修飾ヌクレオチドである。

【0084】

下記表2は、修飾ヌクレオチドを含む例となるsiRNAコンストラクト(CNST)の配列を列挙する。NM_018687.6(配列番号529)の開始(ST)および終了(ED)ヌクレオチド位置を示す。略語は以下のとおりである：SEQ=配列番号；mX=2'-O-Meヌクレオチド；fX=2'-Fヌクレオチド；dX=DNAヌクレオチド；invdX=反転dX；PO=リン酸ジエステル結合；およびHy=ヒドロキシル基。これらのコンストラクトにおいて、それらのセンス鎖およびアンチセンス鎖の配列は、(1)修飾ヌクレオチドmXおよびfX、(2)両鎖の5'および3'末端に「Hy」、(3)センス鎖ヌクレオチド配列の5'末端にmC-mC-mA、(4)センス鎖ヌクレオチド配列の3'末端にinvdT、および(5)アンチセンス鎖ヌクレオチド配列の3'末端にdT-dTを含むことを別にすれば、同じコンストラクト番号を有する表1のコンストラクトのセンスおよびアンチセンス配列と対応する。これらのコンストラクトにおいて、ヌクレオチドの塩基対は、いくつかの実施形態では、異なるように修飾することができ、例えば、塩基対の一方のヌクレオチドが2'-O-Meリボヌクレオチドであり、他方が2'-Fヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖は、5'末端に2つの2'-Fヌクレオチドを含む。

【0085】

10

20

30

40

50

【表 6】

表 2 例となる修飾 siRNA コンストラクトの配列

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
001	5	23	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-invdtT-Hy	265	Hy-fG-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mG-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	397
002	99	117	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-invdtT-Hy	266	Hy-fU-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	398
003	100	118	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-invdtT-Hy	267	Hy-fC-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	399
004	197	215	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-mA-PO-fA-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fC- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-invdtT-Hy	268	Hy-fU-PO-fG-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mG-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mU-PO-fU- PO-mG-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	400
005	198	216	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-invdtT-Hy	269	Hy-fC-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mU-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	401
006	211	229	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fG- PO-mG-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mA- PO-fU-PO-invdtT-Hy	270	Hy-fA-PO-fU-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-mC-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	402
007	212	230	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fG- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-invdtT-Hy	271	Hy-fC-PO-fA-PO-mU-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mC-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	403

10

20

30

40

50

【表 7】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
008	222	240	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fA-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fC- PO-mC-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	272	Hy-fA-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fG-PO-mG-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mU-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	404
009	288	306	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mA-PO-fG-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fU-PO-invdt-Hy	273	Hy-fA-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mC-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	405
010	297	315	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fU-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	274	Hy-fU-PO-fG-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO- mA-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	406
011	298	316	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mU-PO-fU-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	275	Hy-fC-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mA-PO-fA-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	407
012	299	317	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fU-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	276	Hy-fU-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mA-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	408
013	300	318	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mU-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	277	Hy-fA-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fA- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	409
014	301	319	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fU-PO-mU-PO-fG-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	278	Hy-fC-PO-fA-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mA-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	410
015	302	320	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fU-PO-mG-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mA-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fG-PO-invdt-Hy	279	Hy-fC-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fU-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fC- PO-mA-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	411

10

20

30

40

50

【表 8】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
016	303	321	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mU- PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fA-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	280	Hy-fU-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mU-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	412
017	304	322	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fU-PO-mG- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	281	Hy-fC-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	413
018	305	323	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fA-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-invdt-Hy	282	Hy-fC-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mU-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	414
019	310	328	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fU-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	283	Hy-fA-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mA-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	415
020	312	330	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	284	Hy-fA-PO-fU-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	416
021	313	331	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mU-PO-fG-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU- PO-fU-PO-invdt-Hy	285	Hy-fA-PO-fA-PO-mU-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	417
022	314	332	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-mG-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	286	Hy-fG-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fC- PO-mA-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	418
023	315	333	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fA-PO-mU-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	287	Hy-fA-PO-fG-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	419

10

20

30

40

50

【表 9】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
024	316	334	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fU-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	288	Hy-fC-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mA- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	420
025	317	335	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-invdt-Hy	289	Hy-fG-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU- PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	421
026	318	336	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fU- PO-mA-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	290	Hy-fU-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-mA-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	422
027	319	337	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fA-PO-mU-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	291	Hy-fC-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO- mU-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	423
028	320	338	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mA-PO-fU-PO-mA-PO-fU- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-invdt-Hy	292	Hy-fG-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mA-PO-fU-PO- mA-PO-fU-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	424
029	321	339	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO- mU-PO-fA-PO-mU-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	293	Hy-fA-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO- mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	425
030	328	346	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	294	Hy-fU-PO-fG-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	426
031	416	434	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mA-PO-fG-PO- mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	295	Hy-fU-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mG-PO-fA-PO-mC-PO-fU- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	427

10

20

30

40

50

【表 10】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
032	417	435	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-mG-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	296	Hy-fC-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fC- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	428
033	448	466	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fA-PO-mC-PO-fC- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fU-PO-invdt-Hy	297	Hy-fA-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mG-PO-fG-PO- mU-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	429
034	449	467	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mA-PO-fC-PO-mC-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fU-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	298	Hy-fC-PO-fA-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO- mG-PO-fU-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	430
035	450	468	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fA-PO- mC-PO-fC-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	299	Hy-fU-PO-fC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mG-PO-fG-PO-mU-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	431
036	451	469	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mA-PO-fC-PO- mC-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO- fU-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	300	Hy-fC-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mA-PO-fA-PO-mU- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fG-PO-mG-PO-fU- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	432
037	452	470	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fA-PO-mC-PO-fC-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mA-PO-fU-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-invdt-Hy	301	Hy-fC-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mG-PO-fG- PO-mU-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	433
038	453	471	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mA- PO-fC-PO-mC-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fU-PO-invdt-Hy	302	Hy-fA-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fG- PO-mG-PO-fU-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	434
039	454	472	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fA-PO-mC- PO-fC-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fA-PO-mA-PO-fU- PO-mU-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	303	Hy-fG-PO-fA-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fA-PO-mA-PO-fU-PO- mU-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mG-PO-fG-PO-mU-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	435

10

20

30

40

50

【表 1 1】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
040	455	473	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fC-PO-mC- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU- PO-mU-PO-fG-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	304	Hy-fA-PO-fG-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-mA-PO-fA-PO- mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PO- fU-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	436
041	456	474	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fC-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fA-PO- mA-PO-fU-PO-mU-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-invdt-Hy	305	Hy-fA-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fA-PO- mA-PO-fU-PO-mU-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mG-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	437
042	457	475	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO- mU-PO-fU-PO-mU-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fA-PO-invdt-Hy	306	Hy-fU-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fA-PO- mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	438
043	458	476	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mA-PO-fU-PO- mU-PO-fU-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mA- PO-fA-PO-invdt-Hy	307	Hy-fU-PO-fU-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mA-PO-fA-PO-mA-PO-fU- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	439
044	459	477	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- mU-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-fA-PO-mA- PO-fA-PO-invdt-Hy	308	Hy-fU-PO-fU-PO-mU-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fA-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	440
045	460	478	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-mU-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mA-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	309	Hy-fC-PO-fU-PO-mU-PO- fU-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fA- PO-mA-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	441
046	461	479	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU- PO-fU-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mU-PO- fA-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-invdt-Hy	310	Hy-fC-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mU-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	442
047	462	480	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mU-PO-fC- PO-mU-PO-fU-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fC-PO-invdt-Hy	311	Hy-fG-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-fU-PO-mA- PO-fA-PO-mG-PO-fA-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	443

10

20

30

40

50

【表 1 2】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
048	463	481	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fU-PO-mU- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mU-PO-fA-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	312	Hy-fA-PO-fG-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mU- PO-fA-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	444
049	464	482	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mU-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mA-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	313	Hy-fG-PO-fA-PO-mG-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fU-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fA-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	445
050	465	483	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fU-PO- mC-PO-fU-PO-mU-PO-fA- PO-mA-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mC-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	314	Hy-fU-PO-fG-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-mU-PO-fA-PO- mA-PO-fG-PO-mA-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	446
051	466	484	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fU-PO-mA-PO-fA- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	315	Hy-fG-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mU-PO-fU-PO- mA-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	447
052	467	485	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mU-PO-fA-PO-mA-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mC- PO-fG-PO-invdt-Hy	316	Hy-fC-PO-fG-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fU-PO- mU-PO-fA-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	448
053	468	486	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fU-PO- mA-PO-fA-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mG- PO-fC-PO-invdt-Hy	317	Hy-fG-PO-fC-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mU-PO-fU-PO-mA-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	449
054	469	487	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mU-PO-fA-PO- mA-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	318	Hy-fA-PO-fG-PO-mC-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fU-PO-mU-PO-fA- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	450
055	470	488	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-mA-PO-fA-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO- fC-PO-mG-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	319	Hy-fC-PO-fA-PO-mG-PO- fC-PO-mG-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mU-PO-fU- PO-mA-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	451

10

20

30

40

50

【表 13】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
056	471	489	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fA-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mC-PO- fG-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	320	Hy-fU-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-fG-PO-mU- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mU-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	452
057	472	490	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mA- PO-fA-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fC-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	321	Hy-fG-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mG- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mU-PO-fU-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	453
058	473	491	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fA-PO-mA- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mC-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	322	Hy-fU-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fG-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fU-PO-mU-PO- fA-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	454
059	474	492	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fC- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fA-PO-invdt-Hy	323	Hy-fU-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mG-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mU-PO- fU-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	455
060	475	493	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fA-PO-mC-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	324	Hy-fC-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fG-PO- mU-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	456
061	486	504	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	325	Hy-fA-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mG-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	457
062	487	505	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-mA-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	326	Hy-fG-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fU- PO-mU-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	458
063	489	507	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fC- PO-mC-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	327	Hy-fA-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fG-PO-mG-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	459

10

20

30

40

50

【表 1 4】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
064	490	508	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mC-PO-fC- PO-mA-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fA-PO-invdt-Hy	328	Hy-fU-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fU-PO-mG-PO-fG-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	460
065	491	509	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	329	Hy-fA-PO-fU-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-mU-PO-fG-PO- mG-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	461
066	492	510	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fC- PO-mA-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	330	Hy-fC-PO-fA-PO-mU-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-mG-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	462
067	573	591	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mA-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	331	Hy-fA-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fU- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	463
068	574	592	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	332	Hy-fG-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	464
069	576	594	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	333	Hy-fU-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	465
070	610	628	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mA-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	334	Hy-fA-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fU-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	466
071	613	631	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	335	Hy-fU-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	467

10

20

30

40

50

【表 15】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'・3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'・3')	SEQ
072	614	632	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-invdt-Hy	336	Hy-fU-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	468
073	615	633	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	337	Hy-fG-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	469
074	616	634	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fU-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	338	Hy-fA-PO-fG-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	470
075	617	635	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	339	Hy-fC-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	471
076	618	636	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fU- PO-mG-PO-fG-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	340	Hy-fU-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-mA-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	472
077	624	642	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-mG-PO-fG-PO- mA-PO-fA-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	341	Hy-fU-PO-fG-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mU-PO-fU-PO-mC-PO-fC- PO-mA-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	473
078	626	644	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-invdt-Hy	342	Hy-fA-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mG-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mU-PO-fU- PO-mC-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	474
079	627	645	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-mA-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	343	Hy-fG-PO-fA-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fU- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	475

10

20

30

40

50

【表 16】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
080	628	646	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-invdtT-Hy	344	Hy-fU-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	476
081	629	647	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mC-PO-fC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-invdtT-Hy	345	Hy-fA-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-fU-PO-mG- PO-fG-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	477
082	630	648	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fC- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-invdtT-Hy	346	Hy-fC-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fG-PO-mG-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	478
083	631	649	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fA-PO-mC-PO-fC- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-invdtT-Hy	347	Hy-fG-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mU- PO-fU-PO-mG-PO-fG-PO- mU-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	479
084	632	650	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mA-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mA-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-invdtT-Hy	348	Hy-fA-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-mU-PO-fG-PO- mG-PO-fU-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	480
085	633	651	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO- mC-PO-fC-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-invdtT-Hy	349	Hy-fC-PO-fA-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- mG-PO-fG-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	481
086	634	652	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mA-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-invdtT-Hy	350	Hy-fG-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-mA-PO-fU-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fU- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	482
087	635	653	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-mC-PO-fC-PO- mA-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-invdtT-Hy	351	Hy-fU-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mU-PO-fU-PO-mG-PO-fG- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	483

10

20

30

40

50

【表 17】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
088	636	654	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO- mA-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fA-PO-invdt-Hy	352	Hy-fU-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fU-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	484
089	637	655	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fC-PO-mA-PO-fA-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	353	Hy-fC-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mU-PO-fU- PO-mG-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	485
090	638	656	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-mA-PO-fU-PO- mC-PO-fA-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-invdt-Hy	354	Hy-fC-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mU-PO-fG-PO-mA-PO-fU- PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	486
091	639	657	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fC-PO-mA- PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO- mA-PO-fU-PO-mG-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	355	Hy-fU-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fC-PO- mA-PO-fU-PO-mG-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mG-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	487
092	640	658	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fU-PO-mC-PO-fA-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mA- PO-fA-PO-invdt-Hy	356	Hy-fU-PO-fU-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mU-PO-fG- PO-mA-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	488
093	641	659	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	357	Hy-fG-PO-fU-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	489
094	642	660	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fC- PO-mA-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	358	Hy-fU-PO-fG-PO-mU-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-mG-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	490
095	643	661	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-mG-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	359	Hy-fG-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fC- PO-mA-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	491

10

20

30

40

50

【表 18】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
096	644	662	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mC- PO-fU-PO-invdt-Hy	360	Hy-fA-PO-fG-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	492
097	645	663	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-invdt-Hy	361	Hy-fA-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	493
098	646	664	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fC-PO- mA-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	362	Hy-fG-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fU-PO-mG-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	494
099	647	665	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mA-PO-fG-PO-mG-PO-fA- PO-mA-PO-fC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-invdt-Hy	363	Hy-fG-PO-fG-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fU-PO-mG- PO-fU-PO-mU-PO-fC-PO- mC-PO-fU-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	495
100	648	666	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mA-PO-fA- PO-mC-PO-fA-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	364	Hy-fU-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mU- PO-fG-PO-mU-PO-fU-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	496
101	698	716	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fU-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	365	Hy-fU-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mA-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	497
102	702	720	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fU-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	366	Hy-fU-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mA- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	498
103	734	752	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fC- PO-mA-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	367	Hy-fU-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fU-PO-mG-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	499

10

20

30

40

50

【表 19】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
104	735	753	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	368	Hy-fC-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	500
105	740	758	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	369	Hy-fU-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	501
106	742	760	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mG- PO-fA-PO-invdt-Hy	370	Hy-fU-PO-fC-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	502
107	770	788	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mA-PO-fU-PO-mG- PO-fU-PO-invdt-Hy	371	Hy-fA-PO-fC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mU-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	503
108	771	789	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fA-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fA-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fA-PO-invdt-Hy	372	Hy-fU-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mU-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	504
109	772	790	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mA- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mA- PO-fG-PO-invdt-Hy	373	Hy-fC-PO-fU-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fU-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	505
110	773	791	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-invdt-Hy	374	Hy-fG-PO-fC-PO-mU-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mU-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	506
111	774	792	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mA-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fC-PO-invdt-Hy	375	Hy-fG-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	507

10

20

30

40

50

【表 20】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
112	779	797	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fG-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO- mU-PO-fG-PO-mU-PO-fA- PO-mG-PO-fC-PO-mC-PO- fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fU-PO-invdt-Hy	376	Hy-fA-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mG-PO-fG-PO-mG- PO-fC-PO-mU-PO-fA-PO- mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	508
113	780	798	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mA-PO-fU-PO- mG-PO-fU-PO-mA-PO-fG- PO-mC-PO-fC-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	377	Hy-fC-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mG- PO-fG-PO-mC-PO-fU-PO- mA-PO-fC-PO-mA-PO-fU- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	509
114	820	838	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mA- PO-fC-PO-mC-PO-fC-PO- mU-PO-fU-PO-mU-PO-fC- PO-mA-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	378	Hy-fG-PO-fU-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-mG-PO-fA-PO- mA-PO-fA-PO-mG-PO-fG- PO-mG-PO-fU-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	510
115	821	839	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fA-PO-mC- PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO- mU-PO-fU-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fG-PO-mC-PO- fC-PO-mU-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	379	Hy-fU-PO-fG-PO-mU-PO- fA-PO-mG-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-mU-PO-fG-PO- mA-PO-fA-PO-mA-PO-fG- PO-mG-PO-fG-PO-mU-PO- fA-PO-mC-PO-dT-PO-dT- Hy	511
116	822	840	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fC-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-fU-PO- mU-PO-fC-PO-mA-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mC-PO- fU-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	380	Hy-fG-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mA-PO-fG-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fU-PO- mG-PO-fA-PO-mA-PO-fA- PO-mG-PO-fG-PO-mG-PO- fU-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	512
117	823	841	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mC-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mU-PO-fU-PO- mC-PO-fA-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mC- PO-fA-PO-invdt-Hy	381	Hy-fU-PO-fG-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fA-PO-mG- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mU-PO-fG-PO-mA-PO-fA- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fG-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	513
118	824	842	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fU-PO-mU-PO-fC-PO- mA-PO-fU-PO-mG-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mA- PO-fC-PO-invdt-Hy	382	Hy-fG-PO-fU-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mA- PO-fG-PO-mG-PO-fC-PO- mA-PO-fU-PO-mG-PO-fA- PO-mA-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	514
119	825	843	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mU- PO-fU-PO-mC-PO-fA-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fA-PO-mC- PO-fC-PO-invdt-Hy	383	Hy-fG-PO-fG-PO-mU-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mU-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	515

10

20

30

40

50

【表 2 1】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
120	826	844	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fU-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mA-PO-fC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mC- PO-fC-PO-invdt-Hy	384	Hy-fG-PO-fG-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-fU-PO-mG- PO-fU-PO-mA-PO-fG-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mA-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	516
121	827	845	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fC-PO-mU-PO-fA- PO-mC-PO-fA-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fC-PO-mC- PO-fC-PO-invdt-Hy	385	Hy-fG-PO-fG-PO-mG-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mU- PO-fG-PO-mU-PO-fA-PO- mG-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fG-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	517
122	842	860	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fC-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fA-PO- mU-PO-fU-PO-mA-PO-fA- PO-mA-PO-fG-PO-mC-PO- fA-PO-mG-PO-fA-PO-mG- PO-fU-PO-invdt-Hy	386	Hy-fA-PO-fC-PO-mU-PO- fC-PO-mU-PO-fG-PO-mC- PO-fU-PO-mU-PO-fU-PO- mA-PO-fA-PO-mU-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mG-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	518
123	843	861	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-fU-PO- mU-PO-fA-PO-mA-PO-fA- PO-mG-PO-fC-PO-mA-PO- fG-PO-mA-PO-fG-PO-mU- PO-fC-PO-invdt-Hy	387	Hy-fG-PO-fA-PO-mC-PO- fU-PO-mC-PO-fU-PO-mG- PO-fC-PO-mU-PO-fU-PO- mU-PO-fA-PO-mA-PO-fU- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	519
124	844	862	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC- PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- mA-PO-fA-PO-mA-PO-fG- PO-mC-PO-fA-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-fU-PO-mC- PO-fG-PO-invdt-Hy	388	Hy-fC-PO-fG-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mU- PO-fG-PO-mC-PO-fU-PO- mU-PO-fU-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fG-PO-mA-PO- fG-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	520
125	845	863	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mU-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-mU-PO-fA-PO- mA-PO-fA-PO-mG-PO-fC- PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO- fG-PO-mU-PO-fC-PO-mG- PO-fU-PO-invdt-Hy	389	Hy-fA-PO-fC-PO-mG-PO- fA-PO-mC-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-mG-PO-fC-PO- mU-PO-fU-PO-mU-PO-fA- PO-mA-PO-fU-PO-mG-PO- fA-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	521
126	846	864	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fU-PO-mA-PO-fA-PO- mA-PO-fG-PO-mC-PO-fA- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO- fU-PO-mC-PO-fG-PO-mU- PO-fG-PO-invdt-Hy	390	Hy-fC-PO-fA-PO-mC-PO- fG-PO-mA-PO-fC-PO-mU- PO-fC-PO-mU-PO-fG-PO- mC-PO-fU-PO-mU-PO-fU- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	522
127	847	865	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mU- PO-fA-PO-mA-PO-fA-PO- mG-PO-fC-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fG-PO-mU-PO- fC-PO-mG-PO-fU-PO-mG- PO-fG-PO-invdt-Hy	391	Hy-fC-PO-fC-PO-mA-PO- fC-PO-mG-PO-fA-PO-mC- PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO- mG-PO-fC-PO-mU-PO-fU- PO-mU-PO-fA-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-dT-PO-dT- Hy	523

10

20

30

40

50

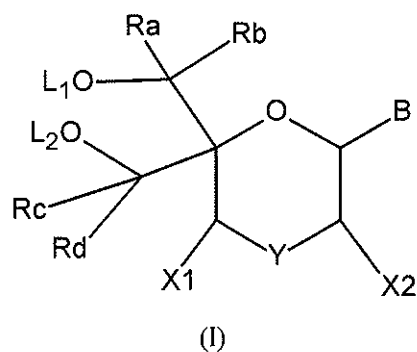
【表 2 2】

CNST 番号	ST	ED	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
128	848	866	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-fU-PO-mA- PO-fA-PO-mA-PO-fG-PO- mC-PO-fA-PO-mG-PO-fA- PO-mG-PO-fU-PO-mC-PO- fG-PO-mU-PO-fG-PO-mG- PO-fC-PO-invdtT-Hy	392	Hy-fG-PO-fC-PO-mC-PO- fA-PO-mC-PO-fG-PO-mA- PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO- mU-PO-fG-PO-mC-PO-fU- PO-mU-PO-fU-PO-mA-PO- fA-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	524
129	849	867	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mU-PO-fA-PO-mA- PO-fA-PO-mG-PO-fC-PO- mA-PO-fG-PO-mA-PO-fG- PO-mU-PO-fC-PO-mG-PO- fU-PO-mG-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-invdtT-Hy	393	Hy-fU-PO-fG-PO-mC-PO- fC-PO-mA-PO-fC-PO-mG- PO-fA-PO-mC-PO-fU-PO- mC-PO-fU-PO-mG-PO-fC- PO-mU-PO-fU-PO-mU-PO- fA-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	525
130	850	868	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fU-PO-mA-PO-fA-PO-mA- PO-fG-PO-mC-PO-fA-PO- mG-PO-fA-PO-mG-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mU-PO- fG-PO-mG-PO-fC-PO-mA- PO-fU-PO-invdtT-Hy	394	Hy-fA-PO-fU-PO-mG-PO- fC-PO-mC-PO-fA-PO-mC- PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO- mU-PO-fC-PO-mU-PO-fG- PO-mC-PO-fU-PO-mU-PO- fU-PO-mA-PO-dT-PO-dT- Hy	526
131	851	869	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fA-PO-mG- PO-fC-PO-mA-PO-fG-PO- mA-PO-fG-PO-mU-PO-fC- PO-mG-PO-fU-PO-mG-PO- fG-PO-mC-PO-fA-PO-mU- PO-fC-PO-invdtT-Hy	395	Hy-fG-PO-fA-PO-mU-PO- fG-PO-mC-PO-fC-PO-mA- PO-fC-PO-mG-PO-fA-PO- mC-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mG-PO-fC-PO-mU-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	527
132	852	870	Hy-mC-PO-mC-PO-mA-PO- fA-PO-mA-PO-fG-PO-mC- PO-fA-PO-mG-PO-fA-PO- mG-PO-fU-PO-mC-PO-fG- PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO- fC-PO-mA-PO-fU-PO-mC- PO-fU-PO-invdtT-Hy	396	Hy-fA-PO-fG-PO-mA-PO- fU-PO-mG-PO-fC-PO-mC- PO-fA-PO-mC-PO-fG-PO- mA-PO-fC-PO-mU-PO-fC- PO-mU-PO-fG-PO-mC-PO- fU-PO-mU-PO-dT-PO-dT- Hy	528

【0086】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、国際公開第2019/170731号に記載されている1つまたはそれ以上の修飾ヌクレオチドを含み、その開示の全体を本明細書に組み入れる。そのような修飾ヌクレオチドにおいて、リボース環は、六員複素環によって置換されている。そのような修飾ヌクレオチドは、式(I)：

【化3】



の構造を有するか、または薬学的に許容されるその塩であり、式中：

10

20

30

40

50

- － Bは、複素環式核酸塩基であり；
- － L 1およびL 2の一方は、式（I）の化合物をポリヌクレオチドと連結するヌクレオシド間連結基であり、L 1およびL 2の他方は、H、保護基、リン部分もしくは式（I）の化合物をポリヌクレオチドと連結するヌクレオシド間連結基であり、
- － Yは、O、NH、NR 1もしくはN－C（＝O）－R 1であり、式中、R 1は、以下であり：

・ 場合により、ハロゲン原子、（C 1～C 6）アルキル基、（C 3～C 8）シクロアルキル基、（C 3～C 1 4）ヘテロ環、（C 6～C 1 4）アリール基、（C 5～C 1 4）ヘテロアリール基、－O－Z 1、－N（Z 1）（Z 2）、－S－Z 1、－CN、－C（＝J）－O－Z 1、－O－C（＝J）－Z 1、－C（＝J）－N（Z 1）（Z 2）、および－N（Z 1）－C（＝J）－Z 2から選択される1つもしくはそれ以上の基によって置換された（C 1～C 2 0）アルキル基（式中、

Jは、OもしくはSであり、

Z 1およびZ 2のそれぞれは、独立して、H、場合により、ハロゲン原子および（C 1～C 6）アルキル基から選択される1つもしくはそれ以上の基によって置換された（C 1～C 6）アルキル基である）、

・ 場合により、ハロゲン原子および（C 1～C 6）アルキル基から選択される1つもしくはそれ以上の基によって置換された（C 3～C 8）シクロアルキル基、

・ 基－[C（＝O）]^m－R 2－（O－CH₂－CH₂）^p－R 3（式中、

mは、0もしくは1を意味する整数であり、

pは、0から1 0の範囲の整数であり、

R 2は、場合により、（C 1～C 6）アルキル基、－O－Z 3、－N（Z 3）（Z 4）、－S－Z 3、－CN、－C（＝K）－O－Z 3、－O－C（＝K）－Z 3、－C（＝K）－N（Z 3）（Z 4）、もしくは－N（Z 3）－C（＝K）－Z 4によって置換された（C 1～C 2 0）アルキレン基であり、

Kは、OもしくはSであり、

Z 3およびZ 4のそれぞれは、独立して、H、場合により、ハロゲン原子および（C 1～C 6）アルキル基から選択される1つもしくはそれ以上の基によって置換された（C 1～C 6）アルキル基であり、

R 3は、水素原子、（C 1～C 6）アルキル基、（C 1～C 6）アルコキシ基、（C 3～C 8）シクロアルキル基、（C 3～C 1 4）ヘテロ環、（C 6～C 1 4）アリール基もしくは（C 5～C 1 4）ヘテロアリール基からなる群から選択されるか、もしくはR 3は、細胞標的化部分である）、

－ X 1およびX 2はそれぞれ、独立して水素原子、（C 1～C 6）アルキル基であり、

－ R a、R b、R cおよびR dのそれぞれは、独立して、Hもしくは（C 1～C 6）アルキル基である。

【0 0 8 7】

いくつかの実施形態において、Yは、NR 1であり、R 1は、非置換（C 1～C 2 0）アルキル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3およびBは、一般式（I）または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

【0 0 8 8】

いくつかの実施形態において、Yは、NR 1であり、R 1は、メチル、イソプロピル、ブチル、オクチル、ヘキサデシルを含む群から選択されるアルキル基を含む、非置換（C 1～C 1 6）アルキル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3およびBは、一般式（I）または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

【0 0 8 9】

いくつかの実施形態において、Yは、NR 1であり、R 1は、場合により、ハロゲン原子および（C 1～C 6）アルキル基から選択される1つまたはそれ以上の基によって置換

10

20

30

40

50

された (C 3 ~ C 8) シクロアルキル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3 および B は、一般式 (I) または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

【0090】

いくつかの実施形態において、Y は、NR 1 である、R 1 は、シクロヘキシル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3 および B は、一般式 (I) または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

【0091】

いくつかの実施形態において、Y は、NR 1 であり、R 1 は、(C 6 ~ C 14) アリール基によって置換された (C 1 ~ C 20) アルキル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3 および B は、一般式 (I) または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

10

【0092】

いくつかの実施形態において、Y は、NR 1 であり、R 1 は、フェニル基によって置換されたメチル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3 および B は、一般式 (I) または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

【0093】

いくつかの実施形態において、Y は、N - C (=O) - R 1 であり、R 1 は、場合により置換された (C 1 ~ C 20) アルキル基であり、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3 および B は、一般式 (I) または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

20

【0094】

いくつかの実施形態において、Y は、N - C (=O) - R 1 であり、R 1 は、メチルおよびペンタデシルを含む群から選択され、L 1、L 2、R a、R b、R c、R d、X 1、X 2、R 2、R 3 および B は、一般式 (I) または薬学的に許容されるその塩に関して定義されるのと同じ意味を有する。

【0095】

いくつかの実施形態において、B は、ピリミジン、置換ピリミジン、プリンおよび置換プリン、または薬学的に許容されるその塩を含む群から選択される。

30

【0096】

いくつかの実施形態において、dsRNA 中のヌクレオシド間連結基は、リン酸ジエステル、リン酸トリエステル、ホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、アルキル-ホスホナートおよびホスホルアミダート骨格連結基、または薬学的に許容されるその塩からなる群から独立して選択される。

【0097】

いくつかの実施形態において、dsRNA は、2 から 10 個の式 (I) の化合物、または薬学的に許容されるその塩を含む。

【0098】

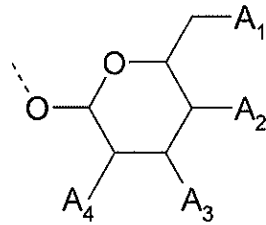
さらに別の実施形態において、dsRNA は、1 つまたはそれ以上の標的ヌクレオチドまたは薬学的に許容されるその塩を含む。

40

【0099】

いくつかの実施形態において、R 3 は、式 (II) :

【化 4】



(II)

であり、式中、A 1、A 2 および A 3 は、OH であり、
A 4 は、OH または NH C (=O) - R 5 であり、式中、R 5 は、場合により、ハロゲン原子によって置換された (C 1 ~ C 6) アルキル基である。

【0100】

いくつかの実施形態において、R 3 は、N-アセチル-ガラクトサミンである。

【0101】

式 (I) のヌクレオチドを有する修飾 siRNA を生成するために使用することができる前駆体を下記表 A および B に例示する。表 A は、オリゴヌクレオチド合成のためのホスホラミダイトヌクレオチドアナログの例を示し；表 B は、オリゴヌクレオチド合成のためのヌクレオチドアナログの一部の固相担体を示す。(2 S, 6 R) ジアステレオマーシリーズにおいて、ヌクレオチド前駆体としてのホスホラミダイトは、「pre-l」で略記され、ヌクレオチドアナログは、式 (I) 中の基 Y を指定する核酸塩基および数が続く「l」で略記される。両方の立体化学を区別するために、アナログ (2 R, 6 R) -ジアステレオ異性体を、追加の「b」で示す。固相担体に対して、略語「CPG-l」が、上記のとおり追加の情報とともに使用される。標的ヌクレオチド前駆体、標的ヌクレオチドアナログおよび固相担体は、上記のとおり略記されるが、「l」の代わりに「lg」を用いる。

【0102】

10

20

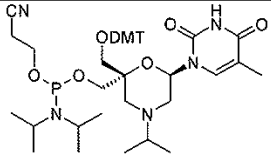
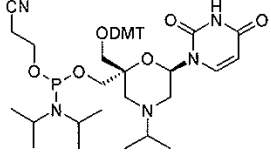
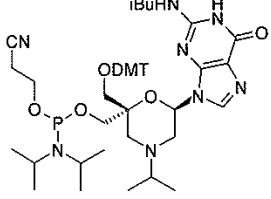
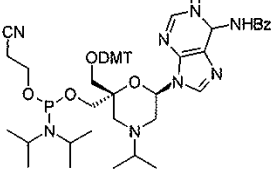
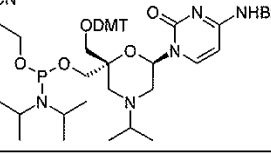
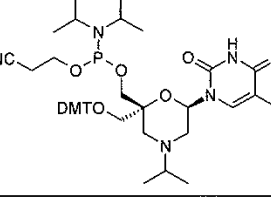
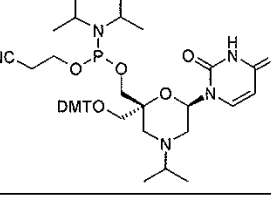
30

40

50

【表 2 3】

表 A

番号	構造	前駆体名称	オリゴ配列 の名称	立体化学
1		pre-IT3	IT3	(2S,6R)
2		pre-IU3	IU3	(2S,6R)
3		pre-IG3	IG3	(2S,6R)
4		pre-IA3	IA3	(2S,6R)
5		pre-IC3	IC3	(2S,6R)
6		pre-IT3b	IT3b	(2R,6R)
7		pre-IU3b	IU3b	(2R,6R)

10

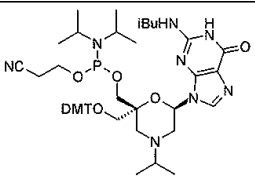
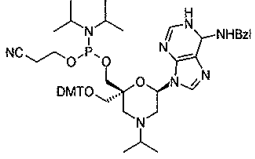
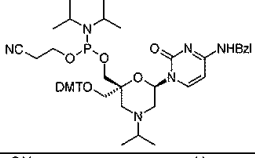
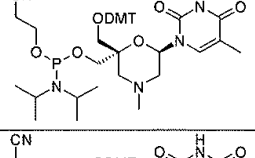
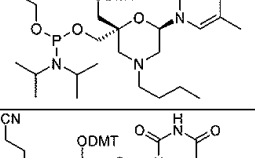
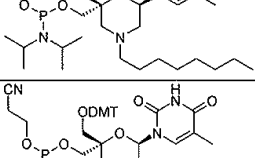
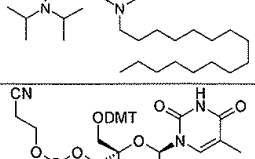
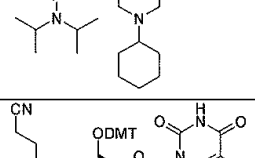
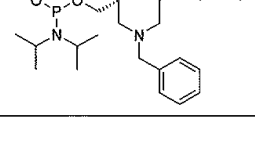
20

30

40

50

【表 2 4】

8		pre-lG3b	lG3b	(2R,6R)
9		pre-lA3b	lA3b	(2R,6R)
10		pre-lC3b	lC3b	(2R,6R)
11		pre-lT2	lT2	(2S,6R)
12		pre-lT6	lT6	(2S,6R)
13		pre-lT7	lT7	(2S,6R)
14		pre-lT8	lT8	(2S,6R)
15		pre-lT4	lT4	(2S,6R)
16		pre-lT5	lT5	(2S,6R)

10

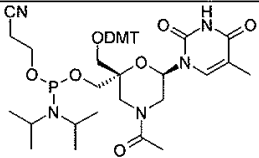
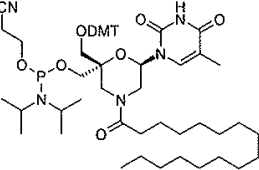
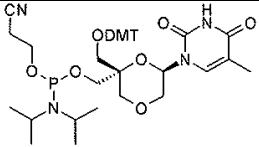
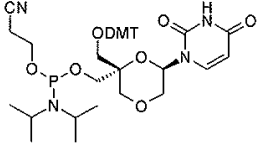
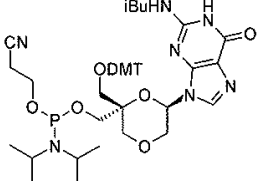
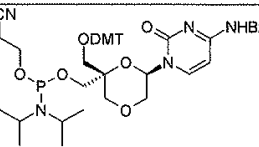
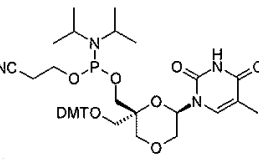
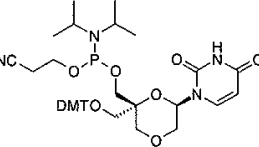
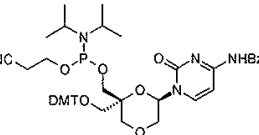
20

30

40

50

【表 2 5】

17		pre-IT9	IT9	(2S,6R)
18		pre-IT10	IT10	(2S,6R)
19		pre-IT1	IT1	(2S,6R)
20		pre-IU1	IU1	(2S,6R)
21		pre-IG1	IG1	(2S,6R)
22		pre-IC1	IC1	(2S,6R)
23		pre-IT1b	IT1b	(2R,6R)
24		pre-IU1b	IU1b	(2R,6R)
25		pre-IC1b	IC1b	(2R,6R)

10

20

30

40

50

【表 2 6】

26		pre-IgT9	IgT9	(2S,6R)
27		pre-IgT8	IgT8	(2S,6R)
28		pre-IgT7	IgT7	(2S,6R)
29		pre-IgT6	IgT6	(2S,6R)
30		pre-IgT5	IgT5	(2S,6R)
31		pre-IgT3	IgT3	(2S,6R)
32		pre-IgT4	IgT4	(2S,6R)
33		pre-IgT12	IgT12	(2S,6R)

10

20

30

40

50

【表 2 7】

34		pre-IgT11	IgT11	(2S,6R)
35		pre-IgT10	IgT10	(2S,6R)
36		pre-IgT1	IgT1	(2S,6R)
37		pre-IgT2	IgT2	(2S,6R)
38		pre-IU4	IU4	(2S,6R)
39		pre-IG4	IG4	(2S,6R)
40		pre-IA4	IA4	(2S,6R)
41		pre-IC4	IC4	(2S,6R)

10

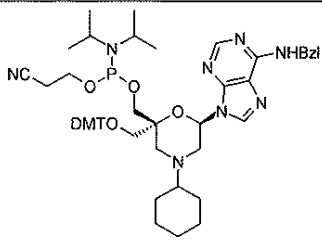
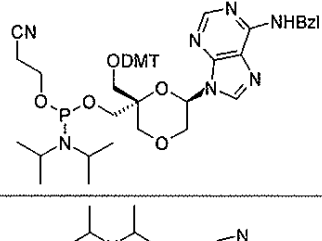
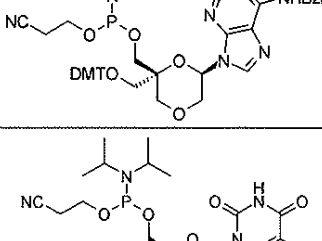
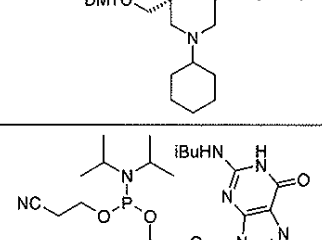
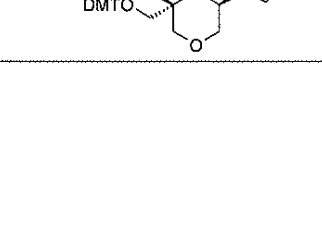
20

30

40

50

【表 28】

42		pre-1A4b	1A4b	(2R,6R)
43		pre-1A1	1A1	(2S,6R)
44		pre-1A1b	1A1b	(2R,6R)
45		pre-1T4b	1T4b	(2R,6R)
46		pre-1G1b	1G1b	(2R,6R)

【0103】

10

20

30

40

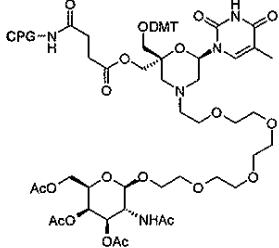
50

【表 29】

表 B

番号	構造	名称	オリゴ配列 の名称	立体化学
1		cpg-IT3	IT3	(2S,6R)
2		cpg-IT1	IT1	(2S,6R)
3		cpg-IT3b	IT3b	(2R,6R)
4		cpg-IT1b	IT1b	(2R,6R)
5		cpg-lgT3	lgT3	(2S,6R)
6		cpg-lgT4	lgT4	(2S,6R)
7		cpg-lgT1	lgT1	(2S,6R)
8		cpg-lgT2	lgT2	(2S,6R)

【表 30】

9		cpg-lgT5	lgT5	(2S,6R)
---	---	----------	------	---------

【0104】

式（I）の修飾ヌクレオチドを、dsRNAのセンス鎖および／またはアンチセンス鎖の5'、3'、または両末端に組み込むことができる。例として、1つまたはそれ以上（例えば、1、2、3、4、もしくは5つまたはそれ以上）の修飾ヌクレオチドを、dsRNAのセンス鎖の5'末端に組み込むことができる。いくつかの実施形態において、1つまたはそれ以上（例えば、1、2、3、またはそれ以上）の修飾ヌクレオチドは、センス鎖の5'末端に位置し、この場合、修飾ヌクレオチドは、アンチセンス配列とぴったりとは合わないが、場合により、アンチセンス鎖の対応する3'末端で等しい数またはそれより小さい数の相補的なヌクレオチドと対を形成する場合もある。

【0105】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、17、18、または19ヌクレオチド長のセンス配列を有するセンス鎖を含む場合もあり、この場合、3から5つの式（I）のヌクレオチド（例えば、式（I）の追加のヌクレオチドを伴い、もしくは伴わず3つの連続的なlgT3またはlgT7）がセンス配列の5'末端に配置され、センス鎖は20、21、または22ヌクレオチド長になる。そのような実施形態において、センス鎖は、センス配列の3'末端に式（I）の2つの連続的なヌクレオチド（例えば、1T4または1T3）をさらに含み、センス鎖が22、23、または24ヌクレオチド長になる場合もある。dsRNAは、19ヌクレオチド長のアンチセンス配列を含む場合もあり、この場合、アンチセンス配列は、3'末端に2つの修飾ヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチド（例えば、dT）とさらに連結され、アンチセンス鎖が21ヌクレオチド長になることもある。さらに別の実施形態において、dsRNAのセンス鎖は、天然に存在するヌクレオチド間結合（リン酸ジエステル結合）のみを含み、この場合、アンチセンス鎖は、場合により、天然に存在しないヌクレオチド間結合を含むこともある。例えば、アンチセンス鎖は、骨格中の5'および／もしくは3'末端付近または5'および／もしくは3'末端にホスホロチオアート結合を含む場合もある。いくつかの実施形態において、dsRNAは、ロックド核酸（LNA）単位などの修飾リボースを有するヌクレオチドを含むこともある。

【0106】

いくつかの実施形態において、式（I）の修飾ヌクレオチドの使用は、天然に存在しないヌクレオチド間結合の使用などの他のRNA修飾の必要性を回避し、それによりdsRNAの化学合成を簡単にする。さらに、式（I）の修飾ヌクレオチドは、（GalNAc自体を含む）GalNAc誘導体などの細胞へと標的化された部分を含むよう容易に生成することができ、そのようなヌクレオチドを含むdsRNAの送達効率を向上させる。さらに、例えば、センス鎖に式（I）の修飾ヌクレオチドを含むdsRNAは、dsRNAの安定性および治療効力を著しく向上させることが示された。

【0107】

下記表3および4は、表2に列挙されているコンストラクトsiRNA#023およびsiRNA#042から誘導される例となる修飾GalNAc-siRNAコンストラクトの配列を列挙する。いくつかの実施形態において、dsRNAは、ロックド核酸（LNA）単位（下記表では、対応する核酸塩基に続く「L」で略記される）などの修飾リボースを有するヌクレオチドを含むことができる。

【 0 1 0 8 】

【 表 3 1 】

表 3 siRNA#023 からの例となる修飾 GalNAc-siRNA コンストラクトの配列

CNST 番号	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
023-c-01	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	535	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	589
023-c-02	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	536	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	590
023-c-03	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	537	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	591
023-c-04	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	538	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT- PS-dT-Hy	592
023-c-05	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	539	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	593
023-c-06	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	540	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	594
023-c-07	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	541	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC- PO-fC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	595
023-c-08	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO- mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	542	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT- PS-dT-Hy	596

10

20

30

40

【表 3 2】

023-c-09	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	543	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	597
023-c-10	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	544	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	598
023-c-11	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	545	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	599
023-c-12	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	546	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	600
023-c-13	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	547	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT- PS-dT-Hy	601
023-c-14	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- 1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	548	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	602
023-c-15	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- 1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	549	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	603
023-c-16	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- 1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	550	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	604
023-c-17	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- 1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	551	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA- PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA- PS-mA-Hy	605
023-c-18	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO- 1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG- PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO- fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU- PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS- mU-Hy	552	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC- PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-fC- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA- PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-	606

10

20

30

40

50

【表 3 3】

	PO-mA-PO-mU-PO-mU-PS-mC-PS-mU-Hy		PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	
023-c-19	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	553	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	607
023-c-20	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	554	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	608
023-c-21	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	555	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	609
023-c-22	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	556	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	610
023-c-23	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	557	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	611
023-c-24	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	558	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	612
023-c-25	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	559	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	613
023-c-26	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1A-PO-1G-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	560	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	614
023-c-27	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	561	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	615
023-c-28	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-	562	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC-	616

10

20

30

40

50

【表 3 4】

	PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy		PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	
023-c-29	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	563	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	617
023-c-30	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	564	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	618
023-c-31	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	565	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	619
023-c-32	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	566	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	620
023-c-33	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	567	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	621
023-c-34	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	568	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	622
023-c-35	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	569	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	623
023-c-36	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	570	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	624
023-c-37	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-fG-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	571	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	625

10

20

30

40

50

10

20

【表 3 6】

	PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy		PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	
023-c-48	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	582	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	636
023-c-49	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	583	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	637
023-c-50	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	584	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	638
023-c-51	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	585	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	639
023-c-52	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	586	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	640
023-c-53	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	587	Hy-mA-PS-fG-PS-mA-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mA-PS-mA-Hy	641
023-c-54	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lA-PO-lG-PO-mA-PO-mU-PO-fG-PO-mG-PO-fA-PO-mG-PO-fG-PO-fA-PO-fG-PO-mG-PO-mA-PO-mU-PO-mA-PO-mU-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4-PO-lT4-Hy	588	Hy-fA-PS-fG-PS-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-fC-PO-mU-PO-fC-PO-mC-PO-fA-PO-mU-PO-fC-PO-mU-PS-dT-PS-dT-Hy	642

10

20

30

【0 1 0 9】

40

50

【表 3 7】

表 4 siRNA#042 からの例となる修飾 GalNAc-siRNA コンストラクトの配列

CNST 番号	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
042-c-01	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	643	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	697
042-c-02	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	644	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	698
042-c-03	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	645	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	699
042-c-04	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	646	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	700
042-c-05	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	647	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	701
042-c-06	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	648	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	702
042-c-07	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	649	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	703
042-c-08	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	650	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	704

10

20

30

40

50

【表 3 8】

CNST 番号	センス鎖配列 (5'・3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'・3')	SEQ
042-c-09	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	651	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	705
042-c-10	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	652	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	706
042-c-11	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	653	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	707
042-c-12	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	654	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	708
042-c-13	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	655	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	709
042-c-14	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	656	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	710
042-c-15	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	657	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	711
042-c-16	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	658	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	712
042-c-17	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS- mA-Hy	659	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	713
042-c-18	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-	660	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU-	714

10

20

30

40

50

【表 3 9】

CNST 番号	センス鎖配列 (5'・3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'・3')	SEQ
	PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PS-mU-PS-mA-Hy		PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT-PS-dT-Hy	
042-c-19	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	661	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	715
042-c-20	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	662	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	716
042-c-21	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	663	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	717
042-c-22	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	664	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT-PS-dT-Hy	718
042-c-23	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1C-PO-1C-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	665	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	719
042-c-24	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1C-PO-1C-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	666	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	720
042-c-25	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1C-PO-1C-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	667	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-fC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	721
042-c-26	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-1C-PO-1C-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO-mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-1T4-PO-1T4-Hy	668	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT-PS-dT-Hy	722
042-c-27	Hy-1gT3-PO-1gT3-PO-1gT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-	669	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-	723

10

20

30

40

50

【表 40】

CNST 番号	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
	PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy		PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	
042-c-28	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	670	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	724
042-c-29	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	671	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	725
042-c-30	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	672	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	726
042-c-31	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	673	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	727
042-c-32	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	674	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	728
042-c-33	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	675	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	729
042-c-34	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	676	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	730
042-c-35	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	677	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	731
042-c-36	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-lT4- PO-lT4-Hy	678	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-fA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	732

10

20

30

40

50

【表 4 1】

CNST 番号	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
042-c-37	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	679	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	733
042-c-38	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	680	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	734
042-c-39	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	681	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	735
042-c-40	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	682	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	736
042-c-41	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	683	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	737
042-c-42	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	684	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	738
042-c-43	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	685	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-fC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	739
042-c-44	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-fU-PO-fU-PO- mU-PO-mG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	686	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT- PS-dT-Hy	740
042-c-45	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG- PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO- fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG- PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO- mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	687	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG- PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU- PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA- PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU- PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA- PS-mA-Hy	741
042-c-46	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO- mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-	688	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG- PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU-	742

10

20

30

40

50

【表 4 2】

CNST 番号	センス鎖配列 (5'-3')	SEQ	アンチセンス鎖配列 (5'-3')	SEQ
	PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy		PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	
042-c-47	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	689	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	743
042-c-48	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	690	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	744
042-c-49	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-mC-PO-mC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	691	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT-PS-dT-Hy	745
042-c-50	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	692	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	746
042-c-51	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	693	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-mU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	747
042-c-52	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	694	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	748
042-c-53	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	695	Hy-mU-PS-fA-PS-mA-PO-mG-PO-mA-PO-mC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-mA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mG-PO-mG-PS-mA-PS-mA-Hy	749
042-c-54	Hy-lgT3-PO-lgT3-PO-lgT3-PO-lC-PO-lC-PO-mG-PO-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-fU-PO-fG-PO-mA-PO-mG-PO-mG-PO-mU-PO-mC-PO-mU-PO-mU-PO-mA-PO-lT4-PO-lT4-Hy	696	Hy-fU-PS-fA-PS-mA-PO-fG-PO-mA-PO-fC-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-mA-PO-mA-PO-fA-PO-mU-PO-fU-PO-mC-PO-fU-PO-mC-PO-fG-PO-mG-PS-dT-PS-dT-Hy	750

【0110】

表 2～4 に示される例となる s i R N A はヌクレオチド修飾を含むが、同じ、または実質的に同じ配列であるが、異なる数、パターン、および／またはタイプの修飾を有する s i R N A も考えられる。

【0111】

いくつかの実施形態において、d s R N A は、片方または両方の末端にヌクレオチド（もしくはその修飾型）が付加された表 1 に示されるセンス鎖を含む。例えば、d s R N A は、5' C C A および／または 3' i n v d T が付加された表 1 に示されるセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、d s R N A は、片方または両方の末端にヌクレオチド（

もしくはその修飾型) が付加された表 1 に示されるアンチセンス鎖を含む。例えば、dsRNA は、3' d T d T が付加された表 1 に示されるアンチセンス鎖を含む。特定の実施形態において、dsRNA は、センス鎖に 5' C C A および 3' i n v d T が付加され、アンチセンス鎖に 3' d T d T が付加された、表 1 に示されるとおりのセンスおよびアンチセンス鎖の組を含む。特定の実施形態において、dsRNA は、センス鎖に 5' l g T 3 - l g T 3 - l g T 3 および 3' l T 4 - l T 4 が付加された、表 2 に示されるとおりのセンスおよびアンチセンス鎖の組を含む。

【0112】

いくつかの実施形態において、本開示の dsRNA は、配列において表 1 に示されるセンス配列と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であるセンス配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の dsRNA は、配列において表 1 に示されるアンチセンス配列と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であるアンチセンス配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の dsRNA は、配列において表 1 に示されるセンスおよびアンチセンス配列それぞれと少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であるセンスおよびアンチセンス配列を含む。特定の実施形態において、dsRNA は、表 2 に示される配列を有するセンスおよびアンチセンス鎖を含む。特定の実施形態において、dsRNA は、表 3 に示される配列を有するセンスおよびアンチセンス鎖を含む。

【0113】

2つのヌクレオチド配列間の「同一性パーセンテージ」は、2つの最適にアライメントされた配列を比較することによって求められ、この場合、比較するための核酸配列は、2つの配列間の最適なアライメントのための参照配列と比較して、付加または欠失を有することがある。「同一性パーセンテージ」は、ヌクレオチド残基が2つの配列間、好ましくは、2つの完全な配列間で同一である位置の数を求め、同一の位置の数をアライメントウィンドウ中の位置の総数で割り、その結果に100を掛けることによって計算して、2つの配列間の同一性パーセンテージを得る。本明細書における目的で、2つのヌクレオチド配列間の「同一性パーセンテージ」を求めるとき、ヌクレオチドに対する修飾は考慮されない。例えば、5'-m C - f U - m A - f G - 3' の配列は、5'-C U A G - 3' の配列と 100% の配列同一性を有すると見なされる。

【0114】

I. 5 dsRNA コンジュゲート

本 dsRNA は、1つまたはそれ以上のリガンドまたは部分と共有結合的または非共有結合的に連結させることができる。そのようなリガンドおよび部分の例は、例えば、Jeong ら、Bioconjugate Chem. (2009 年) 20: 5~14 頁および Sebestyen ら、Methods Mol. Biol. (2015 年) 1218: 163~86 頁に見出すことができる。いくつかの実施形態において、dsRNA は、1つまたはそれ以上のリガンドとリンカーを介してコンジュゲートされる／結びつけられる。例えば、多価（例えば、二価、三価、または四価）の分岐リンカーを含む、当該技術分野において既知の任意のリンカーを使用することができる。リンカーは、切断可能または切断不可能な場合もある。リガンドを dsRNA とコンジュゲートすることは、その分布を変え、その細胞の吸収および／もしくは特定の組織に対する標的化および／もしくは1つもしくはそれ以上の特定の細胞タイプ（例えば、肝臓細胞）による取り込みを増大させ、ならびに／または dsRNA の存続期間もしくは半減期を増大させることもある。いくつかの実施形態において、疎水性リガンドは、dsRNA とコンジュゲートされ、細胞膜の直接的な浸透および／または細胞（例えば、肝臓細胞）を超えた取り込みを促進する。ANGPTL8 標的 dsRNA（例えば、siRNA）に関して、標的組織は、肝臓の実質細胞（例えば、肝細胞）を含む、肝臓である場合もある。

【0115】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本開示の dsRNA は、細胞標的リガンドとコンジュゲートされる。細胞標的リガンドは、dsRNA の標的細胞への送達を促進する分子部分を指し、これは、(i) 選択された標的受容体（例えば、標的タンパク質）を発現する細胞と結合する dsRNA の特異度の増加；(ii) 標的細胞による dsRNA の取り込みの増加；および (iii) 例えば、輸送ベシクルから細胞質への siRNA の移行を促進することによる siRNA の細胞内放出の増加など、それが標的細胞に入ったら適切に処理される dsRNA の能力の向上を包含する。リガンドは、例えば、タンパク質（例えば、糖タンパク質）、ペプチド、脂質、炭水化物、または共リガンドに対して特異親和性を有する分子が可能である。

【0116】

リガンドの特定の例としては、抗体または肝臓細胞上の特定の受容体と結合するその抗原結合フラグメント、チロトロピン、メラノトロピン、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、多価マンノース、多価フコース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルグルコサミン、トランスフェリン、ビスホスホナート、ステロイド、胆汁酸、リポ多糖、組み換えまたは合成分子、例えば、合成ポリマー、ポリアミノ酸、アルファヘリカルペプチド、ポリグルタマート、ポリアスパルタート、レクチン、および補因子が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、リガンドは、1つまたはそれ以上の色素、クロスリンカー、多環式芳香族炭化水素、ペプチドコンジュゲート（例えば、アンテナペディアペプチド、Tat ペプチド）、ポリエチレングリコール（PEG）、酵素、ハプテン、輸送／吸収促進剤、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、もしくはイミダゾールクラスター）、ヒト血清アルブミン（HSA）、または LDL である。

【0117】

いくつかの実施形態において、dsRNA は、1つまたはそれ以上のコレステロール誘導体もしくは親油性部分、例えば、コレステロールもしくはコレステロール誘導体；コール酸；ビタミン（例えば、葉酸、ビタミン A、ビタミン E（トコフェロール）、ビオチン、もしくはピリドキサール）；飽和および非飽和の両方を含む胆汁酸コンジュゲートもしくは脂肪酸コンジュゲート（例えば、ラウロイル（C12）、ミリストイル（C14）、パルミトイル（C16）、ステアロイル（C18）およびドコサニル（C22）、リトコール酸および／もしくはリトコール酸オレイルアミンコンジュゲート（リトコール酸オレイル（lithocholic-oleyl）、C43））；ポリマー骨格もしくは足場（例えば、PEG、トリエチレングリコール（TEG）、ヘキサエチレングリコール（HEG）、乳酸・グリコール酸コポリマー（PLGA）、ラクチド・グリコリドコポリマー（PLG）、流体力学的ポリマー（hydrodynamic polymer））；ステロイド（例えば、ジヒドロテストステロン）；テルペン（例えば、トリテルペン）；カチオン性脂質もしくはペプチド；ならびに／または脂質もしくは脂質ベースの分子と結合させられる。そのような脂質または脂質ベースの分子は、血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン（HSA）と結合することができる。脂質ベースのリガンドは、コンジュゲートの標的組織との結合を調節する（例えば、制御する）ために使用することができる。例えば、HSA とより強く結合する脂質または脂質ベースのリガンドは、腎臓に導かれる可能性が低いため、体から除去される可能性が低い。

【0118】

いくつかの実施形態において、細胞標的化部分またはリガンドは、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）誘導体である。いくつかの実施形態において、dsRNA は、1つまたはそれ以上（例えば、2、3、4つまたはそれ以上）の GalNAc 誘導体に結合させられる。結合は、1つまたはそれ以上のリンカー（例えば、2、3、4つまたはそれ以上のリンカー）を介する場合もある。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているリンカーは、多価（例えば、二価、三価、または四価）の分岐リンカーである。いくつかの実施形態において、dsRNA は、2つまたはそれ以上の GalNAc 誘導体と二価の分岐リンカーを介して結合させられる。いくつかの実施形態において、dsR

10

20

30

40

50

NAは、3つまたはそれ以上のGalNAc誘導体と三価の分岐リンカーを介して結合させられる。いくつかの実施形態において、dsRNAは、3つまたはそれ以上のGalNAc誘導体とリンカーを用いて、または用いずに結合させられる。いくつかの実施形態において、dsRNAは、4つまたはそれ以上のGalNAc誘導体と4つの別々のリンカーを介して結合させられる。いくつかの実施形態において、dsRNAは、4つまたはそれ以上のGalNAc誘導体と四価の分岐リンカーを介して結合させられる。いくつかの実施形態において、1つまたはそれ以上のGalNAc誘導体は、dsRNAのセンス鎖の3'末端、アンチセンス鎖の3'末端、センス鎖の5'末端、および／またはアンチセンス鎖の5'末端と結合させられる。いくつかの実施形態において、1つまたはそれ以上（例えば、2つまたは3つ）の式（I）の修飾ヌクレオチドは、dsRNAのセンス鎖の5'末端および／または3'末端に配置され、その場合、それらの修飾ヌクレオチドはそれぞれGalNAc誘導体部分を含む（例えば、表AおよびBに示されるGalNAc含有ヌクレオチドを参照）。例となる、非限定的コンジュゲートおよびリンカーは、例えば、Bies senら、Bioconjugate Chem.（2002年）13（2）：295～302頁；Cedilloら、Molecules（2017年）22（8）：E1356；Grijalvoら、Genes（2018年）9（2）：E74；Huangら、Molecular Therapy：Nucleic Acids（2017年）6：116～32頁；Nairら、J. Am. Chem. Soc.（2014年）136：16958～61頁；Ostergaardら、Bioconjugate Chem.（2015年）26：1451～5頁；Springerら、Nucleic Acid Therapeutics（2018年）28（3）：109～18頁；ならびに米国特許第8,106,022号、同第9,127,276号、および同第8,927,705号に記載されている。GalNAcコンジュゲーションは、当該技術分野において周知の方法によって容易に行うことができる（例えば、上の文書に記載されているとおり）。

【0119】

II. dsRNAを生成する方法

本開示のdsRNAは、当該技術分野において既知の任意の方法によって合成することができる。例えば、dsRNAは、自動合成機の使用によって、（例えば、市販のインビトロRNA合成キットを使用した）インビトロ転写および精製によって、細胞（例えば、dsRNAをコードする発現カセット／ベクターを含む細胞）からの転写および精製などによって合成することができる。いくつかの実施形態において、dsRNAのセンスおよびアンチセンス鎖は、別々に合成された後、アニーリングされて、dsRNAを形成する。いくつかの実施形態において、式（I）の修飾ヌクレオチドを含み、場合により、細胞標的化部分（例えば、GalNAc）とコンジュゲートされたdsRNAは、国際公開第2019/170731号の開示に従って調製することができる。

【0120】

リガンドコンジュゲートdsRNAおよび本開示の配列特異的な連結されたヌクレオシドを有するリガンド分子は、例えば、標準的なヌクレオチドもしくはヌクレオシド前駆体、または既に連結部分を有するヌクレオチドもしくはヌクレオシドコンジュゲート前駆体、リガンド・ヌクレオチド、またはリガンド分子を既に有するヌクレオシドコンジュゲート前駆体、または非ヌクレオシドリガンドを有する基本単位を利用した、適したポリヌクレオチド合成機における構築を含む、当該技術分野において既知の任意の方法によって構築することができる。

【0121】

本開示のリガンドコンジュゲートdsRNAは、例えば、連結分子のdsRNAへの結合から誘導されたものなどのペンダント反応性官能基を有するdsRNAの使用を含む、当該技術分野において既知の任意の方法によって合成することができる。いくつかの実施形態において、この反応性オリゴヌクレオチドは、市販のリガンド、任意のさまざまな保護基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させることができる。いくつかの実施形態において、方法は、適切にリガンド

とコンジュゲートされ、固相担体材料とさらに結合させることもできるヌクレオシドモノマーの使用によってリガンドコンジュゲート dsRNA の合成を容易にする。いくつかの実施形態において、dsRNA の 3' 末端に結合したアラルキリリガンドを有する dsRNA は、まずモノマー基本単位をコントロールドポアグラス担体と長鎖アミノアルキル基により共有結合させ；その後、ヌクレオチドを標準的な固相合成技術により固相担体と結合したモノマー基本単位に結合させることによって調製される。モノマー基本単位は、ヌクレオシドまたは固相合成に適合したその他の有機化合物が可能である。

【0122】

いくつかの実施形態において、5' 末端にアミノ基を有する本開示の官能化ヌクレオシド配列は、ポリヌクレオチド合成機を使用して調製され、その後、選択されたリガンドの活性エステル誘導体と反応させられる。活性エステル誘導体は、当業者によく知られている。アミノ基と活性エステルの反応は、選択されたリガンドが連結基により 5' 位に結合したオリゴヌクレオチドを生成する。5' 末端にあるアミノ基は、5'-amino-modifier C6 試薬を利用して作製することができる。いくつかの実施形態において、リガンド分子は、リガンド-ヌクレオシドホスホラミダイトの使用によってオリゴヌクレオチドと 5' 位においてコンジュゲートされ、この場合、リガンドは、5'-ヒドロキシ基に直接、またはリンカーを介して間接的に連結される。そのようなリガンド-ヌクレオシドホスホラミダイトは、一般に自動合成手順の終わりに使用されて、5' 末端にリガンドを有するリガンドコンジュゲートオリゴヌクレオチドをもたらす。

【0123】

いくつかの実施形態において、siRNA コンジュゲートを合成するためにクリックケミストリーが使用される。例えば、Astakhova ら、Mol. Pharm. (2018 年) 15 (8) : 2892~9 頁；Mercier ら、Bioconjugate Chem. (2011 年) 22 (1) : 108~14 頁を参照。

【0124】

III. dsRNA の組成物および送達

本開示の特定の態様は、本明細書に記載されている dsRNA を含む組成物（例えば、医薬組成物）に関する。いくつかの実施形態において、本組成物は、薬学的に許容される賦形剤をさらに含む。いくつかの実施形態において、本組成物は、ANGPTL8 遺伝子の発現または活性に関連する疾患または障害を処置するのに有用である。いくつかの実施形態において、ANGPTL8 遺伝子の発現に関連する疾患または障害は、高トリグリセライド血症などの脂質代謝障害および／または本明細書に記載されている任意のその他の状態である。本開示の組成物は、送達の様式に基づいて製剤化することができ、例えば、非経口投与による肝臓への送達のために製剤化された組成物を含む。

【0125】

本 dsRNA は、薬学的に許容される賦形剤とともに製剤化することができる。薬学的に許容される賦形剤は、液体または固体が可能であり、所望の容積、粘度、ならびにその他の関連する輸送および化学的特性をもたらすよう、計画される投与様式を念頭において選択することができる。例えば、水、生理食塩水、結合剤（例えば、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、増量剤（例えば、ラクトースおよびその他の糖、ゼラチン、または硫酸カルシウム）、滑沢剤（例えば、デンプン、ポリエチレングリコール、または酢酸ナトリウム）、崩壊剤（例えば、デンプンまたはデンプングリコール酸ナトリウム）、カルシウム塩（例えば、硫酸カルシウム、塩化カルシウム、リン酸カルシウム、およびヒドロキシアパタイト）、ならびに湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）を含む、任意の既知の薬学的に許容される賦形剤を使用することができる。

【0126】

本 dsRNA は、他の分子、分子構造体、または核酸の混合物と混合された、カプセル化された、コンジュゲートされた、または代わりに会合している dsRNA を含有する組成物（例えば、医薬組成物）に製剤化することができる。例えば、1 つまたはそれ以上の本明細書に記載される dsRNA を含む組成物は、他の脂質低下薬（例えば、スタチン）

などの他の治療用薬剤を含むことができる。いくつかの実施形態において、本組成物（例えば、医薬組成物）は、本明細書に記載される送達ビヒクルをさらに含む。

【0127】

本開示の dsRNA は、直接または間接的に送達することができる。いくつかの実施形態において、dsRNA は、dsRNA を含む医薬組成物を対象に投与することによって直接送達される。いくつかの実施形態において、dsRNA は、下に記載される1つまたはそれ以上のベクターを投与することによって間接的に送達される。

【0128】

本開示の dsRNA は、例えば、核酸分子を送達する方法を dsRNA との使用に適合させることを含む、当該技術分野において既知の任意の方法によって（例えば、Akhtar、Trends Cell Biol. (1992年) 2 (5): 139~44頁; 国際公開第94/02595号を参照）、または当該技術分野において既知のさらなる方法により（例えば、Kanasty、Nature Materials (2013年) 12: 967~77頁; Witttrup および Lieberman、Nature Reviews Genetics (2015年) 16: 543~52頁; Whitehead、Nature Reviews Drug Discovery (2009年) 8: 129~38頁; Gary、J Control Release (2007年) 121 (1-2): 64~73頁; Wang、AAPS J. (2010年) 12 (4): 492~503頁; Draz、Theranostics (2014年) 4 (9): 872~92頁; Wan、Drug Deliv Transl Res. (2013年) 4 (1): 74~83頁; Erdmann および Barciszewski (編) (2010年) “RNA Technologies and Their Applications”、Springer-Verlag Berlin Heidelberg、DOI 10.1007/978-3-642-12168-5; Xu および Wang、Asian Journal of Pharmaceutical Sciences (2015年) 10 (1): 1~12頁を参照) 送達することができる。インビボ送達に関して、dsRNA は、組織部位に注射するか、または全身投与（例えば、吸入によるナノ粒子形態）することができる。インビボ送達は、ベータ・グルカン送達系を介して行うこともできる（例えば、Tesz、Biochem J. (2011年) 436 (2): 351~62頁を参照）。細胞へのインビトロ導入としては、エレクトロポレーションおよびリポフェクションなどの当該技術分野において既知の方法が挙げられる。

【0129】

いくつかの実施形態において、本開示の dsRNA は、dsRNA を含む送達ビヒクルによって送達される。いくつかの実施形態において、送達ビヒクルは、リポソーム、リポプレックス、複合体、またはナノ粒子である。

【0130】

III. 1 リポソーム製剤

リポソームは、親油性材料および水性内部から形成される膜を有する単層または多重膜ベシクルである。いくつかの実施形態において、リポソームは、球状の二重膜または複数の二重膜中に配置された両親媒性脂質から構成されるベシクルである。水性部分は、送達される組成物を含む。カチオン性リポソームは、細胞壁と融合できるという利点をもつ。リポソームの利点としては、例えば、天然のリン脂質から得られるリポソームが生体適合性であり、生分解性であること; リポソームが広い範囲の水溶性および脂溶性薬物を含むことができること; ならびにリポソームがその内部区画にカプセル化された薬物を代謝および分解から保護することができることが挙げられる (Rosoff、Pharmaceutical Dosage Forms、Lieberman、Rieger および Banker (編)、1988年、Marcel Dekker, Inc.、New York、N.Y.、第1巻、245頁)。リポソーム製剤の調製において重要な考慮すべき事項は、リポソームの脂質表面電荷、ベシクルサイズおよび水様液の体積である。例えば、dsRNA を送達するために設計されたカチオン性リポソームおよび立体的に安定化され

たりポソームを使用することができる。例えば、Podestaら、Methods Enzymol. (2009年) 464:343~54頁；米国特許第5,665,710号を参照。

【0131】

III. 2 核酸・脂質粒子

いくつかの実施形態において、本開示のdsRNAは、脂質製剤中に完全にカプセル化されて、例えば、以下に限定されない、SPLP、pSPLP、またはSNALPなどの核酸・脂質粒子を形成する。本明細書中で使用される場合、「SNALP」という用語は、SPLPを含む、安定な核酸・脂質粒子を指す。本明細書中で使用される場合、「SPLP」という用語は、脂質ベシクル内にカプセル化されたプラスミドDNAを含む核酸・脂質粒子を指す。核酸・脂質粒子、例えば、SNALPは、一般にカチオン性脂質、非カチオン性脂質、および粒子の凝集を防ぐ脂質（例えば、PEG・脂質コンジュゲート）を含む。SNALPおよびSPLPは、静脈(i.v.)注射後に長い循環持続期間を示し、遠位部位（例えば、投与部位から物理的に離れた部位）に蓄積するため、全身適用に有用である。SPLPは、「pSPLP」を含み、これらとしては、国際公開第2000/003683号に記載されているカプセル化された凝縮剤・核酸複合体が挙げられる。

10

【0132】

いくつかの実施形態において、dsRNAは、核酸・脂質粒子中に存在するとき、水溶液中でヌクレアーゼによる分解に対して抵抗力がある。核酸・脂質粒子およびそれらの製造の方法は、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；および同第6,815,432号；ならびに国際公開第96/40964号に開示されている。

20

【0133】

いくつかの実施形態において、核酸・脂質粒子は、カチオン性脂質を含む。当該技術分野において既知の任意のカチオン性脂質またはその混合物を使用することができる。いくつかの実施形態において、核酸・脂質粒子は、非カチオン性脂質を含む。当該技術分野において既知の任意の非カチオン性脂質またはその混合物を使用することができる。いくつかの実施形態において、核酸・脂質粒子は、（例えば、凝集を防ぐために）コンジュゲートされた脂質を含む。当該技術分野において既知の任意のコンジュゲートされた脂質を使用することができる。

30

【0134】

III. 3 さらなる製剤

インビボでdsRNA分子を首尾よく送達するために検討する重要な要素としては、（1）送達分子の生物学的安定性、（2）非特異的効果の予防、および（3）標的組織における送達分子の蓄積が挙げられる。dsRNAの非特異的効果は、例えば、組織への直接注射もしくは挿入による局部投与によって、または調製物を局所投与することによって最小限にすることができる。疾患の処置のためのdsRNAの全身投与では、dsRNAを、修飾するか、あるいは薬物送達系を使用して送達することができ；いずれの方法も、インビボにおけるエンドおよびエキソヌクレアーゼによるdsRNAの急速な分解を妨げるよう働く。RNAの修飾または医薬賦形剤も、dsRNA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することができる。上記のとおり、dsRNA分子を、コレステロールなどの親油性基との化学的コンジュゲーションによって修飾して、細胞取り込みを増大させ、分解を防ぐことができる。いくつかの実施形態において、dsRNAは、ナノ粒子（例えば、リン酸カルシウムナノ粒子）、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系などの薬物送達系を使用して送達される。正の電荷をもつカチオン性送達系は、（負の電荷をもつ）dsRNA分子の結合を促進し、負の電荷をもつ細胞膜における相互作用も増大させて、細胞によるdsRNAの効率的な取り込みを可能にする。カチオン性脂質、デンドリマー、またはポリマーは、dsRNAと結合させるか、またはdsRNAを入れるベシクルもしくはミセルを形成させることができる（例えば、Kimら、Journal of Controlled Re

40

50

lease (2008年) 129 (2) : 107~16頁を参照)。ベシクルまたはミセルの形成は、全身投与されたときにdsRNAの分解をさらに妨げる。カチオン性dsRNA複合体を生成および投与する方法は、当該技術分野において知られている。いくつかの実施形態において、dsRNAは、全身投与のためのサイクロデキストリンと複合体を形成することができる。

【0135】

III. 4 ベクターにコードされるdsRNA

本開示のdsRNAは、標的細胞にdsRNAをコードする組み換えベクター（DNAもしくはRNAベクター）を導入することによって標的細胞に間接的に送達することができる。dsRNAは、細胞内のベクターから、例えば、shRNAの形態で発現されることになり、shRNAは、その後、siRNAに細胞内でプロセッシングされる。いくつかの実施形態において、ベクターは、プラスミド、コスミド、またはウイルスベクターである。いくつかの実施形態において、ベクターは、原核細胞における発現に適合している。いくつかの実施形態において、ベクターは、大腸菌（E. coli）における発現に適合している。いくつかの実施形態において、ベクターは、真核細胞における発現に適合している。いくつかの実施形態において、ベクターは、酵母菌細胞における発現に適合している。いくつかの実施形態において、ベクターは、脊椎動物細胞における発現に適合している。例えば、アデノウイルス（AV）、アデノ随伴ウイルス（AAV）、レトロウイルス（例えば、レンチウイルス（LV）、ラブドウイルス、マウス白血病ウイルスなど）、ヘルペスウイルス、SV40ウイルス、ポリオーマウイルス、パピローマウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス（例えば、オルソポックスまたはアビポック）など由来のベクターを含む、当該技術分野において既知のdsRNAをコードすることが可能な任意の発現ベクターを使用することができる。ウイルスベクターまたはウイルス由来のベクターの指向性は、必要に応じて1つもしくはそれ以上の他のウイルスのエンベロープタンパク質もしくはその他の表面抗原でベクターをシュードタイプすることによって、または異なるウイルスカプシドタンパク質を代わりに用いることによって改変することができる。例えば、レンチウイルスベクターは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）、狂犬病ウイルス、エボラウイルス、Mokolaウイルスなどの表面タンパク質でシュードタイプすることができる。AAVベクターは、異なる血清型のカプシドタンパク質を発現するようベクターを操作することによって異なる細胞を標的とするように作製することができる。例えば、血清型2のゲノムに基づいて血清型2のカプシドを発現するAAVベクターは、AAV2/2と呼ばれる。AAV2/2ベクター中のこの血清型2のカプシド遺伝子を、血清型5のカプシド遺伝子によって置き換えて、AAV2/5ベクターを生成することができる。異なる血清型のカプシドタンパク質を発現するAAVベクターを構築するための技術は、以前に示されている（例えば、Rabinowitzら、J. Virol. (2002年) 76: 791~801頁を参照）。

【0136】

組み換えベクターの選択、dsRNAを発現するためにベクターに核酸配列を挿入するための方法、および1つまたはそれ以上の目的の細胞にベクターを送達する方法は、当該技術分野において知られている。例えば、Domburg、Gene Therap. (1995年) 2: 301~310頁; Eglitisら、Biotechniques (1998年) 6: 608~14頁; Miller、Hum Gene Therap. 1: 5~14頁 (1990年); Andersonら、Nature (1998年) 392: 25~30頁; Xiaら、Nat. Biotech. (2002年) 20: 1006~10頁; Robinsonら、Nat Genet. (2003年) 33: 401~6頁; Samulskiら、J. Virol. (1987年) 61: 3096~101頁; Fisherら、J. Virol. (1996年) 70: 520~32頁; Samulskiら、J. Virol. (1989年) 63: 3822~6頁; 米国特許第5, 252, 479号および同第5, 139, 941号; ならびに国際公開第94/13788号および同第93/24641号を参照。

【0137】

本明細書に記載される dsRNA の送達に有用なベクターは、所望の標的細胞または組織における dsRNA の発現に十分な調節エレメント（例えば、異種プロモーター、エンハンサーなど）を含むことができる。いくつかの実施形態において、ベクターは、1つまたはそれ以上の異種プロモーターと連結された dsRNA をコードする 1つまたはそれ以上の配列を含む。例えば、U6 または H1 RNA pol III プロモーター、T7 プロモーター、およびサイトメガロウイルスプロモーターを含む、dsRNA を発現することができる当該技術分野において既知の任意の異種プロモーターを使用することができる。1つまたはそれ以上の異種プロモーターは、誘導性プロモーター、抑制可能なプロモーター、調節可能なプロモーター、および／または組織特異的なプロモーターが可能である。さらなるプロモーターの選択は、当業者の能力の範囲内である。いくつかの実施形態において、調節エレメントは、構成的発現をもたらすよう選択される。いくつかの実施形態において、調節エレメントは、調節された／誘導可能な／抑制可能な発現をもたらすよう選択される。いくつかの実施形態において、調節エレメントは、組織特異的な発現をもたらすよう選択される。いくつかの実施形態において、調節エレメントおよび dsRNA をコードする配列は、転写単位を形成する。

10

【0138】

本開示の dsRNA は、DNA または RNA ベクターに挿入された転写単位から発現される（例えば、Couture ら、TIG (1996 年) 12:5~10 頁；国際公開第 00/22113 号および同第 00/22114 号；ならびに米国特許第 6,054,299 号を参照）。発現は、使用される特定のコンストラクトおよび標的組織または細胞タイプにより、一過性（およそ数時間から数週間）の場合も、または持続性（数週から数か月もしくはそれ以上）の場合もある。これらの導入遺伝子は、直線的なコンストラクト、環状プラスミド、またはウイルスベクターとして導入することができ、これは、組み込みもしくは非組み込みベクターが可能である。導入遺伝子はまた、それが染色体外プラスミドとして受け継がれるのを可能にするように構築される（Gassmann ら、PNAS (1995 年) 92:1292 頁）。

20

【0139】

いくつかの実施形態において、dsRNA のセンスおよびアンチセンス鎖は、別々の発現ベクターにコードされる。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、（例えば、トランスフェクションまたは感染によって）同じ標的細胞に共導入された 2つの別々の発現ベクターにおいて発現される。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、同じ発現ベクターにコードされる。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、同じ発現ベクターに配置された別々のプロモーターから転写される。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、同じ発現ベクターの同じプロモーターから転写される。いくつかの実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、dsRNA がステムおよびループ構造を有するよう、リンカーポリヌクレオチド配列によって連結された逆向き反復配列として同じプロモーターから転写される。

30

【0140】

IV. dsRNA 療法

本開示の特定の態様は、対象（例えば、ヒトなどの霊長類対象）における ANGPTL8 遺伝子の発現を阻害するための方法であって、治療有効量の 1つもしくはそれ以上の本開示の dsRNA、1つもしくはそれ以上の本開示のベクター、または 1つもしくはそれ以上の本開示の医薬組成物を投与することを含む方法に関する。本開示の特定の態様は、1つまたはそれ以上の本明細書に記載されている状態（例えば、高トリグリセライド血症などの ANGPTL8 関連状態）を処置する方法および／または予防する方法であって、1つもしくはそれ以上の本開示の dsRNA および／または 1つもしくはそれ以上の本開示のベクターおよび／または 1つもしくはそれ以上の本明細書に記載されている dsRNA を含む 1つもしくはそれ以上の医薬組成物を投与することを含む方法に関する。いくつ

40

50

かの実施形態において、対象におけるANGPTL8発現のダウンレギュレートは、対象における本明細書に記載されている状態（例えば、高トリグリセライド血症などのANGPTL8関連状態）の1つまたはそれ以上の症状を軽減する。

【0141】

本開示の医薬組成物は、ANGPTL8遺伝子の発現を阻害するのに十分な投与量で投与することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているdsRNAの適した用量は、0.001mg/kg～200mg/kg受け手の体重の範囲である。特定の実施形態において、適した用量は、0.001mg/kg～50mg/kg受け手の体重の範囲、例えば、0.001mg/kg～20mg/kg受け手の体重の範囲である。治療有効量の医薬組成物による対象の処置は、1回の処置または一連の処置を含むことがある。

10

【0142】

本明細書中で使用される場合、「治療有効量」および「予防有効量」という用語は、ANGPTL8発現が関係する病理学的過程の処置、予防、もしくは維持、またはANGPTL8発現が関係する病理学的過程の明白な症状に治療上の利益をもたらす量を指す。

【0143】

本明細書中で使用される場合、「ANGPTL8関連状態」という用語は、ANGPTL8の活性を阻害することが有益なあらゆる状態を含むことが意図される。そのような状態は、例えば、ANGPTL8タンパク質の過剰な産生によって、ANGPTL8活性もしくは発現を高めるANGPTL8遺伝子変異によって、活性を高めるか、もしくは分解を低減するANGPTL8タンパク質の異常な切断によって、および／またはANGPTL8活性が高められるか、分解が低減されるようなANGPTL8と、他のタンパク質もしくは他の内因性もしくは外因性物質との間の異常な相互作用によって引き起こされる場合もある。ANGPTL8関連状態は、例えば、脂質代謝障害である場合もある。

20

【0144】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているdsRNAは、高トリグリセライド血症などの脂質代謝障害または高トリグリセライド血症に関連する任意の症状もしくは状態を有する対象を処置するために使用される。特定の実施形態において、本明細書に記載されているdsRNAは、薬物誘発性高トリグリセライド血症、利尿誘発性高トリグリセライド血症、アルコール誘発性高トリグリセライド血症、β-アドレナリン遮断薬誘発性高トリグリセライド血症、エストロゲン誘発性高トリグリセライド血症、グルココルチコイド誘発性高トリグリセライド血症、レチノイド誘発性高トリグリセライド血症、シメチジン誘発性高トリグリセライド血症、家族性高トリグリセライド血症、高トリグリセライド血症に関連する急性膵炎、および／または高トリグリセライド血症に関連する肝脾腫の患者を処置するために使用される。

30

【0145】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているdsRNAは、脂血症（lipidemia）（例えば、高脂血症）、脂質異常症（例えば、アテローム性脂質異常症、糖尿病性脂質異常症、または混合型脂質異常症）、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高コレステロール血症に関連する痛風、カイロミクロン血症、リポジストロフィー、脂肪萎縮症、メタボリックシンドローム、糖尿病（I型もしくはII型）、糖尿病前症、クッシング症候群、先端巨大症、全身性エリテマトーデス、異常グロブリン血症、多のう胞性卵巣症候群、アジソン病、糖原病1型、甲状腺機能低下症、尿毒症、アドリマイシン心筋症、リポタンパク質リパーゼ欠損症、リソソーム酸リパーゼ欠損症、黄色腫症、発疹性黄色腫、および網膜脂血症から選択される1つまたはそれ以上の状態を有する対象を処置するために使用される。

40

【0146】

さらにまたはあるいは、本明細書に記載されているdsRNAは、心臓および循環の状態（例えば、アテローム動脈硬化症、アンギナ、高血圧、うっ血性心不全、冠動脈疾患、再狭窄、心筋梗塞、卒中、動脈瘤、脳血管疾患、および末梢血管疾患）、肝疾患、腎疾患

50

、ネフローゼ症候群、ならびに慢性腎疾患（例えば、尿毒症、ネフローゼ症候群、維持透析、および腎移植）などの本明細書に記載されている任意の障害に関連する1つまたはそれ以上の病的状態を有する対象を処置するために使用することができる。

【0147】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているdsRNAは、任意の遺伝子プロファイル（例えば、家族性高トリグリセリド血症、家族性複合型脂血症、もしくは家族性異常βリポタンパク血症）、処置（例えば、チアジド系利尿薬、経口避妊薬および他のエストロゲン、特定のベータアドレナリン遮断薬、プロボフォール、HIV薬剤、イソトレチノイン、もしくはプロテアーゼ阻害剤の使用）、または高血中トリグリセリドまたは脂質をもたらすか、もしくはそれに起因するライフスタイル（例えば、喫煙、過度のアルコール摂取、高炭水化物食、もしくは高脂肪食）に関連する1つまたはそれ以上の状態を有する対象を処置するために使用することができる。150mg/dLを超えるトリグリセリドレベル（例えば、血清トリグリセリドレベル）は、心血管系疾患のリスクが高いと考えられる。500mg/dLまたはそれ以上のトリグリセリドレベル（例えば、血清トリグリセリドレベル）は、膵炎のリスクが高いと考えられる。

10

【0148】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているdsRNAは、体重を管理するため、または対象の脂肪量を減少させるために使用することができる。

【0149】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるdsRNAは、ヒトANGPTL8遺伝子、またはヒトおよびカニクイザルANGPTL8遺伝子の両方の発現を阻害する。治療前のレベルと比較して処置後に、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、または約100%、対象におけるANGPTL8遺伝子の発現を阻害することができるか、または対象におけるANGPTL8タンパク質レベルを低下させることができる。いくつかの実施形態において、治療前のレベルと比較して処置後に、少なくとも約2分の1、少なくとも約5分の1、少なくとも約10分の1、少なくとも約15分の1、少なくとも約20分の1、少なくとも約25分の1、少なくとも約50分の1、少なくとも約75分の1、または少なくとも約100分の1に、ANGPTL8遺伝子の発現を阻害するか、または対象におけるANGPTL8タンパク質レベルを低下させることができる。いくつかの実施形態において、ANGPTL8遺伝子が、阻害されるか、またはANGPTL8タンパク質レベルが、対象の肝臓において低減される。

20

30

【0150】

いくつかの実施形態において、ANGPTL8遺伝子の発現は、約12もしくはそれ以上、24もしくはそれ以上、または36もしくはそれ以上の時間、dsRNAによって低減される。いくつかの実施形態において、ANGPTL8遺伝子の発現は、長い時間、例えば、少なくとも約2、3、4、5、もしくは6日間またはそれ以上、例えば、約1週間、2週間、3週間、もしくは4週間またはそれ以上低減される。

40

【0151】

本明細書中で使用される場合、ANGPTL8遺伝子に言及する限りにおいて、「～の発現を阻害する」または「～の発現を阻害すること」という用語は、ANGPTL8遺伝子の発現が阻害されるよう処理された第1の細胞または細胞群における、第1の細胞または細胞群と実質的に同一であるが、そのように処理されていない第2の細胞または細胞群（対照細胞）と比較した場合のANGPTL8遺伝子から転写されるmRNAの量の減少によってはっきりと示されるANGPTL8遺伝子の発現の少なくとも部分的な抑制を指す。そのような阻害は、例えば、ノーザン分析、インサイツハイブリダイゼーション、B-DNA分析、発現プロファイリング、レポーターコンストラクトの転写、および当該技

50

術分野において既知のその他の技術によって評価することができる。本明細書中で使用される場合、「阻害すること」という用語は、「低減すること」、「サイレンシングすること」、「ダウンレギュレートすること」、「抑制すること」およびその他の類似の用語と同義に使用され、任意のレベルの阻害を含む。阻害の程度は、通常、 $\left(\left(\text{対照細胞中の mRNA} \right) - \left(\text{処理細胞中の mRNA} \right) \right) / \left(\text{対照細胞中の mRNA} \right) \times 100\%$ に換算して表される。

【0152】

あるいは、阻害の程度は、ANGPTL8 遺伝子転写と機能的に結びつけられるパラメーター、例えば、細胞中の ANGPTL8 遺伝子によってコードされるタンパク質の量（例えば、ウエスタン分析、レポータータンパク質の発現、ELISA、免疫沈降、もしくはは当該技術分野において既知のその他の技術によって評価される）、または特定の表現型、例えば、アポトーシスを示す細胞の数の減少に換算して得ることができる。原則として、ANGPTL8 遺伝子サイレンシングは、構成的にまたはゲノム操作によって、および任意の適切なアッセイによってのいずれかで標的を発現する任意の細胞において判断することができる。しかしながら、所与の dsRNA が ANGPTL8 遺伝子の発現をある一定の程度阻害するかどうか判断するために基準が必要とされ、したがって、本開示に包含される場合、下記の実施例において示されるアッセイは、そのような基準の役割を果たすものとする。

【0153】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されている任意の方法によって ANGPTL8 遺伝子発現を阻害する効果は、対象（例えば、対象の血液および／または血清中）のトリグリセリドレベルの低下をもたらす。いくつかの実施形態において、トリグリセリドレベルは、以下のレベルのうちの1つよりも低くまで低減される：500、450、400、350、300、250、200、190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、90、80、70、60、または 50 mg / dL。

【0154】

対象のトリグリセリドレベルは、当該技術分野において既知の任意の数々の方法において求めることができる。いくつかの実施形態において、対象のトリグリセリドレベルは、血液、血清、または血漿などの対象からのサンプルを使用して求められる。

【0155】

本明細書に記載されている dsRNA または医薬組成物は、経口または静脈内、筋肉内、皮下、経肺、経皮、および気道（エアロゾル）投与を含む、非経口経路を含むが、それらに限定されない当該技術分野において既知の任意の手段によって投与することができる。一般に、高トリグリセライド血症の患者を処置する場合、dsRNA 分子は、非経口手段により全身投与される。いくつかの実施形態において、dsRNA および／または組成物は、皮下投与によって投与される。いくつかの実施形態において、dsRNA および／または組成物は、静脈内投与によって投与される。いくつかの実施形態において、dsRNA および／または組成物は、経肺投与によって投与される。

【0156】

本明細書中で使用される場合、ANGPTL8 発現の文脈において、「処置する」「処置」などという用語は、標的遺伝子発現が関係する病理学的過程からの解放または軽減を指す。本開示の文脈において、本明細書において挙げられた任意の状態に関する限りにおいて、「処置する」「処置」などという用語は、上記状態に関連する1つもしくはそれ以上の症状を軽減することまたは緩和することを指す。例えば、高トリグリセライド血症の文脈において、処置は、血清トリグリセリドレベルの低下を伴う場合もある。本明細書中で使用される場合、疾患、障害もしくは状態を「緩和する」ことは、疾患、障害、もしくは状態の症状の重症度および／または発生頻度を低減することを意味する。さらに、本明細書における「処置」に対する言及は、治療的、対症的および予防的処置に対する言及を含む。

【0157】

本明細書中で使用される場合、状態に関する「予防する」または「～の進行を遅らせる」という用語（およびその文法的変形）は、例えば、状態を有するか、またはそれを発症するリスクがあることが疑われる個体における状態の予防的処置に関する。予防としては、以下に限定されるものではないが、状態の発症もしくは進行を予防することもしくは遅らせること、および／または疾患の1つもしくはそれ以上の症状を所望のレベルもしくは病理学的なレベル未満に維持することを挙げることができる。例えば、高トリグリセライド血症の文脈において、予防は、高トリグリセライド血症であるか、もしくはそれを発症するリスクがある疑いがある個体において血清トリグリセリドレベルを所望のレベルに維持することを含む場合もある。

10

【0158】

当然のことながら、本開示の dsRNA は、本明細書に記載されている処置に使用するのためのものである場合もあり、本明細書に記載されている処置の方法に使用される場合もあり、および／または本明細書に記載されている処置のための薬剤の製造に使用するのためのものである場合もある。

【0159】

いくつかの実施形態において、本開示の dsRNA は、その他の siRNA 治療用薬剤、モノクローナル抗体、および小分子などの1つまたはそれ以上の追加の治療用薬剤と組み合わせて投与されて、患者の状態に dsRNA の単独投与よりも大きな改善をもたらす。特定の実施形態において、追加の治療用薬剤は、抗炎症効果をもたらす。特定の実施形態において、追加の治療用薬剤は、脂質低下薬などの高トリグリセライド血症を処置する薬剤である。

20

【0160】

いくつかの実施形態において、追加の薬剤は、HMG-CoA還元酵素阻害剤（例えば、スタチン）、フィブラート、胆汁酸捕捉剤（bile acid sequestrant）、ナイアシン、ニコチン酸、抗血小板薬、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、アンジオテンシンII受容体拮抗薬（例えば、ロサルタンカリウム）、アシルCoAコレステロールアセチルトランスフェラーゼ（ACAT）阻害剤、コレステロール吸収阻害剤、コレステロールエステル転送タンパク質（CEETP）阻害剤、ミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質（MTTP）阻害剤、コレステロール調節物質、胆汁酸調節物質、ペルオキシソーム増殖活性化受容体（PPAR）作動薬、オメガ-3脂肪酸（例えば、魚油もしくはアマニ油）、およびインスリンもしくはインスリンアナログのうちの1つまたはそれ以上が可能である。特定の例としては、アトルバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチン、ロバスタチン、フルバスタチン、セリバスタチン、ロスバスタチン、ピタバスタチン、エゼチミブ、ベザフィブラート、クロフィブラート、フェノフィブラート、ゲムフィブロジル、シプロフィブラート、コレスチラミン、コレスチポール、コレセベラム、およびナイアシンが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0161】

特定の実施形態において、本明細書に記載されている dsRNA は、脂質低下、体重減少、食事の変更、および／または適度の運動などの別の治療的介入と組み合わせて投与することができる。

40

【0162】

遺伝的素因が標的遺伝子関連疾患、例えば、高トリグリセライド血症の発症に影響を及ぼす。したがって、1つまたはそれ以上の本開示の dsRNA による処置を必要とする対象は、家族歴を得ること、または、例えば、1つもしくはそれ以上の遺伝子マーカーもしくはバリエーションに関してスクリーニングすることによって特定することができる。高トリグリセライド血症に関与する遺伝子の例としては、LPL、APOB、APOC2、APOA5、APOE、LMF1、GCKR、GPIHBP1、およびGPD1を挙げることができるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、1つまたはそれ以上の本開示の dsRNA による処置を必要とする対象は、任意のこれらの遺伝子または任意のそ

50

の組み合わせにおけるバリエーションまたは機能喪失型変異に関してスクリーニングすることによって特定することができる。

【0163】

医師、看護師、または家族などの健康管理の提供者は、本開示の dsRNA を処方または投与前に家族歴を得ることができる。さらに、遺伝子型または表現型を決定するために試験を実施することができる。例えば、dsRNA が対象に投与される前に ANGPTL8 遺伝子型および／または表現型を特定するために、対象からのサンプル、例えば、血液サンプルに対して DNA 試験を実施することができる。

【0164】

V. キットおよび製造品

本開示の特定の態様は、ANGPTL8 関連状態（例えば、高トリグリセライド血症などの脂質代謝障害）の処置および／もしくは予防に有用な 1 つもしくはそれ以上の本明細書に記載されている dsRNA、ベクター、もしくは組成物（例えば、医薬組成物）を含む製造品またはキットに関する。製造品またはキットは、容器と、容器上のまたは容器に関連するラベルまたは添付文書とをさらに含む場合もある。適した容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、静注液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどのさまざまな材料から形成することができる。容器は、単独で、もしくは疾患を処置もしくは予防するのに有効な別の組成物と組み合わせられた組成物を保持し、滅菌した入り口を有することもできる（例えば、容器は、皮下注射針が貫通可能な栓を有する静注液バッグもしくはバイアルが可能である）。組成物中の少なくとも 1 つの活性剤は、本明細書に記載される dsRNA である。ラベルまたは添付文書は、組成物が ANGPTL8 関連状態を処置するために使用されることを示す。いくつかの実施形態において、状態は、高トリグリセライド血症などの脂質代謝障害および／または本明細書に記載されている別の状態である。さらに、製造品またはキットは、(a) 中に入れられた本明細書に記載されている dsRNA を含む組成物を有する第 1 の容器；および (b) 中に入れられた第 2 の治療用薬剤を含む組成物を有する第 2 の容器（例えば、本明細書に記載されている追加の薬剤）を含む。本開示のこの態様における製造品またはキットは、組成物が特定の疾患を処置するために使用することができることを示す添付文書をさらに含むことができる。あるいは、またはさらに、製造品またはキットは、注射用の静菌水（BWF I）、リン酸緩衝生理食塩水、リンゲル液およびデキストロス溶液などの薬学的に許容されるバッファーを含む第 2 の（または第 3 の）容器をさらに含むことができる。それは、その他のバッファー、希釈剤、フィルター、注射針、およびシリンジを含む、商業的および／または使用者の観点から望ましいその他の材料をさらに含むことができる。

【0165】

本明細書において別に定義されていない限り、本開示に関連して使用される科学および技術用語は、当業者が一般的に理解する意味を有するものとする。例となる方法および材料を以下に示すが、本明細書に記載されているものと類似または同等の方法および材料も本開示の実務または試験に使用することができる。矛盾する場合、定義を含む本明細書が優先されることになる。一般に、本明細書に記載されている細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、分析化学、有機合成化学、医薬および製薬化学、ならびにタンパク質および核酸化学ならびにハイブリダイゼーションに関連して使用される命名法、およびそれらの技術は、当該技術分野において周知のものであり、一般的に使用される。酵素反応および精製技術は、当該技術分野において一般的に遂行されるとおり、または本明細書に記載されるとおり、製造業者の仕様書に従って実施される。さらに、文脈によって別に必要とされない限り、単数の用語は、複数を含むものとし、複数の用語は、単数を含むものとする。本明細書および実施形態全体をとおして、「有する (have)」および「含む (comprise)」という単語または「有する (has)」、「有すること (having)」、「含む (comprises)」もしくは「含むこと (comprising)」などの変形は、指定される整数または整数の群を含むが、その他のいかなる他の整数または整数の群も排除しないことを意味することが理解されるであろう

10

20

30

40

50

。本明細書において言及されるすべての刊行物およびその他の参考文献の全体を参照によって組み入れる。多くの文献が本明細書中で引用されるが、この引例は、これらのいかなる文献も当該技術分野において通常の一般知識の一部を構成することを認めるものではない。

【実施例】

【0166】

本開示がさらによく理解されるために、以下の実施例を記載する。これらの実施例は、説明のためのものに過ぎず、いかなる方法によっても本開示の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【実施例1】

【0167】

s i R N A 合成および精製

非標的化対照 s i R N A (N T 対照) を含む、s i R N A を、固相オリゴヌクレオチド合成を使用して作製した。

【0168】

方法

s i R N A 生成

R N A オリゴヌクレオチドを、2'-OMe もしくは 2'-F 修飾を有する市販のウリジンの 5'-O-DMT-3'-O-(2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピル) ホスホラミダイトモノマー (S A F C)、4-N-アセチルシチジン (C^AC)、6-N-ベンゾイルアデノシン (A^BZ) および 2-N-イソブチリルグアノシン (GⁱBu)、ならびに固相担体 5'-O-DMT-チミジン-C P G および 3'-O-DMT-チミジン-C P G (i n v d T、L i n k) を使用して、固相合成および脱保護に関する標準的なプロトコルに従って、1 μmol (インビトロ) もしくは 10 μmol (インビボ) のスケールで A B I 394 DNA/RNA または B i o A u t o m a t i o n M e r M a d e 12 合成機において合成した (B e a u c a g e ら、C u r r . O p i n . D r u g D i s c o v . D e v e l . (2008年) 11:203~16頁; M u e l l e r ら、C u r r . O r g . S y n t h . (2004年) 1:293~307頁)。

【0169】

ホスホラミダイト基本単位を、アセトニトリル中の 0.1 M 溶液として使用し、5-(ビス-3,5-トリフルオロメチルフェニル)-1H-テトラゾール (アクチベーター 42、アセトニトリル中 0.25 M、S i g m a A l d r i c h) により活性化した。ホスホラミダイトカップリングのために 300 秒の反応時間を使用した。カップリング試薬として、THF 中の無水酢酸 (C a p A f o r A B I、S i g m a A l d r i c h) および THF 中の N-メチルイミダゾール (C a p B f o r A B I、S i g m a A l d r i c h) を使用した。酸化試薬として、THF/ピリジン/水中のヨウ素 (0.02 M; A B I 用オキシダイザー、S i g m a A l d r i c h) を使用した。DMT-保護基の脱保護を、DCM 中のジクロロ酢酸 (D C A 脱保護、S i g m a A l d r i c h) を使用して行った。固相担体からの最終的な切断および脱保護 (アシルーおよびシアノエチルー保護基) を、NH₃ (32% 水溶液/エタノール、v/v 3:1) により達成した。

【0170】

粗製オリゴヌクレオチドを、I E X および L C - M S によって分析し、30 分の 10~65% バッファー B の直線グラジエントを使用したアニオン交換高速液体クロマトグラフィー (I E X - H P L C) によって精製した。A K T A 精製装置 (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c D N A P a c P A 200 セミ分取イオン交換カラム、8 μm 粒子、幅 22 mm × 長さ 250 mm)。

バッファー A: 1.50 L H₂O、2.107 g N a C l O₄、438 mg E D T A、1.818 g T R I S、540.54 g 尿素、pH 7.4。

バッファー B: 1.50 L H₂O、105.34 g N a C l O₄、438 mg E D

10

20

30

40

50

TA、1.818 g TRIS、540.54 g 尿素、pH 7.4。

【0171】

オリゴヌクレオチドの単離は、4倍容量のエタノールの添加により引き起こされる沈殿および−20℃における保管によって達成した。

【0172】

データの高い正確さを確保するために、すべての一本鎖をHPLC精製して、>85%の純度にした。オリゴヌクレオチドの純度および正体を、それぞれ、イオン交換クロマトグラフィーおよびLC-MSによって確認した。

【0173】

二本鎖アニーリング

インビトロ実験(100 μM溶液)およびインビボ実験(10 mg/ml)のために、PBS中のsiRNAの保存液を、等モル量の相補的なセンスおよびアンチセンス鎖を1×PBSバッファー中で混合することによって調製した。その溶液を90℃に10分間加熱し、室温にゆっくりと冷まして、アニーリングプロセスを完了させた。siRNAを、HPLCによってさらに特徴づけ、使用まで凍結保存した。

【0174】

siRNA配列

各siRNAの配列、およびヌクレオチド修飾を含む配列を上記表1および2に示す。

【0175】

マウス血清中におけるsiRNAの安定性

修飾siRNAを、50%マウス血清中でヌクレアーゼ安定性に関して試験した。1×DPBS (Life Technologies、カタログ番号14190-094)中の2.5 μMのsiRNA 160 μLおよびマウス血清160 μL (Sigma、カタログ番号M5905)を、37℃で最大72 hインキュベートした。各時点(0 h、8 h、24 h、32 h、48 h、56 h、および72 h)において、反応の20 μLを採取し、停止液(Tissue & Cell Lysis Solution (Epicentre、カタログ番号MTC096H)、プロテイナーゼK (Sigma、カタログ番号P2308)、水)で65℃において30分間クエンチした。Waters 2695 Separation Moduleおよび2487 Dual Absorbance DetectorにおけるHPLC分析に先立って、RNアーゼフリー水を各サンプルに添加した。その溶液を、DNAPac PA200分析カラム(Thermo Scientific、カタログ番号063000)を使用したHPLCによって分析した。

【0176】

【表43】

時間(分)	流量(mL/分)	%バッファーA*	%バッファーB**
0	1	75	25
20	1	35	65

バッファーA: 20mM リン酸ナトリウム(Sigma、カタログ番号 342483)、pH11;

バッファーB: 20mM リン酸ナトリウム(Sigma、カタログ番号 342483)、1M 臭化ナトリウム

(Sigma、カタログ番号 02119)、pH11。

【0177】

siRNAの両鎖に関する血清半減期を推定した。

【実施例2】

【0178】

ヒトANGPTL8発現の阻害のためのsiRNAの特定方法

細胞および組織培養

ヒトHep3B細胞を、37℃、5% CO₂および95%相対湿度(RH)で増殖させ、10% FBSを加えたEMEM培地(ATCC、カタログ番号30-2003)中で培養した。

【0179】

siRNAトランスフェクション

Hep3B細胞におけるノックダウン実験のために、96ウェルプレート(Greiner、カタログ番号655180)に20,000細胞/ウェルを使用した。その細胞に、リバーストランスフェクション設定において製造業者のプロトコルに従って、Lipofectamine RNAiMAXトランスフェクション試薬(Thermo Fisher)を0.2μL/ウェル使用して0.1nMおよび1nMのANGPTL8 siRNAをトランスフェクションし、培地を変えずに48hインキュベートした。通常、試験サンプル毎にN=4の技術的反復を行った。

10

【0180】

mRNA発現分析

siRNAトランスフェクションまたは自然なsiRNA取り込みの48または72時間後、細胞のRNAを、手順中のDNアーゼステップを含む、製造業者のプロトコルに従ってPromegaのSV96 total RNA isolation system(カタログ番号Z3500)の使用によって回収した。

【0181】

cDNA合成のために、Thermo Fisher Reverse Transcriptaseキット(カタログ番号N8080234)を使用した。12μLの総体積で10×RTバッファー1.2μL、MgCl₂(25mM)2.64μL、dNTP(10mM)2.4μL、ランダムヘキサマー(50μM)0.6μL、Oligo(dT)16(配列番号533)(50μM)0.6μL、RNアーゼ阻害剤(20U/μL)0.24μLおよびMultiscribe(50U/μL)0.3μLを使用して、cDNAをRNA30ngから合成した。サンプルを、25℃で10分間および42℃で60分間インキュベートした。95℃に5分間加熱することによって反応を停止させた。

20

【0182】

ヒトおよびカニクイザルANGPTL8 mRNAレベルを、Thermo Fisher TaqMan Universal PCR Master Mix(カタログ番号4305719)および以下のTaqMan Gene Expressionアッセイを使用したqPCRによって定量した：

30

【0183】

【表44】

ヒト	Hs00218820_m1
カニクイザル	Hs00218820_m1* *カスタマイズされたフォワードプライマーを使用 5'-GCCCTGCCTACCAAGAATTTG-3'(配列番号534)

40

【0184】

PCRは、ABI Prism 7900システムにより以下のPCR条件下で2回の技術的反復で実施した：50℃で2分間、95℃で10分間、95℃で15秒間および60℃で1分間を40サイクル。一反応において標的遺伝子および並行反応において正規化のためのハウスキーピング遺伝子(ヒト/カニクイザルRPL37A)を検出するシンプレックスPCRとしてPCRを設定した。PCR反応の最終体積は、1×PCRマスターミ

50

ックス中の12.5 μ Lであり；RPL37Aプライマーを50 nMの最終濃度で使用し、プローブを200 nMの最終濃度で使用した。標的転写物の相対発現量を計算するために $\Delta\Delta C_t$ 法を利用した。標的遺伝子発現のパーセンテージを、非標的化siRNA対照処理細胞のレベルに基づく正規化によって計算した。

【0185】

IC₅₀測定

IC₅₀測定のために、96ウェルプレートの20,000のヒトHep3B細胞に、5～8倍希釈段階を使用して25 nMから開始する7つの濃度の示したANGPTL8 siRNAを、Lipofectamine RNAiMAXを用いて48時間トランスフェクションした。各siRNAに関する半数阻害濃度(IC₅₀)を、BioStat-Speed統計計算ツールを利用することによって計算した。RatkowskyおよびReedy (Biometrics (1986年) 42 (3) : 575～82頁) による4パラメーターロジスティックモデルを使用して結果を得た。SAS v9.1.3ソフトウェアにおいてLevenberg-Marquardtアルゴリズムを使用した非線形回帰によって補正を得た。

【0186】

細胞傷害性

96ウェルプレートの各ウェル当たり10,000のHep3B細胞の培養物の5 nMおよび50 nMのsiRNAトランスフェクションの72時間後に、各サンプル中の細胞生存率／毒性の比を求めることによって細胞傷害性を測定した。細胞生存率を、製造業者のプロトコルに従ってCellTiter-Gloアッセイ(Promega、カタログ番号G7570)を使用した細胞内ATP含有量の決定によって測定した。細胞毒性を、製造業者のプロトコルに従ってToxiLightアッセイ(Lonza、カタログ番号LT07-217)を使用して上清において測定した。10 nMのAllStars Hs Cell Death siRNA(Qiagen、カタログ番号SI04381048)、25 μ Mのケトコナゾール(Calbiochem、カタログ番号420600)および1%のTriton X-100(Sigma、カタログ番号T9284)を毒性の陽性対照として使用した。

【0187】

結果

ヒトANGPTL8を標的とする際に有用なsiRNAを特定するために、コンピュータでのライブラリー生成のために以下の基準を適用した：まず、18ヌクレオチドの重なる部分を有する、NM_018687.6に示されているヒトANGPTL8 mRNA配列からの19塩基長をコンピュータで特定した。862個の19塩基長の得られたプールを、その後、カニクイザル(Macaca fascicularis) (カニクイザル)のANGPTL8 mRNA配列とアライメントし、カニクイザルにおいて2個以上のミスマッチを有するすべての配列を除外した。これにより、ミスマッチが0個の401個のsiRNA配列、およびミスマッチが1個のさらに294個のsiRNA配列が残った。

【0188】

30～55%のG/C含量を有する残りの配列に関して、その後、ヒトトランスクリプトーム(RefSeq RNAバージョン2015-12-22)中のいずれかのsiRNA鎖(センス／アンチセンス)と対応する可能性のあるあらゆるオフターゲット転写物を特定するためにコンピュータによる分析を行った。肝臓組織においてFPKM<0.5のRNAseq発現(Illumina Body Atlas)を有するヒトオフターゲット配列は考慮しなかった。目的とするすべてのsiRNA配列は、ANGPTL8以外の肝臓で発現される任意のヒト転写物に対して3個を超えるミスマッチを有したか、または4個もしくはそれ以下のヒト遺伝子について2個のミスマッチを有したかのいずれかであり；これらの2つの基準の1つも満たさなかった配列は除去した。この除去後、132個の可能性のあるsiRNAが残った(表1を参照)。

【0189】

上記のとおり、132個のsiRNAを、2' O-メチルおよび2' -フルオロ基の固定パターンを有するヌクレオチドを用いて作製した（表2を参照）。これらの132個のsiRNAのANGPTL8の発現を低下させる能力を試験するために、ヒトHep3B細胞に0.1 nMまたは1.0 nMの各siRNAをトランスフェクションし、48時間インキュベートした。インキュベーション後、各サンプル中のANGPTL8のmRNA発現を測定し、陽性および陰性対照と比較した（図1A～1C）。1.0 nMの濃度で少なくとも90%、または0.1 nMの濃度で少なくとも70%のmRNA発現の低下を示した18個のsiRNAを、さらなる特徴づけのために選択した。

【0190】

ヒトHep3B細胞において選択された18個のsiRNAに関してIC₅₀測定（表5）および細胞傷害性アッセイ（図2）を行った。（50 nMにおいて）<50%のNT対照生存率／毒性比を示した3個のsiRNAの除去後、GalNAcとのコンジュゲーションに関するIC₅₀値に基づいて12個のsiRNAを選択した（表5）：

【0191】

【表45】

表5 選択されたsiRNAの活性および細胞傷害性

化合物	I _{max}	IC ₅₀ [nM]	検出された細胞傷害性	GalNAcコンジュゲーションに関する選択
siRNA#006	1.004	1.37E-01		X
siRNA#023	0.977	3.46E-02		X
siRNA#040	0.984	2.62E-02		X
siRNA#041	0.956	3.33E-02		X
siRNA#042	0.976	9.81E-03		X
siRNA#043	0.957	1.68E-02		X
siRNA#044	0.956	4.15E-02		X
siRNA#064	0.969	6.21E-02		
siRNA#067	0.951	1.98E-01		X
siRNA#093	0.968	5.58E-02		
siRNA#094	0.995	5.74E-02	X	
siRNA#097	0.992	3.70E-02	X	
siRNA#100	0.992	2.24E-02		X
siRNA#123	0.982	4.79E-02		X
siRNA#124	0.976	4.79E-02		X
siRNA#126	0.944	1.34E-01		
siRNA#131	0.972	3.94E-02		X
siRNA#132	0.992	1.04E-01	X	

【0192】

まとめると、これらの結果は、ヒト細胞において顕著な細胞傷害性がなく、ヒトANGPTL8発現の強い阻害が可能なsiRNAの特定を示す。

【実施例3】

【0193】

ヒトおよびカニクイザルANGPTL8発現の阻害に関して活性なGalNAcコンジュゲートsiRNAの特定

方法

非標的化対照siRNA（NT対照）を含む、GalNAc-siRNAを、示された配列に基づいて生成した（上の配列表を参照）。

【0194】

細胞培養およびアッセイ

ヒト (Bioreclamation IVT、カタログ番号 M00995-P) および カニクイザル (Primacyt、カタログ番号 CHCP-E-T) 初代肝細胞を以下のとおり培養した: 播種および解凍キット (Primacyt、カタログ番号 PTK-1) を使用して、凍結保存細胞を解凍し、播種し、37°C、5% CO₂ および 95% RH で インキュベートした。播種の 6 時間後、培地を 1% FBS を加えた維持培地 (Kaly-Cell、カタログ番号 KLC-MM) に変えた。

【0195】

mRNA 発現分析を、実施例 1 において上で記載したとおりに実施した。

【0196】

IC₅₀ 測定

自然な取り込み条件下におけるヒトおよびカニクイザル初代肝細胞の用量・活性関係および IC₅₀ 測定を示すために、96 ウェルプレート の 50,000~70,000 細胞を、培地を変えずに、10 倍希釈段階を使用して 10 μM~0.01 nM の範囲の濃度の siRNA とともに 72 時間 インキュベートした。各 siRNA に関する半数阻害濃度 (IC₅₀) を、BioStat-Speed 統計計算ツールを利用することによって計算した。Ratkowsky および Reedy (Biometrics (1986 年) 42 (3): 575~582 頁) による 4 パラメーターロジスティックモデルを使用して結果を得た。SAS v9.1.3 ソフトウェアにおいて Levenberg-Marquardt アルゴリズムを使用した非線形回帰によって補正を得た。

【0197】

結果

強力な siRNA の選択後、本発明者らは、選択した分子がインビボにおける肝臓特異的な siRNA 送達に適した GalNAc コンジュゲートの文脈において活性を保持するかどうかを実証することに着手した。本発明者らは、この活性が前臨床種であるカニクイザル (M. fascicularis) (カニクイザル) の細胞において持続するかどうかとも評価した。

【0198】

IC₅₀ 測定の結果は、ヒト初代肝細胞に自然な取り込みによって送達された場合に、試験したすべての siRNA コンジュゲートが活性を保持することを示し (表 6)、IC₅₀ 値は 8.12~475 nM に及ぶ。しかしながら、驚くべきことに、GalNAc-siRNA の自然な取り込み後の性能の順位づけは、コンジュゲートされていない siRNA のトランスフェクションにより補助された取り込みの後に得られたものと著しく異なる (表 5)。これは、siRNA がその配列に基づく固有の特性を有し、それが、結果として得られるノックダウン能力に関して GalNAc コンジュゲートの文脈において siRNA を適用に対して異なるように適合させるようである。

【0199】

10

20

30

40

50

【表 4 6】

表 6 選択された GalNAc コンジュゲート siRNA の $I_{\max}$ および IC_{50}

化合物	$I_{\max}$	IC_{50} [nM]
siRNA#006-c	0.4301279	4.75E+02
siRNA#023-c	0.8143869	3.03E+01
siRNA#040-c	0.8949594	2.70E+01
siRNA#041-c	0.5851301	8.12E+00
siRNA#042-c	0.946814	1.27E+01
siRNA#043-c	0.9174046	1.64E+01
siRNA#044-c	0.958233	1.29E+01
siRNA#067-c	0.3105127	3.97E+01
siRNA#100-c	0.6889424	1.28E+01
siRNA#123-c	0.51566	7.04E+01
siRNA#124-c	0.5422029	6.48E+01
siRNA#131-c	0.7886907	1.63E+01

10

【0200】

20

さらに一層驚くべきことに、これらの siRNA は、カニクイザル肝細胞において差異のある用量・活性関係を示し、これは、カニクイザル配列に対するそれらのミスマッチと相関しない（図 5A～D）。予想に反して、ミスマッチのない試験 siRNA（siRNA#006-c、siRNA#023-c、siRNA#100-c および siRNA#131）は、ミスマッチが 1 個ある試験 siRNA（具体的に siRNA#041-c、siRNA#042-c、siRNA#043-c および siRNA#044-c）と比較して全体的に低い用量・活性関係を示す。この驚くべき発見は、ヒト標的において最高の活性を示す siRNA の特定を可能にし、さらにこの前臨床種における使用も可能にする。

【実施例 4】

30

【0201】

ヒト ANGPTL8 発現の阻害に関する GalNAc コンジュゲート siRNA のインビトロおよびインビボにおける特徴づけ

方法

細胞および組織培養

ヒト Hep3B 細胞を、37℃、5% CO₂ および 95% RH で増殖させ、10% FBS を加えた EMEM 培地（ATCC、カタログ番号 30-2003）中で培養した。

【0202】

ヒト（Bioreclamation IVT、カタログ番号 M00995-P）およびカニクイザル（Primacyt、カタログ番号 CHCP-I-T）初代肝細胞を以下のとおり培養した：播種および解凍キット（Primacyt、カタログ番号 PTK-1）を使用して、凍結保存細胞を解凍し、播種し、37℃、5% CO₂ および 95% RH でインキュベートした。播種の 6 時間後、培地を 1% FBS を加えた維持培地（Kaly-Cell、カタログ番号 KLC-MM）に変えた。

40

【0203】

ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を、製造業者の説明書に従ってヘパリンナトリウムでコーティングされたバキュテナーチューブ（BD、Heidelberg Germany）中に採取した健康な 3 人のドナーからの血液およそ 16 mL から単離した。

【0204】

ヒト PBMC のトランスフェクションのために、100 nM の siRNA を、1 × 10

50

⁵のPBMCに、96ウェルプレートの1ウェル当たりLipofectamine 2000 (N=2)を0.3 μ L用いて150 μ Lの無血清RPMI培地 (Thermo Fisher、カタログ番号11875)の総体積として24時間リバーストランスフェクションした。一本鎖RNA (「R-0006」)およびDNA (「CpG ODN」)オリゴヌクレオチド、ならびに二本鎖無修飾および2'-O-メチル修飾siRNA (「132/161」)を対照として利用した。

【0205】

IFN α 測定

ヒトPBMCの上清中のIFN α タンパク質濃度を以下のとおり定量した：細胞培養上清25 μ Lを、MesoScale Discoveryの技術に基づくそれ自体が確立された電気化学発光アッセイを利用し、pan IFN α モノクローナル捕捉抗体 (MT1/3/5、Mabtech)を使用したIFN α 濃度の測定のために使用した。あるいは、ヒトIFN α 2aアイソフォーム特異的アッセイ (カタログ番号K151VHK)を、MesoScaleのU-PLEXプラットフォームに基づいて、供給業者のプロトコルに従って利用した。

【0206】

細胞傷害性

ヒト初代肝細胞におけるsiRNAの細胞傷害性を、自然な取り込み条件下における1 μ M、5 μ Mおよび25 μ MのsiRNAとの96ウェルプレートの1ウェル当たり45,000~50,000細胞のインキュベーションの72時間後に、各サンプル中の細胞生存率/毒性の比を求めることによって測定した。細胞生存率を、CellTiter-Gloアッセイ (Promega、カタログ番号G7570)を使用して細胞内ATP含有量を求めることによって測定し、上清中の細胞毒性を、製造業者のプロトコルに従ってLDHアッセイ (Sigma、カタログ番号11644793001)を使用して測定した。25 μ Mのケトコナゾールおよび1%のTriton X-100を、陽性対照として使用した。

【0207】

ヌクレアーゼ安定性

GalNAcコンジュゲートsiRNAを、実施例1に記載されている方法を使用してヌクレアーゼ安定性に関して試験した。

【0208】

インビボアッセイ

インビボにおけるヒトANGPTL8を標的とするGalNAc-siRNAの効果を評価するために、マウスにおいてアデノ随伴ウイルスベクターに基づく導入遺伝子発現系を利用した。この目的を達成するために、ApoA2プロモーターからヒトANGPTL3およびANGPTL8を同時にコードするバイシストロン性mRNAの肝臓特異的な発現を伴うAAV8ベクター (Vectalys, Toulouse, France)、を、siRNA投薬前に雌のC57BL/6マウス (Charles River, Germany)に静脈内投与した。AAVベクターから発現されたヒトANGPTL3の血清レベルが十分に高い血清レベルに達した後、(非標的化対照を含む)GalNAcコンジュゲートsiRNAを15 mg/kg (n=8)で皮下投与した。ヒトANGPTL8を標的とするsiRNAの活性を、代用物としてヒトANGPTL3を測定することによって定量した。

【0209】

ANGPTL3 ELISAアッセイ

siRNAで処置したマウスにおける血清ANGPTL3タンパク質レベルを、R&D SystemsのヒトANGPTL3 Quantikine ELISAキット (カタログ番号DANL30)を利用することによって定量した。ANGPTL3血清レベルを、非標的化対照siRNAで処置した群と比較して計算した。

【0210】

結果

ヒト初代細胞においてインビトロでのANGPTL8を標的とする12個のGalNAc-siRNAの免疫応答を、siRNAのトランスフェクションに応じて健康な3人の異なるドナーから単離したヒト初代PBMCから分泌されるインターフェロン α の産生（図3）を調べることによって測定した。いかなる試験siRNAに関してもヒトPBMCにおける免疫刺激のサインは確認されなかった。

【0211】

ANGPTL8 GalNAc-siRNAを、50%マウス血清中におけるインビトロでのヌクレアーゼ安定性に関しても、相対的安定性および半減期を求めることによって試験した（表7）。半減期は、24 hから72 hの間の範囲であった。

【0212】

【表47】

表7 インビトロにおける血清中安定性

化合物	t _{1/2}
siRNA#006-c	72 h
siRNA#023-c	72 h
siRNA#040-c	24 h
siRNA#041-c	32 h
siRNA#042-c	32 h
siRNA#043-c	32 h
siRNA#044-c	56 h
siRNA#067-c	24 h
siRNA#100-c	32 h
siRNA#123-c	32 h
siRNA#124-c	32 h
siRNA#131-c	32 h

【0213】

さらなる選択物からあらゆる毒性の可能性を有するGalNAc-siRNAを除外するためにヒト初代肝細胞において細胞傷害性アッセイを行った（図4）。大半の分子に関して明らかな毒性効果は確認されなかった。しかしながら、siRNA#006-cおよびsiRNA#041-cに関して軽度の用量依存的アッセイ効果（dose-dependent assay effect）が確認された。これらの結果は、GalNAcコンジュゲートの文脈において本発明者らが選択したsiRNAの適用が一般に細胞傷害性を付与しないことを示す。

【0214】

最後に、4個の選択されたGalNAc-siRNA分子を、ヒトANGPTL8 mRNAを発現する上記のヒト化マウスモデルを（バイシストロン性コンストラクトからのANGPTL3とともに）使用してインビボにおいて試験した（図6）。選択した化合物の皮下投与後、標的タンパク質レベルが非標的化対照で処置した動物と比較して80%から95%（K_{Dmax}）の間で低下した。化合物により、処置後約15日目から約30日目の間にレベルが最大ノックダウンの50%（K_{D50}）に戻った。すべての群が45日目までにベースラインに戻った。

【0215】

別の研究において、ヒトANGPTL8を過剰発現するHep3B細胞株に、Lipofectamine RNAiMAXを用いて、2~10倍希釈段階を使用して25 nMから始まる10の濃度のsiRNA#042-cを72 hトランスフェクションした。全

細胞タンパク質抽出物中のヒトANGPTL8発現を、一次抗体としてマウス抗ヒトANGPTL8 IgG (R&D System、MAB8548)、二次抗体としてペルオキシダーゼコンジュゲートAffiniPureヤギ抗マウスIgG (JIR Lab. Inc、11-035-062)、およびECL検出システム (GE Healthcare) を使用することによるウエスタンブロットによってアッセイした。このデータは、siRNA#042-cがHep3BにおけるヒトANGPTL8発現を用量依存的な様式で阻害し、半数阻害濃度 (IC₅₀) が0.01 nMであり、完全な阻害濃度が0.1 nMであったことを示す。これらの結果は、試験されたコンストラクトの優れたANGPTL8阻害活性をさらに示す。

【実施例5】

【0216】

GalNAcコンジュゲートANGPTL8 siRNA配列の最適化

方法

修飾GalNAc siRNA配列の生成

式 (I) の修飾ヌクレオチドを有するさらに最適化されたGalNAc siRNA配列を、国際公開第2019/170731号に記載されているとおりに合成した。すべてのオリゴヌクレオチドを、ABI 394合成機において合成した。市販の (Sigma Aldrich) 標準的な保護基を有するDNA-、RNA-、2'-OMe-RNA、および2'-デオキシ-F-RNA-ホスホラミダイト、例えば、5'-O-ジメトキシトリチル-チミジン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-ウラシル-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-N4-シチジン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-N6-ベンゾイル-アデノシン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-N2-イソブチル-グアノシン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-メチル-ウラシル-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-メチル-N4-シチジン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-メチル-N6-ベンゾイル-アデノシン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-メチル-N2-イソブチル-グアノシン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシフルオロ-ウラシル-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシフルオロ-N4-シチジン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシフルオロ-N6-ベンゾイル-アデノシン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイト、および5'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシフルオロ-N2-イソブチル-グアノシン-3'-O- (N, N-ジイソプロピル-2-シアノエチル)-ホスホラミダイトならびに対応する固相担体材料 (CPG-500 Å、ローディング40 μmol/g、ChemGenes) を、自動オリゴヌクレオチド合成のために使用した。

【0217】

ホスホラミダイト基本単位を、アセトニトリル中の0.1 M溶液として使用し、5- (ビス-3, 5-トリフルオロメチルフェニル)-1H-テトラゾール (アクチベーター42、アセトニトリル中0.25 M、Sigma Aldrich) により活性化した。標準的なホスホラミダイトカップリングに対して200秒の反応時間を使用した。本明細書

10

20

30

40

50

に記載されているホスホラミダイトの場合、300秒のカップリング時間を利用した。カップリング試薬として、THF中の無水酢酸 (Cap A for ABI, Sigma Aldrich) およびTHF中のN-メチルイミダゾール (Cap B for ABI, Sigma Aldrich) を使用した。酸化試薬として、THF/ピリジン/水中のヨウ素 (0.02M; ABI用オキシダイザー, Sigma Aldrich) を使用した。あるいは、ピリジン/アセトニトリル (1:1) 中の3-((N, N-ジメチル-アミノメチリデン) アミノ) -3H-1, 2, 4-ジチアゾール-5-チオン (DDTT) の0.05M溶液によりPS酸化を達成した。DMT-保護基の脱保護を、DCM中のジクロロ酢酸 (DCA deblock, Sigma Aldrich) を使用して行った。固相担体からの最終的な切断および脱保護 (アシル-およびシアノエチル-保護基) を、NH₃ (32%水溶液/エタノール、v/v 3:1) により達成した。NMP/NEt₃/NEt₃・3HF (3:1.5:2) による処理を、TBDMs-脱保護のために利用した。

10

【0218】

3'末端に本明細書に記載の基本単位を有するオリゴヌクレオチドを、表Bに示される固相担体材料またはユニバーサルリンカー-固相担体 (CPG-500 Å、ローディング 39 μmol/g、AM Chemicals LLC) および表Aに示される対応するホスホラミダイト上に合成した。

【0219】

粗生成物を、HPLCによって分析し、一本鎖精製をイオン交換または分取HPLC法を使用して実施した。

20

イオン交換: AKTA精製装置、(Thermo Fisher Scientific DNAPac PA200セミ分取イオン交換カラム、8 μm粒子、幅22mm×長さ250mm)。

バッファーA: 1.5 L H₂O、2.107 g NaClO₄、438 mg EDTA、1.818 g TRIS、540.54 g 尿素、pH7.4。

バッファーB: 1.5 L H₂O、105.34 g NaClO₄、438 mg EDTA、1.818 g TRIS、40.54 g 尿素、pH7.4。

オリゴヌクレオチドの単離を、4倍容量のエタノールの添加および-20℃における保管により引き起こされる沈殿によって達成した。

30

【0220】

分取HPLC: Agilent 1100シリーズ分取HPLC (Waters XBridge (登録商標) BEH C18 OBD (商標) 分取カラム130 Å、5 μm、10 mm×100 mm) ; 溶離液: トリエチルアンモニウムアセタート (アセトニトリル/水中0.1M)。凍結乾燥後、生成物を、2.5MのNaCl溶液1.0 mLおよびH₂O 4.0 mLに溶解させた。対応するNa⁺塩を、エタノールを20 mL添加し、-20℃において18 h保管することによる沈殿後に単離させた。

【0221】

一本鎖の最終的な分析は、LC/MS-TOF法によって行った。二本鎖形成のために、等モル量のセンス鎖およびアンチセンス鎖を、1×PBSバッファー中で混合し、85℃に10分間加熱した。その後、それを、ゆっくりと室温に冷ました。siRNA二本鎖の最終的な分析は、LC/MS-TOF法によって行った。

40

【0222】

siRNA二本鎖のアニーリングを、実施例1に記載されているとおりに行った。ヌクレオチド修飾を含む、各siRNAの配列を、表3および4に示す。

【0223】

マウス血清中におけるsiRNAの安定性

最適化されたANGPTL8 siRNAの安定性を、以下を除いて実施例1に記載されているとおりに判定した: siRNAを37℃で0 h、24 h、48 h、72 h、96 h、および168 hインキュベートした。プロテイナーゼKをQiagen (カタログ番

50

号19133)から購入し、HPLC分析を、1260 DAD検出器を使用したAgilent Technologies 1260 Infinity II機器において実施した。

【0224】

細胞培養および細胞ベースのアッセイ

ヒトHep3B細胞、ヒト初代肝細胞、および初代ヒトPBMCを、単離し、実施例2～4に記載されているとおりに培養した。mRNAの分析を、実施例2に記載されているとおりに行った。細胞傷害性を、実施例2に記載されているとおりにヒトHep3B細胞の5nMおよび50nMのsiRNAトランスフェクションの72時間後に測定した。ヒトPBMCの上清中のIFN α タンパク質濃度を、実施例4に記載されているとおりに定量した。

10

【0225】

インビボアッセイ

修飾GalNAc-ANGPTL8 siRNAのインビボ活性を、ヒトANGPTL3およびANGPTL8 mRNAをコードするバイシストロン性AAV8ベクターにより形質導入されたマウスにおいて実施例4に記載されているとおりに測定した。実施例4とは対照的に、6mg/kgの単回のsiRNA用量を、各処置群当たり5匹の雄のC57BL/6マウスに皮下注射した。血清ANGPTL3レベルを、ELISAによって測定した。

20

【0226】

ANGPTL3 ELISAアッセイ

修飾GalNAc-ANGPTL8 siRNAで処置したマウスにおける血清ANGPTL3タンパク質レベルを、肝臓インビボsiRNA活性の測定の代用物として使用し、実施例4に記載されているとおりに定量した。

【0227】

結果

54個の異なるsiRNA修飾パターンを、設計し、2個のGalNAcコンジュゲートsiRNAコンストラクトに適用した(s iRNA#023-cおよびs iRNA#042-c)。2×54個のsiRNA分子のライブラリー(s iRNA#023-c-01からs iRNA#023-c-54およびs iRNA#042-c-01からs iRNA#042-c-54、表3および4)を、それぞれのsiRNAセンス鎖の5'末端にある3個の連続した修飾GalNAcコンジュゲートヌクレオチドを使用して合成した。

30

【0228】

108個の修飾ANGPTL8 siRNAのすべてを、50%マウス血清中においてヌクレアーゼ安定性に関して試験した(半減期 $t_{1/2}$)。表8に表されるとおり、多数の修飾コンストラクトが固定パターンの2' O-メチルおよび2' フルオロ修飾ヌクレオチドを有する親コンストラクトと比較して著しく改善された安定性を示した。s iRNA#023-cから誘導されたコンストラクトに関して、血清半減期が、親コンストラクトのおよそ72hから修飾コンストラクトの168hまたはそれ以上に向上した。s iRNA#042-cから誘導されたコンストラクトに関して、血清半減期が、およそ32hから96hまたはそれ以上に向上した。

40

【0229】

50

【表 48】

表 8 インビトロにおける血清中安定性

siRNA コンストラクト	t _{1/2}	siRNA コンストラクト	t _{1/2}
siRNA#023-c	=72h	siRNA#042-c	=32h
siRNA#023-c-01	=72h	siRNA#042-c-01	>96h
siRNA#023-c-02	=72h	siRNA#042-c-02	>96h
siRNA#023-c-03	>48h	siRNA#042-c-03	>72h
siRNA#023-c-04	>48h	siRNA#042-c-04	=48h
siRNA#023-c-05	>48h	siRNA#042-c-05	>72h
siRNA#023-c-06	>48h	siRNA#042-c-06	>72h
siRNA#023-c-07	>96h	siRNA#042-c-07	>72h
siRNA#023-c-08	>48h	siRNA#042-c-08	>72h
siRNA#023-c-09	=96h	siRNA#042-c-09	=48h
siRNA#023-c-10	=96h	siRNA#042-c-10	>48h
siRNA#023-c-11	=96h	siRNA#042-c-11	>48h
siRNA#023-c-12	>96h	siRNA#042-c-12	>48h
siRNA#023-c-13	>72h	siRNA#042-c-13	=48h
siRNA#023-c-14	=168h	siRNA#042-c-14	=72h
siRNA#023-c-15	>72h	siRNA#042-c-15	>48h
siRNA#023-c-16	=168h	siRNA#042-c-16	>72h
siRNA#023-c-17	=96h	siRNA#042-c-17	>72h
siRNA#023-c-18	=72h	siRNA#042-c-18	>48h
siRNA#023-c-19	=72h	siRNA#042-c-19	>24h
siRNA#023-c-20	>48h	siRNA#042-c-20	>72h
siRNA#023-c-21	>48h	siRNA#042-c-21	>96h
siRNA#023-c-22	=72h	siRNA#042-c-22	>24h
siRNA#023-c-23	=72h	siRNA#042-c-23	>72h
siRNA#023-c-24	=96h	siRNA#042-c-24	>72h
siRNA#023-c-25	>24h	siRNA#042-c-25	>48h
siRNA#023-c-26	>48h	siRNA#042-c-26	>48h
siRNA#023-c-27	>72h	siRNA#042-c-27	>48h

10

20

30

40

50

【表 4 9】

siRNA#023-c-28	=72h	siRNA#042-c-28	>48h
siRNA#023-c-29	=72h	siRNA#042-c-29	>24h
siRNA#023-c-30	>48h	siRNA#042-c-30	>48h
siRNA#023-c-31	>72h	siRNA#042-c-31	>72h
siRNA#023-c-32	>72h	siRNA#042-c-32	>24h
siRNA#023-c-33	=72h	siRNA#042-c-33	>48h
siRNA#023-c-34	>72h	siRNA#042-c-34	>24h
siRNA#023-c-35	>48h	siRNA#042-c-35	>48h
siRNA#023-c-36	=72h	siRNA#042-c-36	>24h
siRNA#023-c-37	>72h	siRNA#042-c-37	>72h
siRNA#023-c-38	=72h	siRNA#042-c-38	>24h
siRNA#023-c-39	=72h	siRNA#042-c-39	=48h
siRNA#023-c-40	>48h	siRNA#042-c-40	>24h
siRNA#023-c-41	>96h	siRNA#042-c-41	>72h
siRNA#023-c-42	>96h	siRNA#042-c-42	>48h
siRNA#023-c-43	>48h	siRNA#042-c-43	=96h
siRNA#023-c-44	=72h	siRNA#042-c-44	=48h
siRNA#023-c-45	=96h	siRNA#042-c-45	>48h
siRNA#023-c-46	>96h	siRNA#042-c-46	>48h
siRNA#023-c-47	=72h	siRNA#042-c-47	>48h
siRNA#023-c-48	>72h	siRNA#042-c-48	>48h
siRNA#023-c-49	=72h	siRNA#042-c-49	=48h
siRNA#023-c-50	=96h	siRNA#042-c-50	>24h
siRNA#023-c-51	>168h	siRNA#042-c-51	>72h
siRNA#023-c-52	>72h	siRNA#042-c-52	>48h
siRNA#023-c-53	=72h	siRNA#042-c-53	>72h
siRNA#023-c-54	>72h	siRNA#042-c-54	=48h

10

20

30

40

【0230】

次に、108個の修飾GalNAc-siRNAのすべてを、1nM、10nM、および100nM濃度の修飾siRNAを使用した自然な取り込み条件下でのヒト初代肝細胞におけるノックダウン能力に関して評価した。親コンストラクトsiRNA#023-cおよびsiRNA#042-cを、陽性対照として使用した。データは、図7Aおよび7Bに示す。驚くべきことに、siRNA#042-cの大半の修飾バリエーションは、親コンストラクトと比較して強力に向上したインビトロノックダウン活性を示した（図7B）が、これは、siRNA#023-cの場合は異なった（図7A）。

【0231】

50

インビトロにおけるノックダウン活性およびヌクレアーゼ安定性データに基づいて、2つの親コンストラクトのそれぞれに対して12個の修飾バリエーションを選択した。インビボ活性試験に先立って、2×12個の修飾コンストラクトを、ヒトPBMCにおける自然免疫を刺激する能力(図8)およびヒトHep3B細胞における一般的な細胞傷害性(図9)に関して調査した。両方のアッセイにおいて、明白な悪影響は、確認されなかった。

【0232】

最後に、2×12個の選択された修飾コンストラクトを、実施例4に記載されているとおりにインビボにおいて試験した。この実験に対して、マウスにANGPTL3およびANGPTL8をコードするバイシストロン性AAV8コンストラクトを静脈内注射した。処置マウスは、ヒトANGPTL3および8を発現し、この場合、mRNAのノックダウンが、両タンパク質の発現の低下につながった。このデータは、siRNA注射後、代用バイオマーカーANGPTL3のタンパク質レベルが、PBSで処置した動物と比較して最大95%(K_{Dmax})低下したことを示す(図10Aおよび10B)。実際、ANGPTL3の血清レベルは、siRNA#023-c-02、-06、-07、-10、-15、-16、-38、-42、-46、もしくは51により、またはsiRNA#042-c-43、もしくは-53により処置した動物において、70日目でも処置前レベルの50%(K_{D50})超には戻らなかった。対照的に、親コンストラクトで処置した動物におけるANGPTL3レベルは、その時点で対照動物と区別できなかった。

【0233】

要約すると、本発明者らは、インビボおよびインビトロにおけるGalNAcコンジュゲートの文脈においてヒトANGPTL8 mRNAおよびそれから翻訳されるタンパク質の発現を強力に低下させるsiRNAの特定に成功したことを証明した。驚くべきことに、特定した一部のsiRNAは、さらに首尾よく1個の塩基配列ミスマッチにもかかわらずカニクイザルANGPTL8 mRNAを標的とする。本発明者らはまた、予想外にも、修飾ヌクレオチドを使用して最適化した修飾パターンの導入によるsiRNAのインビボにおける効力の大きな向上も証明した。

【0234】

ANGPTL8 配列

ヒトANGPTL8 mRNA 配列 (配列番号529)

```
1 ataccttaga ccctcagtca tgccagtgcc tgctctgtgc ctgctctggg ccctggcaat
61 ggtgacccgg cctgcctcag cgcccccat gggcggccca gaactggcac agcatgagga
121 gctgaccctg ctcttccatg ggaccctgca gctgggccag gccctcaacg gtgtgtacag
181 gaccacggag ggacggctga caaaggccag gaacagcctg ggtctctatg gccgcacaat
241 agaactcctg gggcaggagg tcagccgggg cgggcatgca gccaggaac ttcgggcaag
301 cctgttggag actcagatgg aggaggatat tctgcagctg caggcagagg ccacagctga
361 ggtgctgggg gaggtggccc aggcacagaa ggtgctacgg gacagcgtgc agcggctaga
421 agtccagctg aggagcgcct ggctggggccc tgcctaccga gaatttgagg tcttaaaggc
481 tcacgctgac aagcagagcc acatcctatg ggccctcaca ggccacgtgc agcggcagag
541 gcgggagatg gtggcacagc agcatcggct gcgacagatc caggagagac tccacacagc
601 ggcgctccca gcctgaatct gcctggatgg aactgaggac caatcatgct gcaaggaaca
661 cttccacgcc ccgtgaggcc cctgtgcagg gaggagctgc ctgttactg ggatcagcca
721 gggcgccggg cccacttct gagcacagag cagagacaga cgcaggcggg gacaaaaggca
781 gaggatgtag cccattggg gaggggtgga ggaaggacat gtacccttc atgcctacac
841 acccctcatt aaagcagagt cgtggcatct caaaaaaaaa aaaaaaaaaa
```

ヒトANGPTL8 ポリペプチド配列 (配列番号530)

```
MPVPALCLLW ALAMVTRPAS AAPMGGPELA QHEELTLLFH GTLQLGQALN
GVYRTTEGRL TKARNSLGLY GRTIELLGQE VSRGRDAAQE LRASLLETQM
EEDILQLQAE ATAENVLGEVA QAQKVL RDSV QRLEVQLRSA WLGPAYREFE
VLKAHADKQS HILWALTGHV QRQRREMAVQ QHRLRQIQER LHTAALPA
```

カニクイザルANGPTL8 mRNA 配列 (配列番号531)

1 atgggggatg cctccctc cttccctggg gtgcagtcac tgaccggcag ggcctggctg
61 gggtcctcgc ctgtcatgta ctgcactcgc acggcaagg tgcgcacgga gccctggcgg
121 ctgctgaagt tgaggctgtg cgggtacacg tacagcagac cctcagtcac gctagtgcct
181 gctctgtgcc tgctgtgggc cctggcaatg gtgatccagc ctgcctcagc ggccccctg
241 ggcagcccag aactggcaga gcatgaggag ctgaccctgc tcttccatgg gaccctgcag
301 ctggggcagg ccctcaatgg tgtgtacaag accacggagg gacggctgac aaaggccagg
361 aacagcctgg gtctctatgg ccgcacagtg gaactcctgg ggcaggagggt cagccggggc
421 cgggatgcag cccaggaact tcgggcaagc ctgttgagga ctcagatgga ggaggatatt
481 ctgcagctga aggcagaggc catagccgag gtgctggagg aggtggccca ggcacagaag
541 gtgctacagg acagcgtgcg gcggctagaa gtccagctga ggagcgcctg gctgggcctt
601 gcctaccaag aatttgagggt cttaaaggct cacgctgaca agcagagcca catcctgtgg
661 gccctcacag gccacgtgca gcggcagagg cgggagatgg tggcacagca gcatcggctg
721 cgacagatcc aggagagaat ccacaaagcg gcgctcccag cctgaatctg cctggatgga
781 actgaggacc aaccatgctg caaggaacac ttccacgccc catgaggccc ctgaacaggg
841 aggagctgcc tgttacttgg gatcagccag ggcgcccggc cccacttctg agcacagagc
901 agagacagac gcaggcaggg acaaaggcag aggacgtagc cccattgggg aggggtggag
961 gaaggatgtg taccctttca tacctacaca ccccccttat taaagcagag tcgtggcatc
1021 tca

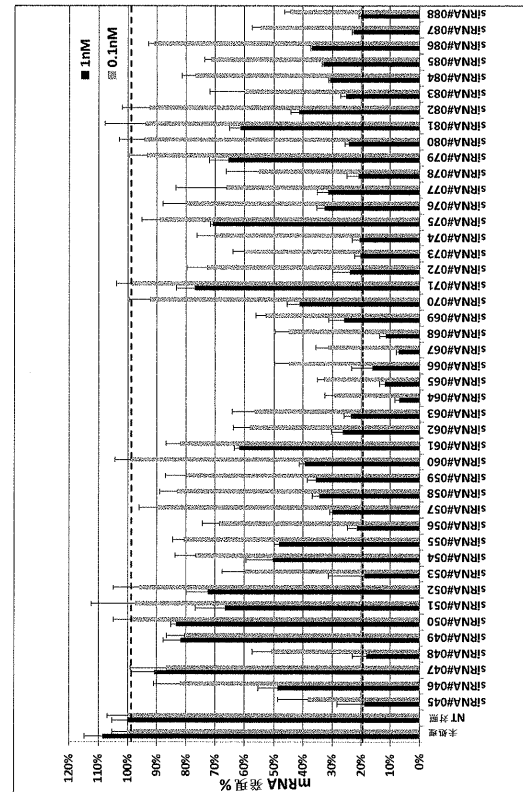
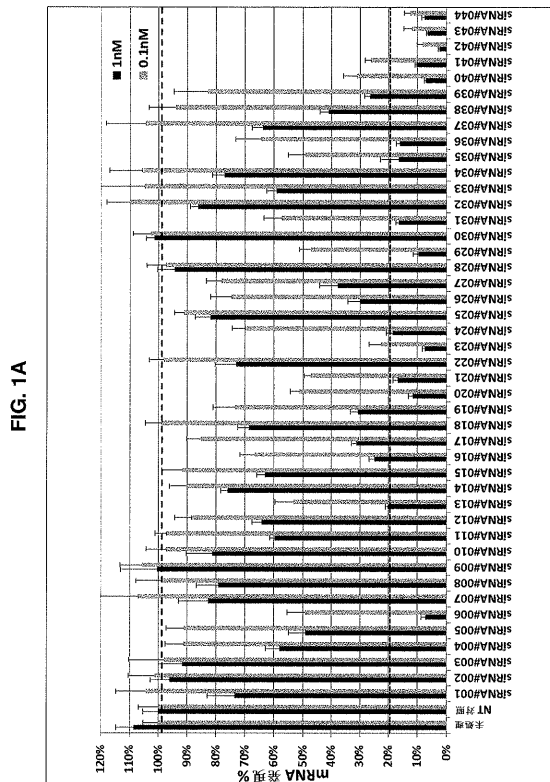
カニクイザルANGPTL8ポリペプチド配列（配列番号532）

MLVPALCLLW ALAMVIQPAS AAPVGSPELA EHEELTLFHF GTLQLGQALN
GVYKTTEGRL TKARNSLGLY GRTVELLGQE VSRGRDAAQE LRASLLETQM
EEDILQLKAE AIAEVLEEVA QAQKVLQDSV RRLEVQLRSA WLGPAYQEFE
VLKAHADKQS HILWALTGHV QRQRREMVAQ QHRLRQIQER IHKAALPA

【図面】

【図 1 A】

【図 1 B】



10

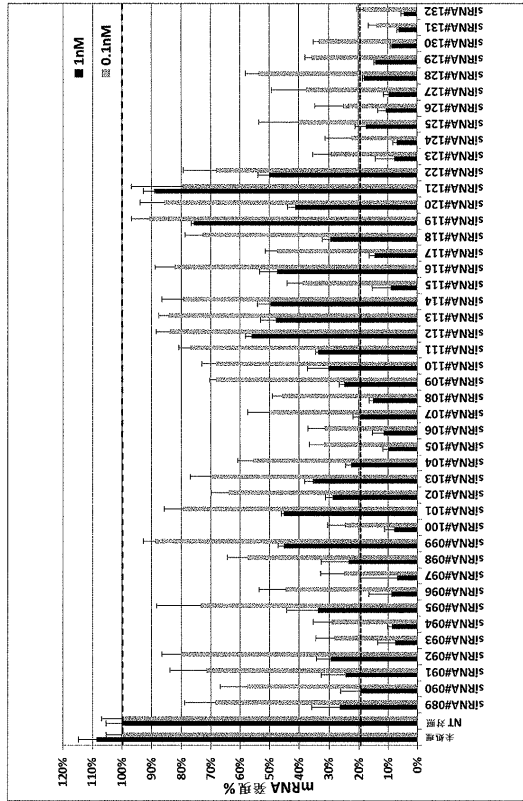
20

30

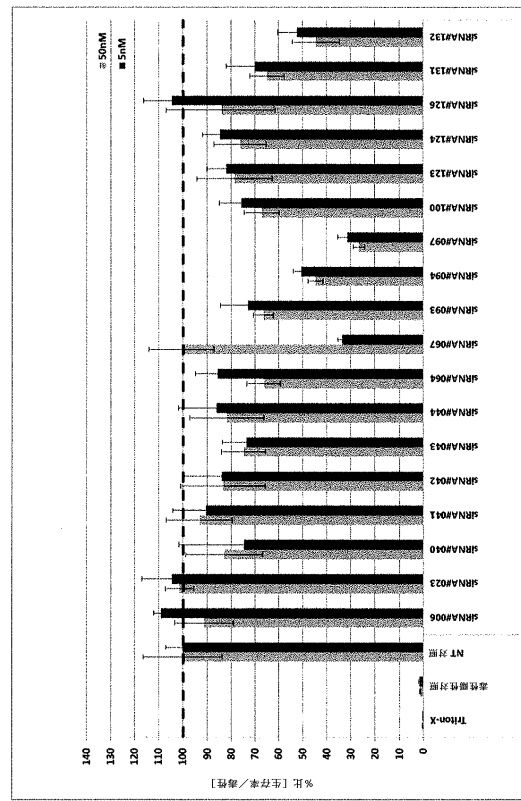
40

50

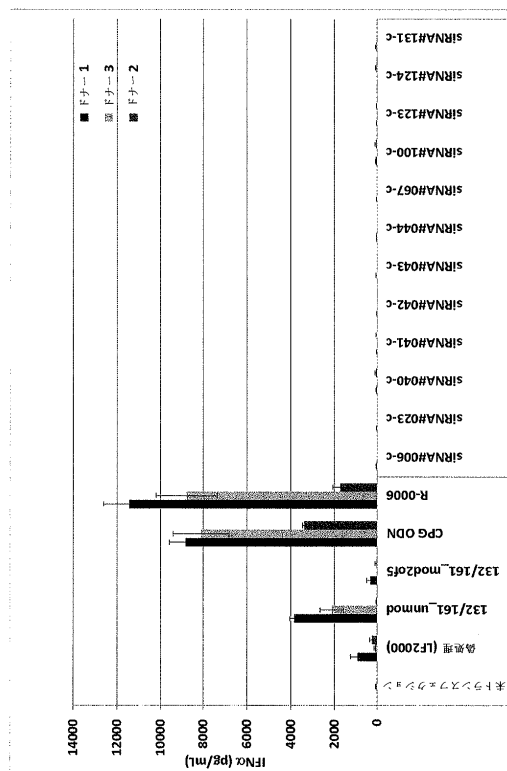
【図 1 C】



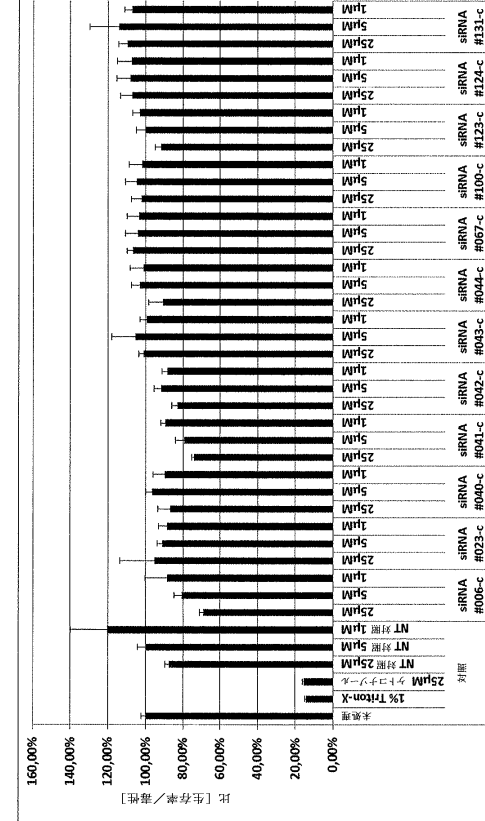
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

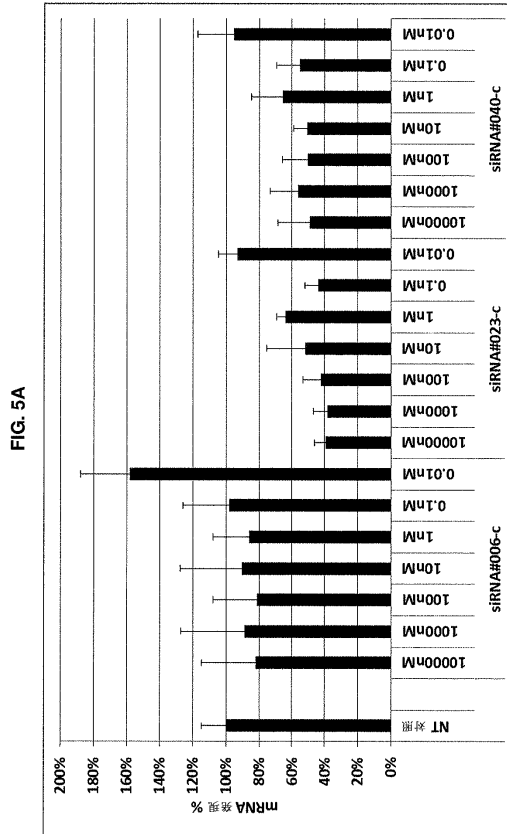
20

30

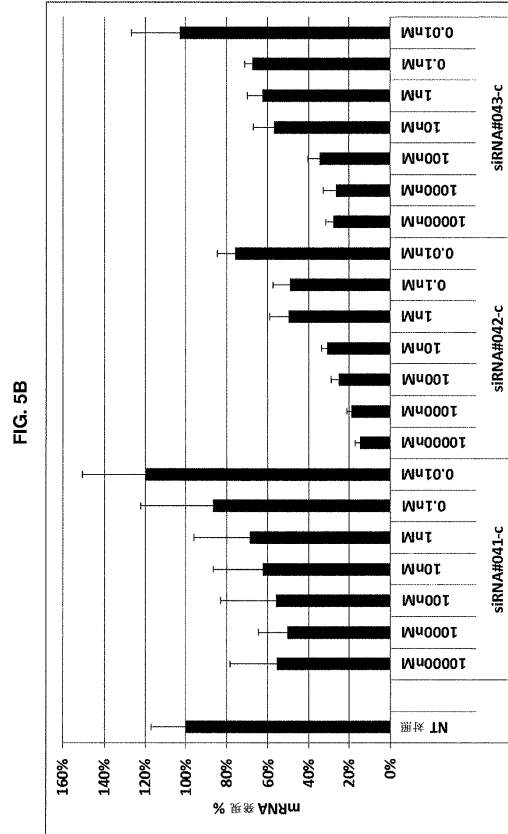
40

50

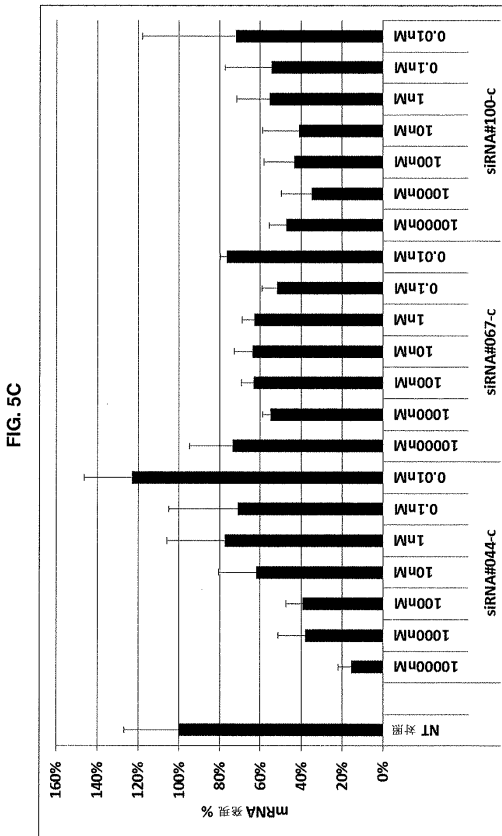
【図 5 A】



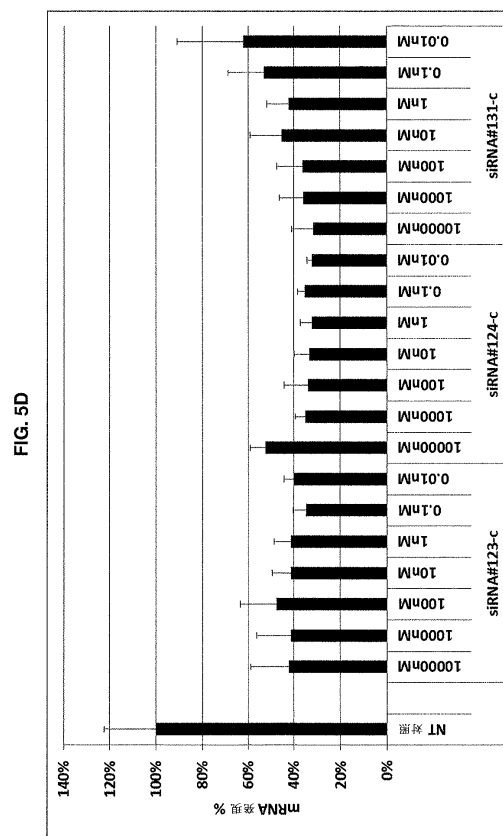
【図 5 B】



【図 5 C】



【図 5 D】



10

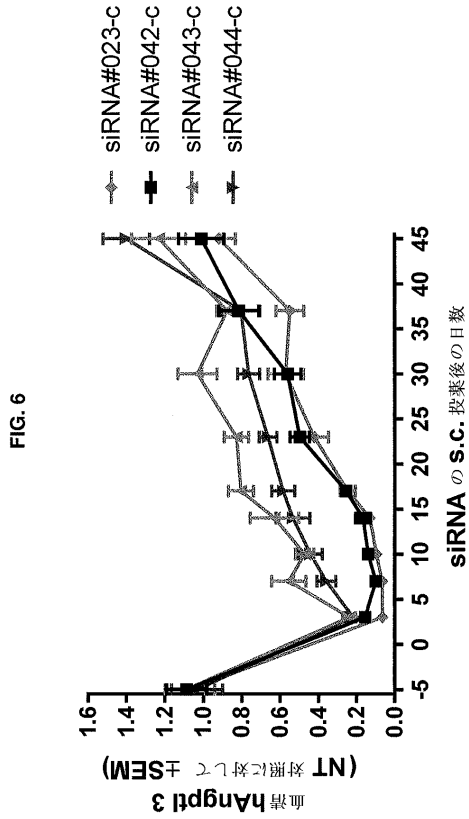
20

30

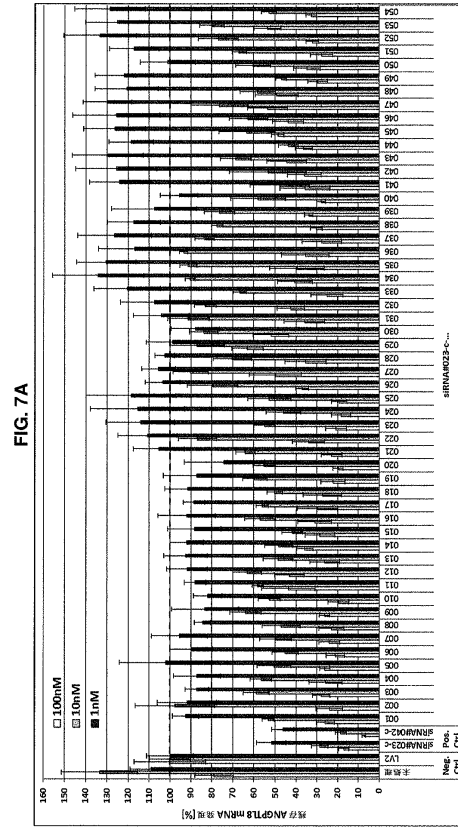
40

50

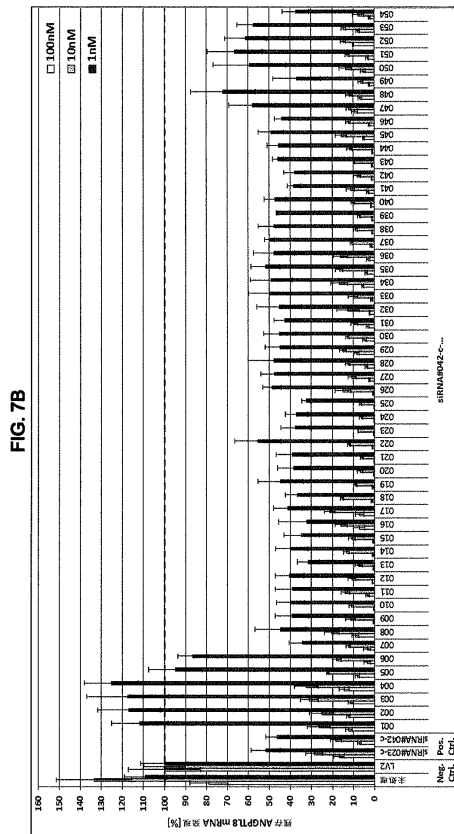
【図 6】



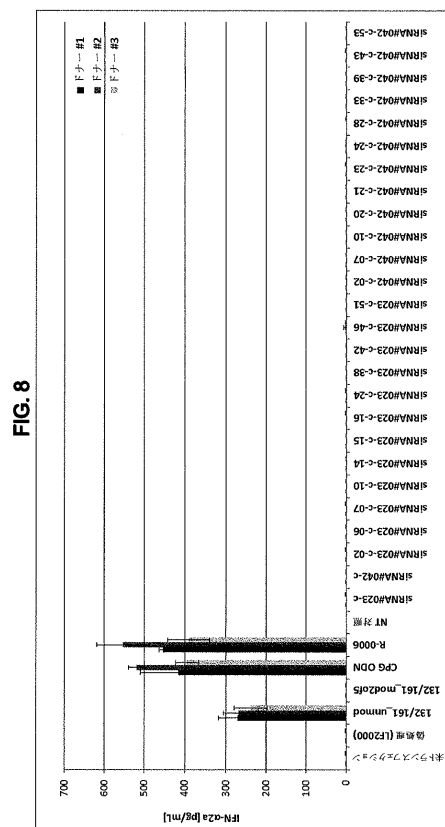
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 8】



10

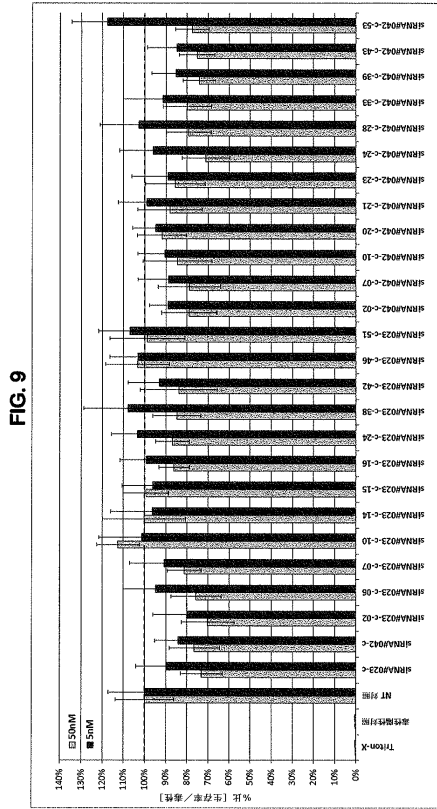
20

30

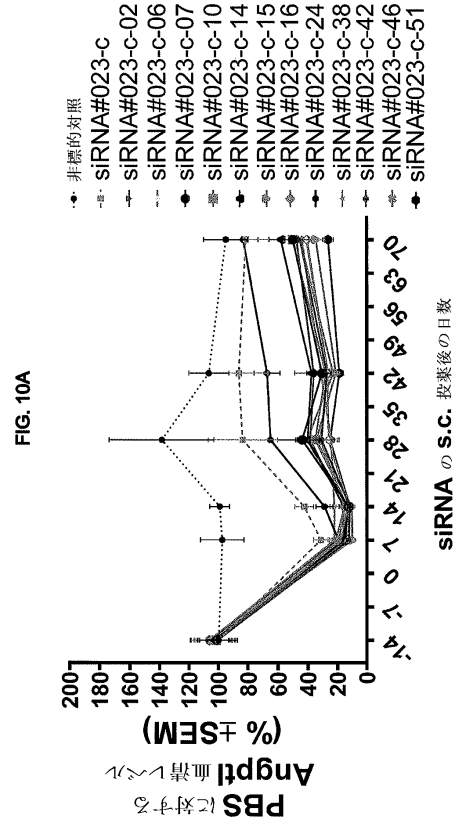
40

50

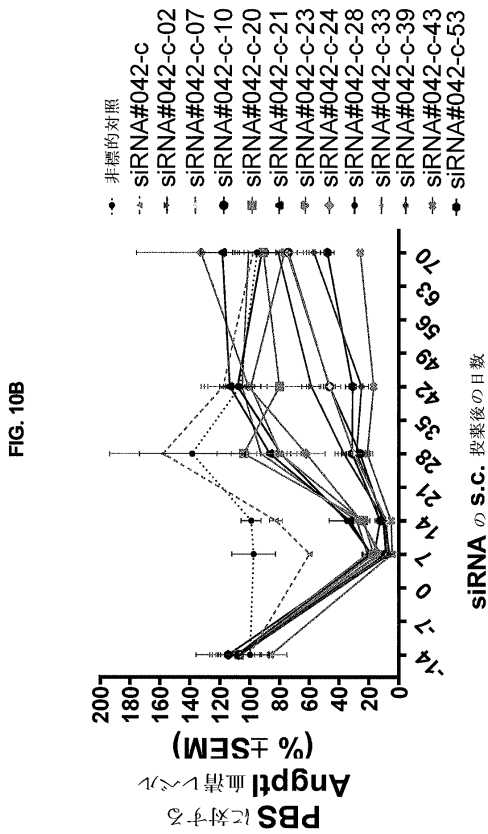
【図 9】



【図 10 A】



【図 10 B】



10

20

30

40

50

【配列表】
0007707065000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

F I

C 1 2 N 15/12

ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者

マイク・ヘルムス

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン・ビルディング・カー 7 0 3 . インダストリーパーク・ヘキスト・パテント・デパートメント・サノフィー・アベンティス・ドイツラン

ト・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者

アルミン・ホフマイスター

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン・ビルディング・カー 7 0 3 . インダストリーパーク・ヘキスト・パテント・デパートメント・サノフィー・アベンティス・ドイツラン

ト・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者

ケルスティーン・ヤーン・ホフマン

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン・ビルディング・カー 7 0 3 . インダストリーパーク・ヘキスト・パテント・デパートメント・サノフィー・アベンティス・ドイツラン

ト・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者

クリスティアーネ・メッツ・ヴァイドマン

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン・ビルディング・カー 7 0 3 . インダストリーパーク・ヘキスト・パテント・デパートメント・サノフィー・アベンティス・ドイツラン

ト・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者

ザビーネ・シャイドラー

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン・ビルディング・カー 7 0 3 . インダストリーパーク・ヘキスト・パテント・デパートメント・サノフィー・アベンティス・ドイツラン

ト・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者

ピエリック・リヴァル

フランス国 7 5 0 0 8 パリ・リュ・ラ・ボエティ 5 4 . サノフィ・パテント・デパートメント

審査官 上條 のぶよ

(56)参考文献

特表 2 0 0 6 - 5 0 7 8 4 1 (J P , A)

米国特許出願公開第 2 0 1 7 / 0 2 9 1 9 3 7 (U S , A 1)

Diabetologia, 2018年03月, [online], Vol.61, pp.1435-1446

Chemistry and Physics of Lipids, 2017年, Vol.207, pp.246-252

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 15 / 0 0 - 9 0

A 6 1 K 31 / 0 0 - 3 3 / 4 4

C 0 7 K 14 / 0 0 - 1 4 / 8 2 5

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q