(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-524291
(P2024-524291A)
(43)公表日　令和6年7月5日(2024.7.5)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C12N 15/113 (2010.01)		C12N	15/113	ZZNA　4C076
C07K 5/12 (2006.01)		C07K	5/12	4C084
C07K 7/06 (2006.01)		C07K	7/06	4C086
A61K 38/12 (2006.01)		A61K	38/12	4H045
A61K 47/60 (2017.01)		A61K	47/60	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全395頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-579457(P2023-579457)
(86)(22)出願日　令和4年6月22日(2022.6.22)
(85)翻訳文提出日　令和6年2月20日(2024.2.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/034517
(87)国際公開番号　WO2022/271818
(87)国際公開日　令和4年12月29日(2022.12.29)
(31)優先権主張番号　63/213,900
(32)優先日　令和3年6月23日(2021.6.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/239,671
(32)優先日　令和3年9月1日(2021.9.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/239,847
最終頁に続く

(71)出願人　523365620
エントラーダ セラピューティクス，インコーポレイティド
アメリカ合衆国，マサチューセッツ　０２２１０，ボストン，ワン デザイン センター プレイス，スイート １７－５００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＣＵＧリピートを標的とするためのアンチセンス化合物及び方法

(57)【要約】
環状細胞膜透過性ペプチドなどの環状ペプチドと、アンチセンス化合物とを含む化合物が提供される。アンチセンス化合物は、伸長ＣＴＧリピートを有する遺伝子又は伸長ＣＵＧリピートを有する遺伝子転写物に結合する。本化合物を対象に送達して、筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）、脊髄小脳失調症－８（ＳＣＡ８）、及びハンチントン病様－２（ＨＤＬ２）などの伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートに関連する疾患を治療することができる。

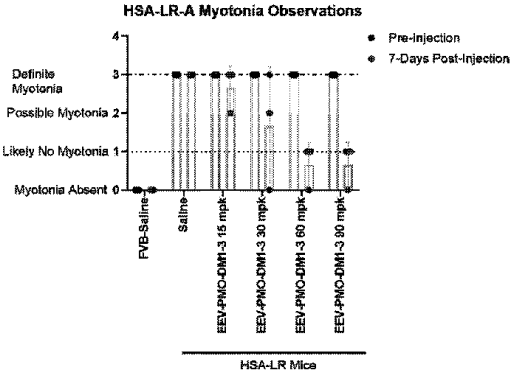
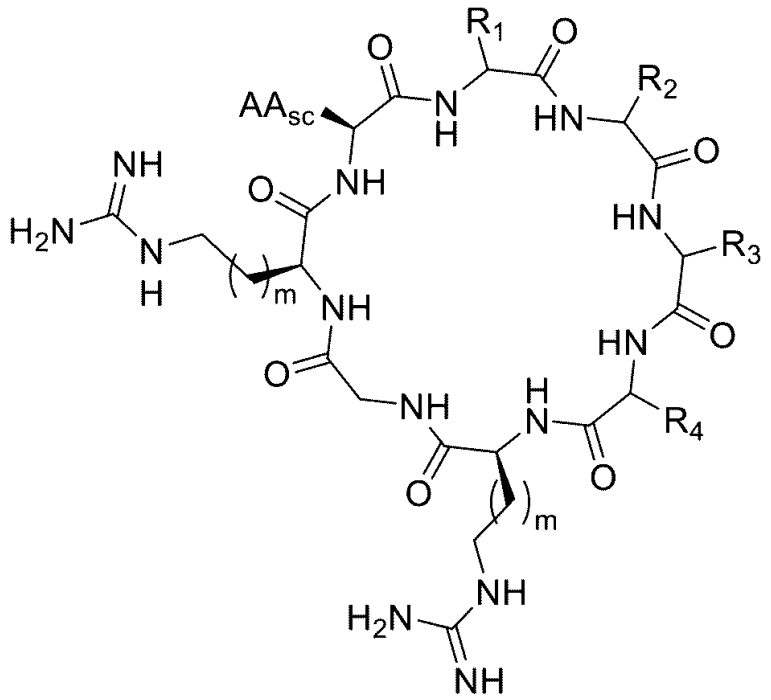


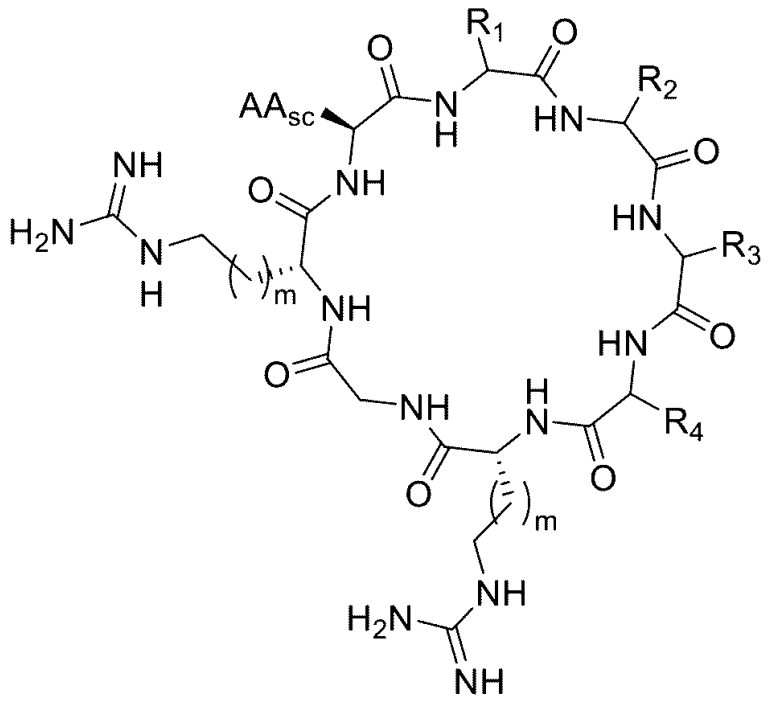
FIG. 18A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
化合物であって、
６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドと、
標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）であって、前記ＡＣがホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドを含む、アンチセンス化合物と、を含む、化合物。
【請求項２】
前記環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸がアルギニンである、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
前記環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸が、フェニルアラニン、ナフチルアラニン、又はそれらの組み合わせである、請求項１又は２に記載の化合物。
【請求項４】
少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸が、シトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである、請求項１～３のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５】
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

【化１５５】



（Ｉ－ａ）、



（Ｉ－ｂ）、

又は

そのプロトン化形態を有し、

式中、

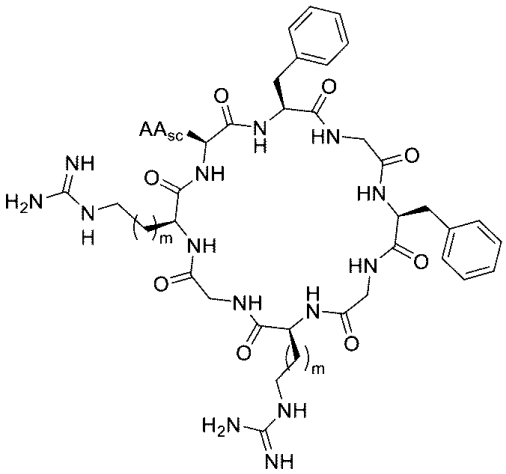
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、

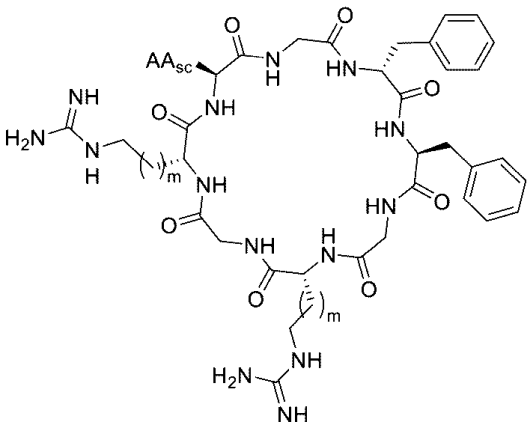
Ｒ４が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、

ＡＡｓｃが、前記アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、

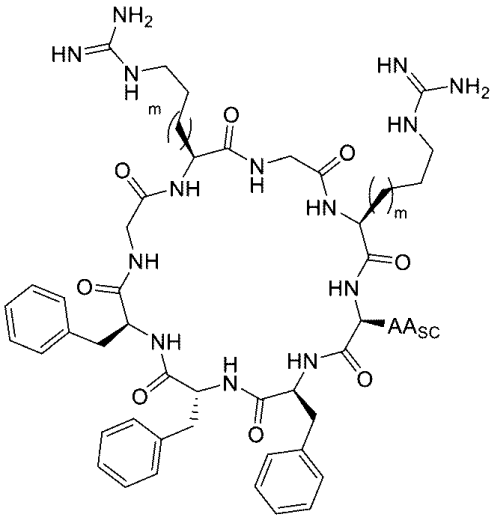
mが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、請求項１に記載の化合物。
【請求項６】
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：
【化１５６－１】



（Ｉ－１）、

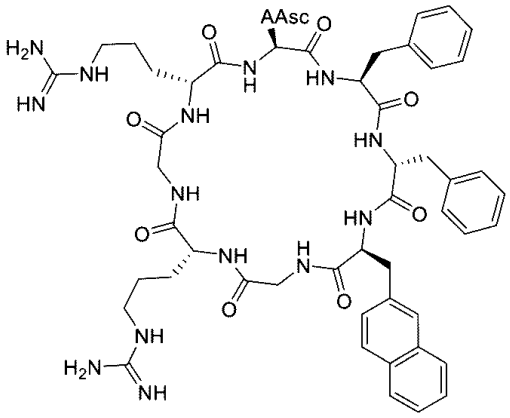


（Ｉ－２）、

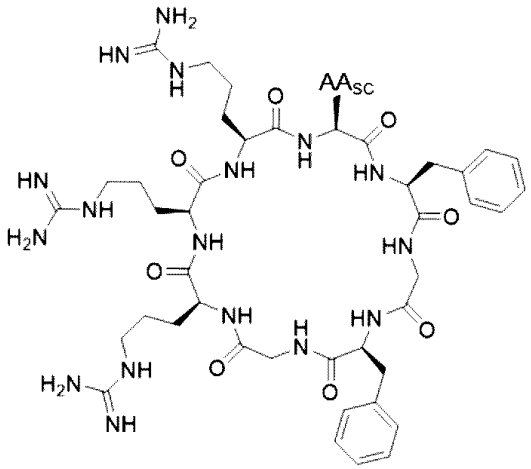


（Ｉ－３）、

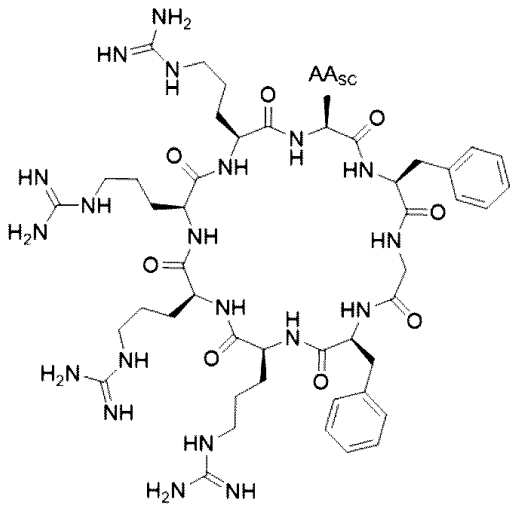
【化１５６－２】



（Ｉ－４）、



（Ｉ－５）、



（Ｉ－６）、

又は

そのプロトン化形態を有する、請求項５に記載の化合物。

【請求項７】

ＡＡｓｃが、アスパラギン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、ホモグルタミン酸残基、又はホモグルタメート残基の側鎖である、請求項５又は６に記載の化合物。

【請求項８】

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族

側鎖であり、
　R_4が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
　ｍが、２であり、
　AA_{sc}が、グルタミン酸残基の側鎖である、請求項５又は６に記載の化合物。
【請求項９】
　AA_{sc}が、
【化１５７】

であり、式中、ｔが、０～５の整数である、請求項５又は６に記載の化合物。
【請求項１０】
　リンカーを更に含み、前記リンカーが前記アンチセンス化合物を前記AA_{sc}にコンジュゲートする、請求項１～９のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１１】
　前記リンカーが－（OCH_2CH_2）$_{z'}$－サブユニットを含み、式中、ｚ’が、１～２３の整数である、請求項１０に記載の化合物。
【請求項１２】
　前記リンカーが、
　（ｉ）－（OCH_2CH_2）$_z$－サブユニット（式中、ｚ’が、１～２３の整数である）、
　（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、若しくは６－アミノヘキサン酸、又はそれらの組み合わせの残基などの１個以上のアミノ酸残基、あるいは
　（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、請求項１０に記載の化合物。
【請求項１３】
　前記リンカーが、
　（ｉ）－（OCH_2CH_2）$_z$－サブユニット（式中、ｚが、２～２０の整数である）、
　（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、６－アミノヘキサン酸、若しくはそれらの組み合わせの１個以上の残基、又は
　（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、請求項１０に記載の化合物。
【請求項１４】
　化合物であって、
　環状ペプチド及び環外ペプチドを含むエンドソームエスケープビヒクルであって、前記環状ペプチドが６～１２個のアミノ酸を含み、前記環外ペプチドが２～１０個のアミノ酸を含む、エンドソームエスケープビヒクルと、
　標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）であって、前記ＡＣがホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドを含む、アンチセンス化合物と、を含む、化合物。
【請求項１５】

前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、請求項１４に記載の化合物。

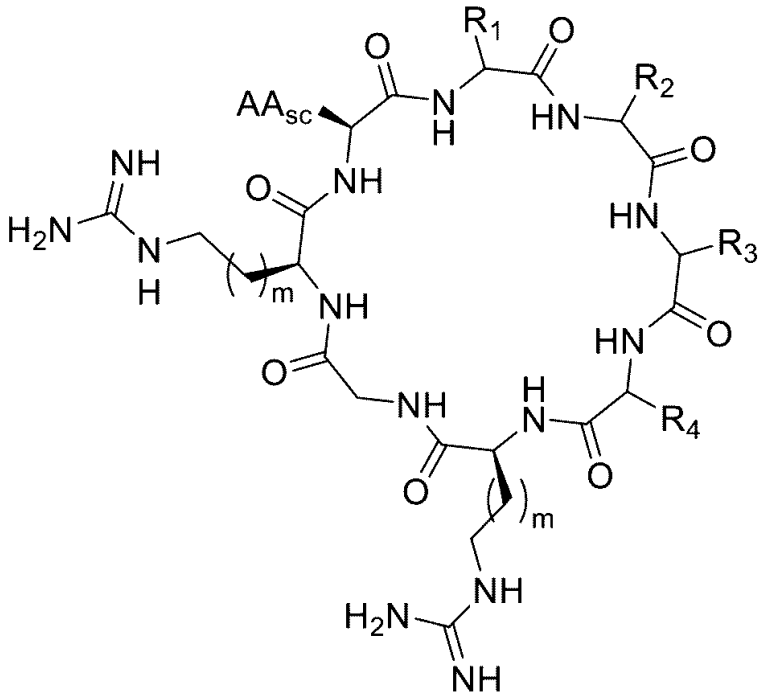
【請求項１６】

前記環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸がアルギニンであり、前記環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸がフェニルアラニン、ナプチルアラニン、又はそれらの組み合わせであり、少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸がシトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである、請求項１５に記載の化合物。

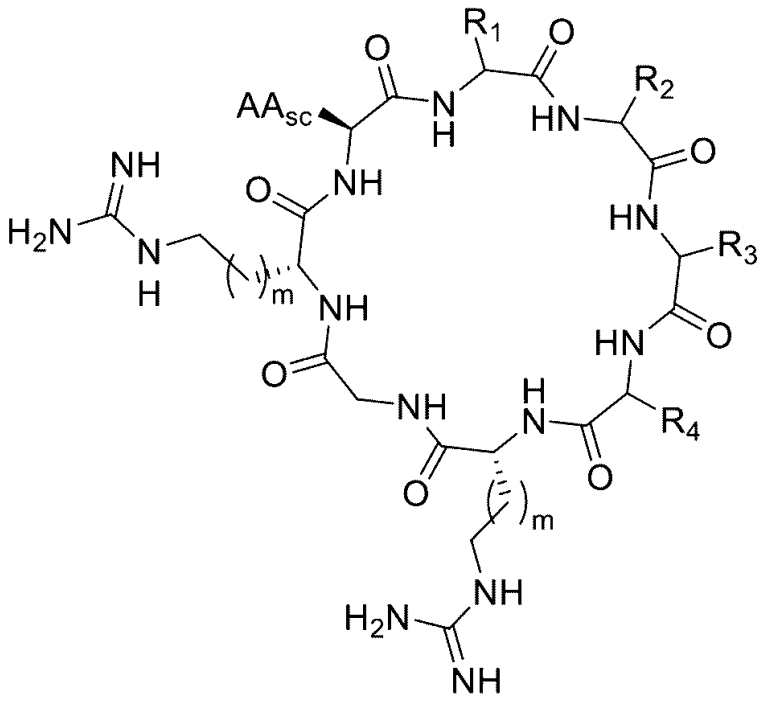
【請求項１７】

前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

【化１５８】



（Ｉ－ａ）、



（Ｉ－ｂ）、

又は

そのプロトン化形態を有し、

式中、

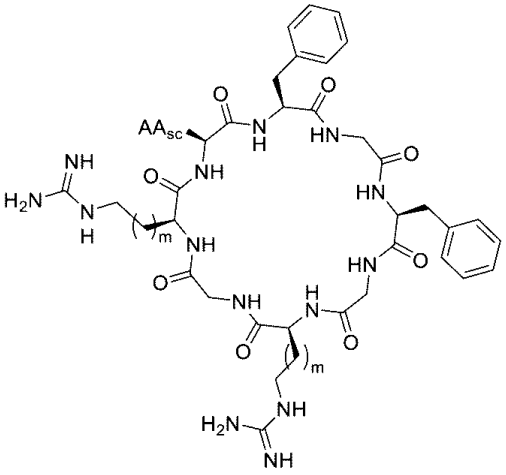
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、

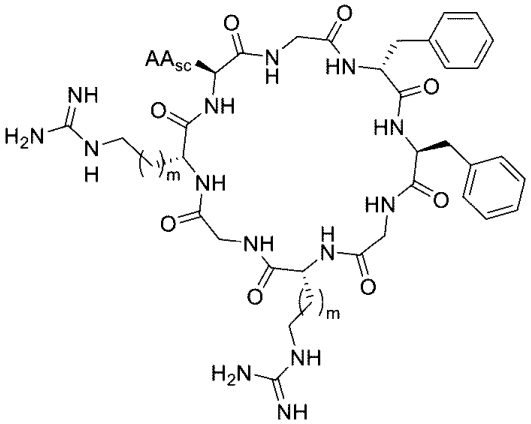
Ｒ４が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、

ＡＡｓｃが、前記アンチセンス化合物及び前記環外ペプチドがコンジュゲートされるア

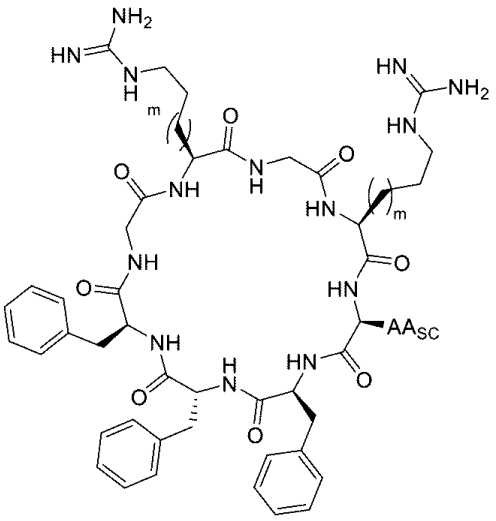
ミノ酸側鎖であり、
mが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、請求項１４に記載の化合物。
【請求項１８】
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：
【化１５９－１】



（Ｉ－１）、

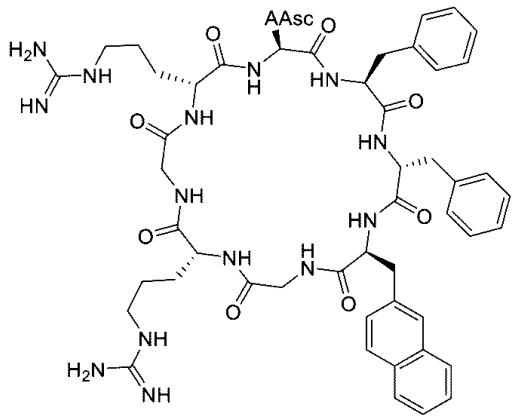


（Ｉ－２）、

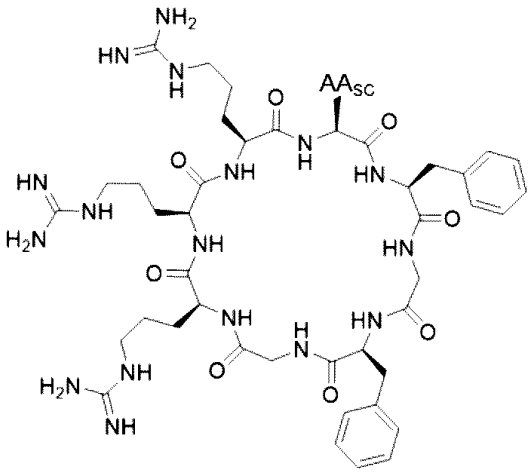


（Ｉ－３）、

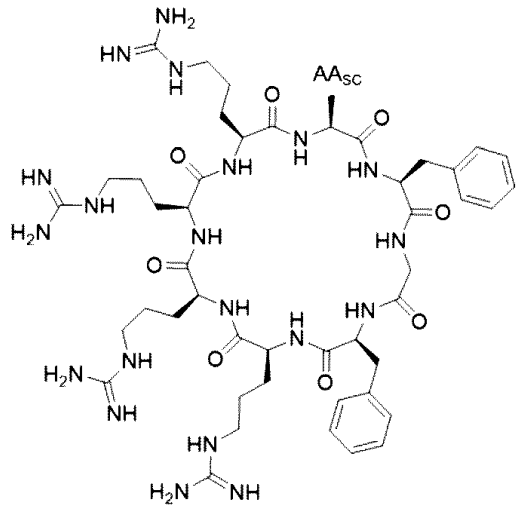
【化１５９－２】



（Ｉ－４）、



（Ｉ－５）、



（Ｉ－６）、

又は

そのプロトン化形態を有する、請求項１７に記載の化合物。

【請求項１９】

ＡＡｓｃが、アスパラギン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、ホモグルタミン酸残基、又はホモグルタメート残基の側鎖である、請求項１７又は１８に記載の化合物。

【請求項２０】

ＡＡｓｃが、グルタミン酸残基の側鎖である、請求項１７又は１８に記載の化合物。

【請求項２１】

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ４が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ｍが、２であり、
ＡＡｓｃが、グルタミン酸残基の側鎖である、請求項１７又は１８に記載の化合物。
【請求項２２】
ＡＡｓｃが、
【化１６０】

であり、式中、ｔが、０～５の整数である、請求項１７～２１のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２３】
前記環外ペプチドが、４～８個のアミノ酸残基を含む、請求項１４～２２のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２４】
前記環外ペプチドが、グアニジン基を含む側鎖を含む１個若しくは２個のアミノ酸残基、又はそのプロトン化形態若しくは塩を含む、請求項１４～２３のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２５】
前記環外ペプチドが、２、３、又は４個のリジン残基を含む、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２６】
各リジン残基の前記側鎖上の前記アミノ基が、トリフルオロアセチル（－ＣＯＣＦ３）、アリルオキシカルボニル（Ａｌｌｏｃ）、１－（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキシリデン）エチル（Ｄｄｅ）、又は（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキサ－１－イリデン－３）－メチルブチル（ｉｖＤｄｅ）基で置換される、請求項２５に記載の化合物。
【請求項２７】
前記環外ペプチドが、疎水性側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸残基を含む、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２８】
疎水性側鎖を有する前記アミノ酸残基が、バリン、プロリン、アラニン、ロイシン、イソロイシン、及びメチオニンから選択される、請求項２７に記載の化合物。
【請求項２９】
前記環外ペプチドが、以下の配列：ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＨＨ、ＨＫ、ＨＲ、ＲＨ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＨ、ＫＨＫ、ＨＫＫ、ＨＲＲ、ＨＲＨ、ＨＨＲ、ＨＢＨ、ＨＨＨ、ＨＨＨＨ、ＫＨＫＫ、ＫＫＨＫ、ＫＫＫＨ、ＫＨＫＨ、ＨＫＨＫ、ＫＫＫＫ、ＫＫＲＫ、ＫＲＫＫ、ＫＲＲＫ、ＲＫＫＲ、ＲＲＲ

Ｒ、ＫＧＫＫ、ＫＫＧＫ、ＨＢＨＢＨ、ＨＢＫＢＨ、ＲＲＲＲＲ、ＫＫＫＫＫ、ＫＫＫＲＫ、ＲＫＫＫＫ、ＫＲＫＫＫ、ＫＫＲＫＫ、ＫＫＫＫＲ、ＫＢＫＢＫ、ＲＫＫＫＫＧ、ＫＲＫＫＫＧ、ＫＫＲＫＫＧ、ＫＫＫＫＲＧ、ＲＫＫＫＫＢ、ＫＲＫＫＫＢ、ＫＫＲＫＫＢ、ＫＫＫＫＲＢ、ＫＫＫＲＫＶ、ＲＲＲＲＲＲ、ＨＨＨＨＨＨ、ＲＨＲＨＲＨ、ＨＲＨＲＨＲ、ＫＲＫＲＫＲ、ＲＫＲＫＲＫ、ＲＢＲＢＲＢ、ＫＢＫＢＫＢ、ＰＫＫＫＲＫＶ、ＰＧＫＫＲＫＶ、ＰＫＧＫＲＫＶ、ＰＫＫＧＲＫＶ、ＰＫＫＫＧＫＶ、ＰＫＫＫＲＧＶ、又はＰＫＫＫＲＫＧのうちの１つを含み、式中、Ｂが、ベーターアラニンである、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項３０】

前記環外ペプチドが、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶ、ＲＲ、ＲＲＲ、ＲＨＲ、ＲＢＲ、ＲＢＲＢＲ、ＲＢＨＢＲ、又はＨＢＲＢＨのうちの１つを含み、式中、Ｂが、ベーターアラニンである、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項３１】

前記環外ペプチドが、以下の配列：ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＫＫ、ＫＫＲＫ、ＫＲＫＫ、ＫＲＲＫ、ＲＫＫＲ、ＲＲＲＲ、ＫＧＫＫ、ＫＫＧＫ、ＫＫＫＫＫ、ＫＫＫＲＫ、ＫＢＫＢＫ、ＫＫＫＲＫＶ、ＰＫＫＫＲＫＶ、ＰＧＫＫＲＫＶ、ＰＫＧＫＲＫＶ、ＰＫＫＧＲＫＶ、ＰＫＫＫＧＫＶ、ＰＫＫＫＲＧＶ、又はＰＫＫＫＲＫＧのうちの１つを含む、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項３２】

前記環外ペプチドが、ＰＫＫＫＲＫＶを含む、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項３３】

前記環外ペプチドが、以下の配列：ＮＬＳＫＲＰＡＡＩＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫ、ＰＡＡＫＲＶＫＬＤ、ＲＱＲＲＮＥＬＫＲＳＦ、ＲＭＲＫＦＫＮＫＧＫＤＴＡＥＬＲＲＲＲＶＥＶＳＶＥＬＲ、ＫＡＫＫＤＥＱＩＬＫＲＲＮＶ、ＶＳＲＫＲＰＲＰ、ＰＰＫＫＡＲＥＤ、ＰＱＰＫＫＫＰＬ、ＳＡＬＩＫＫＫＫＫＭＡＰ、ＤＲＬＲＲ、ＰＫＱＫＫＲＫ、ＲＫＬＫＫＫＩＫＫＬ、ＲＥＫＫＫＦＬＫＲＲ、ＫＲＫＧＤＥＶＤＧＶＤＥＶＡＫＫＫＳＫＫ、又はＲＫＣＬＱＡＧＭＮＬＥＡＲＫＴＫＫのうちの１つを含む、請求項１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項３４】

前記アンチセンス化合物及び前記環外ペプチドを前記ＡＡ$_{sc}$にコンジュゲートするリンカーを更に含む、請求項１４～３３のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項３５】

前記リンカーが、

（ｉ）－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_{z'}$－サブユニット（式中、ｚ’が、１～２３の整数である）、

（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、若しくは６－アミノヘキサン酸、又はそれらの組み合わせの残基などの１個以上のアミノ酸残基、あるいは

（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、請求項３４に記載の化合物。

【請求項３６】

前記リンカーが、

（ｉ）－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_z$－サブユニット（式中、ｚが、２～２０の整数である）、

（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、６－アミノヘキサン酸、若しくはそれらの組み合わせの１個以上の残基、又は

（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、請求項３４に記載の化合物。

【請求項３７】

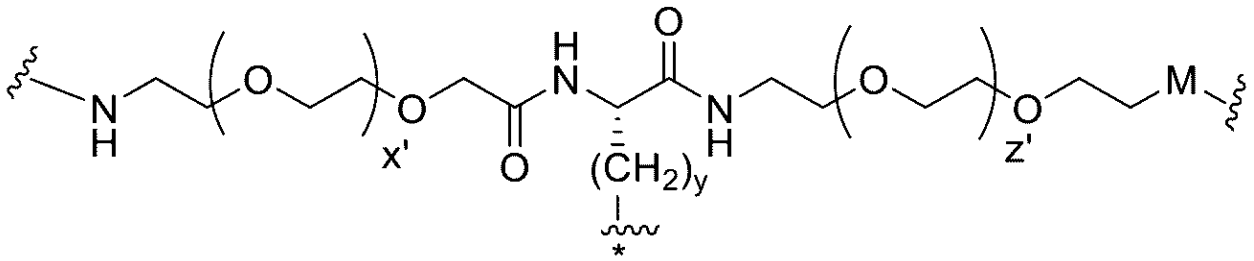
前記リンカーが、二価又は三価のＣ$_1$－Ｃ$_{50}$アルキレンを含み、ここで、１～２５個

のメチレン基が、任意選択でかつ独立して、－Ｎ（Ｈ）－、－Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）－、－Ｎ（シクロアルキル）－、－Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（シクロアルキル）－、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（シクロアルキル）Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｈ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（シクロアルキル）、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はシクロアルケニルによって置き換えられる、請求項３４に記載の化合物。

【請求項３８】

前記リンカーが、以下の構造を有し、

【化１６１】



式中、

ｘ’が１～２３の整数であり、ｙが１～５の整数であり、ｚ’が１～２３の整数であり、＊が前記環状ペプチドのアミノ酸残基のアミノ酸側鎖への結合点であり、Ｍが結合基である、請求項３４に記載の化合物。

【請求項３９】

ｚ’が１１である、請求項３８に記載の化合物。

【請求項４０】

ｘ’が１である、請求項３８又は３９に記載の化合物。

【請求項４１】

前記環外ペプチドが前記リンカーのアミノ末端で前記リンカーにコンジュゲートされている、請求項３８～４０のいずれか一項に記載の化合物。

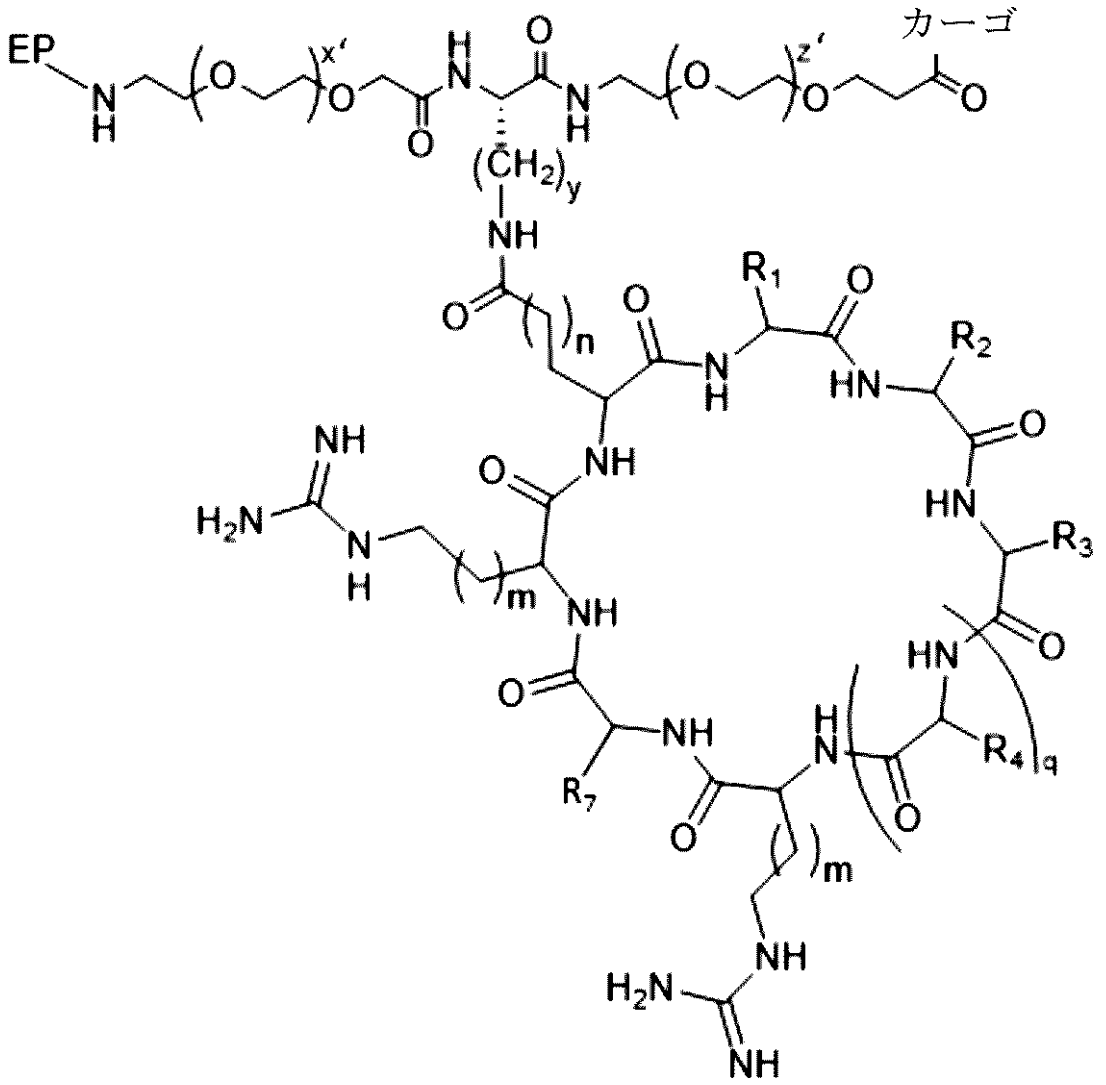
【請求項４２】

前記アンチセンス化合物がＭにコンジュゲートされている、請求項３８～４１のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項４３】

前記化合物が、式（Ｃ）のもの：

【化１６２】



（C）

又は

そのプロトン化形態若しくは塩であり、

式中、

R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又はアリール基若しくはヘテロアリール基を含む側鎖であり、R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アリール基若しくはヘテロアリール基を含む側鎖であり、

R_4及びR_7が独立して、H又はアミノ酸側鎖であり、

ＥＰが、環外ペプチドであり、

ｍが各々独立して、０～３の整数であり、

ｎが、０～２の整数であり、

ｘ’が、１～２３の整数であり、

ｙが、１～５の整数であり、

ｑが、１～４の整数であり、

ｚ’が、１～２３の整数であり、

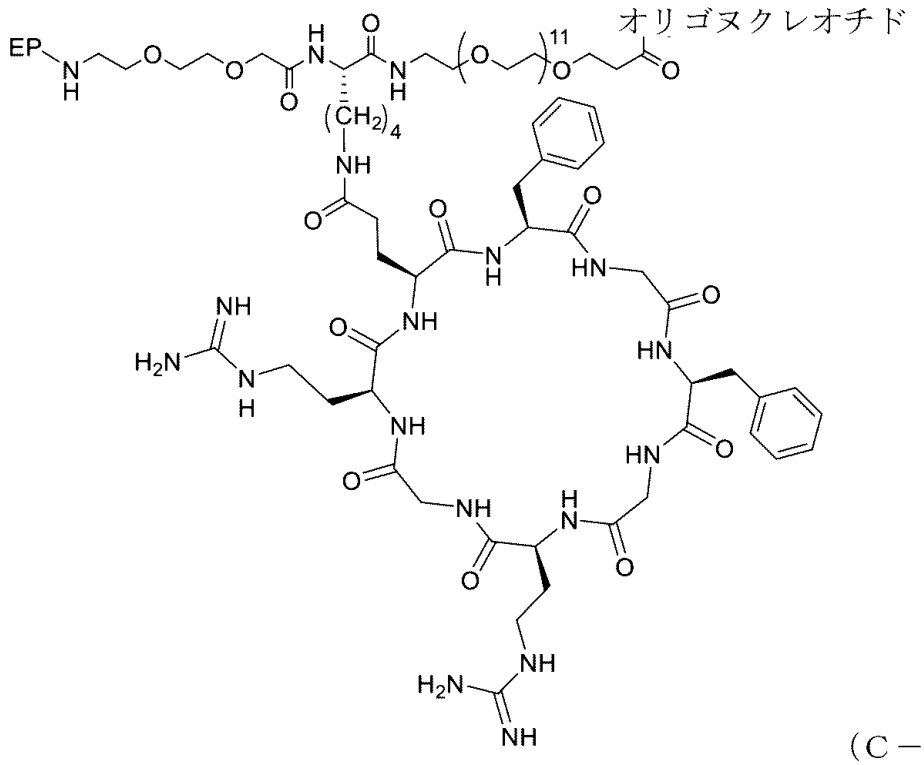
カーゴが、前記アンチセンス化合物である、請求項１７に記載の化合物。

【請求項４４】

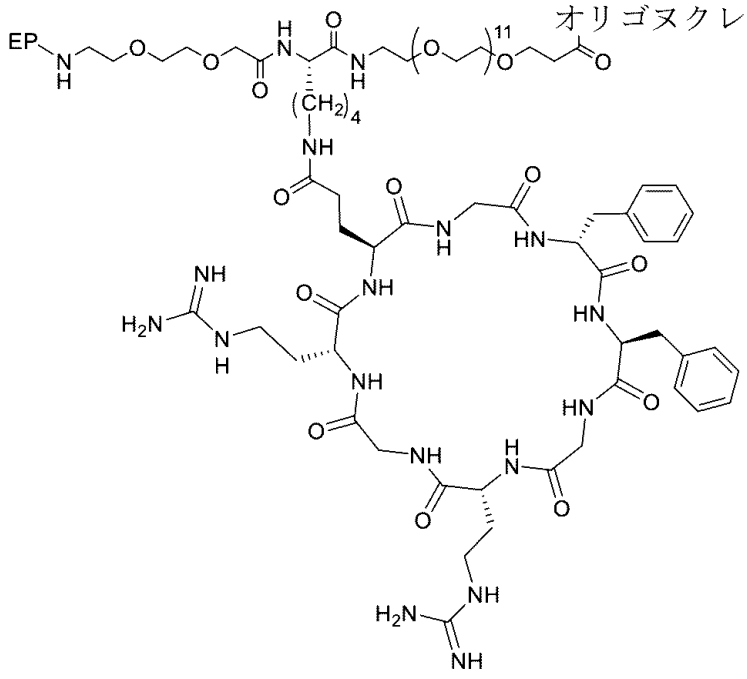
R_1、R_2、及びR_3が、H、又はアリール基を含む側鎖である、請求項４３に記載の化合物。

【請求項４５】
アリール基を含む前記側鎖が、フェニルアラニンの側鎖である、請求項４４に記載の化合物。
【請求項４６】
R_1、R_2、及びR_3のうちの２つがフェニルアラニンの側鎖である、請求項４５に記載の化合物。
【請求項４７】
R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの２つがＨである、請求項４４～４６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項４８】
ｚ’が１１である、請求項４４～４７のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項４９】
ｘ’が１である、請求項４４～４８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５０】
式（Ｃ－１）、式（Ｃ－２）、式（Ｃ－３）、若しくは式（Ｃ－４）の構造：

【化１６３－１】

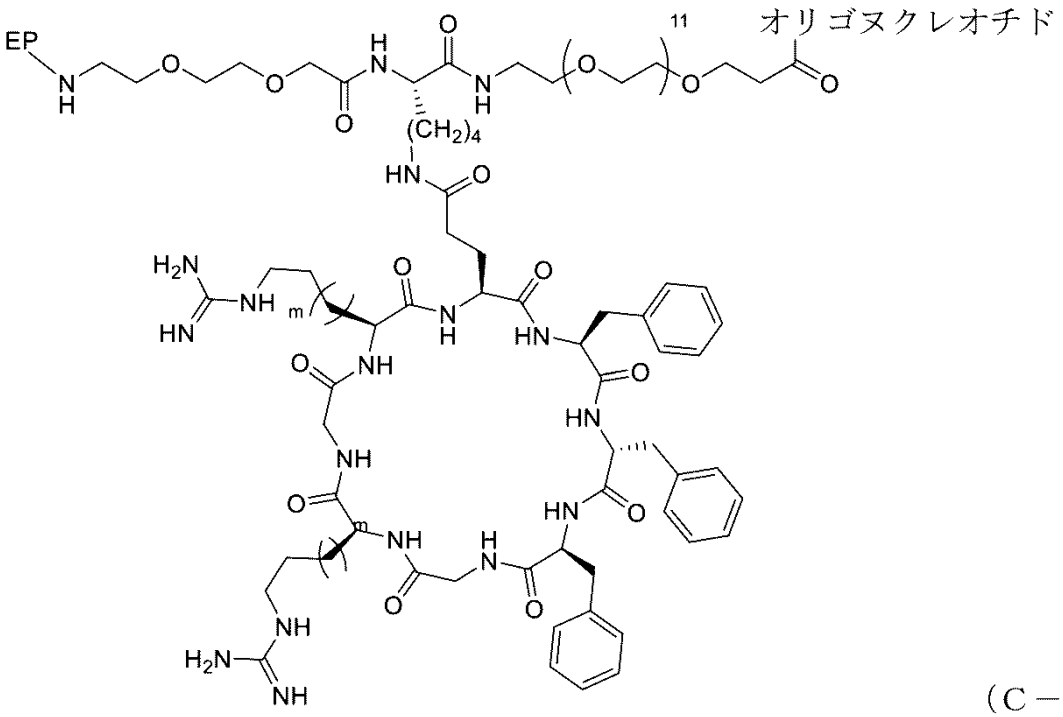


（Ｃ－１）、

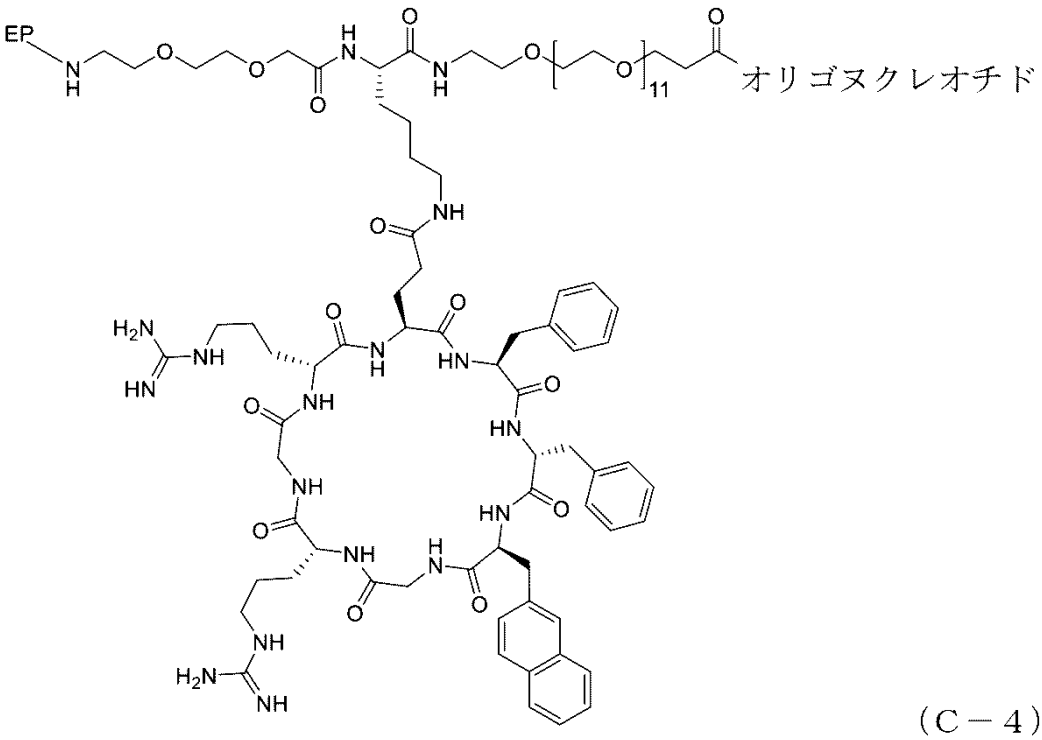


（Ｃ－２）、

【化１６３－２】



（Ｃ－３）、



（Ｃ－４）

又はそのプロトン化形態若しくは塩を含み、
式中、ＥＰが、環外ペプチドであり、
オリゴヌクレオチドが、前記アンチセンス化合物である、請求項１７に記載の化合物。

【請求項５１】

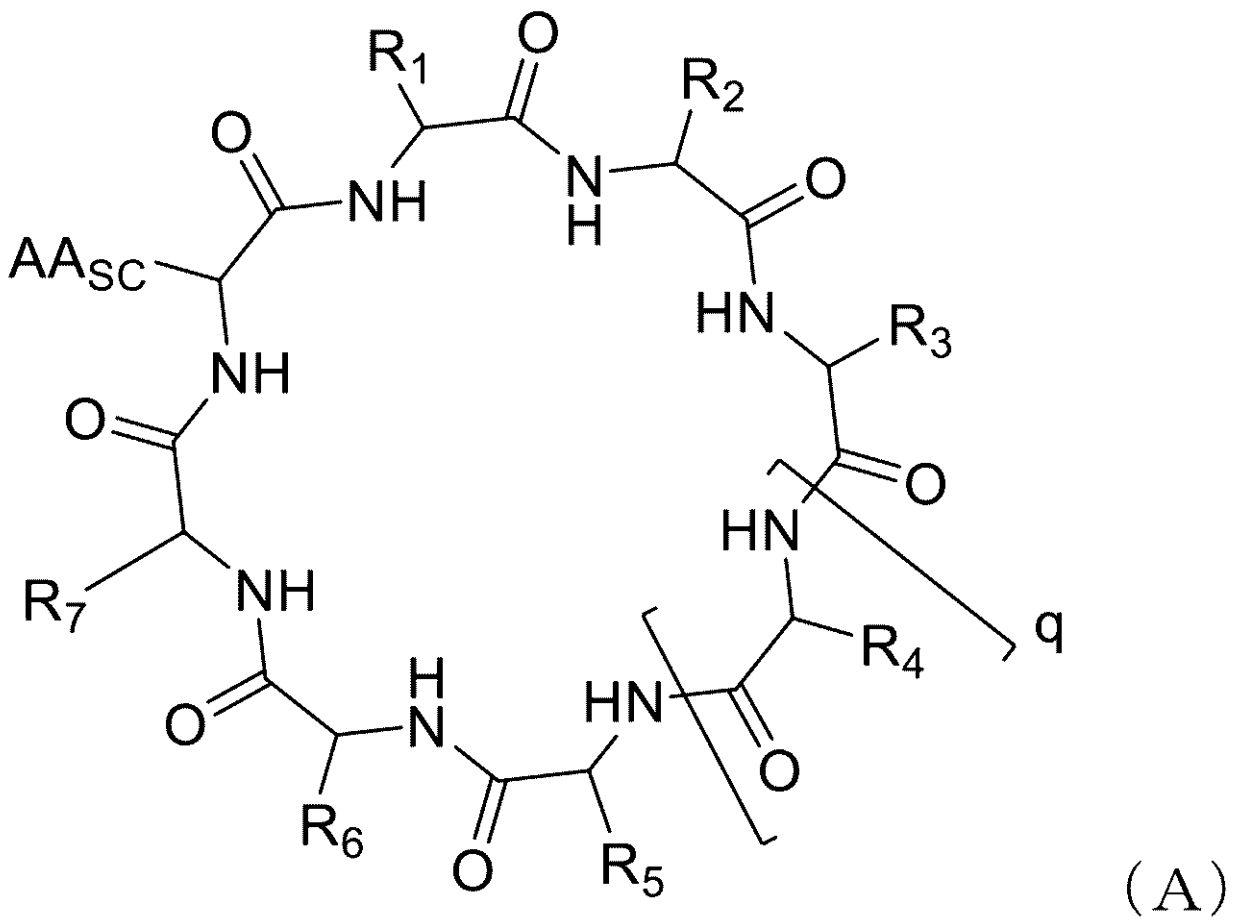
前記オリゴヌクレオチドが、以下の配列：５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’を含む、請求項５０に記載の化合物。

【請求項５２】

前記ＥＰが、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶを含む、請求項５０又は５１に記載の化合物。

【請求項５３】
前記伸長トリヌクレオチドリピートが、前記標的ｍＲＮＡ配列の３’ＵＴＲ内にある、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５４】
前記標的ｍＲＮＡ配列が、ＤＭＰＫ ｍＲＮＡ配列である、請求項５３に記載の化合物。
【請求項５５】
前記標的ｍＲＮＡ配列が、ＡＴＸＮ８ＯＳ／ＡＴＸＮ８ ｍＲＮＡ配列である、請求項５３に記載の化合物。
【請求項５６】
前記標的ｍＲＮＡ配列が、ＪＰＨ３ ｍＲＮＡ配列である、請求項５３に記載の化合物。
【請求項５７】
前記ＡＣが、５～１０個のＣＡＧリピートを含む、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５８】
前記ｍＲＮＡが、プレｍＲＮＡ又は成熟ｍＲＮＡである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５９】
前記ｍＲＮＡが、プレｍＲＮＡである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６０】
有効量の請求項１～５９のいずれか一項に記載の化合物を含む、医薬組成物。
【請求項６１】
請求項１～５９のいずれか一項に記載の化合物を含む、細胞。
【請求項６２】
筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）の治療を必要とする対象におけるＤＭを治療する方法であって、前記対象に、請求項１～５９のいずれか一項に記載の化合物又は請求項６０に記載の組成物を投与することを含む、方法。
【請求項６３】
前記投与により、筋組織における野生型タンパク質の発現の増加がもたらされる、請求項６２に記載の方法。
【請求項６４】
前記投与により、横隔膜組織、四頭筋組織、及び／又は心臓組織における前記野生型タンパク質の発現の増加がもたらされる、請求項６３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６５】
前記野生型タンパク質が、伸長ＣＵＧリピートを有しない遺伝子から発現されたタンパク質である、請求項６３又は６４に記載の方法。
【請求項６６】
前記投与により、病巣形成が予防又は軽減される、請求項６２～６５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６７】
前記ヌクレオチドリピート伸長が、ＤＭＰＫ ｍＲＮＡの３’ＵＴＲ内に位置する、請求項６２～６６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６８】
３’非翻訳領域（ＵＴＲ）内に伸長ＣＵＧリピートを有するｍＲＮＡに関連する疾患を治療するための方法であって、それを必要とする対象に、
前記ｍＲＮＡ中の前記伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）と、
６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドと、を含む化合物を投与することを含む、方法。

【請求項６９】
前記環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸がアルギニンであり、前記環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸がフェニルアラニン、ナプチルアラニン、又はそれらの組み合わせであり、前記環状ペプチドの少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸がシトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである、請求項６８に記載の方法。
【請求項７０】
前記環状ペプチドが、以下の構造：
【化１６４】



(A)

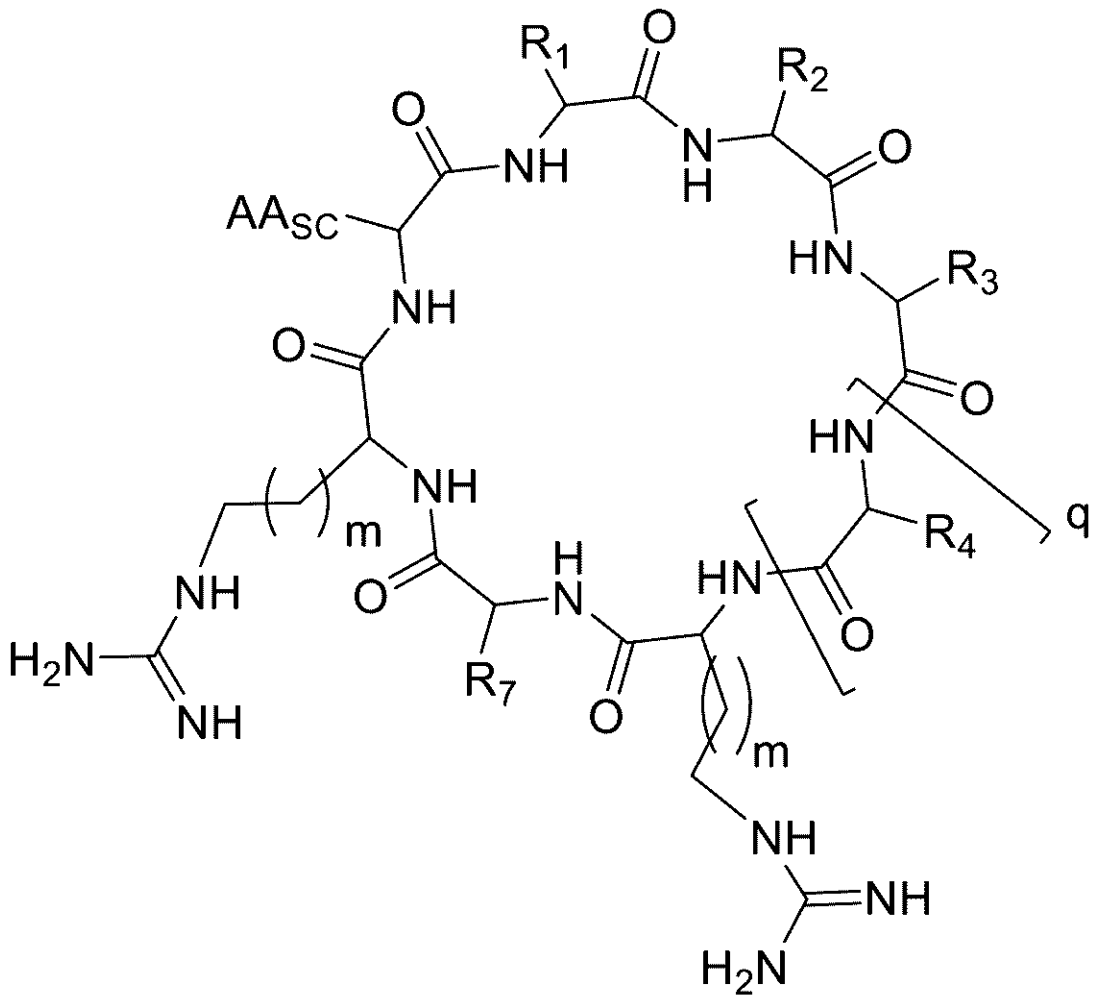
、
又は
そのプロトン化形態を有し、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又はアミノ酸の芳香族若しくはヘテロ芳香族側鎖であり、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4、R_5、R_6、R_7が独立して、H又はアミノ酸側鎖であり、
R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つが、H又はシトルリンの側鎖であり、
AA_{SC}が、前記アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４である、請求項６８に記載の方法。
【請求項７１】
R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つが、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸、アルギニン、ホモアルギニン、Ｎ－メ

チルアルギニン、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニン、２，３－ジアミノプロピオン酸、２，４－ジアミノブタン酸、リジン、Ｎ－メチルリジン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、Ｎ－エチルリジン、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニン、又は３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖である、請求項７０に記載の方法。

【請求項７２】

前記環状ペプチドが、以下の構造：

【化１６５】



（Ｉ）

又はそのプロトン化形態を有し、

式中、

R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、

R_4及びR_7が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、

AA_{SC}が、前記アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、

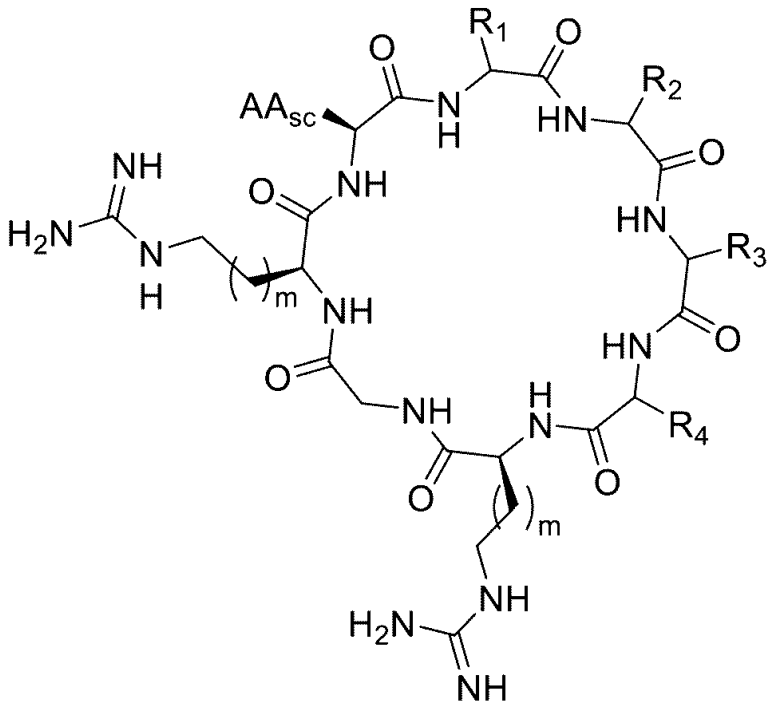
ｑが、１、２、３、又は４であり、

ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、請求項６８に記載の方法。

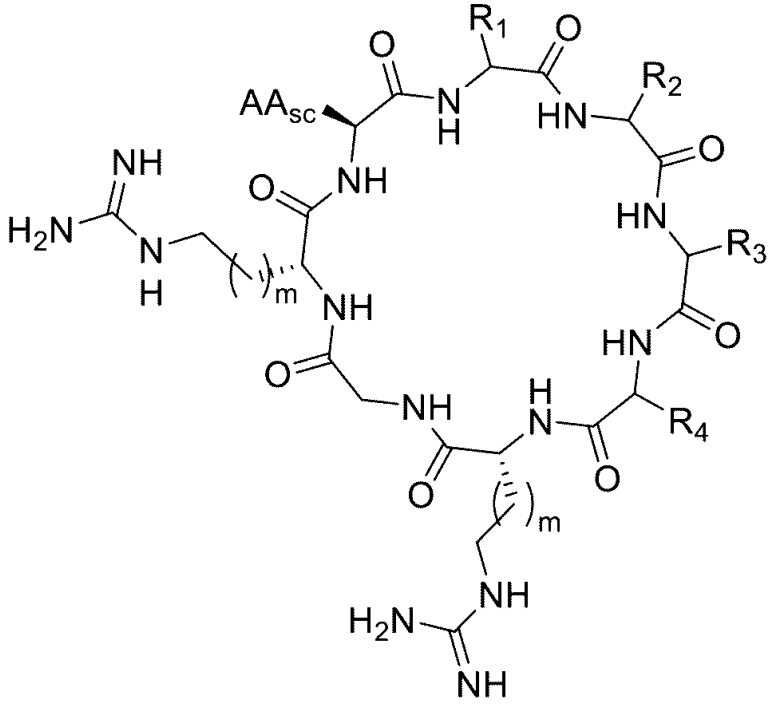
【請求項７３】

前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

【化１６６】



（Ｉ－ａ）、



（Ｉ－ｂ）、

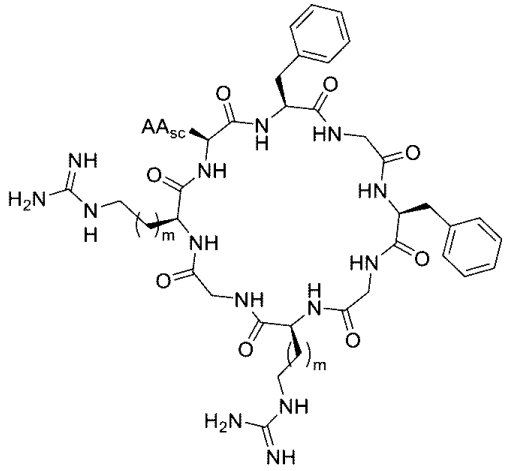
又は

そのプロトン化形態を有する、請求項７２に記載の方法。

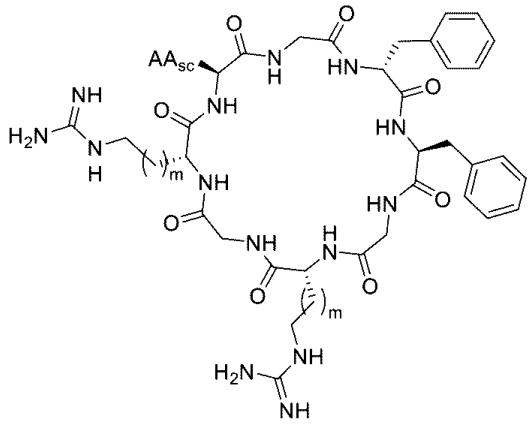
【請求項７４】

前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

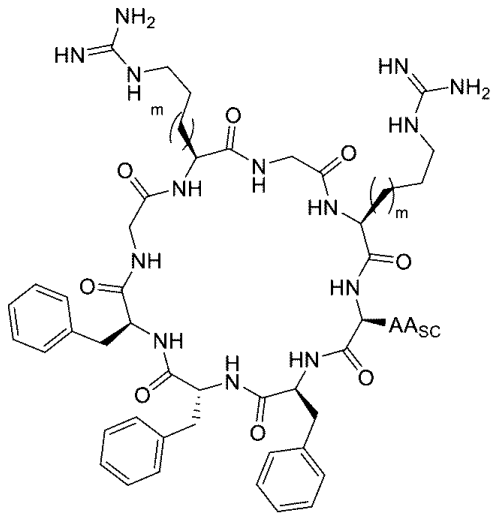
【化１６７－１】



（Ｉ－１）、

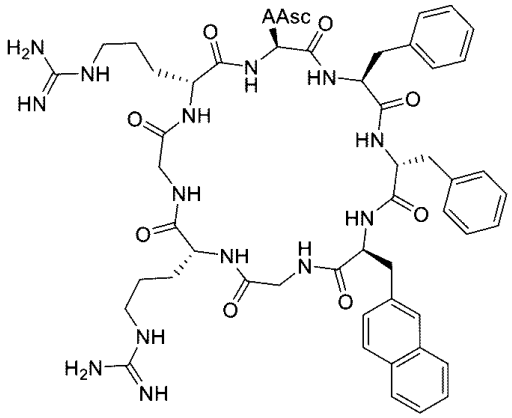


（Ｉ－２）、

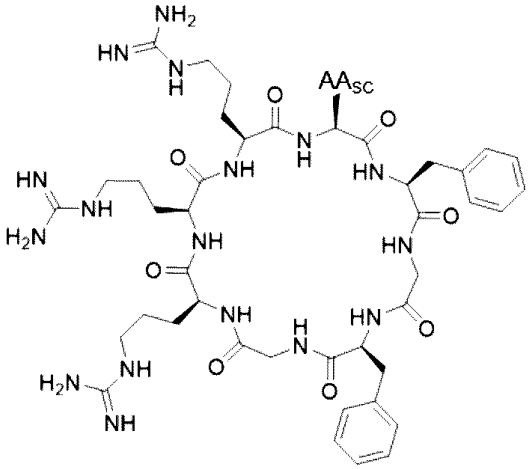


（Ｉ－３）、

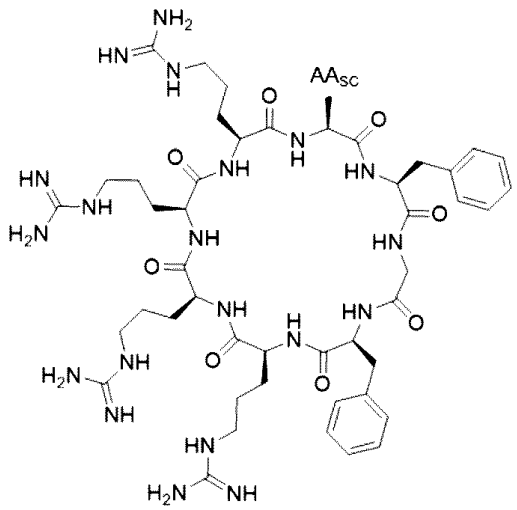
【化１６７－２】



（Ｉ－４）、



（Ｉ－５）、



（Ｉ－６）、

又は

そのプロトン化形態を有する、請求項７２に記載の方法。

【請求項７５】

前記アンチセンス化合物が、ホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドを含む、請求項６８～７４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項７６】

前記アンチセンス化合物をＡＡｓｃにコンジュゲートするリンカーを更に含む、請求項６８～７５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項７７】

エンドソームエスケープビヒクルを含み、前記エンドソームエスケープビヒクルが前記環状ペプチド及び環外ペプチドを含む、請求項６８～７６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７８】
前記疾患が筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）である、請求項６８～７７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７９】
前記疾患が脊髄小脳失調症８型（ＳＣＡ８）である、請求項６８～７７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８０】
前記疾患がハンチントン病様２（ＨＤＬ２）である、請求項６８～７７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８１】
前記アンチセンス化合物が、表２に列記されるヌクレオチドの配列を含む、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物、組成物、又は方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願への相互参照
本出願は、２０２１年６月２３日に出願された米国仮出願第６３／２１３，９００号、２０２１年９月１日に出願された同第６３／２３９，８４７号、２０２１年１２月１７日に出願された同第６３／２９０，８９２号、２０２２年１月３１日に出願された同第６３／３０５，０７１号、２０２２年２月２６日に出願された同第６３／３１４，３６９号、２０２２年３月４日に出願された同第６３／３１６，６３４号、２０２２年３月８日に出願された同第６３／３１７，８５６号、２０２２年３月３１日に出願された同第６３／３２６，２０１号、２０２２年４月４日に出願された同第６３／３２７，１７９号、２０２２年５月６日に出願された同第６３／３３９，２５０号、２０２２年３月３１日に出願された同第６３／３６２，２９５号、２０２１年９月１日に出願された同第６３／２３９，６７１号、２０２１年１２月１７日に出願された同第６３／２９０，９６０号、２０２２年１月１１日に出願された同第６３／２９８，５６５号、及び２０２２年２月２５日に出願された同第６３／２６８，５７７号の利益を主張する。
【０００２】
本開示は、伸長ヌクレオチドリピート、具体的には、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートを含む遺伝子の活性及び／又はレベルを調節するための化合物、組成物、及び方法に関する。本化合物及びそれを含む組成物を使用して、伸長ヌクレオチドリピート、具体的には、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートを含む遺伝子に関連する疾患を治療することができる。
【０００３】
序文
いくつかの疾患は、伸長ヌクレオチドリピート、すなわち、健常な表現型で観察されるよりも多くの数のヌクレオチドリピートを有する遺伝子に関連している。伸長リピートにより、伸長リピート含有転写物の凝集及び／又は核形成が引き起こされ得る、並びに／又は伸長リピート含有転写物に結合するタンパク質の核形成が引き起こされ得る。伸長リピートにより、プレｍＲＮＡプロセシングタンパク質などのいくつかのタンパク質がリピート上で捕捉されるようになり、それ故に、それらのタンパク質がそれらの正常な機能、例えば、伸長リピートを含まない他の遺伝子のプレｍＲＮＡ転写物のプロセシングを行うことが妨げられ得る。
【０００４】
伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する遺伝子に関連するいくつかの疾患が存在する（ＣＴＧはＤＮＡリピートを指し、ＣＵＧは転写時に生じる対応するＲＮＡリピートを指す）。伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する遺伝子に関連する疾患としては、筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）、脊髄小脳失調症－８（ＳＣ

Ａ８）、ハンチントン病様－２（ＨＤＬ２）、及びフックス角膜内皮ジストロフィー（ＦＥＣＤ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０００５】

世界で８５００人に１人が罹患している成人における筋ジストロフィーの最も一般的な原因である筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）は、伸長トリヌクレオチドリピートを有する遺伝子に関連している（Ｌｅｅ ａｎｄ Ｃｏｏｐｅｒ．（２００９）“Ｐａｔｈｏｇｅｎｉｃ ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ ｏｆ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ，”Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｓｏｃ Ｔｒａｎｓ．３７（０６）：１０．１０４２／ＢＳＴ０３７１２８１）。ＤＭ１は、骨格筋及び平滑筋、並びに眼、心臓、内分泌系、及び中枢神経系に影響を及ぼす障害である。ＤＭ１は、筋強直性ジストロフィータンパク質キナーゼ（ＤＭＰＫ）をコードする遺伝子の非コード領域内でのＣＴＧ－トリヌクレオチドリピートの異常な伸長によって引き起こされる。ＣＴＧ伸長は、ＤＭＰＫ ｍＲＮＡの３’非翻訳領域（３’－ＵＴＲ）に対応する領域内にある。健常な個体におけるＤＭＰＫ遺伝子が５～４０個のＣＴＧトリヌクレオチドリピートを含む一方で、ＤＭ１を有する患者は、５０個～最大数千個のＣＴＧトリヌクレオチドリピートを有する。ＣＴＧ－トリヌクレオチドリピート伸長により、３’非翻訳領域（３’－ＵＴＲ）内でのＣＵＧ－伸長時のいくつかのＲＮＡ結合調節タンパク質の核形成に起因して罹患した個体における遺伝子発現の全体的な調節解除がもたらされ、これにより、筋盲様タンパク質（ＭＢＮＬ１～３）などのＲＮＡ結合タンパク質がそれらの正常な細胞機能を果たすことができなくなる。核形成ＲＮＡ結合タンパク質は、他のｍＲＮＡ転写物に結合してその翻訳に影響を及ぼすことはできない。これらのＣＵＧ伸長ｍＲＮＡタンパク質凝集体により、異なる核病巣が形成される。ＣＵＧＢＰ Ｅｌａｖ様ファミリーメンバー１（ＣＥＬＦ１）などの追加のスプライシング因子の活性も破壊され、ＤＭ１の症状に関連する多数の下流遺伝子転写物のミススプライシングにつながる。リピート数が増加するにつれて疾患重症度が増加し、発症年齢が低下する（Ｐｅｔｔｅｒｓｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（２０１５）“Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ ｉｎ ＤＭ１ －ａ ｆｏｃｕｓ ｏｎ ｆｏｃｉ．”Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．４３（４）：２４３３－２４４１）。

【０００６】

ＤＭＰＫ ｍＲＮＡの３’非翻訳領域内のＣＵＧ－トリヌクレオチドリピートは、小さいリボ核複合体又は顕微鏡的に可視的な封入体中の細胞核に蓄積する不完全な安定したヘアピン構造を形成し、転写、スプライシング、又はＲＮＡ輸出に関与するタンパク質の機能を損なう。ＣＵＧリピートを有するＤＭＰＫ遺伝子はｍＲＮＡに転写されるが、変異転写物は凝集体（病巣）として核内で捕捉され、これにより、細胞質ＤＭＰＫ ｍＲＮＡレベルの低下がもたらされる。これらの凝集は、２つのＲＮＡ結合タンパク質：ＭＢＮＬ１（筋盲様１）及びＣＵＧＢＰ１（ＣＵＧ結合タンパク質１）の捕捉に起因して多くの異なる転写物の選択的スプライシングの調節解除につながり、ＭＢＮＬ１の機能喪失及びＣＵＧＢＰ１の上方制御がもたらされる（Ｌｅｅ ａｎｄ Ｃｏｏｐｅｒ．（２００９）“Ｐａｔｈｏｇｅｎｉｃ ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ ｏｆ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ，”Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｓｏｃ Ｔｒａｎｓ．３７（０６）：１０．１０４２／ＢＳＴ０３７１２８１）。ＭＢＮＬ１及びＣＵＧＢＰ－ＥＴＲ－３様因子１（ＣＥＬＦ１）は、胎児から成体への移行中のスプライシング事象の発生調節因子であり、ＤＭ１におけるそれらの活性の修飾により、成人組織における胎児スプライシングパターンの発現がもたらされる。ＭＢＮＬ１レベルの低下及びＣＥＬＦ１レベルの増加の下流影響には、ＭＢＮＬ１に加えて、心臓トロポニンＴ（ｃＴＮＴ）、インスリン受容体（ＩＮＳＲ）、筋特異的塩素イオンチャネル（ＣＬＣＮ１）、及び筋形質／小胞体カルシウムＡＴＰａｓｅ １（ＡＴＰ２Ａ１）転写物などのタンパク質における、選択的スプライシングの破壊、ｍＲＮＡ翻訳、及びｍＲＮＡ崩壊が含まれる（Ｋｏｎｉｅｃｚｎｙ ｅｔ ａｌ．（２０１７）“Ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ：ｃａｎｄｉｄａｔｅ ｓｍａｌｌ ｍｏｌｅｃｕｌｅ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ．”Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ．２２（１１）：１７４０－１７４）。

【０００７】
ＤＭ１又は伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートに関連する他の疾患を治療するための可能な治療アプローチには、治療用オリゴヌクレオチド含有化合物の使用が含まれる。しかしながら、治療法におけるオリゴヌクレオチド化合物の使用に関連する主な問題は、全身投与された場合に細胞内区画にアクセスする能力が制限されていることである。オリゴヌクレオチド化合物の細胞内送達は、ポリマー、カチオン性リポソームなどの担体系の使用によって、又は構築物の化学修飾によって、例えば、コレステロール分子の共有結合によって容易にすることができる。しかしながら、オリゴヌクレオチド化合物の細胞内送達の効率は低いままである。これらの化合物の効力を増加させるために送達系の改善が依然として必要とされている。

【０００８】
ＤＭ１などの伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートによって引き起こされる疾患を治療するために治療用オリゴヌクレオチド化合物を細胞内区画に送達する効果的な組成物に対する満たされていないニーズが存在する。

【発明の概要】

【０００９】
伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートに関連する疾患を治療するための化合物、組成物、及び方法が本明細書に記載される。複数の実施形態では、本開示は、アンチセンス化合物（ＡＣ）と、環状ペプチド、例えば、環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）とを含む化合物に関する。複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＵＧリピートを含む遺伝子又は遺伝子転写物に結合する。複数の実施形態では、環状ペプチドは、ＡＣの細胞内局在化を容易にする。本化合物は、エンドソームエスケープビヒクル（ＥＥＶ）を含み得る。ＥＥＶは、環状ペプチド及び環外ペプチドを含み得る。

【００１０】
複数の実施形態では、（ａ）少なくとも１つの環状ペプチドと、（ｂ）標的ヌクレオチドに相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）とを含む化合物が本明細書に提供される。複数の実施形態では、標的ヌクレオチドは、少なくとも１つの伸長ＣＵＧ又はＣＴＧリピートを含む。複数の実施形態では、標的ヌクレオチドは、少なくとも１つの伸長ＣＴＧリピートを含む遺伝子である。複数の実施形態では、標的ヌクレオチドは、少なくとも１つの伸長ＣＵＧリピートを含むＲＮＡである。複数の実施形態では、少なくとも１つの伸長ＣＵＧリピートを含むＲＮＡは、プレｍＲＮＡ配列である。複数の実施形態では、伸長ＣＵＧリピートは、プレｍＲＮＡが転写される遺伝子における伸長ＣＴＧリピートに対応する。複数の実施形態では、アンチセンス化合物は、伸長ＣＴＧリピート又は伸長ＣＵＧリピートに結合する。複数の実施形態では、ＡＣは、５～４０個のＣＡＧリピート（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０個のリピート）を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、表２、表１０、又は表１１に列記されるヌクレオチドの配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、表２に列記されるヌクレオチドの配列を含む。

【００１１】
複数の実施形態では、ＡＣは、ホスホロチオエート（ＰＳ）ヌクレオチド、ホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチド、ロックド核酸（ＬＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、２’－Ｏ－メチル（２’－ＯＭｅ）修飾骨格を含むヌクレオチド、２’Ｏ－メトキシ－エチル（２’－ＭＯＥ）ヌクレオチド、２’，４’拘束エチル（ｃＥｔ）ヌクレオチド、２’－デオキシ－２’－フルオロ－ベータ－Ｄ－アラビノ核酸（２’Ｆ－ＡＮＡ）、及びそれらの組み合わせから選択される少なくとも１つの修飾ヌクレオチド又は核酸を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＰＭＯヌクレオチドを含む。

【００１２】
複数の実施形態では、６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、環状ペプチドの少なくとも２個

のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドを含む化合物が提供される。複数の実施形態では、アンチセンス化合物（ＡＣ）は、標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的である。複数の実施形態では、ＡＣは、ホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドである。

【００１３】

複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸は、アルギニンである。複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸は、フェニルアラニン、ナフチルアラニン（３－ナフチ－２－イル－アラニン）、又はそれらの組み合わせである。複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸は、シトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである。複数の実施形態では、本化合物は、６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、環状ペプチドの２個のアミノ酸がアルギニンであり、少なくとも２個のアミノ酸が、フェニルアラニン、ナフチルアラニン、及びそれらの組み合わせから選択される芳香族疎水性アミノ酸であり、少なくとも２個のアミノ酸が、シトルリン、グリシン、及びそれらの組み合わせから選択される非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドである。

【００１４】

複数の実施形態では、本化合物は、環状ペプチド及び環外ペプチド（ＥＰ）を含むエンドソームエスケープビヒクルを含む。複数の実施形態では、ＥＰは、アミノ基でリンカーにコンジュゲートされる。リンカーは、本明細書に記載のリンカーであり得る。複数の実施形態では、ＥＰは、リンカーを介して環状ペプチドにコンジュゲートされる。複数の実施形態では、ＥＰは、リンカーを介してＡＣにコンジュゲートされる。複数の実施形態では、ＥＰは、ＡＣを環状ペプチドにコンジュゲートするリンカーにコンジュゲートされる。

【００１５】

複数の実施形態では、ＥＰは、２～１０個のアミノ酸を含む。複数の実施形態では、ＥＰは、４～８個のアミノ酸残基を含む。複数の実施形態では、ＥＰは、グアニジン基を含む側鎖を含む１個若しくは２個のアミノ酸、又はそのプロトン化形態を含む。複数の実施形態では、ＥＰは、１、２、３、又は４個のリジン残基を含む。複数の実施形態では、各リジン残基の側鎖上のアミノ基は、トリフルオロアセチル（－ＣＯＣＦ$_3$）基、アリルオキシカルボニル（Ａｌｌｏｃ）、１－（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキシリデン）エチル（Ｄｄｅ）、又は（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキサ－１－イリデン－３）－メチルブチル（ｉｖＤｄｅ）基で置換される。複数の実施形態では、ＥＰは、疎水性側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸残基を含む。複数の実施形態では、疎水性側鎖を有するアミノ酸残基は、バリン、プロリン、アラニン、ロイシン、イソロイシン、及びメチオニンから選択される。複数の実施形態では、環外ペプチドは、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶ、ＫＲ、ＲＲ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＫＫ、ＫＫＲＫ、ＫＲＫＫ、ＫＲＲＫ、ＲＫＫＲ、ＲＲＲＲ、ＫＧＫＫ、ＫＫＧＫ、ＫＫＫＫＫ、ＫＫＫＲＫ、ＫＢＫＢＫ、ＫＫＫＲＫＶ、ＰＧＫＫＲＫＶ、ＰＫＧＫＲＫＶ、ＰＫＫＧＲＫＶ、ＰＫＫＫＧＫＶ、ＰＫＫＫＲＧＶ、又はＰＫＫＫＲＫＧのうちの１つを含む。複数の実施形態では、環外ペプチドは、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶ、ＫＲ、ＲＲ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＫＫ、ＫＫＲＫ、ＫＲＫＫ、ＫＲＲＫ、ＲＫＫＲ、ＲＲＲＲ、ＫＧＫＫ、ＫＫＧＫ、ＫＫＫＫＫ、ＫＫＫＲＫ、ＫＢＫＢＫ、ＫＫＫＲＫＶ、ＰＧＫＫＲＫＶ、ＰＫＧＫＲＫＶ、ＰＫＫＧＲＫＶ、ＰＫＫＫＧＫＶ、ＰＫＫＫＲＧＶ、又はＰＫＫＫＲＫＧのうちの１つからなる。複数の実施形態では、環外ペプチドは、以下の構造：Ａｃ－Ｐ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－Ｖ－を有する。

【００１６】

複数の実施形態では、環状ペプチドは、４～１２個のアミノ酸を含む。複数の実施形態では、環状ペプチドは、６～１２個のアミノ酸を含む。複数の実施形態では、環状ペプチ

ドの少なくとも２個のアミノ酸は荷電アミノ酸であり、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸は芳香族疎水性アミノ酸であり、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸は非荷電非芳香族アミノ酸である。複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸はアルギニンであり、環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸はフェニルアラニン、ナプチルアラニン、又はそれらの組み合わせであり、少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸はシトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである。

【００１７】

複数の実施形態では、環状ペプチドは、４～１２個のアミノ酸であって、少なくとも２個のアミノ酸がアルギニンであり、少なくとも２個のアミノ酸が疎水性側鎖を含む、アミノ酸を有するが、但し、環状ペプチドが、配列番号８９～１１７の配列を有する環状ペプチドではないことを条件とする。複数の実施形態では、環状ペプチドは、配列番号８９～１１７の配列を有する環状ペプチドではない。

【表２１】

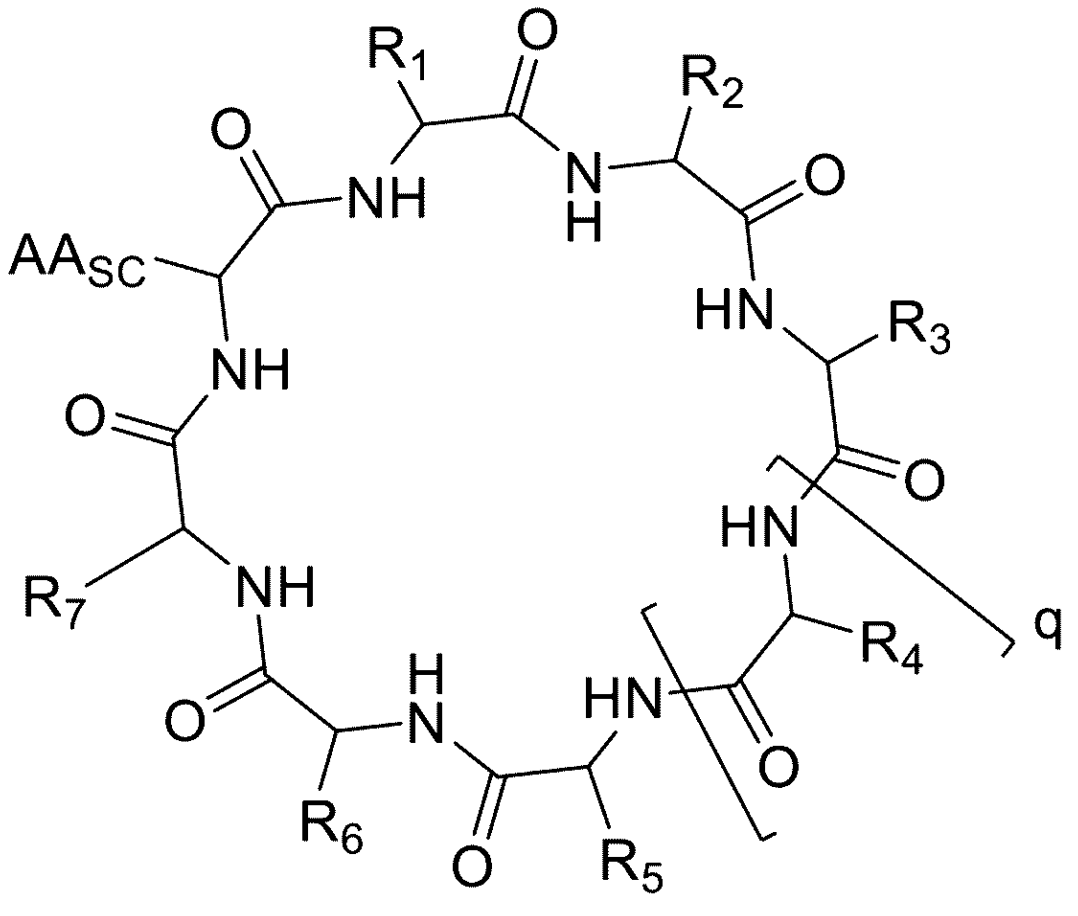
CPP配列及び配列番号					
FΦRRRQ	89	RRFRΦRQ	99	FΦRRRRQK	109
FΦRRRC	90	FRRRRΦQ	100	FΦRRRRQC	110
FΦRRRU	91	rRFRΦRQ	101	fΦRrRrRQ	111
RRRΦFQ	92	RRΦFRRQ	102	FΦRRRRRQ	112
RRRRΦF	93	CRRRRFWQ	103	RRRRΦFDΩC	113
FΦRRRR	94	FfΦRrRrQ	104	FΦRRR	114
FΦrRrRq	95	FFΦRRRRQ	105	FWRRR	115
FΦrRrRQ	96	RFRFRΦRQ	106	RRRΦF	116
FΦRRRRQ	97	URRRRFWQ	107	RRRWF	117
fΦRrRrQ	98	CRRRRFWQ	108		

式中、ＦがＬ－フェニルアラニンであり、ｆがＤ－フェニルアラニンであり、ΦがＬ－３－（２－ナフチル）－アラニンであり、ΦがＤ－３－（２－ナフチル）－アラニンであり、ＲがＬ－アルギニンであり、ｒがＤ－アルギニンであり、ＱがＬ－グルタミンであり、ｑがＤ－グルタミンであり、ＣがＬ－システインであり、ＵがＬ－セレノシステインであり、ＷがＬ－トリプトファンであり、ＫがＬ－リジンであり、ＤがＬ－アスパラギン酸であり、ΩがＬ－ノルロイシンである。

【００１８】

複数の実施形態では、環状ペプチドは、以下の構造：

【化１】



（A）

、
又は
そのプロトン化形態を有し、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又はアミノ酸の芳香族若しくはヘテロ芳香族側鎖であり、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4、R_5、R_6、R_7が独立して、H又はアミノ酸側鎖であり、
R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つが、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸、アルギニン、ホモアルギニン、Ｎ－メチルアルギニン、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニン、２，３－ジアミノプロピオン酸、２，４－ジアミノブタン酸、リジン、Ｎ－メチルリジン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、Ｎ－エチルリジン、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニン、シトルリン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニン、３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖であり、
AA_{SC}が、当該アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４である。

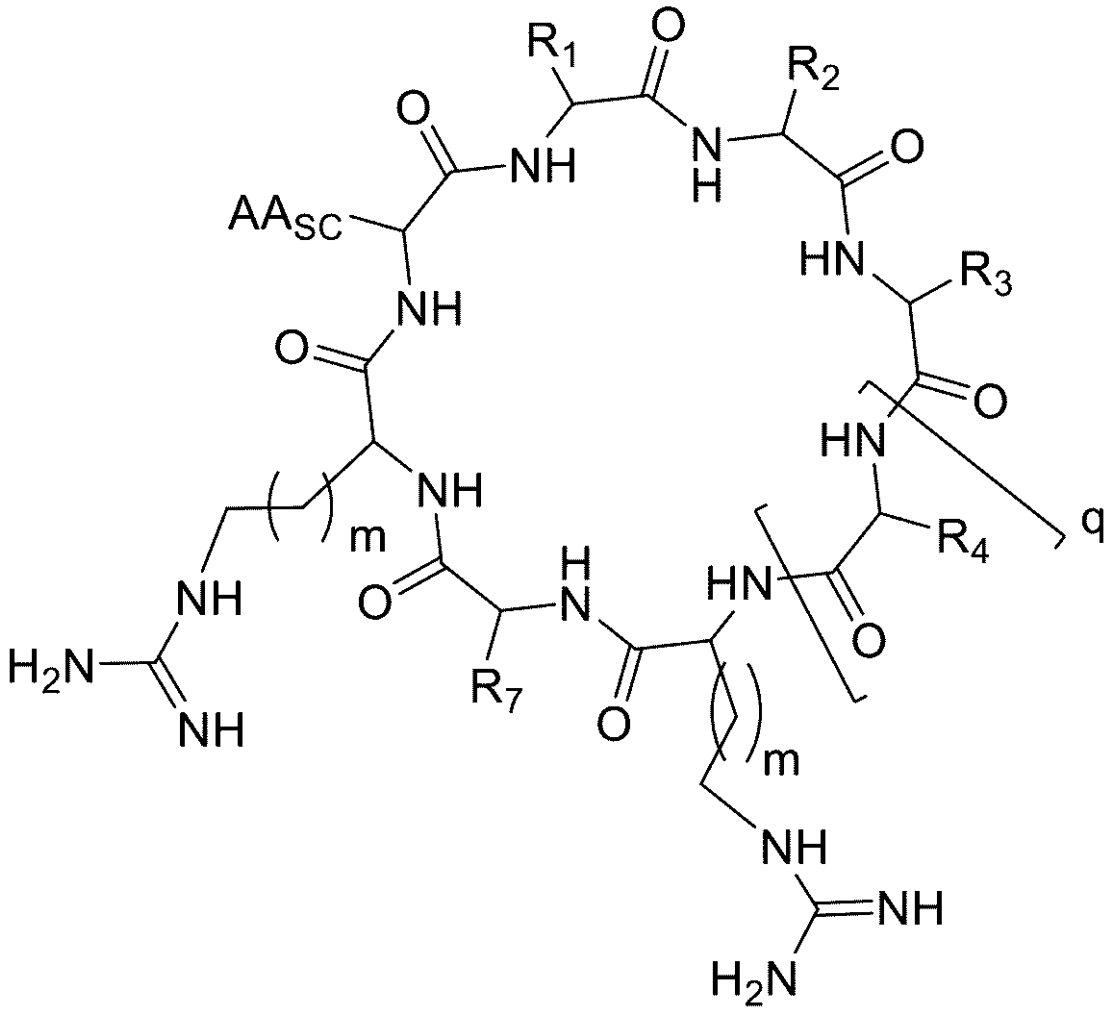
【００１９】

複数の実施形態では、R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つは独立して、アミノ酸の非荷電非芳香族側鎖である。複数の実施形態では、R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つは独立して、H又はシトルリンの側鎖である。

【００２０】

複数の実施形態では、環状ペプチドは、式Ｉの構造：

【化２】



（Ｉ）

又はそのプロトン化形態を有し、

式中、

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、

Ｒ４及びＲ７が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、

ＡＡＳＣが、当該アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、

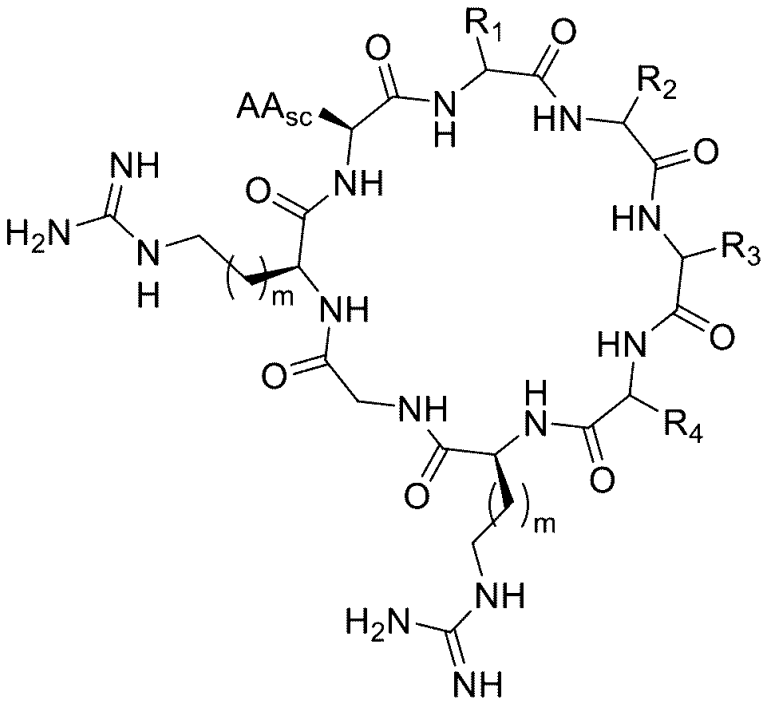
ｑが、１、２、３、又は４であり、

ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である。

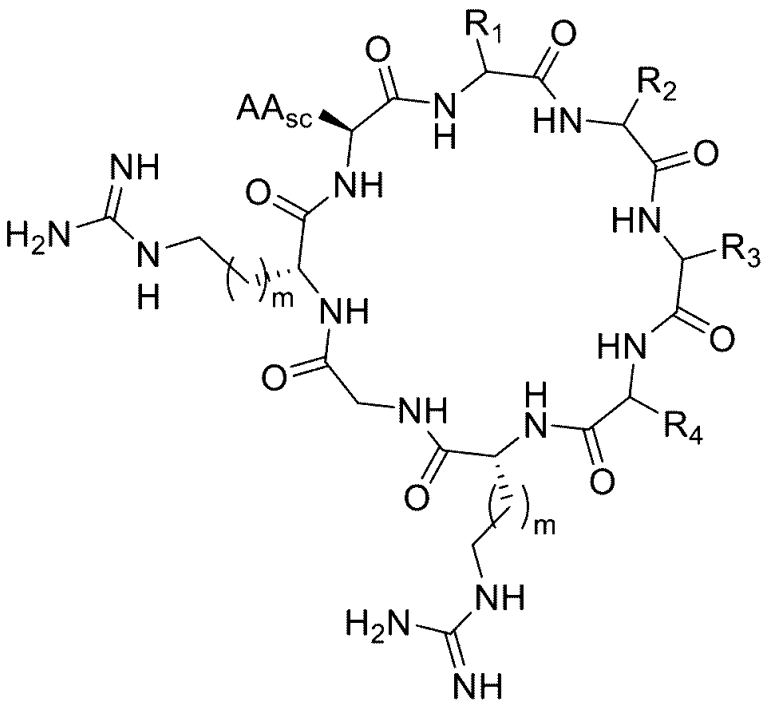
【００２１】

複数の実施形態では、式（Ｉ）の環状ペプチドは、以下の構造のうちの１つ：

【化３】



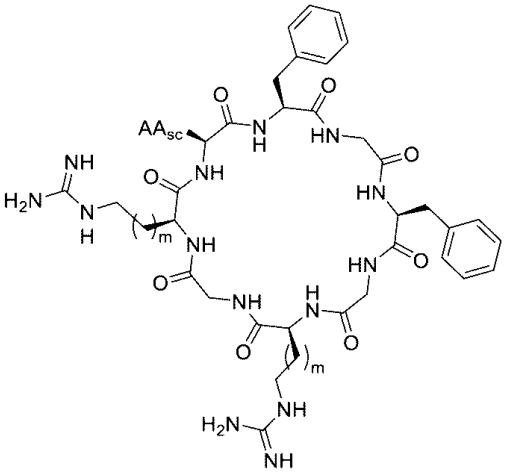
（Ｉ－ａ）、



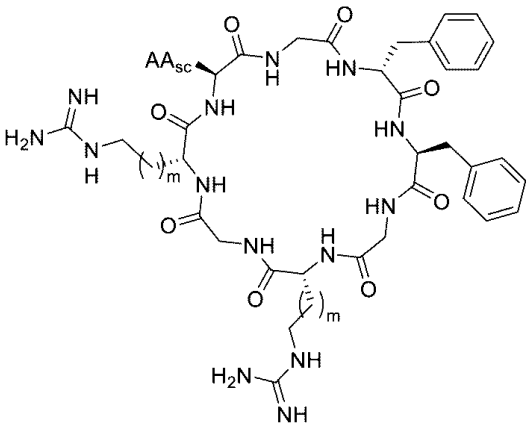
（Ｉ－ｂ）、

又は
そのプロトン化形態を有する。
【００２２】
複数の実施形態では、式（Ｉ）の環状ペプチドは、以下の構造のうちの１つ：

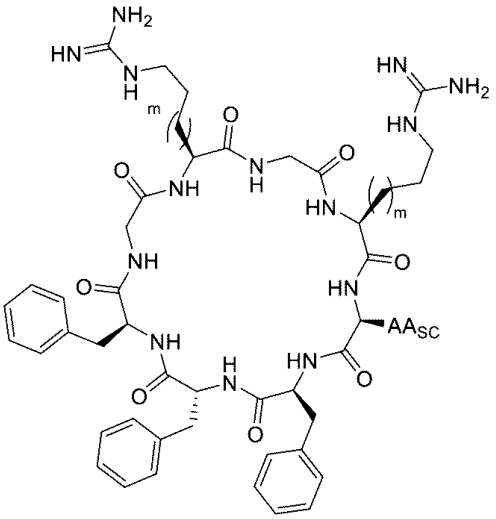
【化４－１】



（Ｉ－１）、

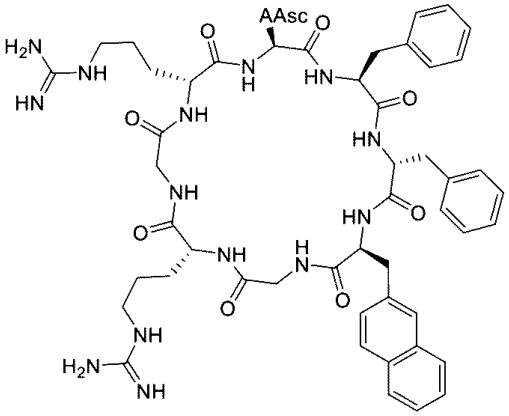


（Ｉ－２）、

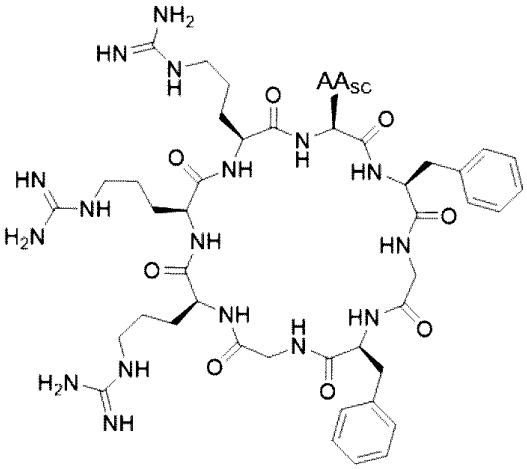


（Ｉ－３）、

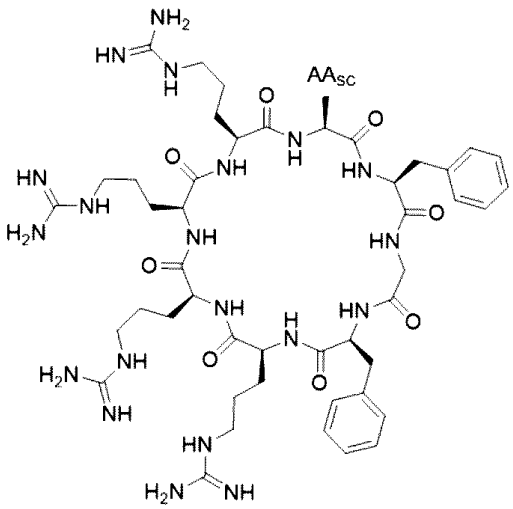
【化４－２】



（Ｉ－４）、



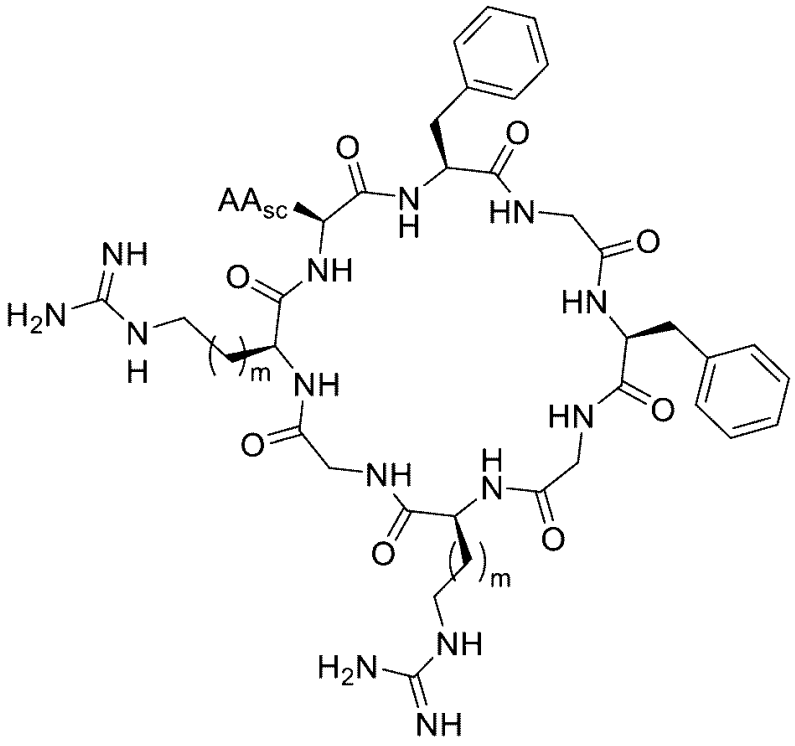
（Ｉ－５）、



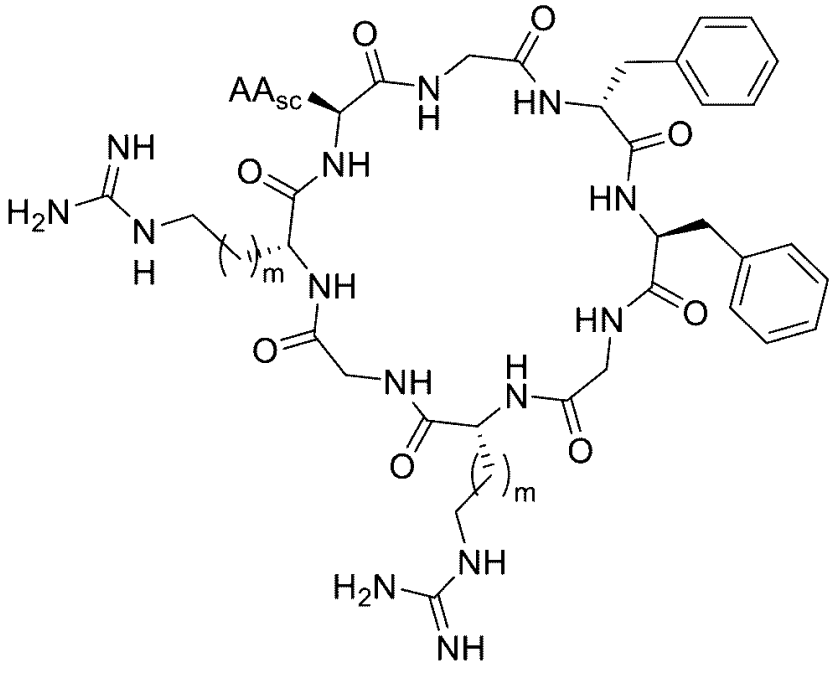
（Ｉ－６）、

又は
そのプロトン化形態を有する。
【００２３】
複数の実施形態では、式（Ｉ）の環状ペプチドは、以下の構造のうちの１つ：

【化５】



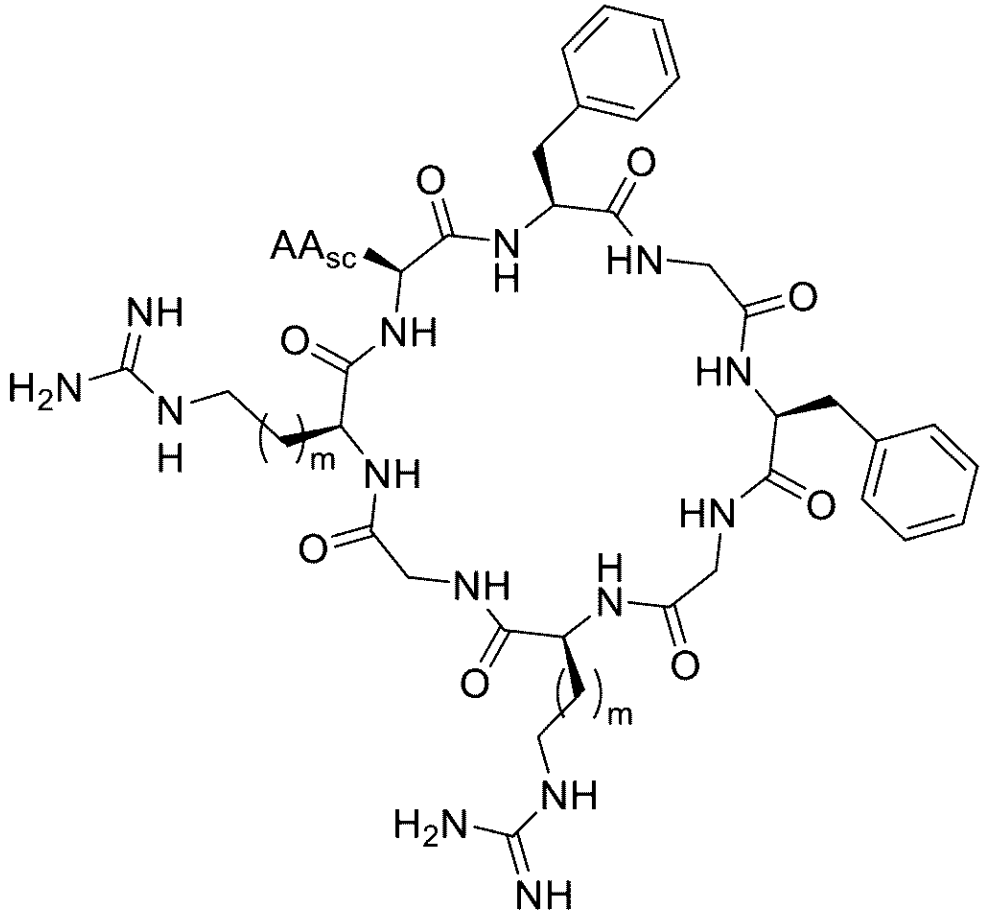
（Ｉ－１）、



（Ｉ－２）、

又は
そのプロトン化形態を有する。
【００２４】
複数の実施形態では、式（Ｉ）の環状ペプチドは、以下の構造：

【化６】

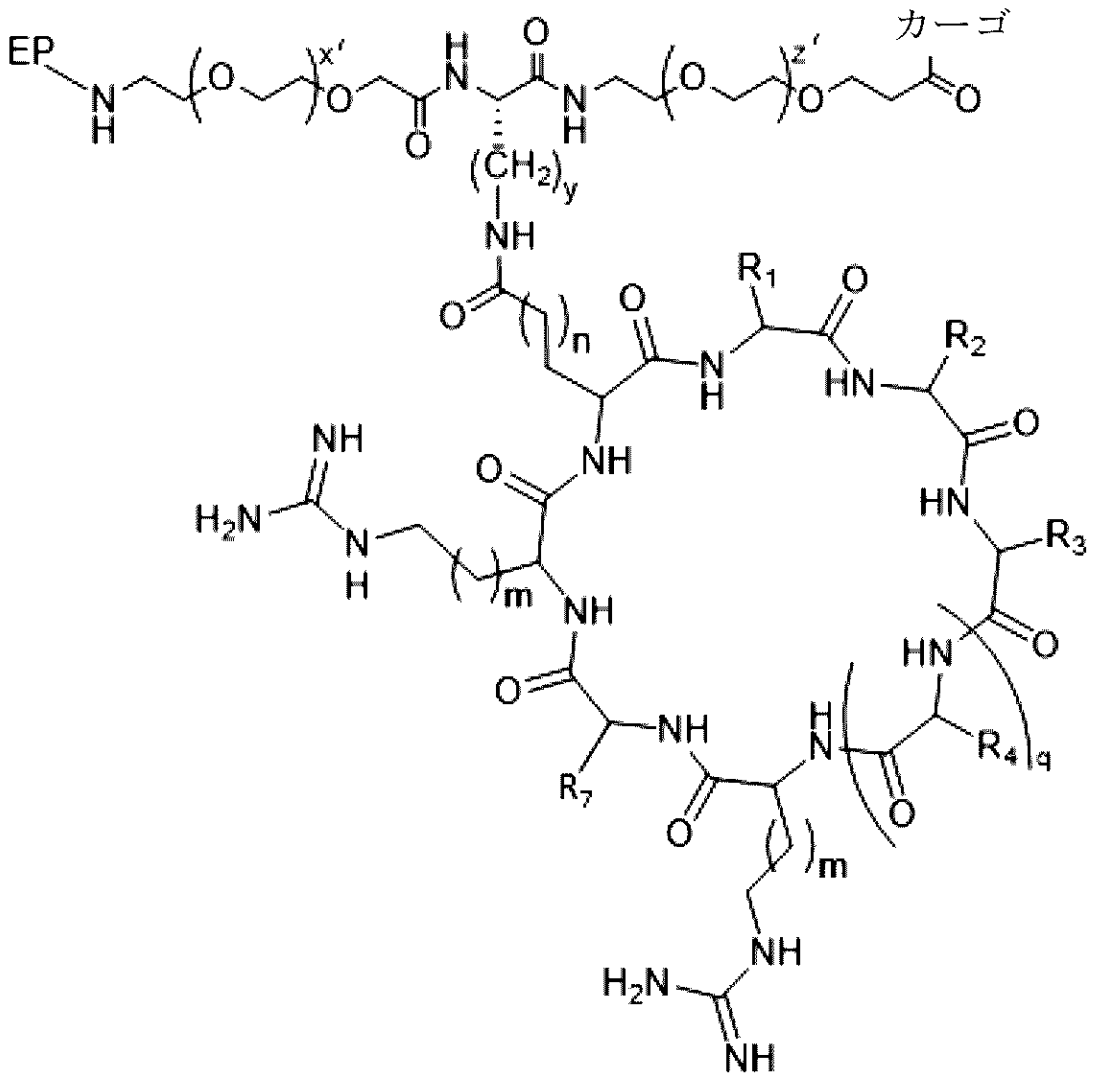


（Ｉ－１）

、
又は
そのプロトン化形態を有する。

【００２５】
複数の実施形態では、本化合物は、式Ｃの構造：

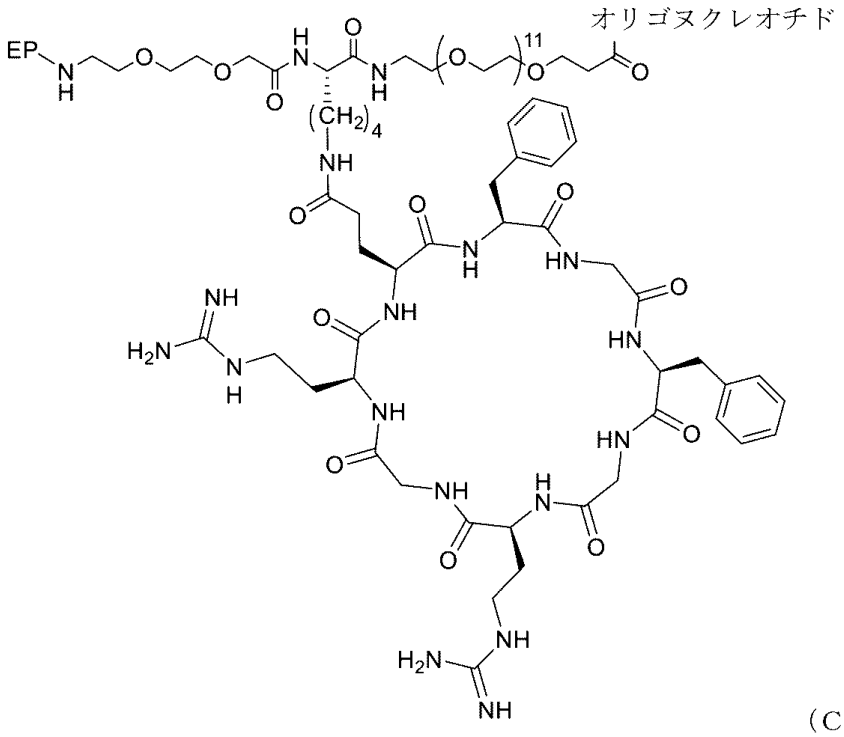
【化７】



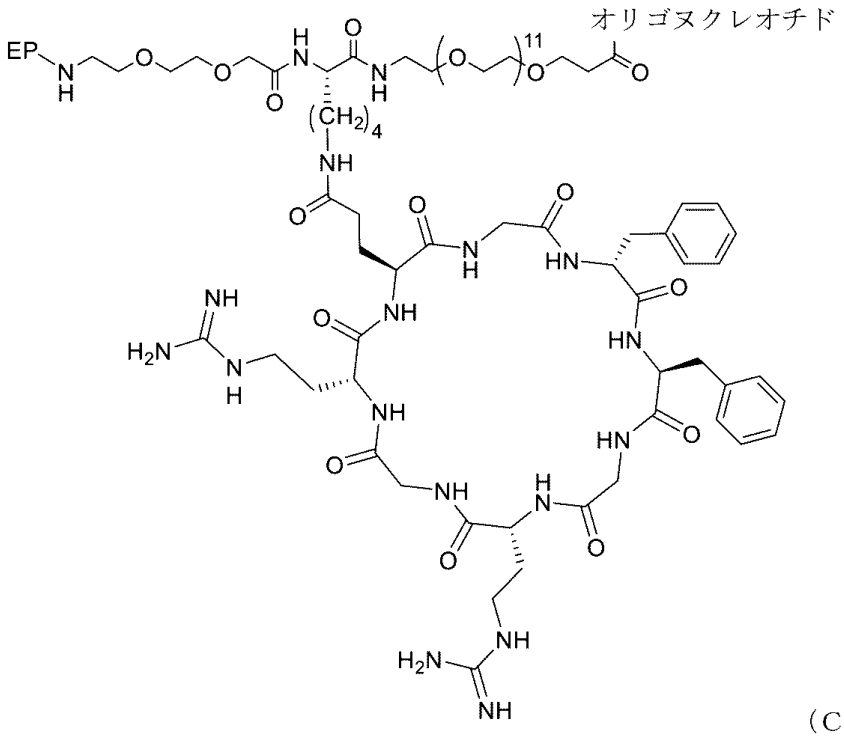
（Ｃ）

、
又は
そのプロトン化形態若しくは塩を有し、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又はアリール基若しくはヘテロアリール基を含む側鎖であり、Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アリール基若しくはヘテロアリール基を含む側鎖であり、
Ｒ４及びＲ７が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＥＰが、環外ペプチドであり、
ｍが各々独立して、０～３の整数であり、
ｎが、０～２の整数であり、
ｘ’が、１～２３の整数であり、
ｙが、１～５の整数であり、
ｑが、１～４の整数であり、
ｚ’が、１～２３の整数であり、
カーゴが、当該アンチセンス化合物である。
【００２６】
複数の実施形態では、本化合物は、１つ又は以下の構造：

【化８－１】

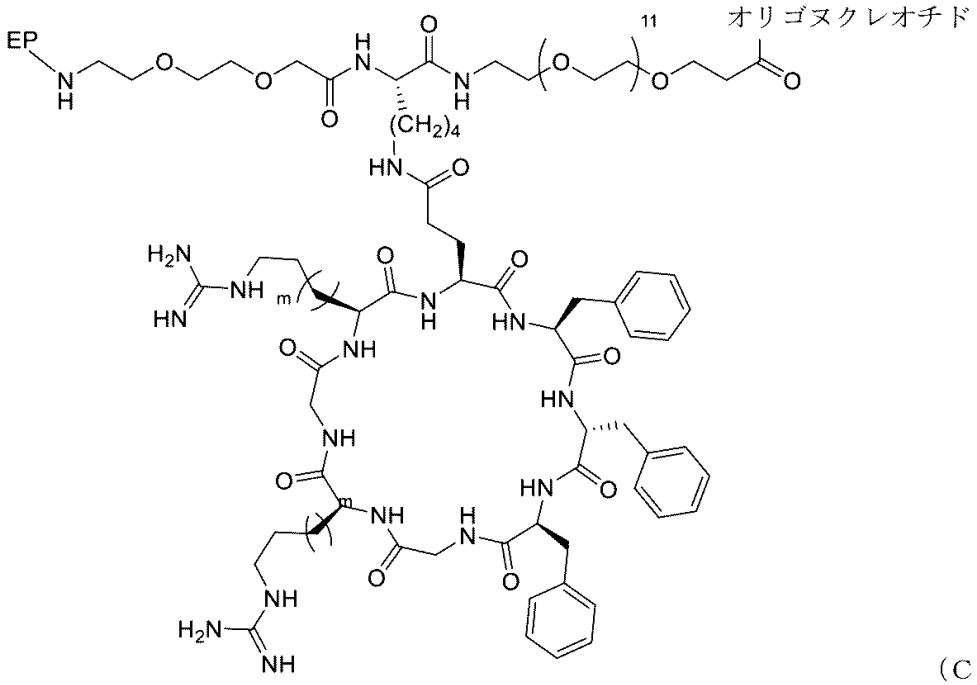


（Ｃ－１）、

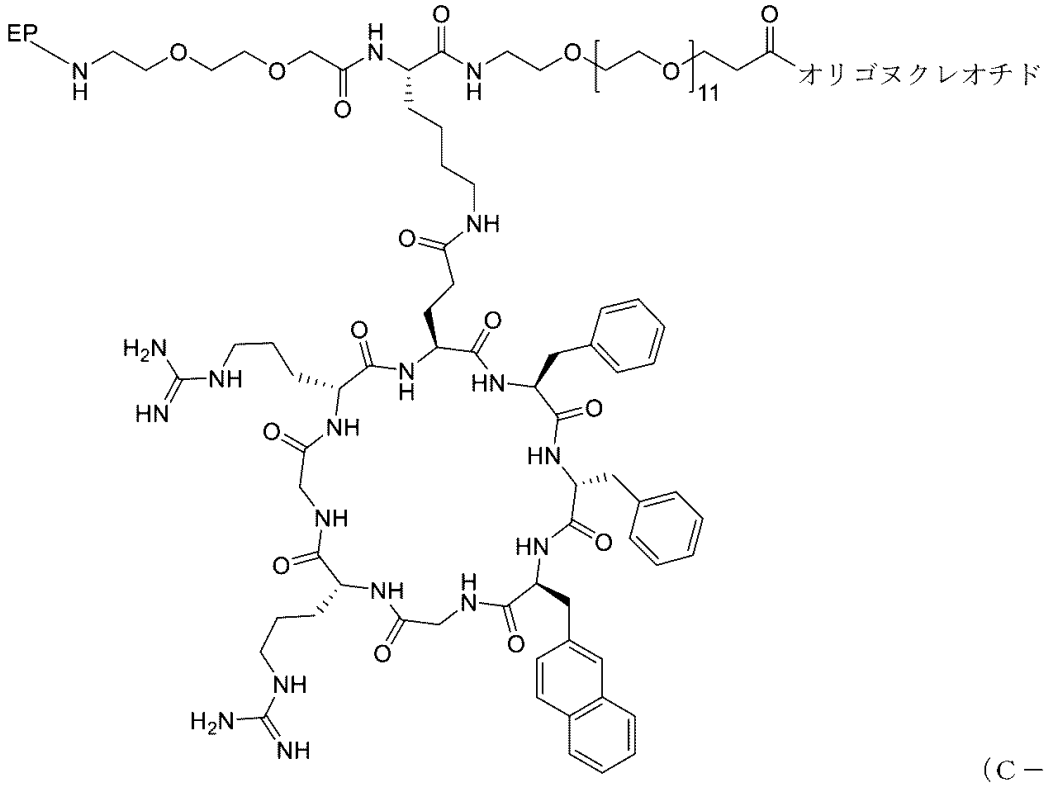


（Ｃ－２）、

【化８－２】



（Ｃ－３）、



（Ｃ－４）

又はそのプロトン化形態若しくは塩を有し、
式中、ＥＰが、環外ペプチドであり、
オリゴヌクレオチドが、当該アンチセンス化合物である。

【００２７】

複数の実施形態では、式（Ｃ－１）、式（Ｃ－２）、式（Ｃ－３）、又は式（Ｃ－４）の化合物のオリゴヌクレオチドは、以下の配列：５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’を含む。

【００２８】

複数の実施形態では、式（Ｃ－１）、式（Ｃ－２）、式（Ｃ－３）、又は式（Ｃ－４）

の化合物のＥＰは、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶを含む。
【図面の簡単な説明】
【００２９】
【図１】ｍＲＮＡ中のＣＵＧリピートを標的とするための複数の戦略を示す概略図である。
【図２】本明細書に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドで使用される修飾ヌクレオチドを示す。構造１～３（１＝ホスホロチオエート、２＝（Sc_5－Rp）－α，β－ＣＡＮ、３＝ＰＭＯ）は、リン酸骨格修飾であり、構造４（２－チオ－ｄＴ）は、塩基修飾であり、構造５～８（５＝２’－ＯＭｅ－ＲＮＡ、６＝２’Ｏ－ＭＯＥ－ＲＮＡ、７＝２’Ｆ－ＲＮＡ、８＝２’Ｆ－ＡＮＡ）は、２’糖修飾であり、構造９～１１は、拘束ヌクレオチドであり、構造１２～１４（９＝ＬＮＡ、１０＝（Ｓ）－ｃＥＴ、１１＝ｔｃＤＮＡ、１２＝ＦＨＮＡ、１３＝（Ｓ）５’－Ｃ－メチル、１４＝ＵＮＡ）は、追加の糖修飾であり、構造１５～１８（１５＝Ｅ－ＶＰ、１６＝ホスホン酸メチル、１７＝５’ホスホロチオエート、１８＝リン酸を有する（Ｓ）－５’－Ｃ－メチル）は、５’リン酸安定化修飾であり、構造１９は、モルホリノ糖である。Ｋｈｖｏｒｏｖａ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０１７　Ｍａｒ；３５（３）：２３８－２４８から再フォーマットしたもの。
【図３Ａ】ＡＣを環状細胞膜透過性ペプチドに連結するためのコンジュゲーション化学を示す。図３Ａは、ＡＣの５’末端でのカルボン酸基を有するペプチド又はＴＦＰ活性化エステルを有するペプチドと一級アミン残基との間のアミド結合形成を示す。図３Ｂは、アミド結合形成による３’での二級アミン又は一級アミン修飾ＡＣとペプチド－ＴＦＰエステルとのコンジュゲーションを示す。図３Ｃは、銅を含まないアジド－アルキン環化付加によるペプチド－アジドの５’シクロオクチン修飾ＡＣへのコンジュゲートを示す。図３Ｄは、それぞれ、銅を含まないアジド－アルキン環化付加又は銅触媒アジド－アルキン環化付加による、３’修飾シクロオクチンＡＣ又は３’修飾アジドＡＣと、リンカー－アジド又はリンカー－アルキン／シクロオクチン部分を含むＣＰＰとの間の別の例示的なコンジュゲーションを説明する（クリック反応）。
【図３Ｂ】同上。
【図３Ｃ】同上。
【図３Ｄ】同上。
【図４】ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部分を含む追加のリンカーモダリティでＡＣとＣＰＰを連結するためのコンジュゲーション化学を示す。
【図５Ａ】ホスホロジアミデート結合モルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）を合成するために使用され得る、アデニン（図５Ａ）、シトシン（図５Ｂ）、グアニン（図５Ｃ）、及びチミン（図５Ｄ）モルホリノサブユニットモノマーの構造を提供する。
【図５Ｂ】同上。
【図５Ｃ】同上。
【図５Ｄ】同上。
【図６Ａ】Ｅｎｄｏ－Ｐｏｒｔｅｒトランスフェクション剤（図６Ａ～図６Ｃ）を使用して又はＥｎｄｏ－Ｐｏｒｔｅｒ剤（図６Ｅ～図６Ｆ）なしでＨｅＬａ－４８細胞を１μＭ、３μＭ、又は１０μＭの様々なＰＭＯ又はＰＭＯ－ＥＥＶ化合物で２４時間（図６Ａ～図６Ｂ）及び４８時間（図６Ｃ～図６Ｄ）処理した後のＭＢＮＬ１（エクソン５、図６Ａ、図６Ｂ、図６Ｅ）及びＣＬＡＳＰ１（エクソン１９、図６Ｂ、図６Ｄ、図６Ｆ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。Ｅｎｄｏ－Ｐｏｒｔｅｒ剤で処理した（図６Ａ～図６Ｄ）又は処理していない（図６Ｅ～図６Ｆ）親ＨｅＬａ細胞株及びＨｅＬａ－４８０細胞株を対照として含めた。
【図６Ｂ】同上。
【図６Ｃ】同上。
【図６Ｄ】同上。
【図６Ｅ】同上。

【図６Ｆ】同上。
【図７Ａ】Ｅｎｄｏ－Ｐｏｒｔｅｒトランスフェクション試薬なしでＤＭ１筋芽細胞を１μＭの様々なＰＭＯ又はＰＭＯ－ＥＥＶ化合物で４８時間処理した後のＭＢＮＬ１（エクソン５、図７Ａ）及びＣＬＡＳＰ１（エクソン１９、図７Ｂ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。２つの対照であるＥｎｄｏ－Ｐｏｒｔｅｒで処理していないＤＭ－０４及びＥｎｄｏ－Ｐｏｒｔｅｒで処理していないＤＭ－０５を対照として含めた。
【図７Ｂ】同上。
【図８Ａ】ＨＳＡ－ＬＲ（ＤＭ１マウスモデル）マウスをＰＭＯ、２０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６、又は４０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６で１週間処理した後の腓腹筋組織由来のＡｔｐ２ａ１（エクソン２２、図８Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７、図８Ｂ）、Ｃｌｃｎ１（エクソン７ａ、図８Ｃ）、及びＭｂｎｌ１（エクソン５、図８Ｄ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。ＦＶＢ／ＮＪ（野生型近交系マウス）及びＨＳＡ－ＬＲ（処理なし）マウスを対照群として含めた。
【図８Ｂ】同上。
【図８Ｃ】同上。
【図８Ｄ】同上。
【図９Ａ】ＨＳＡ－ＬＲ（ＤＭ１マウスモデル）マウスをＰＭＯ、２０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６、又は４０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６で１週間処理した後の四頭筋組織由来のＡｔｐ２ａ１（エクソン２２、図９Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７、図９Ｂ）、Ｃｌｃｎ１（エクソン７ａ、図９Ｃ）、及びＭｂｎｌ１（エクソン５、図９Ｄ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。ＦＶＢ／ＮＪ（野生型近交系マウス）及びＨＳＡ－ＬＲ（処理なし）マウスを対照群として含めた。
【図９Ｂ】同上。
【図９Ｃ】同上。
【図９Ｄ】同上。
【図１０Ａ】ＨＳＡ－ＬＲ（ＤＭ１マウスモデル）マウスをＰＭＯ、２０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６、又は４０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６で１週間処理した後の前脛骨筋組織由来のＡｔｐ２ａ１（エクソン２２、図１０Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７、図１０Ｂ）、Ｃｌｃｎ１（エクソン７ａ、図１０Ｃ）、及びＭｂｎｌ１（エクソン５、図１０Ｄ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。ＦＶＢ／ＮＪ（野生型近交系マウス）及びＨＳＡ－ＬＲ（処理なし）マウスを対照群として含めた。
【図１０Ｂ】同上。
【図１０Ｃ】同上。
【図１０Ｄ】同上。
【図１１Ａ】ＤＭ１患者由来の筋細胞を異なる濃度（１０μｍ、３μｍ、１μｍ、０．３μｍ）のＤＭＰＫ　ＣＵＧ標的ＥＥＶ－ＰＭＯ（CUG^{exp}　１９７－７７７及びCUG^{exp}　２２１－１１０６）で処理した後のＭＢＮＬ１（エクソン５、図１１Ａ）、ＳＯＳ１（エクソン２５、図１１Ｂ）、ＩＲ（エクソン１１、図１１Ｃ）、ＤＭＤ（エクソン７８、図１１Ｄ）、ＢＩＮ１（エクソン１１、図１１Ｅ）、及びＬＤＢ３（エクソン１１、図１１Ｆ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。健常ヒト（陰性対照）及びＤＭ１患者（陽性対照）の２つの群由来の筋細胞を対照として選択的ＲＮＡスプライシング事象について試験した。全てのデータを３つの個別の実験（ｎ＝３）から収集した。処理したＤＭ１筋管と未処理のＤＭ１筋管を比較したｔ検定を行った。＊　ｐ＜０．０５、＊＊　ｐ＜０．０１、＊＊＊　ｐ＜０．００１。
【図１１Ｂ】同上。

【図１１Ｃ】同上。
【図１１Ｄ】同上。
【図１１Ｅ】同上。
【図１１Ｆ】同上。
【図１２Ａ】患者由来のＤＭ１筋芽細胞及び筋管を１０μｍ、３μｍ、又は１μｍのＤＭＰＫ　ＣＵＧ標的ＥＥＶ－ＰＭＯ　１９７－７７７で処理した後のＭＢＬ１（エクソン５、図１２Ａ）、ＳＯＳ１（エクソン２５、図１２Ｂ）、ＩＮＳＲ（エクソン１１、図１２Ｃ）、ＤＭＤ（エクソン７８、図１２Ｄ）、ＢＩＮ１（エクソン１１、図１２Ｅ）、及びＬＤＢ３（エクソン１１、図１２Ｆ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。健常患者細胞及びＤＭ１細胞を対照として使用した。全てのデータを３つの個別の実験（ｎ＝３）から収集した。処理したＤＭ１筋管と未処理のＤＭ１筋管を比較したｔ検定を行った。＊　ｐ＜０．０５、＊＊　ｐ＜０．０１、＊＊＊　ｐ＜０．００１。
【図１２Ｂ】同上。
【図１２Ｃ】同上。
【図１２Ｄ】同上。
【図１２Ｅ】同上。
【図１２Ｆ】同上。
【図１３Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを様々な濃度のＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理した後のｍＲＮＡの相対的レベルを示す。図１３Ａは、腓腹筋、三頭筋、前脛骨筋、及び横隔膜の相対的ｍＲＮＡレベルを示す。図１３Ｂは、横隔膜の相対的ｍＲＮＡレベルを示す。
【図１３Ｂ】同上。
【図１４Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを様々な濃度のＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理した後の四頭筋（図１４Ａ）、腓腹筋（図１４Ｂ）、三頭筋（図１４Ｃ）、及び前脛骨筋（図１４Ｄ）組織における相対的ｍＲＮＡレベルを示す。
【図１４Ｂ】同上。
【図１４Ｃ】同上。
【図１４Ｄ】同上。
【図１５Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを様々な濃度のＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理した後の四頭筋（図１５Ａ）、腓腹筋（図１５Ｂ）、三頭筋（図１５Ｃ）、及び前脛骨筋（図１５Ｄ）組織における様々な遺伝子に対するマウスＤＭ１スプライシングインデックス（ｍＤＳＩ）を示す。
【図１５Ｂ】同上。
【図１５Ｃ】同上。
【図１５Ｄ】同上。
【図１６Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを処理しないか、又はＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０（ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３、ＤＭ１－３）で処理した後の前脛骨筋におけるＲＮＡ病巣の有病率を示す。図１６Ａ～図１６Ｂは、ＲＮＡ　ＣＵＧ病巣（赤色）及び核（青色）について染色した前脛骨筋組織の画像を示す。図１６Ｃは、図１６Ａ～図１６Ｂの画像に関連するデータからＣＵＧ病巣を有する核のパーセントを定量したプロットである。
【図１６Ｂ】同上。
【図１６Ｃ】同上。
【図１７Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理した後の四頭筋（１７Ａ）、三頭筋（１７Ｂ）、心臓（１７Ｃ）、腓腹筋（１７Ｄ）、前脛骨筋（１７Ｅ）、横隔膜（１７Ｆ）、脳（１７Ｈ）、肝臓（１７Ｉ）、及び腎臓（１７Ｊ）組織における薬物レベルに対する用量依存的反応を示すプロットである。図１７Ｋは、６０ｍｐｋの投薬量レベルでの様々な組織の薬物曝露を示す。
【図１７Ｂ】同上。
【図１７Ｃ】同上。

【図１７Ｅ】同上。
【図１７Ｆ】同上。
【図１７Ｇ】同上。
【図１７Ｈ】同上。
【図１７Ｉ】同上。
【図１７Ｊ】同上。
【図１７Ｋ】同上。
【図１８】１５、３０、６０、及び９０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で７日間処理した後のＨＳＡ－ＬＲマウスにおける用量依存的筋強直軽減を示す。
【図１９Ａ】非疾患マウス（ＷＴ）、ＤＭ１マウス（ＨＳＡ－ＬＲ）、及びＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスにおける遺伝子発現を比較する主成分分析の結果を示すプロットである。図１９Ａ及び図１９Ｃは、３つの主成分を示すプロットであり、図１９Ｂ及び図１９Ｄは、２つの主成分を示すプロットである。
【図１９Ｂ】同上。
【図１９Ｃ】同上。
【図１９Ｄ】同上。
【図２０Ａ】非疾患マウス（ＷＴ）、ＤＭ１マウス（ＨＳＡ－ＬＲ）、及び６０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理したＨＳＡ－ＬＲマウス間の差次的に発現された遺伝子のヒートマップを示す。図２０Ａは、５１３個の差次的に発現された遺伝子を示すクラスター化ヒートマップである。図２０Ｂは、ＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有することが知られている４０個の遺伝子を示すクラスター化ヒートマップである。
【図２０Ｂ】同上。
【図２１】未処理ＨＳＡ－ＬＲマウス及びＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理したマウスにわたる全体的な転写変化を示すボルケーノプロットである。
【図２２】非疾患マウス、ＨＳＡ－ＬＲマウス、及びＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理したＨＳＡ－ＬＲマウス由来のＳｃｕｂｅ２（図２２Ａ）、Ｇｒｅｂ１（図２２Ｂ）、Ｔｔｃ７（図２２Ｃ）、Ｔｘｌｎｂ（ＣＵＧ）９（図２２Ｄ）、及びＮｄｒｇ３（図２２Ｅ）遺伝子の主成分分析の結果を示すプロットである。
【図２３Ａ】非疾患マウス（ＷＴ－生理食塩水）、ＨＳＡ－ＬＲマウス（ＨＳＡ－ＬＲ生理食塩水）、及びＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスのＡｔｐ２ａ１（図２３Ａ、エクソン２２をボックスで囲んでいる）、Ｃｌｃｎ１（図２３Ｂ、エクソン７ａをボックスで囲んでいる）、Ｎｆｉｘ（図２３Ｃ、エクソン７をボックスで囲んでいる）、及びＭｂｎ１（図２３Ｄ、エクソン５をボックスで囲んでいる）についてのＲＮＡ配列決定（ＲＮＡｓｅｑ）データを示す。処理群毎に２つのリードを示す。
【図２３Ｂ】同上。
【図２３Ｃ】同上。
【図２３Ｄ】同上。
【図２４】非疾患マウス（ＷＴ－生理食塩水）、ＨＳＡ－ＬＲマウス（ＨＳＡ－ＬＲ生理食塩水）、及びＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスの目的とする様々な遺伝子の個々のエクソンのスプライシング指数パーセント（ＰＳＩ）を示す。
【図２５Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを８０ｍｐｋ（オリゴ６０ｍｐｋ、全薬物８０ｍｐｋ）のＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で１週間～４週間処理した後の前脛骨筋（図２５Ａ）、腓腹筋（図２５Ｂ）、三頭筋（図２５Ｃ）、及び四頭筋（図２５Ｄ）組織における薬物レベルを示す。
【図２５Ｂ】同上。
【図２５Ｃ】同上。
【図２５Ｄ】同上。
【図２６Ａ】ＨＳＡ－ＬＲマウスを８０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の単回投与で処理した後のマウスにおける薬物レベルを示す。図２６Ａ～図２６Ｂは、処理後１週間

から１２週間までの肝臓における薬物レベルを示す。図２６Ｃ～図２６Ｄは、処理後１週間から１２週間までの腎臓における薬物レベルを示す。
【図２６Ｂ】同上。
【図２６Ｃ】同上。
【図２６Ｄ】同上。
【図２７Ａ】ＤＭ１患者由来の筋細胞を３０μＭのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理した後のＭＢＮＬ１（エクソン５、図２６Ａ）、ＳＯＳ１（エクソン２５、図２６Ｂ）、及びＮＦＩＸ（エクソン７、図２６Ｃ）のエクソン包含レベルを示すプロットである。
【図２７Ｂ】同上。
【図２７Ｃ】同上。
【図２８Ａ】ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３がＤＭ１患者由来の筋細胞内の核（青色）中のＣＵＧ核病巣（緑色）を減少させることを示す。図２８Ａ～図２８Ｂは、未処理であるか、又はＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理したか、又は未処理であるかのいずれかであるＤＭ１患者由来の筋細胞の画像である。図２８Ｃは、図２８Ａの画像に関連するデータの核当たりのＣＵＧ病巣の数の定量である。
【図２８Ｂ】同上。
【図２８Ｃ】同上。
【図２９Ａ】ＲＰＴＥＣ細胞を様々な濃度のＰＭＯ－ＤＭ１又はＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理したＣＥＬＬＴＩＴＥＲ－ＧＬＯ発光生存率アッセイの未加工データ（図２９Ａ）及び正規化データ（図２９Ｂ）を示す。メリチンを陽性対照として使用した。
【図２９Ｂ】同上。
【図３０Ａ】ＤＭ１患者由来の細胞（図３０Ａ）及びＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１１３で処理したＤＭ１患者由来の細胞（図３０Ｂ）におけるＲＮＡ　ＣＵＧリピート病巣を描写する画像を示す。細胞を核（青色、Ｈｏｅｃｈｓｔ）及びＲＮＡ　ＣＵＧ病巣（緑色）について染色した。図３０Ｃは、図３０Ａ～図３０Ｂの画像に関連するデータの核面積当たりのＣＵＧ　ＲＮＡ病巣のプロットである。
【図３０Ｂ】同上。
【図３０Ｃ】同上。
【図３１Ａ】ＨｅＬａ、未処理のＨｅＬａ４８０細胞、及びＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１１３で処理したＨｅＬａ４８０細胞におけるＲＮＡ　ＣＵＧ７病巣の有病率を示す。図３１Ａは、ＲＮＡ　ＣＵＧ７病巣（緑色）及び核（青色）について染色した細胞の画像を示す。図３１Ｂは、図３１Ａの画像に関連するデータの核面積当たりのＣＵＧ７病巣を定量したプロットである。
【図３１Ｂ】同上。
【図３２Ａ】ＤＭ１患者由来の細胞を３０μＭのＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１１３で処理した後のＭＢＮＬ１中のエクソン５（図３２Ａ）、ＳＯＳ１中のエクソン２５（図３２Ｂ）、及びＮＦＩＸ中のエクソン７（図３２Ｃ）の包含パーセントを示すプロットである。
【図３２Ｂ】同上。
【図３２Ｃ】同上。
【図３３Ａ】ＤＭ１患者由来の筋細胞を様々な濃度のＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１１３で処理した後のＭＢＮＬ１（エクソン５、図３３Ａ）、ＳＯＳ１（エクソン２５、図３３Ｂ）、ＣＬＡＳＰ１（エクソン１９、図３３Ｃ）、ＮＦＩＸ（エクソン７、図３３Ｄ）、及びＩＮＳＲ（エクソン１１、図３３Ｅ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。ｔ検定を使用して有意性を決定した。＊　ｐ＜０．０５、＊＊　ｐ＜０．０１、＊＊＊　ｐ＜０．００１。
【図３３Ｂ】同上。
【図３３Ｃ】同上。
【図３３Ｄ】同上。
【図３３Ｅ】同上。

【図３４Ａ】様々な濃度のＰＭＯ　２２１又はＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１０６で処理したマウスの腓腹筋組織におけるＡｔｐ２ａ１（エクソン２２、図３４Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７、図３４Ｂ）、Ｃｌｃｎ１（エクソン７ａ、図３４Ｃ）、及びＭｂｎｌ１（エクソン５、図３４Ｄ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含）のＲＴ－ＰＣＲ分析方法を示す。
【図３４Ｂ】同上。
【図３４Ｃ】同上。
【図３４Ｄ】同上。
【図３５Ａ】ＥＥＶ　０２２１－１１２１（２１ｍｅｒ）又はＰＭＯ－ＥＥＶ　０３２５－１１２１（２４ｍｅｒ）のいずれかで処理したＨＳＡ－ＬＲマウスの前脛骨筋組織におけるＭｂｎｌ１（エクソン５、図３５Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７、図３５Ｂ）、及びＡｔｐ２ａ１（エクソン２２、図３５Ｃ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含又は排除）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。
【図３５Ｂ】同上。
【図３５Ｃ】同上。
【図３６Ａ】ＰＭＯ－ＥＥＶ　０２２１－１１２１（２１ｍｅｒ）又はＰＭＯ－ＥＥＶ　０３２５－１１２１（２４ｍｅｒ）のいずれかで処理したＨＳＡ－ＬＲマウスの腓腹筋組織におけるＭｂｎｌ１（エクソン５、図３６Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７、図３６Ｂ）、及びＡｔｐ２ａ１（エクソン２２、図３６Ｃ）の選択的ＲＮＡスプライシング事象（例えば、エクソン包含）のＲＴ－ＰＣＲ分析を示す。
【図３６Ｂ】同上。
【図３６Ｃ】同上。
【図３７】インビボで検出されたＰＭＯ－ＥＥＶ　２２０－１１２０の主要代謝物であるＰＭＯ－０２２１ａを示す。
【図３８Ａ】Ｈｅｌａ４８０細胞を様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０で処理した後の前脛骨筋（図３８Ａ）及び腓腹筋（図３８Ｂ）におけるＭＢＮＬ１（エクソン５）のエクソン包含パーセントを示す。
【図３８Ｂ】同上。
【図３９Ａ】Ｈｅｌａ４８０細胞を様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０で処理した後の前脛骨筋（図３９Ａ）及び腓腹筋（図３９Ｂ）におけるＮＦＩＸ（エクソン７）のエクソン包含パーセントを示す。
【図３９Ｂ】同上。
【図４０Ａ】Ｈｅｌａ４８０細胞を様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０で処理した後の前脛骨筋（図４０Ａ）及び腓腹筋（図４０Ｂ）におけるＡｔｐ２ａ１（エクソン２２）のエクソン包含パーセントを示す。
【図４０Ｂ】同上。
【図４１Ａ】様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０で処理した後のＨｅｌａ４８０細胞におけるＲＮＡ　ＣＵＧリピート病巣を描写する画像（図４１Ａ）を示す。図４１Ｂは、図４１Ａの画像に関連するデータの核面積当たりのＲＮＡ病巣のプロットである。
【図４１Ｂ】同上。
【図４２Ａ】様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０で処理した後のＨｅＬａ４８０細胞における相対的ｒ（ＣＵＧ４８０）リピートｍＲＮＡレベル（図４２Ａ）、相対的ＤＭＰＫ　ｍＲＮＡレベル（図４２Ｂ）、ＭＢＮＬ１のエクソン５包含パーセント（図４２Ｃ）、及びＳＯＳ１のエクソン２５包含パーセント（図４２Ｄ）を示す。
【図４２Ｂ】同上。
【図４２Ｃ】同上。
【図４２Ｄ】同上。
【図４３】ＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有することが知られている筋組織で発現された遺伝子の例を示す棒グラフである。

【図４４Ａ】２０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１０６で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスモデルにおける表現型筋強直軽減を示す。図４４Ａ及び図４４Ｃは、弛緩のプロットを示す。図４４Ｂは、未加工の力トレースの例を示す。図４４Ｄは、代表的な筋電図トレースを示す。
【図４４Ｂ】同上。
【図４４Ｃ】同上。
【図４４Ｄ】同上。
【発明を実施するための形態】
【００３０】
化合物
複数の実施形態では、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する遺伝子転写物のレベル及び／又は活性を調節する化合物が提供される。複数の実施形態では、本開示の化合物は、少なくとも１つの環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）と、治療部分（ＴＭ）とを含む。ｃＣＰＰは、ＴＭの細胞への進入を容易にする。複数の実施形態では、本化合物は、ｃＣＰＰ及び環外ペプチド（ＥＰ）を含むエノソームエスケープビヒクル（ＥＥＶ）を含む。ｃＣＰＰ又はＥＥＶは、ＴＭがサイトゾル又は細胞区画に進入して標的転写物と相互作用することを可能にし得る。
【００３１】
治療部分
一般に、ＴＭは、応答を誘発するエフェクター部分である。複数の実施形態では、ＴＭは、標的転写物及び／又は標的タンパク質の発現、活性、及び／又はレベルを調節することによって応答を誘導する。複数の実施形態では、標的転写物は、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含む。複数の実施形態では、ＴＭは、細胞内の標的転写物及び／又は標的タンパク質のレベルを調節する。複数の実施形態では、ＴＭは、細胞内の標的転写物及び／又は標的タンパク質のレベルを低下させる。
【００３２】
複数の実施形態では、ＴＭは、標的転写物と標的転写物に結合する１つ以上のタンパク質との間の親和性を減少させることによって標的転写物の活性を調節する。標的転写物と１つ以上のタンパク質との間の親和性を減少させることによって、ＴＭは、標的転写物に別様に関連するであろう１つ以上のタンパク質の活性を効果的に調節し得る。例えば、１つ以上のタンパク質が標的転写物に結合していない場合、それらは、他の分子上でそれらの機能を実行するのに利用可能である。例えば、１つ以上のタンパク質がプレｍＲＮＡプロセシングに関与する場合、伸長ＣＵＧリピートを含む転写物に対する１つ以上のタンパク質の親和性を減少させることにより、１つ以上のタンパク質が伸長ＣＵＧリピートを含まないプレｍＲＮＡ転写物をプロセシングすることが可能になり得る。したがって、ＴＭは、標的転写物との相互作用がＴＭによって破壊される１つ以上のタンパク質によって調節される下流遺伝子（伸長ＣＴＧリピートを含まない遺伝子）の活性、発現、及び／又はレベルを調節し得る。
【００３３】
複数の実施形態では、ＴＭは、オリゴヌクレオチド、ペプチド、抗体、及び／又は小分子を含む。ＴＭのクラス及びアイデンティティは、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含む標的転写物のレベル及び／又は活性を調節するために使用される機構に依存する。
【００３４】
アンチセンス化合物
様々な実施形態では、本明細書に開示される化合物は、アンチセンス化合物（ＡＣ）にコンジュゲートされた細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）を含む。
【００３５】
「アンチセンス化合物」という用語は、標的ヌクレオチド配列に相補的な又は少なくとも部分的に相補的なオリゴヌクレオチド配列を指す。ＡＣは、天然ＤＮＡ塩基、修飾ＤＮＡ塩基、天然ＲＮＡ塩基、修飾ＲＮＡ塩基、天然ＲＮＡ糖、修飾ＲＮＡ糖、天然ＤＮＡ糖

、修飾ＤＮＡ糖、天然ヌクレオシド間結合、修飾ヌクレオシド間結合、又はそれらの任意の組み合わせを含むオリゴヌクレオチドである。ＡＣとしては、アンチセンスオリゴヌクレオチドＲＮＡｉ、マイクロＲＮＡ、アンタゴミル、アプタマー、リボザイム、免疫刺激性オリゴヌクレオチド、デコイオリゴヌクレオチド、スーパーミル、ｍｉＲＮＡ模倣物、ｍｉＲＮＡ阻害剤、Ｕ１アダプター、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【００３６】

複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する標的転写物に少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。いくつかの疾患、例えば、筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）、フックス角膜内皮ジストロフィー（ＦＥＣＤ）、脊髄小脳失調症－８（ＳＣＡ８）、及びハンチントン病様（ＨＤＬ２）が、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに関連している。表１は、ヌクレオチドリピート障害の例、及びかかる障害に関連する伸長ヌクレオチドリピートを有する遺伝子の特徴を提供する。以下の文献は、タンデムリピート疾患を治療するための例示的なオリゴヌクレオチドを記載し、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。Ｚａｉｎ ｅｔ ａｌ．Ｎｅｕｒｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ．２０１９；１６（２）：２４８－２６２、Ｚａｒｏｕｃｈｌｉｏｔｉ ｅｔ ａｌ．Ａｍ Ｊ Ｈｕｍ Ｇｅｎｅｔ．２０１８；１０２（４）：５２８－５３９、Ｆａｕｔｓｃｈ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｇ Ｒｅｔｉｎ Ｅｙｅ Ｒｅｓ．２０２１；８１：１００８８３。

【表１】

*表１：*伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに関連する疾患

疾患 （略語）	遺伝子	正常リピート長	伸長リピート長	遺伝子産物	リピート配列	リピート位置
DM1	DMPK	5-35	> 50	筋強直性ジストロフィータンパク質キナーゼ	CTG･CAG	3’UTR
FECD	TCF4	< 30	> 40	転写因子４	CTG･CAG	イントロン３
SCA8	ATXN8OS及び/又はATXN8	15-50	> 50	アタキシン８及びアタキシン８逆鎖	CTG･CAG	3’UTR
HDL2	*JPH3*	6-27	>40	ジャンクトフィリン３	CTG･CAG	3’UTR

【００３７】

複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含む標的ｍＲＮＡ転写物中のヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ｍＲＮＡ転写物中の伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。

【００３８】

複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含むＤＭＰＫ１標的転写物中のヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含むＴＣＦ４標的転写物中のヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含むＡＴＸＮ８ＯＳ／ＡＴＸＮ８標的転写物中のヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、伸長ＣＴＧ・

ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含むＪＰＨ３標的転写物中のヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。

【００３９】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的ｍＲＮＡ転写物の３’ＵＴＲ内のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＤＭＰＫ１標的転写物の３’ＵＴＲ内の伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＡＴＸＮ８ＯＳ／ＡＴＸＮ８標的転写物の３’ＵＴＲ内の伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＪＰＨ３標的転写物の３’ＵＴＲ内の伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。

【００４０】

複数の実施形態では、ＡＣは、ＣＴＧ・ＣＵＧリピートなどのトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的なヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、少なくとも１つの伸長トリヌクレオチドリピート（例えば、ＣＴＧ・ＣＵＧリピート）を含む。複数の実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、少なくとも４０個、少なくとも４５個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、少なくとも９０個、少なくとも１００個、少なくとも１５０個、少なくとも２００個、少なくとも３００個、少なくとも４００個、少なくとも５００個、少なくとも６００個、少なくとも７００個、少なくとも８００個、少なくとも９００個、少なくとも１０００個、又は少なくとも２０００個のＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含む。複数の実施形態では、伸長トリヌクレオチドリピートは、標的ヌクレオチド配列の３’ＵＴＲ内にある。

【００４１】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１１個、少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、少なくとも２０個、かつ最大５０個、最大１００個、最大１５０個、最大２００個、最大３００個、最大４００個、最大５００個、最大６００個、最大７００個、最大８００個、最大９００個、最大１０００個、又は最大２０００個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、又は２０個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の５～１０個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の５～９個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の５～８個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の５～７個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の５～６個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の５個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得

るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の６個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の７個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の８個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の９個のトリヌクレオチドリピートに少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ヌクレオチド配列を含む。

【００４２】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物中の任意の位置に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含み得る。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の３’ＵＴＲ内に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＤＭＰＫ１、ＳＣＡ８、及び／又はＨＤＬ２標的転写物の３’ＵＴＲ内に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物のイントロン中に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＴＣＦ４標的転写物のイントロン３中に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、ＴＣＦ４標的転写物のＣＴＧ１８．１遺伝子座中に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物のエクソン中に存在する連続した伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分に少なくとも部分的に相補的であり、かつそれとハイブリダイズし得るヌクレオチド配列を含む。

【００４３】

複数の実施形態では、ＡＣは、５以上、１０以上、１５以上、２０以上、２５以上、３０以上、３５以上、４０以上、又は４５以上の核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、５０以下、４５以下、４０以下、３５以下、３０以下、２５以下、２０以下、１５以下、又は１０以下の核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、５～５０、５～４５、５～４０、５～３５、５～３０、５～２５、５～２０、５～１５、又は５～１０核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、１０～５０、１０～４５、１０～４０、１０～３５、１０～３０、１０～２５、１０～２０、又は１０～１５核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、１５～５０、１５～４５、１５～４０、１５～３５、１５～３０、１５～２５、又は１５～２０核酸長である。複数の複数の実施形態では、ＡＣは、２０～５０、２０～４５、２０～４０、２０～３５、２０～３０、又は２０～２５核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、２５～５０、２５～４５、２５～４０、２５～３５、又は２５～３０核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、３０～５０、３０～４５、３０～４０、又は３０～３５核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、３５～５０、３５～４５、又は３５～４０核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、４０～５０又は４０～４５核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、４５～５０核酸長である。複数の実施形態では、ＡＣは、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、又は５０核酸長である。

【００４４】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して１００％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して１００％の相補性を有しない。本明細書で使用される場合、「相補性パーセント」という用語は、ＡＣの全長（核酸塩基数）で割った、オリゴマー化合物又は核酸（例えば、標的ヌクレオチド配列）の対応する核酸塩基と核酸塩基相補性を有するＡＣの核酸塩基数（例えば、天然核酸塩基又は修飾核酸塩基）を指す。当業者であれば、アンチセンス化合物の活性を排除することなくミスマッチの包含が可能であることを認識する。

【００４５】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して、２０％以下、１５％以下、１０％以下、５％以下、又は０％のミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、ＡＣは、５％以上、１０％以上、又は１５％以上のミスマッチを含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して０～５％、０～１０％、０～１５％、又は０～２０％のミスマッチを含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して５％～１０％、５％～１５％、又は５％～２０％のミスマッチを含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して１０％～１５％又は１０％～２０％のミスマッチを含む。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して１０％～２０％のミスマッチを含む。

【００４６】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して８０％以上、８５％以上、９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して１００％以下、９９％以下、９８％以下、９７％以下、９６％以下、９５％以下、９０％以下、８５％以下の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して８０％～１００％、８０％～９９％、８０％～９８％、８０％～９７％、８０％～９６％、８０％～９５％、８０％～９０％、又は８０％～８５％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して８５％～１００％、８５％～９９％、８５％～９８％、８５％～９７％、８５％～９６％、８５％～９５％、又は８５％～９０％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して９０％～１００％、９０％～９９％、９０％～９８％、９０％～９７％、９０％～９６％、又は９０％～９５％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して９５％～１００％、９５％～９９％、９５％～９８％、９５％～９７％、又は９５％～９６％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して９６％～１００％、９６％～９９％、９６％～９８％、又は９６％～９７％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して９７％～１００％、９７％～９９％、又は９７％～９８％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して９８％～１００％又は９８％～９９％の相補性を有する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的ヌクレオチド配列に対して９９％～１００％の相補性を有する。

【００４７】

複数の実施形態では、ヌクレオチド親和性修飾の組み込みにより、非修飾化合物と比較してより多くのミスマッチが可能になる。同様に、ある特定のオリゴヌクレオチド配列は、他のオリゴヌクレオチド配列よりもミスマッチに対して耐性を示し得る。当業者であれば、例えば、熱融解温度（Ｔｍ）を決定することによって、ＡＣと標的ヌクレオチド配列との間の適切な数のミスマッチを決定することができる。Ｔｍ又はΔＴｍは、当業者によく知られている技法によって計算することができる。例えば、Ｆｒｅｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１９９７，２５，２２：４４２９－４４４３）に記載の技法により、当業者がＲＮＡ：ＤＮＡ二本鎖の融解温度を増加させる能力についてヌクレオチド修飾を評価することが可能になる。

【００４８】

複数の実施形態では、ＡＣは、ヌクレオチド配列であって、それ自体がトリヌクレオチ

ドリピート、すなわち、ＣＡＧトリヌクレオチドリピートである、ヌクレオチド配列を含む。５’－ＣＡＧ－３’の逆相補体は、１００％の相補性を有し、５’－ＣＵＧ－３’トリヌクレオチドリピートとハイブリダイズし得る。複数の実施形態では、ＡＣは、１～５０個のＣＡＧリピートを含む。複数の実施形態では、ＣＡＧリピートは連続している。複数の実施形態では、ＣＡＧリピートは連続していない。複数の実施形態では、ＡＣは、５’末端又は３’末端のいずれかに不完全なＣＡＧリピートを含むヌクレオチド配列を含む。例えば、複数の実施形態では、ＡＣは、ＡＧ（ＣＡＧ）$_n$、Ｇ（ＣＡＧ）$_n$、（ＣＡＧ）$_n$ＡＧ、又は（ＣＡＧ）$_n$Ａなどの配列を含み、式中、ｎが１～５０の整数である。複数の実施形態では、ＡＣは、１個以上、２個以上、３個以上、４個以上、５個以上、６個以上、７個以上、８個以上、９個以上、１０個以上、２０個以上、３０個以上、又は５０個以上のＣＡＧリピートを含むヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、５０個以下、４０個以下、３０個以下、２０個以下、１０個以下、９個以下、８個以下、７個以下、６個以下、５個以下、４個以下、３個以下、又は２個以下のＣＡＧリピートを含むヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、２～５０個、２～２０個、２～１０個、４～１０個、５～１０個、６～１０個、６～９個、６～８個、又は６～７個のＣＡＧリピートを含むヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、ＡＣは、表２のヌクレオチド配列（配列番号１５１～２９１）のうちのいずれか１つを含む。

【表２－１】

*表２：*ＣＡＧリピートＡＣヌクレオチド配列

AC 配列(5'から 3')	**配列番号**
CAG	該当なし
CAG-CAG	該当なし
CAG-CAG-CAG	該当なし
CAG-CAG-CAG-CAG	151
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	152
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	153
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	154
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	155
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	156
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	157
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	158
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	159
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	160
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	161
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	162
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	163
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	164
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	165
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	166
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	167
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	168
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	169
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	170
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	171
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	172
CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG-CAG	173

【表２－２】

CAG-CAG-CAG-

【表２－３】

CAG-CAG-CAG-

【表２－４】

AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	208
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	209
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	210
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	211
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	212
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	213
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	214
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	215
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	216
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	217
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	218
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	219
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	220
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	221
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	222
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	223
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	224
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	225
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	226
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	227
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	228

【表２－５】

AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGC	229
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGC	230
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGC	231
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	232
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	233
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	234
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	235
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	236
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	237
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	238
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	239
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC	240
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGC	241
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGC	242
AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGC	243

【表２－６】

AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGC	244
GCA	該当なし
GCAGCA	該当なし
GCAGCAGCA	該当なし
GCAGCAGCAGCA	245
GCAGCAGCAGCAGCA	246
GCAGCAGCAGCAGCAGCA	247
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	248
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	249
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	250
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	251
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	252
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	253
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	254
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	255
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	256
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CA	257
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCA	258
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCA	259
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCA	260
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCA	261
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCA	262
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	263
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	264
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	265
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	266
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	267
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	268

【表２－７】

GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	269
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	270
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	271
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC A	272
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCA	273
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCA	274
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCA	275
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCA	276
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCA	277
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCA	278
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	279
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	280
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	281
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	282
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	283
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	284
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	285

【表２－８】

GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	286
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA	287
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCA	288
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCA	289
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCA	290
GCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA GCAGCAGCA	291

【００４９】

複数の実施形態では、ＣＡＧリピートを含むヌクレオチドを有するＡＣは、ＣＡＧリピートの５’末端、３’末端、又はそれらの両方に追加のヌクレオチド配列を含み得る。複数の実施形態では、追加のヌクレオチド配列は、それらがハイブリダイズする標的転写物の部分に対して８０％～１００％又は９５％～１００％の相補性を有し得る。追加のヌクレオチド配列をＣＡＧリピートヌクレオチド配列に付加して、ＡＣの選択性を増加させて特定の標的転写物にハイブリダイズすることができる。

【００５０】

複数の実施形態では、ＡＣは、１～５０個のＣＡＧリピートを含み、かつギャップマーであるヌクレオチド配列を含む。ギャップマーは、ＤＮＡ／ＲＮＡハイブリッドであり、かつＲＮａｓｅ崩壊機構を誘導するオリゴヌクレオチドである。例えば、ギャップマーは、ＤＮＡ又はＤＮＡ模倣セグメントの５’末端及び３’末端の両方上のＲＮＡ又はＲＮＡ模倣物セグメントに隣接している中央ＤＮＡ又はＤＮＡ模倣物セグメントを有し得る。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の伸長ＣＵＧリピートとは別個の標的転写物の標的核酸配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含むギャップマーを含む。

【００５１】

複数の実施形態では、本開示のＡＣは、米国特許第９，５５０，９８８号に開示されるギャップマーオリゴヌクレオチドであり、この開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【００５２】

複数の実施形態では、本開示のＡＣは、米国特許公開第２０１７／０２６０５２４号に開示されるＤＭＰＫを標的とするＡＣのうちのいずれか１つの配列及び／又は構造を含み、この開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【００５３】

複数の実施形態では、本開示のＡＣは、米国特許公開第２００３／０２３５８４５　Ａ

１号、同第２００６／００９９６１６　Ａ１号、同第２０１３／００７２６７１　Ａ１号、同第２０１４／０２７５２１２　Ａ１号、同第２００９／０３１２５３２　Ａ１号、同第２０１０／０１２５０９９　Ａ１号、同第２０１０／０１２５０９９　Ａ１号、同第２００９／０２６９７５５　Ａ１号、同第２０１１／０２９４７５３　Ａ１号、同第２０１２／００２２１３４　Ａ１号、同第２０１１／０２６３６８２　Ａ１号、同第２０１４／０１２８５９２　Ａ１号、同第２０１５／００７３０３７　Ａ１号、及び同第２０１２／００５９０４２　Ａ１号に開示されるＡＣ又はオリゴヌクレオチドのうちのいずれか１つの配列及び／又は構造を含み、これらの各々の内容は全ての目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【００５４】

ＡＣを使用して伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートを標的とする及び／又はハイブリダイズする場合、ＡＣがＣＴＧ・ＣＵＧリピートを含むオフターゲット転写物（例えば、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートではないＣＴＧ・ＣＵＧリピートを含む転写物）に意図せずに結合するオフターゲット効果を避けるために注意を払う必要がある。ヒトゲノムのインシリコ分析により、合計６３個のヒト遺伝子がＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有することが明らかになる（Ｕｈｌｅｎ，ｅｔ．ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２０１５　３４７（６２２０）：１２６０４１９））。これらの６３個の遺伝子は、ｍＲＮＡの発現と、総筋肉（心臓、骨格、及び平滑筋）で発現されるタンパク質の量とによってランク付けすることができる。発現レベルは、ＲＰＭ（１００万当たりのリード）を使用して定量することができ、ｍＲＮＡ発現は、ＦＰＫＭ（マッピングされた断片１００万個当たりの転写物１キロベース当たりの断片）であり、タンパク質発現は、ｐＴＰＭ（タンパク質コード遺伝子１００万個当たりの転写物）であり、１０ＲＰＭ超を有意ではない発現のカットオフとして使用する。図４３は、かかるインシリコ分析の結果を示す。３６個の遺伝子は、１０ＲＰＭ超の発現レベルを示す。これらの３６個の遺伝子のうち、３個の遺伝子（ＤＭＰＫを除く）のみが１０個超のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有した。≦１０個のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有する遺伝子は、オフターゲット結合及び毒性のリスクが最も低いことを表す。それにもかかわらず、これらの３つの遺伝子（ＴＣＦ４、ＣＡＳＫ、ＭＡＰ３ｋ４）中のＣＴＧ・ＣＵＧリピートの数（１１～２４）は、古典的先天性ＤＭ１患者に見られる数よりも有意に少ない。例えば、遅発性ＤＭ１患者は、ＤＭＰＫに１００～６００個のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有し、古典的ＤＭ１患者は、ＤＭＰＫに２５０～７５０個のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有し、先天性ＤＭ１患者は、ＤＭＰＫに７５０～１，４００個のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有する。肝臓及び腎臓に対して同じインシリコ分析を行うことができる。ＣＡＳＫは、腎臓に１０個超のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有する唯一の有意な遺伝子である。肝臓では、１０個超のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有する遺伝子は有意ではなかった。

【００５５】

本明細書に記載のＡＣは、１つ以上の非対称中心を含み、それ故に、絶対立体化学の観点から、（Ｒ）若しくは（Ｓ）としてα又はβ（Ｄ）若しくは（Ｌ）として定義され得る、エナンチオマー、ジアステレオマー、及び他の立体異性体配置を引き起こし得る。本明細書に提供されるアンチセンス化合物には、かかる全ての可能な異性体、並びにそれらのラセミ形態及び光学的に純粋な形態が含まれる。

【００５６】

ＡＣの有効性は、それらの投与によってもたらされるアンチセンス活性を評価することによって評価され得る。本明細書で使用される場合、「アンチセンス活性」という用語は、アンチセンス化合物のその標的ヌクレオチド配列へのハイブリダイゼーションに起因する任意の検出可能な及び／又は測定可能な活性を指す。かかる検出及び／又は測定は、直接であっても間接的であってもよい。複数の実施形態では、アンチセンス活性は、目的とする転写物から発現されたタンパク質の量を検出及び／又は測定することによって評価される。複数の実施形態では、アンチセンス活性は、目的とする転写物の量を検出及び／又は測定することによって評価される。複数の実施形態では、アンチセンス活性は、選択的にスプライシングされたＲＮＡの量及び／又は標的転写物から翻訳されたタンパク質アイ

ソフォームの量を検出及び／又は測定することによって評価される。
【００５７】
ＡＣ調節機構
複数の実施形態では、ＡＣは、細胞内の標的転写物の活性及び／又はレベルを調節し得る。図１は、ＡＣがどのように標的転写物のレベル及び／又は活性を調節するかの例示的な機構を示す。
【００５８】
複数の実施形態では、ＡＣは、細胞内の標的転写物のレベルを調節し得る。例えば、ＡＣがギャンパーである複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物への結合により、ＲＮａｓｅ　Ｈ経路を介した標的転写物の分解が誘導される（図１、矢印Ａ及び矢印Ｂ）。複数の実施形態では、ギャップマーは、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートとは異なる標的転写物の一部分にハイブリダイズし、それにより、ＲＮａｓｅ　Ｈ経路を介した標的転写物の分解が誘導される（図１、矢印Ａ）。複数の実施形態では、ギャップマーは、標的転写物中内の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分にハイブリダイズし、それにより、ＲＮａｓｅ　Ｈ経路を介した標的転写物の分解が誘導される（図１、矢印Ｂ）。
【００５９】
複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の活性を調節し得る。活性の調節には、結合パートナーに結合する標的転写物の能力を向上させる又は低下させることが含まれ得る。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物と会合し得る１つ以上のタンパク質、具体的には、標的転写物の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分と会合するタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることによって標的転写物の活性を調節し得る（図１、矢印Ｃ）。複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることは、１つ以上のタンパク質に対する標的転写物の親和性を低下させることを含む。複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることは、標的転写物の１つ以上のタンパク質への結合からの部分的又は完全な立体遮断を含む。例えば、ＡＣは、立体的に遮断されていない場合、１つ以上のタンパク質によって占有され得る結合部位の少なくとも一部分を占有し得る。複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質の標的転写物への結合部位は、標的転写物の伸長トリヌクレオチドリピートの少なくとも一部分を含む。したがって、複数の実施形態では、ＡＣは、立体的に遮断されていない場合、１つ以上のタンパク質によって占有され得る伸長トリヌクレオチドリピート（例えば、伸長ＣＵＧリピート）の少なくとも一部分を占有し得る。標的転写物の部分的立体遮断により、標的転写物と１つ以上のタンパク質との間の親和性の減少がもたらされ得る。例えば、複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に結合し、それにより、伸長ＣＵＧリピートに結合し得るタンパク質の標的転写物が立体的に遮断される及び／又はそのタンパク質に対する親和性が減少する（図１、矢印Ｃ）。以下の総説は、立体遮断アンチセンスオリゴヌクレオチドについての追加の用途を説明しており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。Ｒｏｂｅｒｔｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（２０２０）１９：６７３－６９４。
【００６０】
伸長ＣＵＧリピートのＣＵＧリピートは、二本鎖ヘアピン構造を形成し得る。病態では、タンパク質がこの二本鎖ヘアピン構造に結合して捕捉され、他の機能を果たすことができなくなる。複数の実施形態では、ＡＣは、二本鎖ヘアピン構造の少なくとも一部分に結合し、それにより、タンパク質結合パートナーの二本鎖ヘアピン構造が立体的に遮断される及び／又はタンパク質結合パートナーに対する二本鎖ヘアピン構造の親和性が減少する。複数の実施形態では、ＡＣは、一本鎖伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に結合し、それにより、二本鎖ヘアピン構造の形成を阻害し、それ故に、１つ以上のタンパク質が二本鎖ヘアピン構造に結合することを阻害する。複数の実施形態では、ＡＣの二重ヘアピン構造へのハイブリダイゼーションにより、二重ヘアピン構造への結合が立体的に遮断される及び／又は二重ヘアピン構造に結合する１つ以上のタンパク質に対する親和性が減少

する。複数の実施形態では、ＡＣの伸長トリヌクレオチドリピートの一本鎖領域の少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、二本鎖ヘアピン構造の形成が阻害される。

【００６１】

１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることにより、１つ以上のタンパク質が、例えば、下流転写物（伸長ＣＵＧリピートを含まない転写物）のスプライシング調節などの他の機能を実行することが可能になり得る。したがって、複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることにより、他の転写物に他の機能（複数可）を提供するのに利用可能な細胞内の１つ以上のタンパク質のレベルが増加し得る。複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることにより、他の転写物に他の機能（複数可）を提供するのに利用可能な細胞内の１つ以上のタンパク質の細胞質レベルが増加し得る。したがって、複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物への結合により、標的転写物と相互作用する１つ以上のタンパク質のレベル及び／又は活性の調節がもたらされ得る。

【００６２】

複数の実施形態では、ＡＣの伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、標的転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少する及び／又はＭＮＢＬ１の標的転写物への結合が立体的に遮断される。ＭＮＢＬ１は、下流遺伝子転写物のスプライシングを調節するスプライシング因子である。ＤＭ１疾患表現型では、ＭＮＢＬ１は、標的転写物の伸長ＣＵＧリピートに結合する。標的転写物に結合しているが、ＭＮＢＬ１は核内で捕捉され、下流遺伝子転写物（伸長ＣＵＧリピートを含まない転写物）のスプライシングを調節することができない。複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１の標的転写物が立体的に遮断され及び／又は標的転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少し、それにより、下流遺伝子転写物のスプライシングを調節することが可能になる。複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１の標的転写物が立体的に遮断され及び／又は標的転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少し、それにより、遊離（例えば、ＣＵＧリピートを有する転写物に結合していない）ＭＮＢＬ１の量が増加する。複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１の標的転写物が立体的に遮断され及び／又は標的転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少し、それにより、標的転写物に結合してそれによって捕捉されるＭＢＮＬ１の量が減少する。

【００６３】

標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、標的転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少する及び／又はＭＮＢＬ１の標的転写物への結合が立体的に遮断される。ＭＮＢＬ１は、下流遺伝子転写物のスプライシングを調節するスプライシング因子である。ＤＭ１疾患表現型では、ＭＮＢＬ１は、ＤＭＰＫ１の伸長ＣＵＧリピートに結合する。ＤＭＰＫ１に結合しているが、ＭＮＢＬ１は核内で捕捉され、下流遺伝子転写物（伸長ＣＵＧリピートを含まない転写物）のスプライシングを調節することができない。複数の実施形態では、ＡＣのＤＭＰＫ中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１のＤＭＰＫ転写物が立体的に遮断され及び／又はＤＭＰＫ転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少し、それにより、下流遺伝子転写物のスプライシングを調節することが可能になる。複数の実施形態では、ＡＣのＤＭＰＫ中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１のＤＭＰＫ転写物が立体的に遮断され及び／又はＤＭＰＫ転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少し、それにより、遊離（例えば、ＣＵＧリピートを有する転写物に結合していない）ＭＮＢＬ１の量が増加する。複数の実施形態では、ＡＣのＤＭＰＫ中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１のＤＭＰＫ転写物が立体的

に遮断され及び／又はＤＭＰＫ転写物に対するＭＮＢＬ１の親和性が減少し、それにより、ＤＭＰＫ１転写物に結合してそれによって捕捉されるＭＢＮＬ１の量が減少する。

【００６４】

標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、ＣＵＧＢＰ１レベルの低下がもたらされる。ＤＭ１病態では、遊離（機能することができる）ＭＢＮＬ１レベルが減少し、遊離（機能することができる）ＣＵＧＢＰ１レベルが増加する。ＣＵＧＢＰ１レベルの増加は、その病態に関連している。したがって、複数の実施形態では、ＡＣの伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分へのハイブリダイゼーションにより、遊離（機能することができる）ＭＢＮＬ１レベルの増加及び／又は遊離（機能することができる）ＣＵＧＢＰ１レベルの減少がもたらされる。

【００６５】

１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることにより、ＣＵＧリピート病巣の形成が軽減又は阻害され得る。伸長ヌクレオチドリピート（例えば、伸長ＣＵＧリピート）を含む転写物が転写され、その後、核内で捕捉され得る。核内で、捕捉された転写物は凝集体を形成し得る。その後、転写物に結合するタンパク質は、配列決定された転写物上で核形成し及び／又は転写物凝集体を捕捉し、それにより、伸長ヌクレオチドリピート（例えば、ＣＵＧリピート）病巣が形成され得る。ＣＵＧリピート病巣は、顕微鏡を使用して可視であり得る。複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることにより、標的転写物を含む凝集体の形成が軽減又は阻害され得る。複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることにより、標的転写物上、転写物の二本鎖ヘアピン領域上、又は標的転写物の凝集体上でのそれらの１つ以上のタンパク質の核形成が軽減又は阻害され得る。標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＭＮＢＬ１に結合するＤＭＰＫ１標的転写物の能力を低下させることにより、ＤＭＰＫ１標的転写物又はＤＭＰＫ１標的転写物凝集体上でのＭＮＢＬ１の核形成が軽減又は阻害され得る。複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、ＣＵＧリピート核病巣の形成の阻害又は軽減がもたらされ得る。複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、ＤＭＰＫ、ＴＣＦ４、ＪＰＨ３、及び／又はＡＴＸＮ８ＯＳ／ＡＴＸＮ８標的転写物から形成されるＣＵＧリピート核病巣の形成の阻害又は軽減がもたらされ得る。

【００６６】

複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、１つ以上の下流遺伝子のレベル、発現、及び／又は活性の調節がもたらされ得る。例えば、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションを使用して、標的転写物の分解を誘導するか、又は１つ以上のタンパク質の標的転写物を立体的に遮断する若しくは１つ以上のタンパク質に対する標的転写物の親和性を減少させ、それにより、標的転写物によって捕捉された１つ以上のタンパク質が、下流遺伝子の発現、レベル、及び／又は活性を調節することが可能になり得る。例えば、複数の実施形態では、１つ以上のタンパク質は、１つ以上の下流転写物（伸長ＣＵＧリピートを含まない転写物）のスプライシングの調節に関与するタンパク質を含み得る。複数の実施形態では、下流転写物のスプライシングは、スプライシングに関与するタンパク質が標的転写物に結合して捕捉されたときに改変される。例えば、スプライシングの改変は、転写物中の１つ以上のエクソンの排除又は１つ以上のイントロンの包含を含み、それにより、様々なタンパク質アイソフォームの発現がもたらされ得る。複数の実施形態では、スプライシングの改変により、未成熟終止コドンを含むエクソン及び／又はイントロンの包含がもたらされ、それにより、活性を有し得ない又は有害な活性を有し得る切断アイソフォームがもたらされ得る。下流遺伝子転写物スプライシングの改変により、疾患表現型に関連し得る下流遺伝子産物のレベル、折り畳み、及び／又は活性の変化がもたらされ得る。伸長ＣＵＧリピートを含む標的転写物に結合していない場合、スプライシングに関与するタンパク質は、スプライシングを自由に調節することができ、これにより、下流遺伝子転写物のスプライシングの補正（又はレスキュー）がもたらさ

れ、それにより、健常な表現型に関連する下流遺伝子産物のタンパク質レベル、折り畳み、及び／又は活性が少なくとも部分的に回復し得る。

【００６７】

複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、伸長ヌクレオチドリピート（例えば、伸長トリヌクレオチドリピート）に関連する病態時に標的転写物によって捕捉されたタンパク質によって調節される下流遺伝子転写物のスプライシングの調節がもたらされ得る。伸長トリヌクレオチドリピートに関連する疾患では、下流遺伝子転写物は、多くの場合、ミスプロセシングされる、例えば、ミススプライシングされる。下流遺伝子転写物のミススプライシングリードにより、翻訳前に破壊されるか、又は異常な構造及び／若しくは機能を有するタンパク質に翻訳される遺伝子産物がもたらされ得る。例えば、下流遺伝子転写物のプロセシングを調節するタンパク質の捕捉により、未成熟終止コドンを有するエクソン及び／若しくはイントロンの包含、イントロンの包含、エクソンの排除、並びに／又は選択的エクソンの包含がもたらされ得、これにより、翻訳前に破壊されるか、又は異常な機能を有する遺伝子産物に翻訳される転写物及び／又は遺伝子産物がもたらされ得る。下流遺伝子転写物及び／若しくは遺伝子産物のレベル並びに／又は下流遺伝子産物の異常な構造及び／若しくは機能の変化は、伸長トリヌクレオチド疾患表現型に関連している。複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、スプライシングが病態中に標的転写物に捕捉されるタンパク質によって調節される下流転写物中のエクソン包含、エクソン排除、イントロン包含、及び／又はイントロン排除の調節がもたらされ得る。したがって、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、健常な表現型に関連する下流タンパク質異性体及び／又は転写物の上方制御がもたらされ得る。同様に、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、疾患表現型に関連する下流転写物及び／又はタンパク質異性体の下方制御（例えば、抑制）がもたらされ得る。

【００６８】

標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、病態中にＤＭＰＫ標的転写物によって捕捉されたタンパク質によって調節される下流遺伝子転写物のスプライシングの調節がもたらされ得る。ＤＭ１では、いくつかの下流遺伝子転写物にミススプライシングがもたらされる。ミススプライシングされた遺伝子は、疾患表現型に関連している。したがって、遺伝子スプライシングの調節は、遺伝子のスプライシングを補正（例えば、レスキュー）して、健常な表現型に関連する下流遺伝子の遺伝子産物をもたらすことを含み得る。標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、病態中にＤＭＰＫ標的転写物によって捕捉されたスプライシング調節因子であるＭＮＢＬ１によって調節される下流遺伝子転写物のスプライシングの調節がもたらされ得る。標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、活性が伸長ＣＵＧリピートの影響を受けるタンパク質であるＣＵＧＢＰ１によって調節される下流遺伝子転写物のスプライシングの調節がもたらされ得る。標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、ＭＮＢＬ１及び／又はＣＵＧＢＰ１によって調節される下流遺伝子の正しいプロセシング（例えば、スプライシング）がもたらされ得る。標的転写物がＤＭＰＫである複数の実施形態では、ＡＣの標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、４８３３４３９Ｌ１９Ｒｉｋ、Ａｂｃｃ９、Ａｔｐ２ａ１、Ａｒｈｇｅｆ１０、Ａｒｈｇａｐ２８、Ａｒｍｃｘ６、Ａｎｇｅｌ１、Ｂｅｓｔ３、Ｂｉｎ１、Ｂｒｄ２、Ｃａｃｎａ１ｓ、Ｃａｃｎａ２ｄ１、Ｃｐｄ、Ｃｐｅｂ３、Ｃｃｐｇ１、Ｃｌａｓｐ１、ＣｌＣ－１、Ｃｌｃｎ１、Ｃｌｋ４、Ｃｐｅｂ２、Ｃａｍｋ２ｇ、Ｃａｐｚｂ、Ｃｏｐｚ２、Ｃｏｃｈ、ｃＴＮＴ、Ｃｔｕ２、Ｃｙｐ２ｓ１、Ｄｃｔｎ４、Ｄｎｍ１ｌ、Ｅｙａ４、Ｅｆｎａ３、Ｅｆｎａ２、Ｆｂｘｏ３１、Ｆｂｘｏ２１、Ｆｒｅｍ２、Ｆｇｄ４、Ｆｕｃａ１、Ｆｎ１、Ｇｏｇｌａ４、Ｇｐｒ３７ｌ１、Ｇｒｅｂ１、Ｈｅｇ１、Ｉｎｓｒ、Ｉｍｐｄｈ２、ＩＲ、Ｉｔｇａｖ、Ｊａｇ２、Ｋｌｃ１、Ｋｃａｎ６、Ｋｉｆ１３ａ、Ｌｄｂ３、Ｌｒｒｆｉｐ２、Ｍａｐｔ、Ｍａｃ

ｆ１、Ｍａｐ３ｋ４、Ｍａｐｋａｐ１、Ｍｂｎｌ１、Ｍｌｌｔ３、Ｍｂｎｌ２、Ｍｅｆ２ｃ、Ｍｐｄｚ、Ｍｒｐｌ１、Ｍｘｒａ７、Ｍｙｂｐｃ１、Ｍｙｏ９ａ、Ｎｃａｐｄ３、Ｎｇｆｒ、Ｎｄｒｇ３、Ｎｄｕｆｖ３、Ｎｅｂ、Ｎｆｉｘ、Ｎｕｍａ１、Ｏｐａ１、Ｐａｃｓｉｎ２、Ｐｃｏｌｃｅ、Ｐｄｌｉｍ３、Ｐｌａ２ｇ１５、Ｐｈａｃｔｒ４、Ｐｈｋａ１、Ｐｈｔｆ２、Ｐｐｐ１ｒ１２ｂ、Ｐｐｐ３ｃｃ、Ｐｐｐ１ｃｃ、Ｒａｍｐ２、Ｒａｐｇｅｆ１、Ｒｕｒ１、Ｒｙｒ１、Ｓｏｒｃｓ２、Ｓｐｓｂ４、Ｓｃｕｂｅ２、Ｓｅｍａ６ｃ、Ｓｆｃ８ａ３、Ｓｌａｉｎ２、Ｓｏｒｂｓ１、Ｓｐａｇ９、Ｔｍｅｍ２８、Ｔａｃｃ１、Ｔａｃｃ２、Ｔｔｃ７、Ｔｎｉｋ、Ｔｎｆｒｓｆ２２、Ｔｎｆｒｓｆ２５、Ｔｒａｐｐｃ９、Ｔｒｉｍ５５、Ｔｔｎ、Ｔｘｎｌ４ａ、Ｔｘｌｎｂ、Ｕｂｅ２ｄ３、Ｖｓｐ３９、又はそれらの任意の組み合わせを含むが、これらに限定されない下流遺伝子のスプライシングの調節がもたらされ得る。

【００６９】

上述の下流遺伝子転写物のうちの多くのミススプライシングにより、特定のＤＭ１疾患表現型がもたらされる。例えば、ＭＮＢＬ１は、エクソン５包含に起因してＤＭ１の機能喪失を伴うスプライシング因子である。ＭＮＢＬ１は、ＤＭＰＫ　ＣＵＧ伸長によって捕捉され、ＲＮＡ核病巣を形成する。加えて、ＳＯＳ１は、Ｒａｓ活性化を促進して、ＲＡＳ／ＭＡＰＫシグナル伝達経路を正に調節する。ＤＭ１では、ＳＯＳ１のエクソン２５が排除され、筋肥大経路の阻害につながる。ＤＭ１では、ＩＲ／ＩＮＳＲはエクソン１１排除を有し、これにより、ＤＭ１における低シグナル伝達非筋肉アイソフォームのレベルが上昇し、インスリンに対する代謝応答が低下する（インスリン抵抗性）。同様に、ＤＭＤのエクソン７８排除がＤＭで観察される。エクソン７８排除により、Ｃ末端ドメインでアウトオブフレーム転写物がもたらされる。この変異タンパク質はＤＭ１患者において発現され、患者における筋肉消耗に関与する機構に関連している。ＢＩＮ１は、適切な筋Ｔ管形成（ＥＣカップリング）に必要である。エクソン１１排除により不活性アイソフォームがもたらされ、ＤＭ１患者に見られる。ＬＤＢ３は横紋筋のＺ帯でα－アクチニンと相互作用し、筋肉構造を維持する。ＤＭ１で検出されたＬＤＢ３のエクソン１１包含により、タンパク質キナーゼＣ（ＰＫＣ）に対する親和性の低下がもたらされる。結果として、ＰＫＣがＤＭ１で過活性になる。複数の実施形態では、１つ以上の下流遺伝子の調節により、健常な表現型に関連する転写スプライシングの補正又はレスキューがもたらされる。したがって、複数の実施形態では、ＡＣのＤＭＰＫ標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、下流遺伝子／転写物のミススプライシングのレスキューがもたらされ、それにより、疾患表現型に関連する下流遺伝子／転写物のレベルが低下する。したがって、複数の実施形態では、ＡＣのＤＭＰＫ標的転写物へのハイブリダイゼーションにより、下流遺伝子／転写物のミススプライシングのレスキューがもたらされ、それにより、健常な表現型に関連する下流遺伝子／転写物のレベルが増加する。

【００７０】

複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の発現を阻害する。複数の実施形態では、ＡＣは、プレｍＲＮＡプロセシング機構及び／又は翻訳機構が翻訳及び／又はプレｍＲＮＡプロセシングにアクセスすること及び／又はそれを完了することを遮断することによって、標的転写物の発現を阻害する。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の分解を、例えば、ＲＮａｓｅ　Ｈ経路を介して誘導することによって、標的転写物の発現を阻害する。

【００７１】

ＡＣ構造

ＡＣは、オリゴヌクレオチド及び／又はオリゴヌクレオシドを含む。オリゴヌクレオチド及び／又はオリゴヌクレオシドは、ヌクレオシド間結合を介して連結されたヌクレオチド又はヌクレオシドである。ヌクレオシドは、ペントース糖（例えば、リボース又はデオキシリボース）及び糖に共有結合した窒素塩基を含む。ＤＮＡ及び／又はＲＮＡに見られる天然に存在する（又は伝統的なバッセス）塩基は、アデニン（Ａ）、グアニン（Ｇ）、チミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）、及びウラシル（Ｕ）である。ＤＮＡ及び／又はＲＮＡデオキシリボース（ＤＮＡ）及びリボース（ＲＮＡ）に見られる天然に存在する糖（又は伝

統的な糖）。天然に存在するヌクレオシド結合（又は伝統的なヌクレオシド間結合）は、ホスホジエステル結合である。複数の実施形態では、本開示のＡＣは、全ての天然糖、塩基、及びヌクレオシド間結合を有し得る。

【００７２】

化学修飾ヌクレオシドは、ヌクレアーゼ耐性、薬物動態、又は標的ＲＮＡに対する親和性などの１つ以上の特性を増強するためにアンチセンス化合物への組み込みに日常的に使用されている。複数の実施形態では、本開示のＡＣは、１つ以上の修飾ヌクレオシドを有し得る。複数の実施形態では、本開示のＡＣは、１つ以上の修飾糖を有し得る。複数の実施形態では、本開示のＡＣは、１つ以上の修飾塩基を有し得る。複数の実施形態では、本開示のＡＣは、１つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を有し得る。

【００７３】

一般に、核酸塩基は、別の核酸の塩基に水素結合することができる１個以上の原子又は原子群を含む任意の基である。「非修飾」核酸塩基又は「天然」核酸塩基（Ａ、Ｇ、Ｔ、Ｃ、及びＵ）に加えて、多くの修飾核酸塩基又は核酸塩基模倣物が当業者に知られており、本明細書に記載の化合物に適している。一般に、修飾核酸塩基は、例えば、７－デアザプリン、５－メチルシトシン、２－チオ－ｄＴ（図２）、又はＧ－クランプなどの親核酸塩基と構造がかなり類似している核酸塩基を指す。一般に、核酸塩基模倣物は、例えば三環式フェノキサジン核酸塩基模倣物などの修飾核酸塩基よりも複雑な構造を含む核酸塩基である。上述の修飾核酸塩基を調製するための方法は、当業者に周知である。

【００７４】

複数の実施形態では、ＡＣは、修飾糖部分を有する１つ以上のヌクレオシドを含み得る。複数の実施形態では、天然ヌクレオシドのフラノシル糖は、２’修飾、拘束ヌクレオシドを作製するための修飾などを有し得る（図２を参照されたい）。例えば、複数の実施形態では、天然ヌクレオシドのフラノシル糖環は、置換基の付加、二環式核酸（ＢＮＡ）若しくはロックド核酸を形成するための２個の非ジェミナル環原子の架橋、フラノシル環の酸素のＣ又はＮとの交換、及び／又は原子若しくは基の置換を含むが、これらに限定されない、いくつかの方法で修飾することができる（図２を参照されたい）。修飾糖は周知であり、その標的ヌクレオチド配列に対するＡＣの親和性を増加又は減少させるために使用することができる。修飾糖は、ヌクレアーゼに対するＡＣ耐性を増加させるために使用することもできる。糖は、とりわけ、糖模倣基で置き換えることもできる。複数の実施形態では、ＡＣのヌクレオシドの１つ以上の糖は、図２の１９に示されるように、メチレンモルホリン環で置き換えられる。

【００７５】

複数の実施形態では、ＡＣは、二環式修飾糖（ＢＮＡ、架橋核酸とも呼ばれる）を含む１つ以上のヌクレオシドを含む。ＢＮＡの例としては、ＬＮＡ（４’－（CH_2）－Ｏ－２’架橋）、２’－チオ－ＬＮＡ（４’－（CH_2）－Ｓ－２’架橋）、２’－アミノ－ＬＮＡ（４’－（CH_2）－ＮＲ－２’架橋）、ＥＮＡ（４’－（CH_2）$_2$－Ｏ－２’架橋）、４’－（CH_2）$_3$－２’架橋ＢＮＡ、４’－（CH_2）$_2$ＣＨ（CH_3）－２’架橋ＢＮＡ”　ｃＥｔ（４’－（ＣＨ（CH_3）－Ｏ－２’架橋）、及びｃＭＯＥ　ＢＮＡ（４’－（ＣＨ（CH_2OCH_3）－Ｏ－２’架橋）が挙げられるが、これらに限定されない。ＢＮＡが調製されており、特許文献並びに科学文献に記載されている（Ｓｒｉｖａｓｔａｖａ，ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．（２００７），ＡＣＳオンライン先行発表，１０．１０２１／ｊａ０７１１０６ｙ、Ａｌｂａｅｋ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．（２００６），７１，７７３１－７７４０、Ｆｌｕｉｔｅｒ，ｅｔ　ａｌ．Ｃｈｅｍｂｉｏｃｈｅｍ（２００５），６，１１０４－１１０９、Ｓｉｎｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．（１９９８），４，４５５－４５６、Ｋｏｓｈｋｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ（１９９８），５４，３６０７－３６３０、Ｗａｈｌｅｓｔｅｄｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．（２０００），９７，５６３３－５６３８、Ｋｕｍａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．（１９９８），８，２２１９－２２２２、ＷＯ９４／１４２２６、ＷＯ２０

０５／０２１５７０、Ｓｉｎｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．（１９９８），６３，１００３５－１００３９、ＷＯ２００７／０９００７１、米国特許第７，０５３，２０７号、同第６，２６８，４９０号、同第６，７７０，７４８号、同第６，７９４，４９９号、同第７，０３４，１３３号、及び同第６，５２５，１９１、並びに米国付与前公開第２００４－０１７１５７０号、同第２００４－０２１９５６５号、同第２００４－００１４９５９号、同第２００３－０２０７８４１号、同第２００４－０１４３１１４号、及び同第２００３００８２８０７号）。

【００７６】

複数の実施形態では、ＡＣは、ロックド核酸（ＬＮＡ）を含む１つ以上のヌクレオシドを含む。ＬＮＡでは、リボシル糖環の２’－ヒドロキシル基は、糖環の４’炭素原子に連結され、それにより、２’－Ｃ，４’－Ｃ－オキシメチレン結合を形成して、二環式糖部分を形成する（Ｅｌａｙａｄｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ　Ｉｎｖｅｎｓ．Ｄｒｕｇｓ（２００１），２，５５８－５６１、Ｂｒａａｓｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．（２００１），８　１－７、及びＯｒｕｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ　Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．（２００１），３，２３９－２４３に概説されており、米国特許第６，２６８，４９０号及び同第６，６７０，４６１号も参照されたい）。この結合は、２’酸素原子と４’炭素原子を架橋するメチレン（－CH_2－）基とすることができ、ＬＮＡという用語は、二環式部分に使用され、この位置がエチレン基の場合、ＥＮＡ（商標）という用語が使用される（Ｓｉｎｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．（１９９８），４，４５５－４５６、ＥＮＡ（商標）、Ｍｏｒｉｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ　Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（２００３），１１，２２１１－２２２６）。ＬＮＡ及び他の二環式糖類似体は、相補的ＤＮＡ及びＲＮＡ（Ｔｍ＝＋３～＋１０℃）との非常に高い二本鎖熱安定性特性、３’－エキソ核酸分解に対する安定性特性、並びに良好な溶解性特性を呈する。ＬＮＡを含む強力な非毒性のアンチセンスオリゴヌクレオチドが記載されている（Ｗａｈｌｅｓｔｅｄｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．（２０００），９７，５６３３－５６３８）。

【００７７】

同様に研究されているＬＮＡの異性体はアルファ－Ｌ－ＬＮＡであり、これは、３’－エキソヌクレアーゼに対して優れた安定性を有することが示されている。アルファ－Ｌ－ＬＮＡは、強力なアンチセンス活性を示したアンチセンスギャップマー及びキメラに組み込まれた（Ｆｒｉｅｄｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ（２００３），２１，６３６５－６３７２）。

【００７８】

ＬＮＡモノマーであるアデニン、シトシン、グアニン、５－メチル－シトシン、チミン、及びウラシルの合成及び調製に加えて、それらのオリゴマー化、並びに核酸認識特性が記載されている（Ｋｏｓｈｋｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，１９９８，５４，３６０７－３６３０）。ＬＮＡ及びその調製は、ＷＯ９８／３９３５２及びＷＯ９９／１４２２６にも記載されている。

【００７９】

ＬＮＡ、ホスホロチオエート－ＬＮＡ、及び２’－チオ－ＬＮＡの類似体も調製されている（Ｋｕｍａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９８，８，２２１９－２２２２）。核酸ポリメラーゼの基質としてオリゴデオキシリボヌクレオチド二本鎖を含むＬＮＡ類似体の調製も記載されている（Ｗｅｎｇｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ９９／１４２２６）。更に、立体構造的に制限された高親和性オリゴヌクレオチド類似体である２’－アミノ－ＬＮＡの合成が記載されている（Ｓｉｎｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．（１９９８），６３，１００３５－１００３９）。加えて、２’－アミノ－ＬＮＡ及び２’－メチルアミノ－ＬＮＡが調製されており、相補的ＲＮＡ鎖及びＤＮＡ鎖を有するそれらの二本鎖の熱安定性が以前に報告されている。

【００８０】

修飾糖を調製するための方法は、当業者に周知である。かかる修飾糖の調製を教示するいくつかの代表的な特許及び刊行物としては、米国特許第４，９８１，９５７号、同第５，１１８，８００号、同第５，３１９，０８０号、同第５，３５９，０４４号、同第５，３９３，８７８号、同第５，４４６，１３７号、同第５，４６６，７８６号、同第５，５１４，７８５号、同第５，５１９，１３４号、同第５，５６７，８１１号、同第５，５７６，４２７号、同第５，５９１，７２２号、同第５，５９７，９０９号、同第５，６１０，３００号、同第５，６２７，０５３号、同第５，６３９，８７３号、同第５，６４６，２６５号、同第５，６５８，８７３号、同第５，６７０，６３３号、同第５，７９２，７４７号、同第５，７００，９２０号、及び同第６，６００，０３２号、並びにＷＯ２００５／１２１３７１が挙げられるが、これらに限定されない。

【００８１】

ヌクレオシド間結合

ヌクレオシド又は別様に修飾されたヌクレオシドモノマー単位を一緒に連結し、それにより、オリゴヌクレオチド及び／又はＡＣを含むオリゴヌクレオチドを形成するヌクレオシド間結合基が本明細書に記載される。ＡＣは、天然に存在するヌクレオシド間結合、非天然ヌクレオシド間結合、又はそれらの両方を含み得る。

【００８２】

天然に存在するＤＮＡ及びＲＮＡでは、ヌクレオシド間結合基は、隣接するヌクレオシドを互いに共有結合して直鎖状高分子化合物を形成するホスホジエステルである。天然に存在するＤＮＡ及びＲＮＡでは、ホスホジエステルは、糖の２’、３’、又は５’ヒドロキシル部分に連結されている。オリゴヌクレオチド内では、リン酸基は、一般にオリゴヌクレオチドのヌクレオシド間骨格を形成すると称される。天然に存在するＤＮＡ及びＲＮＡでは、ＲＮＡとＤＮＡの結合又はそれらの骨格は、３’から５’へのホスホジエステル結合である。複数の実施形態では、ＡＣのヌクレオシド間結合基は、ホスホジエステルである。複数の実施形態では、ＡＣのヌクレオシド間結合基は、３’から５’へのホスホジエステル結合である。

【００８３】

非天然ヌクレオシド間結合基の２つの主なクラスは、リン原子の存在又は不在によって定義される。ヌクレオシド間結合を含む代表的なリンとしては、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホロアミダート、及びホスホロチオエートが挙げられるが、これらに限定されない。ヌクレオシド間結合基を含む代表的な非リンとしては、メチレンメチルイミノ（－ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）－Ｏ－ＣＨ$_2$－）、チオジエステル（－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－Ｓ－）、チオノカルバメート（－Ｏ－Ｃ（Ｏ）（ＮＨ）－Ｓ－）、シロキサン（－Ｏ－Ｓｉ（Ｈ$_2$－Ｏ－）、及びＮ，Ｎ’－ジメチルヒドラジン（－ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）－Ｎ（ＣＨ$_3$）－）が挙げられるが、これらに限定されない。リンヌクレオシド間結合基を有するＡＣは、オリゴヌクレオチドと称される。非リンヌクレオシド間結合基を有するアンチセンス化合物は、オリゴヌクレオシドと称される。修飾ヌクレオシド間結合は、天然ホスホジエステル結合と比較して、アンチセンス化合物のヌクレアーゼ耐性を改変する、典型的には、増加させるために使用することができる。キラル原子を有するヌクレオシド間結合は、ラセミ、キラル、又は混合物として調製することができる。代表的なキラルヌクレオシド間結合としては、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートが挙げられるが、これらに限定されない。リン含有結合及び非リン含有結合を調製する方法は、当業者に周知である。

【００８４】

複数の実施形態では、修飾糖及び／又は修飾核酸塩基を有する２つ以上のヌクレオシドは、ホスホロアミダートを使用して結合され得る。複数の実施形態では、メチレンモルホリン環を有する２つ以上のヌクレオシドは、ホスホロアミダートヌクレオシド間結合を介して連結され得る。

【００８５】

ホスホロアミダートヌクレオシド間結合を介して連結されるメチレンモルホリン環を有

する核酸塩基を含むアンチセンス化合物は、ホスホロアミダートモルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）と称され得る。

【００８６】

コンジュゲート基

複数の実施形態では、ＡＣは、１つ以上のコンジュゲート基の共有結合によって修飾される。一般に、コンジュゲート基は、薬力学、薬物動態、結合、吸収、細胞分布、細胞取り込み、電荷、及びクリアランスを含むが、これらに限定されない、結合したＡＣの１つ以上の特性を修飾する。コンジュゲート基は、化学分野で日常的に使用されており、ＡＣなどの親化合物に直接連結されるか、又は任意選択の連結部分若しくは連結基を介して連結される。コンジュゲート基としては、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、及び染料が挙げられるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、コンジュゲート基は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）であり、ＰＥＧは、ＡＣ又はＣＰＰ（本明細書の他の箇所で論じられるＣＰＰ）のいずれかにコンジュゲートされる。

【００８７】

複数の実施形態では、コンジュゲート基には、脂質部分、例えば、コレステロール部分（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ（１９８９），８６，６５５３）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．（１９９４），４，１０５３）、チオエーテル、例えば、ヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（１９９２），６６０，３０６、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．（１９９３），３，２７６５）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．（１９９２），２０，５３３）、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオール若しくはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．（１９９１），１０，１１１、Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．（１９９０），２５９，３２７、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ（１９９３），７５，４９）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロール若しくはトリエチルアンモニウム－１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．（１９９５），３６，３６５１、Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．（１９９０），１８，３７７７）、ポリアミン若しくはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ＆ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ（１９９５），１４，９６９）、アダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．（１９９５），３６，３６５１）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ．（１９９５），１２６４，２２９）、又はオクタデシルアミン若しくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．（１９９６），２７７，９２３）が含まれる。

【００８８】

アンチセンス化合物のタイプ

例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド、ｓｉＲＮＡ、マイクロＲＮＡ、アンタゴミル、アプタマー、リボザイム、スーパーミル、ｍｉＲＮＡ模倣物、ｍｉＲＮＡ阻害剤、又はそれらの組み合わせを含む、様々なタイプのＡＣが使用され得る。

【００８９】

アンチセンスオリゴヌクレオチド

様々な実施形態では、アンチセンス化合物（ＡＣ）は、標的ヌクレオチド配列に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド（ＡＳＯ）である。「アンチセンスオリゴヌクレオチド（ＡＳＯ）」又は単に「アンチセンス」という用語は、標的ヌクレオチド配列に相補的なオリゴヌクレオチドを含むよう意図されている。この用語は、所望の標的ヌクレオチド配列に完全に相補的ではない場合があるＡＳＯも包含する。ＡＳＯは、選択された標的ヌクレオチド配列又は標的遺伝子に相補的なＤＮＡ及び／又はＲＮＡの一本鎖を含む。ＡＳＯは、１つ以上の修飾ＤＮＡ及び／若しくはＲＮＡ塩基、修飾糖、並びに／又は非天然ヌクレオシド間結合を含み得る。複数の実施形態では、ＡＳＯは、１つ以上のホスホロアミダートヌクレオシド間結合を含み得る。複数の実施形態では、ＡＳＯは、ホスホロアミダートモルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）である。ＡＳＯは、任意の特性を有してもよく、任意の長さであってもよく、任意の標的ヌクレオチド配列及び／又は配列要素に結合してもよく、ＡＣに対して記載の任意の機構をもたらしてもよい。

【００９０】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タンパク質合成の標的阻害剤として有効であることが実証されており、結果として、標的遺伝子によるタンパク質合成を特異的に阻害するために使用することができる。タンパク質合成を阻害するためのＡＳＯの有効性は十分に確立されている。これまでに、これらの化合物は、炎症性疾患、がん、及びＨＩＶのモデルを含む、いくつかのインビトロ及びインビボモデルで有望であることが示されている（Ａｇｒａｗａｌ，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ．（１９９６），１４：３７６－３８７）。アンチセンスは、染色体ＤＮＡと特異的にハイブリダイズすることによって細胞活性に影響を及ぼす場合もある。

【００９１】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを産生する方法は、当該技術分野で既知であり、あらゆるポリヌクレオチド配列を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを生成するように容易に適合され得る。所与の標的配列に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチド配列の選択は、選択された標的配列の分析、並びに二次構造、Ｔｍ、結合エネルギー、及び相対的安定性の決定に基づく。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、宿主細胞中の標的ｍＲＮＡへの特異的結合を減少させる又は禁止するであろう二量体、ヘアピン、又は他の二次構造を形成するそれらの相対的不能性に基づいて選択され得る。ｍＲＮＡの標的領域には、ＡＵＧ翻訳開始コドンにある又はその近くの領域、及びｍＲＮＡの５’領域に実質的に相補的な配列が含まれる。これらの二次構造分析及び標的部位選択考慮事項は、例えば、ＯＬＩＧＯプライマー分析ソフトウェアのバージョン４（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ Ｉｎｓｉｇｈｔｓ）及び／又はＢＬＡＳＴＮ ２．０．５アルゴリズムソフトウェア（Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｉ，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１９９７，２５（１７）：３３８９－４０２）を使用して行うことができる。

【００９２】

ＲＮＡ干渉

複数の実施形態では、ＡＣは、ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）を媒介する分子を含む。本明細書で使用される場合、「ＲＮＡｉを媒介する」という語句は、配列特異的な様式で標的転写物をサイレンシングする能力を指す。理論に束縛されることは望まないが、サイレンシングは、ＲＮＡｉ機構又はプロセス及びガイドＲＮＡ、例えば、約２１～約２３ヌクレオチドのｓｉＲＮＡ化合物を使用すると考えられている。複数の実施形態では、ＡＣは、分解のために標的転写物を標的とする。したがって、複数の実施形態では、ＲＮＡｉ分子を使用して、目的とする遺伝子又はポリヌクレオチドの発現を破壊することができる。複数の実施形態では、ＲＮＡｉ分子は、プレｍＲＮＡ又は成熟ｍＲＮＡなどの標的転写物の分解を誘導するために使用される。

【００９３】

複数の実施形態では、ＡＣは、ＲＮＡｉ応答を誘発する低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）を含む。

【００９４】

低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）は、ＲＮＡｉ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）として知られている細胞質多タンパク質複合体と会合することができる通常約１６～約３０ヌクレオチド長の核酸二本鎖である。ｓｉＲＮＡを装填したＲＩＳＣは、相同転写物の分解を媒介し、それ故に、ｓｉＲＮＡは、高い特異性でタンパク質発現をノックダウンするように設計することができる。他のアンチセンス技術とは異なり、ｓｉＲＮＡは、非コードＲＮＡを介して遺伝子発現を制御するように進化した天然機構を介して機能する。臨床的に関連する標的を標的とするｓｉＲＮＡを含む様々なＲＮＡｉ試薬が、現在、例えば、ｄｅ Ｆｏｕｇｅｒｏｌｌｅｓ，Ａ．ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ（２００７）６：４４３－４５３に記載されているように、医薬開発中である。

【００９５】

最初に説明されたＲＮＡｉ分子はＲＮＡセンス鎖及びＲＮＡアンチセンス鎖の両方を含むＲＮＡ：ＲＮＡハイブリッドであったが、ＤＮＡセンス：ＲＮＡアンチセンスハイブリッド、ＲＮＡセンス：ＤＮＡアンチセンスハイブリッド、及びＤＮＡ：ＤＮＡハイブリッドがＲＮＡｉを媒介することができることが実証されている（Ｌａｍｂｅｒｔｏｎ，Ｊ．Ｓ．ａｎｄ Ｃｈｒｉｓｔｉａｎ，Ａ．Ｔ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（２００３），２４：１１１－１１９）。複数の実施形態では、これらの異なるタイプの二本鎖分子のうちのいずれかを含むＲＮＡｉ分子が使用される。加えて、ＲＮＡｉ分子が使用されて、様々な形態で細胞に導入され得ることが理解される。したがって、本明細書で使用される場合、ＲＮＡｉ分子は、２つの別個の鎖、すなわち、センス鎖及びアンチセンス鎖を含む二本鎖オリゴヌクレオチド、例えば、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非ヌクレオチジルリンカーによって一緒に連結される２つの別個の鎖を含む二本鎖オリゴヌクレオチド、二本鎖領域を形成する相補的配列のヘアピンループを含むオリゴヌクレオチド、例えば、ｓｈＲＮＡｉ分子、並びに単独で又は別のポリヌクレオチドと組み合わせて二本鎖ポリヌクレオチドを形成することができる１つ以上のポリヌクレオチドを発現する発現ベクターを含むが、これらに限定されない、細胞内でＲＮＡｉを媒介することができるありとあらゆる分子を包含する。

【００９６】

本明細書で使用される「一本鎖ｓｉＲＮＡ化合物」とは、単一の分子で構成されたｓｉＲＮＡ化合物である。これは、鎖内対合によって形成される二本鎖領域を含んでもよく、例えば、これは、ヘアピン構造若しくはパンハンドル構造であってもよく、又はそれを含んでもよい。一本鎖ｓｉＲＮＡ化合物は、標的分子に関してアンチセンスであり得る。

【００９７】

一本鎖ｓｉＲＮＡ化合物は、ＲＩＳＣに進入して標的ｍＲＮＡのＲＩＳＣ媒介切断に関与することができるように十分に長くてもよい。一本鎖ｓｉＲＮＡ化合物は、少なくとも約１４、少なくとも約１５、少なくとも約２０、少なくとも約２５、少なくとも約３０、少なくとも約３５、少なくとも約４０、又は最大約５０ヌクレオチド長である。ある特定の実施形態では、一本鎖ｓｉＲＮＡは、約２００、約１００、又は約６０ヌクレオチド長未満である。

【００９８】

ヘアピンｓｉＲＮＡ化合物は、少なくとも約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、約２３、約２４、若しくは約２５個のヌクレオチド対、又はそれらと等しい数のヌクレオチド対の二本鎖領域を有し得る。この二本鎖領域は、約２００、約１００、若しくは約５０ヌクレオチド対長、又はそれらと等しい長さであり得る。ある特定の実施形態では、この二本鎖領域の範囲は、約１５～約３０、約１７～約２３、約１９～約２３、及び約１９～約２１ヌクレオチド対長である。ヘアピンは、一本鎖オーバーハング又は末端不対領域を有し得る。ある特定の実施形態では、オーバーハングは、約２～約３ヌクレオチド長である。複数の実施形態では、オーバーハングは、ヘアピンの同じ側にあり、複数の実施形態では、ヘアピンのアンチセンス側にある。

【００９９】

本明細書で使用される「二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物」とは、鎖間ハイブリダイゼーション

が二本鎖構造の領域を形成することができる二本以上の鎖、いくつかの事例では二本の鎖を含むｓｉＲＮＡ化合物である。

【０１００】

二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物のアンチセンス鎖は、少なくとも約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２５、約３０、約４０、若しくは約６０ヌクレオチド長、又はそれらと等しい長さであり得る。これは、約２００、約１００、又は約５０ヌクレオチド長以下であり得る。範囲は、約１７～約２５、約１９～約２３、及び約１９～約２１ヌクレオチド長であり得る。本明細書で使用される場合、「アンチセンス鎖」という用語は、標的分子、例えば、標的転写物の標的ヌクレオチド配列に十分に相補的なｓｉＲＮＡ化合物の鎖を意味する。

【０１０１】

二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物のセンス鎖は、少なくとも約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２５、約３０、約４０、若しくは約６０ヌクレオチド長、又はそれらと等しい長さであり得る。これは、約２００、約１００、又は約５０ヌクレオチド長以下であり得る。範囲は、約１７～約２５、約１９～約２３、及び約１９～約２１ヌクレオチド長であり得る。

【０１０２】

二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物の二本鎖部分は、少なくとも約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５、約３０、約４０、若しくは約６０ヌクレオチド対長、又はそれらと等しい長さであり得る。これは、約２００、約１００、又は約５０ヌクレオチド対長以下であり得る。範囲は、約１５～約３０、約１７～約２３、約１９～約２３、及び約１９～約２１ヌクレオチド対長であり得る。

【０１０３】

複数の実施形態では、ｓｉＲＮＡ化合物は、内因性分子、例えば、ダイサー（Ｄｉｃｅｒ）によって切断されて、より小さいｓｉＲＮＡ化合物、例えば、ｓｉＲＮＡ剤を産生することができるように十分に大きい。

【０１０４】

センス鎖及びアンチセンス鎖は、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物が分子の一方の末端又は両方の末端に一本鎖又は不対領域を含むように選択され得る。したがって、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物は、オーバーハング、例えば、１つ若しくは２つの５’若しくは３’オーバーハング、又は１～３つのヌクレオチドの３’オーバーハングを含むように対合されたセンス鎖及びアンチセンス鎖を含み得る。オーバーハングは、一方の鎖が他方よりも長い結果であり得るか、又は同じ長さの２つの鎖が互い違いになった結果であり得る。いくつかの実施形態は、少なくとも１つの３’オーバーハングを有する。複数の実施形態では、ｓｉＲＮＡ分子の両方の末端は、３’オーバーハングを有する。複数の実施形態では、オーバーハングは、２ヌクレオチドである。

【０１０５】

複数の実施形態では、二本鎖領域の長さは、例えば、上述のｓｓｉＲＮＡ（粘着性オーバーハングを有するｓｉＲＮＡ）化合物範囲内の、約１５～約３０、又は約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、又は約２３ヌクレオチド長である。ｓｓｉＲＮＡ化合物は、長さが類似しており、長いｄｓｉＲＮＡ由来の天然ダイサー加工産物を構築することができる。ｓｓｉＲＮＡ化合物の２つの鎖が連結されている、例えば、共有結合されている実施形態も含まれる。複数の実施形態では、ヘアピン、又は二本鎖領域を提供する他の一本鎖構造、及び３’オーバーハングが含まれる。

【０１０６】

二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物及び一本鎖ｓｉＲＮＡ化合物を含む本明細書に記載のｓｉＲＮＡ化合物は、標的ＲＮＡ、例えばｍＲＮＡ、例えばタンパク質をコードする遺伝子の転写物のサイレンシングを媒介することができる。便宜上、かかるｍＲＮＡは、本明細書ではサイレンシングされるｍＲＮＡとも称される。かかる遺伝子は、標的遺伝子とも称される。一般に、サイレンシングされるＲＮＡは、内因性遺伝子である。

【０１０７】
複数の実施形態では、ｓｉＲＮＡ化合物は、標的転写物に「十分相補的」であり、これにより、ｓｉＲＮＡ化合物が標的ｍＲＮＡによってコードされるタンパク質の産生をサイレンシングするようになる。複数の実施形態では、ｓｉＲＮＡ化合物は、標的転写物の少なくとも一部分に「十分に相補的」であり、これにより、ｓｉＲＮＡ化合物が標的転写物によってコードされる遺伝子産物の産生をサイレンシングするようになる。別の実施形態では、ｓｉＲＮＡ化合物は、標的ヌクレオチド配列（例えば、標的転写物の一部分）に「完全に相補的」であり、これにより、標的ヌクレオチド配列及びｓｉＲＮＡ化合物が、例えば、正確な相補性の領域内にワトソン・クリック塩基対のみから作製されたハイブリッドを形成するようにアニーリングするようになる。標的ヌクレオチド配列に「十分に相補的」であることは、標的ヌクレオチド配列に正確に相補的な内部領域（例えば、少なくとも約１０ヌクレオチド）を含み得る。更に、ある特定の実施形態では、ｓｉＲＮＡ化合物は、一塩基差を特異的に区別する。この場合、ｓｉＲＮＡ化合物は、正確な相補性が一塩基差（例えば、７ヌクレオチド以内）の領域に見られた場合にのみ、ＲＮＡｉを媒介する。

【０１０８】
ｓｉＲＮＡ及びｍｉＲＮＡ構築物が標的タンパク質に向けられたあらゆるヌクレオチド配列で合成することができるため、ＲＮＡｉの治療用途は極めて広範である。これまでに、ｓｉＲＮＡ構築物は、インビトロモデル及びインビボモデルの両方、並びに臨床試験において、標的タンパク質を特異的に下方制御する能力を示している。

【０１０９】
マイクロＲＮＡ
複数の実施形態では、ＡＣは、マイクロＲＮＡ分子を含む。マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）は、植物及び動物のゲノム中のＤＮＡから転写されるが、タンパク質には翻訳されない、高度に保存されたクラスの低分子ＲＮＡ分子である。プロセシングされたｍｉＲＮＡは、ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）に組み込まれ、かつ発生、細胞増殖、アポトーシス、及び分化の重要な調節因子として特定されている一本鎖１７～２５ヌクレオチドＲＮＡ分子である。それらは、特定のｍＲＮＡの３’－非翻訳領域に結合することによって遺伝子発現の調節に関与すると考えられている。ＲＩＳＣは、翻訳阻害、転写切断、又はそれらの両方により遺伝子発現の下方制御を媒介する。ＲＩＳＣは、広範な真核生物の核における転写サイレンシングにも関与する。

【０１１０】
アンタゴミル
複数の実施形態では、ＡＣは、アンタゴミルである。アンタゴミルは、組織及び細胞取り込みの増強などのＲＮＡｓｅ保護及び薬理学的特性のための様々な修飾を有するＲＮＡ様オリゴヌクレオチドである。それらは、例えば、糖、ホスホロチオエート骨格、及び例えば３’末端のコレステロール部分の完全な２’－０－メチル化の点で正常なＲＮＡとは異なる。アンタゴミルは、アンタゴミル及び内因性ｍｉＲＮＡを含む二本鎖を形成することによって内因性ｍｉＲＮＡを効率的にサイレンシングし、それにより、ｍｉＲＮＡ誘導遺伝子サイレンシングを防止するために使用され得る。アンタゴミル媒介ｍｉＲＮＡサイレンシングの例は、参照により全体が本明細書に明示的に組み込まれるＫｒｕｔｚｆｅｌｄｔ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ（２００５），４３８：６８５－６８９に記載のｍｉＲ－１２２のサイレンシングである。アンタゴミルＲＮＡは、標準の固相オリゴヌクレオチド合成プロトコル（各々の開示が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願第１１／５０２，１５８号及び同第１１／６５７，３４１号）を使用して合成され得る。

【０１１１】
アンタゴミルは、リガンド結合モノマーサブユニット及びオリゴヌクレオチド合成のためのモノマーを含み得る。モノマーは、米国特許出願第１０／９１６，１８５号に記載されている。アンタゴミルは、例えば、ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２００４／０７０７０号に記載のＺＸＹ構造を有することができる。アンタゴミルは、両親媒性部分と複合体化す

ることができる。オリゴヌクレオチド剤と併用するための両親媒性部分は、ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２００４／０７０７０号に記載されている。

【０１１２】

アプタマー

複数の実施形態では、ＡＣは、アプタマーを含む。アプタマーは、高い親和性及び特異性で目的とする特定の分子に結合する核酸又はペプチド分子である（Ｔｕｅｒｋ ａｎｄ Ｇｏｌｄ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：５０５（１９９０）、Ｅｌｌｉｎｇｔｏｎ ａｎｄ Ｓｚｏｓｔａｋ，Ｎａｔｕｒｅ ３４６：８１８（１９９０））。大きいタンパク質から小さい有機分子まで多くの異なる実体に結合するＤＮＡ又はＲＮＡアプタマーの産生に成功している（Ｅａｔｏｎ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．（１９９７），１：１０－１６、Ｆａｍｕｌｏｋ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．（１９９９），９：３２４－９、及びＨｅｒｍａｎｎ ａｎｄ Ｐａｔｅｌ，Ｓｃｉｅｎｃｅ（２０００），２８７：８２０－５）。アプタマーは、ＲＮＡ又はＤＮＡベースであり得、リボスイッチを含み得る。リボスイッチは、小さい標的分子に直接結合することができ、かつ標的の結合が遺伝子の活性に影響を及ぼすｍＲＮＡ分子の一部である。したがって、リボスイッチを含むｍＲＮＡは、その標的分子の存在又は不在に応じて、それ自体の活性の調節に直接関与する。一般に、アプタマーは、インビトロ選択ラウンドの反復、すなわち、ＳＥＬＥＸ（指数関数的濃縮によるリガンドの体系的進化）により、低分子、タンパク質、核酸、更には細胞、組織、及び生物などの様々な分子標的に結合するように操作される。アプタマーは、合成法、組換え法、及び精製法を含む任意の既知の方法によって調製されてもよく、単独で又は同じ標的に特異的な他のアプタマーと組み合わせて使用されてもよい。更に、「アプタマー」という用語は、２つ以上の既知のアプタマーを所与の標的と比較することによって得られたコンセンサス配列を含む「二次アプタマー」も含む。複数の実施形態では、アプタマーは、細胞内標的を特異的に認識する「細胞内アプタマー」又は「イントラマー」である（各々参照により本明細書に組み込まれる、Ｆａｍｕｌｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ Ｂｉｏｌ．（２００１），８（１０）：９３１－９３９、Ｙｏｏｎ ａｎｄ Ｒｏｓｓｉ，Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．（２０１８），１３４：２２－３５）。

【０１１３】

リボザイム

複数の実施形態では、ＡＣは、リボザイムである。リボザイムは、エンドヌクレアーゼ活性を有する特定の触媒ドメインを有するＲＮＡ分子複合体である（Ｋｉｍ ａｎｄ Ｃｅｃｈ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ（１９８７），８４（２４）：８７８８－９２、Ｆｏｒｓｔｅｒ ａｎｄ Ｓｙｍｏｎｓ，Ｃｅｌｌ（１９８７）２４，４９（２）：２１１－２０）。例えば、多数のリボザイムは、高い特異性でリン酸エステル移動反応を加速させ、多くの場合、オリゴヌクレオチド基質中のいくつかのホスホエステルのうちの１つのみを切断する（Ｃｅｃｈ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ（１９８１），２７（３ Ｐｔ ２）：４８７－９６、Ｍｉｃｈｅｌ ａｎｄ Ｗｅｓｔｈｏｆ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（１９９０），５，２１６（３）：５８５－６１０、Ｒｅｉｎｈｏｌｄ－Ｈｕｒｅｋ ａｎｄ Ｓｈｕｂ，Ｎａｔｕｒｅ（１９９２），１４，３５７（６３７４）：１７３－６）。この特異性は、化学反応の前に基質が特定の塩基対合相互作用によりリボザイムの内部ガイド配列（ＩＧＳ）に結合するという要件に起因している。

【０１１４】

現在、天然に存在する酵素ＲＮＡの少なくとも６つ基本的な種類が知られている。各々、生理学的条件下で、トランスにおけるＲＮＡホスホジエステル結合の加水分解を触媒することができる（それ故に、他のＲＮＡ分子を切断することができる）。一般に、酵素核酸は、最初に標的ＲＮＡに結合することによって作用する。かかる結合は、標的ＲＮＡを切断するように作用する分子の酵素部分に近接して保持される酵素核酸の標的結合部分を介して生じる。したがって、酵素核酸は、相補的塩基対合を介して最初に標的ＲＮＡを認識し、次いでそれに結合し、正しい部位に結合されると、標的ＲＮＡを切断するように酵

素的に作用する。かかる標的ＲＮＡの戦略的切断は、コードされたタンパク質の合成を誘導する能力を破壊する。酵素核酸がそのＲＮＡ標的に結合して切断した後、そのＲＮＡから解放されて別の標的を探し、新たな標的に繰り返し結合して切断することができる。

【０１１５】

酵素核酸分子は、例えば、ハンマーヘッドモチーフ、ヘアピンモチーフ、δ型肝炎ウイルスモチーフ、グループＩイントロンモチーフ若しくはＲＮａｓｅＰ　ＲＮＡモチーフ（ＲＮＡガイド配列に関連して）、又はＮｅｕｒｏｓｐｏｒａ　ＶＳ　ＲＮＡモチーフに形成され得る。ハンマーヘッドモチーフの具体的な例は、Ｒｏｓｓｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．（１９９２），２０（１７）：４５５９－６５によって説明されている。ヘアピンモチーフの例は、Ｈａｍｐｅｌ　ｅｔ　ａｌ．（欧州特許出願公開第ＥＰ０３６０２５７号）、Ｈａｍｐｅｌ　ａｎｄ　Ｔｒｉｔｚ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９８９），２８（１２）：４９２９－３３、Ｈａｍｐｅｌ　ｅｔ　ａｌ，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．（１９９０），１８（２）：２９９－３０４、及び米国特許第５，６３１，３５９号によって説明されている。肝炎ウイルスモチーフの例は、Ｐｅｒｒｏｔｔａ　ａｎｄ　Ｂｅｅｎ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９２），３１（４７）：１１８４３－５２によって説明されており、ＲＮａｓｅＰモチーフの例は、Ｇｕｅｒｒｉｅｒ－Ｔａｋａｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ（１９８３），３５（３　Ｐｔ２）：８４９－５７によって説明されており、Ｎｅｕｒｏｓｐｏｒａ　ＶＳ　ＲＮＡリボザイムモチーフは、Ｃｏｌｌｉｎｓ（Ｓａｖｉｌｌｅ　ａｎｄ　Ｃｏｌｌｉｎｓ，Ｃｅｌｌ（１９９０），６１（４）：６８５－９６、Ｓａｖｉｌｌｅ　ａｎｄ　Ｃｏｌｌｉｎｓ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ（１９９１），８８（１９）：８８２６－３０、Ｃｏｌｌｉｎｓ　ａｎｄ　Ｏｌｉｖｅ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９３），３２（ｌ　ｌ）：２７９５－９）によって説明されており、グループＩイントロンの例は、米国特許第４，９８７，０７１号に説明されている。複数の実施形態では、酵素核酸分子は、標的遺伝子ＤＮＡ領域又はＲＮＡ領域のうちの１つ以上に相補的な特定の基質結合部位を有し、酵素核酸分子にＲＮＡ切断活性を付与するその基質結合部位内又はその周囲のヌクレオチド配列を有する。したがって、リボザイム構築物は、必ずしも本明細書で言及される特定のモチーフに限定されない。

【０１１６】

リボザイムは、各々参照により本明細書に明確に組み込まれる、国際特許出願公開第９３／２３５６９号及び国際特許出願公開第９４／０２５９５号に記載されるように設計され、そこに記載されるように合成されて、インビトロ及びインビボで試験され得る。複数の実施形態では、リボザイムは、標的転写物の標的ヌクレオチド配列を標的とする。

【０１１７】

リボザイム活性は、リボザイム結合アームの長さを改変することによって、又は血清リボヌクレアーゼによるそれらの分解を防止する修飾（例えば、酵素ＲＮＡ分子の糖部分に行うことができる様々な化学修飾について説明している、国際特許出願公開第９２／０７０６５号、国際特許出願公開第９３／１５１８７号、国際特許出願公開第９１／０３１６２号、欧州特許出願公開第９２１１０２９８．４号、米国特許第５，３３４，７１１号、及び国際特許出願公開第９４／１３６８８号を参照されたい）、細胞内のそれらの効力を増強する修飾、及びＲＮＡ合成時間を短縮し、かつ化学的要件を減らすための幹Ｕ塩基の除去を有するリボザイムを化学的に合成することによって増加させることができる。

【０１１８】

スーパーミル

複数の実施形態では、ＡＣは、スーパーミルである。スーパーミルとは、ｍｉＲＮＡと実質的に同一であり、かつその標的に関してアンチセンスであるヌクレオチド配列を有する、一本鎖、二本鎖、又は部分的に二本鎖のオリゴマー、又はＲＮＡのポリマー、ＤＮＡのポリマー、若しくはそれらの両方、又はその修飾を指す。この用語は、天然に存在する核酸塩基、糖、及び共有結合ヌクレオシド間（骨格）結合で構成されており、かつ同様に機能する少なくとも１つの天然に存在しない部分を含むオリゴヌクレオチドを含む。かか

る修飾オリゴヌクレオチド又は置換オリゴヌクレオチドは、例えば、細胞取り込みの増強、核酸標的に対する親和性の増強、及びヌクレアーゼの存在下での安定性の増加などの望ましい特性を有する。複数の実施形態では、スーパーミルはセンス鎖を含まず、別の実施形態では、スーパーミルは有意な程度まで自己ハイブリダイズしない。スーパーミルは二次構造を有することができるが、生理学的条件下では実質的に一本鎖である。実質的に一本鎖であるスーパーミルは、スーパーミルの約５０％未満（例えば、約４０％、約３０％、約２０％、約１０％、又は約５％未満）がそれ自体と二本鎖化される程度まで一本鎖である。スーパーミルは、ヘアピンセグメントを含むことができ、配列、例えば、３’末端の配列が自己ハイブリダイズして、二本鎖領域、例えば、少なくとも約１、約２、約３、若しくは約４ヌクレオチド、又は約８、約７、約６、若しくは約５ヌクレオチド、又は約５ヌクレオチド未満の二本鎖領域を形成することができる。二本鎖領域は、リンカー、例えば、ヌクレオチドリンカー、例えば、約３、約４、約５、又は約６個のｄＴ、例えば、修飾ｄＴによって連結することができる。別の実施形態では、スーパーミルは、例えば、３’末端及び５’末端の一方若しくはそれらの両方又は一方の末端で、かつスーパーミルの非末端又は中間で、より短いオリゴ、例えば、約５、約６、約７、約８、約９、又は約１０ヌクレオチド長と二本鎖化される。

【０１１９】

ｍｉＲＮＡ模倣物

複数の実施形態では、ＡＣは、ｍｉＲＮＡ模倣物である。ｍｉＲＮＡ模倣物は、１つ以上のｍｉＲＮＡの遺伝子サイレンシング能力を模倣するために使用することができる分子のクラスを表す。したがって、「マイクロＲＮＡ模倣物」という用語は、ＲＮＡｉ経路に進入し、かつ遺伝子発現を調節することができる合成非コードＲＮＡを指す（すなわち、ｍｉＲＮＡが内因性ｍｉＲＮＡ源からの精製では得られない）。ｍｉＲＮＡ模倣物は、成熟分子（例えば、一本鎖）又は模倣物先駆体（例えば、プリｍｉＲＮＡ若しくはプレｍｉＲＮＡ）として設計することができる。ｍｉＲＮＡ模倣物は、核酸（修飾若しくは修飾核酸）、例えば、ＲＮＡ、修飾ＲＮＡ、ＤＮＡ、修飾ＤＮＡ、ロックド核酸、若しくは２’－０，４’－Ｃ－エチレン架橋核酸（ＥＮＡ）、又は上記の任意の組み合わせ（ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッドを含む）を含むが、これらに限定されないオリゴヌクレオチドを含むことができる。加えて、ｍｉＲＮＡ模倣物は、送達、細胞内区画化、安定性、特異性、機能性、鎖使用、及び／又は効力に影響を及ぼし得るコンジュゲートを含むことができる。１つの設計では、ｍｉＲＮＡ模倣物は、二本鎖分子（例えば、約１６～約３１ヌクレオチド長の二本鎖領域を有する）であり、所与のｍｉＲＮＡの成熟鎖と同一性を有する１つ以上の配列を含む。修飾には、分子の一方の鎖又は両方の鎖上の２’修飾（２’－０メチル修飾及び２’Ｆ修飾を含む）、並びに核酸の安定性及び／又は特異性を増強するヌクレオシド間修飾（例えば、ホスホロチオエート修飾）が含まれ得る。加えて、ｍｉＲＮＡ模倣物は、オーバーハングを含むことができる。オーバーハングは、いずれかの鎖の３’末端又は５’末端のいずれかに約１～約６個のヌクレオチドを含むことができ、安定性又は機能性を増強するように修飾することができる。複数の実施形態では、ｍｉＲＮＡ模倣物は、約１６～約３１ヌクレオチドの二本鎖領域と、以下の化学修飾パターンのうちの１つ以上とを含む：センス鎖が、（センスオリゴヌクレオチドの５’末端から数えて）ヌクレオチド１及び２の２’－０－メチル修飾、並びにＣ及びＵの全てを含む、アンチセンス鎖修飾が、Ｃ及びＵの全ての２’Ｆ修飾、オリゴヌクレオチドの５’末端のリン酸化、及び２ヌクレオチド３’オーバーハングに関連する安定化ヌクレオシド間結合を含む。

【０１２０】

ｍｉＲＮＡ阻害剤

複数の実施形態では、ＡＣは、ｍｉＲＮＡ阻害剤である。「アンチミル」「マイクロＲＮＡ阻害剤」、「ｍｉＲ阻害剤」、又は「ｍｉＲＮＡ阻害剤」という用語は同義であり、特定のｍｉＲＮＡの能力を妨害するオリゴヌクレオチド又は修飾オリゴヌクレオチドを指す。一般に、これらの阻害剤は、ＲＮＡ、修飾ＲＮＡ、ＤＮＡ、修飾ＤＮＡ、ロックド核酸（ＬＮＡ）、又は上記の任意の組み合わせを含むオリゴヌクレオチドを含む自然界の核

酸又は修飾核酸である。

【０１２１】

修飾には、送達、安定性、特異性、細胞内区画化、又は効力に影響を及ぼし得る２’修飾（２’－０アルキル修飾及び２’Ｆ修飾を含む）及びヌクレオシド間修飾（例えば、ホスホロチオエート修飾）が含まれる。加えて、ｍｉＲＮＡ阻害剤は、送達、細胞内区画化、安定性、及び／又は効力に影響を及ぼし得るコンジュゲートを含み得る。阻害剤は、一本鎖、二本鎖（ＲＮＡ／ＲＮＡ二本鎖又はＲＮＡ／ＤＮＡ二本鎖）、及びヘアピン設計を含む様々な立体配置を採用することができ、一般に、マイクロＲＮＡ阻害剤は、標的とされるｍｉＲＮＡの成熟鎖（又は複数の成熟鎖）に相補的な又は部分的に相補的な１つ以上の配列又は配列の一部分を含む。加えて、ｍｉＲＮＡ阻害剤は、成熟ｍｉＲＮＡの逆相補体である配列の５’及び３’に位置する追加の配列も含み得る。追加の配列は、成熟ｍｉＲＮＡが誘導されるプリｍｉＲＮＡ中の成熟ｍｉＲＮＡに隣接する配列の逆相補体であり得るか、又は追加の配列は、任意の配列（Ａ、Ｇ、Ｃ、若しくはＵの混合物を有する）であり得る。複数の実施形態では、追加の配列の一方又は両方が、ヘアピンを形成することができる任意の配列である。したがって、複数の実施形態では、ｍｉＲＮＡの逆相補体である配列は、ヘアピン構造によって５’側及び３’側に隣接している。マイクロＲＮＡ阻害剤は、二本鎖の場合、逆鎖上のヌクレオチド間のミスマッチを含み得る。更に、マイクロＲＮＡ阻害剤がコンジュゲート部分に連結されて、細胞への阻害剤の取り込みを容易にすることができる。例えば、マイクロＲＮＡ阻害剤は、細胞へのマイクロＲＮＡ阻害剤の受動的取り込みを可能にするコレステリル５－（ビス（４－メトキシフェニル）（フェニル）メトキシ）－３ヒドロキシペンチルカルバマート）に連結され得る。ヘアピンｍｉＲＮＡ阻害剤を含むマイクロＲＮＡ阻害剤は、各々参照により全体が本明細書に組み込まれる、Ｖｅｒｍｅｕｌｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＲＮＡ　１３：７２３－７３０（２００７）、並びにＷＯ２００７／０９５３８７及びＷＯ２００８／０３６８２５に詳細に記載されている。当業者であれば、所望のｍｉＲＮＡの配列をデータベースから選択し、本明細書に開示される方法に有用な阻害剤を設計することができる。

【０１２２】

連結基又は二官能性連結部分、例えば、当該技術分野で既知の連結基又は二官能性連結部分は、本明細書に提供される化合物に適している。連結基は、例えばＡＣなどの親化合物中の選択的部位への化学官能基、コンジュゲート基、レポーター基、及び他の基の結合に有用である。一般に、二官能性連結部分は、２つの官能基を有するヒドロカルビル部分を含む。これらの官能基の一方は、親分子又は目的とする化合物に結合するように選択され、他方は、化学官能基又はコンジュゲート基などの本質的に任意の選択された基に結合するように選択される。本明細書に記載のリンカーのうちのいずれかを使用することができる。複数の実施形態では、リンカーは、エチレングリコール又はアミノ酸単位などの繰り返し単位の鎖構造又はオリゴマーを含む。二官能性連結部分に日常的に使用される官能基の例としては、求核基と反応するための求電子剤及び求電子基と反応するための求核剤が挙げられるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、二官能性連結部分には、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、不飽和物（例えば、二重結合又は三重結合）が含まれる。二官能性連結部分のいくつかの非限定的な例としては、８－アミノ－３，６－ジオキサオクタン酸（ＡＤＯ）、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、及び６－アミノヘキサン酸（ＡＨＥＸ又はＡＨＡ）が挙げられる。他の連結基としては、置換Ｃ１－Ｃ１０アルキル、置換若しくは非置換Ｃ２－Ｃ１０アルケニル、又は置換若しくは非置換Ｃ２－Ｃ１０アルキニルが挙げられるが、これらに限定されず、置換基の非限定的なリストには、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルが含まれる。

【０１２３】

複数の実施形態では、ＡＣは、ＲＮａｓｅ　Ｈ活性を支持しないように設計されたヌクレオチド修飾を含む。ＲＮａｓｅ　Ｈ活性を支持しないアンチセンス化合物のヌクレオチ

ド修飾は既知であり、これらの修飾には、２’－Ｏ－メトキシエチル／ホスホロチオエート（ＭＯＥ）修飾が含まれるが、これに限定されない。有利なことに、ＭＯＥ修飾を有するＡＣは、標的ＲＮＡに対する親和性を増加させ、ヌクレアーゼ安定性を増加させる。

【０１２４】

免疫刺激性オリゴヌクレオチド

複数の実施形態では、治療部分は、免疫刺激性オリゴヌクレオチドである。免疫刺激性オリゴヌクレオチド（ＩＳＳ、一本鎖又は二本鎖）は、哺乳動物であり得る患者又は他の患者に投与されたときに免疫応答を誘導することができる。ＩＳＳとしては、例えば、ヘアピン二次構造をもたらすある特定のパリンドローム（Ｙａｍａｍｏｔｏ　Ｓ．，ｅｔａｌ．（１９９２）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：４０７２－４０７６を参照されたい）、又はＣｐＧモチーフ、並びに他の既知のＩＳＳ特徴（例えば、マルチＧドメイン、ＷＯ９６／１１２６６を参照されたい）が挙げられる。

【０１２５】

免疫応答は、先天免疫応答又は適応免疫応答であり得る。免疫系は、脊椎動物のより先天的な免疫系及び後天的な適応免疫系に分けられ、後者は、体液性細胞成分に更に分けられる。特定の実施形態では、免疫応答は、粘膜性であり得る。

【０１２６】

免疫刺激性核酸は、免疫応答を誘発するために標的ポリヌクレオチドに特異的に結合し、かつその発現を減少させる必要がない場合、非配列特異的であるとみなされる。したがって、ある特定の免疫刺激性核酸は、天然に存在する遺伝子又はｍＲＮＡの領域に対応する配列を含み得るが、依然として非配列特異的免疫刺激性核酸とみなされ得る。

【０１２７】

複数の実施形態では、免疫刺激性核酸又はオリゴヌクレオチドは、少なくとも１つのＣｐＧジヌクレオチドを含む。オリゴヌクレオチド又はＣｐＧジヌクレオチドは、非メチル化されていても、メチル化されていてもよい。別の実施形態では、免疫刺激性核酸は、メチル化シトシンを有する少なくとも１つのＣｐＧジヌクレオチドを含む。複数の実施形態では、核酸は、単一のＣｐＧジヌクレオチドを含み、ここで、当該ＣｐＧジヌクレオチド中のシトシンがメチル化されている。特定の実施形態では、核酸は、配列５’ＴＡＡＣＧＴＴＧＡＧＧＧ’ＣＡＴ　３’（配列番号３６９）を含む。代替の実施形態では、核酸は、少なくとも２つのＣｐＧジヌクレオチドを含み、ここで、当該ＣｐＧジヌクレオチド中の少なくとも１つのシトシンがメチル化されている。更なる実施形態では、配列中に存在するＣｐＧジヌクレオチド中の各シトシンがメチル化されている。別の実施形態では、核酸は、複数のＣｐＧジヌクレオチドを含み、ここで、当該ＣｐＧジヌクレオチドのうちの少なくとも１つがメチル化シトシンを含む。

【０１２８】

組成物及び方法における使用に好適なオリゴヌクレオチド（ＯＤＮ）の更なる特異的核酸配列は、Ｒａｎｅｙ　ｅｔ　ａｌ，Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，２９８：１１８５－１１９２（２００１）に記載されている。ある特定の実施形態では、組成物及び方法に使用されるＯＤＮは、ホスホジエステル（「ＰＯ」）骨格若しくはホスホロチオエート（「ＰＳ」）骨格、及び／又はＣｐＧモチーフ中に少なくとも１つのメチル化シトシン残基を有する。

【０１２９】

デコイオリゴヌクレオチド

複数の実施形態では、治療部分は、デコイオリゴヌクレオチドである。周囲のゲノムＤＮＡの不在下でさえも転写因子がそれらの比較的短い結合配列を認識するため、特定の転写因子のコンセンサス結合配列を有する短いオリゴヌクレオチドを、生細胞での遺伝子発現を操作するためのツールとして使用することができる。この戦略は、かかる「デコイオリゴヌクレオチド」の細胞内送達を伴い、これは、その後、標的因子によって認識され、結合される。デコイによる転写因子のＤＮＡ結合部位の占有により、転写因子がその後に

標的遺伝子のプロモーター領域に結合することができないようになる。デコイは、転写因子によって活性化される遺伝子の発現を阻害するための治療薬、又は転写因子の結合によって抑制される遺伝子を上方制御するための治療薬のいずれかとして使用することができる。デコイオリゴヌクレオチドの利用の例は、参照により全体が本明細書に明示的に組み込まれる、Ｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ，２０００，１０６：１０７１－１０７５で見つけることができる。

【０１３０】

Ｕ１アダプター

いくつかの実施形態では、治療部分は、Ｕ１アダプターである。Ｕ１アダプターは、ポリＡ部位を阻害し、標的遺伝子の末端エクソン中のある部位に相補的な標的ドメインと、Ｕ１　ｓｎＲＮＰのＵ１小核ＲＮＡ成分に結合する「Ｕ１ドメイン」とを有する二官能性オリゴヌクレオチドである（参照により全体が本明細書に明示的に組み込まれる、Ｇｏｒａｃｚｎｉａｋ，ｅｔ　ａｌ．，２００８，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２７（３），２５７－２６３）。Ｕ１　ｓｎＲＮＰは、主にプレｍＲＮＡエクソン－イントロン境界に結合することによってスプライセオソーム形成の初期ステップを指示するように機能するリボ核タンパク質複合体である（Ｂｒｏｗｎ　ａｎｄ　Ｓｉｍｐｓｏｎ，１９９８，Ａｎｎｕ　Ｒｅｖ　Ｐｌａｎｔ　Ｐｈｙｓｉｏｌ　Ｐｌａｎｔ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　４９：７７－９５）。Ｕ１　ｓｎＲＮＡ塩基対の５’末端のヌクレオチド２～１１は、プレｍＲＮＡの５’ｓｓに結合する。一実施形態では、オリゴヌクレオチドは、Ｕ１アダプターである。一実施形態では、Ｕｌアダプターは、少なくとも１つの他のｉＲＮＡ剤と組み合わせて投与することができる。

【０１３１】

（ＣＲＩＳＰＲ）遺伝子編集機構

複数の実施形態では、本明細書に開示される化合物は、ＣＲＩＳＰＲ遺伝子編集機構にコンジュゲートされた１つ以上のＣＰＰ（又はｃＣＰＰ）を含む。本明細書で使用される場合、「ＣＲＩＳＰＲ遺伝子編集機構」とは、ゲノムを編集するために使用され得るタンパク質、核酸、又はそれらの組み合わせを指す。遺伝子編集機構の非限定的な例としては、ｇＲＮＡ、ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ阻害剤、並びにそれらの組み合わせ及び複合体が挙げられる。以下の特許文献：米国特許第８，６９７，３５９号、米国特許第８，７７１，９４５号、米国特許第８，７９５，９６５号、米国特許第８，８６５，４０６号、米国特許第８，８７１，４４５号、米国特許第８，８８９，３５６号、米国特許第８，８９５，３０８号、米国特許第８，９０６，６１６号、米国特許第８，９３２，８１４号、米国特許第８，９４５，８３９号、米国特許第８，９９３，２３３号、米国特許第８，９９９，６４１号、米国特許　第１４／７０４，５５１号、及び米国特許出願　第１３／８４２，８５９号は、ＣＲＩＳＰＲ遺伝子編集機構について記載している。前述の特許文献は各々、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１３２】

複数の実施形態では、リンカーは、ｃＣＰＰをＣＲＩＳＰＲ遺伝子編集機構にコンジュゲートする。本開示に記載の任意のリンカー又は当業者に既知の任意のリンカーが利用され得る。

【０１３３】

ｇＲＮＡ

複数の実施形態では、本化合物は、ｇＲＮＡにコンジュゲートされるＣＰＰ（又はｃＣＰＰ）を含む。ｇＲＮＡは、原核細胞又は真核細胞のゲノム遺伝子座を標的とする。

【０１３４】

複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、単一分子ガイドＲＮＡ（ｓｇＲＮＡ）である。ｓｇＲＮＡは、スペーサー配列及び足場配列を含む。スペーサー配列は、ヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９ヌクレアーゼ）を目的とする特定のヌクレオチド領域（例えば、切断されるゲノムＤＮＡ配列）に標的するために使用される短い核酸配列である。複数の実施形態では、スペーサーは、約１７～２４塩基長、例えば、約２０塩基長であり得る。複数の実施

形態では、スペーサーは、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５、約２６、約２７、約２８、約２９、又は約３０塩基長であり得る。複数の実施形態では、スペーサーは、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８、少なくとも１９、少なくとも２０、少なくとも２１、少なくとも２２、少なくとも２３、少なくとも２４、少なくとも２５、少なくとも２６、少なくとも２７、少なくとも２８、少なくとも２９、又は少なくとも３０塩基長であり得る。複数の実施形態では、スペーサーは、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５、約２６、約２７、約２８、約２９、又は約３０塩基長であり得る。複数の実施形態では、スペーサー配列は、約４０％～約８０％のＧＣ含有量を有する。

【０１３５】

複数の実施形態では、スペーサーは、５’プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）の直前の部位を標的とする。ＰＡＭ配列は、所望のヌクレアーゼに基づいて選択され得る。例えば、ＰＡＭ配列は、以下の表３に示されるＰＡＭ配列のうちのいずれか１つであり得、ここで、Ｎが任意の核酸を指し、ＲがＡ又はＧを指し、ＹがＣ又はＴを指し、ＷがＡ又はＴを指し、ＶがＡ又はＣ又はＧを指す。

【表３】

表３：例示的なヌクレアーゼ及びＰＡＭ配列

PAM 配列(5’から 3’)	ヌクレアーゼ	単離源
NGG	SpCas9	*Streptococcus pyogenes*
NGRRT 又は NGRRN	SaCas9	*Staphylococcus aureus*
NNNNGATT	NmeCas9	*Neisseria meningitidis*
NNNNRYAC	CjCas9	*Campylobacter jejuni*
NNAGAAW	StCas9	*Streptococcus thermophiles*
TTTV	LbCpf1	*Lachnospiraceae 細菌*
TTTV	AsCpf1	*Acidaminococcus 種*

【０１３６】

複数の実施形態では、スペーサーは、ヒト遺伝子などの哺乳類遺伝子の配列を標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、変異遺伝子を標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、コード配列を標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、エクソン配列を標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、ポリアデニル化部位（ＰＳ）を標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、ＰＳの配列要素を標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、ポリアデニル化シグナル（ＰＡＳ）、介在配列（ＩＳ）、切断部位（ＣＳ）、下流要素（ＤＥＳ）、又はそれらの一部分若しくは組み合わせを標的とし得る。複数の実施形態では、スペーサーは、スプライシング要素（ＳＥ）又はシススプライシング調節要素（ＳＲＥ）を標的とし得る。

【０１３７】

足場配列は、ヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９）結合に関与するｓｇＲＮＡ内の配列である。足場配列は、スペーサー／標的配列を含まない。複数の実施形態では、足場は、約１～約１０、約１０～約２０、約２０～約３０、約３０～約４０、約４０～約５０、約５０～約６０、約６０～約７０、約７０～約８０、約８０～約９０、約９０～約１００、約１００～約１１０、約１１０～約１２０、又は約１２０～約１３０ヌクレオチド長であり得る。複数の実施形態では、足場は、約１、約２、約３個、約４、約５、約６、約７、約８、約９、約１０、約１１、約１２、約１３、約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、約２０、約２１、約２２、約２３、約２４、約２５、約２６、約２７、約２８、約２９、約３０、約３１、約３２、約３３、約３４、約３５、約３６、約３７、約３８、約３９、約４０、約４１、約４２、約４３、約４４、約４５、約４６、約４７、約４８、約４９、約５０、約５１、約５２、約５３、約５４、約５５、約５６、約５７、約５８

、約５９、約６０、約６０、約６１、約６２、約６３、約６４、約６５、約６６、約６７、約６８、約６９、約７０、約７１、約７２、約７３、約７４、約７５、約７６、約７７、約７８、約７９、約８０、約８１、約８２、約８３、約８４、約８５、約８６、約８７、約８８、約８９、約９０、約９１、約９２、約９３、約９４、約９５、約９６、約９７、約９８、約９９、約１００個、約１０１、約１０２、約１０３、約１０４、約１０５、約１０６個、約１０７個、約１０８、約１０９、約１１０、約１１１、約１１２、約１１３、約１１４、約１１５、約１１６、約１１７、約１１８、約１１９、約１２０、約１２１、約１２２、約１２３、約１２４、又は約１２５ヌクレオチド長であり得る。複数の実施形態では、足場は、少なくとも１０、少なくとも２０、少なくとも３０、少なくとも４０、少なくとも５０、少なくとも６０、少なくとも７０、少なくとも８０、少なくとも９０、少なくとも１００、少なくとも１１０、少なくとも１２０、又は少なくとも１２５ヌクレオチド長であり得る。

【０１３８】

複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、二重分子ガイドＲＮＡ、例えば、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡである。複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、ポリ（Ａ）テールを更に含み得る。

【０１３９】

複数の実施形態では、ＣＰＰを含む化合物は、ｇＲＮＡを含む核酸にコンジュゲートされる。複数の実施形態では、核酸は、約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、約１０、約１１、約１２、約１３、約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、約１９、又は約２０個のｇＲＮＡを含む。複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、同じ標的を認識する。複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、異なる標的を認識する。複数の実施形態では、ｇＲＮＡを含む核酸は、プロモーターをコードする配列を含み、このプロモーターは、ｇＲＮＡの発現を駆動する。

【０１４０】

ヌクレアーゼ

複数の実施形態では、本化合物は、ヌクレアーゼにコンジュゲートされた細胞膜透過性ペプチドを含む。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、ＩＩ型、Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｂ型、ＶＣ型、Ｖ－Ｕ型、ＶＩ－Ｂ型ヌクレアーゼである。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、転写、活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、メガヌクレアーゼ、又はジンクフィンガーヌクレアーゼである。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｃａｓ９、Ｃａｓ１２ａ（Ｃｐｆ１）、Ｃａｓ１２ｂ、Ｃａｓ１２ｃ、Ｔｎｐ－Ｂ様、Ｃａｓ１３ａ（Ｃ２ｃ２）、Ｃａｓ１３ｂ、又はＣａｓ１４ヌクレアーゼである。例えば、いくつかの実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｃａｓ９ヌクレアーゼ又はＣｐｆ１ヌクレアーゼである。

【０１４１】

複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｃａｓ９、Ｃａｓ１２ａ（Ｃｐｆ１）、Ｃａｓ１２ｂ、Ｃａｓ１２ｃ、Ｔｎｐ－Ｂ様、Ｃａｓ１３ａ（Ｃ２ｃ２）、Ｃａｓ１３ｂ、又はＣａｓ１４ヌクレアーゼの修飾形態又はバリアントである。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、ＴＡＬヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、又はジンクフィンガーヌクレアーゼの修飾形態又はバリアントである。「修飾」ヌクレアーゼ又は「バリアント」ヌクレアーゼは、例えば、切断されたもの、別のタンパク質（別のヌクレアーゼなど）に融合されたもの、触媒的に不活性化されたものなどである。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、天然に存在するＣａｓ９、Ｃａｓ１２ａ（Ｃｐｆ１）、Ｃａｓ１２ｂ、Ｃａｓ１２ｃ、Ｔｎｐ－Ｂ様、Ｃａｓ１３ａ（Ｃ２ｃ２）、Ｃａｓ１３ｂ、Ｃａｓ１４ヌクレアーゼ、若しくはＴＡＬＥＮ、メガヌクレアーゼ、又はジンクフィンガーヌクレアーゼと少なくとも約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９８％、少なくとも約９９％、又は約１００％の配列同一性を有し得る。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｓ．ｐｙｏｇｅｎｅｓに由来するＣａｓ９ヌクレアーゼ（ＳｐＣａｓ９）である。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｓ．ｐｙｏｇｅｎｅｓに由来す

るＣａｓ９ヌクレアーゼ（ＳｐＣａｓ９）と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、又は少なくとも約９９％の配列同一性を有する。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｓ．ａｕｒｅｕｓに由来するＣａｓ９（ＳａＣａｓ９）である。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｓ．ａｕｒｅｕｓに由来するＣａｓ９（ＳａＣａｓ９）と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、又は少なくとも約９９％の配列同一性を有する。複数の実施形態では、Ｃｐｆ１は、Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ由来のＣｐｆ１酵素（ＢＶ３Ｌ６種、ＵｎｉＰｒｏｔ受入番号Ｕ２ＵＭＱ６）である。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ由来のＣｐｆ１酵素（ＢＶ３Ｌ６種、ＵｎｉＰｒｏｔ受入番号Ｕ２ＵＭＱ６）と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、又は少なくとも約９９％の配列同一性を有する。

【０１４２】

複数の実施形態では、Ｃｐｆ１は、Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ由来のＣｐｆ１酵素（ＮＤ２００６種、ＵｎｉＰｒｏｔ受入番号Ａ０Ａ１８２ＤＷＥ３）である。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ由来のＣｐｆ１酵素と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、又は少なくとも約９９％の配列同一性を有する。複数の実施形態では、ヌクレアーゼをコードする配列は、哺乳類細胞での発現のために最適化されたコドンである。複数の実施形態では、ヌクレアーゼをコードする配列は、ヒト細胞又はマウス細胞での発現のために最適化されたコドンである。

【０１４３】

複数の実施形態では、ＣＰＰを含む化合物は、ヌクレアーゼにコンジュゲートされる。複数の実施形態では、ヌクレアーゼは、可溶性タンパク質である。

【０１４４】

複数の実施形態では、ＣＰＰを含む化合物は、ヌクレアーゼをコードする核酸にコンジュゲートされる。複数の実施形態では、ヌクレアーゼをコードする核酸は、プロモーターをコードする配列を含み、このプロモーターは、ヌクレアーゼの発現を駆動する。

【０１４５】

ｇＲＮＡとヌクレアーゼの組み合わせ

複数の実施形態では、本化合物は、ｇＲＮＡ及びヌクレアーゼにコンジュゲートされた１つ以上のＣＰＰ（又はｃＣＰＰ）を含む。複数の実施形態では、１つ以上のＣＰＰ（又はｃＣＰＰ）は、ｇＲＮＡ及び／又はヌクレアーゼをコードする核酸にコンジュゲートされる。複数の実施形態では、ヌクレアーゼ及びｇＲＮＡをコードする核酸は、プロモーターをコードする配列を含み、このプロモーターは、ヌクレアーゼ及びｇＲＮＡの発現を駆動する。複数の実施形態では、ヌクレアーゼ及びｇＲＮＡをコードする核酸は、２つのプロモーターを含み、第１のプロモーターは、ヌクレアーゼの発現を制御し、第２のプロモーターは、ｇＲＮＡの発現を制御する。複数の実施形態では、ｇＲＮＡ及びヌクレアーゼをコードする核酸は、約１～約２０個のｇＲＮＡ、又は約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、約１０、約１１、約１２、約１３、約１４、約１５、約１６、約１７、約１８、若しくは約１９個、及び最大約２０個のｇＲＮＡをコードする。複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、異なる標的を認識する。複数の実施形態では、ｇＲＮＡは、同じ標的を認識する。

【０１４６】

複数の実施形態では、本化合物は、ｇＲＮＡ及びヌクレアーゼを含むリボ核タンパク質（ＲＮＰ）にコンジュゲートされた細胞膜透過性ペプチド（又はｃＣＰＰ）を含む。

【０１４７】

複数の実施形態では、（ａ）ｇＲＮＡにコンジュゲートされたＣＰＰと、（ｂ）ヌクレアーゼとを含む組成物が細胞に送達される。複数の実施形態では、（ａ）ヌクレアーゼにコンジュゲートされたＣＰＰと、（ｂ）ｇＲＮＡとを含む組成物が細胞に送達される。

【０１４８】
複数の実施形態では、（ａ）ｇＲＮＡにコンジュゲートされた第１のＣＰＰと、（ｂ）ヌクレアーゼにコンジュゲートされた第２のＣＰＰとを含む組成物が細胞に送達される。複数の実施形態では、第１のＣＰＰと第２のＣＰＰは同一である。複数の実施形態では、第１のＣＰＰと第２のＣＰＰは異なる。
【０１４９】
目的とする遺伝要素
複数の実施形態では、本明細書に開示される化合物は、目的とする遺伝要素にコンジュゲートされた細胞膜透過性ペプチドを含む。複数の実施形態では、目的とする遺伝要素は、ヌクレアーゼによって切断されたゲノムＤＮＡ配列を置き換える。目的とする遺伝要素の非限定的な例としては、遺伝子、一塩基多型、プロモーター、又はターミネーターが挙げられる。
【０１５０】
ヌクレアーゼ阻害剤
複数の実施形態では、本明細書に開示される化合物は、ヌクレアーゼ阻害剤（例えば、Ｃａｓ９）にコンジュゲートされた細胞膜透過性ペプチドを含む。遺伝子編集の制限は、潜在的なオフターゲット編集である。ヌクレアーゼ阻害剤の送達は、オフターゲット編集を制限する。複数の実施形態では、ヌクレアーゼ阻害剤は、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、又は小分子である。例示的なヌクレアーゼ阻害剤は、各々参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第２０２０／０８７３５４号、国際特許出願公開第２０１８／０８５２８８号、米国特許出願公開第２０１８／０３８２７４１号、国際特許出願公開第２０１９／０８９７６１号、国際特許出願公開第２０２０／０６８３０４号、国際特許出願公開第２０２０／０４１３８４号、及び国際特許出願公開第２０１９／０７６６５１号に記載されている。
【０１５１】
治療用ポリペプチド
複数の実施形態では、治療部分は、ポリペプチドを含む。複数の実施形態では、治療部分は、タンパク質又はその断片を含む。複数の実施形態では、治療部分は、ＲＮＡ結合タンパク質又はそのＲＮＡ結合断片を含む。複数の実施形態では、治療部分は、酵素を含む。複数の実施形態では、治療部分は、ＲＮＡ切断酵素又はその活性断片を含む。
【０１５２】
コンジュゲート基
複数の実施形態では、ＡＣは、１つ以上のコンジュゲート基の共有結合によって修飾される。一般に、コンジュゲート基は、薬力学、薬物動態、結合、吸収、細胞分布、細胞取り込み、電荷、及びクリアランスを含むが、これらに限定されない、結合したＡＣの１つ以上の特性を修飾する。コンジュゲート基は、化学分野で日常的に使用されており、ＡＣなどの親化合物に直接連結されるか、又は任意選択の連結部分若しくは連結基を介して連結される。コンジュゲート基としては、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、及び染料が挙げられるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、コンジュゲート基は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）であり、ＰＥＧは、ＡＣ又はＣＰＰのいずれかにコンジュゲートされる。
【０１５３】
コンジュゲート基には、脂質部分、例えば、コレステロール部分（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１９８９，８６，６５５３）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９４，４，１０５３）、チオエーテル、例えば、ヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（Ｍａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃ

ｉ．，１９９２，６６０，３０６、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９３，３，２７６５）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９２，２０，５３３）、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオール若しくはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．，１９９１，１０，１１１、Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．，１９９０，２５９，３２７、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，１９９３，７５，４９）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロール若しくはトリエチルアンモニウム－１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６，３６５１、Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９０，１８，３７７７）、ポリアミン若しくはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ＆ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１９９５，１４，９６９）、アダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６，３６５１）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，１９９５，１２６４，２２９）、又はオクタデシルアミン若しくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９６，２７７，９２３）が含まれる。

【０１５４】

連結基又は二官能性連結部分、例えば、当該技術分野で既知の連結基又は二官能性連結部分は、本明細書に提供される化合物に適している。連結基は、例えばＡＣなどの親化合物中の選択的部位への化学官能基、コンジュゲート基、レポーター基、及び他の基の結合に有用である。一般に、二官能性連結部分は、２つの官能基を有するヒドロカルビル部分を含む。これらの官能基の一方は、親分子又は目的とする化合物に結合するように選択され、他方は、化学官能基又はコンジュゲート基などの本質的に任意の選択された基に結合するように選択される。本明細書に記載のリンカーのうちのいずれかを使用することができる。複数の実施形態では、リンカーは、エチレングリコール又はアミノ酸単位などの繰り返し単位の鎖構造又はオリゴマーを含む。二官能性連結部分に日常的に使用される官能基の例としては、求核基と反応するための求電子剤及び求電子基と反応するための求核剤が挙げられるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、二官能性連結部分には、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、不飽和物（例えば、二重結合又は三重結合）が含まれる。二官能性連結部分のいくつかの非限定的な例としては、８－アミノ－３，６－ジオキサオクタン酸（ＡＤＯ）、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、及び６－アミノヘキサン酸（ＡＨＥＸ又はＡＨＡ）が挙げられる。他の連結基としては、置換Ｃ１－Ｃ１０アルキル、置換若しくは非置換Ｃ２－Ｃ１０アルケニル、又は置換若しくは非置換Ｃ２－Ｃ１０アルキニルが挙げられるが、これらに限定されず、置換基の非限定的なリストには、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルが含まれる。

【０１５５】

複数の実施形態では、ＡＣは、１０個のアルギニン－セリンジペプチドリピートに連結され得る。スプライシングエンハンサー因子の人工リクルートのための１０個のアルギニン－セリンジペプチドリピートに連結されたＡＣは、インビトロで適用され、さもなければスキップされるであろう変異ＢＲＣＡ１及びＳＭＮ２エクソンの包含を誘導する。参照により本明細書に組み込まれる、Ｃａｒｔｅｇｎｉ ａｎｄ Ｋｒａｉｎｅｒ ２００３を参照されたい。

【０１５６】

エンドソームエスケープビヒクル（ＥＥＶ）

エンドソームエスケープビヒクル（ＥＥＶ）を使用して、細胞膜を横切ってカーゴを輸

送する、例えば、カーゴを細胞のサイトゾル又は核に送達することができる。カーゴは、治療部分（ＴＭ）を含むことができる。ＥＥＶは、細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）、例えば、環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）を含むことができる。複数の実施形態では、ＥＥＶは、環外ペプチド（ＥＰ）にコンジュゲートされたｃＣＰＰを含む。ＥＰは、互換的に調節ペプチド（ＭＰ）と称され得る。ＥＰは、核局在化シグナル（ＮＬＳ）の配列を含むことができる。ＥＰは、カーゴにカップリングすることができる。ＥＰは、ｃＣＰＰにカップリングすることができる。ＥＰは、カーゴ及びｃＣＰＰにカップリングすることができる。ＥＰ、カーゴ、ｃＣＰＰ、又はそれらの組み合わせ間のカップリングは、非共有結合又は共有結合であり得る。ＥＰは、ペプチド結合を介してｃＣＰＰのＮ末端に結合することができる。ＥＰは、ペプチド結合を介してｃＣＰＰのＣ末端に結合することができる。ＥＰは、ｃＣＰＰ中のアミノ酸の側鎖を介してｃＣＰＰに結合することができる。ＥＰは、ｃＣＰＰ中のグルタミンの側鎖にコンジュゲートすることができるリジンの側鎖を介してｃＣＰＰに結合することができる。ＥＰは、オリゴヌクレオチドカーゴの５’末端又は３’末端にコンジュゲートすることができる。ＥＰは、リンカーにカップリングすることができる。環外ペプチドは、リンカーのアミノ基にコンジュゲートすることができる。ＥＰは、ｃＣＰＰ及び／又はＥＰ上の側鎖を介して、ＥＰ及びｃＣＰＰのＣ末端を介してリンカーにカップリングすることができる。例えば、ＥＰは、末端リジンを含んでもよく、その後、アミド結合を介してグルタミンを含むｃＣＰＰにカップリングすることができる。ＥＰが末端リシンを含み、かつリジンの側鎖を使用してｃＣＰＰに結合することができる場合、Ｃ末端又はＮ末端は、カーゴ上のリンカーに結合することができる。

【０１５７】

環外ペプチド

環外ペプチド（ＥＰ）は、２～１０個のアミノ酸残基、例えば、それらの間の全ての範囲及び値を含む、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０個のアミノ酸残基を含むことができる。ＥＰは、６～９個のアミノ酸残基を含むことができる。ＥＰは、４～８個のアミノ酸残基を含むことができる。

【０１５８】

環外ペプチド中のアミノ酸は各々、天然アミノ酸又は非天然アミノ酸であり得る。「非天然アミノ酸」という用語は、天然アミノ酸の構造及び反応性を模倣するように天然アミノ酸に類似した構造を有するという点で天然アミノ酸の同族体である有機化合物を指す。非天然アミノ酸は、２０個の一般的な天然に存在するアミノ酸のうちの１つでも、希少な天然アミノ酸であるセレノシステイン又はピロリシンでもない修飾アミノ酸及び／又はアミノ酸類似体とすることができる。非天然アミノ酸は、天然アミノ酸のＤ異性体とすることもできる。好適なアミノ酸の例としては、アラニン、アロソロイシン、アルギニン、シトルリン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、ナプチルアラニン、フェニルアラニン、プロリン、ピログルタミン酸、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、それらの誘導体、又はそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。これら及び他のアミノ酸が、本明細書で使用されるそれらの略語とともに表４に列記される。例えば、アミノ酸は、Ａ、Ｇ、Ｐ、Ｋ、Ｒ、Ｖ、Ｆ、Ｈ、Ｎａｌ、又はシトルリンとすることができる。

【０１５９】

ＥＰは、少なくとも１個の正に荷電したアミノ酸残基、例えば、グアニジン基を含む側鎖を含む少なくとも１個のリジン残基及び／若しくは少なくとも１個のアミン酸残基、又はそのプロトン化形態を含むことができる。ＥＰは、グアニジン基を含む側鎖を含む１個若しくは２個のアミノ酸残基、又はそのプロトン化形態を含み得る。グアニジン基を含む側鎖を含むアミノ酸残基は、アルギニン残基とすることができる。プロトン化形態は、本開示を通してその塩を意味することができる。

【０１６０】

ＥＰは、少なくとも２個、少なくとも３個、又は少なくとも４個以上のリジン残基を含

むことができる。ＥＰは、２、３、又は４個のリジン残基を含むことができる。各リジン残基の側鎖上のアミノ基は、例えば、トリフルオロアセチル（－ＣＯＣＦ$_3$）、アリルオキシカルボニル（Ａｌｌｏｃ）、１－（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキシリデン）エチル（Ｄｄｅ）、又は（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキサ－１－イリデン－３）－メチルブチル（ｉｖＤｄｅ）基を含む保護基で置換することができる。各リジン残基の側鎖上のアミノ基は、トリフルオロアセチル（－ＣＯＣＦ$_3$）基で置換することができる。保護基は、アミドコンジュゲーションを可能にするために含めることができる。保護基は、ＥＰがｃＣＰＰにコンジュゲートされた後に除去することができる。

【０１６１】

ＥＰは、疎水性側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸残基を含むことができる。疎水性側鎖を有するアミノ酸残基は、バリン、プロリン、アラニン、ロイシン、イソロイシン、及びメチオニンから選択することができる。疎水性側鎖を有するアミノ酸残基は、バリン又はプロリンとすることができる。

【０１６２】

ＥＰは、少なくとも１個の正に荷電したアミノ酸残基、例えば、少なくとも１個のリジン残基及び／又は少なくとも１個のアルギニン残基を含むことができる。ＥＰは、少なくとも２個、少なくとも３個、又は少なくとも４個以上のリジン残基及び／又はアルギニン残基を含むことができる。

【０１６３】

ＥＰは、ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＨＨ、ＨＫ、ＨＲ、ＲＨ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＨ、ＫＨＫ、ＨＫＫ、ＨＲＲ、ＨＲＨ、ＨＨＲ、ＨＢＨ、ＨＨＨ、ＨＨＨＨ（配列番号１）、ＫＨＫＫ（配列番号２）、ＫＫＨＫ（配列番号３）、ＫＫＫＨ（配列番号４）、ＫＨＫＨ（配列番号５）、ＨＫＨＫ（配列番号６）、ＫＫＫＫ（配列番号７）、ＫＫＲＫ（配列番号８）、ＫＲＫＫ（配列番号９）、ＫＲＲＫ（配列番号１０）、ＲＫＫＲ（配列番号１１）、ＲＲＲＲ（配列番号１２）、ＫＧＫＫ（配列番号１３）、ＫＫＧＫ（配列番号１４）、ＨＢＨＢＨ（配列番号１５）、ＨＢＫＢＨ（配列番号１６）、ＲＲＲＲＲ（配列番号１７）、ＫＫＫＫＫ（配列番号１８）、ＫＫＫＲＫ（配列番号１９）、ＲＫＫＫＫ（配列番号２０）、ＫＲＫＫＫ（配列番号２１）、ＫＫＲＫＫ（配列番号２２）、ＫＫＫＫＲ（配列番号２３）、ＫＢＫＢＫ（配列番号２４）、ＲＫＫＫＫＧ（配列番号２５）、ＫＲＫＫＫＧ（配列番号２６）、ＫＫＲＫＫＧ（配列番号２７）、ＫＫＫＫＲＧ（配列番号２８）、ＲＫＫＫＫＢ（配列番号２９）、ＫＲＫＫＫＢ（配列番号３０）、ＫＫＲＫＫＢ（配列番号３１）、ＫＫＫＫＲＢ（配列番号３２）、ＫＫＫＲＫＶ（配列番号３３）、ＲＲＲＲＲＲ（配列番号３４）、ＨＨＨＨＨＨ（配列番号３５）、ＲＨＲＨＲＨ（配列番号３６）、ＨＲＨＲＨＲ（配列番号３７）、ＫＲＫＲＫＲ（配列番号３８）、ＲＫＲＫＲＫ（配列番号３９）、ＲＢＲＢＲＢ（配列番号４０）、ＫＢＫＢＫＢ（配列番号４１）、ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）、ＰＧＫＫＲＫＶ（配列番号４３）、ＰＫＧＫＲＫＶ（配列番号４４）、ＰＫＫＧＲＫＶ（配列番号４５）、ＰＫＫＫＧＫＶ（配列番号４６）、ＰＫＫＫＲＧＶ（配列番号４７）、又はＰＫＫＫＲＫＧ（配列番号４８）を含むことができ、式中、Ｂがベーターアラニンである。ＥＰ中のアミノ酸は、Ｄ立体化学又はＬ立体化学を有することができる。

【０１６４】

ＥＰは、ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＫＫ（配列番号７）、ＫＫＲＫ（配列番号８）、ＫＲＫＫ（配列番号９）、ＫＲＲＫ（配列番号１０）、ＲＫＫＲ（配列番号１１）、ＲＲＲＲ（配列番号１２）、ＫＧＫＫ（配列番号１３）、ＫＫＧＫ（配列番号１４）、ＫＫＫＫＫ（配列番号１８）、ＫＫＫＲＫ（配列番号１９）、ＫＢＫＢＫ（配列番号２４）、ＫＫＫＲＫＶ（配列番号３３）、ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）、ＰＧＫＫＲＫＶ（配列番号４３）、ＰＫＧＫＲＫＶ（配列番号４４）、ＰＫＫＧＲＫＶ（配列番号４５）、ＰＫＫＫＧＫＶ（配列番号４６）、ＰＫＫＫＲＧＶ（配列番号４７）、又はＰＫＫＫＲＫＧ（配列番号４８）を含む

ことができる。ＥＰは、ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）、ＲＲ、ＲＲＲ、ＲＨＲ、ＲＢＲ、ＲＢＲＢＲ（配列番号４９）、ＲＢＨＢＲ（配列番号５０）、又はＨＢＲＢＨ（配列番号５１）を含むことができ、式中、Ｂがベーターアラニンである。ＥＰ中のアミノ酸は、Ｄ立体化学又はＬ立体化学を有することができる。

【０１６５】

ＥＰは、ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＫＫ（配列番号７）、ＫＫＲＫ（配列番号８）、ＫＲＫＫ（配列番号９）、ＫＲＲＫ（配列番号１０）、ＲＫＫＲ（配列番号１１）、ＲＲＲＲ（配列番号１２）、ＫＧＫＫ（配列番号１３）、ＫＫＧＫ（配列番号１４）、ＫＫＫＫＫ（配列番号１８）、ＫＫＫＲＫ（配列番号１９）、ＫＢＫＢＫ（配列番号２４）、ＫＫＫＲＫＶ（配列番号３３）、ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）、ＰＧＫＫＲＫＶ（配列番号Ｚ４３）、ＰＫＧＫＲＫＶ（配列番号Ｚ４４）、ＰＫＫＧＲＫＶ（配列番号Ｚ４５）、ＰＫＫＫＧＫＶ（配列番号４６）、ＰＫＫＫＲＧＶ（配列番号４７）、又はＰＫＫＫＲＫＧ（配列番号４８）からなることができる。ＥＰは、ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）、ＲＲ、ＲＲＲ、ＲＨＲ、ＲＢＲ、ＲＢＲＢＲ（配列番号４９）、ＲＢＨＢＲ（配列番号５０）、又はＨＢＲＢＨ（配列番号５１）からなることができ、式中、Ｂがベーターアラニンである。ＥＰ中のアミノ酸は、Ｄ立体化学又はＬ立体化学を有することができる。

【０１６６】

ＥＰは、当該技術分野で核局在化配列（ＮＬＳ）として特定されたアミノ酸配列を含むことができる。ＥＰは、当該技術分野で核局在化配列（ＮＬＳ）として特定されたアミノ酸配列からなることができる。ＥＰは、アミノ酸配列ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）を含むＮＬＳを含むことができる。ＥＰは、アミノ酸配列ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）を含むＮＬＳからなることができる。ＥＰは、ＮＬＳＫＲＰＡＡＩＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫ（配列番号５２）、ＰＡＡＫＲＶＫＬＤ（配列番号５３）、ＲＱＲＲＮＥＬＫＲＳＦ（配列番号５４）、ＲＭＲＫＦＫＮＫＧＫＤＴＡＥＬＲＲＲＲＶＥＶＳＶＥＬＲ（配列番号Ｚ５５）、ＫＡＫＫＤＥＱＩＬＫＲＲＮＶ（配列番号５６）、ＶＳＲＫＲＰＲＰ（配列番号５７）、ＰＰＫＫＡＲＥＤ（配列番号５８）、ＰＱＰＫＫＫＰＬ（配列番号５９）、ＳＡＬＩＫＫＫＫＫＭＡＰ（配列番号６０）、ＤＲＬＲＲ（配列番号６１）、ＰＫＱＫＫＲＫ（配列番号６２）、ＲＫＬＫＫＫＩＫＫＬ（配列番号６３）、ＲＥＫＫＫＦＬＫＲＲ（配列番号６４）、ＫＲＫＧＤＥＶＤＧＶＤＥＶＡＫＫＫＳＫＫ（配列番号６５）、及びＲＫＣＬＱＡＧＭＮＬＥＡＲＫＴＫＫ（配列番号６６）から選択されるアミノ酸配列を含むＮＬＳを含むことができる。ＥＰは、ＮＬＳＫＲＰＡＡＩＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫ（配列番号５２）、ＰＡＡＫＲＶＫＬＤ（配列番号５３）、ＲＱＲＲＮＥＬＫＲＳＦ（配列番号５４）、ＲＭＲＫＦＫＮＫＧＫＤＴＡＥＬＲＲＲＲＶＥＶＳＶＥＬＲ（配列番号５５）、ＫＡＫＫＤＥＱＩＬＫＲＲＮＶ（配列番号５６）、ＶＳＲＫＲＰＲＰ（配列番号５７）、ＰＰＫＫＡＲＥＤ（配列番号５８）、ＰＱＰＫＫＫＰＬ（配列番号５９）、ＳＡＬＩＫＫＫＫＭＡＰ（配列番号６０）、ＤＲＬＲＲ（配列番号６１）、ＰＫＱＫＫＲＫ（配列番号６２）、ＲＫＬＫＫＫＩＫＫＬ（配列番号６３）、ＲＥＫＫＫＦＬＫＲＲ（配列番号６４）、ＫＲＫＧＤＥＶＤＧＶＤＥＶＡＫＫＫＳＫＫ（配列番号６５）、及びＲＫＣＬＱＡＧＭＮＬＥＡＲＫＴＫＫ（配列番号６６）から選択されるアミノ酸配列を含むＮＬＳからなることができる。

【０１６７】

全ての環外配列は、Ｎ末端アセチル基も含むことができる。したがって、例えば、ＥＰは、以下の構造：Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）を有することができる。

【０１６８】

細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）

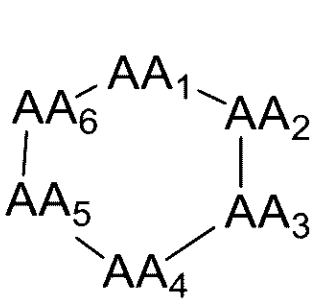
細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）は、６～２０個のアミノ酸残基を含むことができる。細胞膜透過性ペプチドは、環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）とすることができる。ｃＣＰＰは、細胞膜を透過することができる。環外ペプチド（ＥＰ）は、ｃＣＰＰにコンジュゲートすることができ、結果として生じる構築物は、エンドソームエスケープビヒク

ル（ＥＥＶ）と称することができる。ｃＣＰＰは、細胞膜を透過するようにカーゴ（例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、又は小分子などの治療部分（ＴＭ））を指示することができる。ｃＣＰＰは、カーゴを細胞のサイトゾルに送達することができる。ｃＣＰＰは、カーゴを標的（例えば、プレｍＲＮＡ）が位置する細胞位置に送達することができる。ｃＣＰＰをカーゴ（例えば、ペプチド、オリゴヌクレオチド、又は小分子）にコンジュゲートするために、ｃＣＰＰ上の電子の少なくとも１つの結合又は孤立対を置き換えることができる。

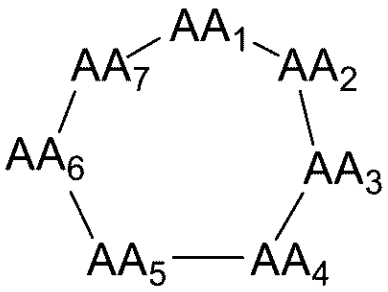
【０１６９】

ｃＣＰＰ中のアミノ酸残基の総数は、６～２０個のアミノ酸残基、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、又は２０個のアミノ酸残基の範囲である。ｃＣＰＰは、６～１３個のアミノ酸残基を含むことができる。本明細書に開示されるｃＣＰＰは、６～１０個のアミノ酸を含むことができる。一例として、６～１０個のアミノ酸残基を含むｃＣＰＰは、式Ｉ－Ａ～Ｉ－Ｅ：

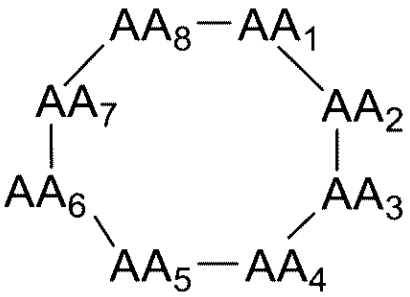
【化９】



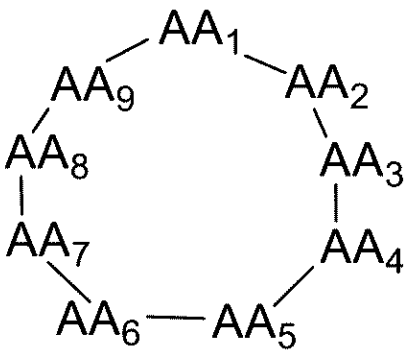
I-A、



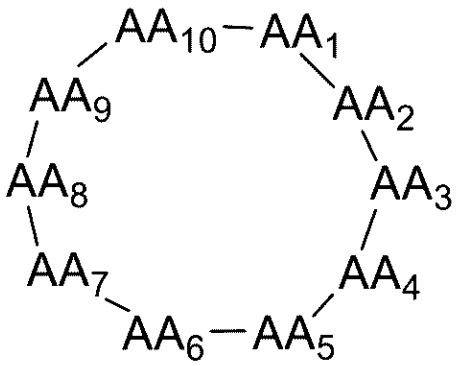
I-B、



I-C、



I-D、又は



I-E

のうちのいずれかに従う構造を有することができ、式中、ＡＡ$_1$、ＡＡ$_2$、ＡＡ$_3$、ＡＡ$_4$、ＡＡ$_5$、ＡＡ$_6$、ＡＡ$_7$、ＡＡ$_8$、ＡＡ$_9$、及びＡＡ$_{10}$がアミノ酸残基である。

【０１７０】

ｃＣＰＰは、６～８個のアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、８個のアミノ酸を含むことができる。

【０１７１】

ｃＣＰＰ中のアミノ酸は各々、天然アミノ酸又は非天然アミノ酸であり得る。「非天然アミノ酸」という用語は、天然アミノ酸の構造及び反応性を模倣するように天然アミノ酸に類似した構造を有するという点で天然アミノ酸の同族体である有機化合物を指す。非天然アミノ酸は、２０個の一般的な天然に存在するアミノ酸のうちの１つでも、希少な天然アミノ酸であるセレノシステイン又はピロリシンでもない修飾アミノ酸及び／又はアミノ

酸類似体とすることができる。非天然アミノ酸は、天然アミノ酸のＤ異性体とすることもできる。好適なアミノ酸の例としては、アラニン、アロソロイシン、アルギニン、シトルリン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、ナプチルアラニン、フェニルアラニン、プロリン、ピログルタミン酸、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、それらの誘導体、又はそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。これら及び他のアミノ酸が、本明細書で使用されるそれらの略語とともに表５に列記される。

【表４】

表４．アミノ酸略語

アミノ酸	略語* L-アミノ酸	略語* D-アミノ酸
2-[2-[2-アミノエトキシ]エトキシ]酢酸	AEEA、ミニ PEG、PEG2	NA
アラニン	Ala(A)	ala(a)
アロイソロイシン	Aile	Aile
アルギニン	Arg(R)	arg(r)
アスパラギン	Asn(N)	asn(n)
アスパラギン酸	Asp(D)	asp(d)
システイン	Cys(C)	cys(c)
シトルリン	Cit	Cit
シクロヘキシルアラニン	Cha	cha
2,3-ジアミノプロピオン酸	Dap	dap
4-フルオロフェニルアラニン	Fpa(Σ)	pfa
グルタミン酸	Glu(E)	glu(e)
グルタミン	Gln(Q)	gln(q)
グリシン	Gly(G)	gly(g)
ヒスチジン	His(H)	his(h)
ホモプロリン(別名、ピペコール酸)	Pip(Θ)	pip(e)
イソロイシン	Ile(I)	ile(i)
ロイシン	Leu(L)	leu(l)
リジン	Lys(K)	lys(k)
メチオニン	Met(M)	met(m)
3-(2-ナフチル)-アラニン	Nal(Φ)	nal(ϕ)
3-(1-ナフチル)-アラニン	1-Nal	1-nal
ノルロイシン	Nle(Ω)	nle
フェニルアラニン	Phe(F)	phe(f)
フェニルグリシン	Phg(Ψ)	phg
4-(ホスホノジフルオロメチル)フェニルアラニン	F_2Pmp(Λ)	$f_2$pmp
プロリン	Pro(P)	pro(p)
サルコシン	Sar(Ξ)	sar
セレノシステイン	Sec(U)	sec(u)
セリン	Ser(S)	ser(s)
トレオニン	Thr(T)	thr(y)
チロシン	Tyr(Y)	tyr(y)
トリプトファン	Trp(W)	trp(w)
バリン	Val(V)	val(v)
tert-ブチル-アラニン	Tle	tle
ペニシラミン	Pen	Pen
ホモアルギニン	ホモ Arg	ホモ arg
ニコチニル-リジン	Lys(NIC)	lys(NIC)
トリフロロアセチル-リジン	Lys(TFA)	lys(TFA)
メチル-ロイシン	MeLeu	meLeu
3-(3-ベンゾチエニル)-アラニン	Bta	bta
*一文字略語:大文字がL-アミノ酸形態を示し、小文字がD-アミノ酸形態を示す。		

【０１７２】

本明細書で使用される場合、「ポリエチレングリコール」及び「ＰＥＧ」は互換的に使用される。「ＰＥＧm」及び「ＰＥＧ$_m$」は、式ＨＯ（ＣＯ）－（ＣＨ$_2$）$_n$－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_m$－ＮＨ$_2$の分子であるか、又はそれに由来し、式中、ｎが１～５の任意の整数であり、ｍが１～２３の任意の整数である。複数の実施形態では、ｎは１又は２である。複数の実施形態では、ｎは１である。複数の実施形態では、ｎは２である。複数の実施形態では、ｎは１であり、ｍは２である。複数の実施形態では、ｎは２であり、ｍは２である。複数の実施形態では、ｎは１であり、ｍは４である。複数の実施形態では、ｎは２であり、ｍは４である。複数の実施形態では、ｎは１であり、ｍは１２である。複数の実施形態では、ｎは２であり、ｍは１２である。

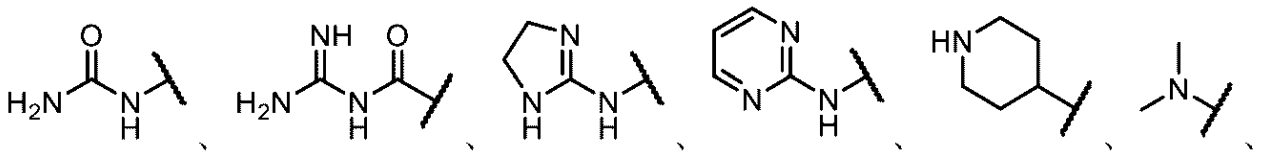
【０１７３】

本明細書で使用される場合、「ミニＰＥＧm」又は「ミニＰＥＧ$_m$」は、式ＨＯ（ＣＯ）－（ＣＨ$_2$）$_n$－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_m$－ＮＨ$_2$の分子であるか、又はそれに由来し、式中、ｎが１であり、ｍが１～２３の任意の整数である。例えば、「ミニＰＥＧ２」又は「ミニＰＥＧ$_2$」は、（２－［２－［２－アミノエトキシ］エトキシ］酢酸）であるか、又はそれに由来し、「ミニＰＥＧ４」又は「ミニＰＥＧ$_4$」は、ＨＯ（ＣＯ）－（ＣＨ$_2$）$_n$－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_m$－ＮＨ$_2$であるか、又はそれに由来し、式中、ｎが１であり、ｍが４である。

【０１７４】

ｃＣＰＰは、４～２０個のアミノ酸を含むことができ、（ｉ）少なくとも１個のアミノ酸がグアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有し、（ｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸が側鎖を有しないか、又は

【化１０】

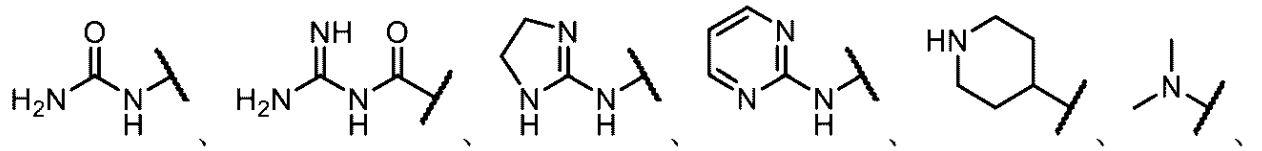


若しくはそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有し、（ｉｉｉ）少なくとも２個のアミノ酸が独立して、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する。

【０１７５】

少なくとも２個のアミノ酸は、側鎖を有しないか、又は

【化１１】



若しくはそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有する。本明細書で使用される場合、側鎖が存在しない場合、アミノ酸は、アミンとカルボン酸を連結する炭素原子（例えば、－ＣＨ$_2$－）上に２個の水素原子を有する。

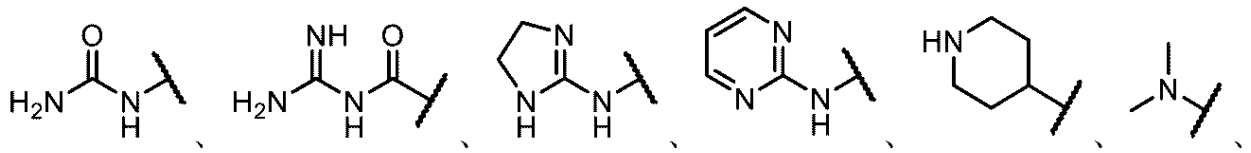
【０１７６】

側鎖を有しないアミノ酸は、グリシン又はβ－アラニンとすることができる。

【０１７７】

ｃＣＰＰは、ｃＣＰＰを形成する６～２０個のアミノ酸残基を含むことができ、（ｉ）少なくとも１個のアミノ酸が、グリシン、β－アラニン、又は４－アミノ酪酸残基とすることができ、（ｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸がアリール又はヘテロアリール基を含む側鎖を有することができ、（ｉｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸が、グアニジン基、

【化１２】

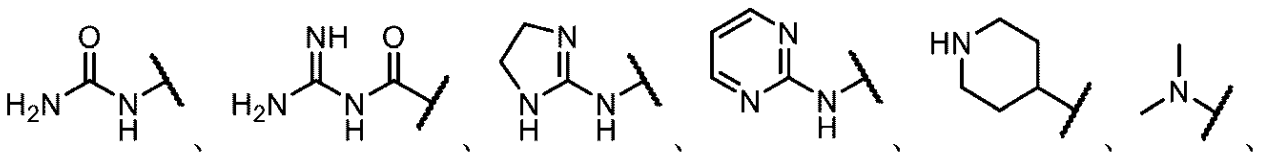


又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有する。

【０１７８】

ｃＣＰＰは、ｃＣＰＰを形成する６～２０個のアミノ酸残基を含むことができ、（ｉ）少なくとも２個のアミノ酸が独立して、グリシン、β－アラニン、又は４－アミノ酪酸残基とすることができ、（ｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸がアリール又はヘテロアリール基を含む側鎖を有することができ、（ｉｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸が、グアニジン基、

【化１３】

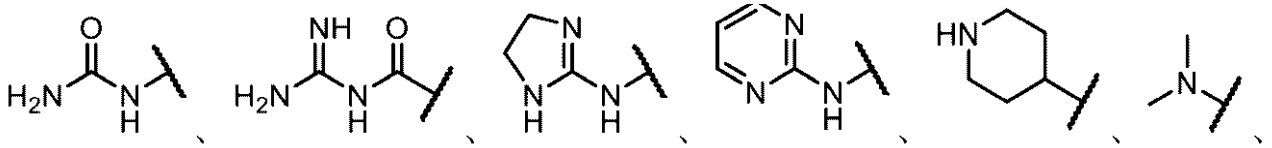


又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有する。

【０１７９】

ｃＣＰＰは、ｃＣＰＰを形成する６～２０個のアミノ酸残基を含むことができ、（ｉ）少なくとも３個のアミノ酸が独立して、グリシン、β－アラニン、又は４－アミノ酪酸残基とすることができ、（ｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸が芳香族又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有することができ、（ｉｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸が、グアニジン基、

【化１４】



又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。

【０１８０】

グリシン及び関連アミノ酸残基

ｃＣＰＰは、（ｉ）１、２、３、４、５、又は６個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）２個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）４個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）５個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）６個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３、４、又は５個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個又は４個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。

【０１８１】

ｃＣＰＰは、（ｉ）１、２、３、４、５、又は６個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）２個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）４個のグリシン残基を含むこと

ができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）５個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）６個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３、４、又は５個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個又は４個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）２個又は３個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）１個又は２個のグリシン残基を含むことができる。

【０１８２】

ｃＣＰＰは、（ｉ）３、４、５、又は６個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）４個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）５個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）６個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３、４、又は５個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個又は４個のグリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸残基、又はそれらの組み合わせを含むことができる。

【０１８３】

ｃＣＰＰは、少なくとも３個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３、４、５、又は６個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）４個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）５個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）６個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３、４、又は５個のグリシン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉ）３個又は４個のグリシン残基を含むことができる。

【０１８４】

複数の実施形態では、ｃＣＰＰ中のグリシン残基、β－アラニン残基、又は４－アミノ酪酸残基はいずれも連続していない。２個又は３個のグリシン、β－アラニン、４－又はアミノ酪酸残基は、連続していることがあり得る。２個のグリシン残基、β－アラニン残基、又は４－アミノ酪酸残基は、連続していることがあり得る。

【０１８５】

複数の実施形態では、ｃＣＰＰ中のグリシン残基はいずれも連続していない。ｃＣＰＰ中のグリシン残基は各々、グリシンとすることができないアミノ酸残基によって分離することができる。２個又は３個のグリシン残基は、連続していることがあり得る。２個のグリシン残基は、連続していることがあり得る。

【０１８６】

芳香族基又はヘテロ芳香族基を有するアミノ酸側鎖

ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する２、３、４、５、又は６個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する２個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する３個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する４個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する５個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する６個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する２、３、又は４個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を独立して有する２個又は３個のアミノ酸残基を含むことができる。

【０１８７】

ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する２、３、４、５、又は６個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する２個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する３個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する４個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する５個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する６個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する２、３、又は４個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉ）芳香族基を含む側鎖を独立して有する２個又は３個のアミノ酸残基を含むことができる。

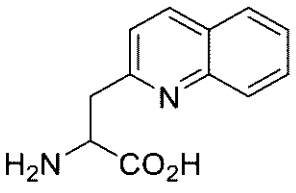
【０１８８】

芳香族基は、６～１４員アリールとすることができる。アリールは、各々任意選択で置換される、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルとすることができる。アリールは、各々任意選択で置換される、フェニル又はナフチルとすることができる。ヘテロ芳香族基は、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１、２、又は３個のヘテロ原子を有する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。ヘテロアリールは、ピリジル、キノリル、又はイソキノリルとすることができる。

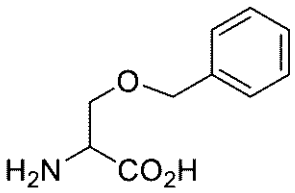
【０１８９】

芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、各々１つ以上の置換基で任意選択で置換される、ビス（ホモナフチルアラニン）、ホモナフチルアラニン、ナフチルアラニン、フェニルグリシン、ビス（ホモフェニルアラニン）、ホモフェニルアラニン、フェニルアラニン、トリプトファン、３－（３－ベンゾチエニル）－アラニン、３－（２－キノリル）－アラニン、Ｏ－ベンジルセリン、３－（４－（ベンジルオキシ）フェニル）－アラニン、Ｓ－（４－メチルベンジル）システイン、Ｎ－（ナフタレン－２－イル）グルタミン、３－（１，１’－ビフェニル－４－イル）－アラニン、３－（３－ベンゾチエニル）－アラニン、又はチロシンとすることができる。芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸は各々独立して、

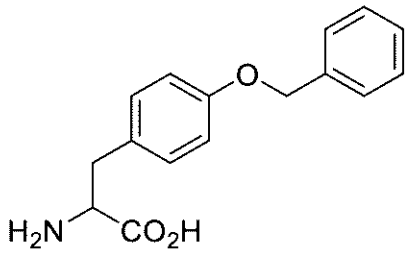
【化１５】



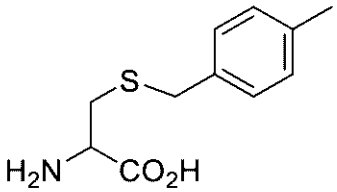
3-(2-キノリル)-アラニン、



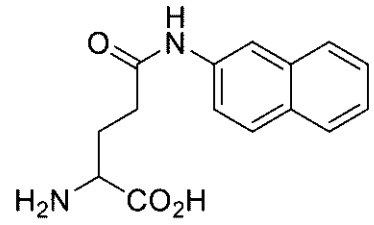
O-ベンジルセリン、



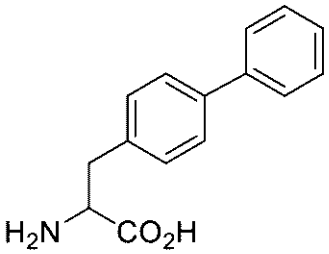
3-(4-(ベンジルオキシ)フェニル)-アラニン、



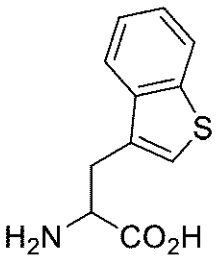
S-(4-メチルベンジル)システイン、



N^{5}-(ナフタレン-2-イル)グルタミン、



3-(1,1’-ビフェニル-4-イル)-アラニン、及び



3-(3-ベンゾチエニル)-アラニン

から選択することができ、式中、Ｎ末端上のＨ及び／又はＣ末端上のＨがペプチド結合によって置き換えられる。

【０１９０】

芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、各々１つ以上の置換基で任意選択で置換される、フェニルアラニン、ナフチルアラニン、フェニルグリシン、ホモフェニルアラニン、ホモナフチルアラニン、ビス（ホモフェニルアラニン）、ビス－（ホモナフチルアラニン）、トリプトファン、又はチロシン残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、チロシン、フェニルアラニン、１－ナフチルアラニン、２－ナフチルアラニン、トリプトファン、３－ベンゾチエニルアラニン、４－フェニルフェニルアラニン、３，４－ジフルオロフェニルアラニン、４－トリフルオロメチルフェニルアラニン、２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、β－ホモフェニルアラニン、４－ｔｅｒｔ－

ブチル－フェニルアラニン、４－ピリジニルアラニン、３－ピリジニルアラニン、４－メチルフェニルアラニン、４－フルオロフェニルアラニン、４－クロロフェニルアラニン、３－（９－アントリル）－アラニン残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、各々１つ以上の置換基で任意選択で置換される、フェニルアラニン、ナフチルアラニン、フェニルグリシン、ホモフェニルアラニン、又はホモナフチルアラニン残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、各々１つ以上の置換基で任意選択で置換される、フェニルアラニン、ナフチルアラニン、ホモフェニルアラニン、ホモナフチルアラニン、ビス（ホモナフチルアラニン）、又はビス（ホモナフチルアラニン）残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、各々１つ以上の置換基で任意選択で置換される、フェニルアラニン又はナフチルアラニン残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有する少なくとも１個のアミノ酸残基は、フェニルアラニン残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸残基は、フェニルアラニン残基とすることができる。芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々、フェニルアラニン残基とすることができる。

【０１９１】

複数の実施形態では、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸はいずれも連続していない。芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する２個のアミノ酸は、連続していることがあり得る。２個の連続したアミノ酸は、反対の立体化学を有することができる。２個の連続したアミノ酸は、同じ立体化学を有することができる。芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する３個のアミノ酸は、連続していることがあり得る。３個の連続したアミノ酸は、同じ立体化学を有することができる。３個の連続したアミノ酸は、交互の立体化学を有することができる。

【０１９２】

芳香族基又はヘテロ芳香族基を含むアミノ酸残基は、Ｌ－アミノ酸とすることができる。芳香族基又はヘテロ芳香族基を含むアミノ酸残基は、Ｄ－アミノ酸とすることができる。芳香族基又はヘテロ芳香族基を含むアミノ酸残基は、Ｄ－アミノ酸とＬ－アミノ酸の混合物とすることができる。

【０１９３】

任意選択の置換基は、例えば、その置換基を有しない以外は同一の配列と比較して、ｃＣＰＰの細胞質送達効率を有意に（例えば、５０％を超えて）低下させない任意の原子又は基とすることができる。任意選択の置換基は、疎水性置換基又は親水性置換基とすることができる。任意選択の置換基は、疎水性置換基とすることができる。この置換基は、疎水性アミノ酸の溶媒アクセス可能表面積（本明細書に定義される）を増加させることができる。この置換基は、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、アリールオキシ、アシル、アルキルカルバモイル、アルキルカルボキサミジル、アルコキシカルボニル、アルキルチオ、又はアリールチオとすることができる。この置換基は、ハロゲンとすることができる。

【０１９４】

理論に束縛されることは望まないが、より高い疎水性値を有する芳香族基又はヘテロ芳香族基を有するアミノ酸（すなわち、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸）は、より低い疎水性値を有するアミノ酸と比較して、ｃＣＰＰの細胞質送達効率を改善することができると考えられている。疎水性アミノ酸は各々独立して、グリシンの疎水性値を超える疎水性値を有することができる。疎水性アミノ酸は各々独立して、アラニンの疎水性値を超える疎水性値を有する疎水性アミノ酸とすることができる。疎水性アミノ酸は各々独立して、フェニルアラニン以上の疎水性値を有することができる。疎水性は、当該技術分野で既知の疎水性尺度を使用して測定され得る。表５は、各々参照により全体が本明細書に組み込まれる、Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｗｅｉｓｓ（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．１９８４；８１（１）：１４０－１４４）、

Ｅｎｇｌｅｍａｎ，ｅｔ ａｌ．（Ａｎｎ．Ｒｅｖ．ｏｆ Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｃｈｅｍ．１９８６；１９８６（１５）：３２１－５３）、Ｋｙｔｅ ａｎｄ Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９８２；１５７（１）：１０５－１３２）、Ｈｏｏｐ ａｎｄ Ｗｏｏｄｓ（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．１９８１；７８（６）：３８２４－３８２８）、及びＪａｎｉｎ（Ｎａｔｕｒｅ．１９７９；２７７（５６９６）：４９１－４９２）によって報告された様々なアミノ酸の疎水性値を列記する。疎水性は、Ｅｎｇｌｅｍａｎ，ｅｔ ａｌ．で報告された疎水性尺度を使用して測定することができる。

【表５】

表５．アミノ酸疎水性

アミノ酸	基	Eisenberg and Weiss	Engleman et al.	Kyrie and Doolittle	Hoop and Woods	Janin
Ile	非極性	0.73	3.1	4.5	-1.8	0.7
Phe	非極性	0.61	3.7	2.8	-2.5	0.5
Val	非極性	0.54	2.6	4.2	-1.5	0.6
Leu	非極性	0.53	2.8	3.8	-1.8	0.5
Trp	非極性	0.37	1.9	-0.9	-3.4	0.3
Met	非極性	0.26	3.4	1.9	-1.3	0.4
Ala	非極性	0.25	1.6	1.8	-0.5	0.3
Gly	非極性	0.16	1.0	-0.4	0.0	0.3
Cys	非荷電/極性	0.04	2.0	2.5	-1.0	0.9
Tyr	非荷電/極性	0.02	-0.7	-1.3	-2.3	-0.4
Pro	非極性	-0.07	-0.2	-1.6	0.0	-0.3
Thr	非荷電/極性	-0.18	1.2	-0.7	-0.4	-0.2
Ser	非荷電/極性	-0.26	0.6	-0.8	0.3	-0.1
His	荷電	-0.40	-3.0	-3.2	-0.5	-0.1
Glu	荷電	-0.62	-8.2	-3.5	3.0	-0.7
Asn	非荷電/極性	-0.64	-4.8	-3.5	0.2	-0.5
Gln	非荷電/極性	-0.69	-4.1	-3.5	0.2	-0.7
Asp	荷電	-0.72	-9.2	-3.5	3.0	-0.6
Lys	荷電	-1.10	-8.8	-3.9	3.0	-1.8
Arg	荷電	-1.80	-12.3	-4.5	3.0	-1.4

【０１９５】

芳香族基又はヘテロ芳香族基のサイズを選択して、ｃＣＰＰの細胞質送達効率を改善することができる。理論に束縛されることは望まないが、アミノ酸の側鎖上のより大きい芳香族基又はヘテロ芳香族基は、より小さい疎水性アミノ酸を有する以外は同一の配列と比較して、細胞質送達効率を改善し得ると考えられている。疎水性アミノ酸のサイズは、疎水性アミノ酸の分子量、疎水性アミノ酸の立体効果、側鎖の溶媒アクセス可能表面積（ＳＡＳＡ）、又はそれらの組み合わせの観点から測定することができる。疎水性アミノ酸のサイズは、疎水性アミノ酸の分子量の観点から測定することができ、より大きい疎水性アミノ酸は、少なくとも約９０ｇ／ｍｏｌ、又は少なくとも約１３０ｇ／ｍｏｌ、又は少なくとも約１４１ｇ／ｍｏｌの分子量を有する側鎖を有する。アミノ酸のサイズは、疎水性側鎖のＳＡＳＡの観点から測定することができる。疎水性アミノ酸は、アラニン以上又はグリシン以上のＳＡＳＡを有する側鎖を有することができる。より大きい疎水性アミノ酸は、アラニン超又はグリシン超のＳＡＳＡを有する側鎖を有することができる。疎水性アミノ酸は、約ピペリジン－２－カルボン酸以上、約トリプトファン以上、約フェニルアラニン以上、又は約ナフチルアラニン以上のＳＡＳＡを有する芳香族基又はヘテロ芳香族基

を有することができる。第１の疎水性アミノ酸（AA_{H1}）は、少なくとも約２００Å^2、少なくとも約２１０Å^2、少なくとも約２２０Å^2、少なくとも約２４０Å^2、少なくとも約２５０Å^2、少なくとも約２６０Å^2、少なくとも約２７０Å^2、少なくとも約２８０Å^2、少なくとも約２９０Å^2、少なくとも約３００Å^2、少なくとも約３１０Å^2、少なくとも約３２０Å^2、又は少なくとも約３３０Å^{2}のＳＡＳＡを有する側鎖を有することができる。第２の疎水性アミノ酸（AA_{H2}）は、少なくとも約２００Å^2、少なくとも約２１０Å^2、少なくとも約２２０Å^2、少なくとも約２４０Å^2、少なくとも約２５０Å^2、少なくとも約２６０Å^2、少なくとも約２７０Å^2、少なくとも約２８０Å^2、少なくとも約２９０Å^2、少なくとも約３００Å^2、少なくとも約３１０Å^2、少なくとも約３２０Å^2、又は少なくとも約３３０Å^{2}のＳＡＳＡを有する側鎖を有することができる。AA_{H1}の側鎖及びAA_{H2}の側鎖は、少なくとも約３５０Å^2、少なくとも３６０Å^2、少なくとも３７０Å^2、少なくとも３８０Å^2、少なくとも３９０Å^2、少なくとも４００Å^2、少なくとも４１０Å^2、少なくとも４２０Å^2、少なくとも４３０Å^2、少なくとも４４０Å^2、少なくとも４５０Å^2、少なくとも４６０Å^2、少なくとも４７０Å^2、少なくとも４８０Å^2、少なくとも４９０Å^2、約５００Å^{2}超、少なくとも約５１０Å^2、少なくとも約５２０Å^2、少なくとも約５３０Å^2、少なくとも約５４０Å^2、少なくとも約５５０Å^2、少なくとも約５６０Å^2、少なくとも約５７０Å^2、少なくとも約５８０Å^2、少なくとも約５９０Å^2、少なくとも約６００Å^2、少なくとも約６１０Å^2、少なくとも約６２０Å^2、少なくとも約６３０Å^2、少なくとも約６４０Å^2、約６５０Å^{2}超、少なくとも約６６０Å^2、少なくとも約６７０Å^2、少なくとも約６８０Å^2、少なくとも約６９０Å^2、又は少なくとも約７００Å^{2}のＳＡＳＡ組み合わせを有することができる。AA_{H2}は、AA_{H1}の疎水性側鎖のＳＡＳＡ以下のＳＡＳＡを有する側鎖を有する疎水性アミノ酸残基とすることができる。例であって、限定されるものではないが、Ｎａｌ－Ａｒｇモチーフを有するｃＣＰＰは、Ｐｈｅ－Ａｒｇモチーフを有する以外は同一のｃＣＰＰと比較して改善された細胞質送達効率を呈し得、Ｐｈｅ－Ｎａｌ－Ａｒｇモチーフを有するｃＣＰＰは、Ｎａｌ－Ｐｈｅ－Ａｒｇモチーフを有する以外は同一のｃＣＰＰと比較して改善された細胞質送達効率を呈し得、Ｐｈｅ－Ｎａｌ－Ａｒｇモチーフは、Ｎａｌ－Ｐｈｅ－Ａｒｇモチーフを有する以外は同一のｃＣＰＰと比較して改善された細胞質送達効率を呈し得る。

【０１９６】

本明細書で使用される場合、「疎水性表面積」又は「ＳＡＳＡ」とは、溶媒にアクセス可能なアミノ酸側鎖の表面積（平方オングストローム、Å^{2}として報告される）を指す。ＳＡＳＡは、全ての目的のために参照により全体が本明細書に組み込まれる、Ｓｈｒａｋｅ　＆　Ｒｕｐｌｅｙ（Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ．７９（２）：３５１－７１）によって開発された「ローリングボール」アルゴリズムを使用して計算することができる。このアルゴリズムは、特定の半径の溶媒の「球体」を使用して、分子の表面をプローブする。球体の典型的な値は１．４Åであり、これは水分子の半径に近似する。

【０１９７】

ある特定の側鎖のＳＡＳＡ値が以下の表６に示される。本明細書に記載のＳＡＳＡ値は、全ての目的のために参照により全体が本明細書に組み込まれる、Ｔｉｅｎ，ｅｔ　ａｌ．（ＰＬＯＳ　ＯＮＥ　８（１１）：ｅ８０６３５、ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１３７１／ｊｏｕｒｎａｌ．ｐｏｎｅ．００８０６３５で入手可能）によって報告されたように、表６に列記される理論値に基づく。

【表６】

表６．アミノ酸ＳＡＳＡ値

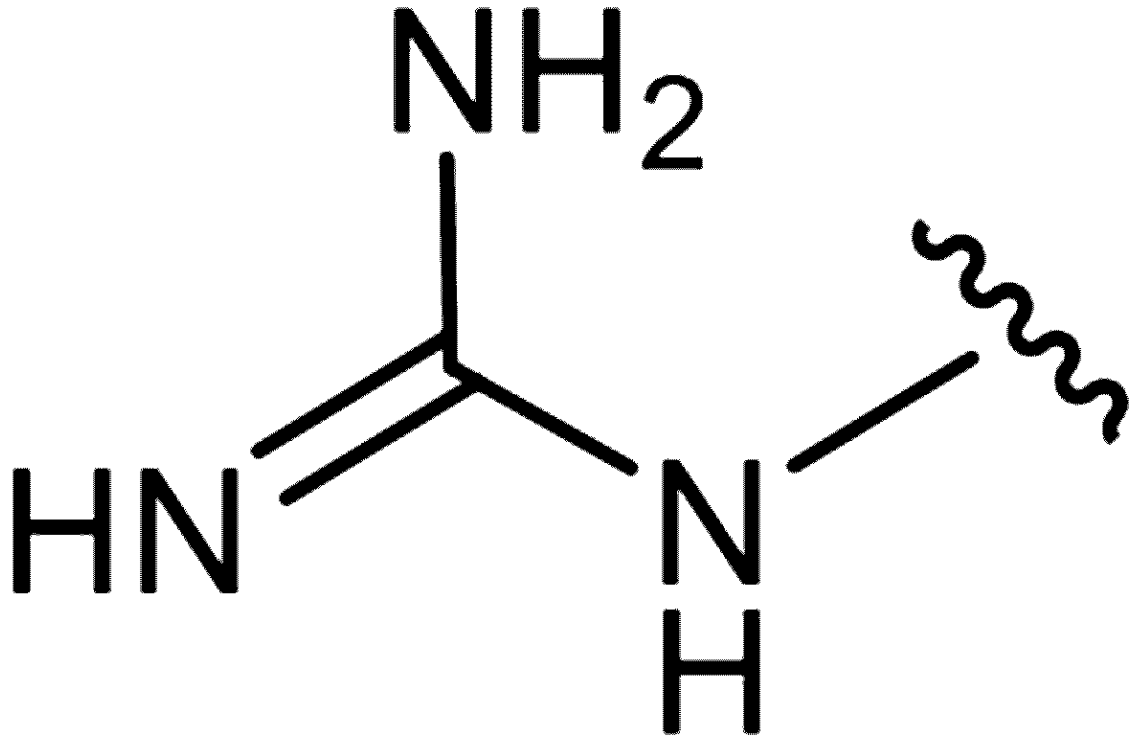
残基	理論値	経験値	Miller *et al.*(1987)	Rose *et al.*(1985)
アラニン	129.0	121.0	113.0	118.1
アルギニン	274.0	265.0	241.0	256.0
アスパラギン	195.0	187.0	158.0	165.5
アスパラギン酸	193.0	187.0	151.0	158.7
システイン	167.0	148.0	140.0	146.1
グルタミン酸	223.0	214.0	183.0	186.2
グルタミン	225.0	214.0	189.0	193.2
グリシン	104.0	97.0	85.0	88.1
ヒスチジン	224.0	216.0	194.0	202.5
イソロイシン	197.0	195.0	182.0	181.0
ロイシン	201.0	191.0	180.0	193.1
リジン	236.0	230.0	211.0	225.8
メチオニン	224.0	203.0	204.0	203.4
フェニルアラニン	240.0	228.0	218.0	222.8
プロリン	159.0	154.0	143.0	146.8
セリン	155.0	143.0	122.0	129.8
トレオニン	172.0	163.0	146.0	152.5
トリプトファン	285.0	264.0	259.0	266.3
チロシン	263.0	255.0	229.0	236.8
バリン	174.0	165.0	160.0	164.5

【０１９８】

グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸残基

本明細書で使用される場合、グアニジンは、以下の構造を指す。

【化１６】

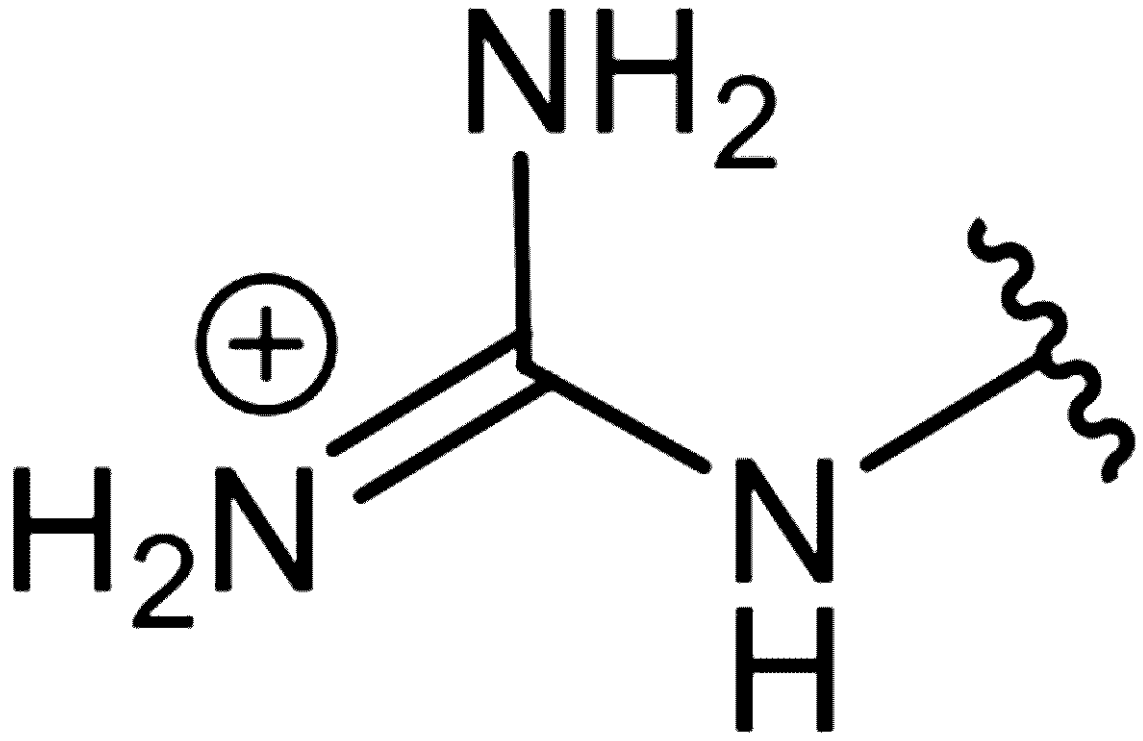


。

【０１９９】

本明細書で使用される場合、グアニジンのプロトン化形態は、以下の構造を指す。

【化１７】



。

【０２００】

グアニジン置換基は、生理学的ｐＨ以上で正に荷電されるアミノ酸の側鎖上の官能基、又はグアニジニウム基の活性を供与して受け入れる水素結合を再現することができるアミノ酸の側鎖上の官能基を指す。

【０２０１】

グアニジン置換基は、グアニジン基又はそのプロトン化形態に関連する毒性を減少させながら、治療剤の細胞浸透及び送達を容易にする。ｃＣＰＰは、グアニジン置換基又はグアニジニウム置換基を含む側鎖を有する少なくとも１個のアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、グアニジン置換基又はグアニジニウム置換基を含む側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、グアニジン置換基又はグアニジニウム置換基を含む側鎖を有する少なくとも３個のアミノ酸を含むことができる。

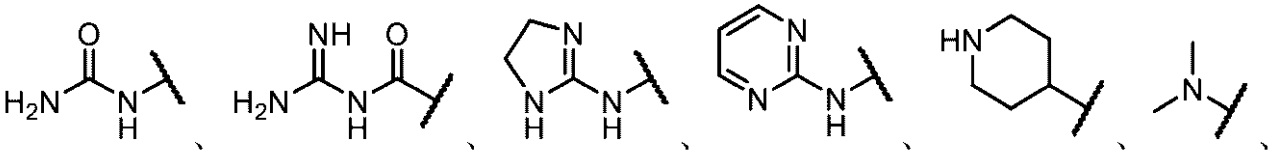
【０２０２】

グアニジン基又はグアニジニウム基は、グアニジン又はグアニジニウムのアイソスターとすることができる。グアニジン置換基又はグアニジニウム置換基は、グアニジンよりも塩基性が低い可能性がある。

【０２０３】

本明細書で使用される場合、グアニジン置換基とは、

【化１８】

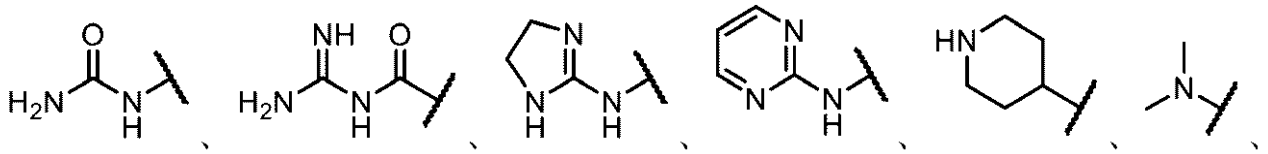


又はそれらのプロトン化形態を指す。

【０２０４】

本開示は、４～２０個のアミノ酸残基を含むｃＣＰＰに関し、ここで、（ｉ）少なくとも１個のアミノ酸がグアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有し、（ｉｉ）少なくとも１個のアミノ酸残基が側鎖を有しないか、又は

【化１９】

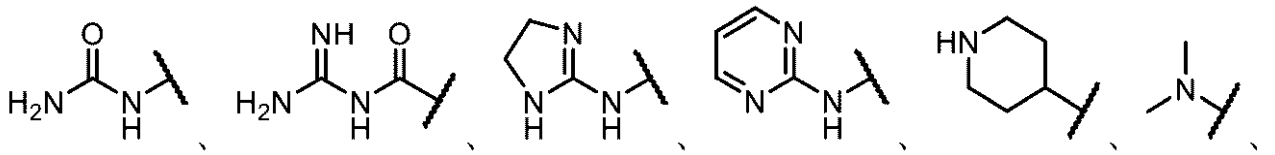


若しくはそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有し、（ｉｉｉ）少なくとも２個のアミノ酸残基が独立して、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する。

【０２０５】

少なくとも２個のアミノ酸残基は、側鎖を有しないか、又は

【化２０】

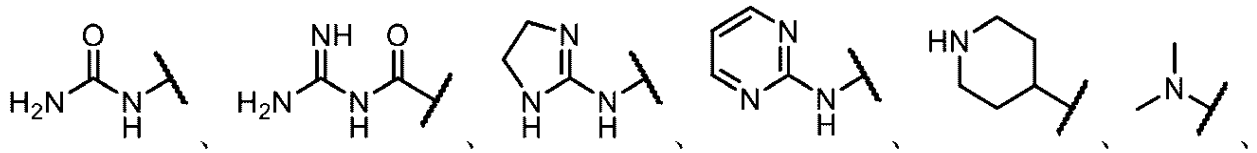


若しくはそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。本明細書で使用される場合、側鎖が存在しない場合、アミノ酸残基は、アミンとカルボン酸を連結する炭素原子（例えば、－ＣＨ$_2$－）上に２個の水素原子を有する。

【０２０６】

ｃＣＰＰは、以下の部分のうちの１つ：

【化２１】

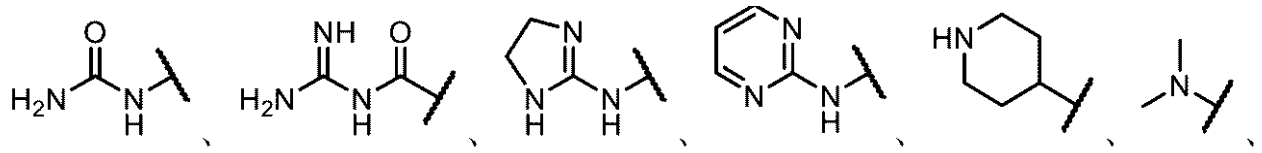


又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する、少なくとも１個のアミノ酸を含むことができる。

【０２０７】

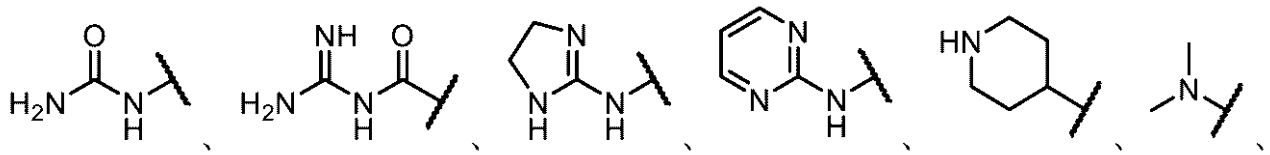
ｃＣＰＰは、各々独立して、以下の部分のうちの１つ

【化２２】



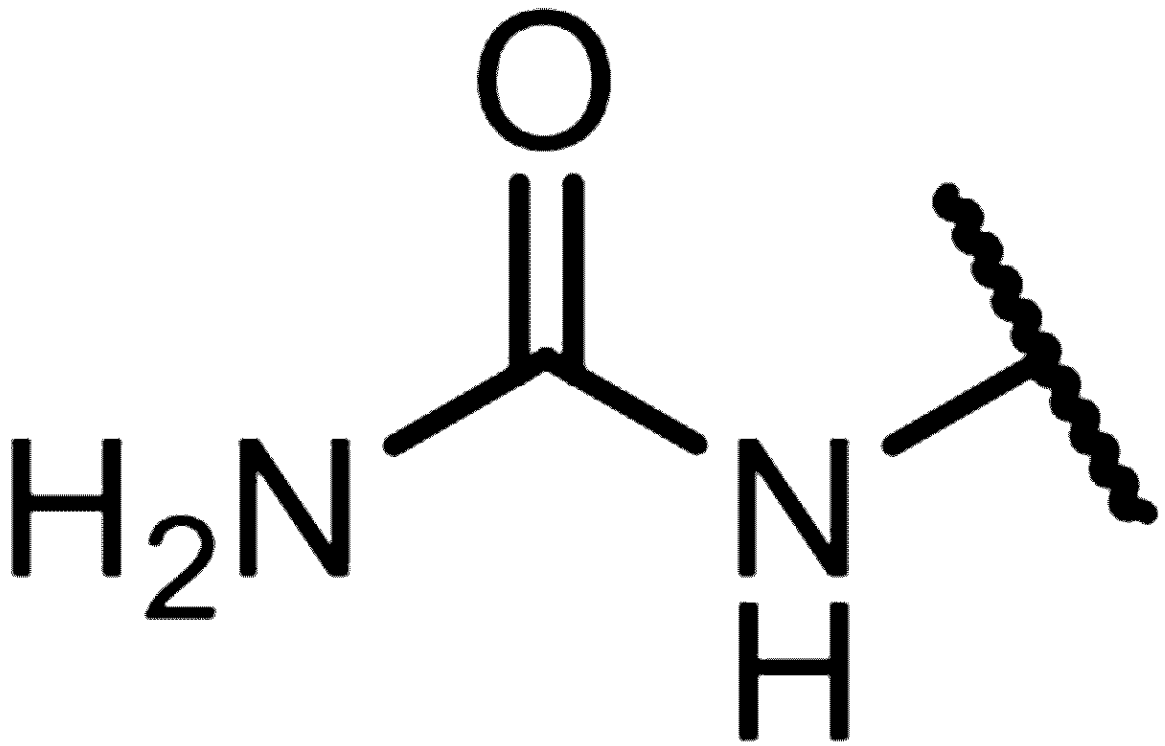
又はそのプロトン化形態を有する、少なくとも２個のアミノ酸を含むことができる。少なくとも２個のアミノ酸は、

【化２３】



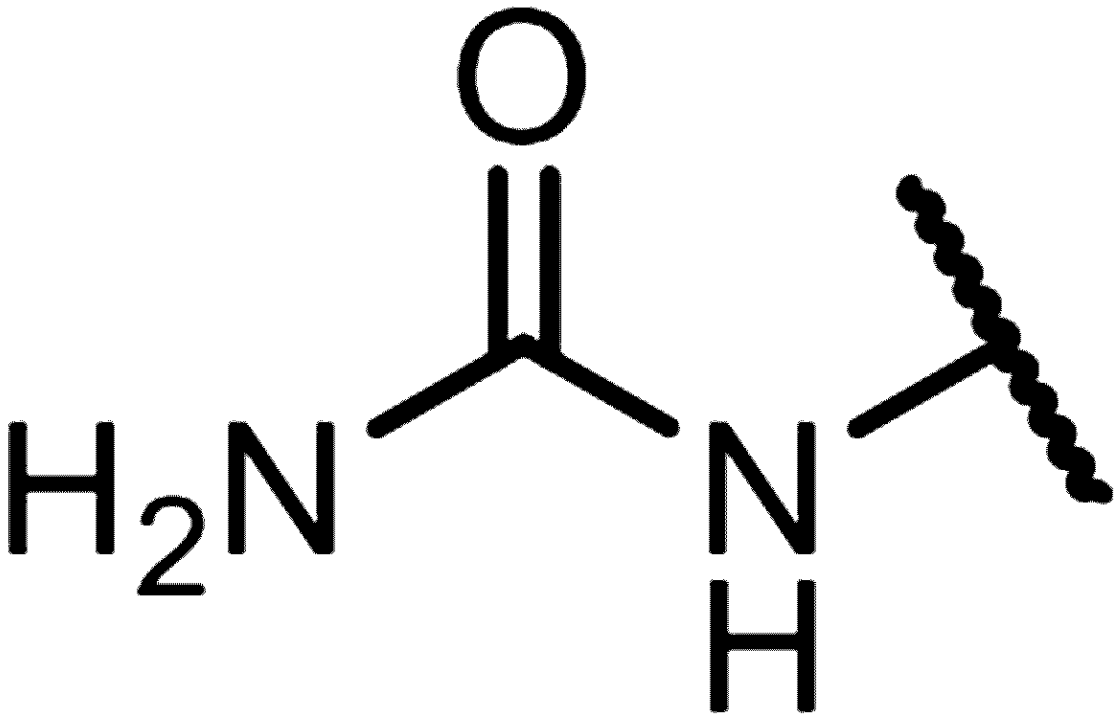
又はそれらのプロトン化形態から選択される同じ部分を含む側鎖を有することができる。少なくとも１個のアミノ酸は、

【化２４】



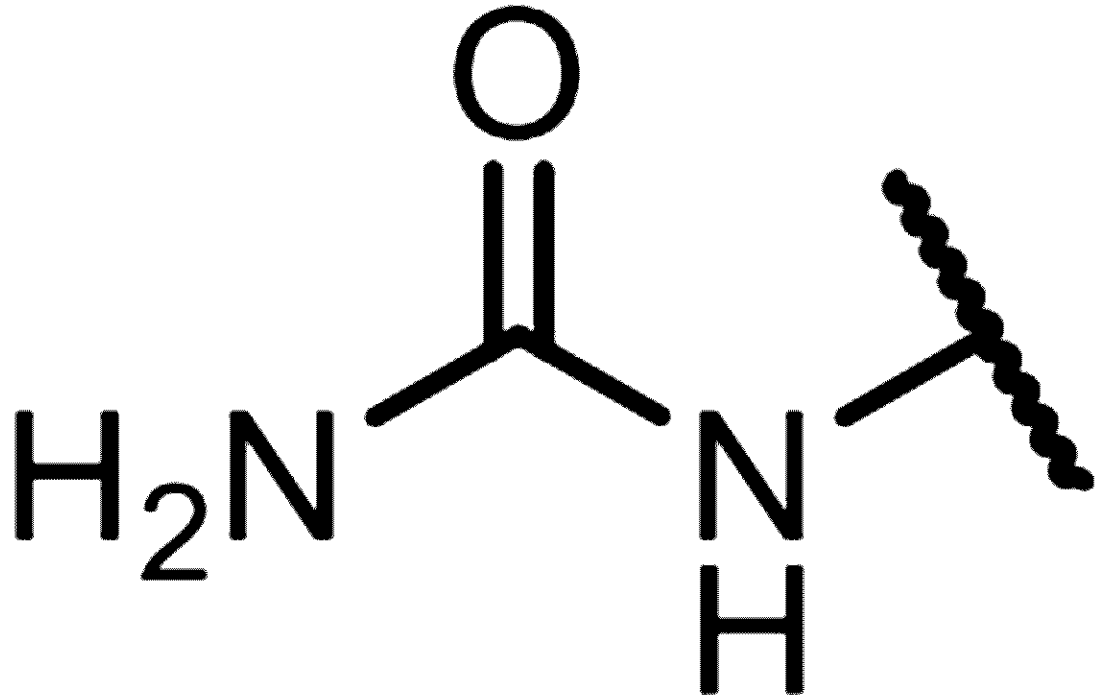
又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。少なくとも２個のアミノ酸は、

【化２５】



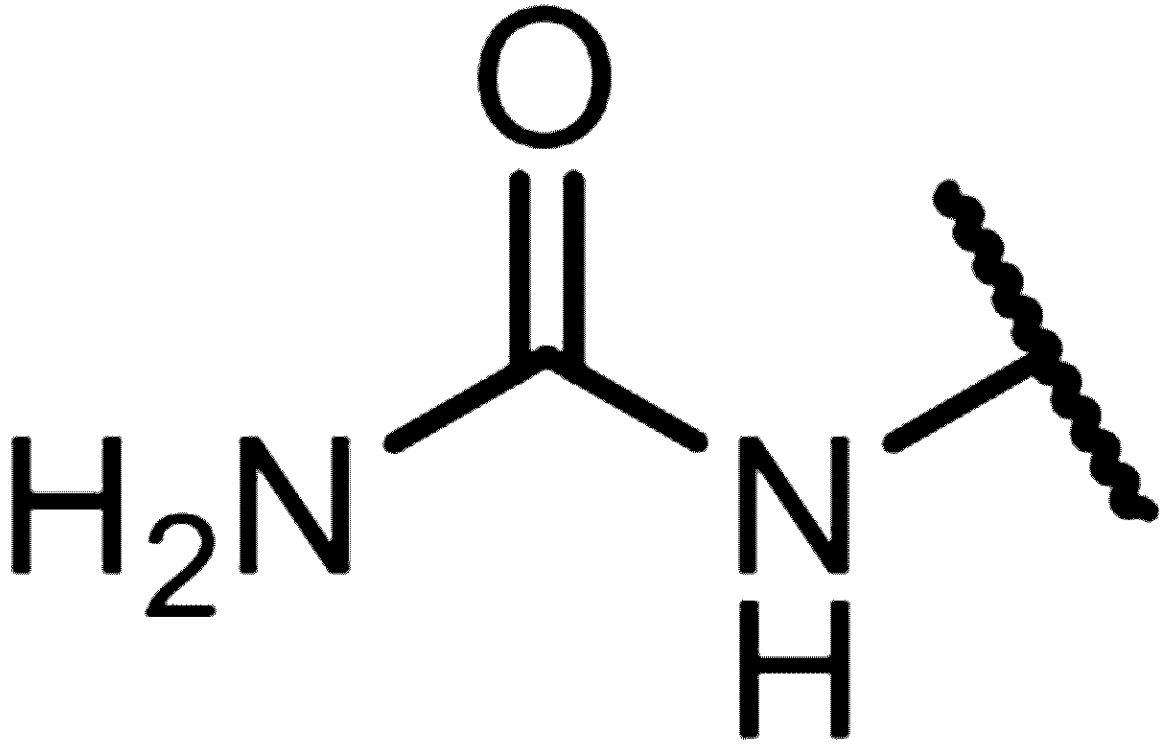
又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。１、２、３、又は４個のアミノ酸は、

【化２６】



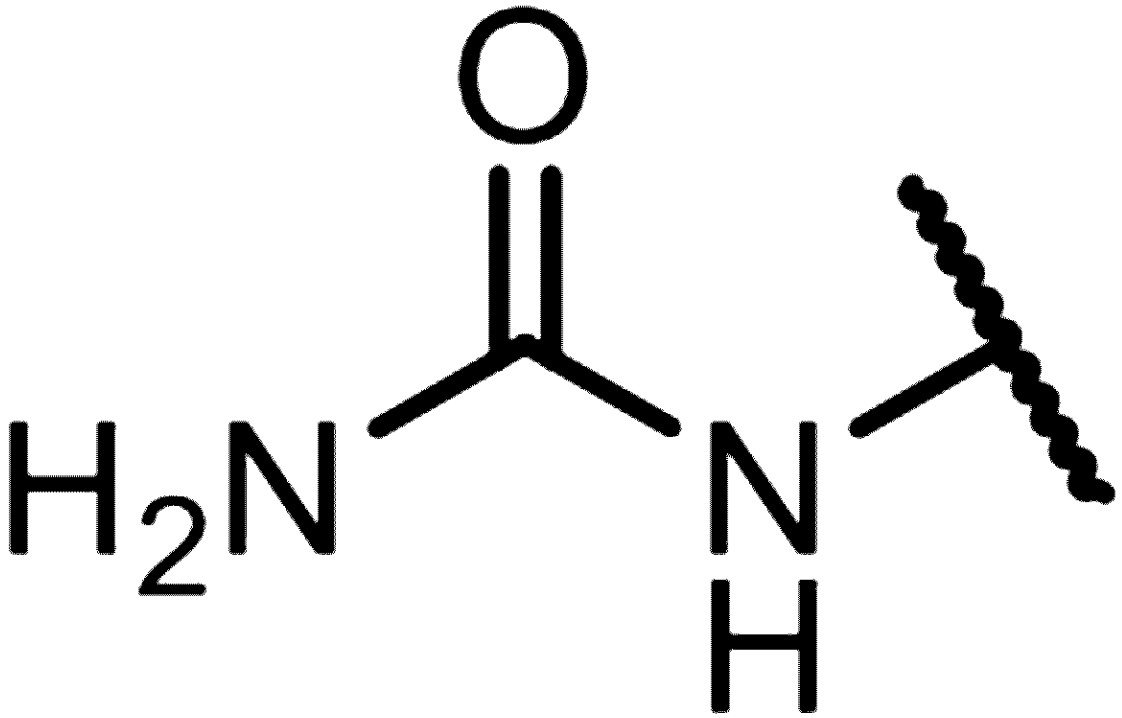
又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。１個のアミノ酸は、

【化２７】



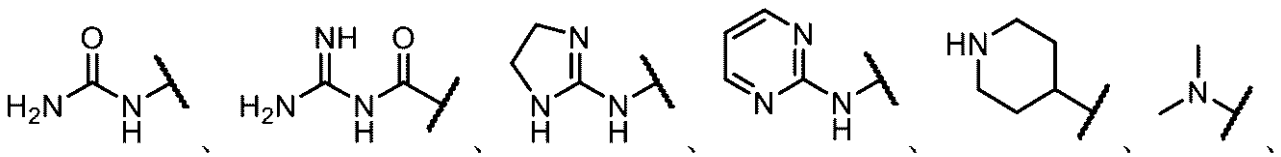
又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。２個のアミノ酸は、

【化２８】



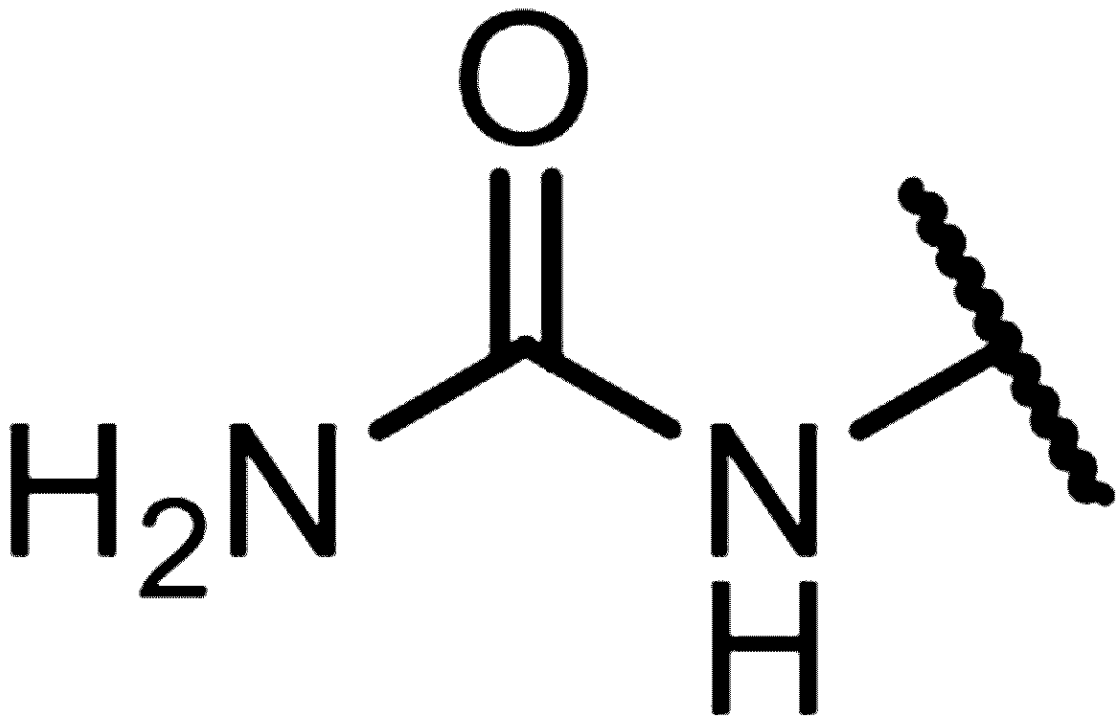
又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。

【化２９】



又はそれらのプロトン化形態は、アミノ酸側鎖の末端に結合することができる。

【化３０】



は、アミノ酸側鎖の末端に結合することができる。

【０２０８】

ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する２、３、４、５、又は６個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する２個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する３個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する４個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する５個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する６個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する２、３、４、又は５個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する２、３、又は４個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有する２個又は３個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する少なくとも１個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する２個のアミノ酸残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、（ｉｉｉ）グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する３個のアミノ酸残基を含むことができる。

【０２０９】

アミノ酸残基は独立して、連続していないグアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。２個のアミノ酸残基は独立して、連続していることがあり得るグアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。３個のアミノ酸残基は独立して、連続していることがあり得るグアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。４個のアミノ酸残基は独立して、連続していることがあり得るグアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有することができる。連続したアミノ酸残基は、同じ立体化学を有することができる。連続したアミノ酸は、交互の立体化学を有することができる。

【０２１０】

グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有するアミノ酸残基は、Ｌ－アミノ酸とすることができる。グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有するアミノ酸残基は、Ｄ－アミノ酸とすることができる。グアニジン基、グアニジン置換基、又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を独立して有するアミノ酸残基は、Ｄ－アミノ酸又はＬ－アミノ酸の混合物とすることができる。

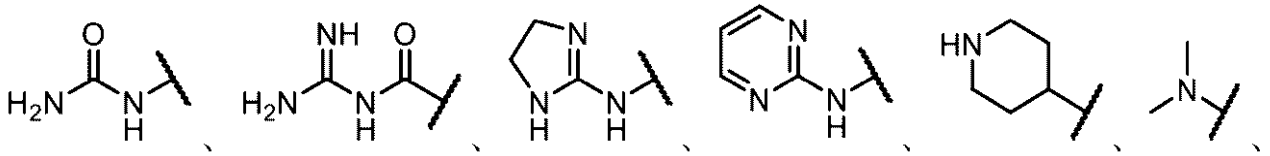
【０２１１】

グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、アルギニン残基、ホモアルギニン残基、２－アミノ－３－プロピオン酸残基、２－アミノ－４－グアニジノ酪酸残基、又はそれらのプロトン化形態とすることができる。グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸残基は各々独立して、アルギニン残基又はそのプロトン化形態とすることができる。

【０２１２】

グアニジン置換基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸は各々独立して、

【化３１】



又はそれらのプロトン化形態とすることができる。

【０２１３】

理論に束縛されるものではないが、グアニジン置換基は、アルギニンと比較して低下した塩基性を有し、いくつかの事例では、生理学的ｐＨで非荷電であり（例えば、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ））、有効な膜会合及びその後の内部移行を容易にすると考えられている細胞膜上のリン脂質との二座水素結合相互作用を維持することができると仮定される。正電荷の除去によりｃＣＰＰの毒性が低下するとも考えられている。

【０２１４】

当業者であれば、上記の非天然芳香族疎水性アミノ酸のＮ末端及び／又はＣ末端が本明細書に開示されるペプチドに組み込まれるとアミド結合を形成することを理解するであろう。

【０２１５】

ｃＣＰＰは、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する第１のアミノ酸及び芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する第２のアミノ酸を含むことができ、ここで、第１のグリシンのＮ末端が、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する第１のアミノ酸とペプチド結合を形成し、第１のグリシンのＣ末端が、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する第２のアミノ酸とペプチド結合を形成する。慣例により、「第１のアミノ酸」という用語は、多くの場合、ペプチド配列のＮ末端アミノ酸を指すが、本明細書で使用される場合、「第１のアミノ酸」という用語は、参照アミノ酸をｃＣＰＰ中の別の

アミノ酸（例えば、第２のアミノ酸）と区別するために使用され、これにより、「第１のアミノ酸」という用語がペプチド配列のＮ末端に位置するアミノ酸を指し得る又は指し得るようになる。

【０２１６】

ｃＣＰＰは、第２のグリシンのＮ末端を含むことができ、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸とペプチド結合を形成し、第２のグリシンのＣ末端がグアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸とペプチド結合を形成する。

【０２１７】

ｃＣＰＰは、グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する第１のアミノ酸、及びグアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する第２のアミノ酸を含むことができ、ここで、第３のグリシンのＮ末端がグアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する第１のアミノ酸とペプチド結合を形成し、第３のグリシンのＣ末端がグアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する第２のアミノ酸とペプチド結合を形成する。

【０２１８】

ｃＣＰＰは、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、又はホモグルタミン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、アスパラギン残基を含むことができる。ｃＣＰＰは、グルタミン残基を含むことができる。

【０２１９】

ｃＣＰＰは、チロシン、フェニルアラニン、１－ナフチルアラニン、２－ナフチルアラニン、トリプトファン、３－ベンゾチエニルアラニン、４－フェニルフェニルアラニン、３，４－ジフルオロフェニルアラニン、４－トリフルオロメチルフェニルアラニン、２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、β－ホモフェニルアラニン、４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェニルアラニン、４－ピリジニルアラニン、３－ピリジニルアラニン、４－メチルフェニルアラニン、４－フルオロフェニルアラニン、４－クロロフェニルアラニン、３－（９－アントリル）－アラニン残基を含むことができる。

【０２２０】

理論に束縛されることは望まないが、ｃＣＰＰ中のアミノ酸のキラリティは、細胞質取り込み効率に影響を及ぼし得ると考えられている。ｃＣＰＰは、少なくとも１個のＤアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、１～１５個のＤアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、１～１０個のＤアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、１、２、３、又は４個のＤアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、交互のＤ及びＬキラリティを有する２、３、４、５、６、７、又は８個の連続したアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、同じキラリティを有する３個の連続したアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、同じキラリティを有する２個の連続したアミノ酸を含むことができる。これらのアミノ酸のうちの少なくとも２個は、反対のキラリティを有することができる。反対のキラリティを有する少なくとも２個のアミノ酸は、互いに隣接することができる。少なくとも３個のアミノ酸は、互いに対して交互の立体化学を有することができる。互いに対して交互のキラリティを有する少なくとも３個のアミノ酸は、互いに隣接することができる。少なくとも４個のアミノ酸は、互いに対して交互の立体化学を有する。互いに対して交互のキラリティを有する少なくとも４個のアミノ酸は、互いに隣接することができる。これらのアミノ酸のうちの少なくとも２個は、同じキラリティを有することができる。同じキラリティを有する少なくとも２個のアミノ酸は、互いに隣接することができる。少なくとも２個のアミノ酸は同じキラリティを有し、少なくとも２個のアミノ酸は反対のキラリティを有する。反対のキラリティを有する少なくとも２個のアミノ酸は、同じキラリティを有する少なくとも２個のアミノ酸に隣接することができる。したがって、ｃＣＰＰ中の隣接するアミノ酸は、以下の配列：Ｄ－Ｌ、Ｌ－Ｄ、Ｄ－Ｌ－Ｌ－Ｄ、Ｌ－Ｄ－Ｄ－Ｌ、Ｌ－Ｄ－Ｌ－Ｌ－Ｄ、Ｄ－Ｌ－Ｄ－Ｄ－Ｌ、Ｄ－Ｌ－Ｌ－Ｄ－Ｌ、又はＬ－Ｄ－Ｄ－Ｌ－Ｄのうちのいずれかを有することができる。ｃＣＰＰを形成するアミノ酸残基は全て、Ｌ－アミノ酸と

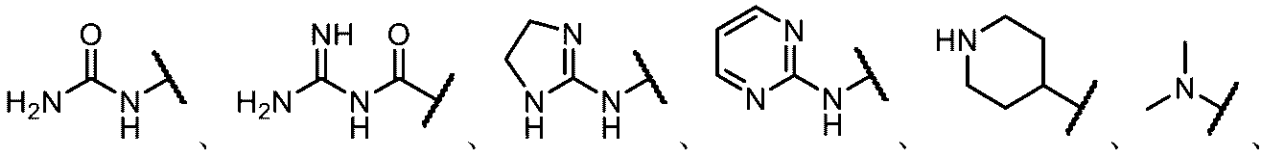
することができる。ｃＣＰＰを形成するアミノ酸残基は全て、Ｄ－アミノ酸とすることができる。

【０２２１】

これらのアミノ酸のうちの少なくとも２個は、異なるキラリティを有することができる。異なるキラリティを有する少なくとも２個のアミノ酸は、互いに隣接することができる。少なくとも３個のアミノ酸は、隣接するアミノ酸に対して異なるキラリティを有することができる。少なくとも４個のアミノ酸は、隣接するアミノ酸に対して異なるキラリティを有することができる。少なくとも２個のアミノ酸は同じキラリティを有し、少なくとも２個のアミノ酸は異なるキラリティを有する。ｃＣＰＰを形成する１個以上のアミノ酸残基は、アキラルとすることができる。ｃＣＰＰは、３、４、又は５個のアミノ酸のモチーフを含むことができ、ここで、同じキラリティを有する２個のアミノ酸をアキラルアミノ酸によって分離することができる。ｃＣＰＰは、以下の配列：Ｄ－Ｘ－Ｄ、Ｄ－Ｘ－Ｄ－Ｘ、Ｄ－Ｘ－Ｄ－Ｘ－Ｄ、Ｌ－Ｘ－Ｌ、Ｌ－Ｘ－Ｌ－Ｘ、又はＬ－Ｘ－Ｌ－Ｘ－Ｌを含むことができ、式中、Ｘがアキラルアミノ酸である。アキラルアミノ酸は、グリシンとすることができる。

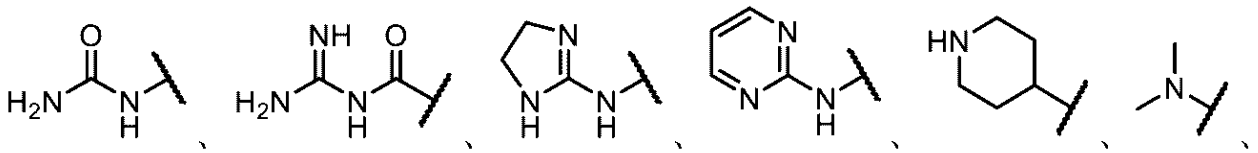
【０２２２】

【化３２】



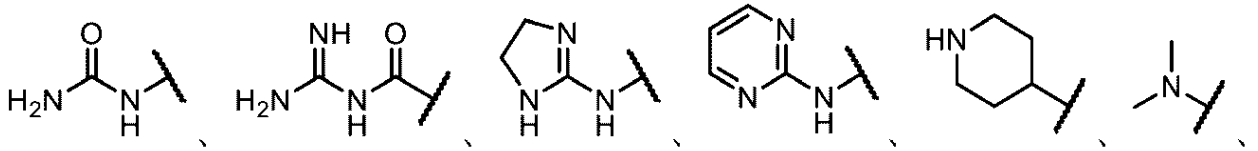
又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸は、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸に隣接することができる。

【化３３】



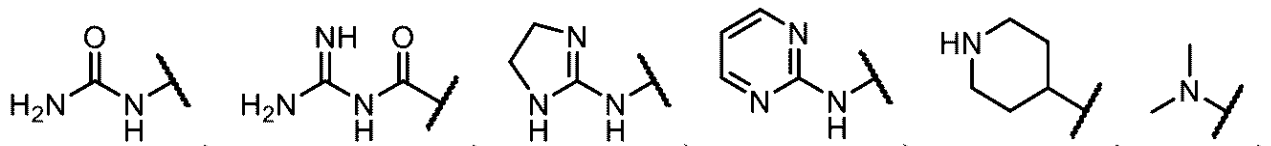
又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸は、グアニジン又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する少なくとも１個のアミノ酸に隣接することができる。グアニジン又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有するアミノ酸は、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸に隣接することができる。

【化３４】



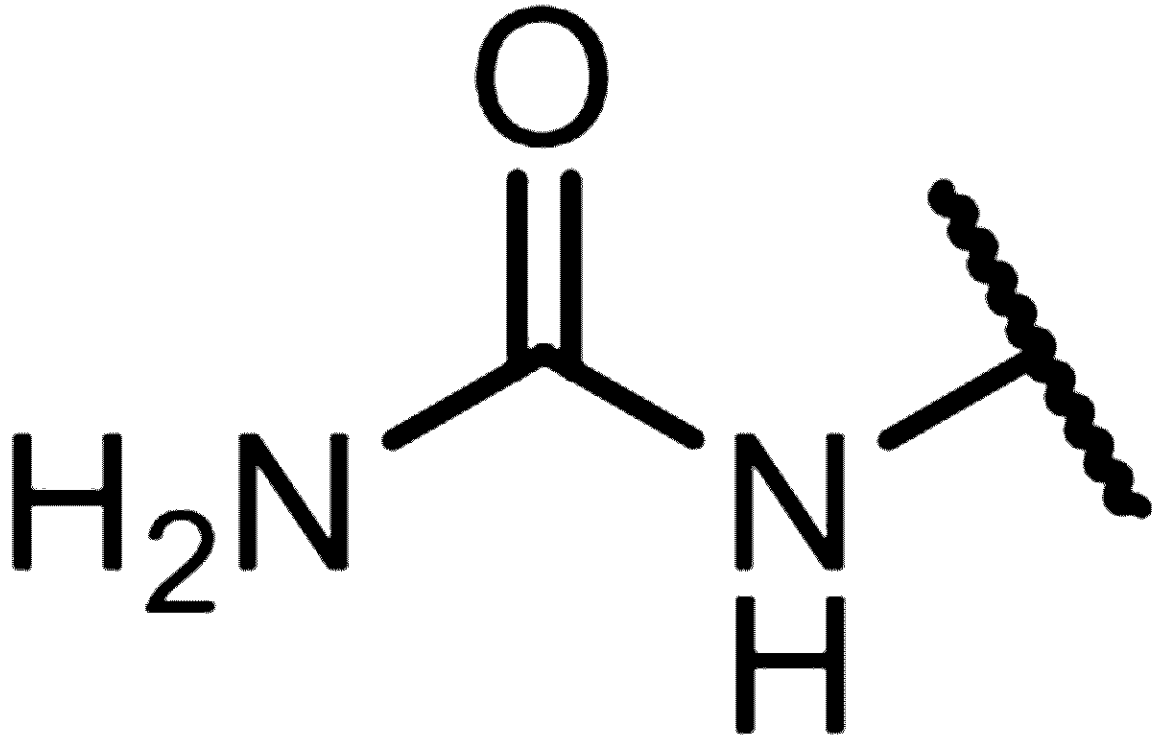
又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有する２個のアミノ酸は、互いに隣接することができる。グアニジン又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する２個のアミノ酸は、互いに隣接している。ｃＣＰＰは、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含むことができる側鎖を有する少なくとも２個の連続したアミノ酸、及び

【化３５】



又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有する少なくとも２つの隣接していないアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、芳香族基又はヘテロ芳香族基を含む側鎖を有する少なくとも２個の連続したアミノ酸、及び

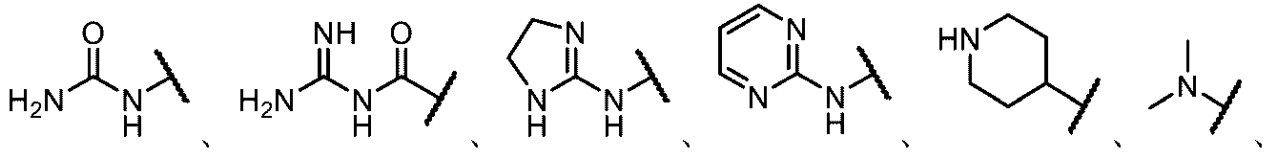
【化３６】



又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する少なくとも２つの隣接していないアミノ酸を含むことができる。隣接するアミノ酸は、同じキラリティを有することができる。隣接するアミノ酸は、反対のキラリティを有することができる。アミノ酸の他の組み合わせは、Ｄアミノ酸及びＬアミノ酸の任意の配置、例えば、前段落に記載の配列のうちのいずれかを有することができる。

【０２２３】

【化３７】

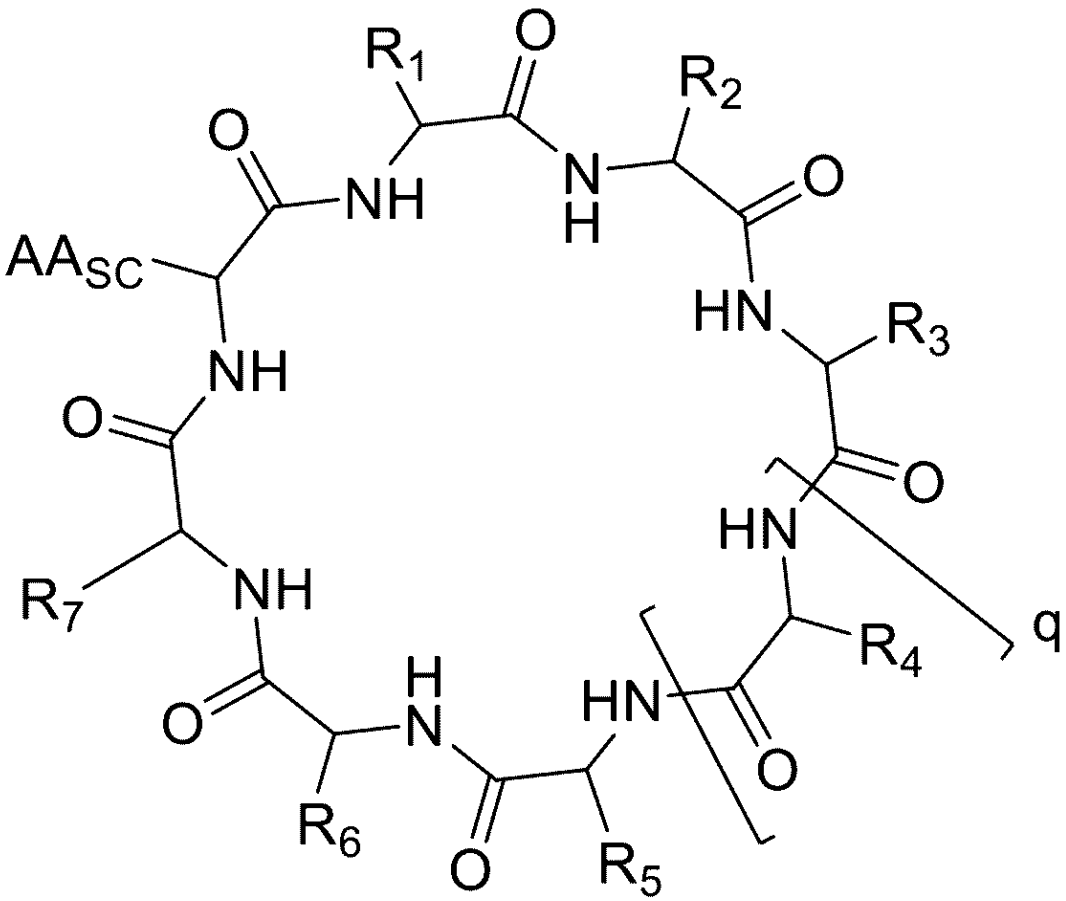


又はそれらのプロトン化形態を含む側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸は、グアニジン基又はそのプロトン化形態を含む側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸と交互である。

【０２２４】

ｃＣＰＰは、式（Ａ）の構造：

【化３８】



（A）

又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又はアミノ酸の芳香族若しくはヘテロ芳香族側鎖であり、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4、R_5、R_6、R_7が独立して、H又はアミノ酸側鎖であり、
R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つが、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸、アルギニン、ホモアルギニン、Ｎ－メチルアルギニン、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニン、２，３－ジアミノプロピオン酸、２，４－ジアミノブタン酸、リジン、Ｎ－メチルリジン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、Ｎ－エチルリジン、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニン、シトルリン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニン、３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖であり、
AA_{SC}が、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４である。

【０２２５】

複数の実施形態では、R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つは独立して、アミノ酸の非荷電非芳香族側鎖である。複数の実施形態では、R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つは独立して、H又はシトルリンの側鎖である。

【０２２６】

複数の実施形態では、６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が

非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドを含む化合物が提供される。複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸は、アルギニンである。複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸は、フェニルアラニン又はナフチルアラニンである。複数の実施形態では、環状ペプチドの少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸は、シトルリン又はグリシンである。

【０２２７】

複数の実施形態では、式（Ａ）の環状ペプチドは、配列番号８９～１１７の配列を有する環状ペプチドから選択されない。

【０２２８】

複数の実施形態では、式（Ａ）の環状ペプチドは、配列番号８９～１１７の配列を有する環状ペプチドから選択される。

【表２２】

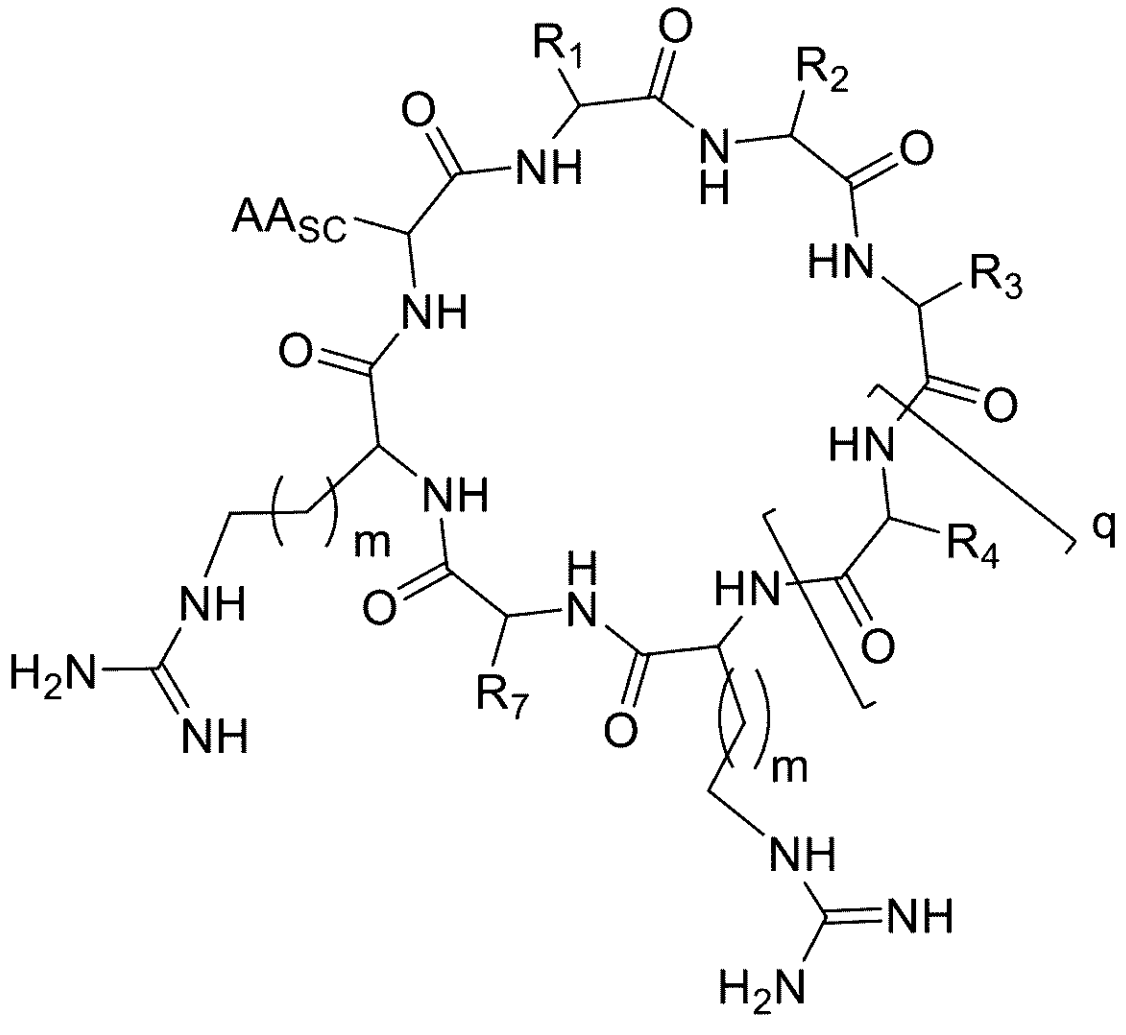
CPP配列及び配列番号					
FΦRRRQ	89	RRFRΦRQ	99	FΦRRRRQK	109
FΦRRRC	90	FRRRRΦQ	100	FΦRRRRQC	110
FΦRRRU	91	rRFRΦRQ	101	fΦRrRrRQ	111
RRRΦFQ	92	RRΦFRRQ	102	FΦRRRRRQ	112
RRRRΦF	93	CRRRRFWQ	103	RRRRΦFDΩC	113
FΦRRRR	94	FfΦRrRrQ	104	FΦRRR	114
FΦrRrRq	95	FFΦRRRRQ	105	FWRRR	115
FΦrRrRQ	96	RFRFRΦRQ	106	RRRΦF	116
FΦRRRRQ	97	URRRRFWQ	107	RRRWF	117
fΦRrRrQ	98	CRRRRFWQ	108		

Φ＝Ｌ－ナフチルアラニン、ϕ＝Ｄ－ナフチルアラニン、Ω＝Ｌ－ノルロイシン

【０２２９】

ｃＣＰＰは、式（Ｉ）の構造：

【化３９】



（Ｉ）

又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ４及びＲ７が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＡＡＳＣが、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である。

【０２３０】

Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３は各々独立して、Ｈ、－アルキレン－アリール、又は－アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３は各々独立して、Ｈ、－Ｃ１－３アルキレン－アリール、又は－Ｃ１－３アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３は各々独立して、Ｈ又は－アルキレン－アリールとすることができる。Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３は各々独立して、Ｈ又は－Ｃ１－３アルキレン－アリールとすることができる。Ｃ１－３アルキレンは、メチレンとすることができる。アリールは、６～１４員アリールとすることができる。ヘテロアリールは、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。アリールは、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルから選択することができる。

アリールは、フェニル又はナフチルとすることができる。アリールは、フェニルとすることができる。ヘテロアリールは、ピリジル、キノリル、及びイソキノリルとすることができる。R_1、R_2、及びR_3は各々独立して、H、－C_{1-3}アルキレン－Ph、又は－C_{1-3}アルキレン－ナフチルとすることができる。R_1、R_2、及びR_3は各々独立して、H、－CH_2Ph、又は－CH_2ナフチルとすることができる。R_1、R_2、及びR_3は各々独立して、H又は－CH_2Phとすることができる。

【０２３１】

R_1、R_2、及びR_3は各々独立して、チロシン、フェニルアラニン、１－ナフチルアラニン、２－ナフチルアラニン、トリプトファン、３－ベンゾチエニルアラニン、４－フェニルフェニルアラニン、３，４－ジフルオロフェニルアラニン、４－トリフルオロメチルフェニルアラニン、２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、β－ホモフェニルアラニン、４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェニルアラニン、４－ピリジニルアラニン、３－ピリジニルアラニン、４－メチルフェニルアラニン、４－フルオロフェニルアラニン、４－クロロフェニルアラニン、３－（９－アントリル）－アラニンの側鎖とすることができる。

【０２３２】

R_1は、チロシンの側鎖とすることができる。R_1は、フェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、１－ナフチルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、２－ナフチルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、トリプトファンの側鎖とすることができる。R_1は、３－ベンゾチエニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－フェニルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、３，４－ジフルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－トリフルオロメチルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、ホモフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、β－ホモフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－ピリジニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、３－ピリジニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－メチルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－フルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、４－クロロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、３－（９－アントリル）－アラニンの側鎖とすることができる。

【０２３３】

R_2は、チロシンの側鎖とすることができる。R_2は、フェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、１－ナフチルアラニンの側鎖とすることができる。R_1は、２－ナフチルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、トリプトファンの側鎖とすることができる。R_2は、３－ベンゾチエニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－フェニルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、３，４－ジフルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－トリフルオロメチルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、ホモフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、β－ホモフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－ピリジニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、３－ピリジニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－メチルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－フルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、４－クロロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_2は、３－（９－アントリル）－アラニンの側鎖とすることができる。

【０２３４】

R_3は、チロシンの側鎖とすることができる。R_3は、フェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、１－ナフチルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、２－

ナフチルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、トリプトファンの側鎖とすることができる。R_3は、３－ベンゾチエニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－フェニルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、３，４－ジフルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－トリフルオロメチルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、２，３，４，５，６－ペンタフルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、ホモフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、β－ホモフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－ピリジニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、３－ピリジニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－メチルフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－フルオロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、４－クロロフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_3は、３－（９－アントリル）－アラニンの側鎖とすることができる。

【０２３５】

R_4は、Ｈ、－アルキレン－アリール、－アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_4は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－アリール、又は－C_{1-3}アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_4は、Ｈ又は－アルキレン－アリールとすることができる。R_4は、Ｈ又は－C_{1-3}アルキレン－アリールとすることができる。C_{1-3}アルキレンは、メチレンとすることができる。アリールは、６～１４員アリールとすることができる。ヘテロアリールは、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。アリールは、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルから選択することができる。アリールは、フェニル又はナフチルとすることができる。アリールは、フェニルとすることができる。ヘテロアリールは、ピリジル、キノリル、及びイソキノリルとすることができる。R_4は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－Ｐｈ、又は－C_{1-3}アルキレン－ナフチルとすることができる。R_4は、Ｈ、又は表４若しくは表６のアミノ酸の側鎖とすることができる。R_4は、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができる。R_4は、Ｈ、－CH_2Ｐｈ、又は－CH_2ナフチルとすることができる。R_4は、Ｈ又は－CH_2Ｐｈとすることができる。

【０２３６】

R_5は、Ｈ、－アルキレン－アリール、－アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_5は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－アリール、又は－C_{1-3}アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_5は、Ｈ又は－アルキレン－アリールとすることができる。R_5は、Ｈ又は－C_{1-3}アルキレン－アリールとすることができる。C_{1-3}アルキレンは、メチレンとすることができる。アリールは、６～１４員アリールとすることができる。ヘテロアリールは、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。アリールは、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルから選択することができる。アリールは、フェニル又はナフチルとすることができる。アリールは、フェニルとすることができる。ヘテロアリールは、ピリジル、キノリル、及びイソキノリルとすることができる。R_5は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－Ｐｈ、又は－C_{1-3}アルキレン－ナフチルとすることができる。R_5は、Ｈ、又は表４若しくは表６のアミノ酸の側鎖とすることができる。R_4は、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができる。R_5は、Ｈ、－CH_2Ｐｈ、又は－CH_2ナフチルとすることができる。R_4は、Ｈ又は－CH_2Ｐｈとすることができる。

【０２３７】

R_6は、Ｈ、－アルキレン－アリール、－アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_6は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－アリール、又は－C_{1-3}アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_6は、Ｈ又は－アルキレン－アリールとすることができる。R_6は、Ｈ又は－C_{1-3}アルキレン－アリールとすることができる。C_{1-3}アルキレンは、メチレンとすることができる。アリールは、６～１４員アリールとすることができる。ヘテロアリールは、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有

する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。アリールは、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルから選択することができる。アリールは、フェニル又はナフチルとすることができる。アリールは、フェニルとすることができる。ヘテロアリールは、ピリジル、キノリル、及びイソキノリルとすることができる。R_6は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－Ｐｈ、又は－C_{1-3}アルキレン－ナフチルとすることができる。R_6は、Ｈ、又は表４若しくは表６のアミノ酸の側鎖とすることができる。R_6は、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができる。R_6は、Ｈ、－CH_2Ｐｈ、又は－CH_2ナフチルとすることができる。R_6は、Ｈ又は－CH_2Ｐｈとすることができる。

【０２３８】

R_7は、Ｈ、－アルキレン－アリール、－アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_7は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－アリール、又は－C_{1-3}アルキレン－ヘテロアリールとすることができる。R_7は、Ｈ又は－アルキレン－アリールとすることができる。R_7は、Ｈ又は－C_{1-3}アルキレン－アリールとすることができる。C_{1-3}アルキレンは、メチレンとすることができる。アリールは、６～１４員アリールとすることができる。ヘテロアリールは、Ｎ、Ｏ、及びＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。アリールは、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルから選択することができる。アリールは、フェニル又はナフチルとすることができる。アリールは、フェニルとすることができる。ヘテロアリールは、ピリジル、キノリル、及びイソキノリルとすることができる。R_7は、Ｈ、－C_{1-3}アルキレン－Ｐｈ、又は－C_{1-3}アルキレン－ナフチルとすることができる。R_7は、Ｈ、又は表４若しくは表６のアミノ酸の側鎖とすることができる。R_7は、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができる。R_7は、Ｈ、－CH_2Ｐｈ、又は－CH_2ナフチルとすることができる。R_7は、Ｈ又は－CH_2Ｐｈとすることができる。

【０２３９】

R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの１つ、２つ、又は３つは、－CH_2Ｐｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの１つは、－CH_2Ｐｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの２つは、－CH_2Ｐｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの３つは、－CH_2Ｐｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、－CH_2Ｐｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの４つ以下は、－CH_2Ｐｈとすることができる。

【０２４０】

R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの１つ、２つ、又は３つは、－CH_2Ｐｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの１つは、－CH_2Ｐｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの２つは、－CH_2Ｐｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの３つは、－CH_2Ｐｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの少なくとも１つは、－CH_2Ｐｈである。

【０２４１】

R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの１つ、２つ、又は３つは、Ｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの１つは、Ｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの２つは、Ｈである。R_1、R_2、R_3、R_5、R_6、及びR_7のうちの３つは、Ｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｈとすることができる。R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの３つ以下は、－CH_2Ｐｈとすることができる。

【０２４２】

R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの１つ、２つ、又は３つは、Ｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの１つは、Ｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの２つは、Ｈである。R_1、R_2、R_3、及びR_4のうちの３つは、Ｈである。R_1、R_2、R_3

、及びR_4のうちの少なくとも１つは、Ｈである。
【０２４３】
R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、アルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、ホモアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ－メチルアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、２，３－ジアミノプロピオン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、２，４－ジアミノブタン酸、リジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ－メチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ－エチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、シトルリンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも１つは、３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖とすることができる。
【０２４４】
R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、アルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、ホモアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ－メチルアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、２，３－ジアミノプロピオン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、２，４－ジアミノブタン酸、リジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ－メチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ－エチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、シトルリンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも２つは、３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖とすることができる。
【０２４５】
R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、アルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、ホモアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ－メチルアルギニ

ンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、２，３－ジアミノプロピオン酸の側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、２，４－ジアミノブタン酸、リジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ－メチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ－エチルリジンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、シトルリンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニンの側鎖とすることができる。R_4、R_5、R_6、及びR_7のうちの少なくとも３つは、３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖とすることができる。

【０２４６】

AA_{sc}は、アスパラギン、グルタミン、又はホモグルタミン残基の側鎖とすることができる。AA_{sc}は、グルタミン残基の側鎖とすることができる。ｃＣＰＰは、AA_{sc}、例えば、アスパラギン、グルタミン、又はホモグルタミン残基にコンジュゲートされたリンカーを更に含むことができる。したがって、ｃＣＰＰは、アスパラギン、グルタミン、又はホモグルタミン残基にコンジュゲートされたリンカーを更に含むことができる。ｃＣＰＰは、グルタミン残基にコンジュゲートされたリンカーを更に含むことができる。

【０２４７】

ｑは、１、２、又は３とすることができる。ｑは、１又は２とすることができる。ｑは、１とすることができる。ｑは、２とすることができる。ｑは、３とすることができる。ｑは、４とすることができる。

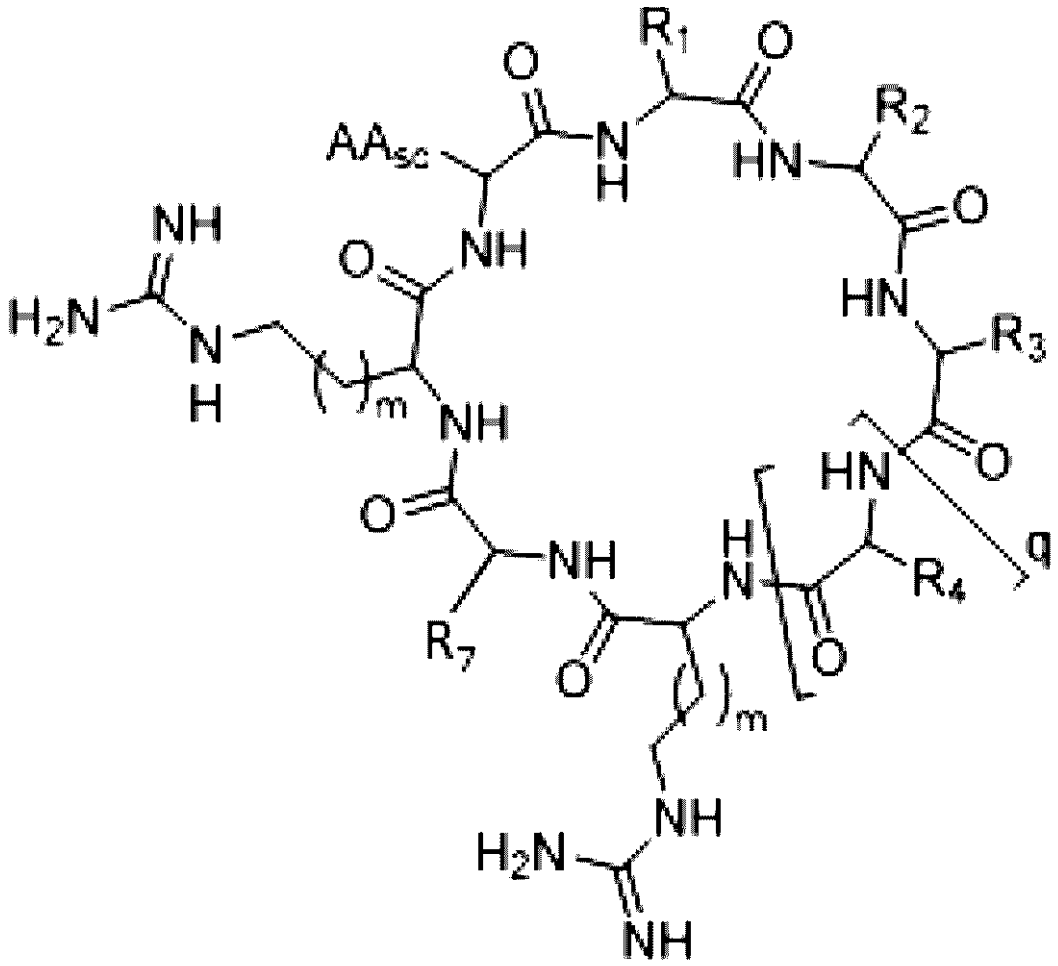
【０２４８】

ｍは、１～３とすることができる。ｍは、１又は２とすることができる。ｍは、０とすることができる。ｍは、１とすることができる。ｍは、２とすることができる。ｍは、３とすることができる。

【０２４９】

式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ）の構造：

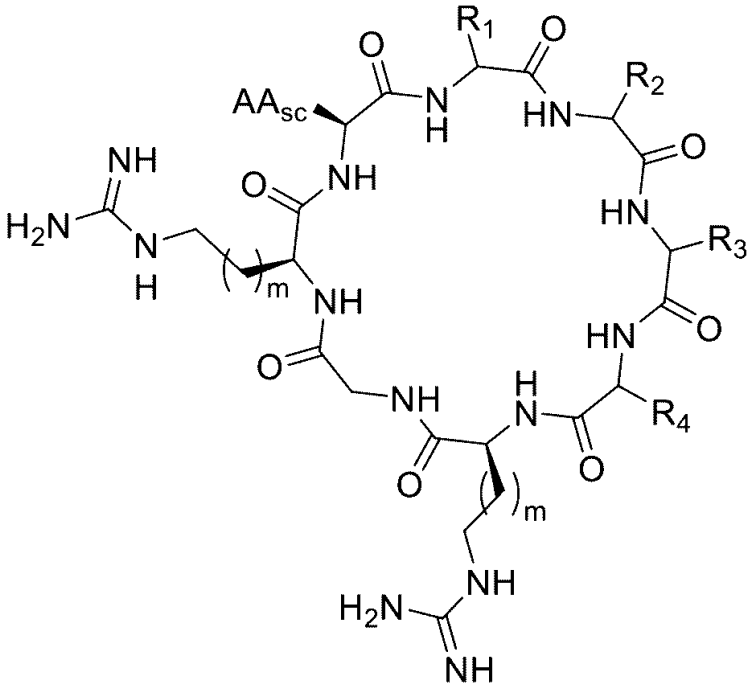
【化４０】



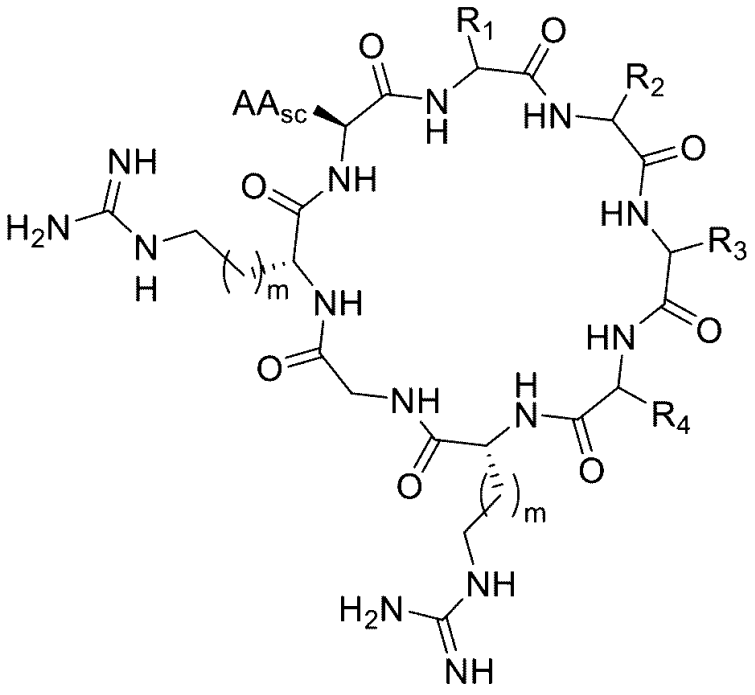
（Ｉ）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＡＡｓｃ、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４－、Ｒ７、ｍ、及びｑが、本明細書に定義されるとおりである。
【０２５０】
式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－ａ）若しくは式（Ｉ－ｂ）の構造：

【化４１】



（Ｉ－ａ）、



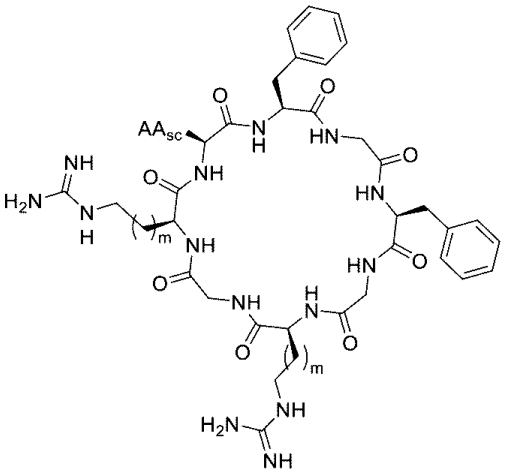
（Ｉ－ｂ）、

又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＡＡｓｃ、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４－、及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。

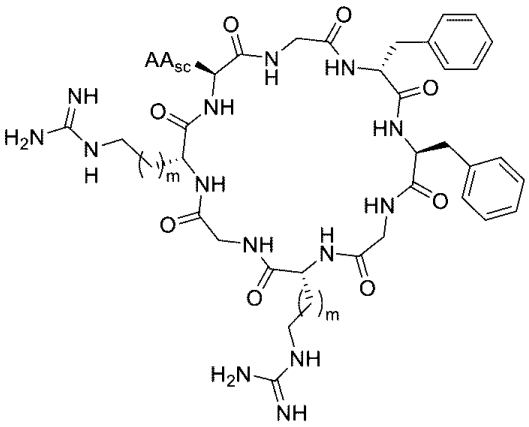
【０２５１】

式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－１）、式（Ｉ－２）、式（Ｉ－３）、若しくは式（Ｉ－４）の構造：

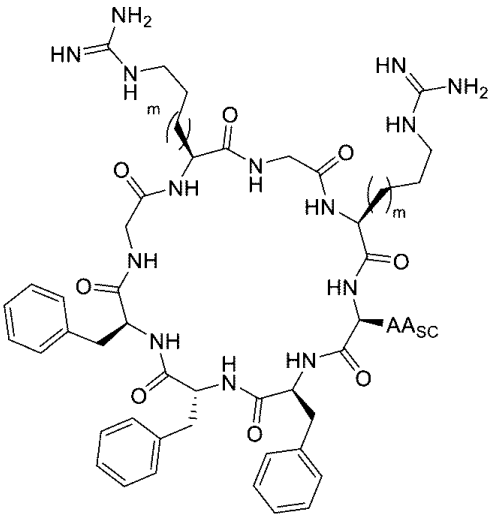
【化４２－１】



（Ｉ－１）、

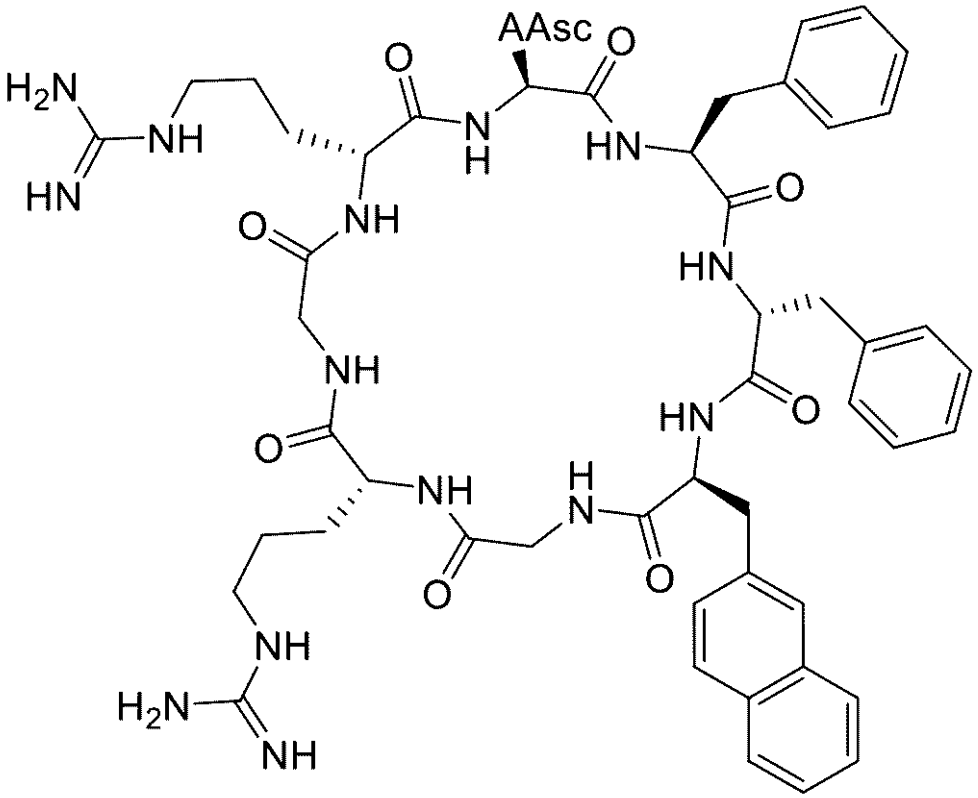


（Ｉ－２）、



（Ｉ－３）、

【化４２－２】



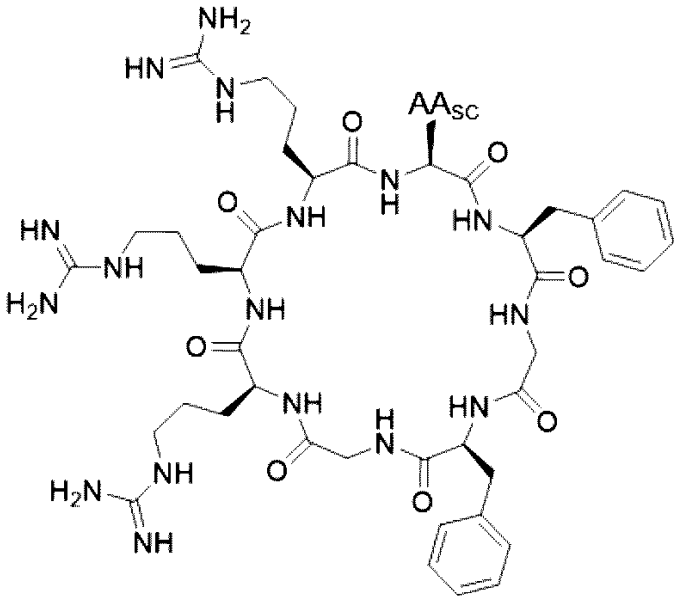
（Ｉ－４）

又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＡＡｓｃ及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。

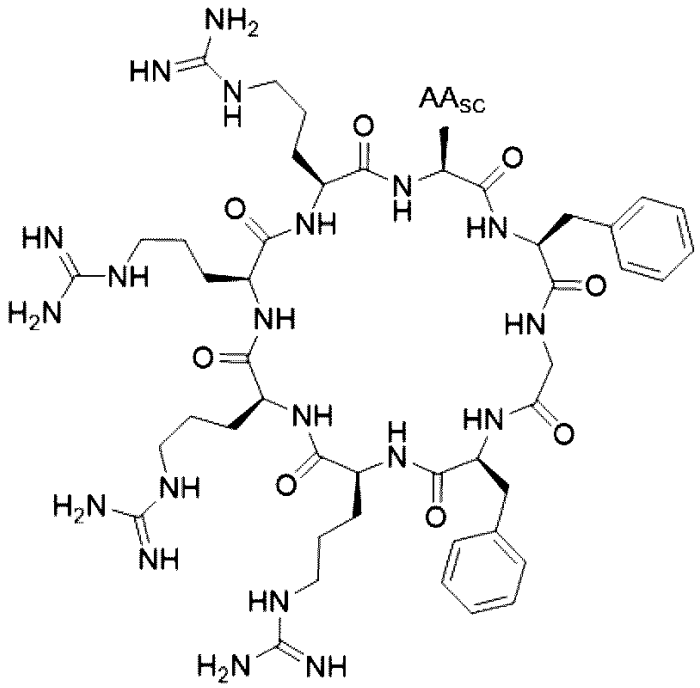
【０２５２】

式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－５）若しくは式（Ｉ－６）の構造：

【化４３】



（Ｉ－５）、若しくは



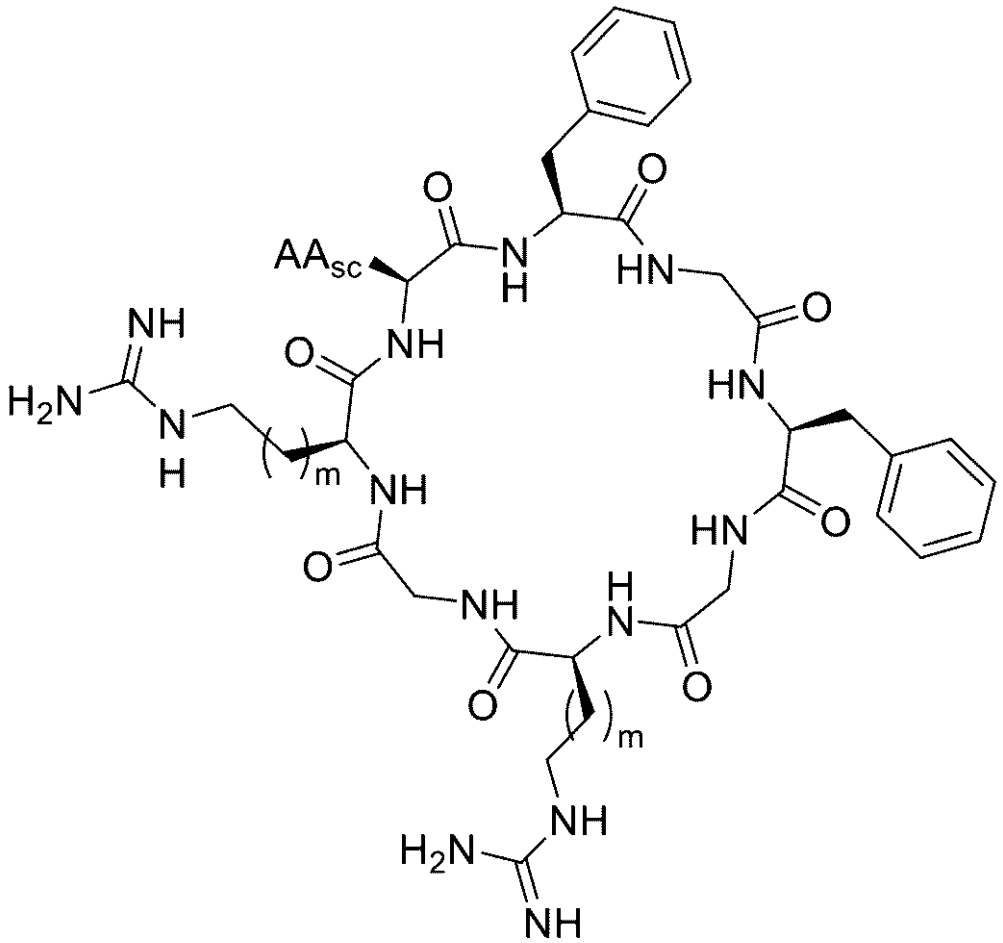
（Ｉ－６）、

又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＡＡｓｃ－が、本明細書に定義されるとおりである。

【０２５３】

式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－１）の構造：

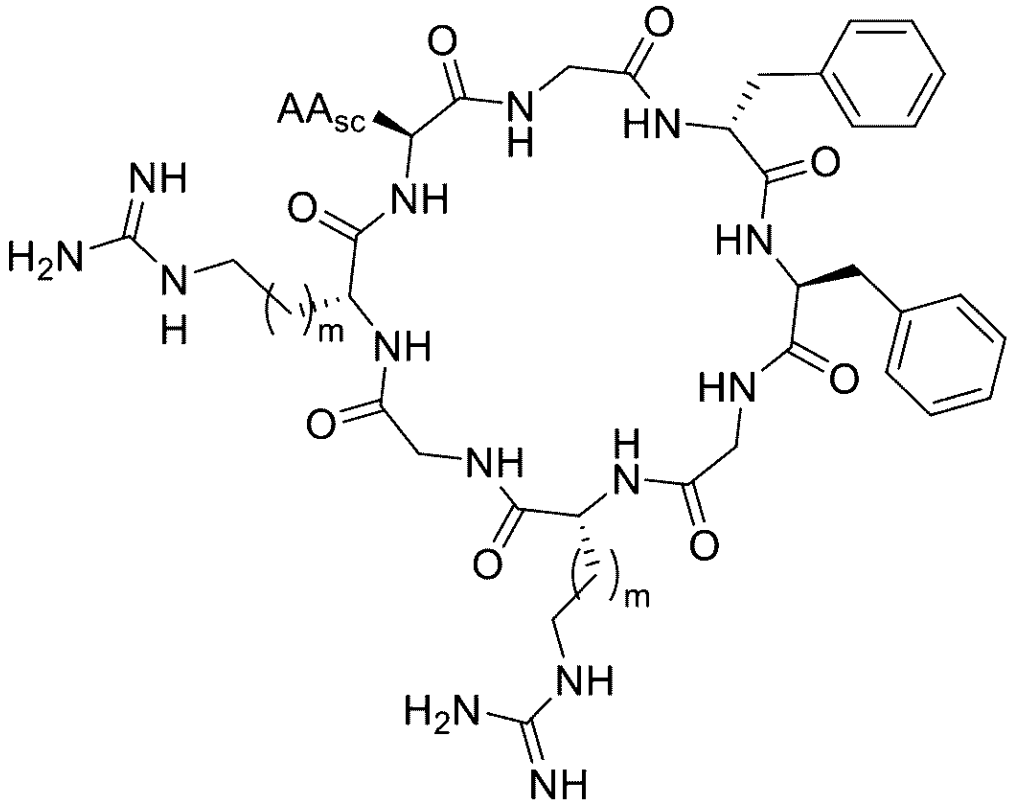
【化４４】



（Ｉ－１）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、ＡＡｓｃ及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。
【０２５４】
式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－２）の構造：

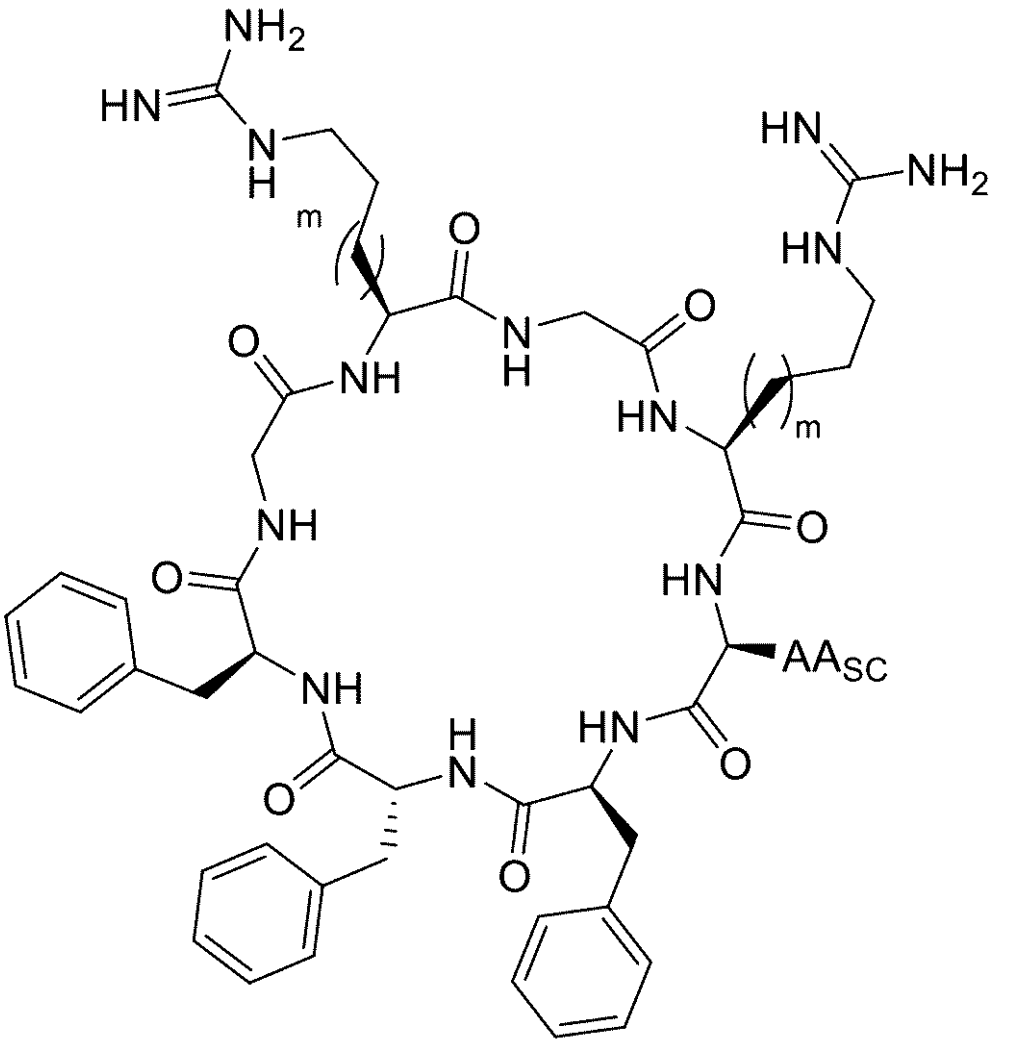
【化４５】



（Ｉ－２）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、ＡＡｓｃ及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。
【０２５５】
式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－３）の構造：

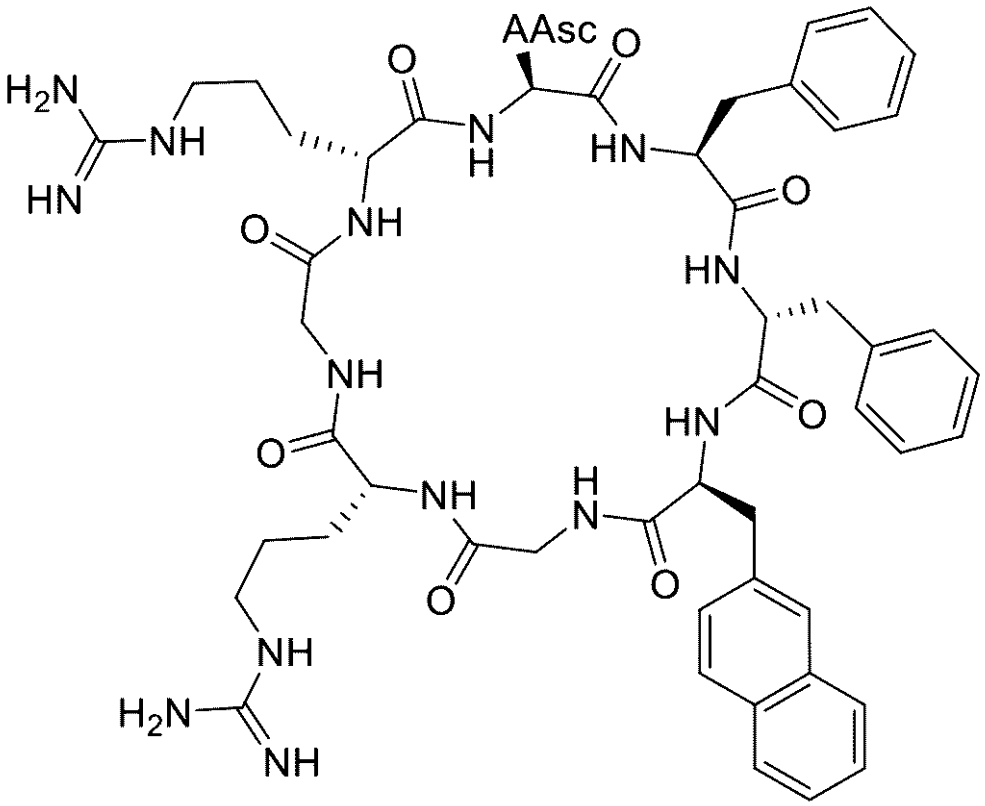
【化４６】



（Ｉ－３）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、ＡＡｓｃ及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。
【０２５６】
式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－４）の構造：

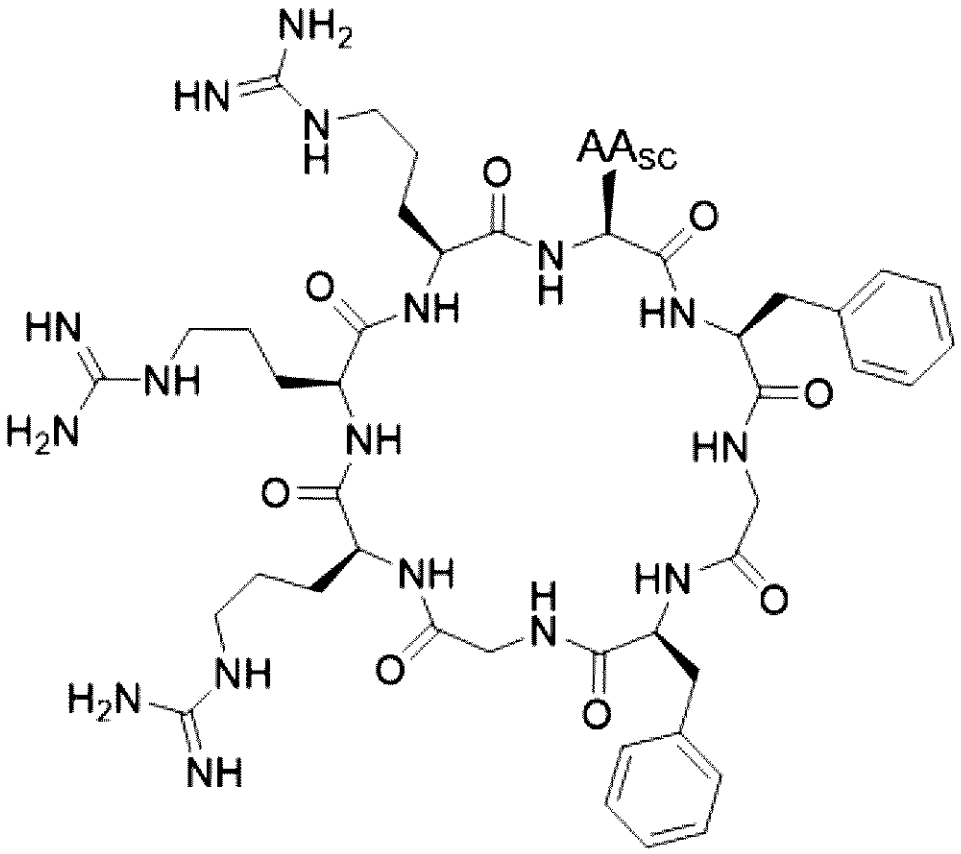
【化４７】



（Ｉ－４）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、ＡＡｓｃ及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。
【０２５７】
式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－５）の構造：

【化４８】



（Ｉ－５）

、

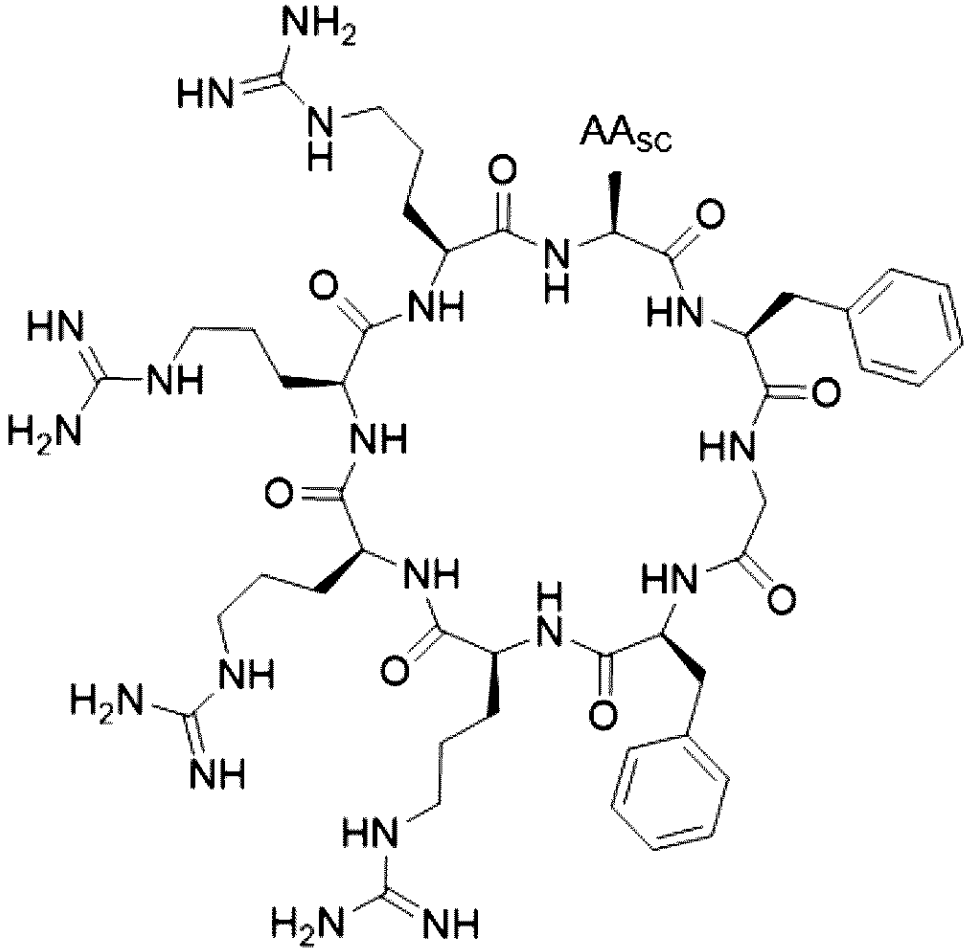
又はそのプロトン化形態を含むことができ、

式中、ＡＡｓｃ及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。

【０２５８】

式（Ａ）のｃＣＰＰは、式（Ｉ－６）の構造：

【化４９】



（Ｉ－６）

、

又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＡＡｓｃ－及びｍが、本明細書に定義されるとおりである。

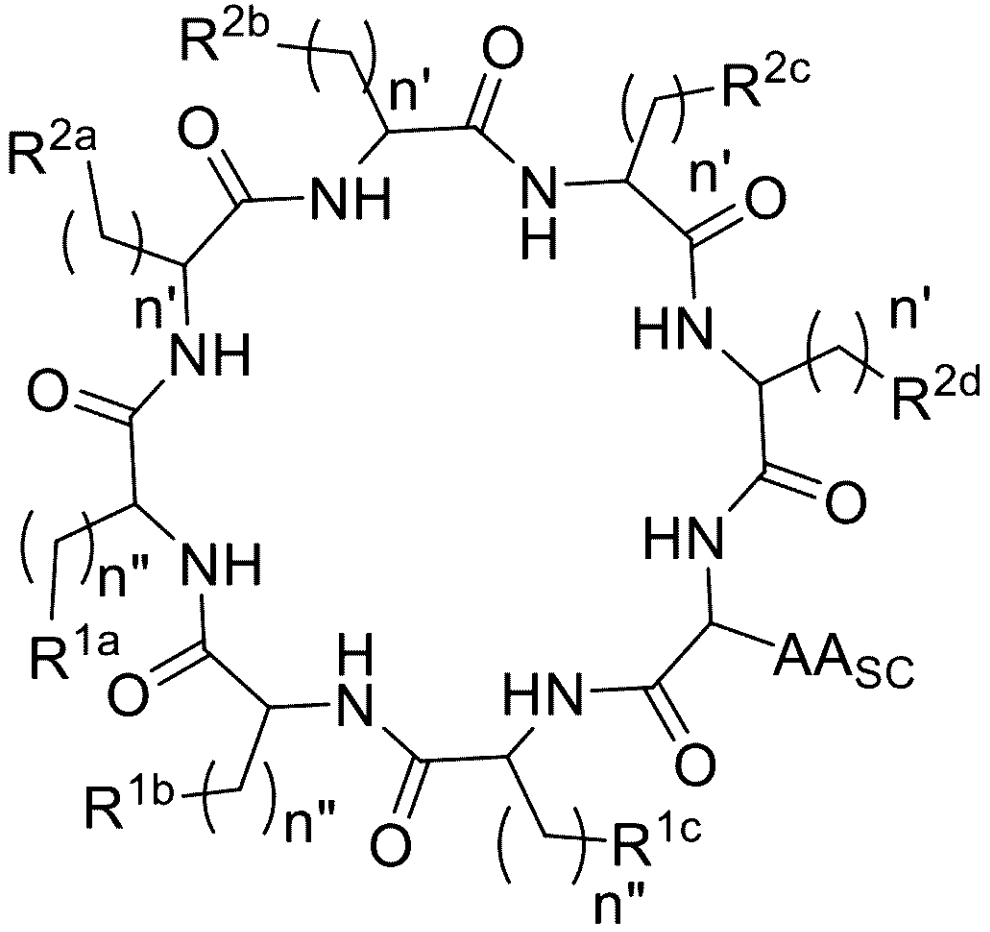
【０２５９】

ｃＣＰＰは、以下の配列：ＦＧＦＧＲＧＲ（配列番号６８）、ＧｆＦＧｒＧｒ（配列番号６９）、ＦｆΦＧＲＧＲ（配列番号７０）、ＦｆＦＧＲＧＲ（配列番号７１）、又はＦｆΦＧｒＧｒ（配列番号７２）のうちの１つを含むことができる。ｃＣＰＰは、以下の配列：ＦＧＦΦ（配列番号７３）、ＧｆＦＧｒＧｒＱ（配列番号７４）、ＦｆΦＧＲＧＲＱ（配列番号７５）、ＦｆＦＧＲＧＲＱ（配列番号７６）、又はＦｆΦＧｒＧｒＱ（配列番号７７）のうちの１つを有することができる。

【０２６０】

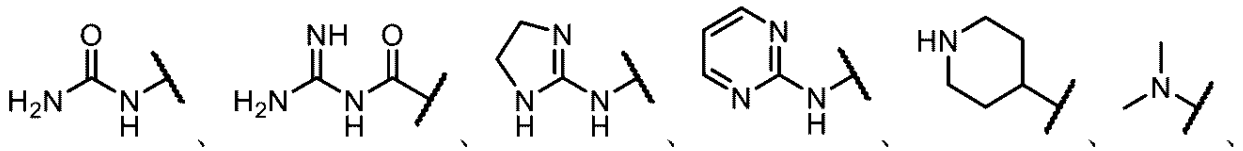
本開示は、式（ＩＩ）の構造を有するｃＣＰＰにも関し、

【化５０】



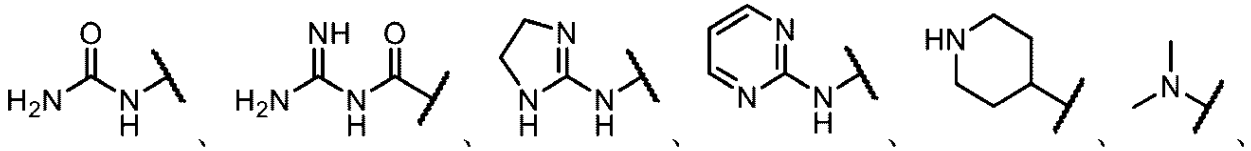
（ＩＩ）

式中、
ＡＡ$_{sc}$が、アミノ酸側鎖であり、
Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}が各々独立して、６～１４員アリール又は６～１４員ヘテロアリールであり、
Ｒ^{2a}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2c}、及びＲ^{2d}が独立して、アミノ酸側鎖であり、
Ｒ^{2a}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2c}、及びＲ^{2d}のうちの少なくとも１つが、
【化５１】



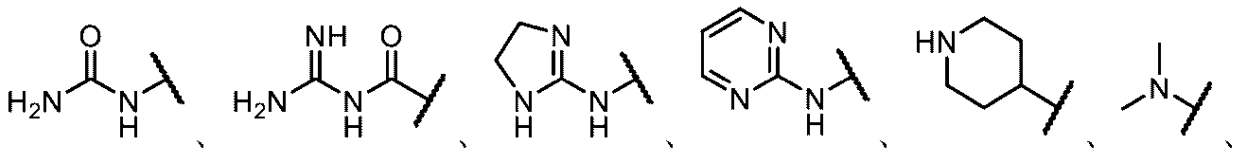
又はそれらのプロトン化形態であり、
Ｒ^{2a}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2c}、及びＲ^{2d}のうちの少なくとも１つが、グアニジン又はそのプロトン化形態であり、
ｎ”が各々独立して、０、１、２、３、４、又は５の整数であり、
ｎ’が各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
ｎ’が０である場合、Ｒ^{2a}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2b}、又はＲ^{2d}は不在である。
【０２６１】
Ｒ^{2a}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2c}、及びＲ^{2d}のうちの少なくとも２つは、

【化５２】



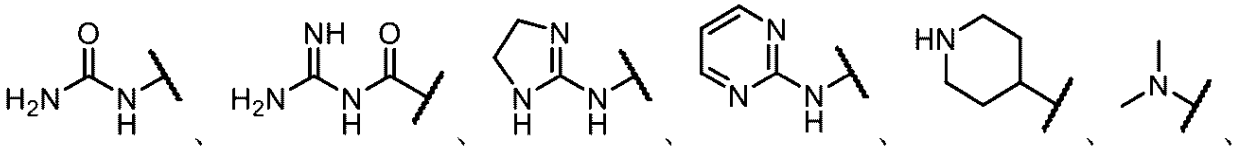
又はそれらのプロトン化形態とすることができる。R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}のうちの２つ又は３つは、

【化５３】



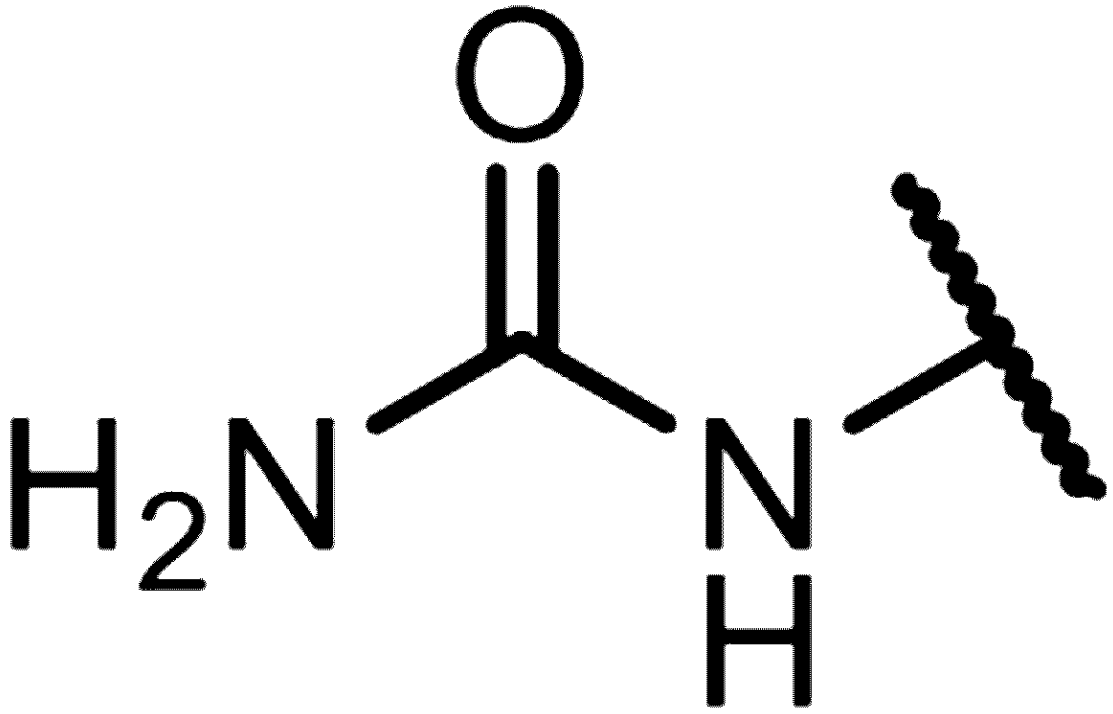
又はそれらのプロトン化形態とすることができる。R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}のうちの１つは、

【化５４】



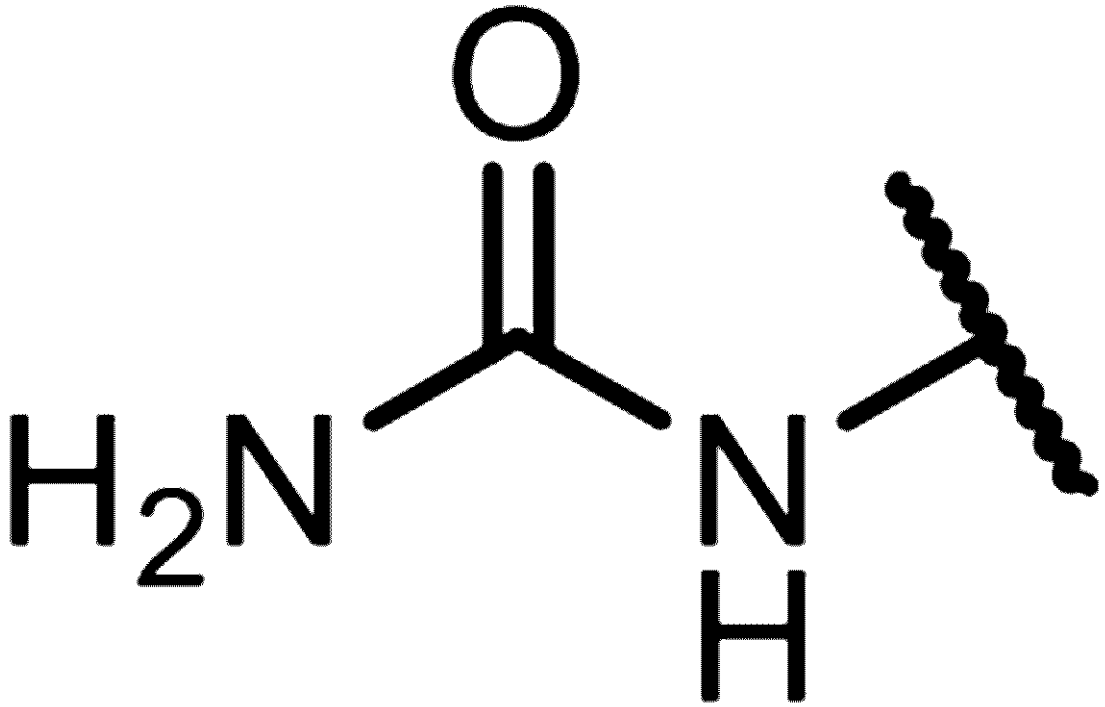
又はそれらのプロトン化形態とすることができる。R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}のうちの少なくとも１つは、

【化５５】

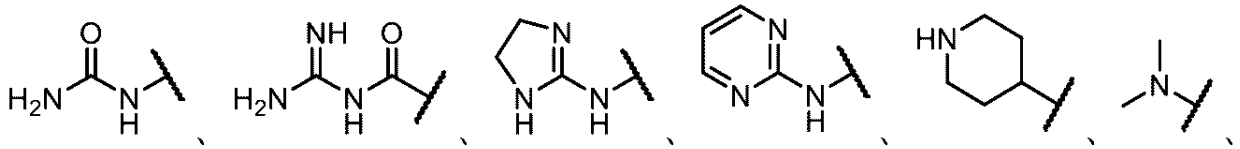


又はそのプロトン化形態とすることができ、R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}の残りは、グアニジン又はそのプロトン化形態とすることができる。R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及

びＲ２ｄのうちの少なくとも２つは、
【化５６】

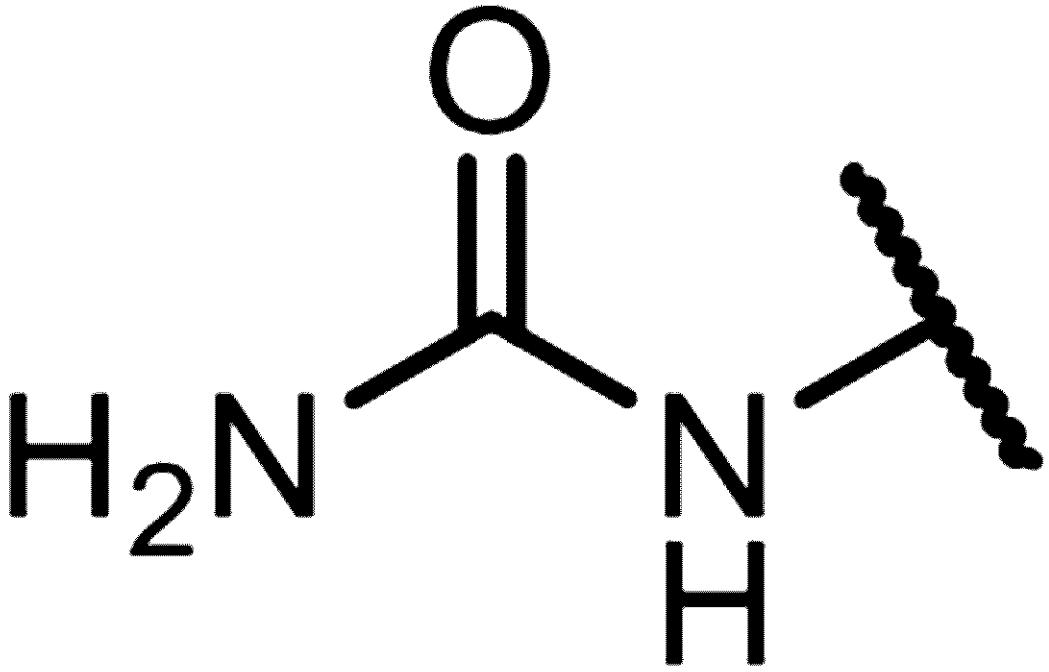


又はそのプロトン化形態とすることができ、Ｒ２ａ、Ｒ２ｂ、Ｒ２ｃ、及びＲ２ｄの残りは、グアニジン又はそのプロトン化形態とすることができる。
【０２６２】
Ｒ２ａ、Ｒ２ｂ、Ｒ２ｃ、及びＲ２ｄは全て、
【化５７】



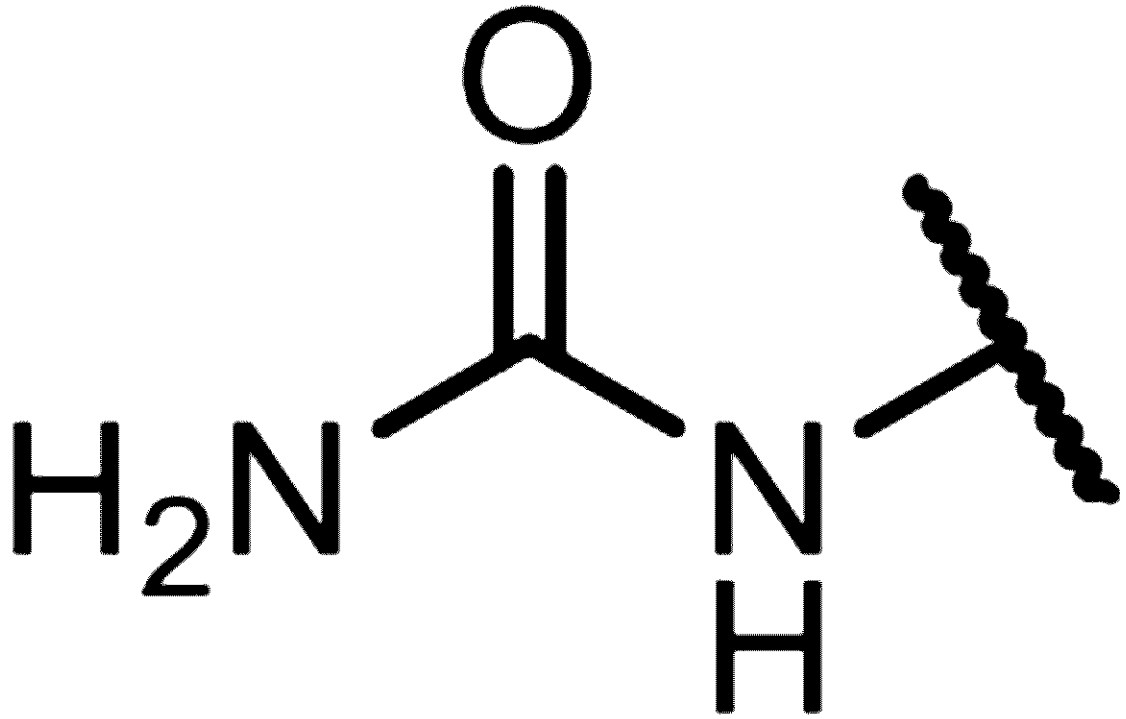
又はそれらのプロトン化形態とすることができる。Ｒ２ａ、Ｒ２ｂ、Ｒ２ｃ、及びＲ２ｄのうちの少なくともは、

【化５８】



又はそのプロトン化形態とすることができ、R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}の残りは、グアニジド又はそのプロトン化形態とすることができる。少なくとも２つのR^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}は、

【化５９】



又はそのプロトン化形態とすることができ、R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}の残りは、グアニジン又はそのプロトン化形態である。

【０２６３】

R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}、及びR^{2d}は各々独立して、２，３－ジアミノプロピオン酸、２，４－ジアミノ酪酸、オルニチン、リジン、メチルリジン、ジメチルリジン、トリメチルリジン、ホモリジン、セリン、ホモセリン、トレオニン、アロトレオニン、ヒスチジン、１－メチルヒスチジン、２－アミノブタン二酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、又はホモグルタミン酸の側鎖とすることができる。

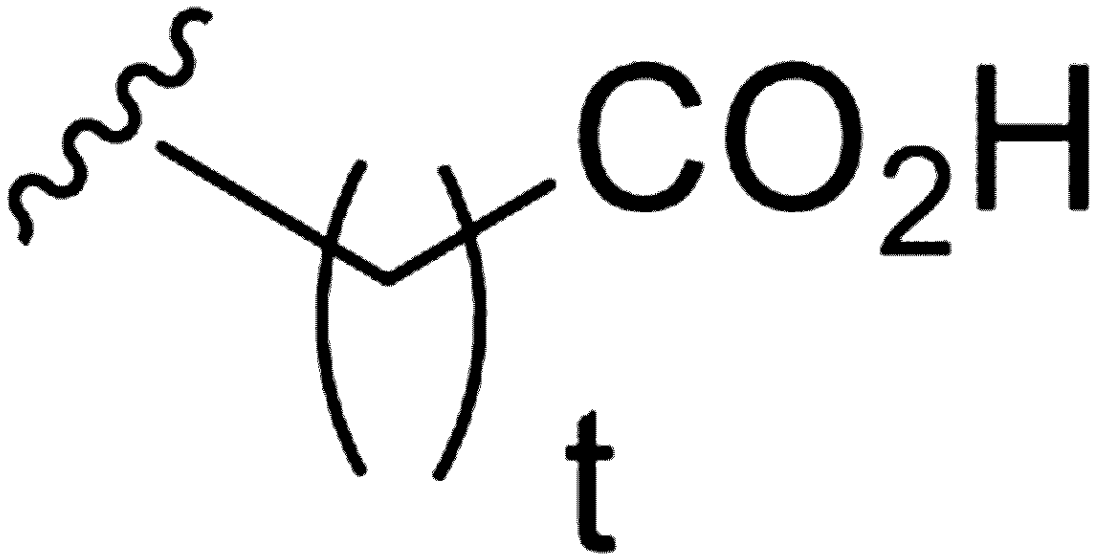
【０２６４】

AA_{sc}は、

【化６０】

とすることができ、式中、ｔが、０～５の整数とすることができる。AA_{sc}は、

【化６１】



とすることができ、式中、ｔが、０～５の整数とすることができる。ｔは、１～５とすることができる。ｔは、２又は３である。ｔは、２とすることができる。ｔは、３とすることができる。

【０２６５】

Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}は各々独立して、６～１４員アリールとすることができる。Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}は各々独立して、Ｎ、Ｏ、又はＳから選択される１個以上のヘテロ原子を有する６～１４員ヘテロアリールとすることができる。Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}は各々独立して、フェニル、ナフチル、アントラセニル、ピリジル、キノリル、又はイソキノリルから選択することができる。Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}は各々独立して、フェニル、ナフチル、又はアントラセニルから選択することができる。Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}は各々独立して、フェニル又はナフチルとすることができる。Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}は各々独立して、ピリジル、キノリル、又はイソキノリルから選択することができる。

【０２６６】

ｎ’は各々独立して、１又は２とすることができる。ｎ’は各々、１とすることができる。ｎ’は各々、２とすることができる。少なくとも１つのｎ’は、０とすることができる。少なくとも１つのｎ’は、１とすることができる。少なくとも１つのｎ’は、２とすることができる。少なくとも１つのｎ’は、３とすることができる。少なくとも１つのｎ’は、４とすることができる。少なくとも１つのｎ’は、５とすることができる。

【０２６７】

ｎ”は各々独立して、１～３の整数とすることができる。ｎ”は各々独立して、２又は３とすることができる。ｎ”は各々、２とすることができる。ｎ”は各々、３とすることができる。少なくとも１つのｎ”は、０とすることができる。少なくとも１つのｎ”は、１とすることができる。少なくとも１つのｎ”は、２とすることができる。少なくとも１つのｎ”は、３とすることができる。

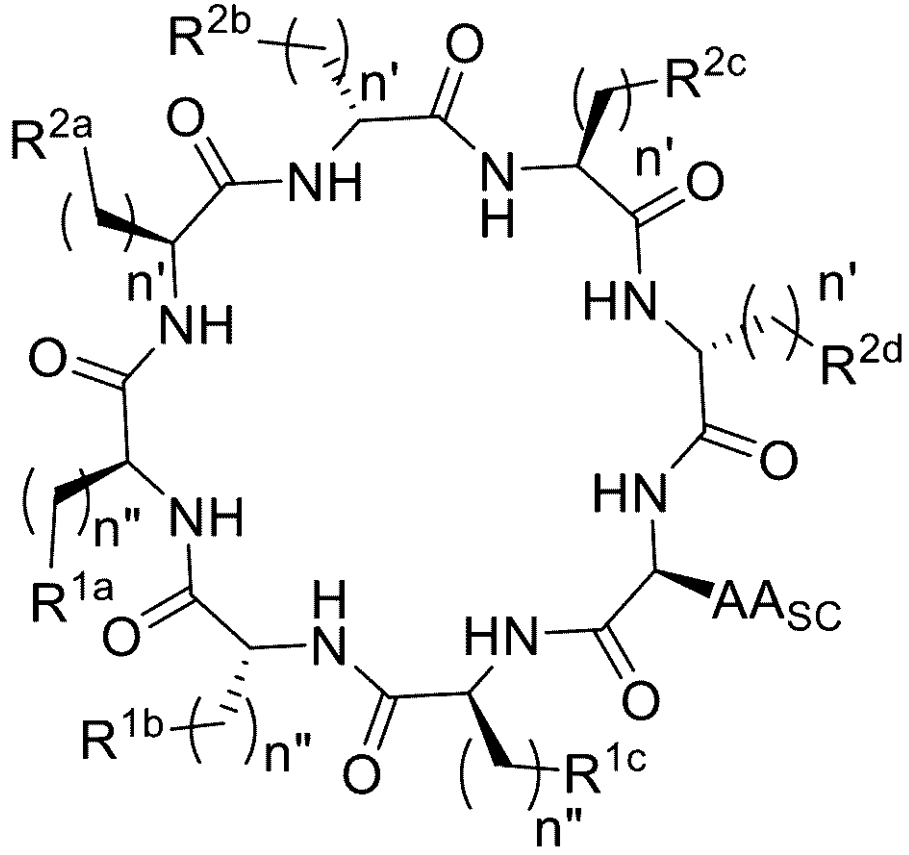
【０２６８】

ｎ”各々は独立して、１又は２とすることができ、ｎ’は各々独立して、２又は３とすることができる。ｎ”は各々、１とすることができ、ｎ’は各々独立して、２又は３とすることができる。ｎ”は各々、１とすることができ、ｎ’は各々、２とすることができる。ｎ”は各々、１であり、ｎ’は各々、３である。

【０２６９】

式（ＩＩ）のｃＣＰＰは、式（ＩＩ－１）の構造を有することができ、

【化６２】



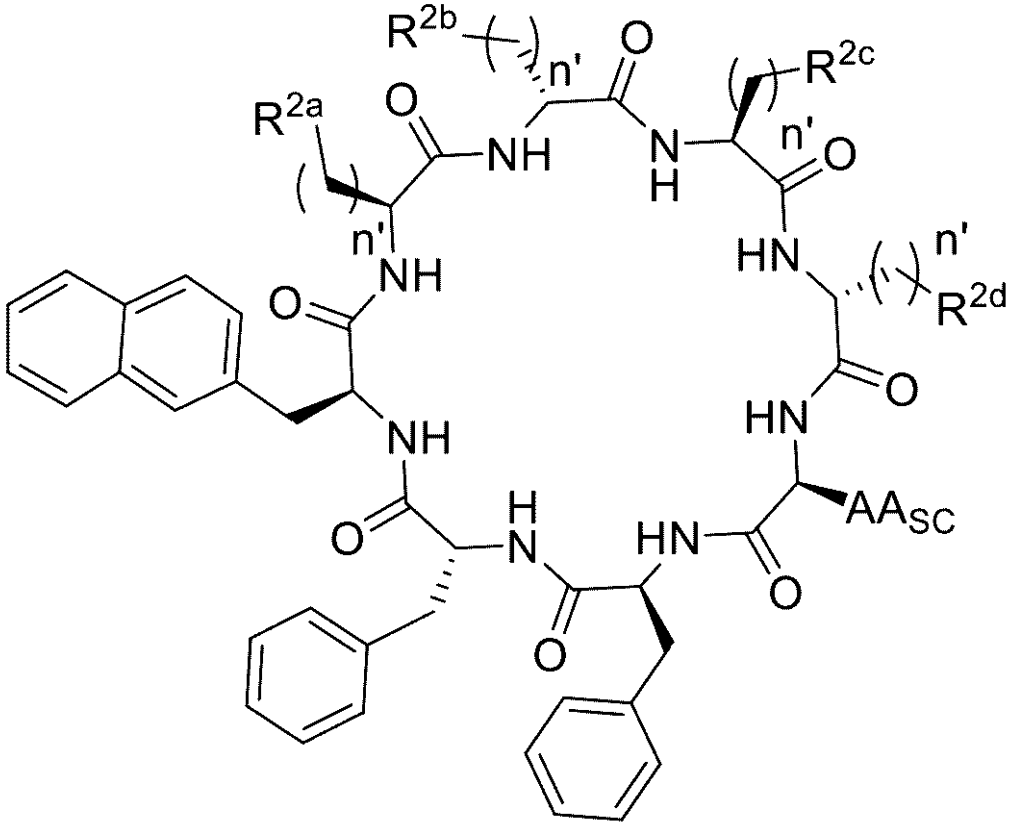
（ＩＩ－１）

式中、Ｒ１ａ、Ｒ１ｂ、Ｒ１ｃ、Ｒ２ａ、Ｒ２ｂ、Ｒ２ｃ、Ｒ２ｄ、ＡＡｓｃ－、ｎ’、及びｎ”が、本明細書に定義されるとおりである。

【０２７０】

式（ＩＩ）のｃＣＰＰは、式（ＩＩａ）の構造を有することができ、

【化６３】



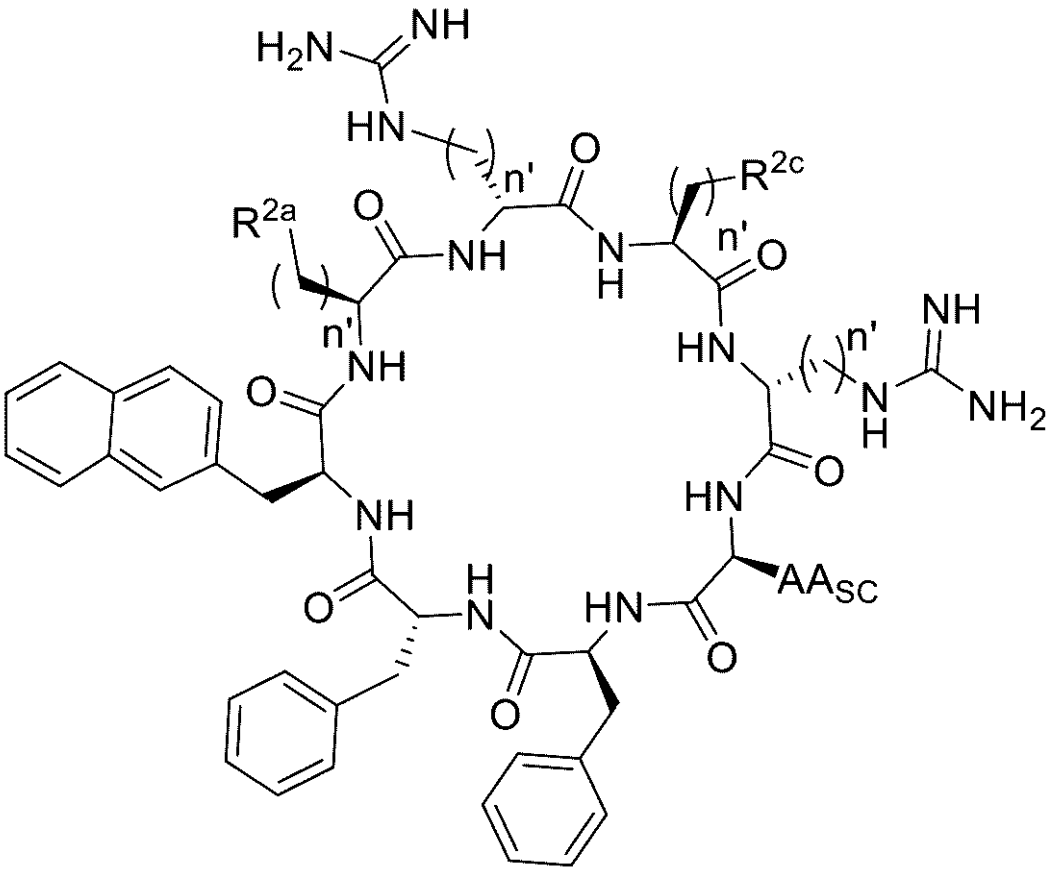
（ＩＩａ）

式中、Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、Ｒ^{1c}、Ｒ^{2a}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2c}、Ｒ^{2d}、ＡＡ$_{SC}$－、及びｎ’が、本明細書に定義されるとおりである。

【０２７１】

式（ＩＩ）のｃＣＰＰは、式（ＩＩｂ）の構造を有することができ、

【化６４】



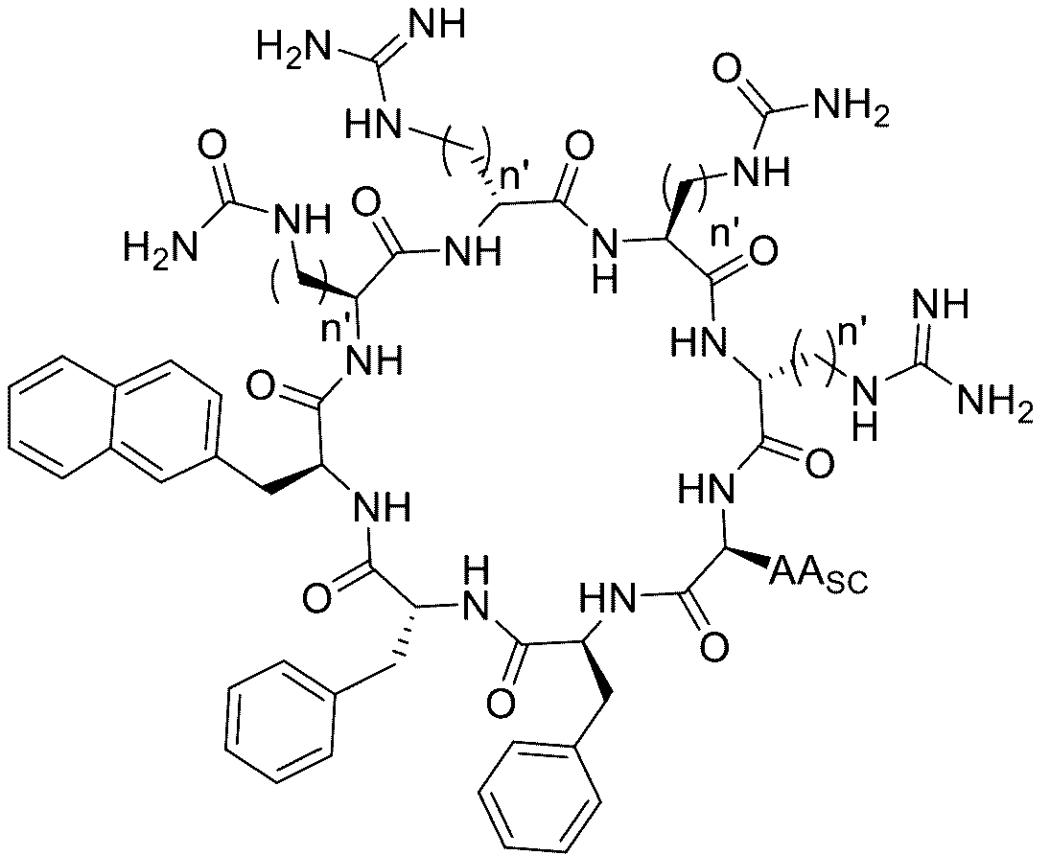
（ＩＩｂ）

式中、Ｒ２ａ、Ｒ２ｂ、ＡＡｓｃ－、及びｎ’が、本明細書に定義されるとおりである。

【０２７２】

ｃＣＰＰは、式（ＩＩｃ）の構造：

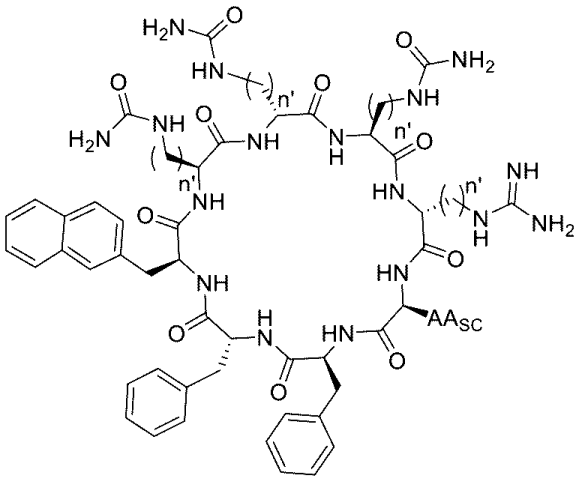
【化６５】



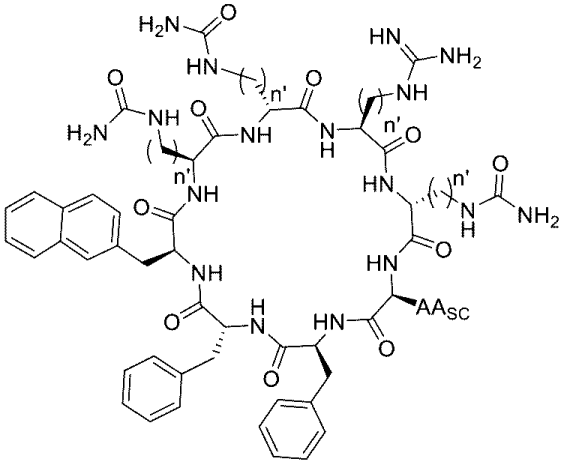
（ＩＩｃ）

、
又はそのプロトン化形態を有することができ、
式中、
ＡＡｓｃ及びｎ’が、本明細書に定義されるとおりである。
【０２７３】
式（ＩＩａ）のｃＣＰＰは、以下の構造：

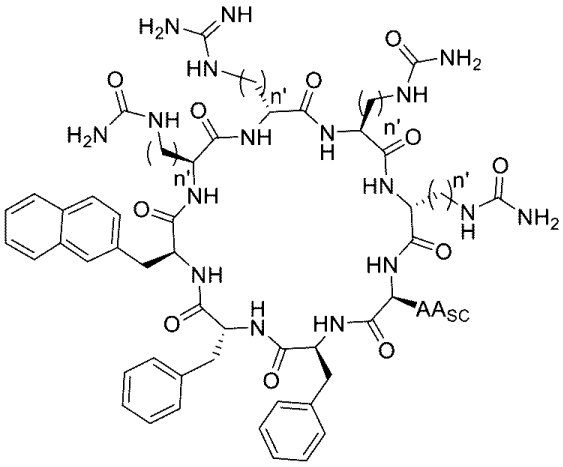
【化６６－１】



、

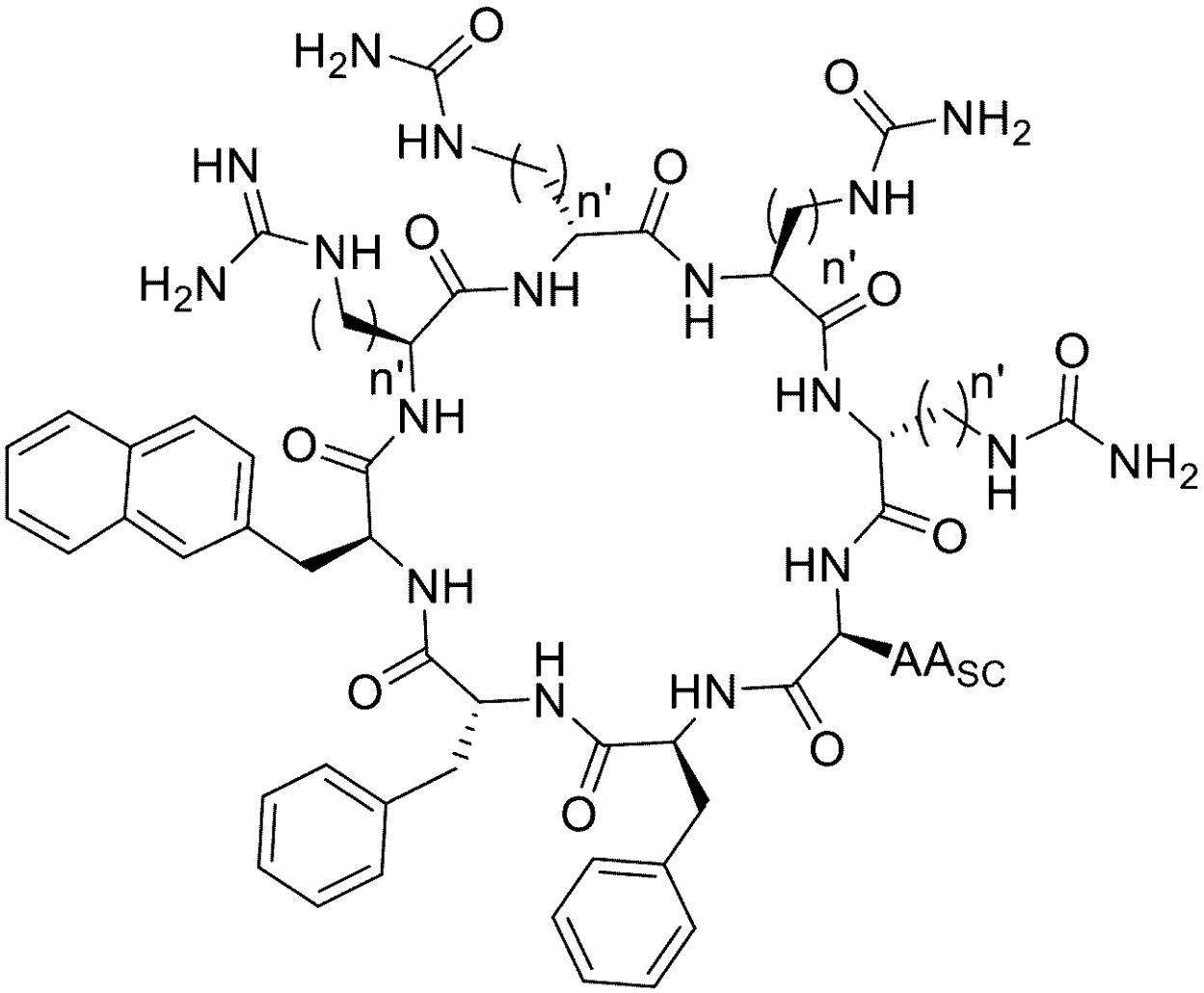


、



、又は

【化６６－２】

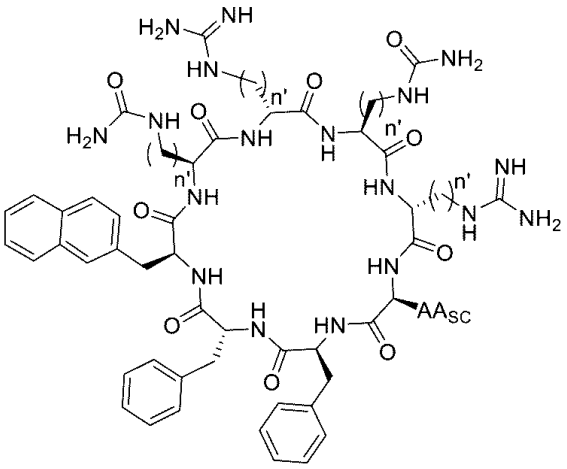


のうちの１つを有し、式中、ＡＡｓｃ及びｎが、本明細書に定義されるとおりである。

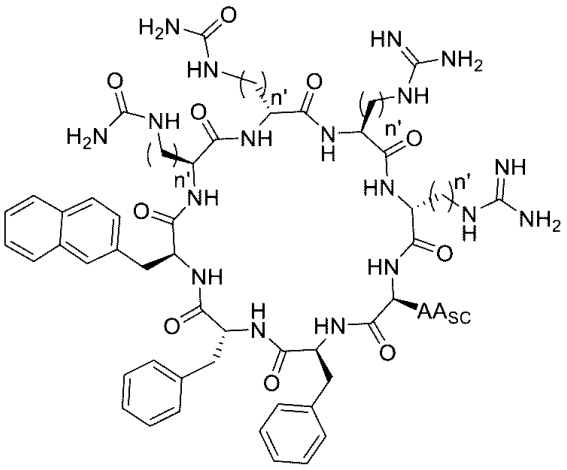
【０２７４】

式（ＩＩａ）のｃＣＰＰは、以下の構造：

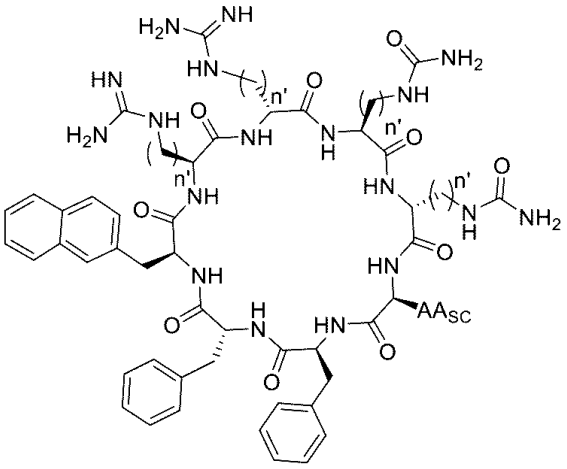
【化６７－１】



、

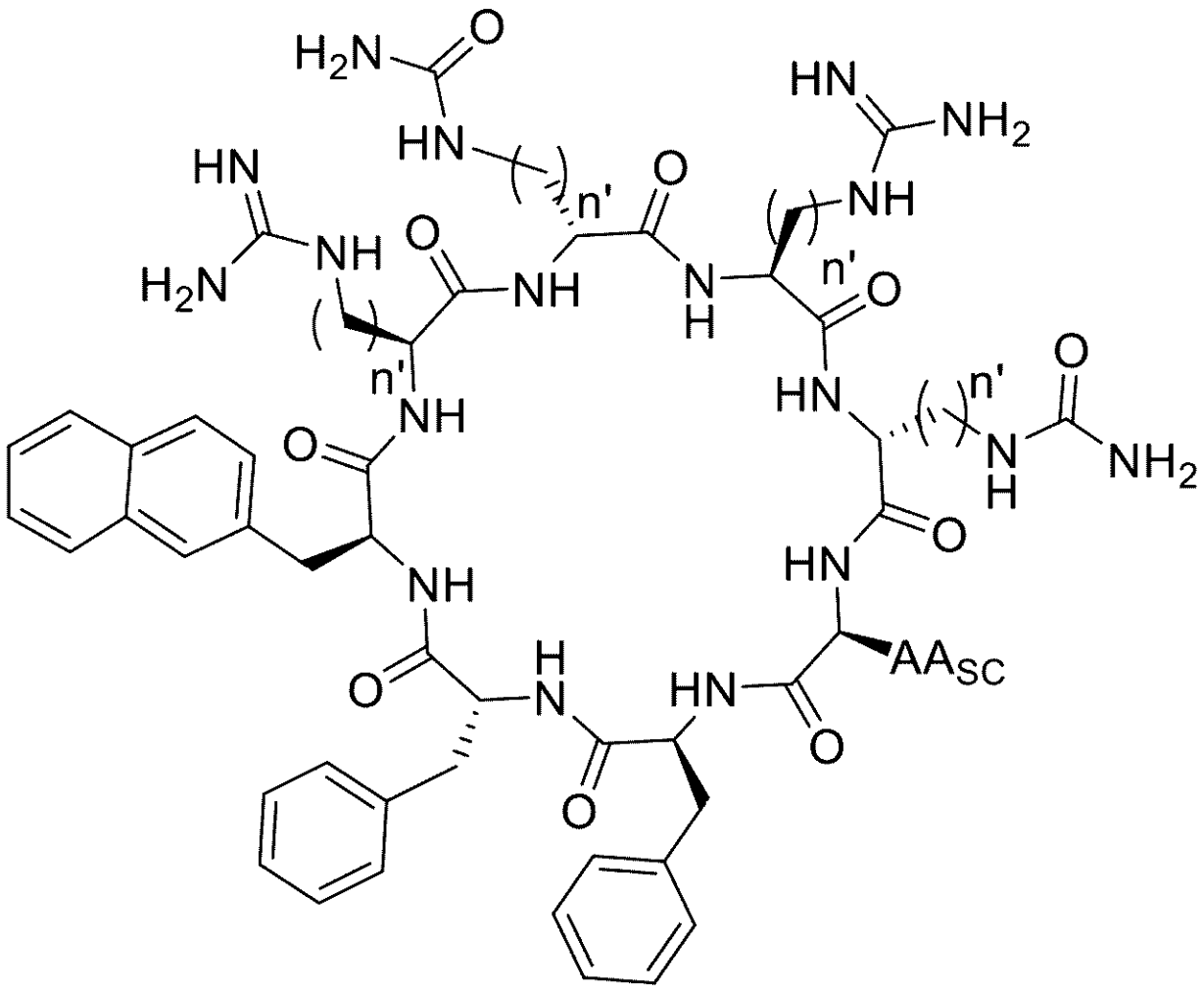


、



、又は

【化６７－２】

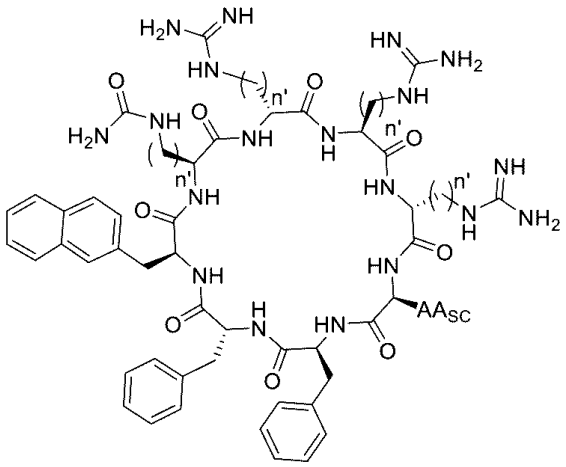


のうちの１つを有し、式中、ＡＡｓｃ及びｎが、本明細書に定義されるとおりである。

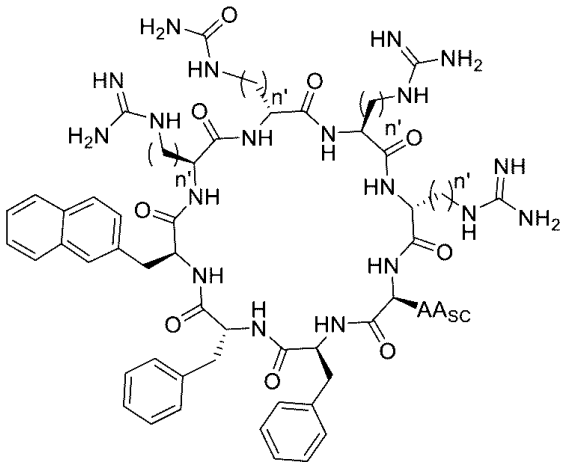
【０２７５】

式（ＩＩａ）のｃＣＰＰは、以下の構造：

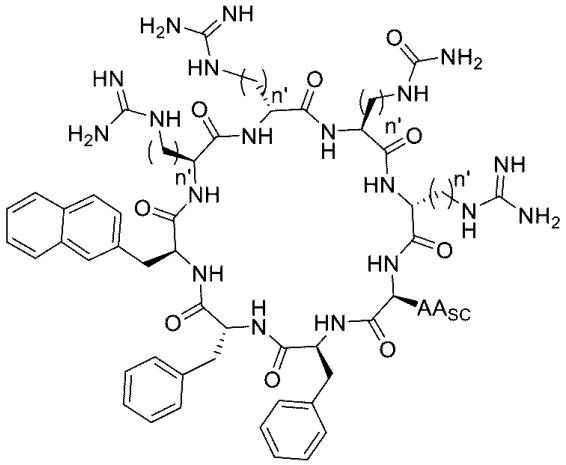
【化６８－１】



、

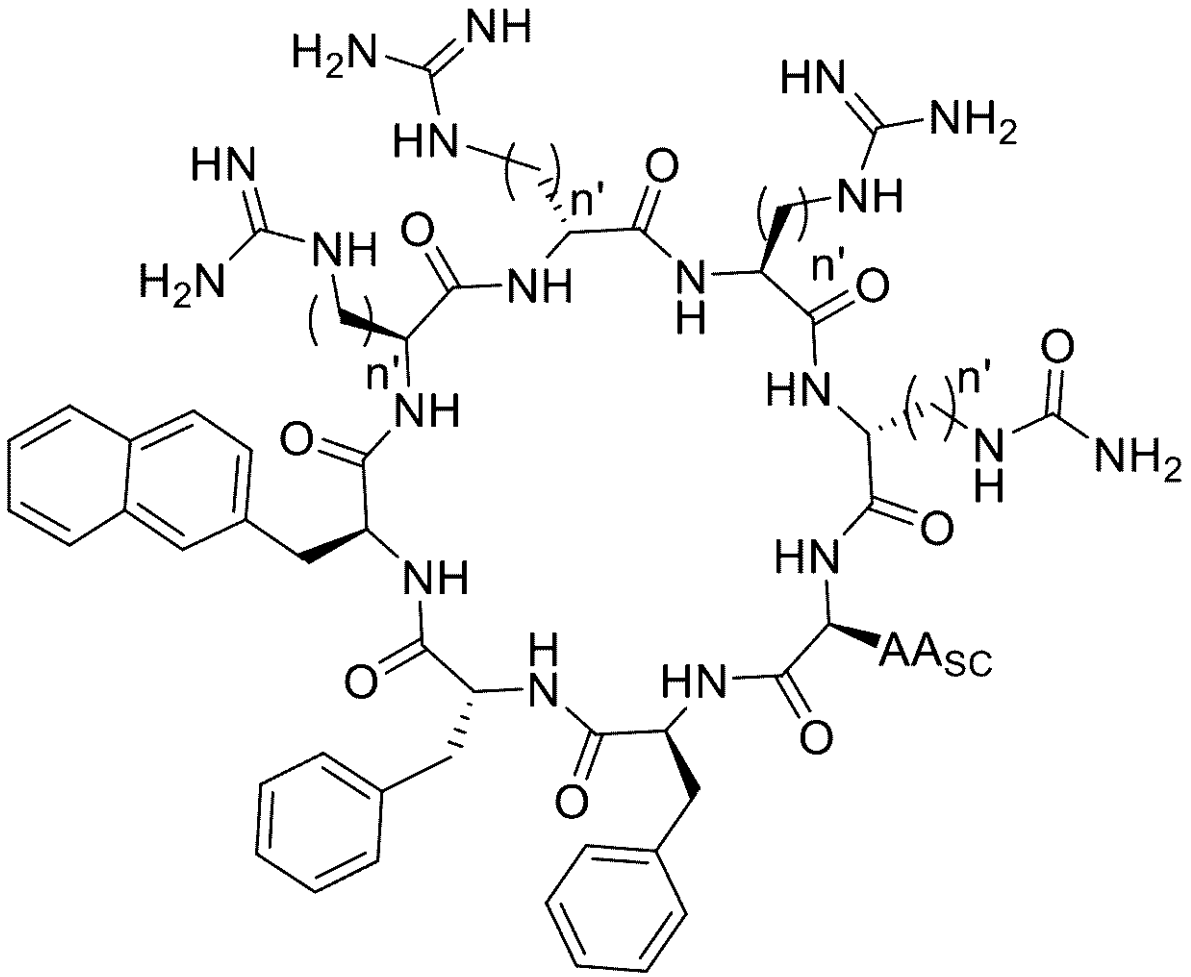


、



、又は

【化６８－２】

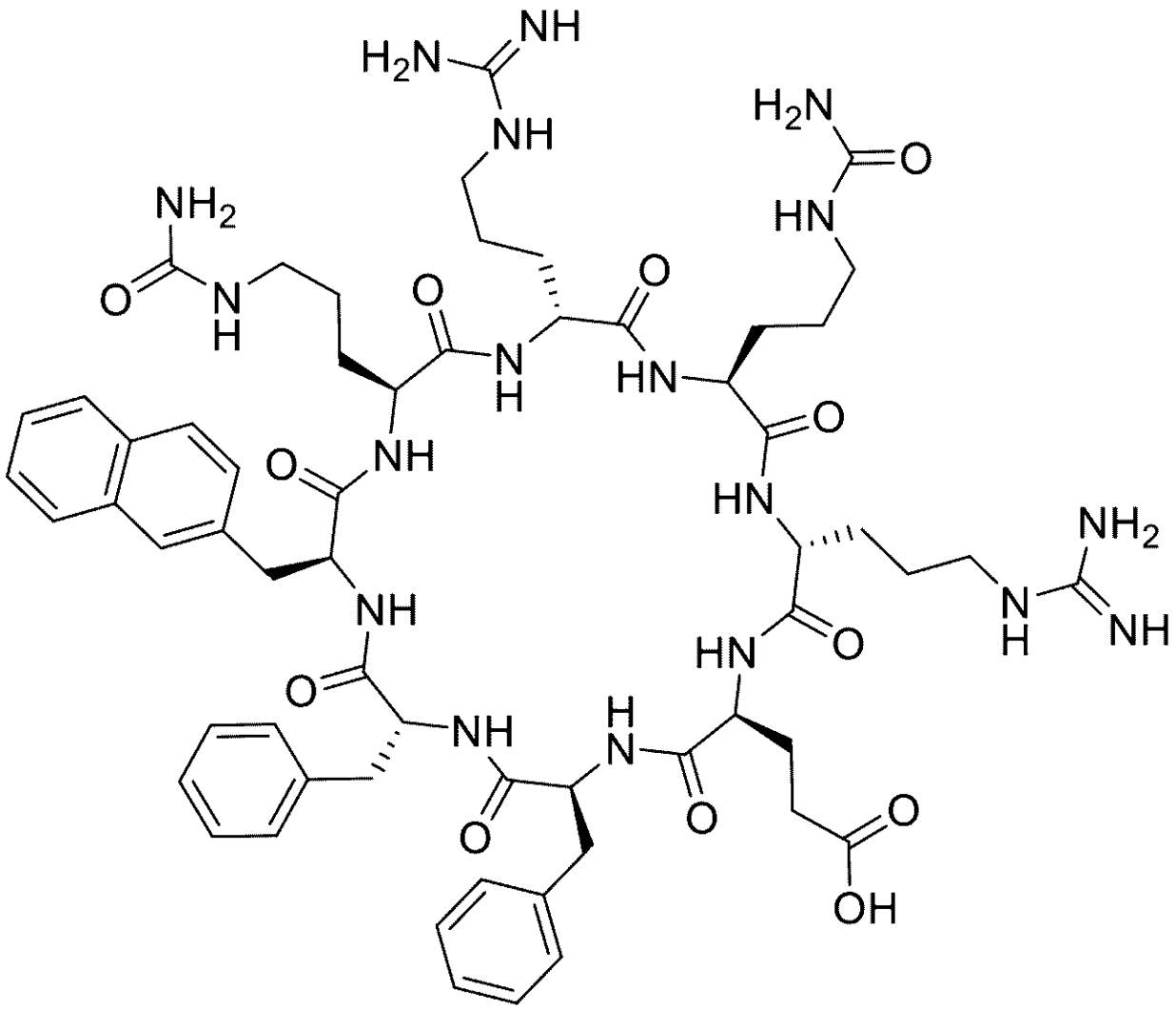


のうちの１つを有し、式中、ＡＡｓｃ及びｎが、本明細書に定義されるとおりである。

【０２７６】

式（ＩＩ）のｃＣＰＰは、以下の構造を有することができる。

【化６９】

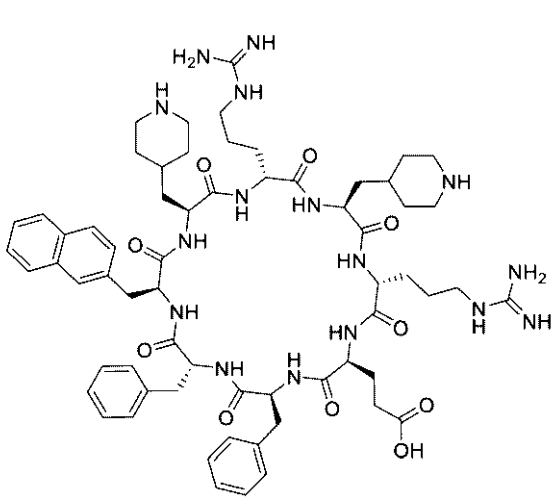


。

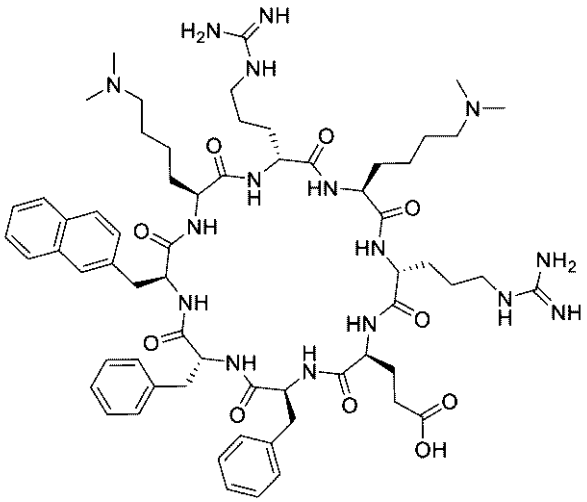
【０２７７】

式（ＩＩ）のｃＣＰＰは、以下の構造：

【化７０】

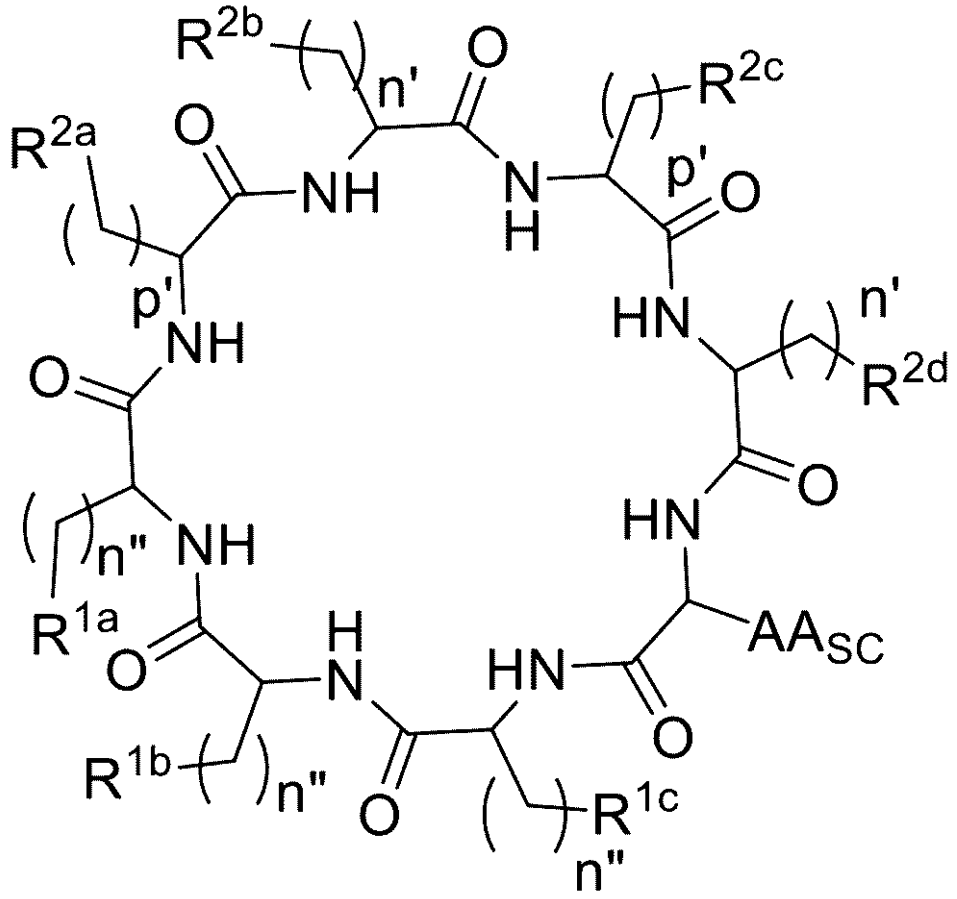


、又は



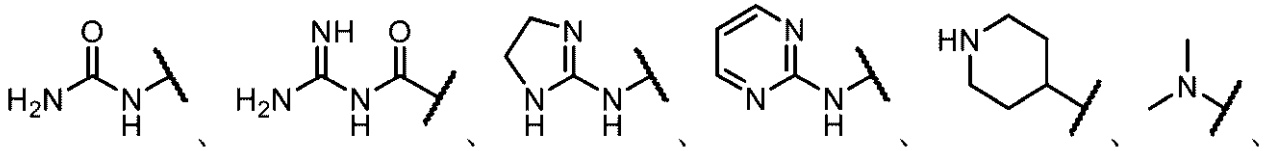
を有することができる。

【０２７８】
ｃＣＰＰは、式（ＩＩＩ）の構造を有することができ、
【化７１】



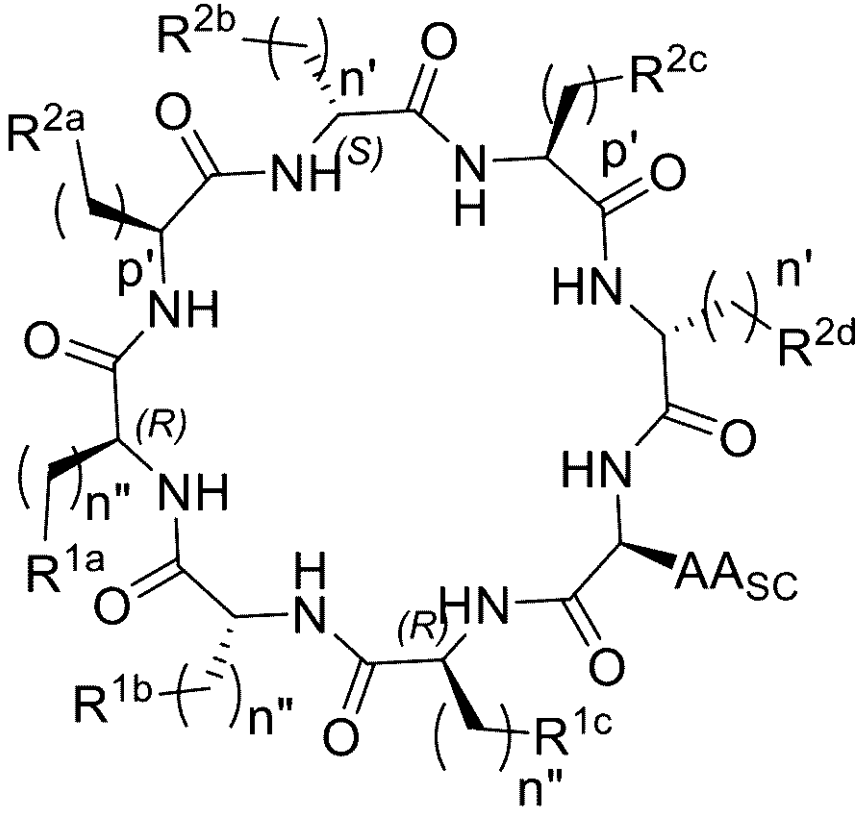
（ＩＩＩ）

式中、
ＡＡ$_{sc}$が、アミノ酸側鎖であり、
Ｒ^{1a}、Ｒ^{1b}、及びＲ^{1c}が各々独立して、６～１４員アリール又は６～１４員ヘテロアリールであり、
Ｒ^{2a}及びＲ^{2c}が各々独立して、Ｈ、
【化７２】



又はそれらのプロトン化形態であり、
Ｒ^{2b}及びＲ^{2d}が各々独立して、グアニジン又はそのプロトン化形態であり、
ｎ”が各々独立して、１～３の整数であり、
ｎ’が各々独立して、１～５の整数であり、
ｐ’が各々独立して、０～５の整数である。
【０２７９】
式（ＩＩＩ）のｃＣＰＰは、式（ＩＩＩ－１）の構造を有することができ、

【化７３】



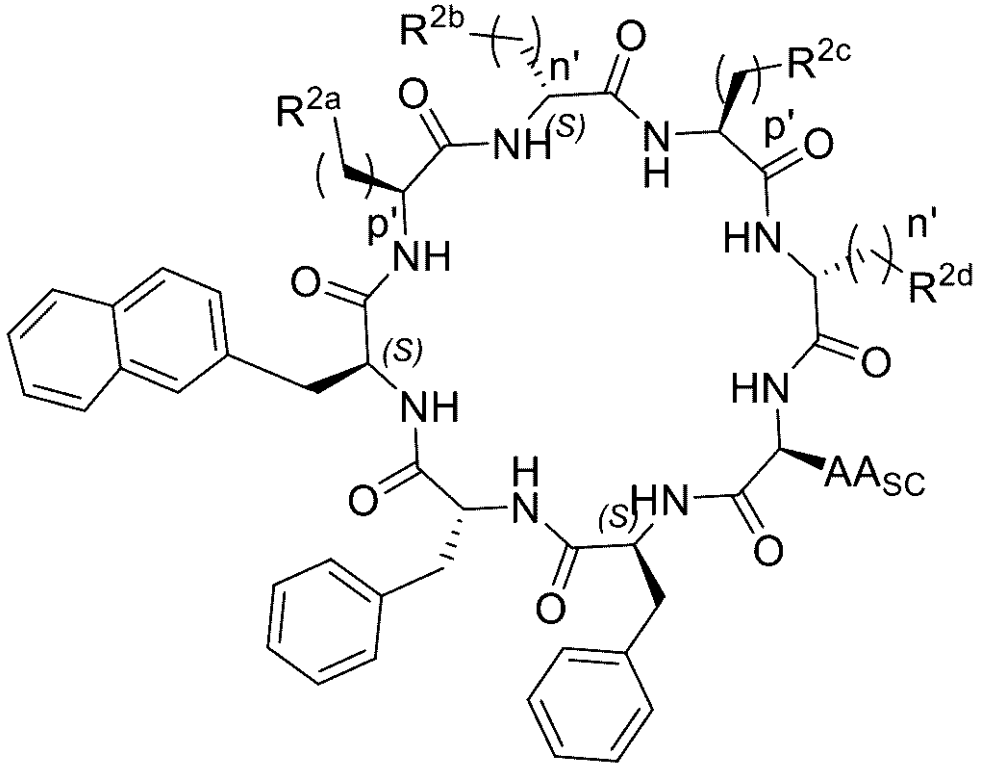
（ＩＩＩ－１）

式中、
ＡＡｓｃ、Ｒ１ａ、Ｒ１ｂ、Ｒ１ｃ、Ｒ２ａ、Ｒ２ｃ、Ｒ２ｂ、Ｒ２ｄ、ｎ’、ｎ”、及びｐ’が、本明細書に定義されるとおりである。

【０２８０】

式（ＩＩＩ）のｃＣＰＰは、式（ＩＩＩａ）の構造を有することができ、

【化７４】



（ＩＩＩａ）

式中、
ＡＡ$_{SC}$、Ｒ^{2a}、Ｒ^{2c}、Ｒ^{2b}、Ｒ^{2d}、ｎ’、ｎ”、及びｐ’が、本明細書に定義されるとおりである。

【０２８１】

式（ＩＩＩ）、式（ＩＩＩ－１）、及び式（ＩＩＩａ）中、Ｒ^{a}及びＲ^{c}は、Ｈとすることができる。Ｒ^{a}及びＲ^{c}は、Ｈとすることができ、Ｒ^{b}及びＲ^{d}は各々独立して、グアニジン又はそのプロトン化形態とすることができる。Ｒ^{a}は、Ｈとすることができる。Ｒ^{b}は、Ｈとすることができる。ｐ’は、０とすることができる。Ｒ^{a}及びＲ^{c}は、Ｈとすることができ、ｐ’は各々、０とすることができる。

【０２８２】

式（ＩＩＩ）、式（ＩＩＩ－１）、及び式（ＩＩＩａ）中、Ｒ^{a}及びＲ^{c}は、Ｈとすることができ、Ｒ^{b}及びＲ^{d}は各々独立して、グアニジン又はそのプロトン化形態とすることができ、ｎ”は、２又は３とすることができ、ｐ’は各々、０とすることができる。

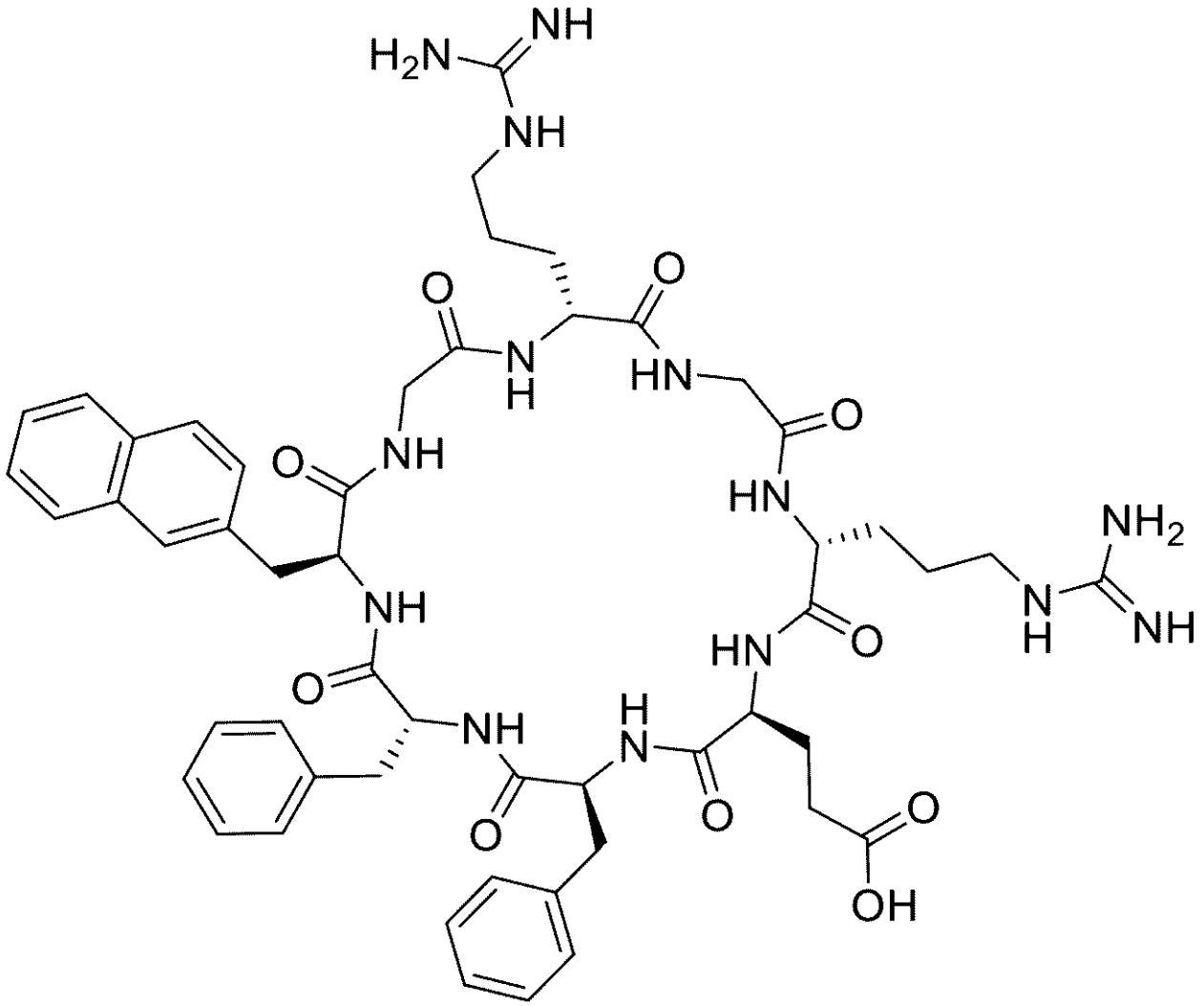
【０２８３】

ｐ’は、０とすることができる。ｐ’は、１とすることができる。ｐ’は、２とすることができる。ｐ’は、３とすることができる。ｐ’は、４とすることができる。ｐ’は、５とすることができる。

【０２８４】

ｃＣＰＰは、以下の構造を有することができる。

【化７５】



。

【０２８５】

式（Ａ）のｃＣＰＰは、以下から選択することができる。

【表２３】

CPP配列	配列番号
(FfΦRrRrQ)	78
(FfΦCit-r-Cit-rQ)	79
(FfΦGrGrQ)	80
(FfFGRGRQ)	81
(FGFGRGRQ)	82
(GfFGrGrQ)	83
(FGFGRRRQ)	84
(FGFRRRRQ)	85

【０２８６】
式（Ａ）のｃＣＰＰは、以下から選択することができる。

【表２４】

CPP配列	配列番号
FΦRRRRQ	86
fΦRrRrQ	87
FfΦRrRrQ	78
FfΦCit-r-Cit-rQ	79
FfΦGrGrQ	80
FfΦRGRGQ	88
FfFGRGRQ	81
FGFGRGRQ	82
GfFGrGrQ	83
FGFGRRRQ	84
FGFRRRRQ	85

【０２８７】

複数の実施形態では、ｃＣＰＰは、以下から選択される。

【表２５】

CPP配列及び配列番号					
FΦRRRQ	89	RRFRΦRQ	99	FΦRRRRQK	109
FΦRRRC	90	FRRRRΦQ	100	FΦRRRRQC	110
FΦRRRU	91	rRFRΦRQ	101	fΦRrRrRQ	111
RRRΦFQ	92	RRΦFRRQ	102	FΦRRRRRQ	112
RRRRΦF	93	CRRRRFWQ	103	RRRRΦFDΩC	113
FΦRRRR	94	FfΦRrRrQ	104	FΦRRR	114
FΦrRrRq	95	FFΦRRRRQ	105	FWRRR	115
FΦrRrRQ	96	RFRFRΦRQ	106	RRRΦF	116
FΦRRRRQ	97	URRRRFWQ	107	RRRWF	117
fΦRrRrQ	98	CRRRRFWQ	108		

式中、Φ＝Ｌ－ナフチルアラニン、ϕ＝Ｄ－ナフチルアラニン、Ω＝Ｌ－ノルロイシン

【０２８８】

複数の実施形態では、ｃＣＰＰは、以下から選択されない。

【表２６】

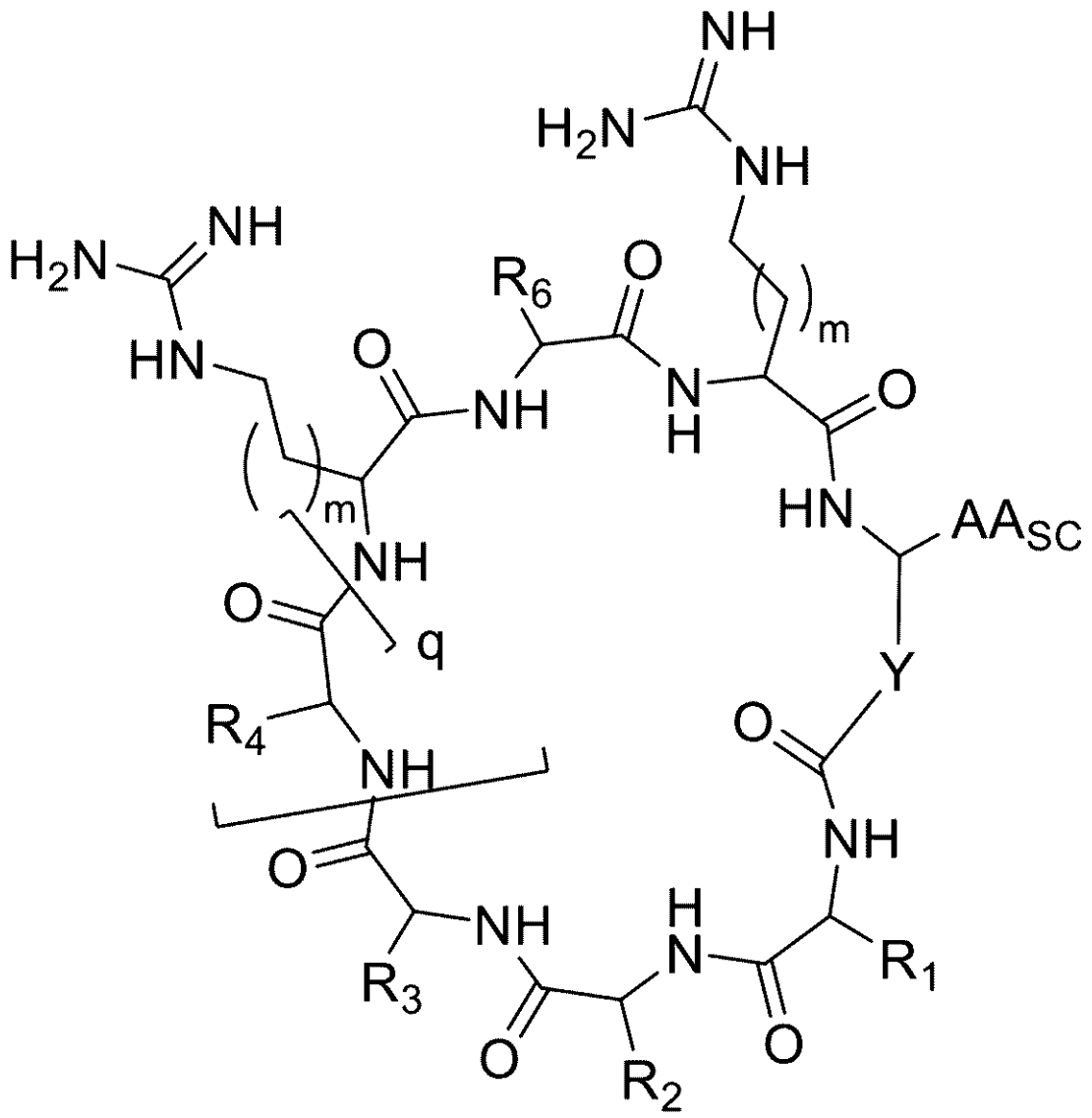
CPP配列及び配列番号					
FΦRRRQ	89	RRFRΦRQ	99	FΦRRRRQK	109
FΦRRRC	90	FRRRRΦQ	100	FΦRRRRQC	110
FΦRRRU	91	rRFRΦRQ	101	fΦRrRrRQ	111
RRRΦFQ	92	RRΦFRRQ	102	FΦRRRRRQ	112
RRRRΦF	93	CRRRRFWQ	103	RRRRΦFDΩC	113
FΦRRRR	94	FfΦRrRrQ	104	FΦRRR	114
FΦrRrRq	95	FFΦRRRRQ	105	FWRRR	115
FΦrRrRQ	96	RFRFRΦRQ	106	RRRΦF	116
FΦRRRRQ	97	URRRRFWQ	107	RRRWF	117
fΦRrRrQ	98	CRRRRFWQ	108		

式中、Φ＝Ｌ－ナフチルアラニン、ϕ＝Ｄ－ナフチルアラニン、Ω＝Ｌ－ノルロイシン

【０２８９】

ｃＣＰＰは、式（Ｄ）の構造：

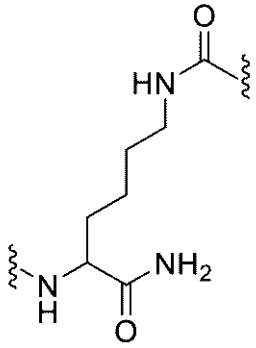
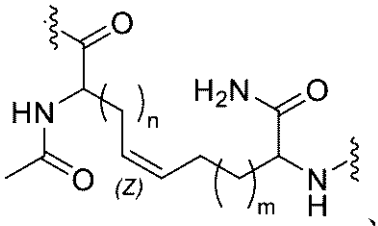
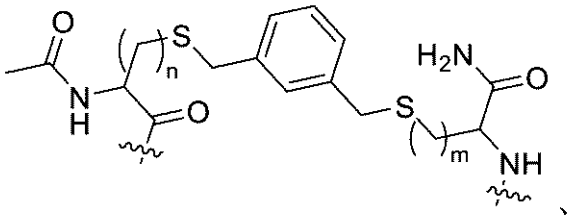
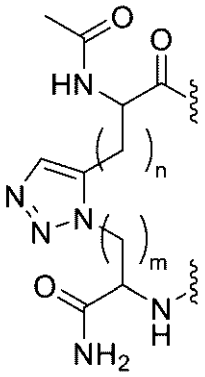
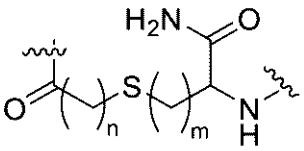
【化７６】



(D)

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ４及びＲ６が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
Ｙが、

【化７７】

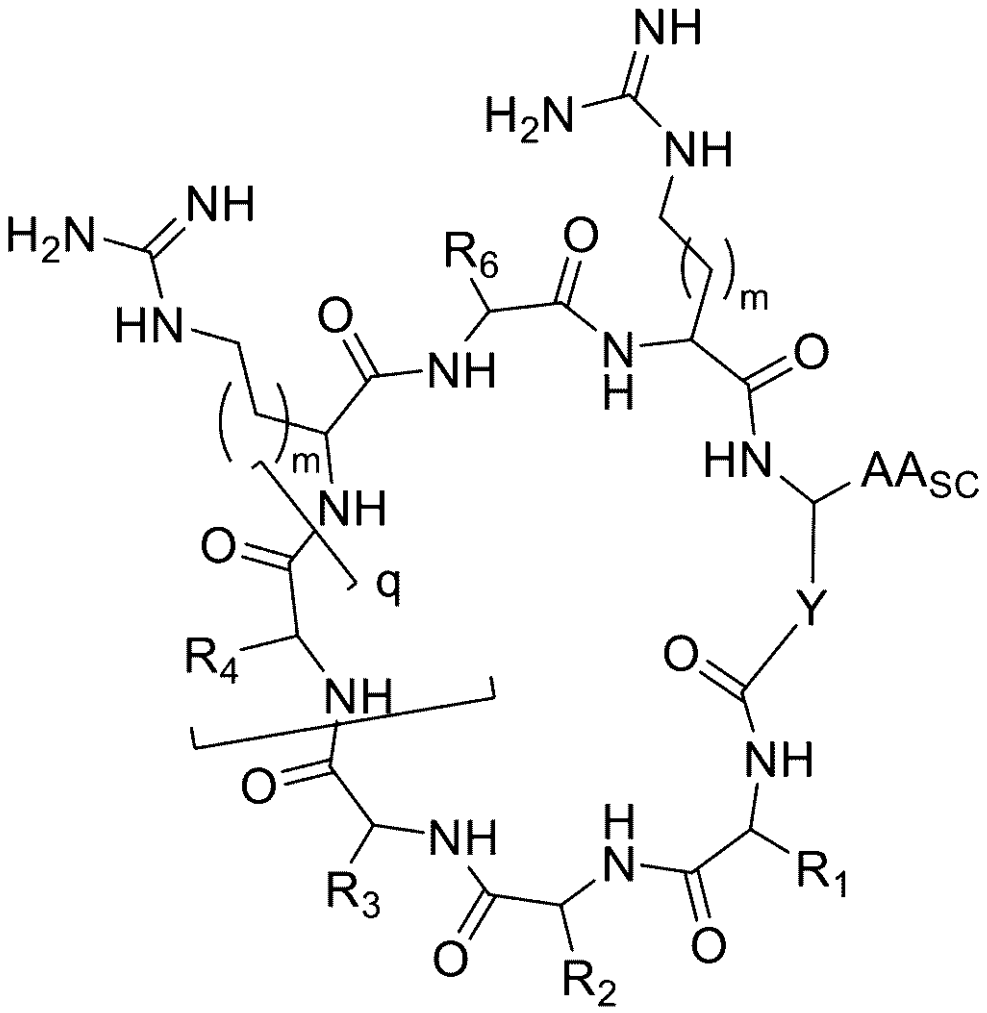

、

、

、

、又は


であり、
ＡＡｓｃが、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
ｎが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である。

【０２９０】

式（Ｄ）のｃＣＰＰは、式（Ｄ－Ｉ）の構造：

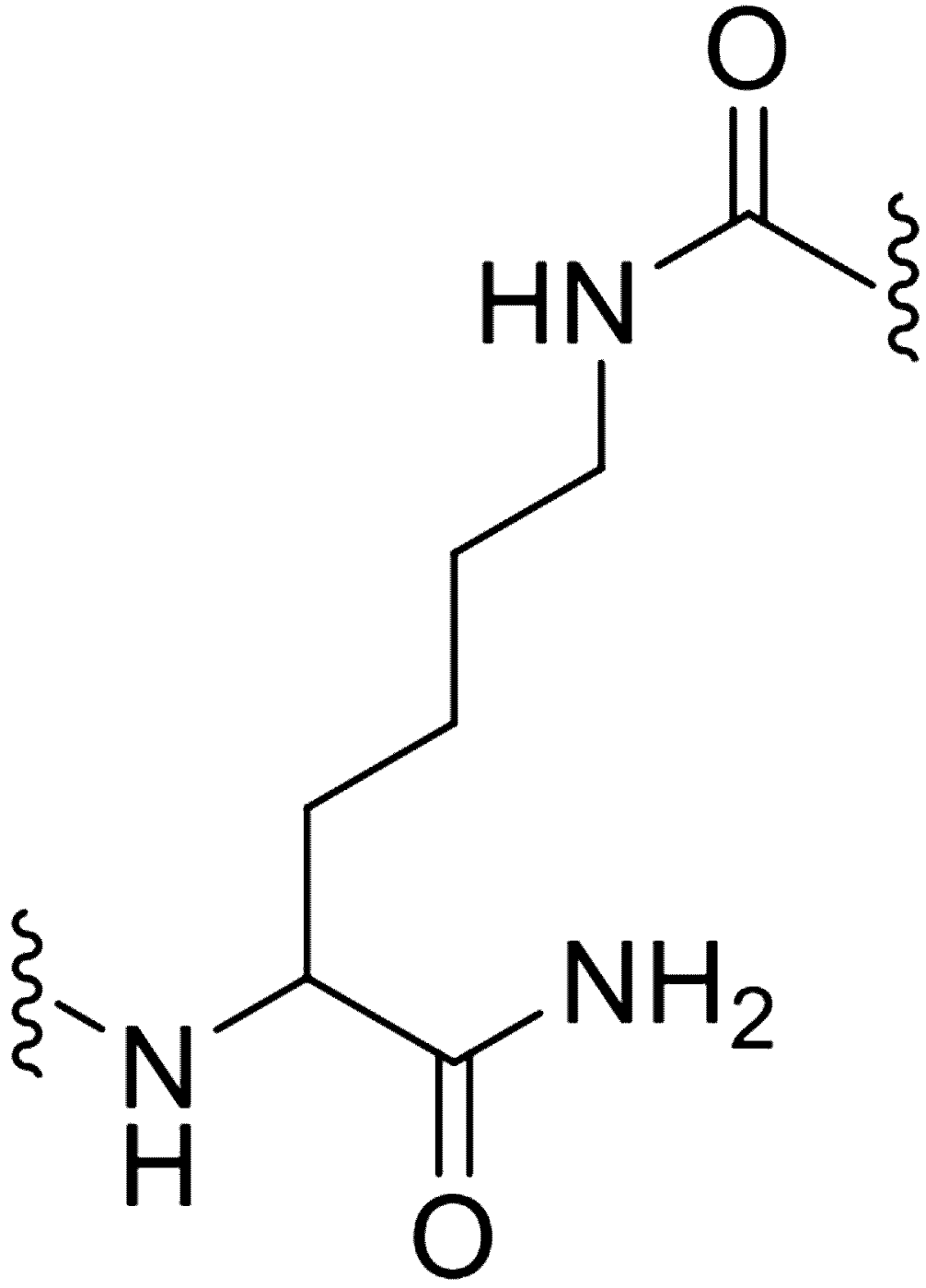
【化７８】



（Ｄ－Ｉ）

又はそのプロトン化形態を有することができ、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ４及びＲ６が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＡＡＳＣが、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
Ｙが、

【化７９】

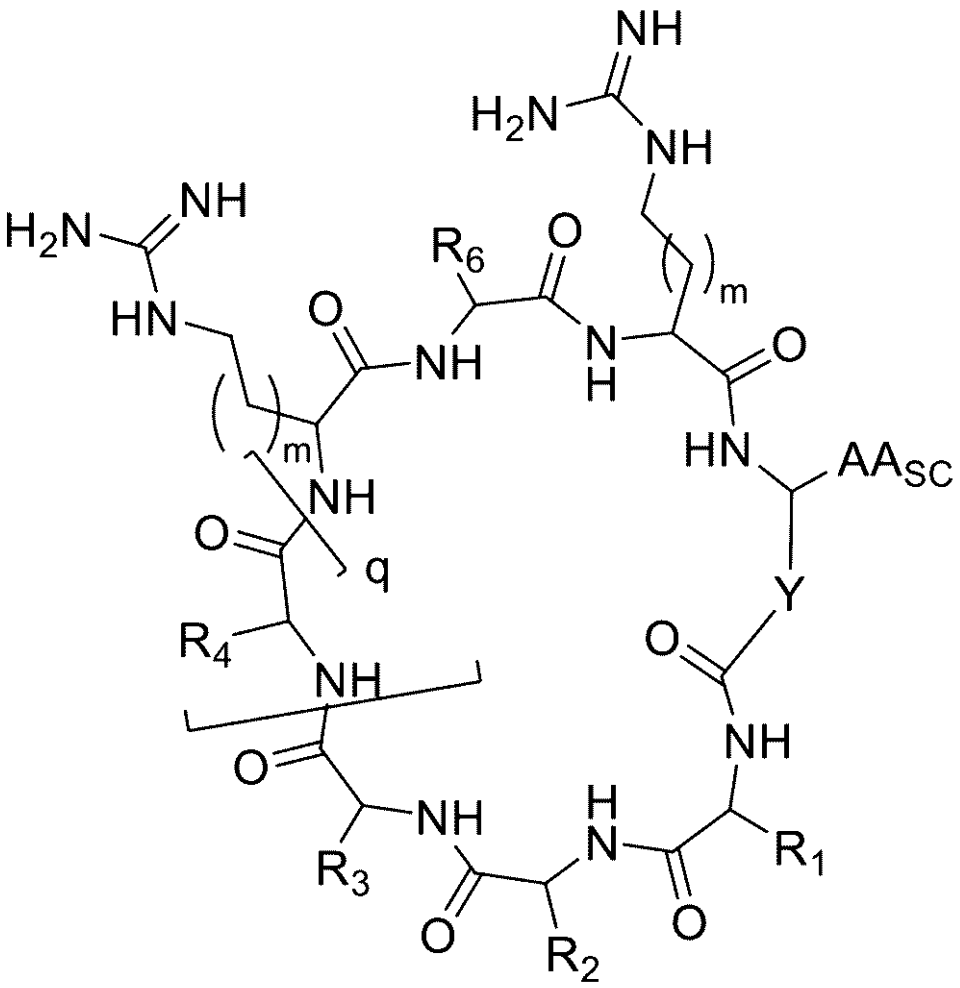


である。

【０２９１】

式（Ｄ）のｃＣＰＰは、式（Ｄ－ＩＩ）の構造：

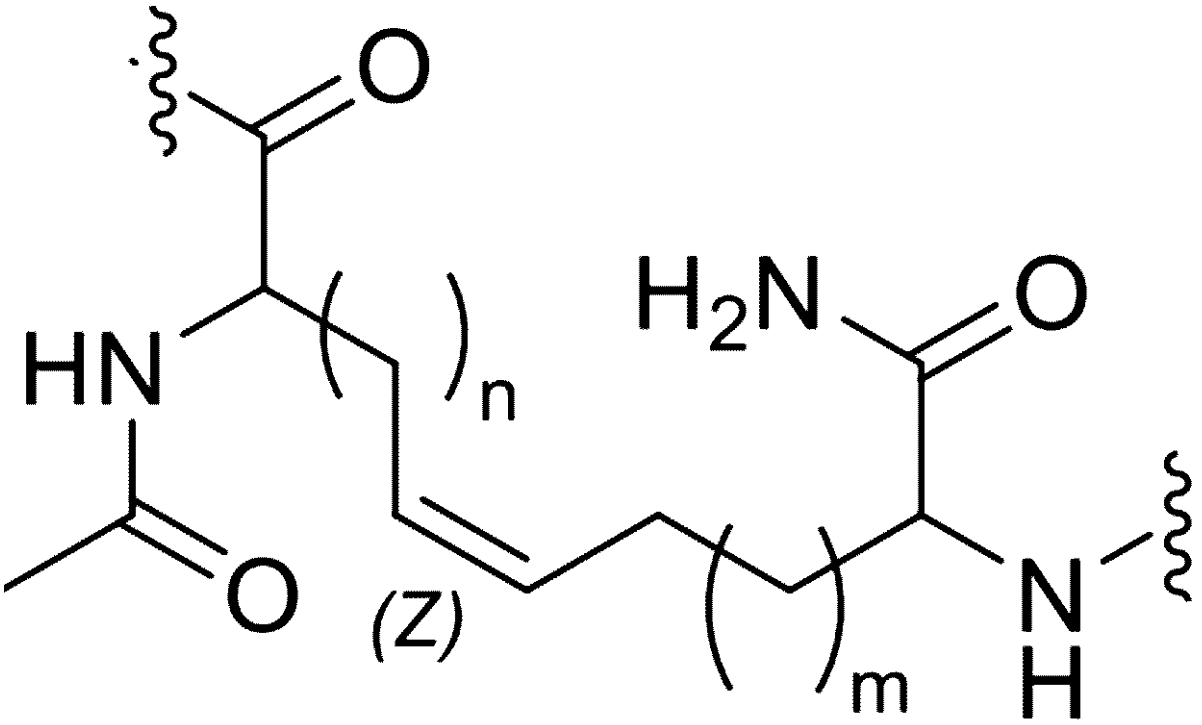
【化８０】



（Ｄ－ＩＩ）

又はそのプロトン化形態を有することができ、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4及びR_6が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
AA_{SC}が、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
Ｙが、

【化８１】

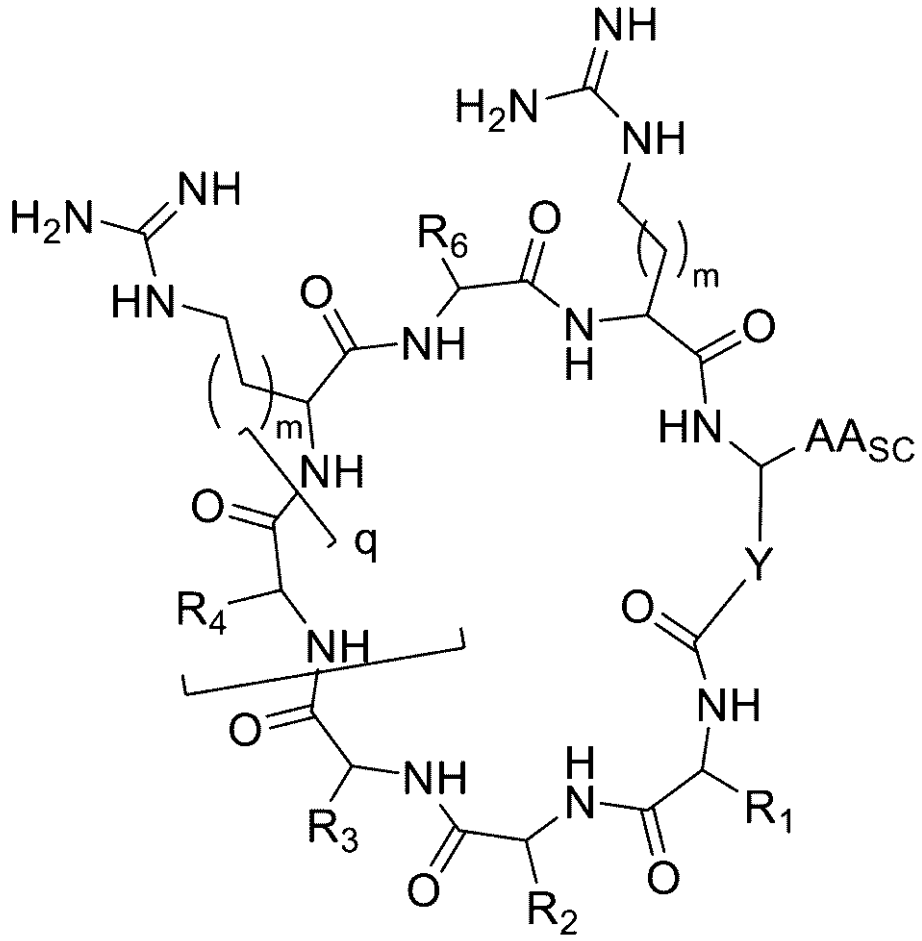


である。

【０２９２】

式（Ｄ）のｃＣＰＰは、式（Ｄ－ＩＩＩ）の構造：

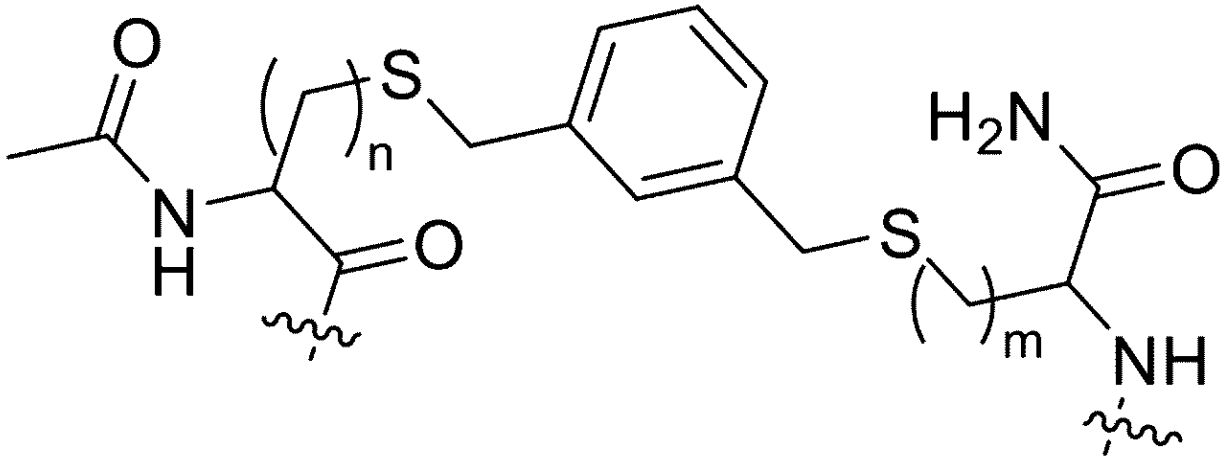
【化８２】



（Ｄ－ＩＩＩ）

又はそのプロトン化形態を有することができ、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4及びR_6が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
AA_{SC}が、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
ｎが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
Ｙが、

【化８３】

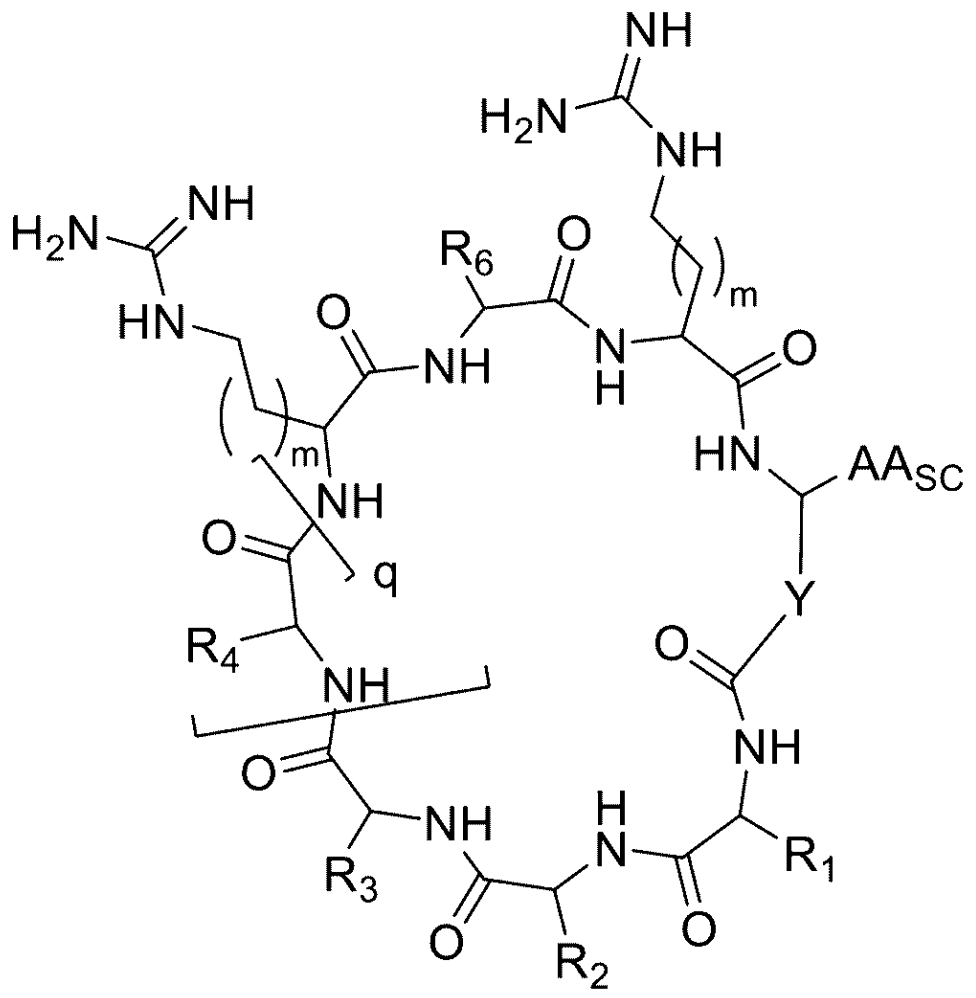


である。

【０２９３】

式（Ｄ）のｃＣＰＰは、式（Ｄ－ＩＶ）の構造：

【化８４】



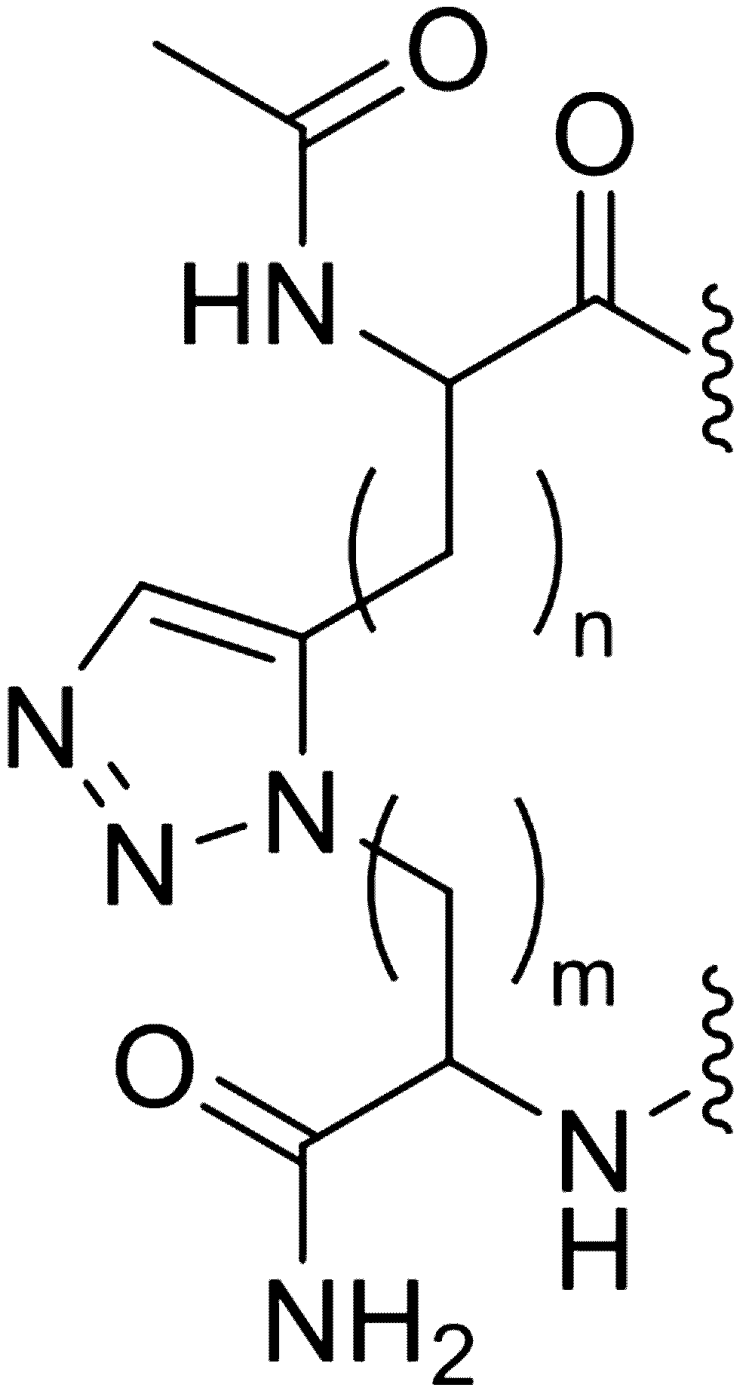
（Ｄ－ＩＶ）

又はそのプロトン化形態を有することができ、

式中、

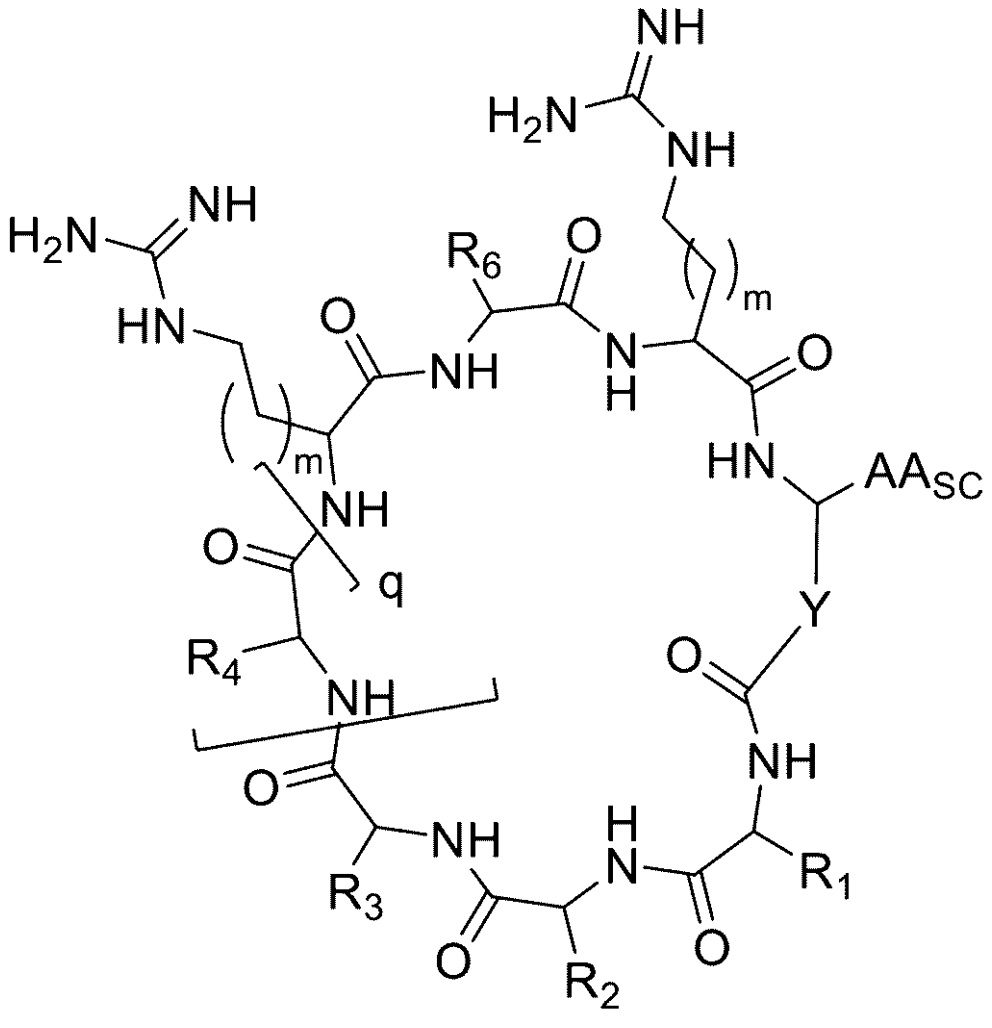
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残

基とすることができ、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4及びR_6が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
AA_{SC}が、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
Ｙが、
【化８５】



である。

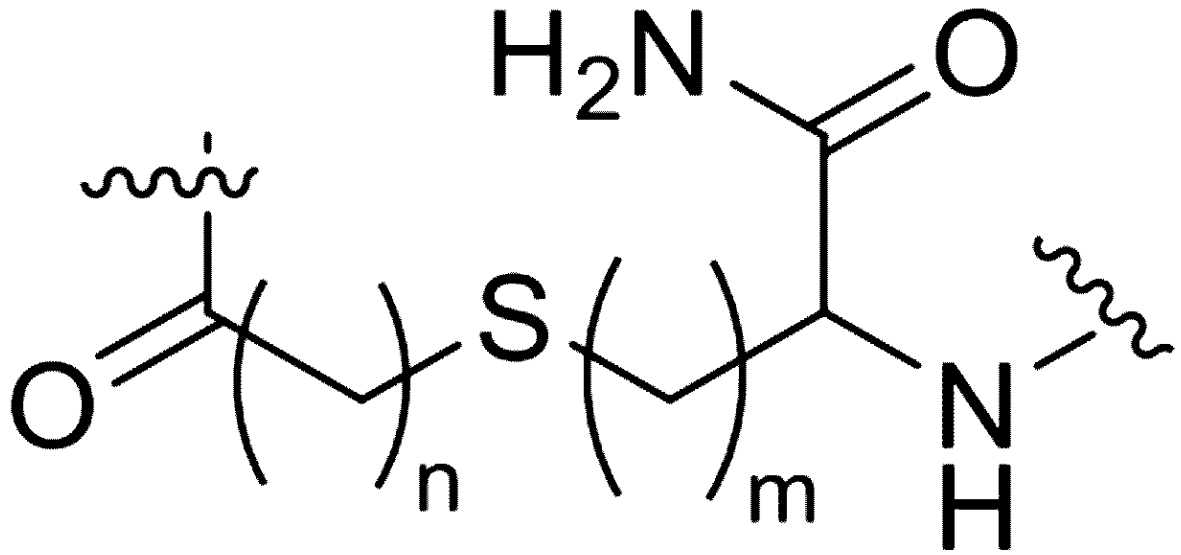
【０２９４】
式（Ｄ）のｃＣＰＰは、式（Ｄ－Ｖ）の構造：
【化８６】



（Ｄ－Ｖ）

又はそのプロトン化形態を有することができ、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ４及びＲ６が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＡＡＳＣが、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数であり、
Ｙが、

【化８７】



である。

【０２９５】

ＡＡｓｃは、リンカーにコンジュゲートすることができる。

【０２９６】

リンカー

本開示のｃＣＰＰは、リンカーにコンジュゲートすることができる。リンカーは、カーゴをｃＣＰＰに連結することができる。リンカーは、ｃＣＰＰのアミノ酸の側鎖に結合することができ、カーゴは、リンカー上の好適な位置で結合することができる。

【０２９７】

リンカーは、ｃＣＰＰを１つ以上の追加の部分、例えば、環外ペプチド（ＥＰ）及び／又はカーゴにコンジュゲートすることができる任意の適切な部分とすることができる。ｃＣＰＰ及び１つ以上の追加の部分へのコンジュゲートの前に、リンカーは、２つ以上の官能基を有し、これらは各々独立して、ｃＣＰＰ及び１つ以上の追加の部分への共有結合を形成することができる。カーゴがオリゴヌクレオチドである場合、リンカーは、カーゴの５’末端又はカーゴの３’末端に共有結合することができる。リンカーは、カーゴの５’末端に共有結合することができる。リンカーは、カーゴの３’末端に共有結合することができる。カーゴがペプチドである場合、リンカーは、カーゴのＮ末端又はＣ末端に共有結合することができる。リンカーは、オリゴヌクレオチド又はペプチドカーゴの骨格に共有結合することができる。リンカーは、本明細書に記載のｃＣＰＰをカーゴ、例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、又は低分子にコンジュゲートする任意の適切な部分とすることができる。

【０２９８】

リンカーは、炭化水素リンカーを含むことができる。

【０２９９】

リンカーは、切断部位を含むことができる。切断部位は、ジスルフィド又はカスパーゼ切断部位（例えば、Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ）とすることができる。

【０３００】

リンカーは、（ｉ）１つ以上のＤアミノ酸若しくはＬアミノ酸（各々任意選択で置換される）、（ｉｉ）任意選択で置換されるアルキレン、（ｉｉｉ）任意選択で置換されるアルケニレン、（ｉｖ）任意選択で置換されるアルキニレン、（ｖ）任意選択で置換されるカルボシクリル、（ｖｉ）任意選択で置換されるヘテロシクリル、（ｖｉｉ）１つ以上の

－（Ｒ^{1}－Ｊ－Ｒ^{2}）ｚ”－サブユニット（式中、Ｒ^{1}及びＲ^{2}が各々独立して、各事例において、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、カルボシクリル、及びヘテロシクリルから選択され、Ｊが各々独立して、Ｃ、ＮＲ^{3}、－ＮＲ^{3}Ｃ（Ｏ）－、Ｓ、及びＯであり、式中、Ｒ^{3}が独立して、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、及びヘテロシクリル（各々任意選択で置換される）から選択され、ｚ”が、１～５０の整数である）、（ｖｉｉｉ）－（Ｒ^{1}－Ｊ）ｚ”－又は－（Ｊ－Ｒ^{1}）ｚ”－（式中、Ｒ^{1}が各々独立して、各事例において、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、カルボシクリル、若しくはヘテロシクリルであり、Ｊが各々独立して、Ｃ、ＮＲ^{3}、－ＮＲ^{3}Ｃ（Ｏ）－、Ｓ、若しくはＯから選択され、式中、Ｒ^{3}が、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、若しくはヘテロシクリル（各々任意選択で置換される）であり、ｚ”が、１～５０の整数である）を含むことができるか、又は（ｉｘ）リンカーは、（ｉ）～（ｘ）のうちの１つ以上を含むことができる。

【０３０１】

リンカーは、１つ以上のＤアミノ酸若しくはＬアミノ酸及び／又は－（Ｒ^{1}－Ｊ－Ｒ^{2}）ｚ”－（式中、Ｒ^{1}及びＲ^{2}が各々独立して、各事例において、アルキレンであり、Ｊが各々独立して、Ｃ、ＮＲ^{3}、－ＮＲ^{3}Ｃ（Ｏ）－、Ｓ、及びＯであり、式中、Ｒ^{4} が独立して、Ｈ及びアルキルから選択され、ｚ”が、１～５０の整数である）、又はそれらの組み合わせである。

【０３０２】

リンカーは、（例えば、スペーサーとして）－（ＯＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）$_{z'}$－（式中、ｚ’が、１～２３の整数、例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、又は２３である）を含むことができる。「－（ＯＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）ｚ’」は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）とも称され得る。

【０３０３】

リンカーは、１個以上のアミノ酸を含むことができる。リンカーは、ペプチドを含むことができる。リンカーは、－（ＯＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）$_{z'}$－（式中、ｚ’が１～２３の整数である）と、ペプチドとを含むことができる。ペプチドは、２～１０個のアミノ酸を含むことができる。リンカーは、クリックケミストリーを介して反応することができる官能基（ＦＧ）を更に含むことができる。ＦＧは、アジド又はアルキンとすることができ、カーゴがリンカーにコンジュゲートされたときにトリアゾールが形成される。

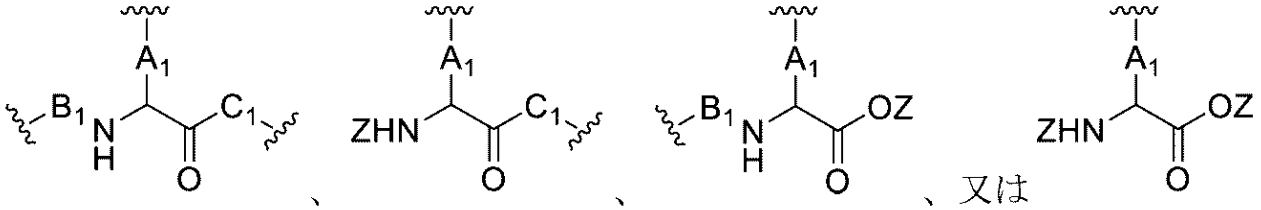
【０３０４】

リンカーは、（ｉ）βアラニン残基及びリジン残基、（ｉｉ）－（Ｊ－Ｒ^{1}）ｚ”、又は（ｉｉｉ）それらの組み合わせを含むことができる。Ｒ^{1}は各々独立して、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、カルボシクリル、又はヘテロシクリルとすることができ、Ｊは各々独立して、Ｃ、ＮＲ^{3}、－ＮＲ^{3}Ｃ（Ｏ）－、Ｓ、又はＯであり、式中、Ｒ^{3}が、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、又はヘテロシクリル（各々任意選択で置換される）であり、ｚ”は、１～５０の整数とすることができる。Ｒ^{1}は各々、アルキレンとすることができ、Ｊは各々、Ｏとすることができる。

【０３０５】

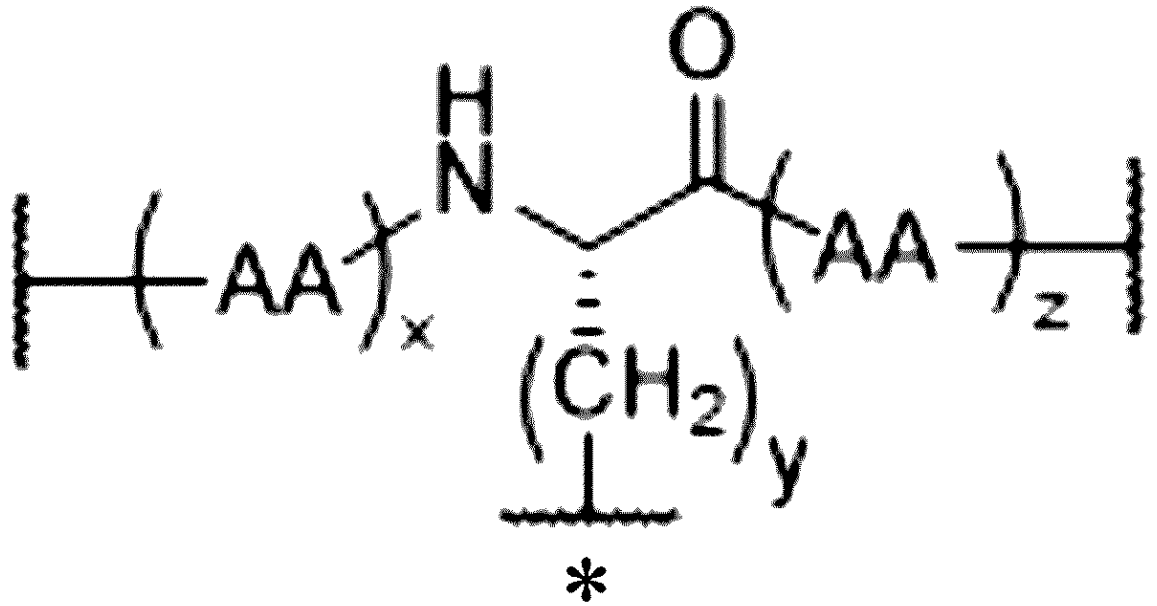
リンカーは、（ｉ）β－アラニン、グリシン、リジン、４－アミノ酪酸、５－アミノペンタン酸、６－アミノヘキサン酸残基、又はそれらの組み合わせと、（ｉｉ）－（Ｒ^{1}－Ｊ）ｚ”－又は－（Ｊ－Ｒ^{1}）ｚ”とを含むことができる。Ｒ^{1}は各々独立して、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、カルボシクリル、又はヘテロシクリルとすることができ、Ｊは各々独立して、Ｃ、ＮＲ^{3}、－ＮＲ^{3}Ｃ（Ｏ）－、Ｓ、又はＯであり、式中、Ｒ^{3}が、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、又はヘテロシクリル（各々任意選択で置換される）であり、ｚ”は、１～５０の整数とすることができる。Ｒ^{1}は各々、アルキレンとすることができ、Ｊは各々、Ｏとすることができる。リンカーは、グリシン、ベーターアラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペンタン酸、６－アミノヘキサン酸、又はそれらの組み合わせを含むことができる。

【０３０６】
リンカーは、三価リンカーとすることができる。リンカーは、構造：
【化８８】



を有することができ、式中、A_1、B_1、及びC_1が独立して、炭化水素リンカー（例えば、ＮＲＨ－（CH_2）$_n$－ＣＯＯＨ）、ＰＥＧリンカー（例えば、ＮＲＨ－（CH_2O）$_n$－ＣＯＯＨ（式中、Ｒが、Ｈ、メチル、若しくはエチルである）、又は１つ以上のアミノ酸残基であり、Ｚが独立して、保護基である。リンカーは、ジスルフィド［NH_2－（CH_2O）$_n$－Ｓ－Ｓ－（CH_2O）$_n$－ＣＯＯＨ］又はカスパーゼ切断部位（Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ）を含む切断部位を組み込むこともできる。
【０３０７】
炭化水素は、グリシン又はベーター－アラニン残基とすることができる。
【０３０８】
リンカーは二価とすることができ、ｃＣＰＰをカーゴに連結することができる。リンカーは二価とすることができ、ｃＣＰＰを環外ペプチド（ＥＰ）に連結することができる。
【０３０９】
リンカーは三価とすることができ、ｃＣＰＰをカーゴ及びＥＰに連結することができる。
【０３１０】
リンカーは、二価又は三価のC_1－C_{50}アルキレンとすることができ、式中、１～２５個のメチレン基が、任意選択でかつ独立して、－Ｎ（Ｈ）－、－Ｎ（C_1－C_4アルキル）－、－Ｎ（シクロアルキル）－、－Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（C_1－C_4アルキル）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（シクロアルキル）－、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（C_1－C_4アルキル）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（シクロアルキル）Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｈ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（C_1－C_4アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（シクロアルキル）、アリール、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はシクロアルケニルによって置き換えられる。リンカーは、二価又は三価のC_1－C_{50}アルキレンとすることができ、式中、１～２５個のメチレン基が、任意選択でかつ独立して、－Ｎ（Ｈ）－、－Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｈ）－、又はそれらの組み合わせによって置き換えられる。
【０３１１】
リンカーは、以下の構造：

【化８９】



を有することができ、式中、ＡＡが各々独立して、アミノ酸残基であり、＊が、ＡＡｓｃへの結合点であり、ＡＡｓｃが、ｃＣＰＰのアミノ酸残基の側鎖であり、ｘが、１～１０の整数であり、ｙが、１～５の整数であり、ｚが、１～１０の整数である。ｘは、１～５の整数とすることができる。ｘは、１～３の整数とすることができる。ｘは、１とすることができる。ｙは、２～４の整数とすることができる。ｙは、４とすることができる。ｚは、１～５の整数とすることができる。ｚは、１～３の整数とすることができる。ｚは、１とすることができる。ＡＡは各々独立して、グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペンタン酸、及び６－アミノヘキサン酸から選択することができる。

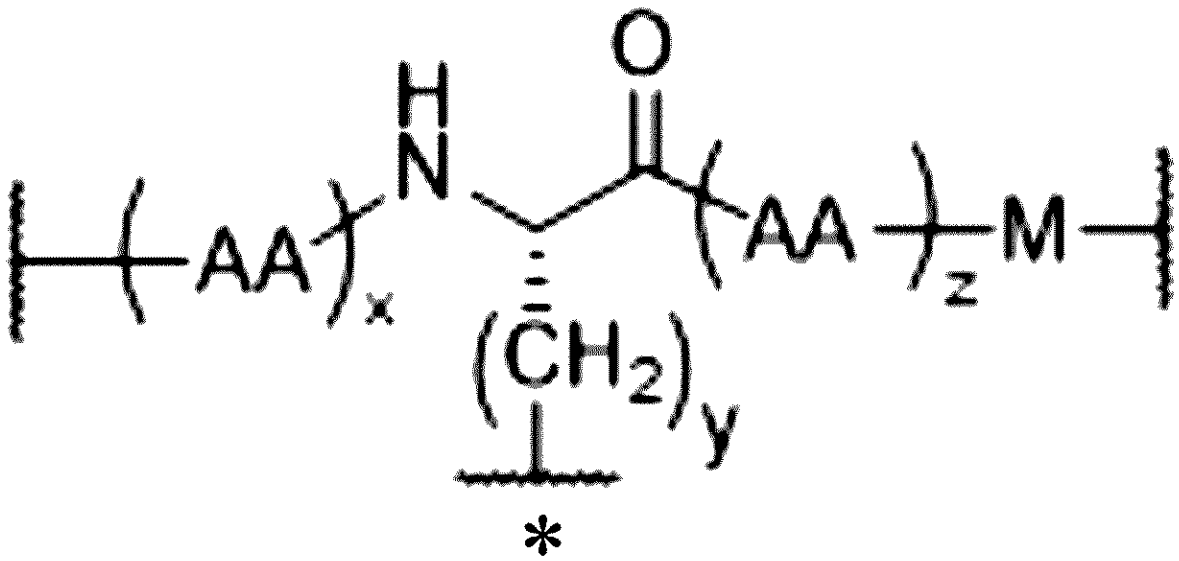
【０３１２】

ｃＣＰＰは、リンカー（「Ｌ」）を介してカーゴに結合することができる。リンカーは、結合基（「Ｍ」）を介してカーゴにコンジュゲートすることができる。

【０３１３】

リンカーは、以下の構造：

【化９０】

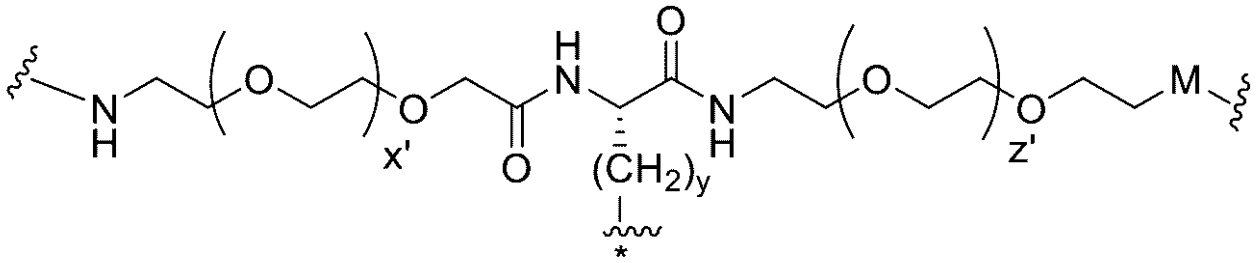


を有することができ、式中、ｘが、１～１０の整数であり、ｙが、１～５の整数であり、ｚが、１～１０の整数であり、ＡＡが各々独立して、アミノ酸残基であり、＊が、ＡＡｓｃへの結合点であり、ＡＡｓｃが、ｃＣＰＰのアミノ酸残基の側鎖であり、Ｍが、本明細書に定義される結合基である。

【０３１４】

リンカーは、以下の構造を有することができ、

【化９１】

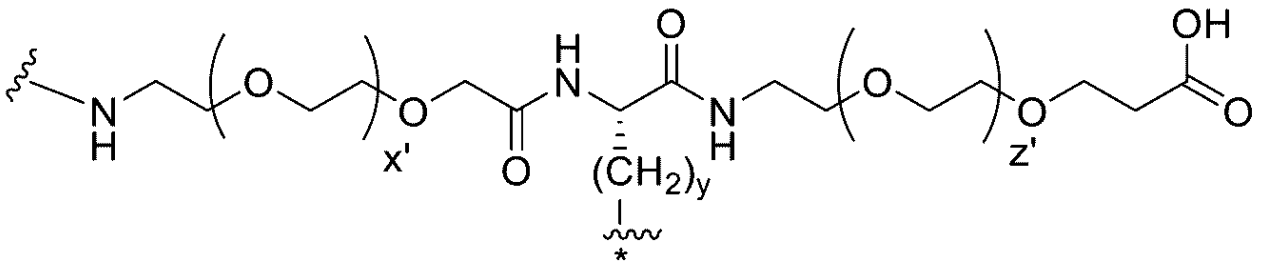


式中、ｘ’が、１～２３の整数であり、ｙが、１～５の整数であり、ｚ’が、１～２３の整数であり、＊が、ＡＡｓｃへの結合点であり、ＡＡｓｃが、ｃＣＰＰのアミノ酸残基の側鎖であり、Ｍが、本明細書に定義される結合基である。

【０３１５】

リンカーは、以下の構造を有することができ、

【化９２】



式中、ｘ’が、１～２３の整数であり、ｙが、１～５の整数であり、ｚ’が、１～２３の整数であり、＊が、ＡＡｓｃへの結合点であり、ＡＡｓｃが、ｃＣＰＰのアミノ酸残基の側鎖である。

【０３１６】

ｘは、１～１０の整数、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０とすることができる。

【０３１７】

ｘ’は、１～２３の整数、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、又は２３とすることができる。ｘ’は、５～１５の整数とすることができる。ｘ’は、９～１３の整数とすることができる。ｘ’は、１～５の整数とすることができる。ｘ’は、１とすることができる。

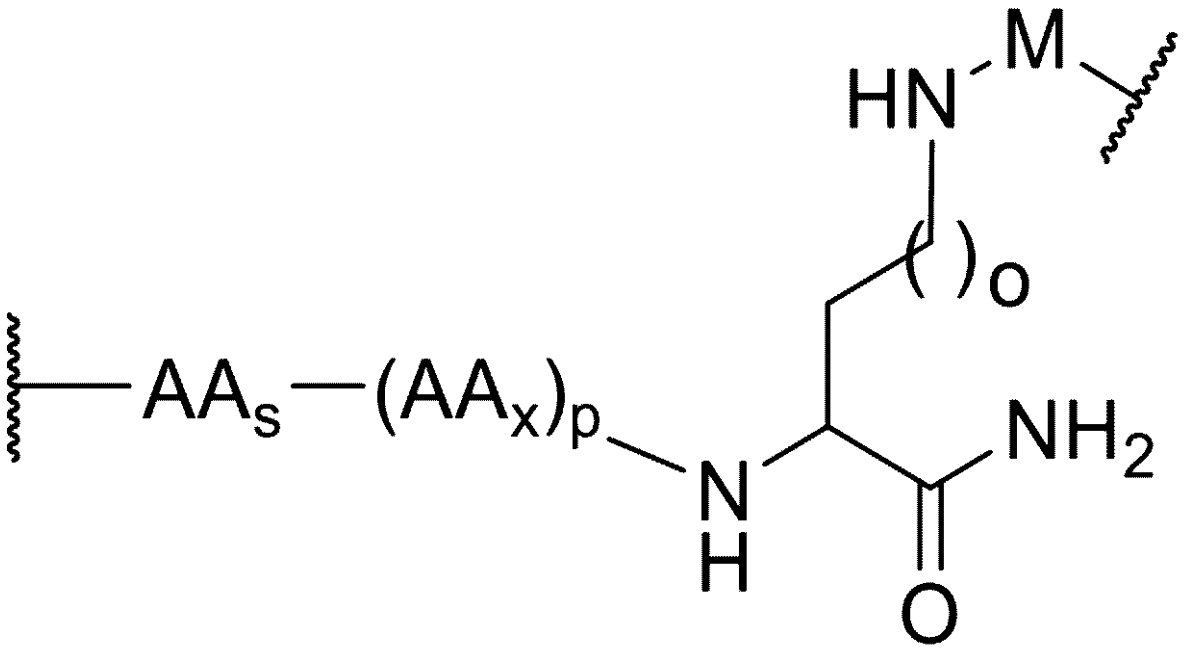
【０３１８】

ｙは、１～５の整数、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、１、２、３、４、又は５とすることができる。ｙは、２～５の整数とすることができる。ｙは、３～５の整数とすることができる。ｙは、３又は４とすることができる。ｙは、４又は５とすることができる。ｙは、３とすることができる。ｙは、４とすることができる。ｙは、５とすることができる。

【０３１９】

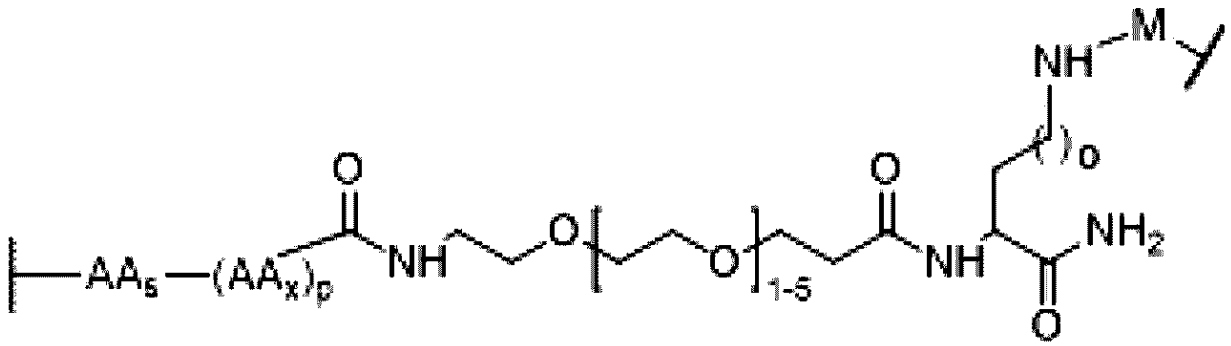
ｚは、１～１０の整数、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、１、２

、３、４、５、６、７、８、９、又は１０とすることができる。
【０３２０】
ｚ’は、１～２３の整数、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、又は２３とすることができる。ｚ’は、５～１５の整数とすることができる。ｚ’は、９～１３の整数とすることができる。ｚ’は、１１とすることができる。
【０３２１】
上述のように、リンカー又はＭ（ここで、Ｍはリンカーの一部である）は、カーゴ上の任意の好適な位置でカーゴに共有結合することができる。リンカー又はＭ（ここで、Ｍはリンカーの一部である）は、オリゴヌクレオチドカーゴの３’末端又はオリゴヌクレオチドカーゴの５’末端に共有結合することができる。リンカー又はＭ（ここで、Ｍはリンカーの一部である）は、ペプチドカーゴのＮ末端又はＣ末端に共有結合することができる。リンカー又はＭ（ここで、Ｍはリンカーの一部である）は、オリゴヌクレオチド又はペプチドカーゴの骨格に共有結合することができる。
【０３２２】
リンカーは、ｃＣＰＰ上の、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、若しくはリジンの側鎖、又はグルタミン若しくはアスパラギンの修飾側鎖（例えば、アミノ基を有する還元側鎖）に結合することができる。リンカーは、ｃＣＰＰ上のリジンの側鎖に結合することができる。
【０３２３】
リンカーは、ペプチドカーゴ上の、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、若しくはリジンの側鎖、又はグルタミン若しくはアスパラギンの修飾側鎖（例えば、アミノ基を有する還元側鎖）に結合することができる。リンカーは、ペプチドカーゴ上のリジンの側鎖に結合することができる。
【０３２４】
リンカーは、以下の構造を有することができ、
【化９３】



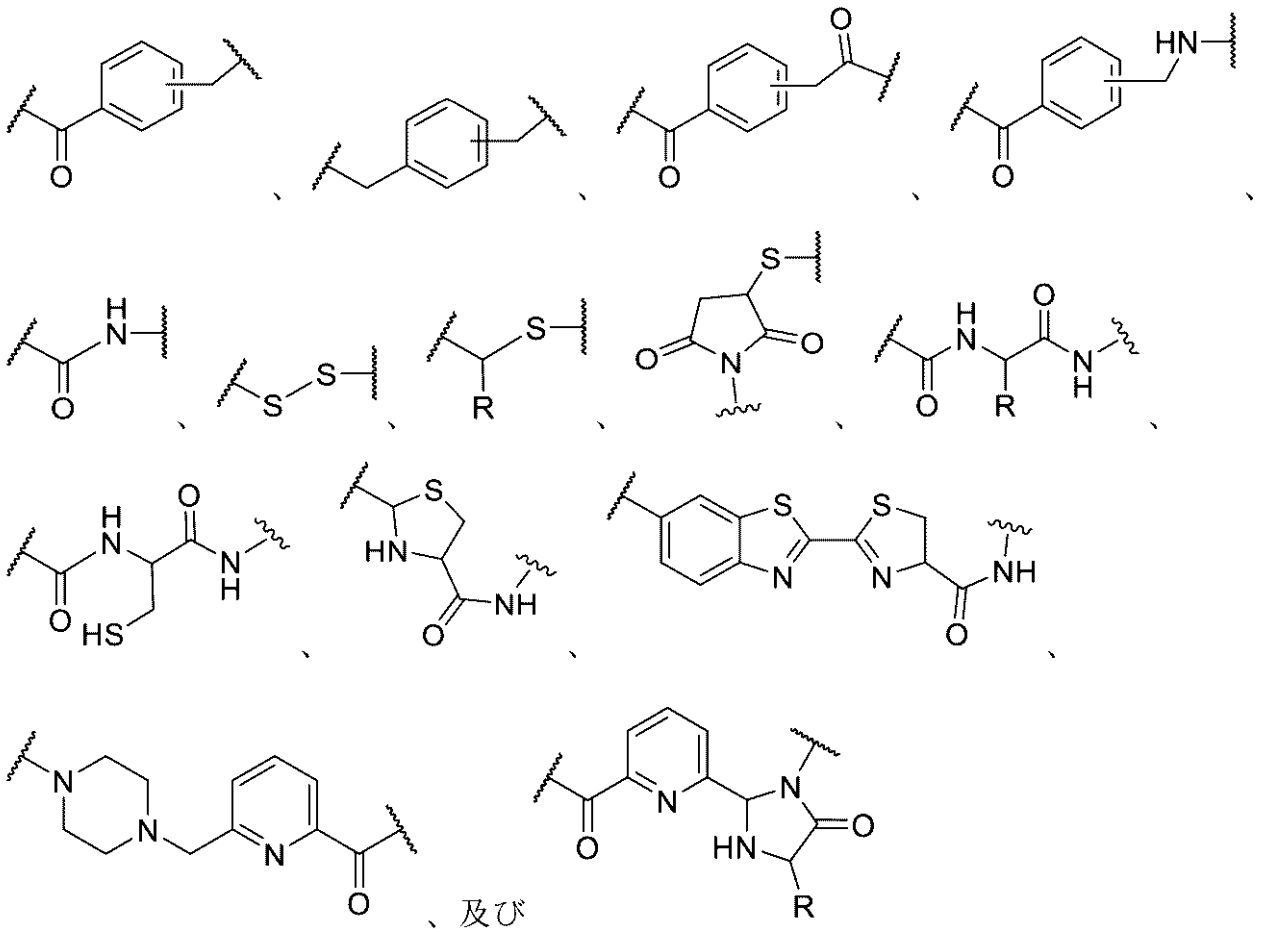
式中、
Ｍが、Ｌをカーゴ、例えば、オリゴヌクレオチドにコンジュゲートする基であり、
ＡＡｓが、ｃＣＰＰ上のアミノ酸の側鎖又は末端であり、

ＡＡ$_x$が各々独立して、アミノ酸残基であり、
ｏが、０～１０の整数であり、
ｐが、０～５の整数である。
【０３２５】
リンカーは、以下の構造を有することができ、
【化９４】



式中、
Ｍが、Ｌをカーゴ、例えば、オリゴヌクレオチドにコンジュゲートする基であり、
ＡＡ$_s$が、ｃＣＰＰ上のアミノ酸の側鎖又は末端であり、
ＡＡ$_x$が各々独立して、アミノ酸残基であり、
ｏが、０～１０の整数であり、
ｐが、０～５の整数である。
【０３２６】
Ｍは、各々任意選択で置換される、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、カルボシクリル、又はヘテロシクリルを含むことができる。Ｍは、

【化９５】

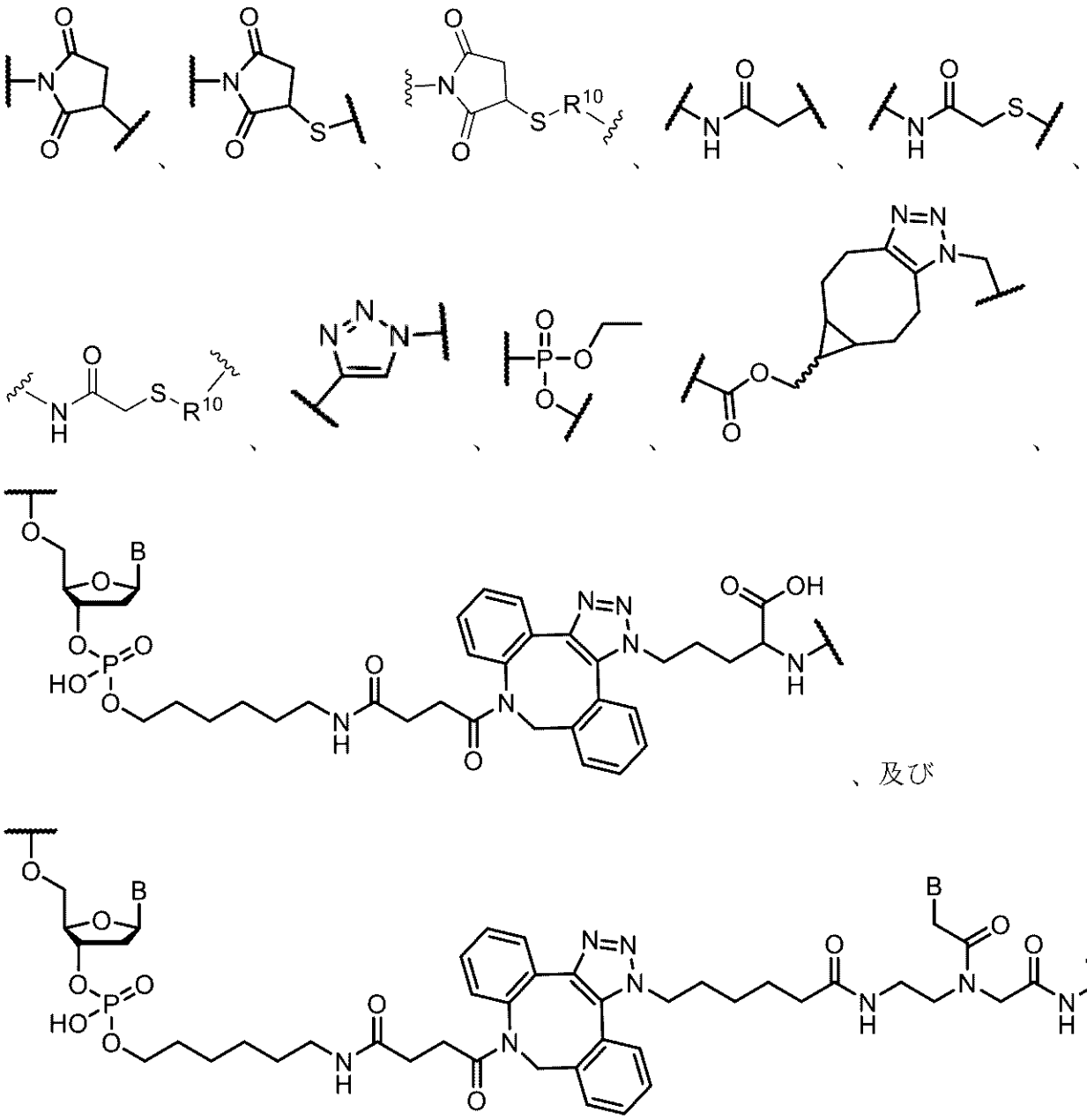


から選択することができ、式中、Ｒが、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、又はヘテロシクリルである。

【０３２７】

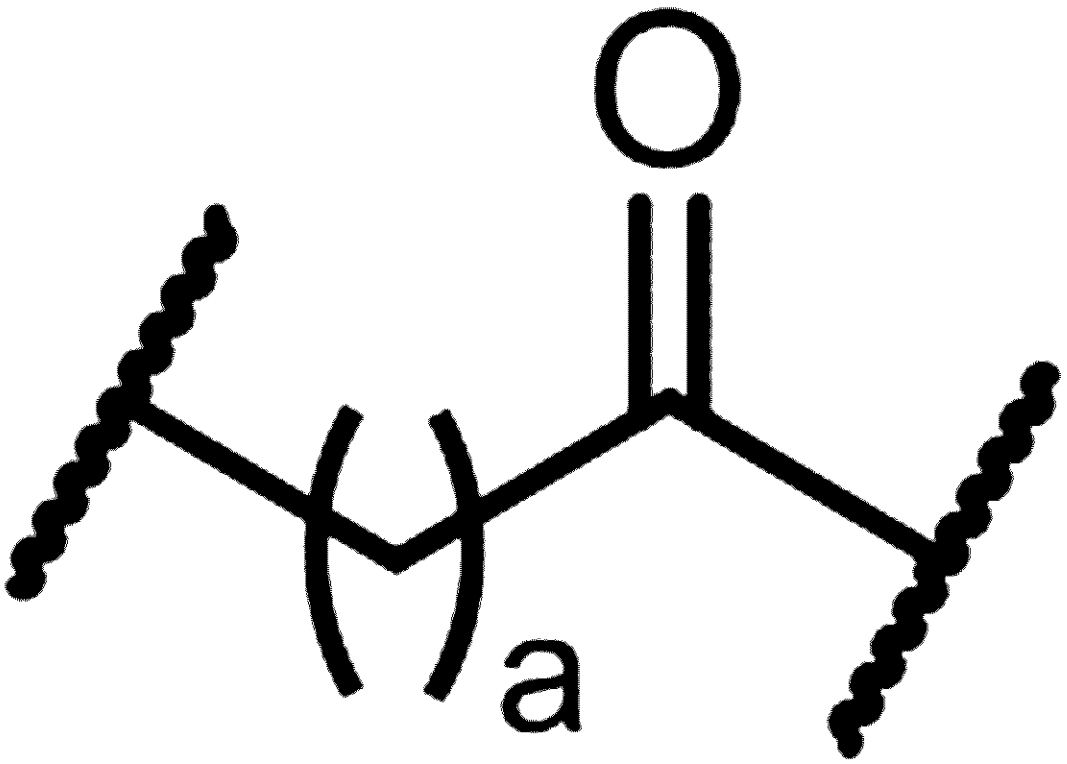
Ｍは、

【化９６】



から選択することができ、式中、Ｒ１０が、アルキレン、シクロアルキル、又は

【化９７】

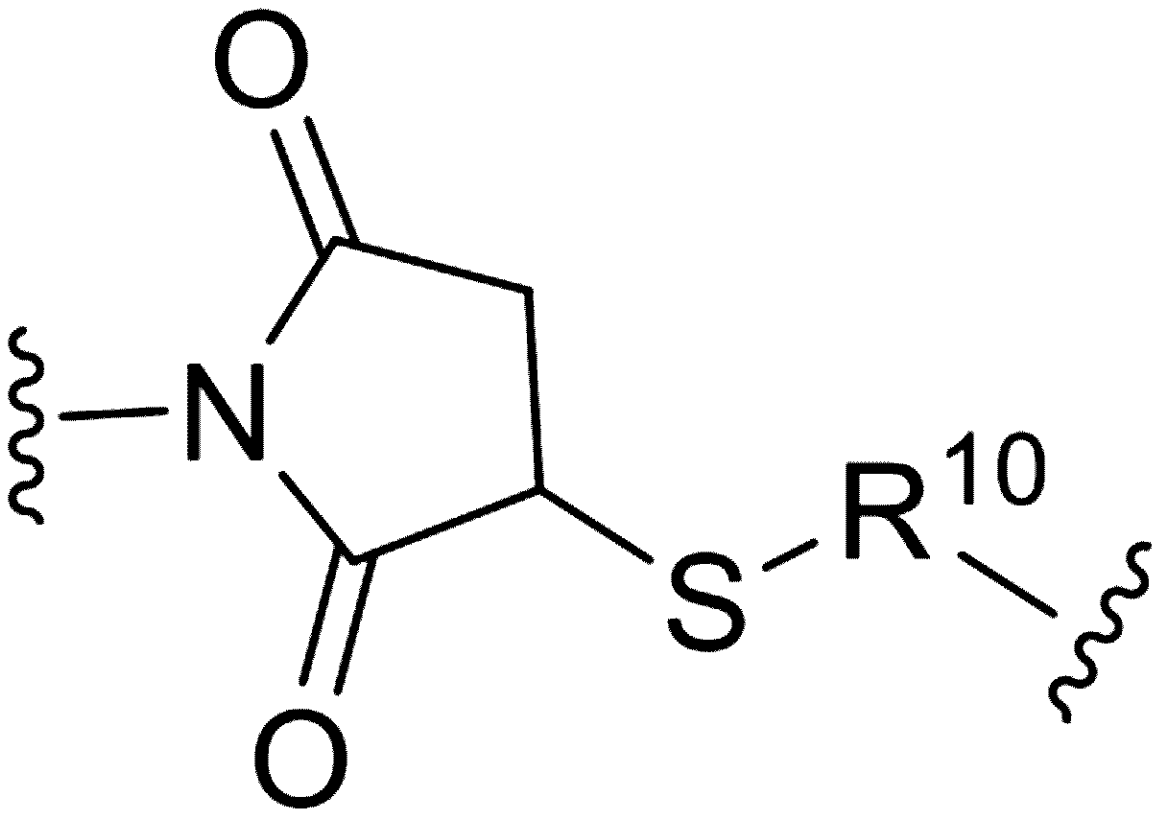


であり、式中、ａが、０～１０である。

【０３２８】

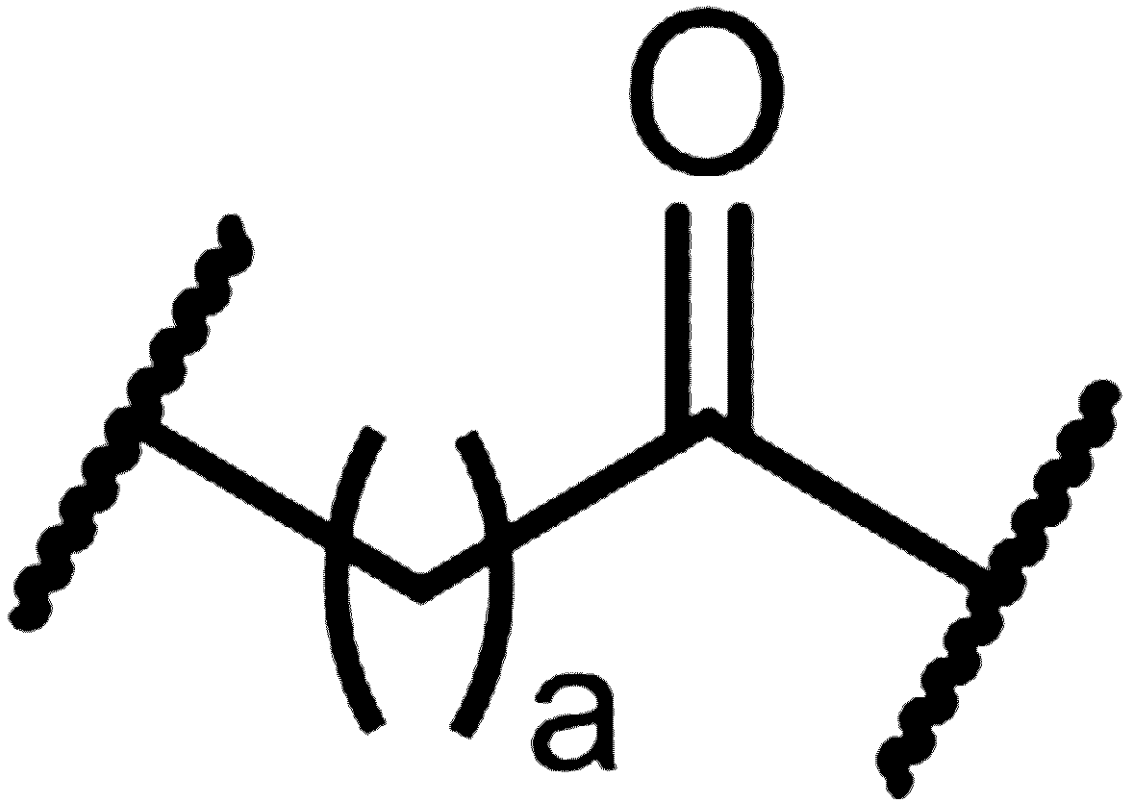
Ｍは、

【化９８】



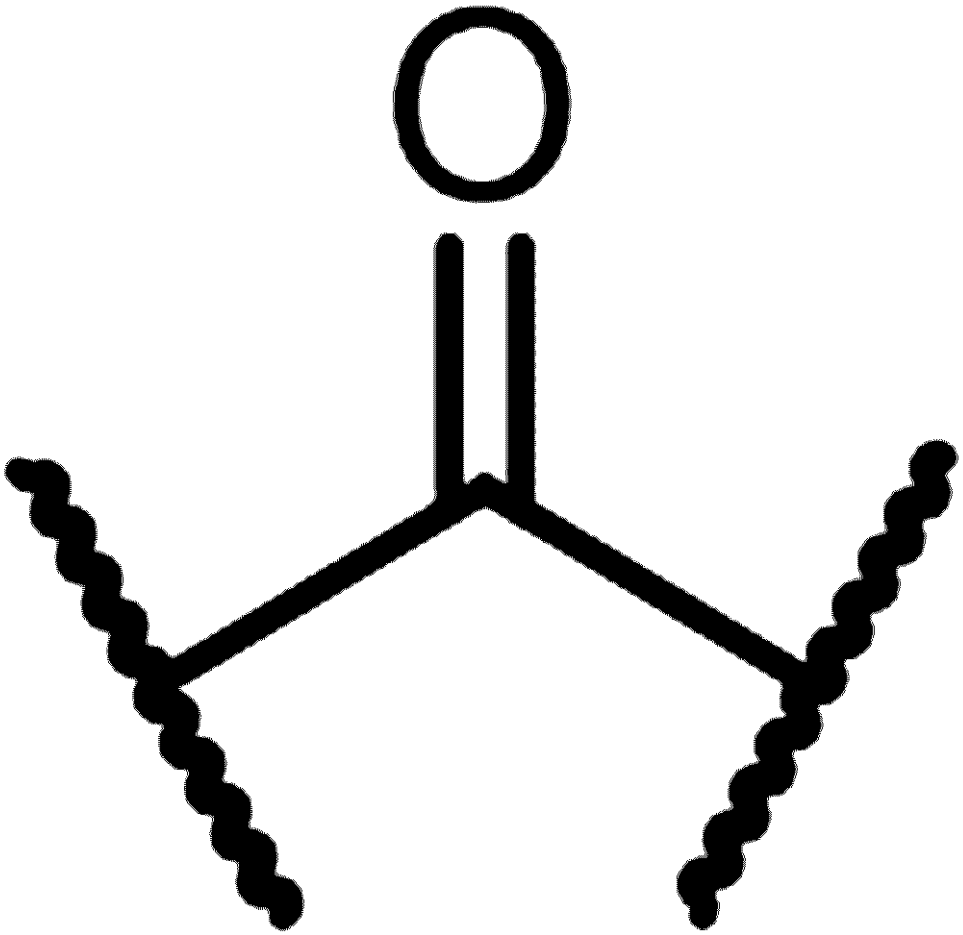
とすることができ、Ｒ１０は、

【化９９】



とすることができ、ａは、０～１０である。Ｍは、

【化１００】

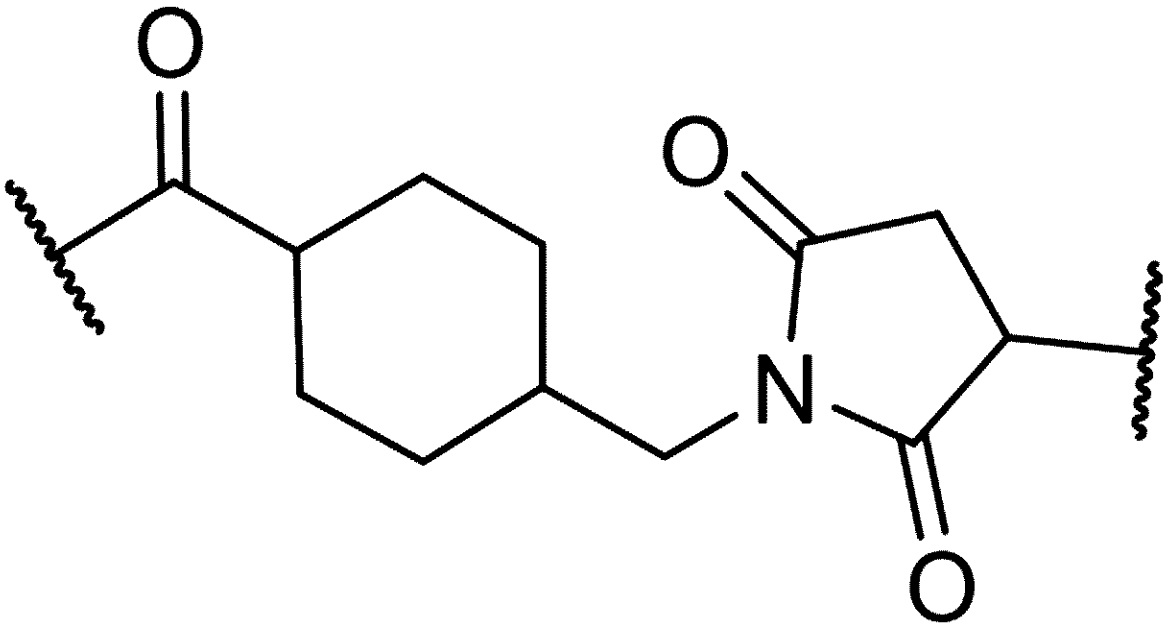


とすることができる。

【０３２９】

Ｍは、ヘテロ二官能性架橋リンカー、例えば、

【化１０１】



であり、これは、参照により全体が本明細書に組み込まれる、Ｗｉｌｌｉａｍｓ　ｅｔａｌ．Ｃｕｒｒ．Ｐｒｏｔｏｃ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｃｈｅｍ．２０１０，４２，４．４１．１－４．４１．２０に開示されている。

【０３３０】

Ｍは、－Ｃ（Ｏ）－とすることができる。

【０３３１】

ＡＡｓは、ｃＣＰＰ上のアミノ酸の側鎖又は末端とすることができる。ＡＡｓの非限定的な例としては、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、若しくはリジン、又はグルタミン若しくはアスパラギンの修飾側鎖（例えば、アミノ基を有する還元側鎖）が挙げられる。ＡＡｓは、本明細書に定義されるＡＡｓｃとすることができる。

【０３３２】

ＡＡｘは各々独立して、天然アミノ酸又は非天然アミノ酸である。１つ以上のＡＡｘは、天然アミノ酸とすることができる。１つ以上のＡＡｘは、非天然アミノ酸とすることができる。１つ以上のＡＡｘは、β－アミノ酸とすることができる。β－アミノ酸は、β－アラニンとすることができる。

【０３３３】

ｏは、０～１０の整数、例えば、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、及び１０とすることができる。ｏは、０、１、２、又は３とすることができる。ｏは、０とすることができる。ｏは、１とすることができる。ｏは、２とすることができる。ｏは、３とすることができる。

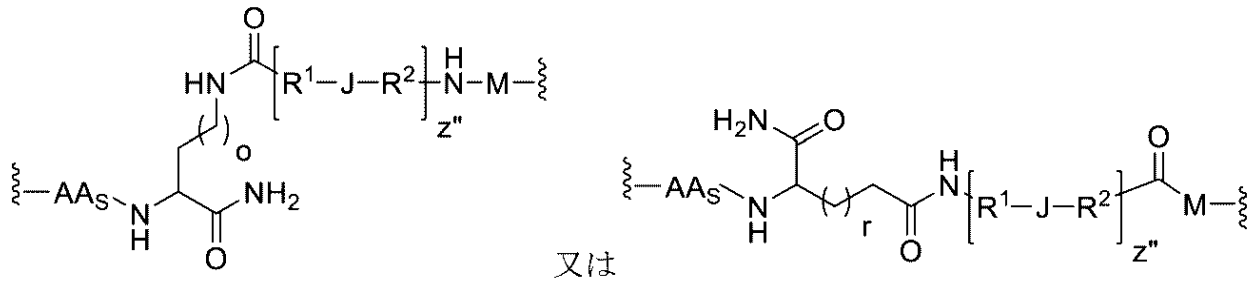
【０３３４】

ｐは、０～５、例えば、０、１、２、３、４、又は５とすることができる。ｐは、０とすることができる。ｐは、１とすることができる。ｐは、２とすることができる。ｐは、３とすることができる。ｐは、４とすることができる。ｐは、５とすることができる。

【０３３５】

リンカーは、以下の構造：

【化１０２】



を有することができ、
式中、Ｍ、ＡＡｓ、各－（Ｒ１－Ｊ－Ｒ２）ｚ”－、ｏ、及びｚ”が、本明細書に定義されるとおりであり、ｒは、０又は１とすることができる。

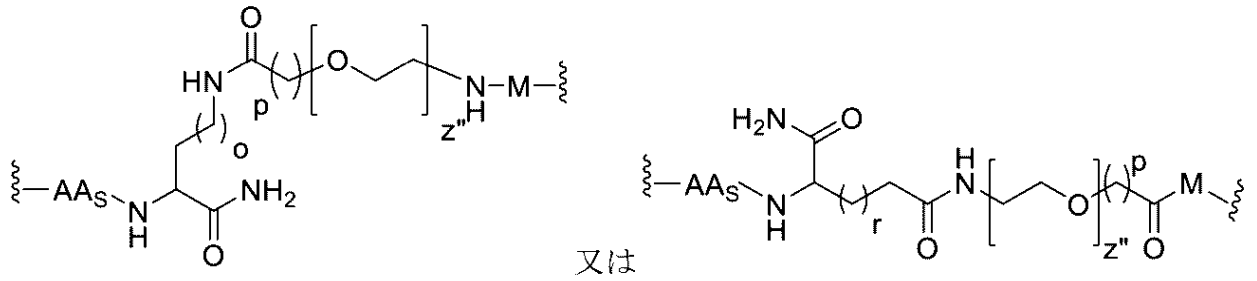
【０３３６】

ｒは、０とすることができる。ｒは、１とすることができる。

【０３３７】

リンカーは、以下の構造：

【化１０３】



を有することができ、
式中、Ｍ、ＡＡｓ、ｏ、ｐ、ｑ、ｒ、及びｚ”が各々、本明細書に定義されるとおりとすることができる。

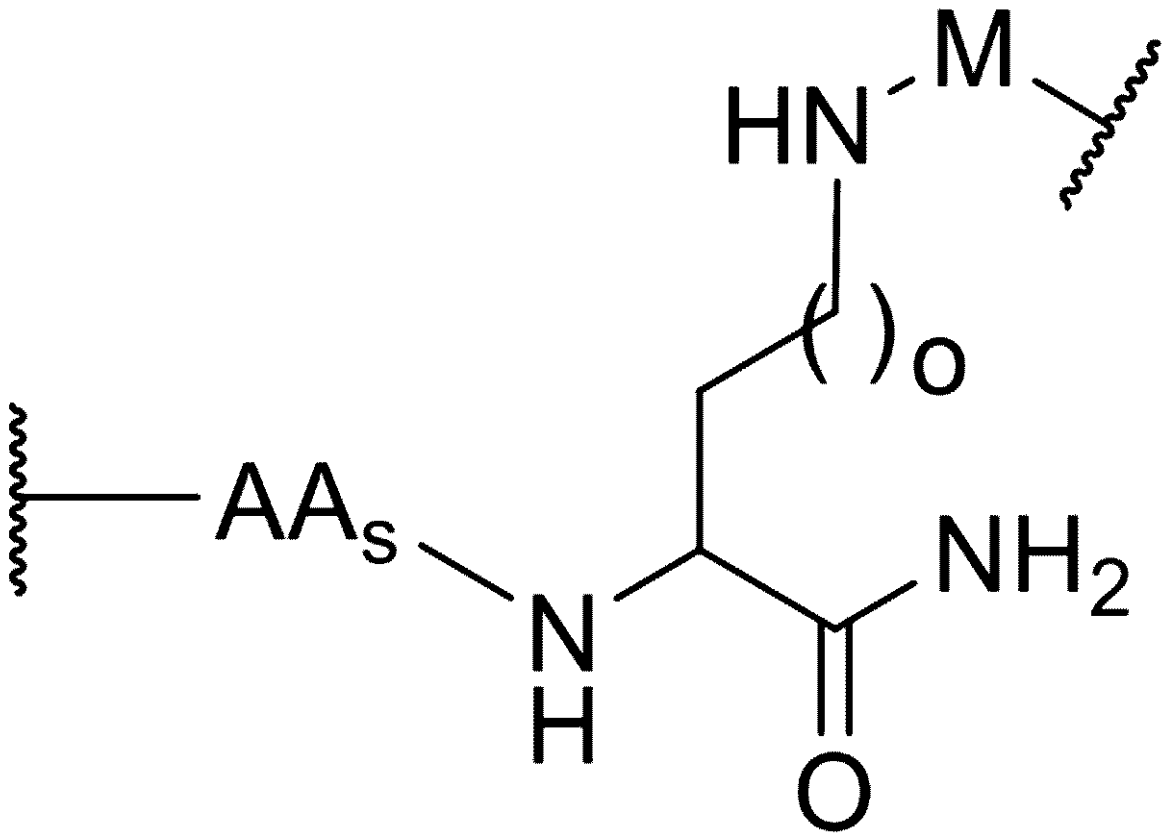
【０３３８】

ｚ”は、１～５０の整数、例えば、それらの間の全ての範囲及び部分範囲を含む、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、及び５０とすることができる。ｚ”は、５～２０の整数とすることができる。ｚ”は、１０～１５の整数とすることができる。

【０３３９】

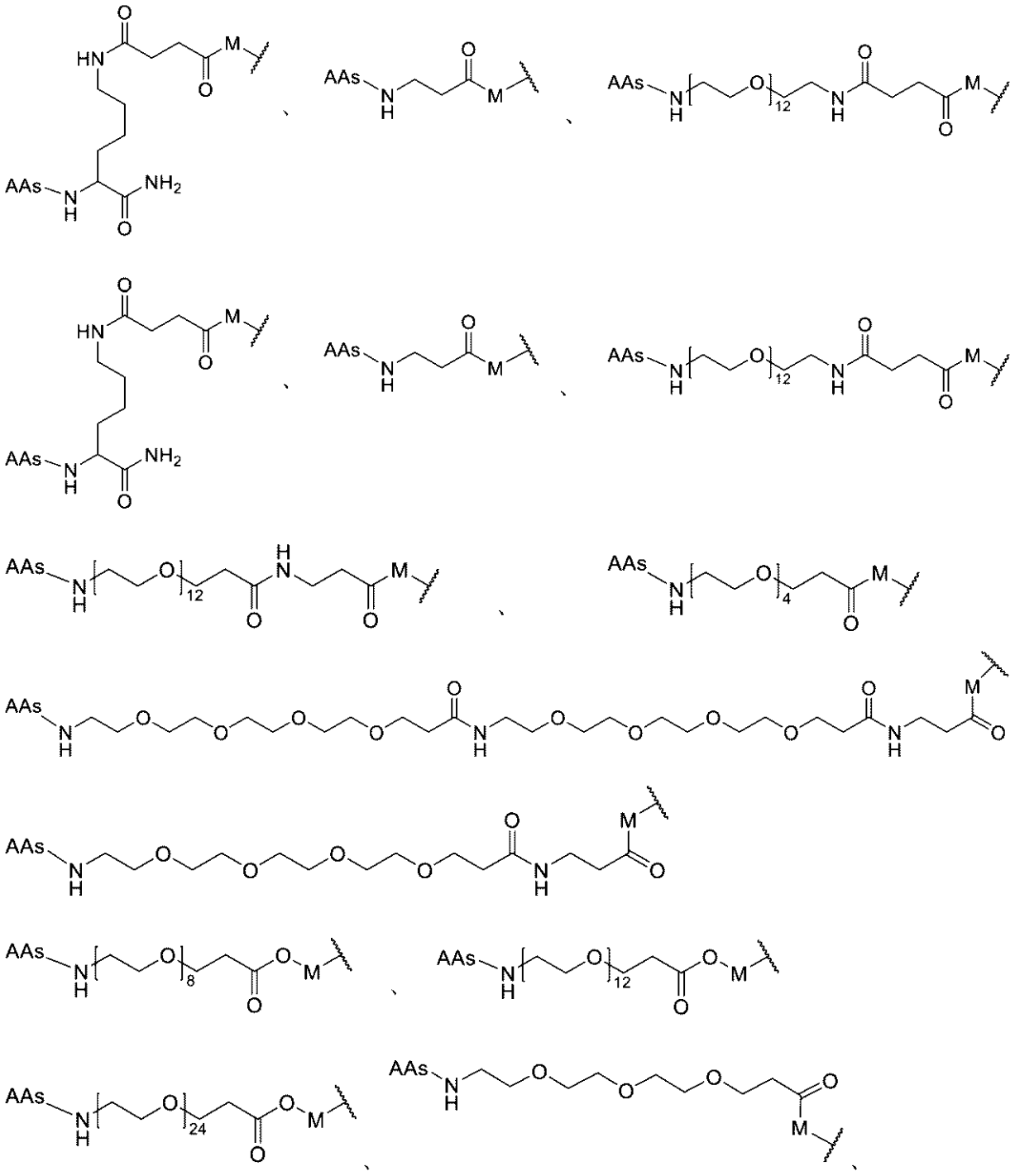
リンカーは、以下の構造を有することができ、

【化１０４】

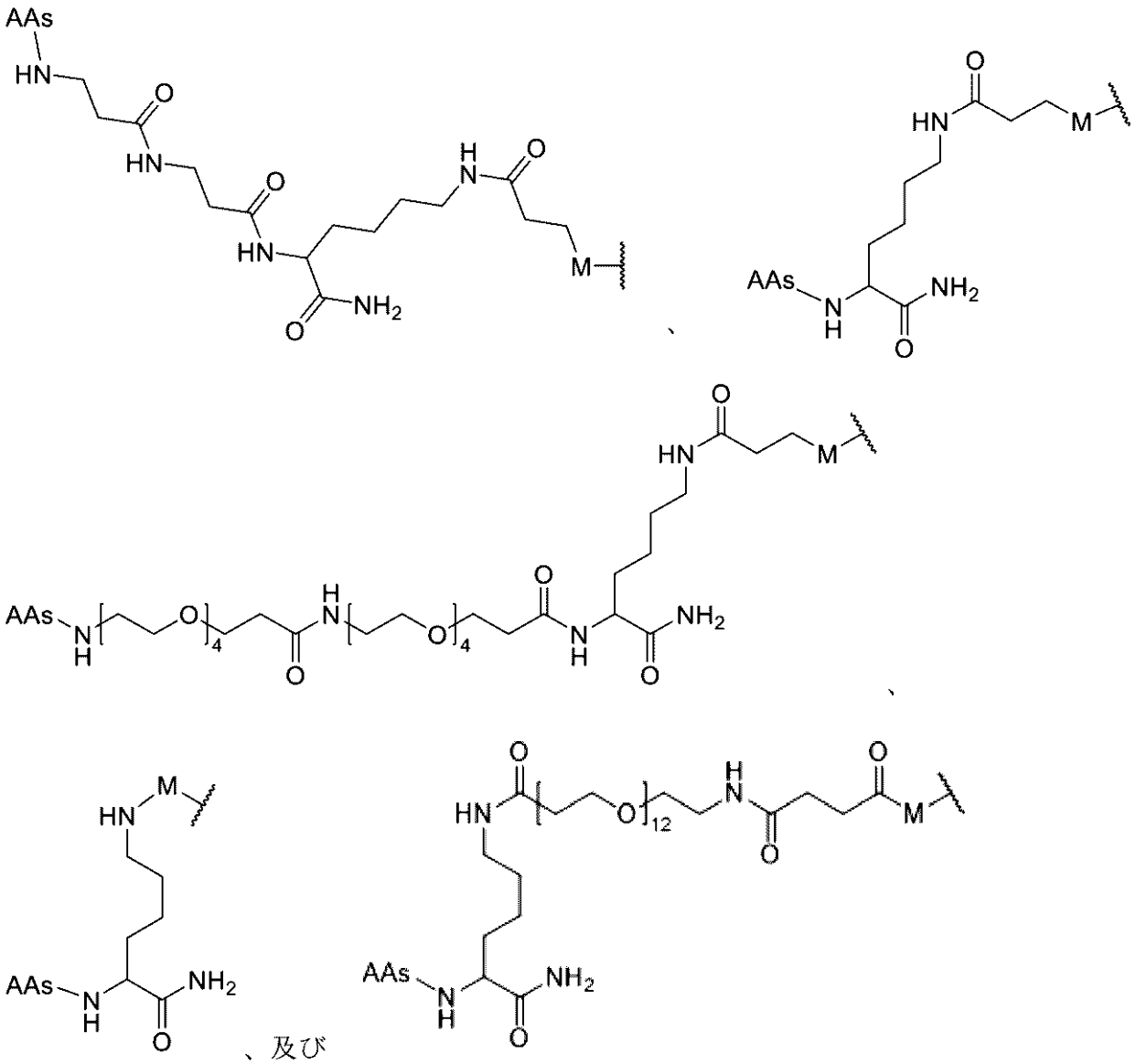


式中、
Ｍ、ＡＡｓ、及びｏが、本明細書に定義されるとおりである。
【０３４０】
好適なリンカーの他の非限定的な例としては、

【化１０５－１】



【化１０５－２】



、及び

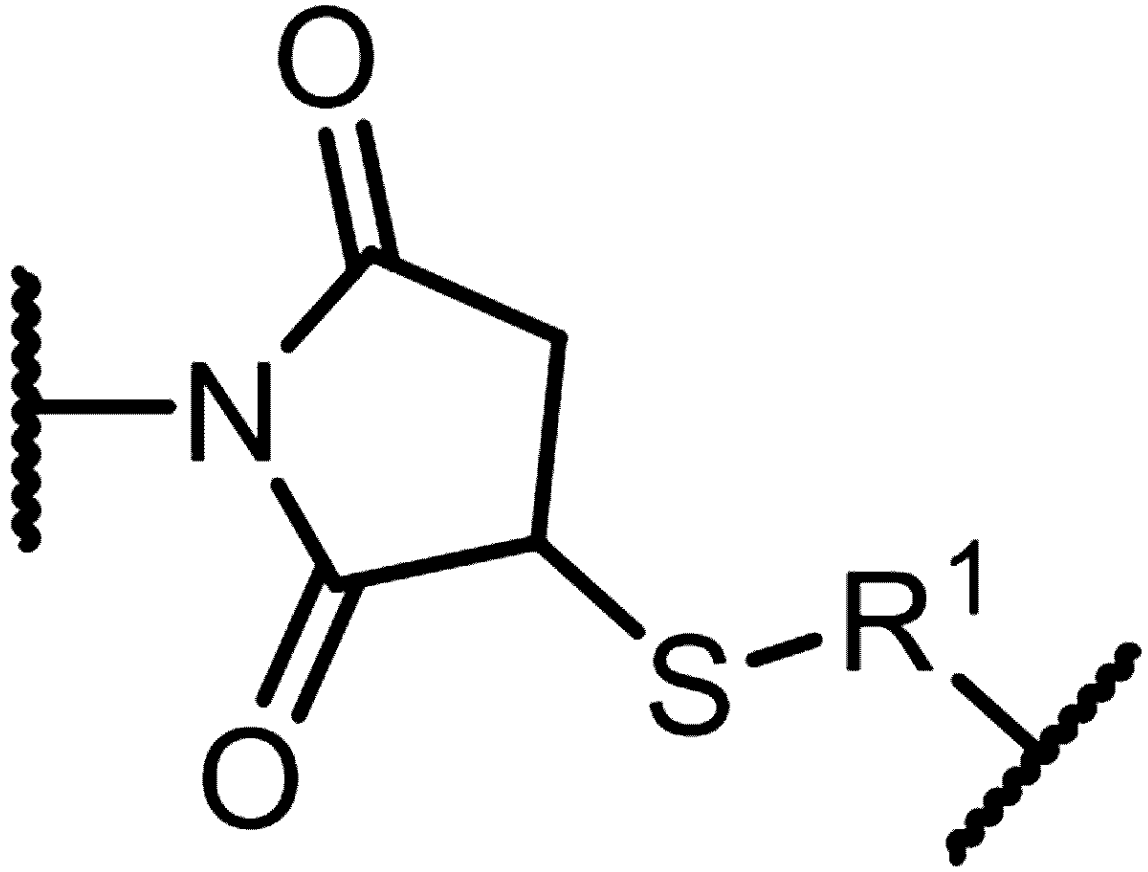
【０３４１】

式中、Ｍ及びＡＡ$_s$が、本明細書に定義されるとおりである。

【０３４２】

ｃＣＰＰと、Ｌを更に含むプレｍＲＮＡ配列中の標的に相補的なＡＣとを含む化合物であって、ここで、リンカーが結合基（Ｍ）を介してＡＣにコンジュゲートされており、Ｍが

【化１０６】

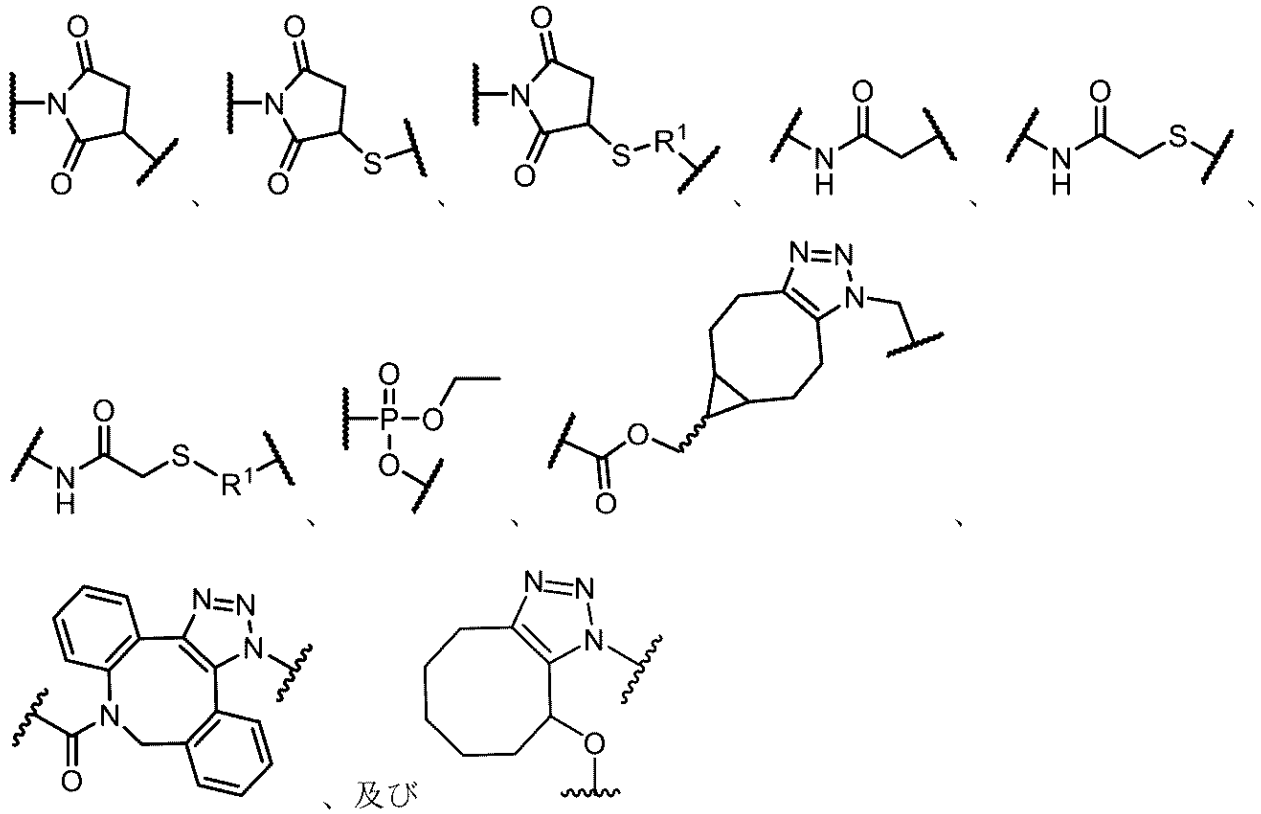


である、化合物が本明細書に提供される。

【０３４３】

ｃＣＰＰと、プレｍＲＮＡ配列中の標的に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むカーゴとを含む化合物であって、当該化合物がＬを更に含み、リンカーが結合基（Ｍ）を介してＡＣにコンジュゲートされており、Ｍが、

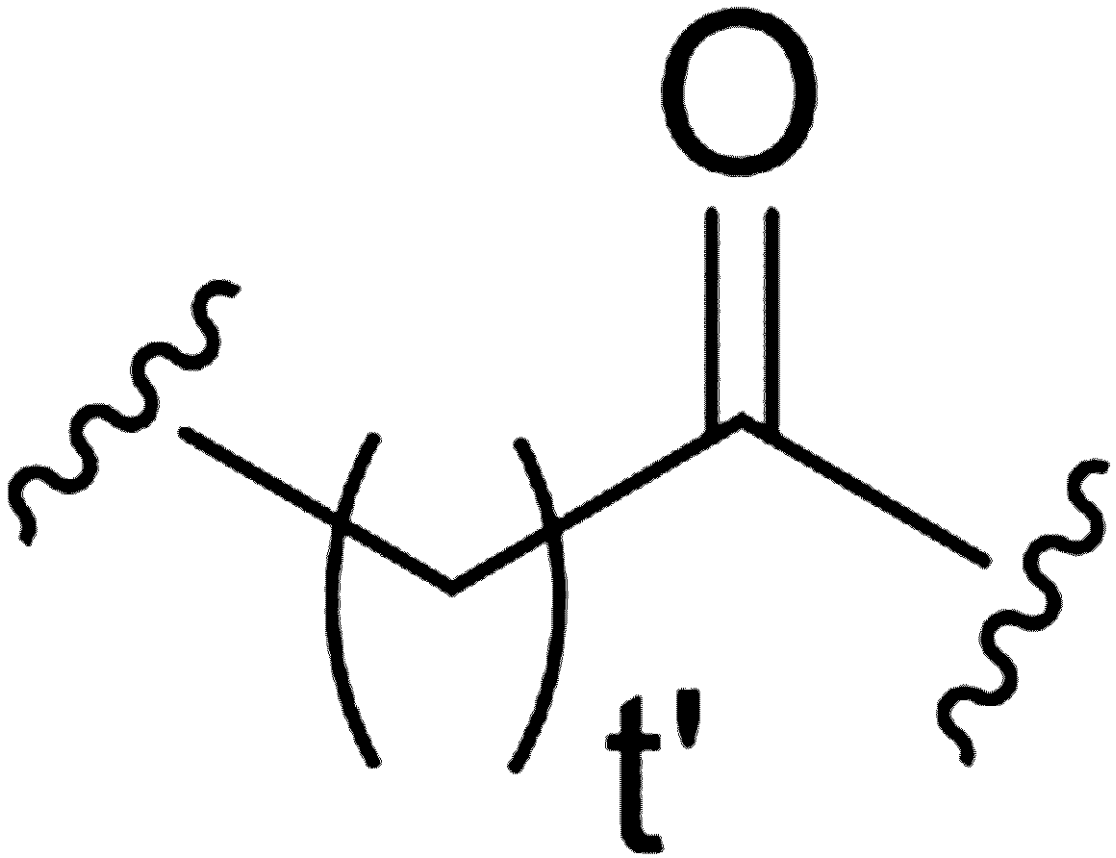
【化１０７】



、及び

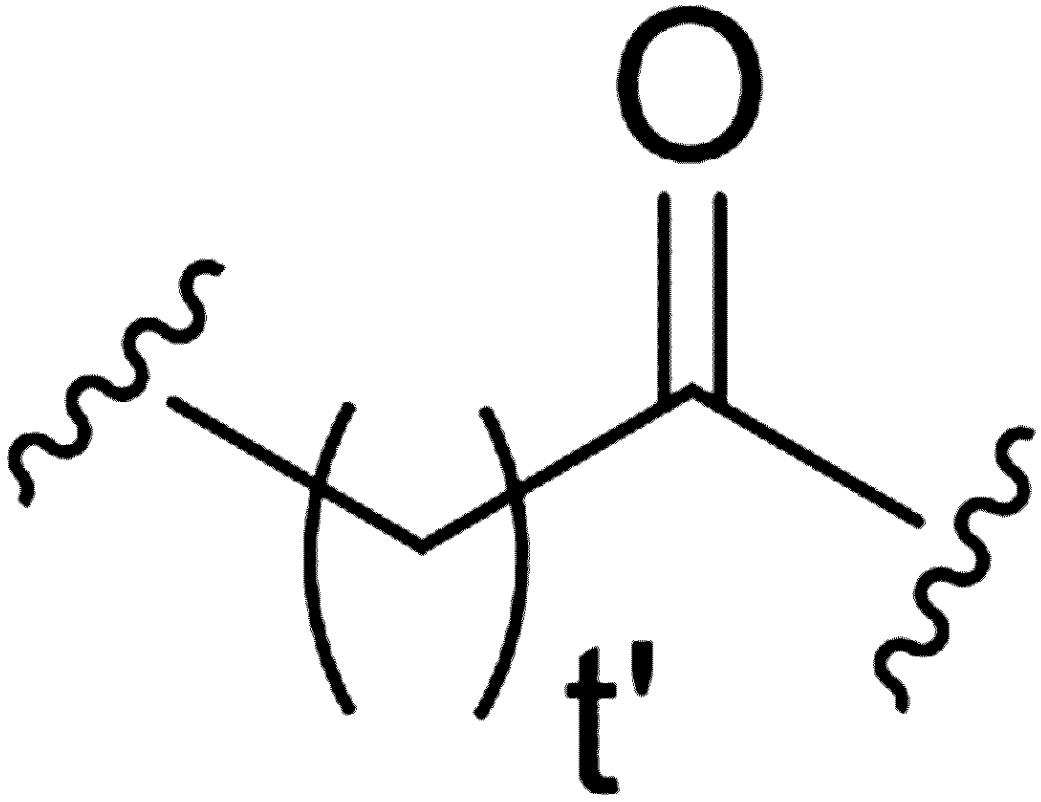
から選択され、式中、Ｒ１が、アルキレン、シクロアルキル、又は

【化１０８】



であり、式中、ｔ’が、０～１０であり、Ｒが各々独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、又はヘテロシクリルであり、Ｒ^{1}が、

【化１０９】

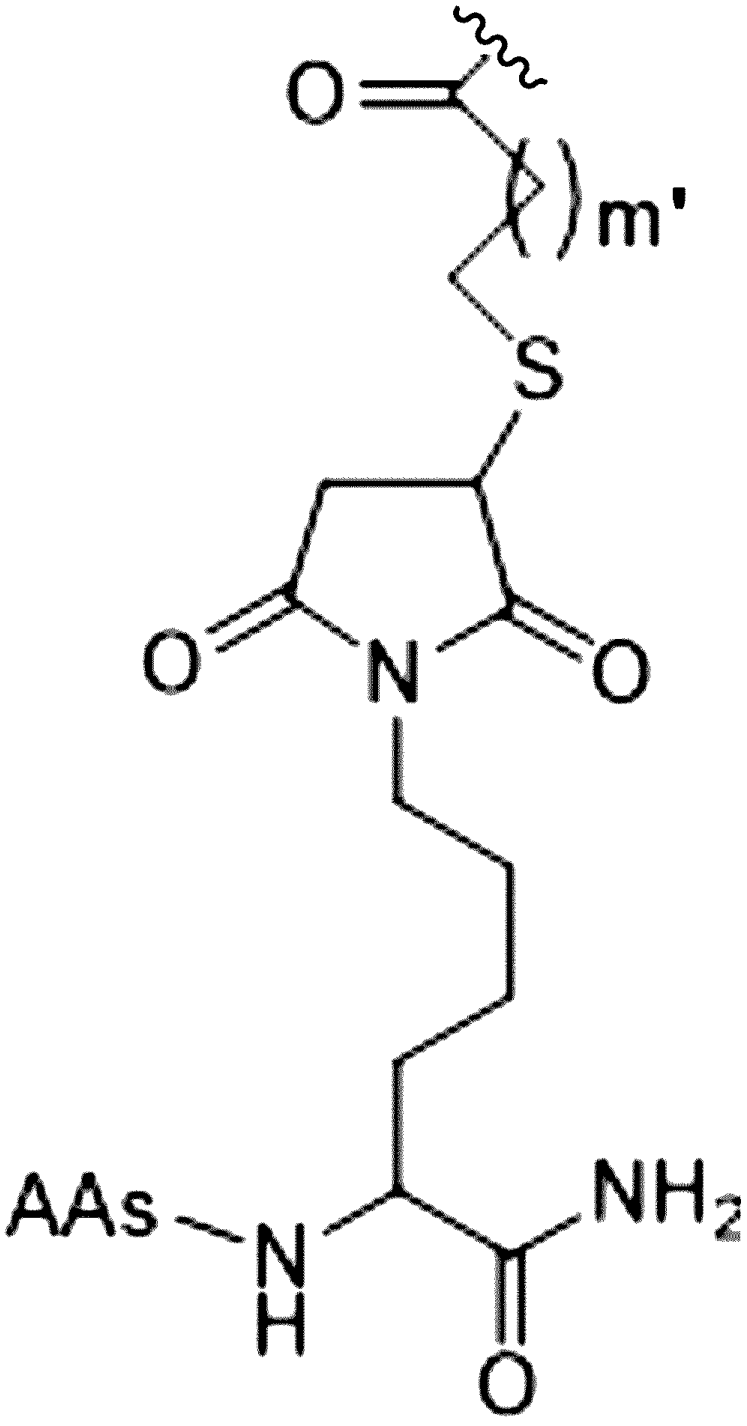


であり、ｔ’が、２である、化合物が本明細書に提供される。

【０３４４】

リンカーは、以下の構造を有することができ、

【化１１０】

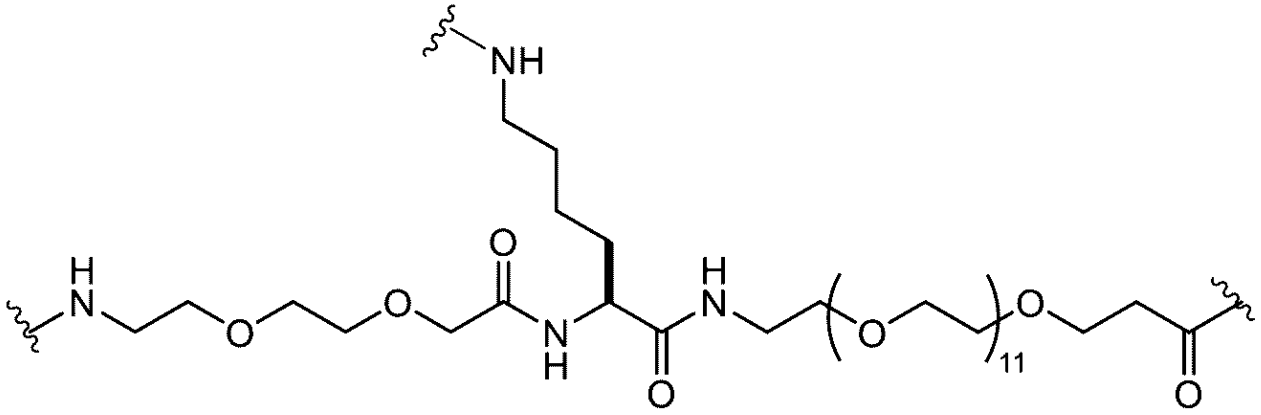


式中、ＡＡ$_S$が、本明細書に定義されるとおりであり、ｍ’が、０～１０である。

【０３４５】

リンカーは、以下の式のものとすることができる。

【化１１１】

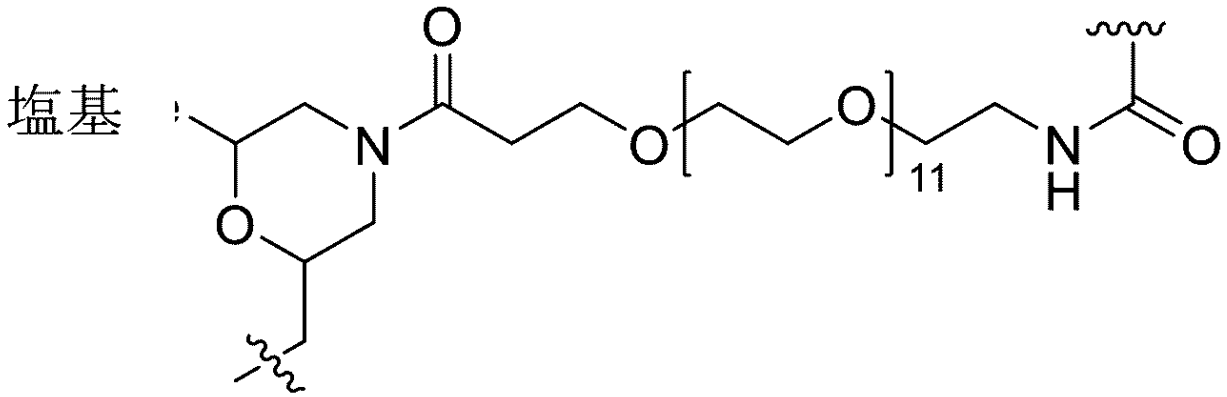


。

【０３４６】

リンカーは、式：

【化１１２】

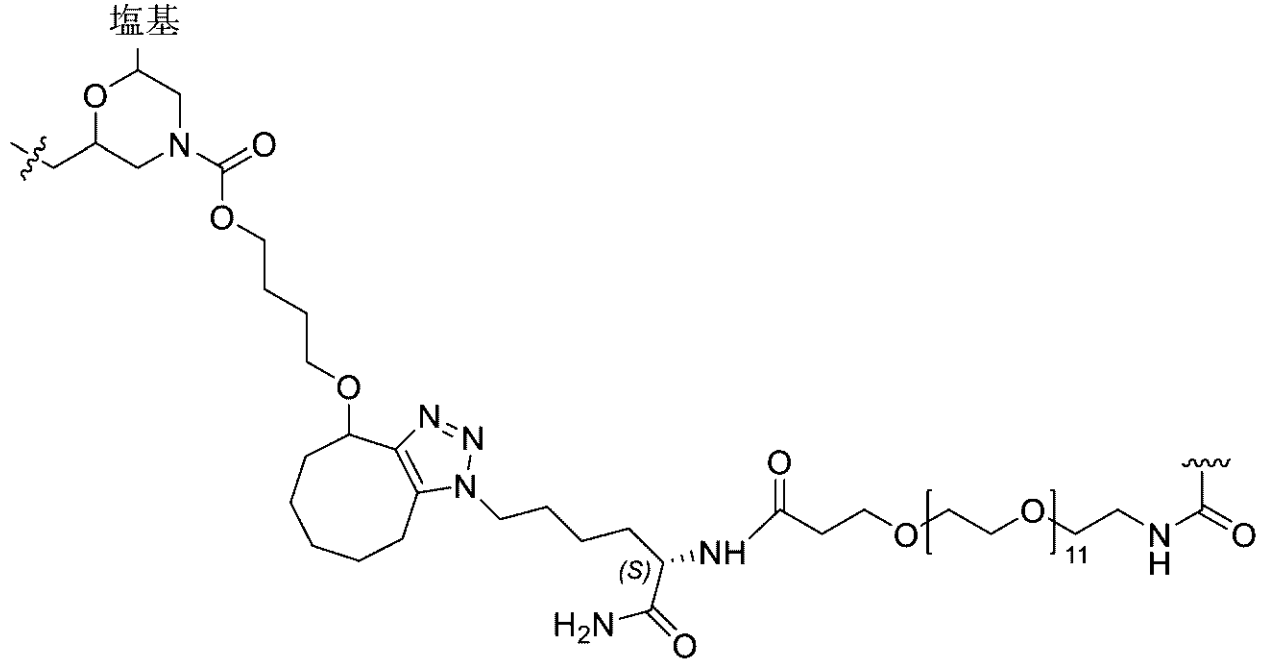


のリンカーとすることができ、式中、「塩基」は、カーゴホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーの３’末端の核酸塩基である。

【０３４７】

リンカーは、式：

【化１１３】

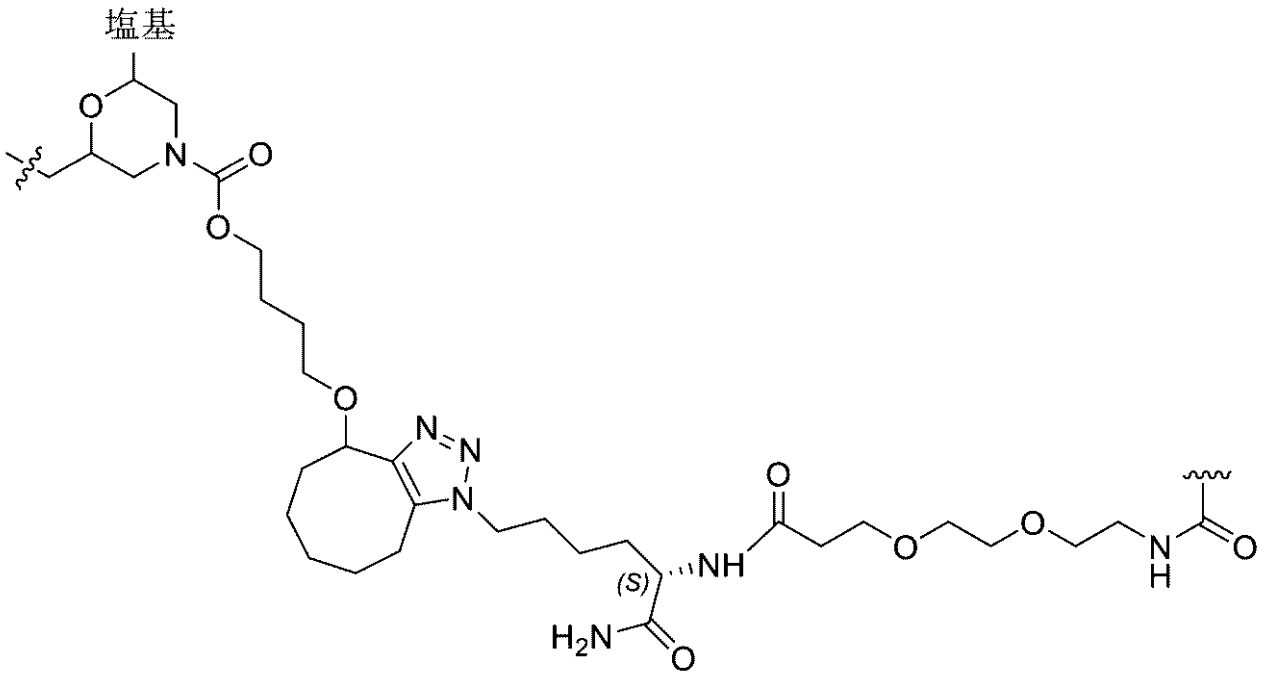


のものとすることができ、式中、「塩基」は、カーゴホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーの３’末端の核酸塩基に対応する。

【０３４８】

リンカーは、式：

【化１１４】

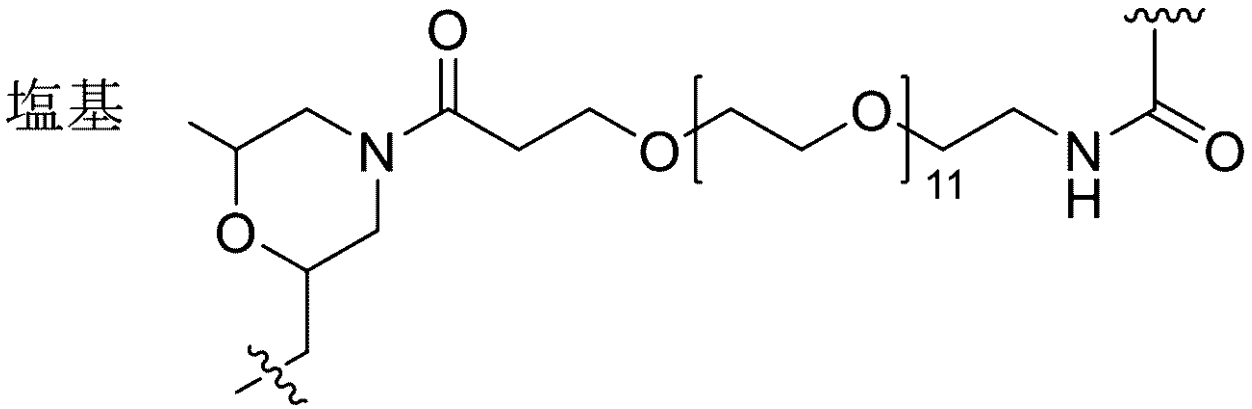


のものとすることができ、式中、「塩基」は、カーゴホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーの３’末端の核酸塩基である。

【０３４９】

リンカーは、式：

【化１１５】

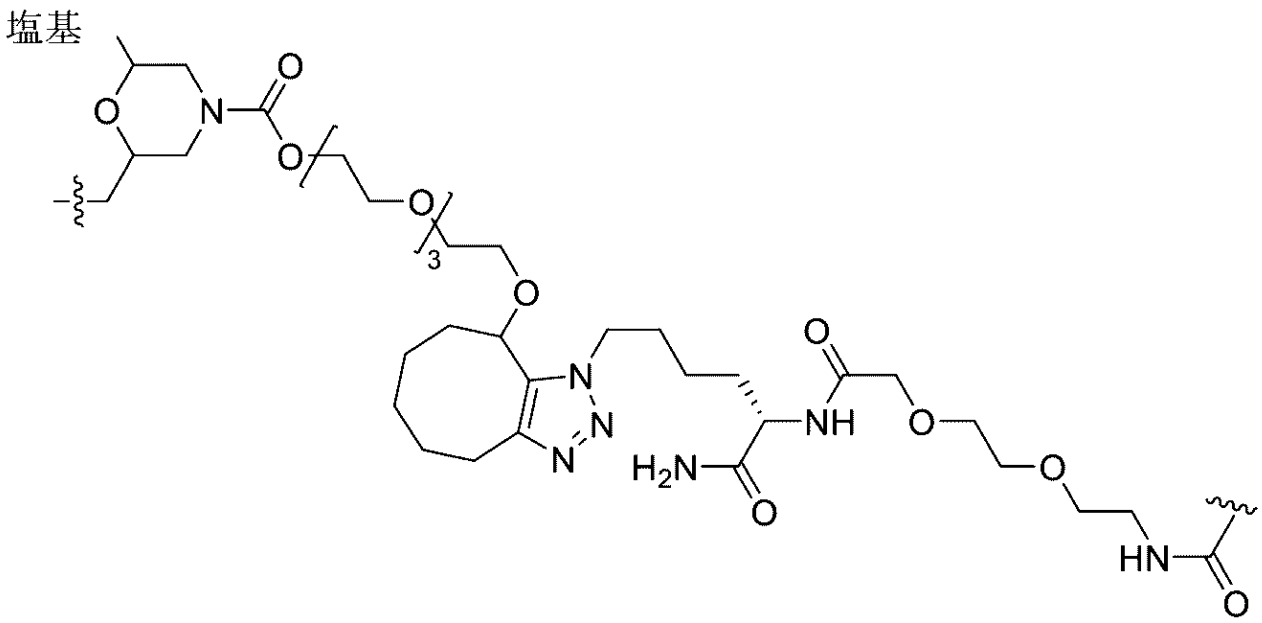


のリンカーとすることができ、式中、「塩基」は、カーゴホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーの３’末端の核酸塩基である。

【０３５０】

リンカーは、以下の式のものとすることができる。

【化１１６】



。

【０３５１】

リンカーは、カーゴ上の任意の好適な位置でカーゴに共有結合することができる。リンカーは、カーゴの３’末端又はオリゴヌクレオチドカーゴの５’末端に共有結合している。リンカーは、カーゴの骨格に共有結合することができる。

【０３５２】

リンカーは、ｃＣＰＰ上の、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、若しくはリジンの側鎖、又はグルタミン若しくはアスパラギンの修飾側鎖（例えば、アミノ基を有する還元側鎖）に結合することができる。リンカーは、ｃＣＰＰ上のリジンの側鎖に結合することができる。

【０３５３】

ｃＣＰＰ－リンカーコンジュゲート

ｃＣＰＰは、本明細書に定義されるリンカーにコンジュゲートすることができる。リン

カーは、本明細書に定義されるｃＣＰＰのＡＡｓｃにコンジュゲートすることができる。

【０３５４】

リンカーは、（例えば、スペーサーとして）－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_{z'}$－サブユニット（式中、ｚ’が、１～２３の整数、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、又は２３である）を含むことができる。「－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_{z'}$」は、ＰＥＧとも称される。ｃＣＰＰ－リンカーコンジュゲートは、表７から選択される構造を有することができる。

【表７】

表７：ｃＣＰＰ－リンカーコンジュゲート及び配列番号

シクロ(FfΦ-4gp-r-4gp-rQ)-PEG$_4$-K-NH$_2$	シクロ(配列番号 118)-PEG$_4$-K-NH$_2$
シクロ(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG$_4$-K-NH$_2$	シクロ(配列番号 119)-PEG$_4$-K-NH$_2$
シクロ(FfΦ-Pia-r-Pia-rQ)-PEG$_4$-K-NH$_2$	シクロ(配列番号 120)-PEG$_4$-K-NH$_2$
シクロ(FfΦ-Dml-r-Dml-rQ)-PEG$_4$-K-NH$_2$	シクロ(配列番号 121)-PEG$_4$-K-NH$_2$
シクロ(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG$_{12}$-OH	シクロ(配列番号 122)-PEG$_{12}$-OH
シクロ(fΦR-Cit-R-Cit-Q)-PEG$_{12}$-OH	シクロ(配列番号 123)-PEG$_{12}$-OH

【０３５５】

リンカーは、－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）$_{z'}$－サブユニット（式中、ｚ’が１～２３の整数である）と、ペプチドサブユニットとを含むことができる。ペプチドサブユニットは、２～１０個のアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰ－リンカーコンジュゲートは、表８から選択される構造を有することができる。

【表８】

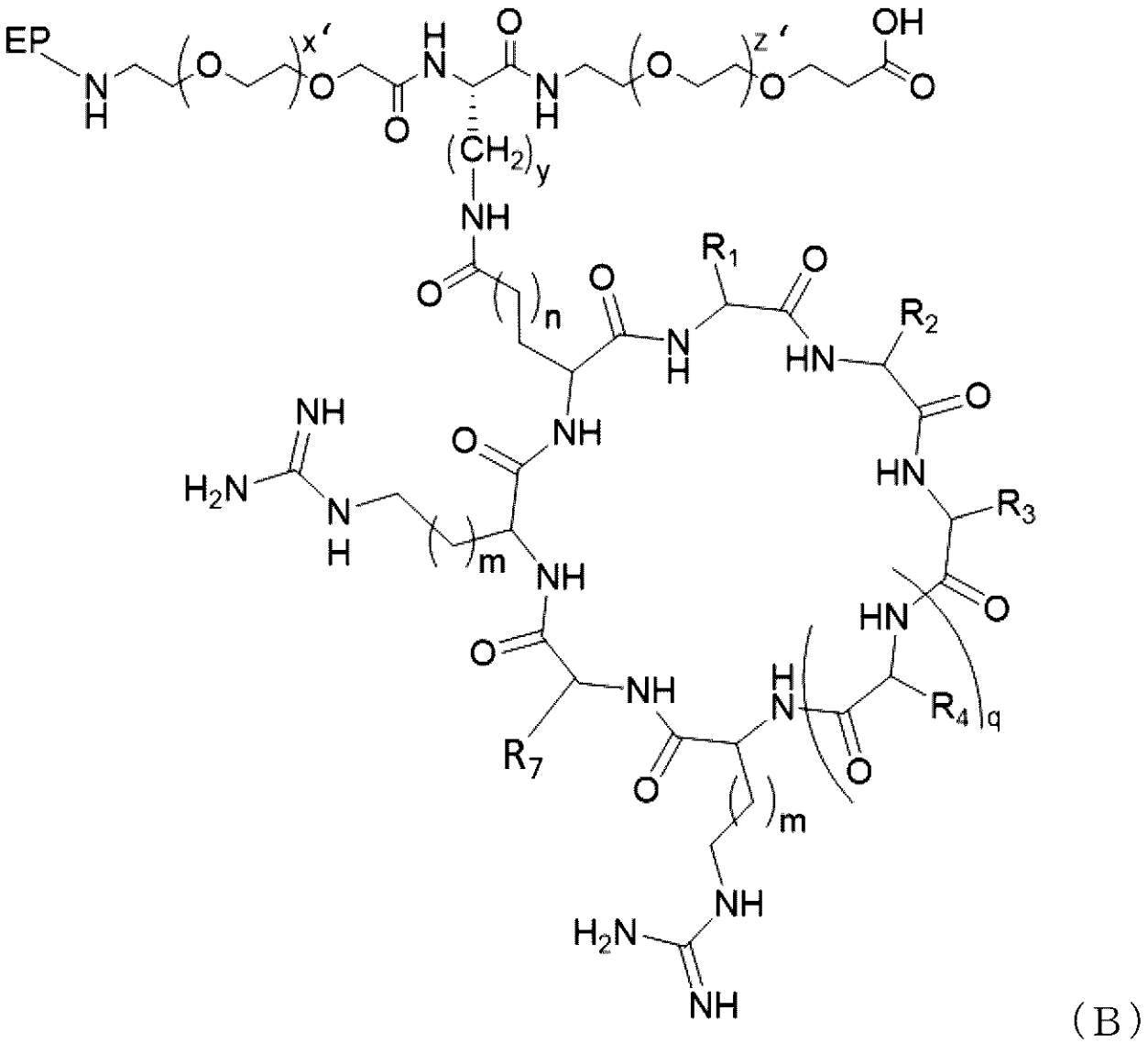
表８：ｃＣＰＰリンカーコンジュゲート及び配列番号

Ac-PKKKRKV-Lys(シクロ[FfΦ-R-r-Cit-rQ])-PEG$_{12}$-K(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-Lys(シクロ[配列番号 127])-PEG$_{12}$-K(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-R-rQ])-PEG$_{12}$-K(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-Lys(シクロ[配列番号 128])-PEG$_{12}$-K(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-K(シクロ(FfΦR-cit-R-cit-Q))-PEG$_{12}$-K(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-K(シクロ(配列番号 129))-PEG$_{12}$-K(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-B-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-B-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG2-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG2-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG4-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG4-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-pkkkrkv-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 131-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-rrv-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-OH	Ac-rrv-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKK-Cit-KV-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 126-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130])-PEG12-k(N$_3$)-NH$_2$
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q]-PEG12-K(N$_3$)-NH$_2$	Ac-配列番号 42-PEG2-Lys(シクロ[配列番号 130]-PEG12-K(N$_3$)-NH$_2$

【０３５６】

環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）、リンカー、及び環外ペプチド（ＥＰ）を含むＥＥＶが提供される。ＥＥＶは、式（Ｂ）の構造：

【化１１７】



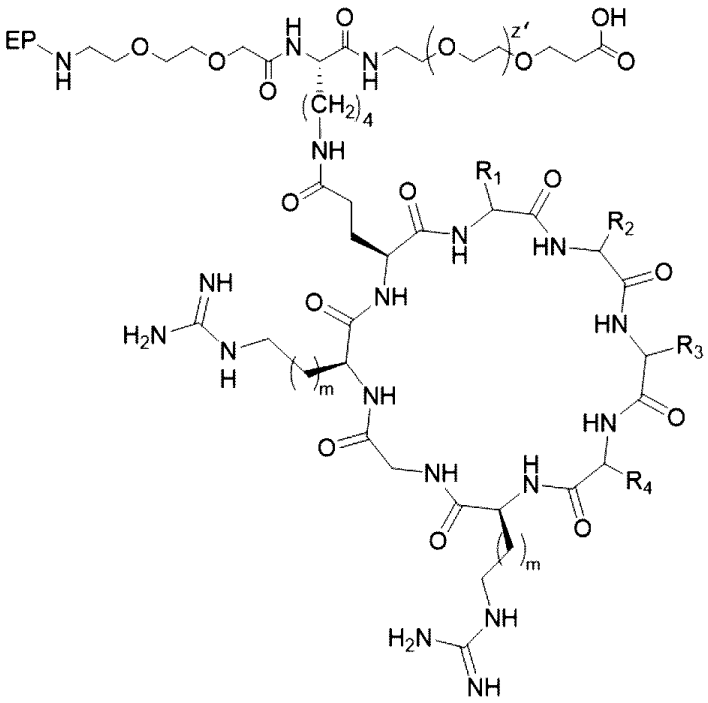
（Ｂ）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、
式中、
Ｒ１、Ｒ２、及びＲ３が各々独立して、Ｈ、又はアミノ酸の芳香族若しくはヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ４及びＲ７が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＥＰが、本明細書に定義される環外ペプチドであり、
ｍが各々独立して、０～３の整数であり、
ｎが、０～２の整数であり、
ｘ’が、１～２０の整数であり、
ｙが、１～５の整数であり、
ｑが、１～４であり、
ｚ’が、１～２３の整数である。

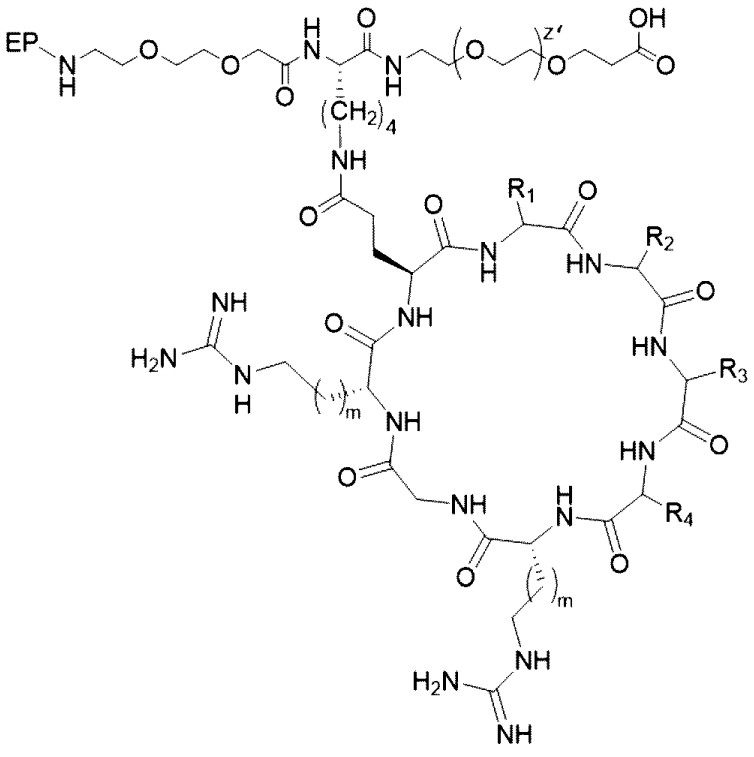
【０３５７】

Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４、Ｒ７、ＥＰ、ｍ、ｑ、ｙ、ｘ’、ｚ’は、本明細書に記載されるとおりである。

【０３５８】
ｎは、０とすることができる。ｎは、１とすることができる。ｎは、２とすることができる。
【０３５９】
ＥＥＶは、式（Ｂ－ａ）若しくは式（Ｂ－ｂ）の構造：
【化１１８】



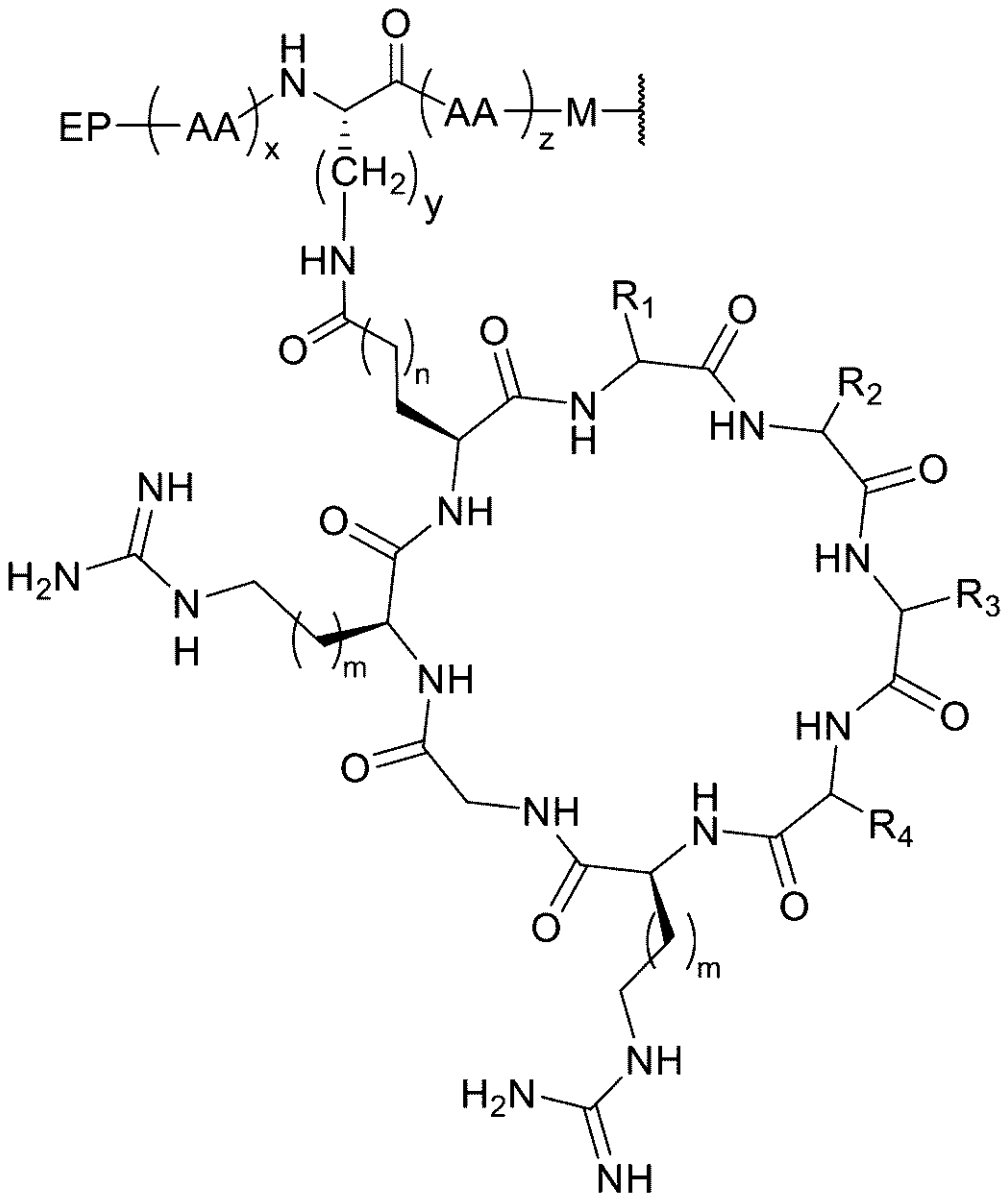
（Ｂ－ａ）、



（Ｂ－ｂ）、

又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＥＰ、Ｒ^{1}、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、Ｒ^{4}、ｍ、及びｚ’が、上記の式（Ｂ）に定義されるとおりである。
【０３６０】
ＥＥＶは、式（Ｂ－ｃ）の構造：

【化１１９】



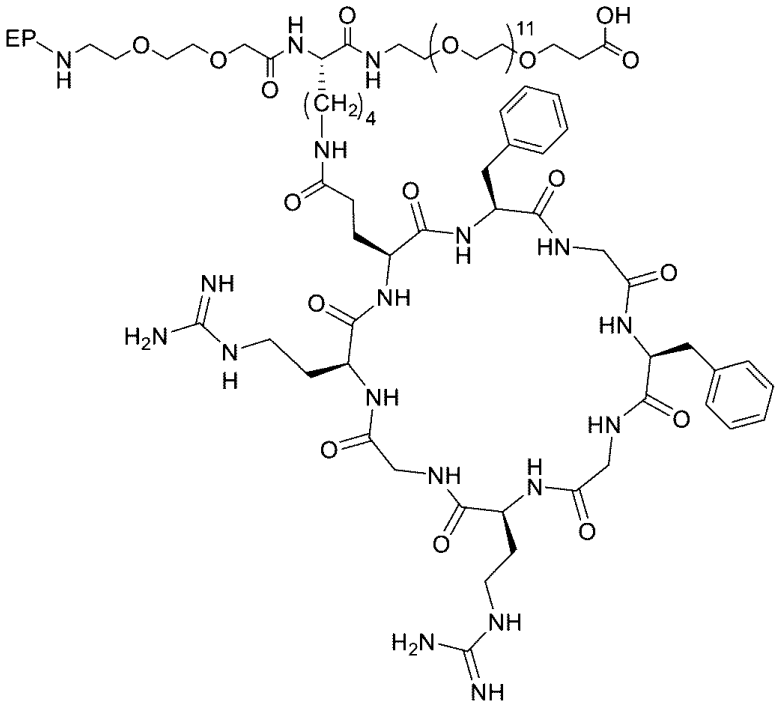
（Ｂ－ｃ）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＥＰ、Ｒ[1]、Ｒ[2]、Ｒ[3]、Ｒ[4]、及びｍが、上記の式（Ｂ）に定義されるとおりであり、ＡＡが、本明細書に定義されるアミノ酸であり、Ｍが、本明細書に定義されるとおりであり、ｎが、０～２の整数であり、ｘが、１～１０の整数であり、ｙが、１～５の整数であり、ｚが、１～１０の整数である。

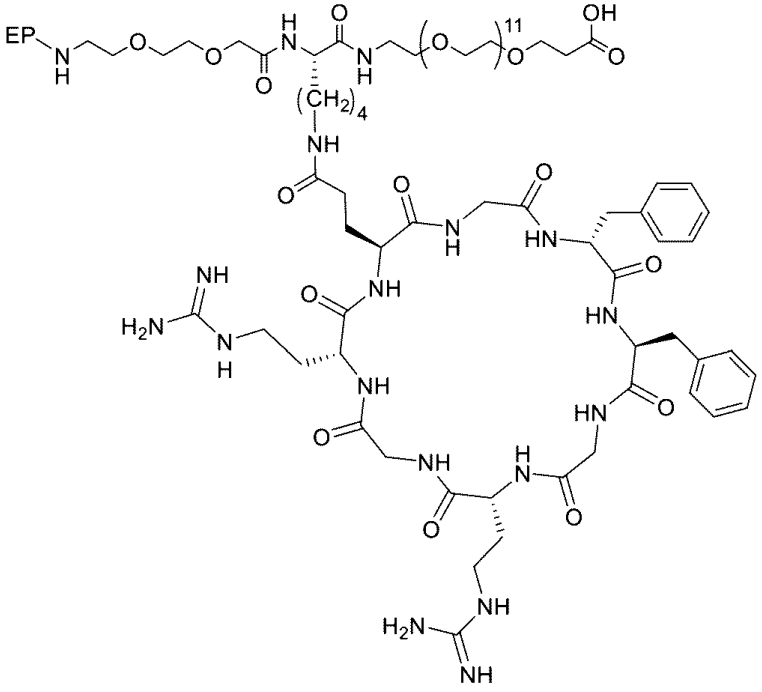
【０３６１】

ＥＥＶは、式（Ｂ－１）、式（Ｂ－２）、式（Ｂ－３）、若しくは式（Ｂ－４）の構造：

【化１２０－１】

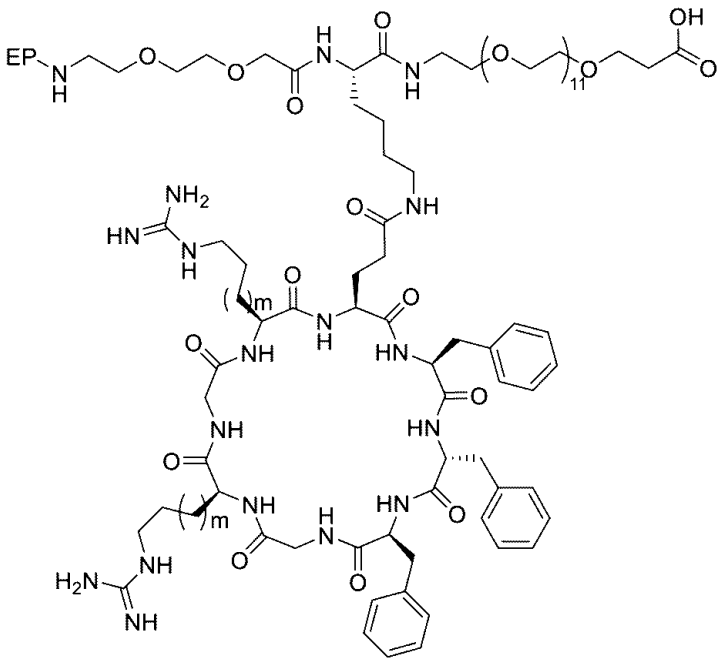


（Ｂ－１）、

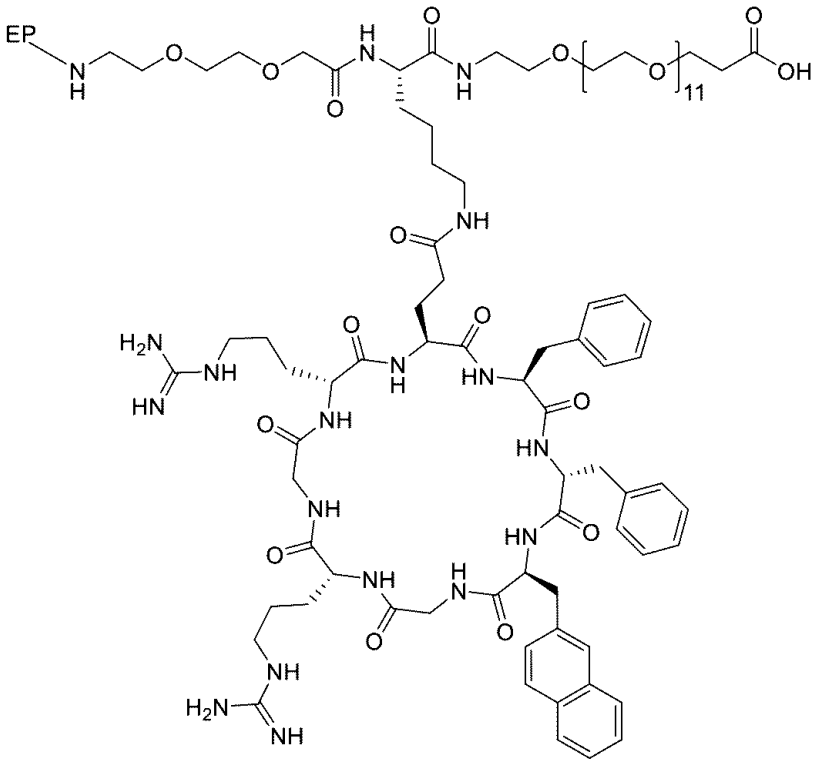


（Ｂ－２）、

【化１２０－２】



（Ｂ－３）、



（Ｂ－４）、

又はそのプロトン化形態を有することができ、式中、ＥＰが、上記の式（Ｂ）に定義されるとおりである。

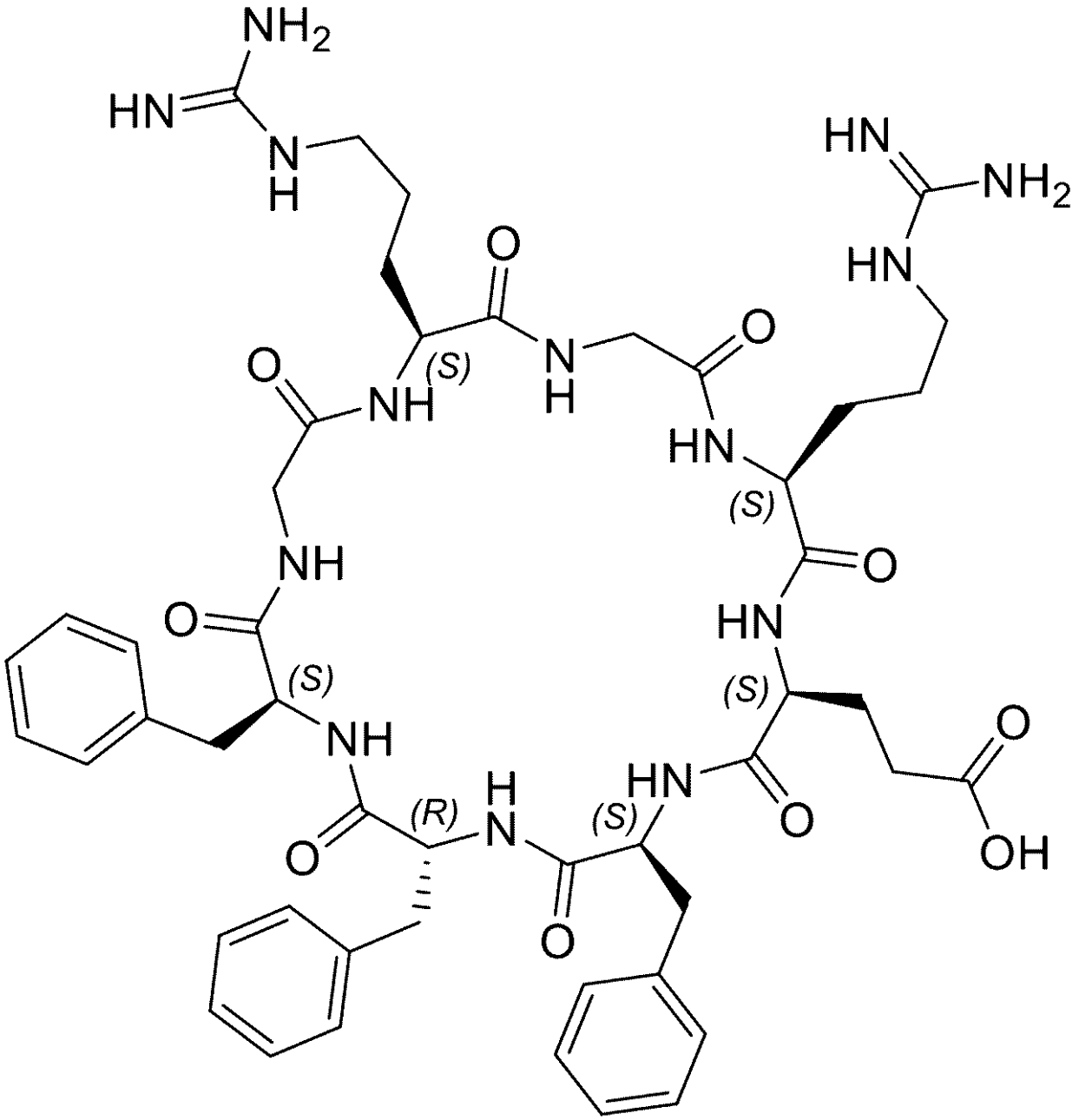
【０３６２】

ＥＥＶは、式（Ｂ）を含むことができ、以下の構造：Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶＡＥＥＡ－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ（Ａｃ－配列番号１３２－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）又はＡｃ－ＰＫ－ＫＫＲ－ＫＶ－ＡＥＥＡ－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ（Ａｃ－配列番号１３３－Ｋ（シクロ［配列番号８３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）を有することができる。

【０３６３】

ＥＥＶは、以下の式のｃＣＰＰを含むことができる。

【化１２１】



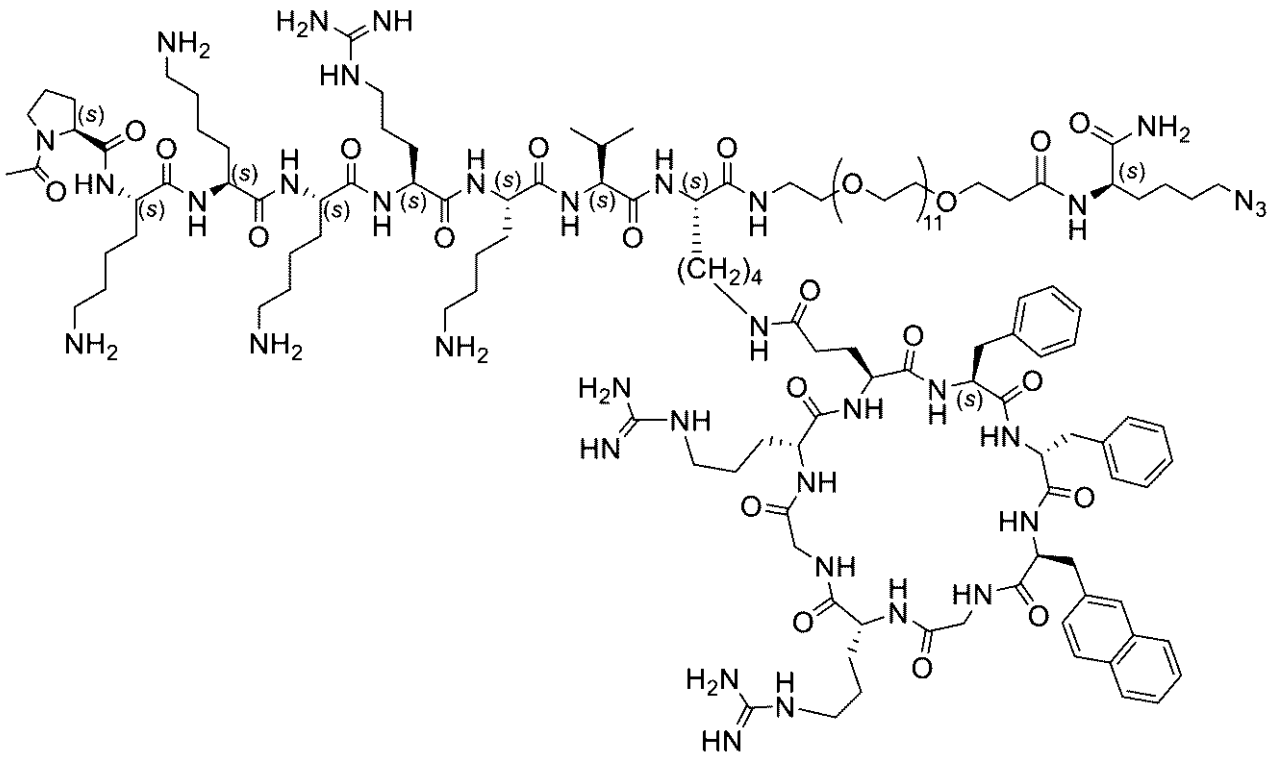
【０３６４】

ＥＥＶは、式：Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ（ＦｆＦＧＲＧＲＱ）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$））（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ（配列番号８１）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$））を含むことができる。

【０３６５】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

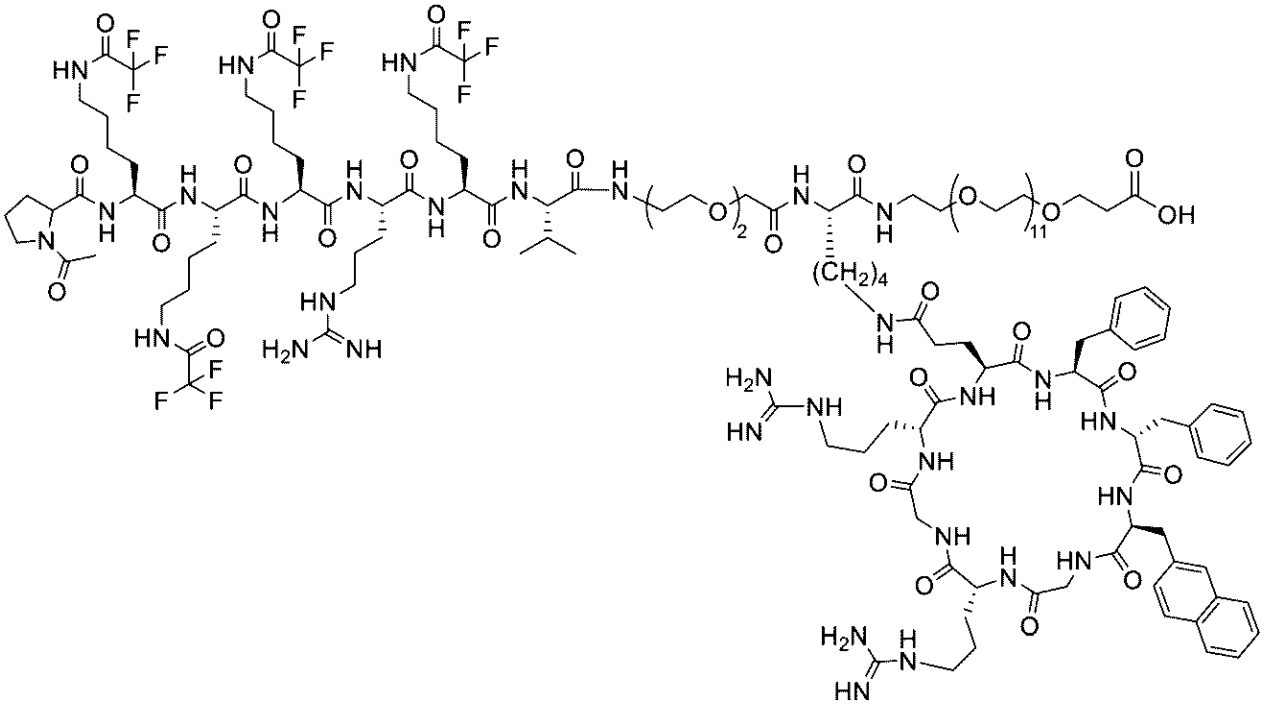
【化１２２】



【０３６６】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

【化１２３】



。

【０３６７】

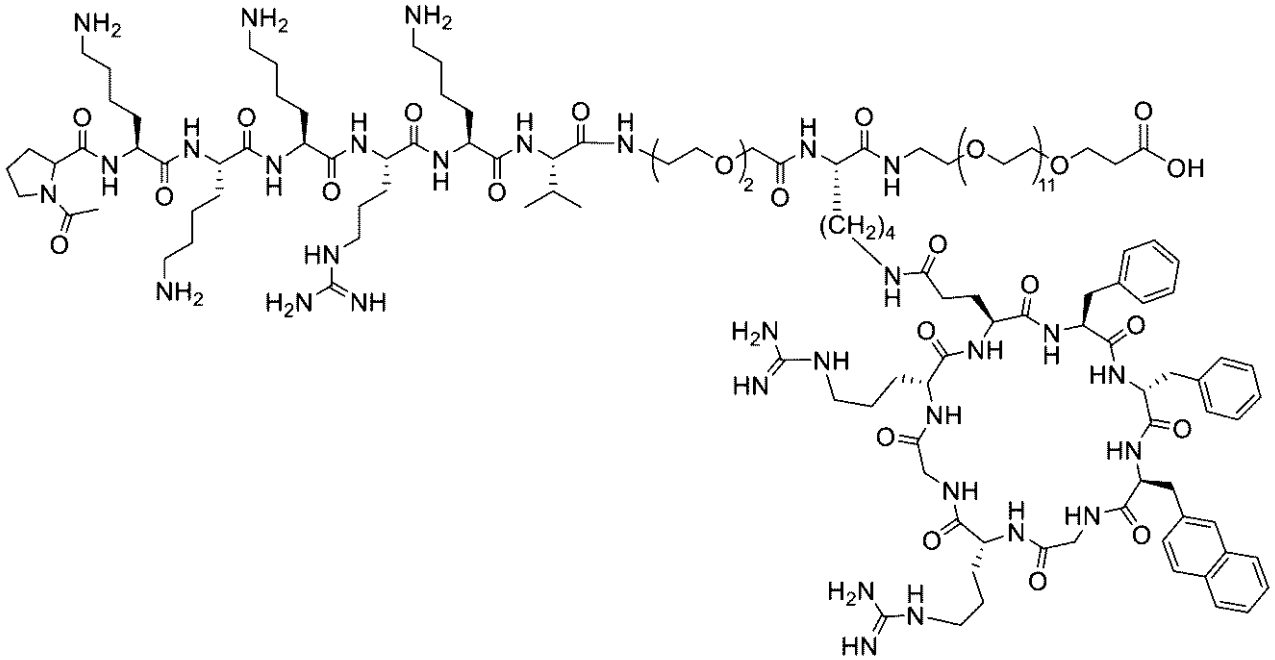
ＥＥＶは、Ａｃ－Ｐ－Ｋ（Ｔｆａ）－Ｋ（Ｔｆａ）－Ｋ（Ｔｆａ）－Ｒ－Ｋ（Ｔｆａ）－Ｖ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ（Ｆｆ－Ｎａｌ－ＧｒＧｒＱ）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ（Ａｃ－配列番号１３４－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ（配列番号１３５）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

）とすることができる。

【０３６８】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

【化１２４】



。

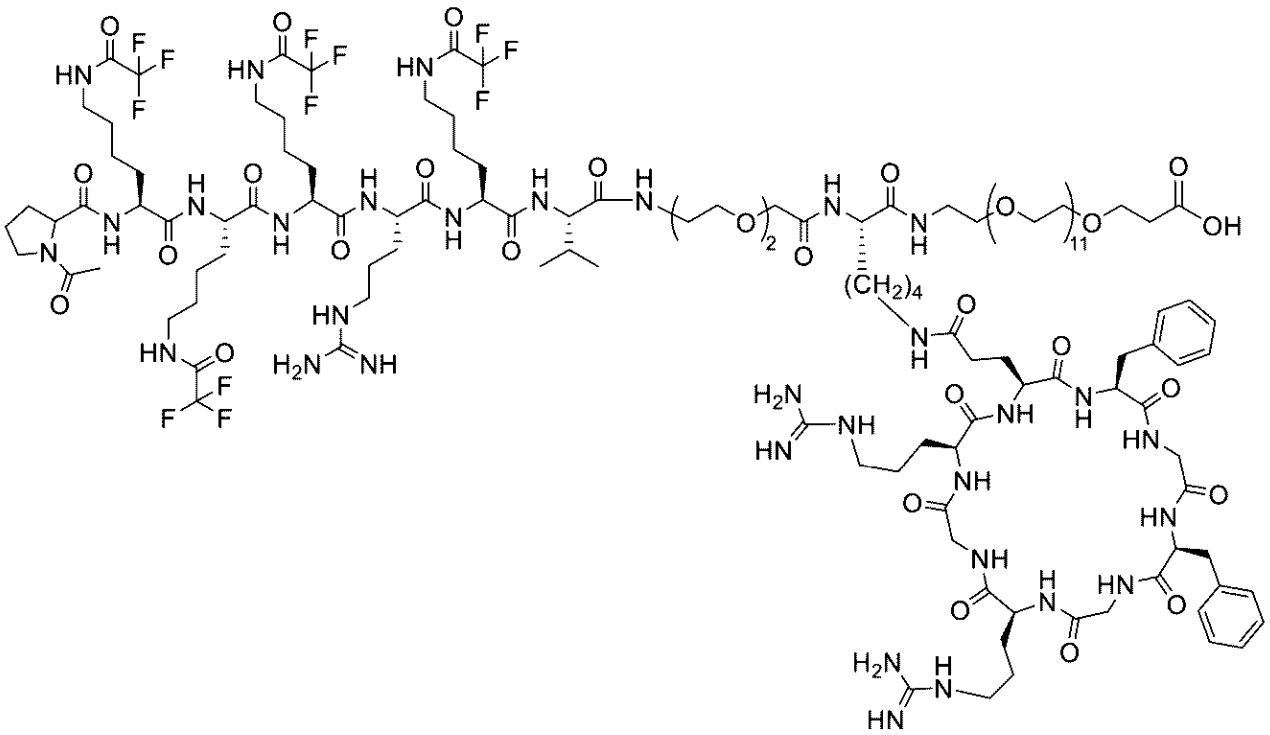
【０３６９】

ＥＥＶは、Ａｃ－Ｐ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－Ｖ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ（Ｆｆ－Ｎａｌ－ＧｒＧｒＱ）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ（配列番号１３５）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）とすることができる。

【０３７０】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

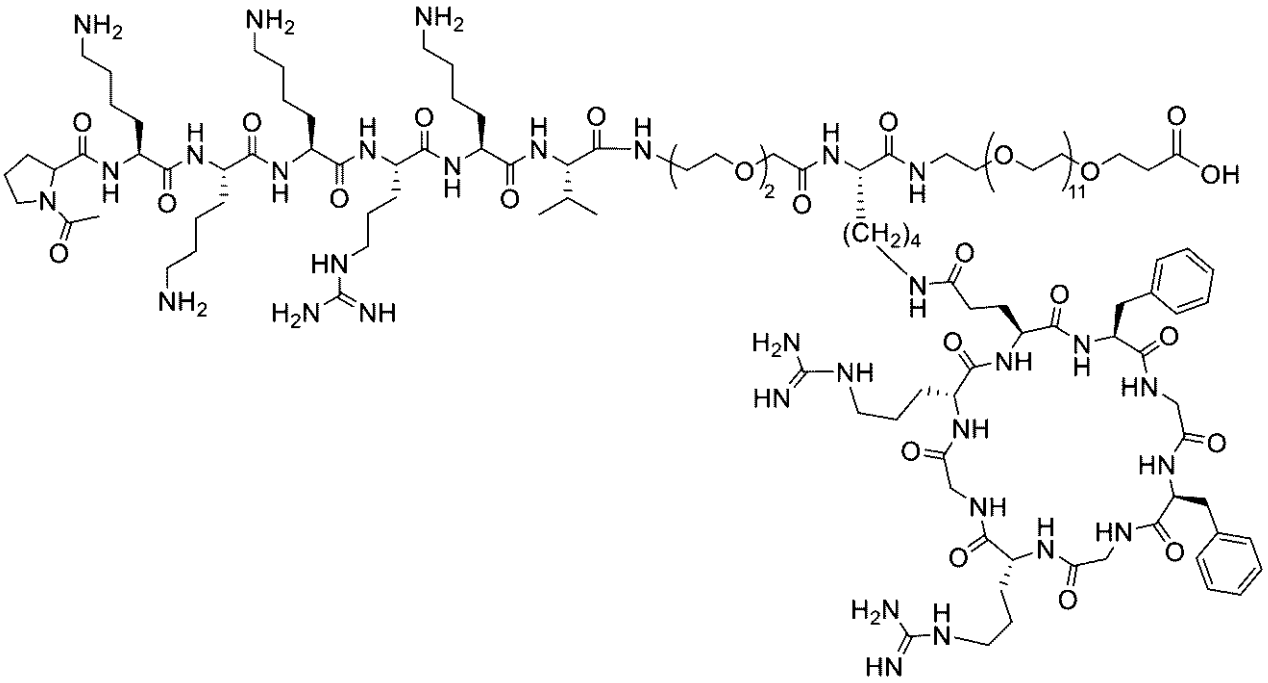
【化１２５】



【０３７１】

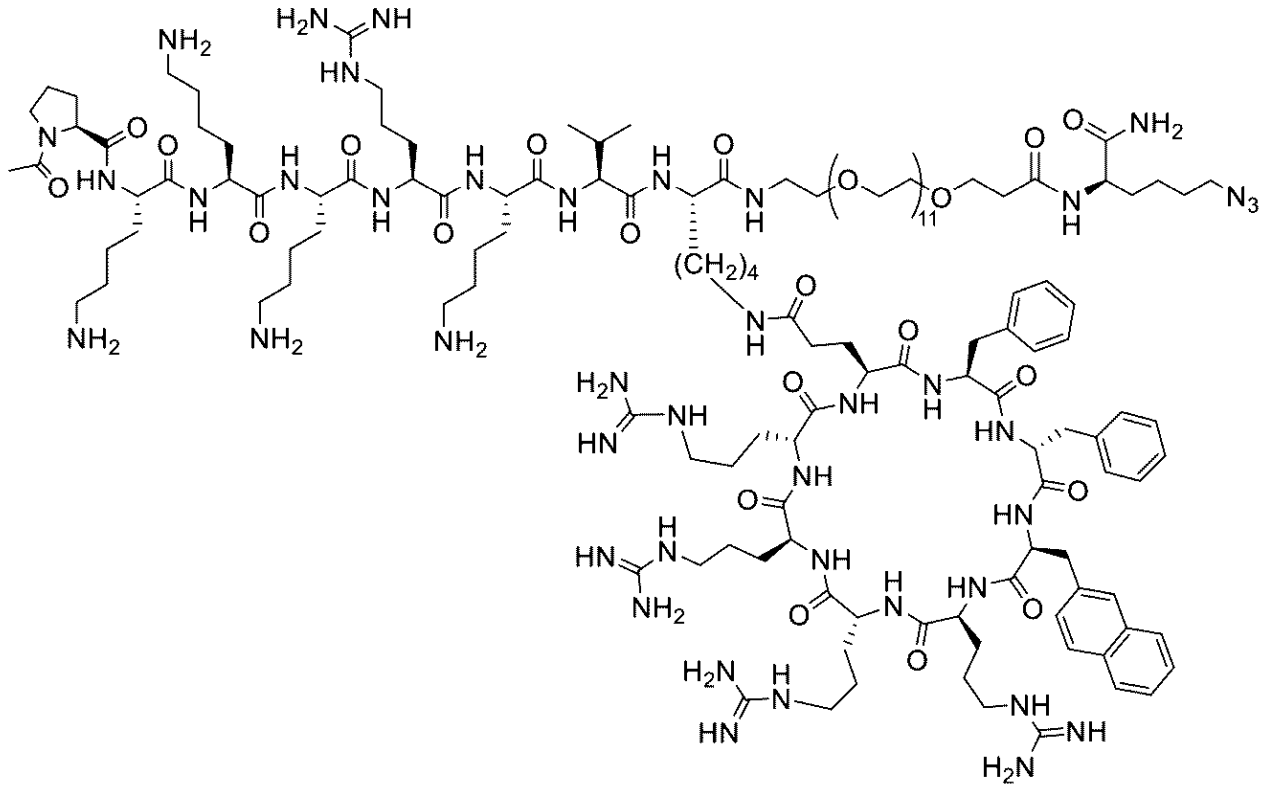
ＥＥＶは、以下とすることができる。

【化１２６】



ＥＥＶは、以下とすることができる。

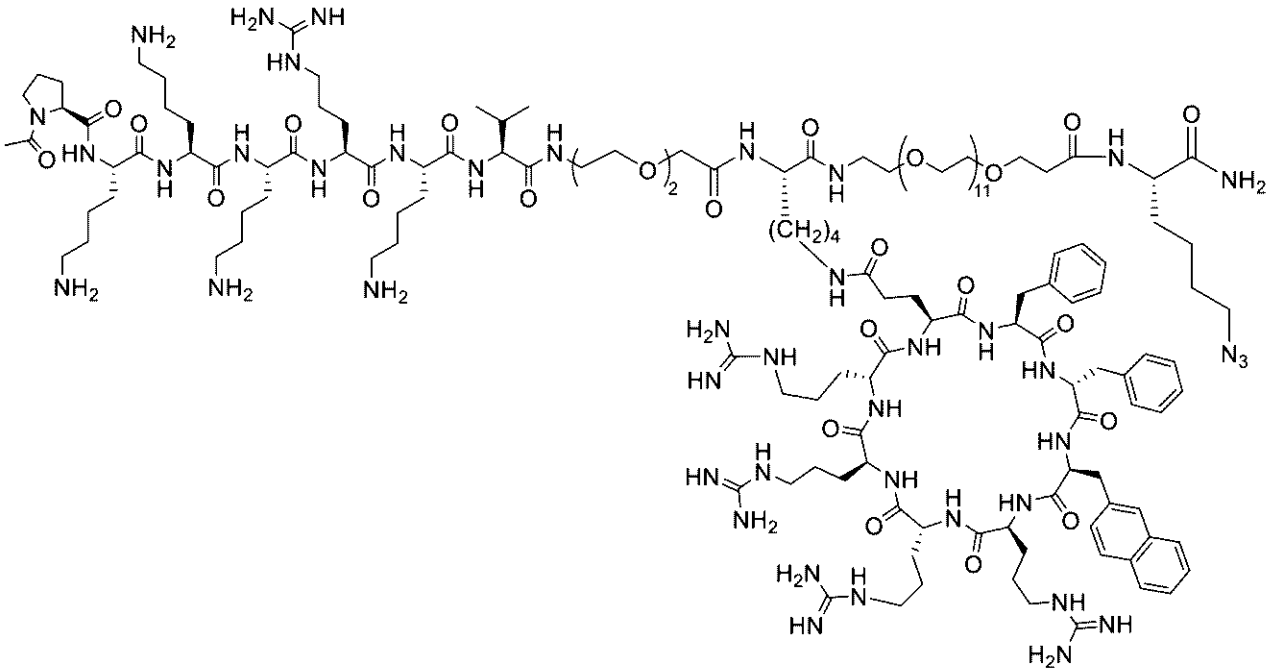
【化１２７】



【０３７２】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

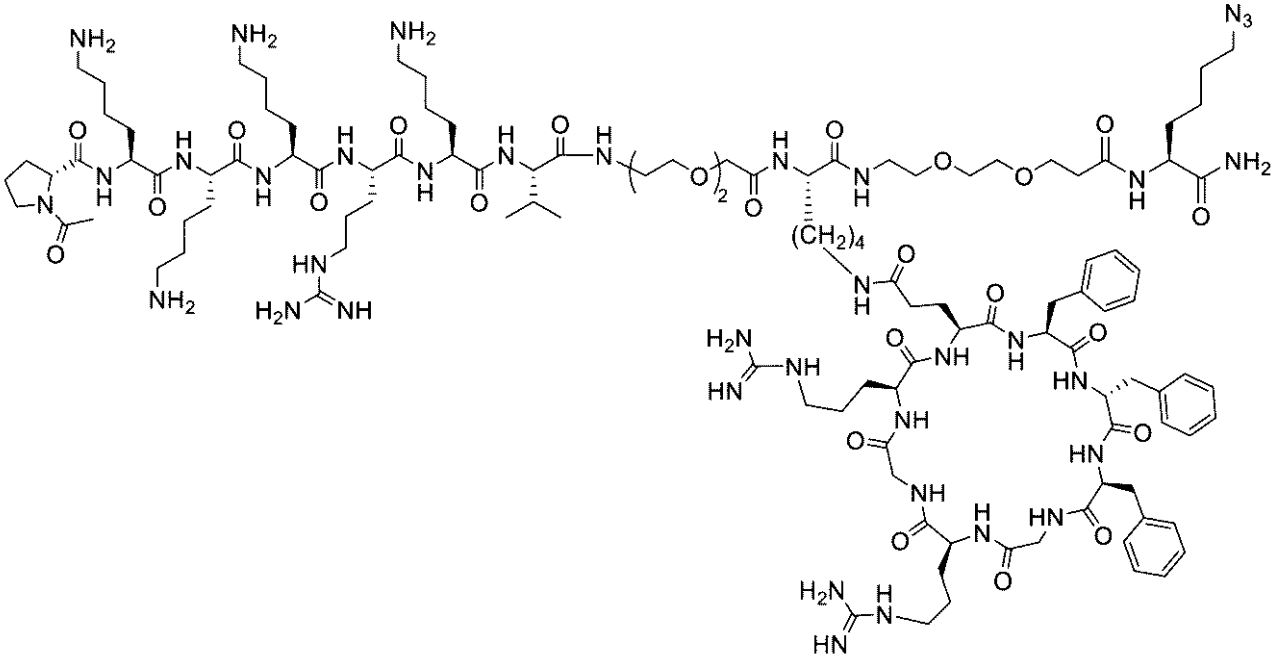
【化１２８】



【０３７３】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

【化１２９】

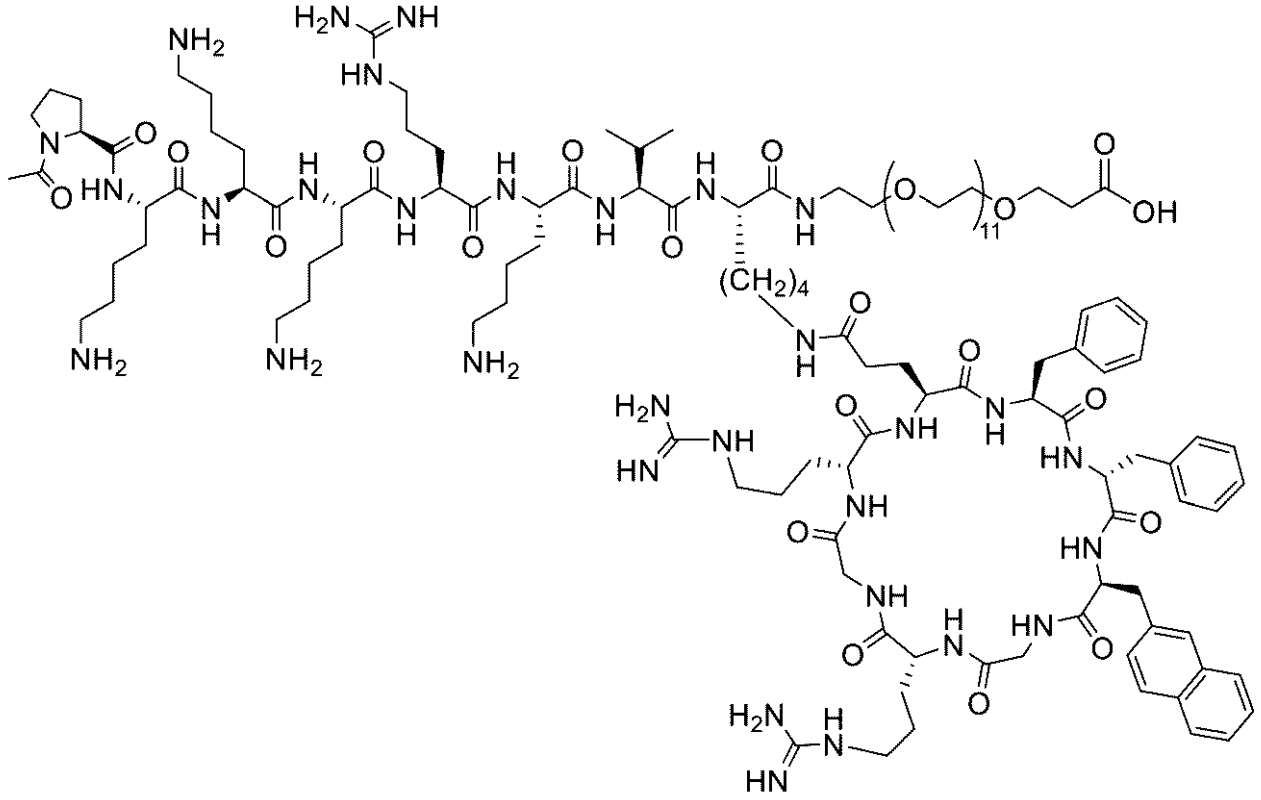


。

【０３７４】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

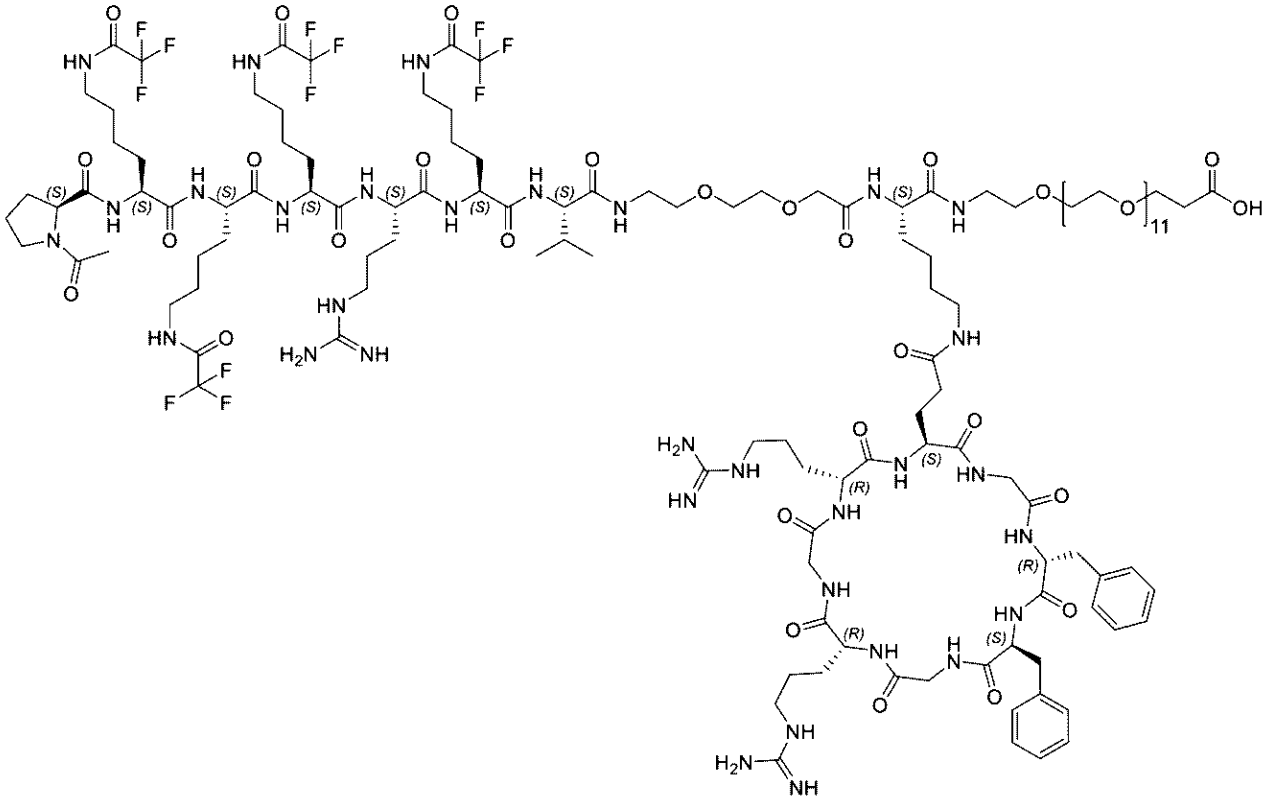
【化１３０】



【０３７５】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

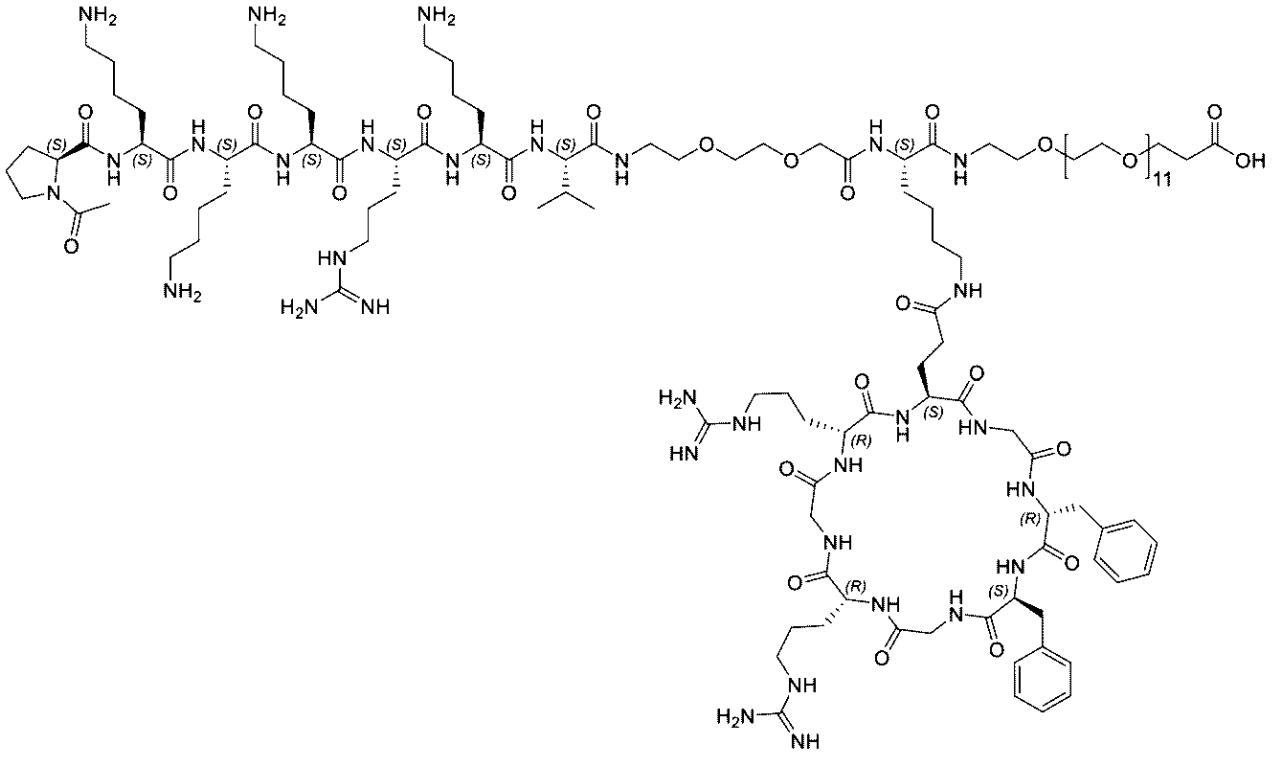
【化１３１】



【０３７６】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

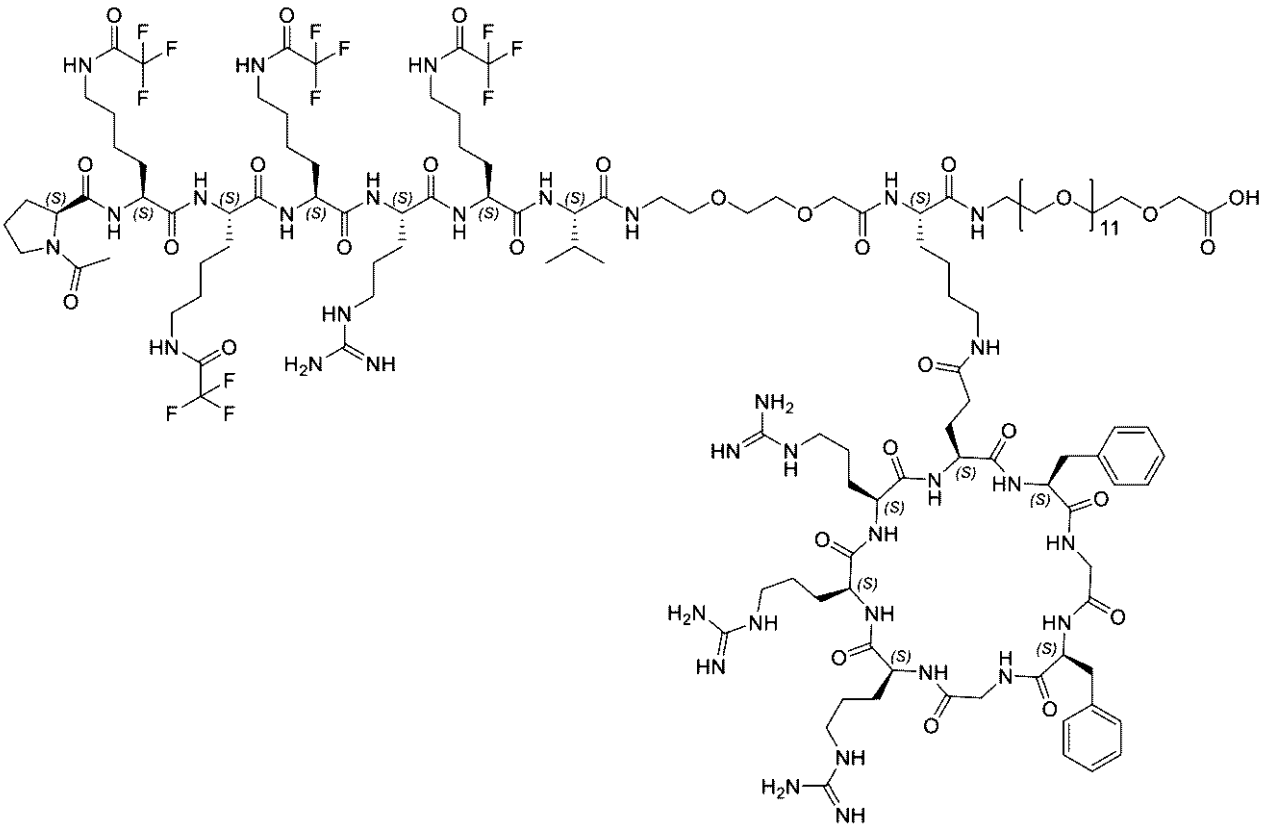
【化１３２】



【０３７７】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

【化１３３】

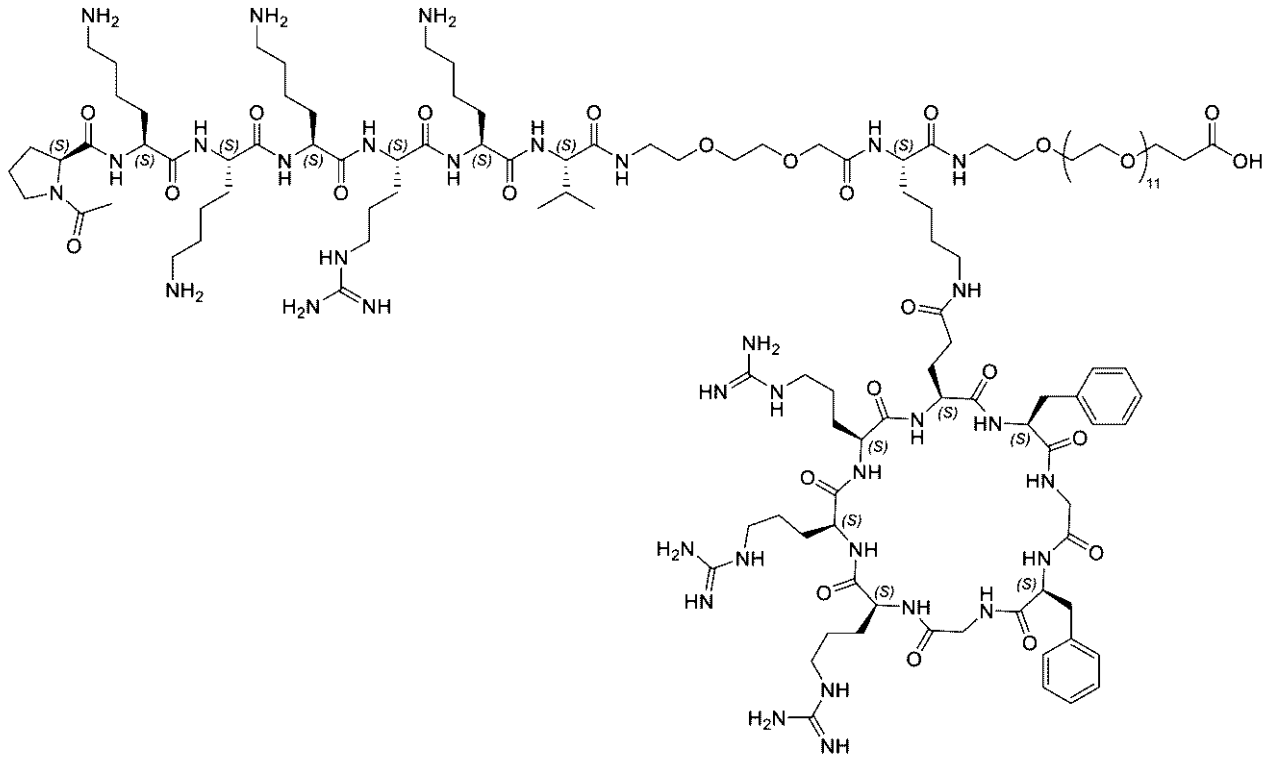


。

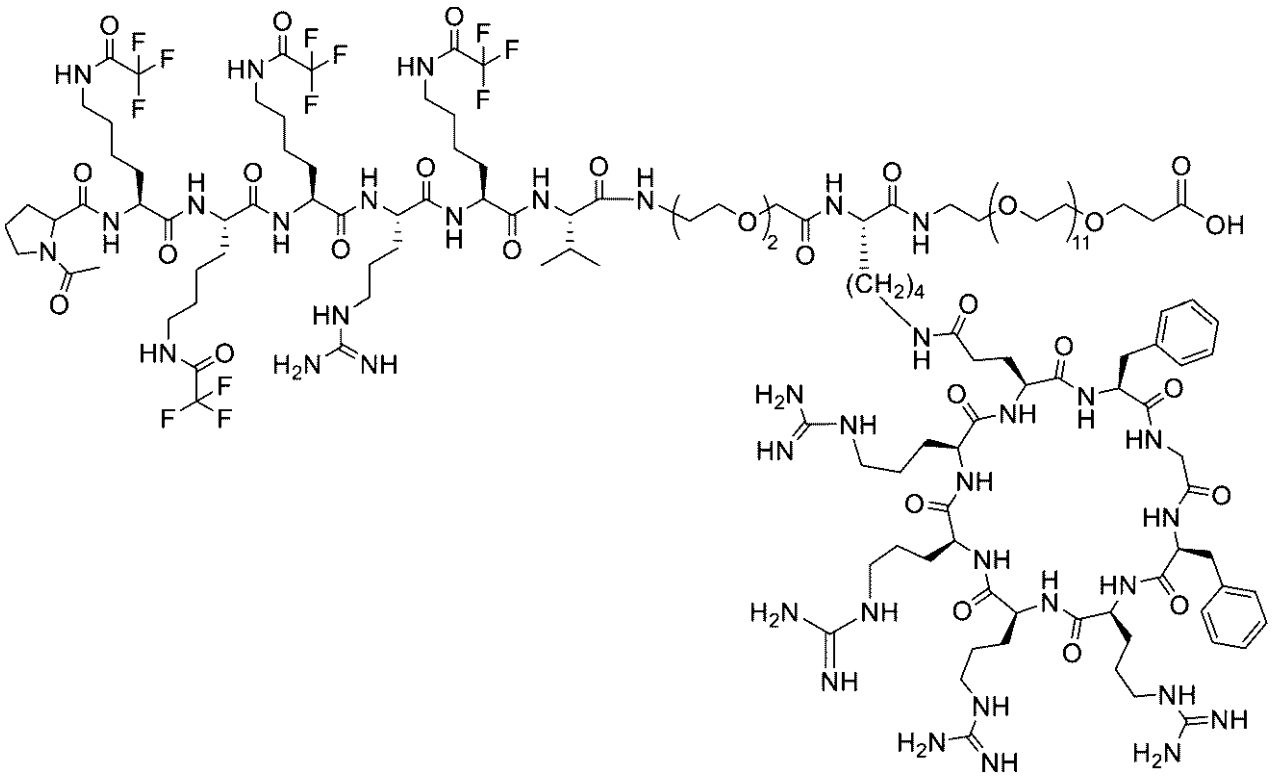
【０３７８】

ＥＥＶは、以下とすることができる。

【化１３４】



【０３７９】
ＥＥＶは、以下とすることができる。
【化１３５】



。
【０３８０】
ＥＥＶは、以下から選択することができる。

【表２７－１】

Ac-rr-ミニ PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-rr-ミニ PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-frr-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-frr-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rfr-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-rfr-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rbfbr-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-配列番号 137-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rrr-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-rrr-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rbr-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-rbr-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rbrbr-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-配列番号 138-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-hh-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-hh-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-hbh-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-hbh-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-hbhbh-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-配列番号 139-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rbhbh-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-配列番号 140-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-hbrbh-PEG_2-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH	Ac-配列番号 141-PEG_2-Dap(シクロ[配列番号 136])-PEG_{12}-OH
Ac-rr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-rr-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-frr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-frr-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-rfr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-rfr-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-rbfbr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-配列番号 137-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-rrr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-rrr-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-rbr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-rbr-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-rbrbr-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-配列番号 138-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-hh-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-hh-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-hbh-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-hbh-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-hbhbh-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-配列番号 139-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-rbhbh-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-配列番号 140-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH
Ac-hbrbh-Dap(シクロ[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-b-OH	Ac-配列番号 141-Dap(シクロ[配列番号 136])-b-OH

【表２７－２】

Ac-KKKK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 7-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 Z80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KGKK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 13-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 Z80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KKGK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 14-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 Z80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KKK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KKK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KGK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KGK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KBK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KBK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KBKBK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 24-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KR-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KR-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KBR-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KBR-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 42-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 42-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PGKKRKV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 43-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKGKRKV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 44-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKGRKV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 45-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKGKV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 46-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRGV-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 47-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKG-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 48-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2

【表２７－３】

Ac-KKKRK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-配列番号 19-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2
Ac-KKRK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2、及び	Ac-配列番号 8-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2、及び
Ac-KRK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[FfΦGrGrQ])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2	Ac-KRK-ミニ PEG_2-Lys(シクロ[配列番号 80])-ミニ PEG_2-K(N_3)-NH_2

【０３８１】

ＥＥＶは、

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－Ｌｙｓ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４２－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号８０］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号８２］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＫＲ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－ＫＲ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＧＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４６－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＧ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４８－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＫＫＫＲＫ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号１９－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＦΦＧＲＧＲＱ］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号８０］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［βｈＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号１４２］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦｆΦＳｒＳｒＱ］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号１４３］）－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）から選択することができる。

【０３８２】

ＥＥＶは、

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ（ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ（配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＫＲＫＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号１４４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＲＧＲＧＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号１４５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号１４６］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＧＲｒＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号１４７］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）、及び

Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号４２－ミニＰＥＧ$_2$－Ｌｙｓ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）から選択することができる。

【０３８３】

ＥＥＶは、

Ａｃ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－Ｇ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号１４８－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号１９－ミニＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号２２－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号２１－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

（Ａｃ－配列番号２３－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号２０－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）、及び
Ａｃ－Ｋ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｋ－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１９－ＰＥＧ$_4$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）から選択することができる。

【０３８４】

ＥＥＶは、
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（Ｎ$_3$）－ＮＨ$_2$）、及び
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）から選択することができる。

【０３８５】

カーゴは、ＡＣとすることができ、ＥＥＶは、
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号４２－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦ－ＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｒｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｈｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）

Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－ｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－Ｏ
Ｈ）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｒｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１３８－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－Ｏ
Ｈ）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_{2}$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ

）
Ａｃ－ｒｂｈｂｒ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４９－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８０］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆΦＣｉｔ－ｒ－Ｃｉｔ－ｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号７９］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦｆＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８１］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８２］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号１３３］）－ＰＥＧ$_{12}$－Ｏ
Ｈ）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＧＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８４］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）
Ａｃ－ｈｂｒｂｈ－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［ＦＧＦＲＲＲＲＱ］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
（Ａｃ－配列番号１４１－ＰＥＧ$_2$－Ｋ（シクロ［配列番号８５］）－ＰＥＧ$_{12}$－ＯＨ
）から選択することができ、
式中、ｂが、ベーターアラニンであり、環外配列が、Ｄ立体化学又はＬ立体化学とすることができる。

【０３８６】

カーゴ

環状細胞膜透過性ペプチド（例えば、ｃＣＰＰ）などの細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）は、カーゴにコンジュゲートすることができる。本明細書で使用される場合、「カーゴ」とは、細胞への送達が所望される化合物又は部分である。カーゴは、リンカーの末端カルボニル基にコンジュゲートすることができる。環状ペプチドの少なくとも１つの原子をカーゴによって置き換えることができるか、又は少なくとも１つの孤立対がカーゴへの結合を形成することができる。カーゴは、リンカーによってｃＣＰＰにコンジュゲートすることができる。カーゴは、リンカーによってＡＡ$_{sc}$にコンジュゲートすることができる。ｃＣＰＰの少なくとも１つの原子をカーゴによって置き換えることができるか、又はｃＣＰＰの少なくとも１つの孤立対がカーゴへの結合を形成する。ｃＣＰＰのアミノ酸側鎖上のヒドロキシル基をカーゴへの結合によって置換することができる。ｃＣＰＰのグルタミン側鎖上のヒドロキシル基をカーゴへの結合によって置換することができる。カーゴは、リンカーによってｃＣＰＰにコンジュゲートすることができる。カーゴは、リンカーによってＡＡ$_{sc}$にコンジュゲートすることができる。

【０３８７】

複数の実施形態では、アミノ酸側鎖は、リンカー又はカーゴがコンジュゲートされる化学反応性基を含む。化学反応性基は、アミン基、カルボン酸、アミド、ヒドロキシル基、スルフヒドリル基、グアニジニル基、フェノール基、チオエーテル基、イミダゾリル基、又はインドリル基を含むことができる。複数の実施形態では、カーゴがコンジュゲートされるｃＣＰＰのアミノ酸は、リジン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、ホモグルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、

アルギニン、チロシン、メチオニン、ヒスチジン、又はトリプトファンを含む。

【０３８８】

カーゴは、１つ以上の検出可能な部分、１つ以上の治療部分（ＴＭ）、１つ以上の標的部分、又はそれらの任意の組み合わせを含むことができる。複数の実施形態では、カーゴは、ＴＭを含む。複数の実施形態では、カーゴは、ＡＣを含む。

【０３８９】

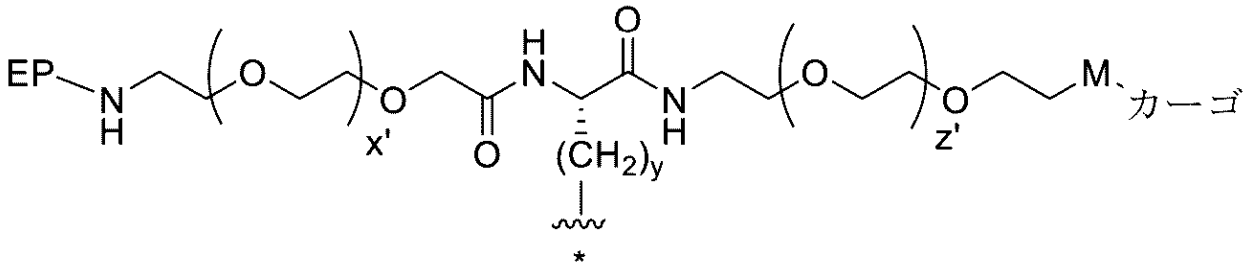
カーゴ部分にコンジュゲートされた環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）

環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）は、カーゴ部分にコンジュゲートすることができる。

【０３９０】

カーゴ部分が末端カルボニル基でリンカーにコンジュゲートされて、以下の構造：

【化１３６】



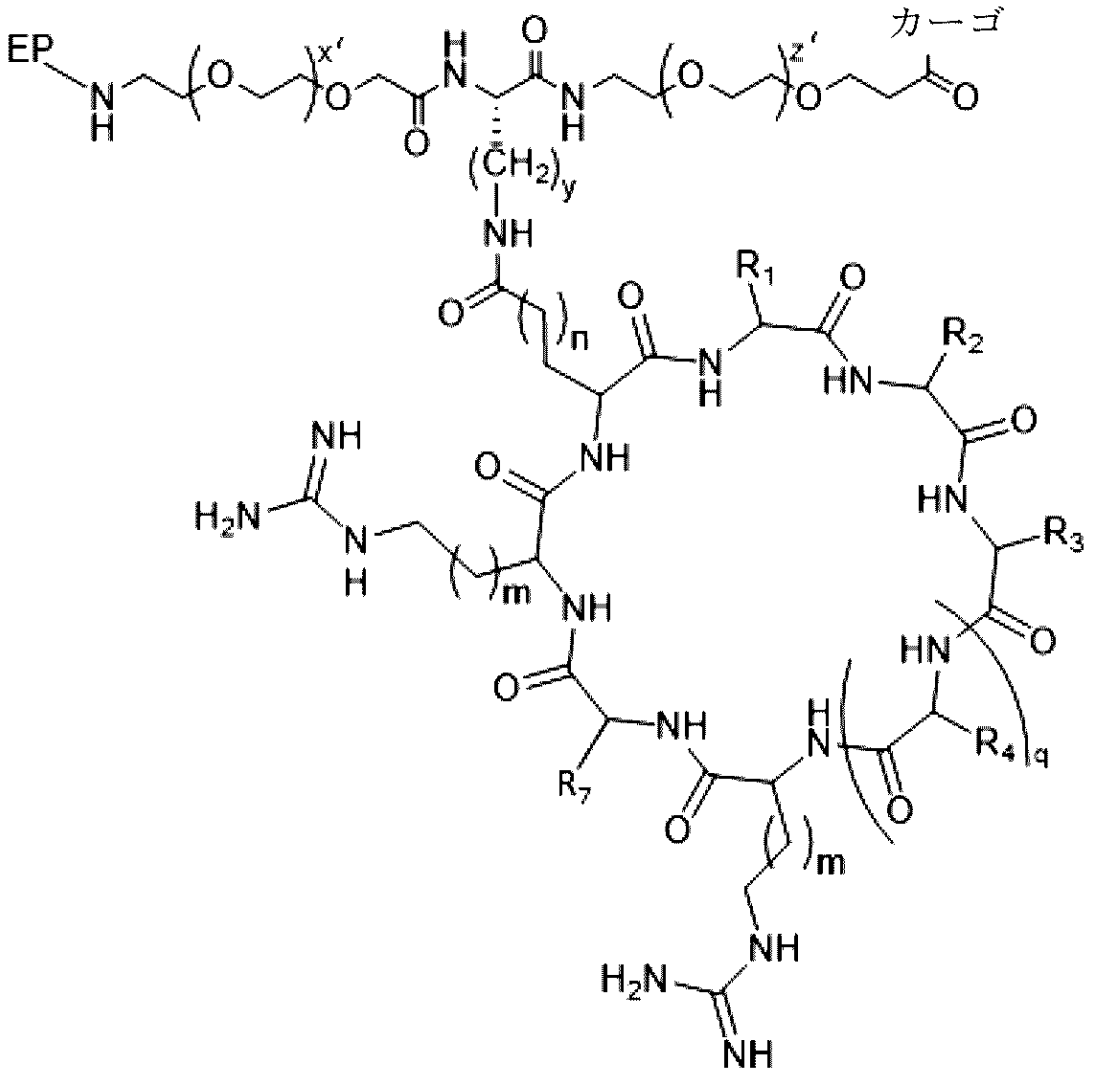
を提供することができ、式中、

ＥＰが、環外ペプチドであり、Ｍ、ＡＡｓｃ、カーゴ、ｘ’、ｙ、及びｚ’が、上記に定義されるとおりであり、＊が、ＡＡｓｃ．への結合点である。ｘ’は、１とすることができる。ｙは、４とすることができる。ｚ’は、１１とすることができる。－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ－$_2$）$_x$’－及び／又は－（ＯＣＨ$_2$ＣＨ－$_2$）$_z$’－は独立して、例えば、グリシン、ベーター－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペンタン酸、６－アミノヘキサン酸、又はそれらの組み合わせを含む、１つ以上のアミノ酸で置き換えることができる。

【０３９１】

エンドソームエスケープビヒクル（ＥＥＶ）は、環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）、環外ペプチド（ＥＰ）、及びリンカーを含むことができ、カーゴにコンジュゲートされて、式（Ｃ）の構造：

【化１３７】



(C)

又はそのプロトン化形態を含むＥＥＶ－コンジュゲートを形成することができ、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基とすることができ、
R_4が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＥＰが、本明細書に定義される環外ペプチドであり、
カーゴが、本明細書に定義される部分であり、
ｍが各々独立して、０～３の整数であり、
ｎが、０～２の整数であり、
ｘ’が、２～２０の整数であり、
ｙが、１～５の整数であり、
ｑが、１～４の整数であり、
ｚ’が、２～２０の整数である。

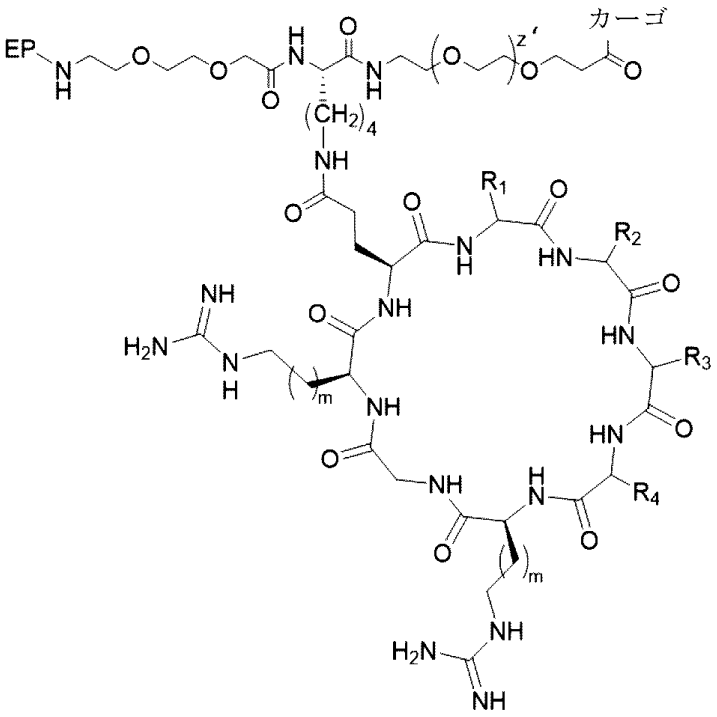
【０３９２】

R_1、R_2、R_3、R_4、ＥＰ、カーゴ、ｍ、ｎ、ｘ’、ｙ、ｑ、及びｚ’が、本明細書に定義されるとおりである。

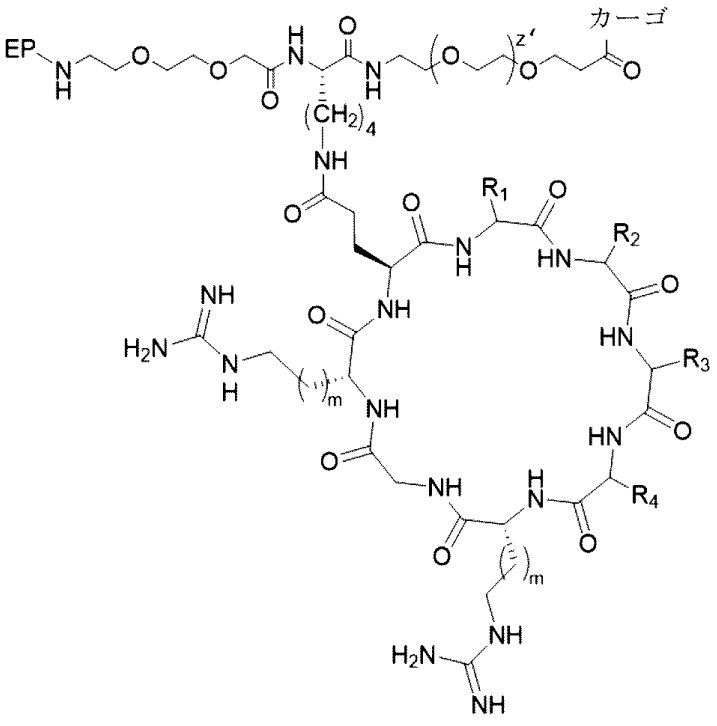
【０３９３】

ＥＥＶは、カーゴにコンジュゲートすることができ、ＥＥＶ－コンジュゲートは、式（

Ｃ－ａ）又は式（Ｃ－ｂ）の構造：
【化１３８】



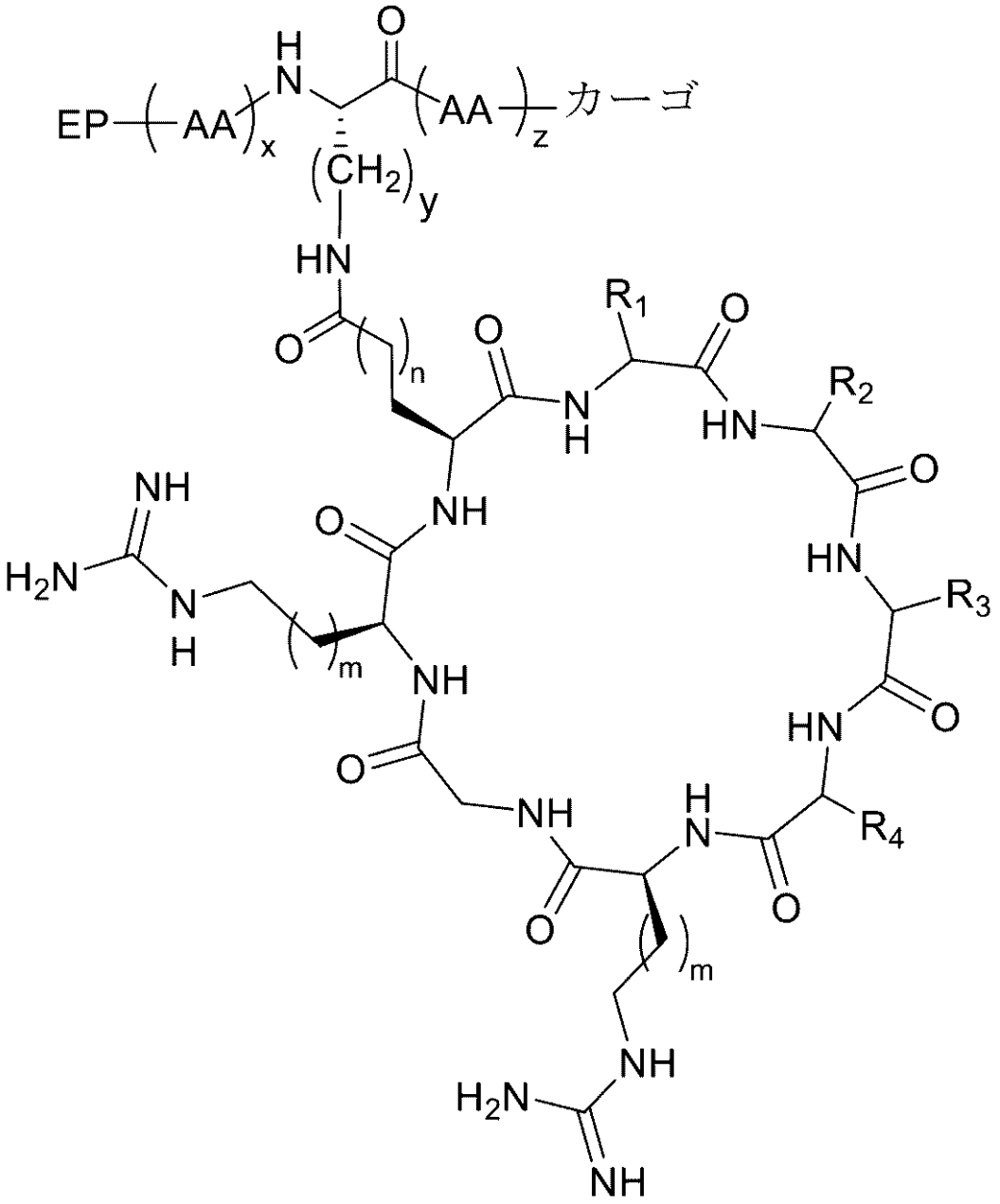
（Ｃ－ａ）、



（Ｃ－ｂ）、

又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＥＰ、ｍ、及びｚが、上記の式（Ｃ）に定義されるとおりである。
【０３９４】
ＥＥＶは、カーゴにコンジュゲートすることができ、ＥＥＶ－コンジュゲートは、式（Ｃ－ｃ）の構造：

【化１３９】



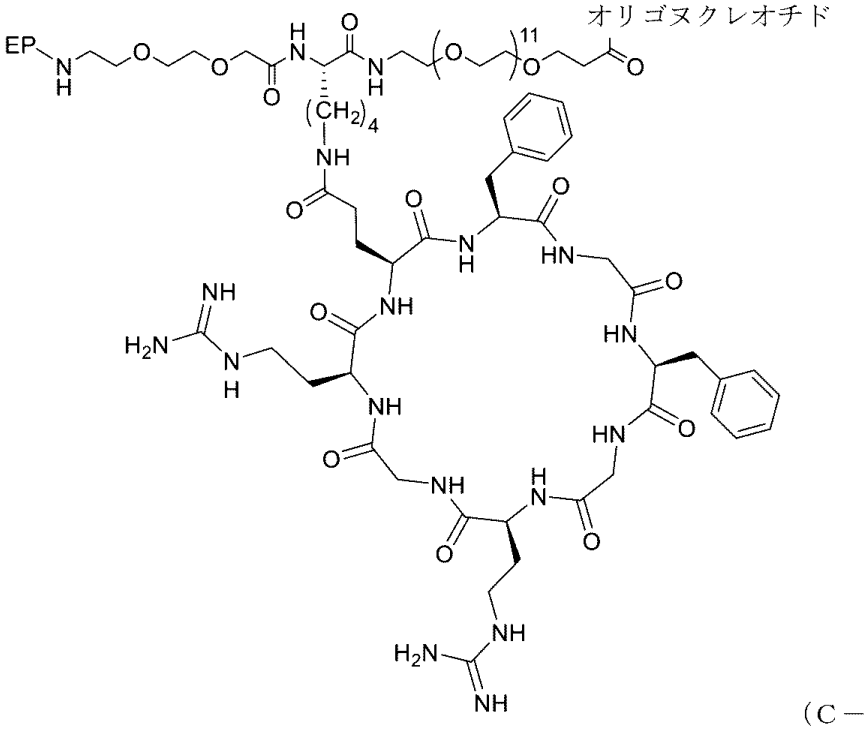
（Ｃ－ｃ）

、
又はそのプロトン化形態を含むことができ、式中、ＥＰ、Ｒ[1]、Ｒ[2]、Ｒ[3]、Ｒ[4]、及びｍが、上記の式（ＩＩＩ）に定義されるとおりであり、ＡＡが、本明細書に定義されるアミノ酸とすることができ、ｎが、０～２の整数とすることができ、ｘが、１～１０の整数とすることができ、ｙが、１～５の整数とすることができ、ｚが、１～１０の整数とすることができる。

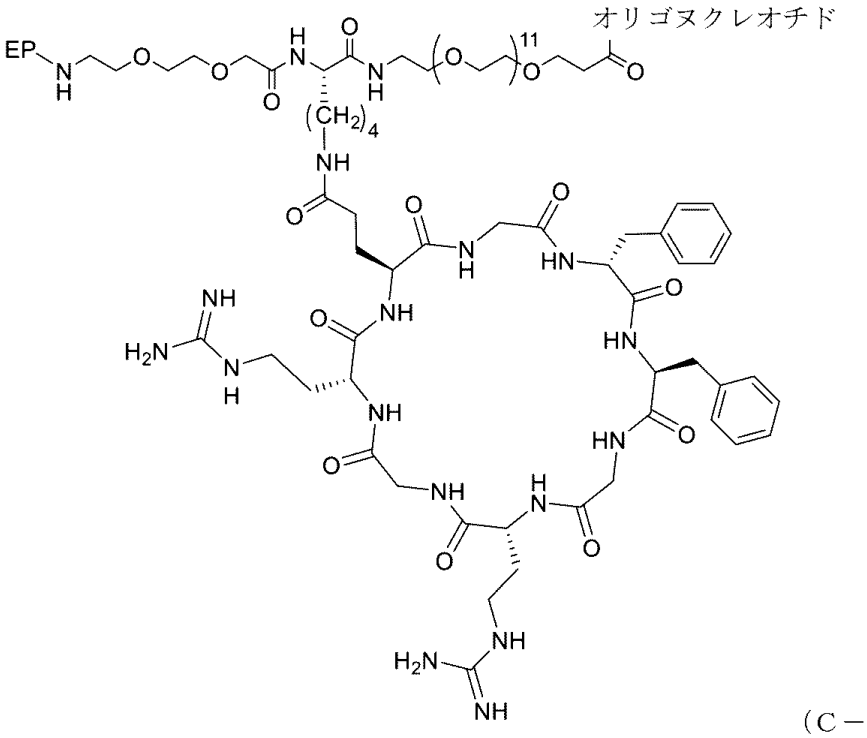
【０３９５】

ＥＥＶは、オリゴヌクレオチドカーゴにコンジュゲートすることができ、ＥＥＶ－オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式（Ｃ－１）、式（Ｃ－２）、式（Ｃ－３）、又は式（Ｃ－４）の構造を含むことができる。

【化１４０－１】

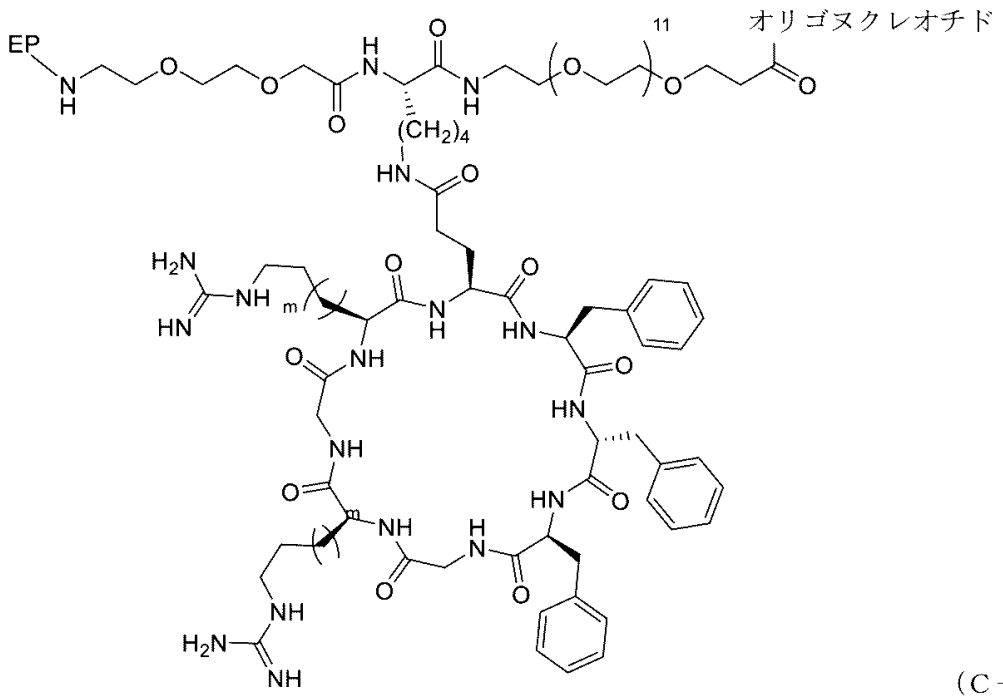


（Ｃ－１）、

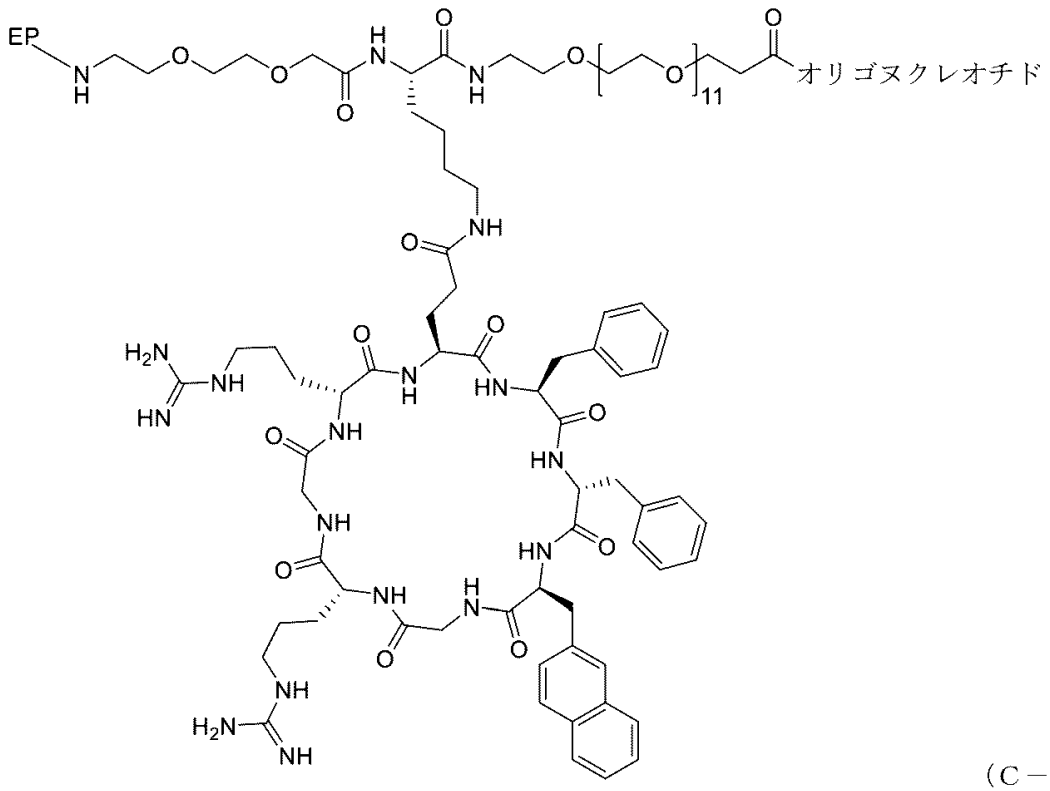


（Ｃ－２）、

【化１４０－２】



（Ｃ－３）、

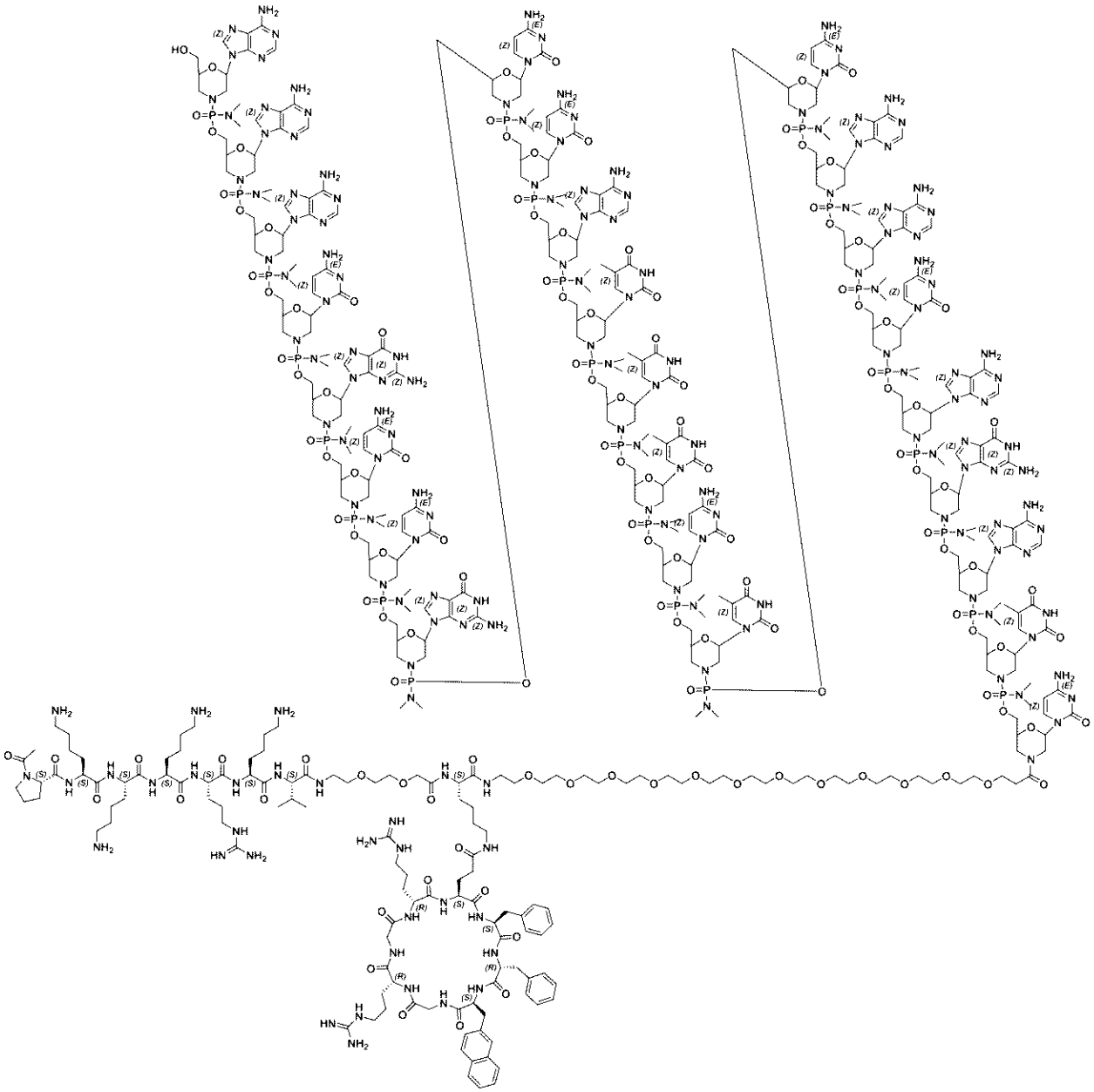


（Ｃ－４）

【０３９６】

ＥＥＶは、オリゴヌクレオチドカーゴにコンジュゲートすることができ、ＥＥＶ－コンジュゲートは、以下の構造を含むことができる。

【化１４１】



。

【０３９７】

細胞質送達効率

環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）に対する修飾により、細胞質送達効率が改善され得る。細胞質取り込み効率の改善は、修飾配列を有するｃＣＰＰの細胞質送達効率を対照配列と比較することによって測定することができる。対照配列は、修飾配列中に特定の置換アミノ酸残基（アルギニン、フェニルアラニン、及び／又はグリシンを含むが、これらに限定されない）を含まない以外は同一である。

【０３９８】

本明細書で使用される場合、細胞質送達効率とは、細胞膜を横断して細胞の細胞質に入るｃＣＰＰの能力を指す。ｃＣＰＰの細胞質送達効率は、必ずしも受容体又は細胞型に依存しない。細胞質送達効率は、絶対細胞質送達効率又は相対細胞質送達効率を指すことができる。

【０３９９】

絶対細胞質送達効率は、成長培地中のｃＣＰＰ（又はｃＣＰＰ－カーゴコンジュゲート

）の濃度に対するｃＣＰＰ（又はｃＣＰＰ－カーゴコンジュゲート）の細胞質濃度の比率である。相対細胞質送達効率とは、サイトゾル中の対照ｃＣＰＰの濃度と比較したサイトゾル中のｃＣＰＰの濃度を指す。定量は、ｃＣＰＰを蛍光標識し（例えば、ＦＩＴＣ染料で）、かつ当該技術分野で周知の技法を使用して蛍光強度を測定することによって達成することができる。

【０４００】

相対細胞質送達効率は、（ｉ）細胞型（例えば、ＨｅＬａ細胞）によって内部移行された本発明のｃＣＰＰの量を、（ｉｉ）同じ細胞型によって内部移行された対照ｃＣＰＰの量と比較することによって決定される。相対細胞質送達効率を測定するために、細胞型をｃＣＰＰの存在下で特定の期間（例えば、３０分間、１時間、２時間など）インキュベートしてもよく、その後、その細胞によって内部移行されたｃＣＰＰの量を、当該技術分野で既知の方法、例えば、蛍光顕微鏡法を使用して定量する。別個に、同じ濃度の対照ｃＣＰＰを、同じ期間にわたってその細胞型の存在下でインキュベートし、その細胞によって内部移行された対照ｃＣＰＰの量を定量する。

【０４０１】

相対細胞質送達効率は、細胞内標的に対する修飾配列を有するｃＣＰＰのＩＣ$_{50}$を測定し、かつ修飾配列を有するｃＣＰＰのＩＣ$_{50}$を対照配列と比較することによって決定することができる（本明細書に記載される）。

【０４０２】

ｃＣＰＰの相対細胞質送達効率は、シクロ（ＦｆΦＲｒＲｒＱ、配列番号１５０）と比較して、約５０％～約４５０％の範囲、例えば、それらの間の全ての値及び部分範囲を含む、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約１００％、約１１０％、約１２０％、約１３０％、約１４０％、約１５０％、約１６０％、約１７０％、約１８０％、約１９０％、約２００％、約２１０％、約２２０％、約２３０％、約２４０％、約２５０％、約２６０％、約２７０％、約２８０％、約２９０％、約３００％、約３１０％、約３２０％、約３３０％、約３４０％、約３５０％、約３６０％、約３７０％、約３８０％、約３９０％、約４００％、約４１０％、約４２０％、約４３０％、約４４０％、約４５０％、約４６０％、約４７０％、約４８０％、約４９０％、約５００％、約５１０％、約５２０％、約５３０％、約５４０％、約５５０％、約５６０％、約５７０％、約５８０％、又は約５９０％とすることができる。ｃＣＰＰの相対細胞質送達効率は、シクロ（ＦｆΦＲｒＲｒＱ、配列番号１５０）を含む環状ペプチドと比較して、約６００％超改善することができる。

【０４０３】

約４０％～約１００％、例えば、それらの間の全ての値及び部分範囲を含む、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％の絶対細胞質送達有効性。

【０４０４】

本開示のｃＣＰＰは、他の点では同一の配列と比較して、細胞質送達効率を約１．１倍～約３０倍、例えば、それらの間の全ての値及び部分範囲を含む、約１．２、約１．３、約１．４、約１．５、約１．６、約１．７、約１．８、約１．９、約２．０、約２．５、約３．０、約３．５、約４．０、約４．５、約５．０、約５．５、約６．０、約６．５、約７．０、約７．５、約８．０、約８．５、約９．０、約１０、約１０．５、約１１．０、約１１．５、約１２．０、約１２．５、約１３．０、約１３．５、約１４．０、約１４．５、約１５．０、約１５．５、約１６．０、約１６．５、約１７．０、約１７．５、約１８．０、約１８．５、約１９．０、約１９．５、約２０、約２０．５、約２１．０、約２１．５、約２２．０、約２２．５、約２３．０、約２３．５、約２４．０、約２４．５、約２５．０、約２５．５、約２６．０、約２６．５、約２７．０、約２７．５、約２８．０、約２８．５、約２９．０、又は約２９．５倍改善することができる。

【０４０５】

検出可能な部分
複数の実施形態では、本明細書に開示される化合物は、検出可能な部分を含む。複数の実施形態では、検出可能な部分は、細胞膜透過性ペプチド部分のアミノ酸のうちのいずれかのアミノ基、カルボキシレート基、又は側鎖（例えば、ＣＰＰ中のいずれかのアミノ酸のアミノ基、カルボキシレート基、又は側鎖）で細胞膜透過性ペプチドに結合している。複数の実施形態では、治療部分は、検出可能な部分を含む。検出可能な部分は、任意の検出可能な標識を含むことができる。好適な検出可能な標識の例としては、ＵＶ－Ｖｉｓ標識、近赤外標識、発光基、蛍光基、磁気スピン共鳴標識、光増感剤、光切断可能な部分、キレート化中心、重原子、放射性同位体、同位体検出可能なスピン共鳴標識、常磁性部分、発色団、又はそれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、標識は、更なる試薬を添加することなく検出可能である。

【０４０６】
複数の実施形態では、検出可能な部分は、化合物が様々な生物学的用途での使用に好適であり得るように、生体適合性の検出可能な部分である。本明細書で使用される「生体適合性」及び「生物学的に適合性の」とは、一般に、任意の代謝物又はその分解産物とともに、細胞及び組織に概ね非毒性であり、かつ細胞及び組織がそれらの存在下でインキュベート（例えば、培養）されたときに細胞及び組織にいかなる有意な有害作用も引き起こさない化合物を指す。

【０４０７】
検出可能な部分は、蛍光標識又は近赤外線標識などの発光団を含むことができる。好適な発光団の例としては、金属ポルフィリン；ベンゾポルフィリン；アザベンゾポルフィリン；ナプトポルフィリン；フタロシアニン；多環式芳香族炭化水素、例えば、ペリレンジイミン、ピレン；アゾ染料；キサンテン染料；ボロンジピオロメテン；アザ－ボロンジピオロメテン、シアニン染料、金属－リガンド錯体、例えば、ビピリジン、ビピリジル、フェナントロリン、クマリン、並びにルテニウムアセチルアセトネート及びイリジウムアセチルアセトネート；アクリジン、オキサジン誘導体、例えば、ベンゾフェノキサジン；アザ－アヌレン、スクアライン、８－ヒドロキシキノリン、ポリメチン、発光生成ナノ粒子、例えば、量子ドット、ナノ結晶；カルボスチリル；テルビウム錯体：無機リン；イオノフォア、例えば、クラウンエーテル関連染料若しくは誘導体化染料、又はそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。好適な発光団の具体例としては、Ｐｄ（ＩＩ）オクタエチルポルフィリン；Ｐｔ（ＩＩ）－オクタエチルポルフィリン；Ｐｄ（ＩＩ）テトラフェニルポルフィリン；Ｐｔ（ＩＩ）テトラフェニルポルフィリン；Ｐｄ（ＩＩ）メソ－テトラフェニルポルフィリン　テトラベンゾポルフィン；Ｐｔ（ＩＩ）メソ－テトラフェニルメチルベンゾポルフィリン；Ｐｄ（ＩＩ）オクタエチルポルフィリンケトン；Ｐｔ（ＩＩ）オクタエチルポルフィリンケトン；Ｐｄ（ＩＩ）メソ－テトラ（ペンタフルオロフェニル）ポルフィリン；Ｐｔ（ＩＩ）メソ－テトラ（ペンタフルオロフェニル）ポルフィリン；Ｒｕ（ＩＩ）トリス（４，７－ジフェニル－１，１０－フェナントロリン）（$Ru(dpp)_3$）；Ｒｕ（ＩＩ）トリス（１，１０－フェナントロリン）（$Ru(phen)_3$）、トリス（２，２’－ビピリジン）塩化ルテニウム（ＩＩ）六水和物（$Ru(bpy)_3$）；エリスロシンＢ；フルオレセイン；フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）；エオシン；イリジウム（ＩＩＩ）（（Ｎ－メチル－ベンズイミダゾール－２－イル）－７－（ジエチルアミノ）－クマリン））；ＸＸＸベンゾチアゾール）（（ベンゾチアゾール－２－イル）－７－（ジエチルアミノ）－クマリン））－２－（アセチルアセトネート）；Ｌｕｍｏｇｅｎ染料；Ｍａｃｒｏｆｌｅｘ蛍光レッド；Ｍａｃｒｏｌｅｘ蛍光イエロー；テキサスレッド；ローダミンＢ；ローダミン６Ｇ；硫黄ローダミン；ｍ－クレゾール；チモールブルー；キシレノールブルー；クレゾールレッド；クロロフェノールブルー；ブロモクレゾールグリーン；ブロモクレゾールレッド；ブロモチモールブルー；Ｃｙ２；Ｃｙ３；Ｃｙ５；Ｃｙ５．５；Ｃｙ７；４－ニトロフェノール；アリザリン；フェノールフタレイン；ｏ－クレゾールフタレイン；クロロフェノールレッド；カルマガイト；ブロモ－キシレノール；フェノールレッド；ニュートラルレッド；ニトラジン

；３，４，５，６－テトラブロモフェノールフタレイン；コンゴーレッド；フルオロ’ス’イン（ｆｌｕｏｒ’ｓｃ’ｉｎ）；エオシン；２’，７’－ジクロロフルオレセイン；５（６）－カルボキシ－フルオレセイン；カルボキシナフトフルオレセイン；８－ヒドロキシピレン－１，３，６－トリスルホン酸；セミ－ナフトローダフルオル；セミ－ナフトフルオレセイン；トリス（４，７－ジフェニル－１，１０－フェナントロリン）二塩化ルテニウム（ＩＩ）；（４，７－ジフェニル－１，１０－フェナントロリン）ルテニウム（ＩＩ）テトラフェニルボロン；白金（ＩＩ）オクタエチルポルフィリン；ジアルキルカルボシアニン；ジオクタデシルシクロキサカルボシアニン；塩化フルオレニルメチルオキシカルボニル；７－アミノ－４－メチルクマリン（Ａｍｃ）；緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）；及びそれらの誘導体又は組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４０８】

いくつかの実施例では、検出可能な部分は、ローダミンＢ（Ｒｈｏ）、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、７－アミノ－４－メチルクマリン（Ａｍｃ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、又はそれらの誘導体若しくは組み合わせを含むことができる。

【０４０９】

作製方法

本明細書に記載の化合物は、当業者に既知の様々な有機合成法で又は当業者によって理解されるそれに加えられる変化により調製することができる。本明細書に記載の化合物は、容易に入手可能な出発材料から調製することができる。最適反応条件は、使用される特定の反応物質又は溶媒によって異なり得るが、かかる条件は、当業者によって決定され得る。

【０４１０】

本明細書に記載の化合物に加えられる変化には、各々の化合物について記載の様々な構成成分の付加、差引き、又は移動が含まれる。同様に、１つ以上のキラル中心が分子中に存在する場合、その分子のキラリティを変化させることができる。更に、化合物の合成は、様々な化学基の保護及び脱保護を伴い得る。保護及び脱保護の使用、並びに適切な保護基の選択は、当業者によって決定され得る。保護基の化学は、例えば、参照により全体が本明細書に組み込まれる、Ｗｕｔｓ ａｎｄ Ｇｒｅｅｎｅ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，４ｔｈ Ｅｄ．，Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，２００６で見つけることができる。

【０４１１】

開示される化合物及び組成物の調製に使用される出発材料及び試薬は、Ａｌｄｒｉｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．，（Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ，ＷＩ）、Ａｃｒｏｓ Ｏｒｇａｎｉｃｓ（Ｍｏｒｒｉｓ Ｐｌａｉｎｓ，ＮＪ）、Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ，ＰＡ）、Ｓｉｇｍａ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）、Ｐｆｉｚｅｒ（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ）、ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ（Ｒａｌｅｉｇｈ，ＮＣ）、Ｍｅｒｃｋ（Ｗｈｉｔｅｈｏｕｓｅ Ｓｔａｔｉｏｎ，ＮＪ）、Ｊｏｈｎｓｏｎ ＆ Ｊｏｈｎｓｏｎ（Ｎｅｗ Ｂｒｕｎｓｗｉｃｋ，ＮＪ）、Ａｖｅｎｔｉｓ（Ｂｒｉｄｇｅｗａｔｅｒ，ＮＪ）、ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ，ＤＥ）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ（Ｂａｓｅｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）、Ｗｙｅｔｈ（Ｍａｄｉｓｏｎ，ＮＪ）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ－Ｓｑｕｉｂｂ（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ）、Ｒｏｃｈｅ（Ｂａｓｅｌ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）、Ｌｉｌｌｙ（Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）、Ａｂｂｏｔｔ（Ａｂｂｏｔｔ Ｐａｒｋ，ＩＬ）、Ｓｃｈｅｒｉｎｇ Ｐｌｏｕｇｈ（Ｋｅｎｉｌｗｏｒｔｈ，ＮＪ）、若しくはＢｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ（Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ，Ｇｅｒｍａｎｙ）などの商業的供給業者から入手可能であるか、又はＦｉｅｓｅｒ ａｎｄ Ｆｉｅｓｅｒ’ｓ Ｒｅａｇｅｎｔｓ ｆｏｒ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｖｏｌｕｍｅｓ １－１７（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，１９９１）、Ｒｏｄｄ’ｓ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｃａｒｂｏｎ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ，Ｖｏｌｕｍｅｓ １－５ ａｎｄ Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔａｌｓ（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，１９８９）、Ｏｒｇａｎｉ

ｃ Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，Ｖｏｌｕｍｅｓ １－４０（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，１９９１）、Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，（Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，４ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ）、及びＬａｒｏｃｋ’ｓ Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ（ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ Ｉｎｃ．，１９８９）などの参考文献に記載の手順に従う当業者に既知の方法によって調製されるかのいずれかである。本明細書に開示される医薬担体などの他の材料は、商業的供給源から入手することができる。

【０４１２】

本明細書に記載の化合物を生成するための反応は、有機合成分野の当業者によって選択され得る溶媒中で行うことができる。溶媒は、反応が行われる条件下、すなわち、温度及び圧力下で、出発材料（反応物質）、中間体、又は生成物と実質的に非反応性とすることができる。反応は、１つの溶媒又は２つ以上の溶媒の混合物中で行うことができる。生成物又は中間体の形成は、当該技術分野で既知の任意の好適な方法に従って監視することができる。例えば、生成物の形成は、核磁気共鳴分光法（例えば、^{1}Ｈ若しくは^{13}Ｃ）、赤外分光法、分光光度法（例えば、ＵＶ可視）、若しくは質量分析などの分光法手段によって、又は高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）若しくは薄層クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーによって監視することができる。

【０４１３】

開示される化合物は、固相ペプチド合成によって調製することができ、ここで、アミノ酸α－Ｎ末端が酸又は塩基保護基によって保護されている。かかる保護基は、ペプチド結合形成の条件に対して安定である一方で、その中に含まれるキラル中心のうちのいずれかの成長ペプチド鎖又はラセミ化を破壊することなく容易に除去可能である特性を有するべきである。好適な保護基は、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）、ｔ－ブチルオキシカルボニル（Ｂｏｃ）、ベンジルオキシカルボニル（Ｃｂｚ）、ビフェニルイソプロピルオキシカルボニル、ｔ－アミルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、α，α－ジメチル－３，５－ジメトキシベンジルオキシカルボニル、ｏ－ニトロフェニルスルフェニル、２－シアノ－ｔ－ブチルオキシカルボニルなどである。９－フルオレニルメチルオキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）保護基は、開示される化合物の合成に特に好ましい。他の好ましい側鎖保護基は、リジン及びアルギニンなどの側鎖アミノ基の場合、２，２，５，７，８－ペンタメチルクロマン－６－スルホニル（ｐｍｃ）、ニトロ、ｐ－トルエンスルホニル、４－メトキシベンゼン－スルホニル、Ｃｂｚ、Ｂｏｃ 及びアダマンチルオキシカルボニルであり、チロシンの場合、ベンジル、ｏ－ブロモベンジルオキシ－カルボニル、２，６－ジクロロベンジル、イソプロピル、ｔ－ブチル（ｔ－Ｂｕ）、シクロヘキシル、シクロペニル、及びアセチル（Ａｃ）であり、セリンの場合、ｔ－ブチル、ベンジル、及びテトラヒドロピラニルであり、ヒスチジンの場合、トリチル、ベンジル、Ｃｂｚ、ｐ－トルエンスルホニル、及び２，４－ジニトロフェニルであり、トリプトファンの場合、ホルミルであり、アスパラギン酸及びグルタミン酸の場合、ベンジル及びｔ－ブチルであり、システインの場合、トリフェニルメチル（トリチル）である。

【０４１４】

固相ペプチド合成法では、α－Ｃ末端アミノ酸は、好適な固体支持体又は樹脂に結合している。上記の合成に有用な好適な固体支持体は、段階的縮合脱保護反応の試薬及び反応条件に不活性であり、かつ使用される培地中で不溶性でもある材料である。α－Ｃ末端カルボキシペプチドの合成用の固体支持体は、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ，Ｃａｌｉｆ．）から入手可能な４－ヒドロキシメチルフェノキシメチル－コポリ（スチレン－１％ジビニルベンゼン）又は４－（２’，４’－ジメトキシフェニル－Ｆｍｏｃ－アミノメチル）フェノキシアセトアミドエチル樹脂である。α－Ｃ末端アミノ酸は、ジクロロメタン又はＤＭＦなどの溶媒中での１０℃～５０℃の温度で約１～約２４時間の４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）、１－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢＴ）、ベンゾトリアゾール－１－イルオキシ－トリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＢＯＰ）、又はビス（２－オキソ－３－オキ

サゾリジニル）ホスフィンクロリド（ＢＯＰＣｌ）媒介カップリングを用いて又は用いることなく、Ｎ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）、Ｎ，Ｎ’－ジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＣ）、又はＯ－ベンゾトリアゾール－１－イル－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＢＴＵ）によって樹脂にカップリングされる。固体支持体が４－（２’，４’－ジメトキシフェニル－Ｆｍｏｃ－アミノメチル）フェノキシ－アセトアミドエチル樹脂である場合、Ｆｍｏｃ基は、上述のα－Ｃ末端アミノ酸にカップリングする前に、二級アミン、好ましくはピペリジンで切断される。脱保護された４（２’，４’－ジメトキシフェニル－Ｆｍｏｃ－アミノメチル）フェノキシ－アセトアミドエチル樹脂にカップリングするための１つの方法は、ＤＭＦ中Ｏ－ベンゾトリアゾール－１－イル－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＢＴＵ、１当量）及び１－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢＴ、１当量）である。連続して保護されたアミノ酸のカップリングは、自動ポリペプチド合成装置で行うことができる。一例では、成長ペプチド鎖のアミノ酸中のα－Ｎ末端は、Ｆｍｏｃで保護されている。成長ペプチドのα－Ｎ末端側からのＦｍｏｃ保護基の除去は、二級アミン、好ましくはピペリジンでの処理によって達成される。その後、保護されたアミノ酸が各々約３倍モル過剰で導入され、カップリングは、好ましくは、ＤＭＦ中で行われる。カップリング剤は、Ｏ－ベンゾトリアゾール－１－イル－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＢＴＵ、１当量）及び１－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢＴ、１当量）とすることができる。固相合成の終了時に、ポリペプチドが樹脂から除去され、連続して又は単一操作のいずれかで脱保護される。ポリペプチドの除去及び脱保護は、チアニソール、水、エタンジチオール、及びトリフルオロ酢酸を含む切断試薬で樹脂結合ポリペプチドを処理することによって、単一操作で達成することができる。ポリペプチドのα－Ｃ末端がアルキルアミドである場合、樹脂は、アルキルアミンでのアミノ分解によって切断される。あるいは、ペプチドは、トランスエステル化によって、例えば、メタノールでによって除去することができ、その後、アミノリシス又は直接トランスアミド化が続く。保護されたペプチドをこの時点で精製することができるか、又は直接次のステップに進めることができる。側鎖保護基の除去は、上述の切断カクテルを使用して達成することができる。完全脱保護ペプチドは、以下のタイプ：弱塩基性樹脂（酢酸塩形態）でのイオン交換、未分化ポリスチレン－ジビニルベンゼン（例えば、Ａｍｂｅｒｌｉｔｅ　ＸＡＤ）での疎水性吸着クロマトグラフィー、シリカゲル吸着クロマトグラフィー、カルボキシメチルセルロースでのイオン交換クロマトグラフィー、分配クロマトグラフィー、例えば、Ｓｅｐｈａｄｅｘ　Ｇ－２５、ＬＨ－２０、又は対電流分布での分配クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、特に、オクチル－シリカ又はオクタデシルシリル－シリカ結合相カラム充填での逆相ＨＰＬＣのうちのいずれか又は全てを用いた一連のクロマトグラフィーステップによって精製することができる。

【０４１５】

ＰＥＧ基などの上記のポリマーは、任意の好適な条件下で、ＡＣなどのオリゴヌクレオチドに結合することができる。アシル化、還元的アルキル化、マイケル付加、チオールアルキル化、又はＰＥＧ部分上の反応性基（例えば、アルデヒド、アミノ、エステル、チオール、α－ハロアセチル、マレイミド、若しくはヒドラジノ基）を介したＡＣ上の反応性基（例えば、アルデヒド、アミノ、エステル、チオール、α－ハロアセチル、マレイミド、若しくはヒドラジノ基）への他の化学選択的コンジュゲーション／ライゲーション法を含む、当該技術分野で既知の任意の手段を使用することができる。水溶性ポリマーを１つ以上のタンパク質に連結するために使用することができる活性化基としては、スルホン、マレイミド、スルフヒドリル、チオール、トリフラート、トレシレート、アジジリン、オキシラン、５－ピリジル、及びアルファ－ハロゲン化アシル基（例えば、α－ヨード酢酸、α－ブロモ酢酸、α－クロロ酢酸）が挙げられるが、これらに限定されない。還元的アルキル化によってＡＣに結合している場合、選択されたポリマーは、重合の程度が制御されるように、単一の反応性アルデヒドを有するべきである。例えば、Ｋｉｎｓｔｌｅｒ

ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ．Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖ．（２００２），５４：４７７－４８５、Ｒｏｂｅｒｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖ．（２００２），５４：４５９－４７６、及びＺａｌｉｐｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｒｅｖ．（１９９５），１６：１５７－１８２を参照されたい。

【０４１６】

ＡＣ又はリンカーのＣＰＰへの共有結合を指示するために、ＣＰＰの適切なアミノ酸残基を、アミノ酸の選択された側鎖又はＮ末端若しくはＣ末端と反応することができる有機誘導体化剤と反応させてもよい。ペプチド又はコンジュゲート部分上の反応性基としては、例えば、アルデヒド、アミノ、エステル、チオール、α－ハロアセチル、マレイミド、又はヒドラジノ基が挙げられる。誘導体化剤としては、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を介したコンジュゲーション）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を介したもの）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、又は当該技術分野で既知の他の薬剤が挙げられる。

【０４１７】

ＡＣを作製する方法及びＡＣを直鎖状ＣＰＰにコンジュゲートする方法は、概して、全ての目的のために参照により本明細書に組み込まれる、米国公開 第２０１８／０２９８３８３号に記載されている。これらの方法は、本明細書に開示される環状ＣＰＰに適用され得る。

【０４１８】

合成スキームは、図３Ａ～３Ｄ及び図４に提供される。

【０４１９】

ＡＣへのコンジュゲーションに有用なＣＰＰ及び反応性基を含む化合物の非限定的な例は、表９に示されている。例示的なリンカー基も示されている。反応性基の例としては、テトラフルオロフェニルエステル（ＴＦＰ）、遊離カルボン酸（ＣＯＯＨ）、及びアジド（$Ｎ_{3}$）が挙げられる。表９中、ｎは、０～２０の整数であり、Ｐｉｐａ６は、ＡｃＲＸＲＲＢＲＲＸＲＹＱＦＬＩＲＸＲＢＲＸＲＢ（ここで、Ｂがβ－アラニンであり、Ｘがアミノヘキサン酸である）であり、Ｄａｐは、２，３－ジアミノプロピオン酸であり、ＮＬＳは、核局在化配列であり、βＡは、ベータアラニンであり、－ｓｓ－は、ジスルフィドであり、ＰＡＢＣは、ポリ（Ａ）結合タンパク質Ｃ末端ドメインであり、$Ｃ_{x}$（ここで、ｘが数である）は、長さｘのアルキル鎖であり、ＢＣＮは、ビシクロ［６．１．０］ノニンである。

【表９－１】

表９：ＣＰＰ及び反応性基を含む化合物

TFP-PEG_n-K(CPP)
TFP-PEG_n-K(CPP)-PEG_n-Dap(パルミトイル)
TFP-PEG_n-K(CPP)-PEG_n-Dap(CPP)
TFP-Pip6a
CPP-PEG_n-TFP
CPP-PEG_n-K(CPP)-PEG_n-TFP
CPP-PEG_n-Lys(N_3)
CPP-K(CPP)-PEG_n-K(N_3)
CPP-PEG_n-K(PEG_n-CPP)-PEG_n-K(N_3)
CPP-PEG_n-K(PEG_n-CPP)-PEG_n-K(N_3)
CPP-K(CPP)-K(CPP)-PEG_n-K(N_3)
CPP-PEG_n-K(PEG_n-CPP)-K(PEG_n-CPP)-PEG_n-K(N_3)
CPP-PEG_n-K(PEG_n-CPP)-K(PEG_n-CPP)-PEG_n-K(N_3)
Ac-NLS-Lys(CPP)-PEG_n-K(N_3)
K(N_3)-PEG_n-NLS-ss-PEG_n-CPP
BCN-NLS-ss-CPP
CPP-PEG_n-Val-Cit-PABC-K(N_3)
CPP-PEG_n-Cys-ss-Cys-K(N_3)
CPP-PEG_n-Cys-ss-Cys-K(N_3)
CPP-PEG_n-TFP
CPP-PEG_n-Lys(N_3)
CPP-PEG_n-Cys-プロジスルフィド-K(N_3)
CPP-PEG_n-K(N_3)
CPP-K(CPP)-PEG_n-K(N_3)
CPP-PEG_n-K(CPP)-PEG_n-TFP
CPP-C_6-TFP
CPP-PEG_n-K(PEG_n-CPP)PEG_n-K(N_3)
Ac-T9-PEG_n-Lys(CPP-PEG_n)-K(N_3)
Ac-MSP-PEG_n-K(CPP-PEG_n)-K(N_3)
CPP-PEG_n-TFP(ENTRD 802)
CPP-C_6-TFP(ENTRD 696)
CPP-PEG_n-K(CPP)-PEG_n-TFP(ENTRD-344)

【表９－２】

CPP-PEG_n-COOH
CPP-C_{12}-TFP(ENTD-695)
パルミトイル-PEG_n-K(CPP)-PEG_n-TFP(ENTD-343)
CPP-PEG_n-K(N_3)(ENTRD-617)
Ac-T9-PEG_n-K(CPP)-K(N_3)(ENTRD 673)
Ac-MSP-PEG_n-K(CPP-PEG_n)-K(N_3)(ENTRD 675)
Ac-NLS-K(CPP)-PEG_n-K(N_3)(ENTRD 684)
K(N3)-PEG_n-NLS-ss-PEG_n-CPP(ETRD-681)
K(N3)-PEG_n-NLS-K-βA-βA-CPP(ETRD-682)

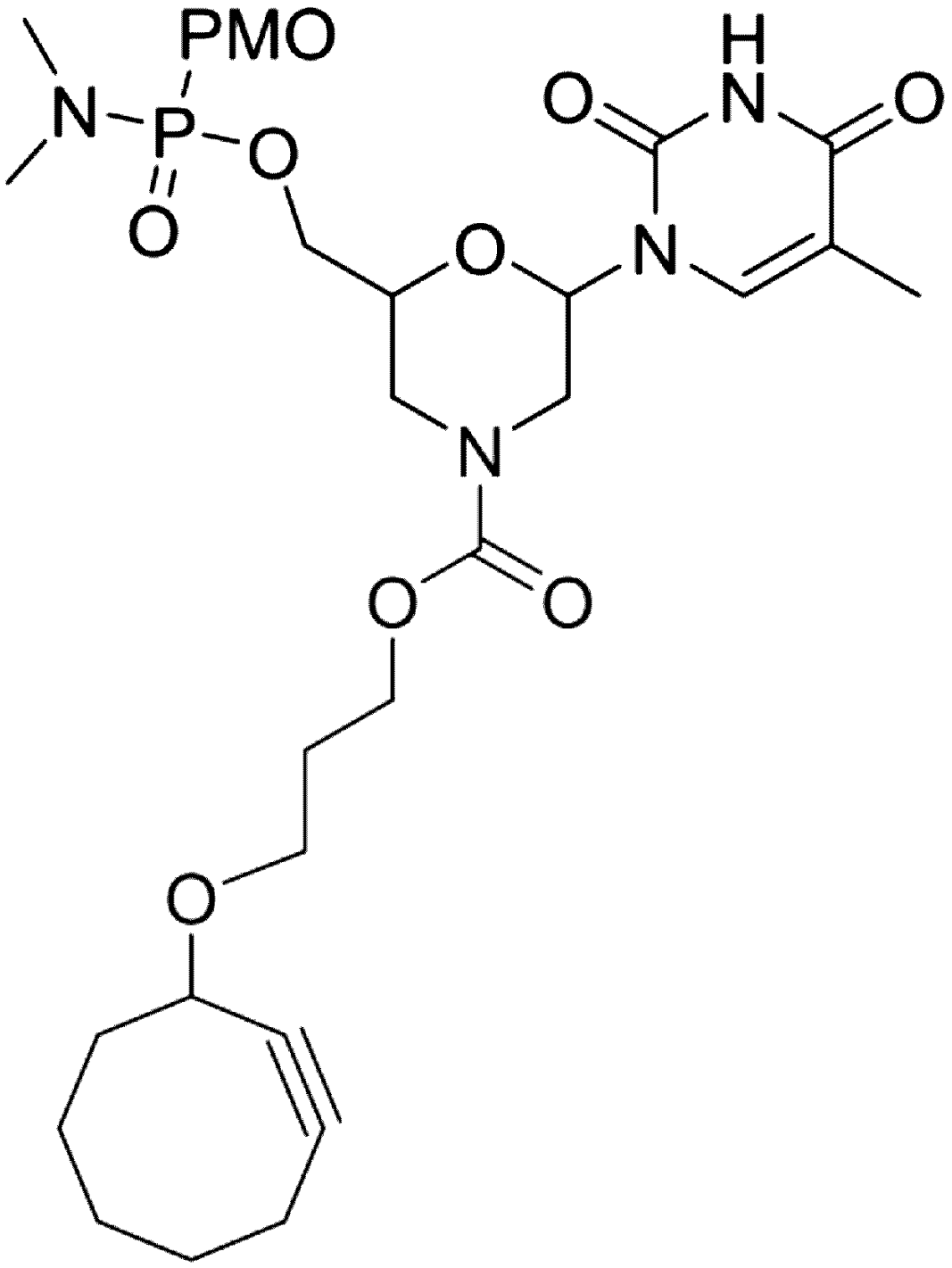
【０４２０】

複数の実施形態では、ＣＰＰは、ＡＣへのコンジュゲーションのために利用され得る遊離カルボン酸基を有する。複数の実施形態では、ＥＥＶは、ＡＣへのコンジュゲーションのために利用され得る遊離カルボン酸基を有する。

【０４２１】

以下の構造：

【化１４２】

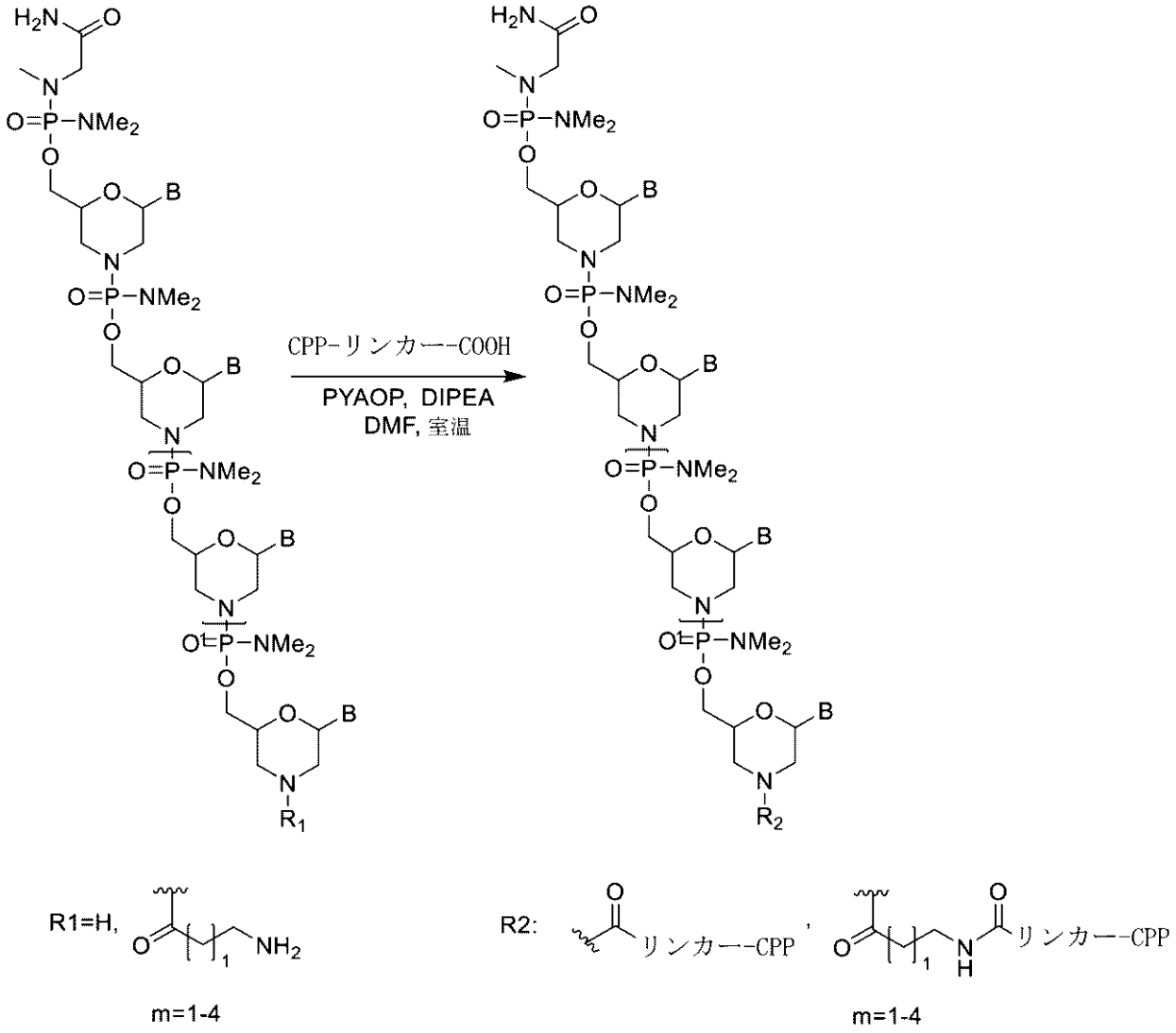


は、アジドを含む化合物とのクリック反応に使用される３’シクロオクチン修飾ＰＭＯである。

【０４２２】

アミド結合を介したＡＣの３’末端へのＣＰＰ及びリンカーのコンジュゲーションの例示的なスキームが以下に示される。

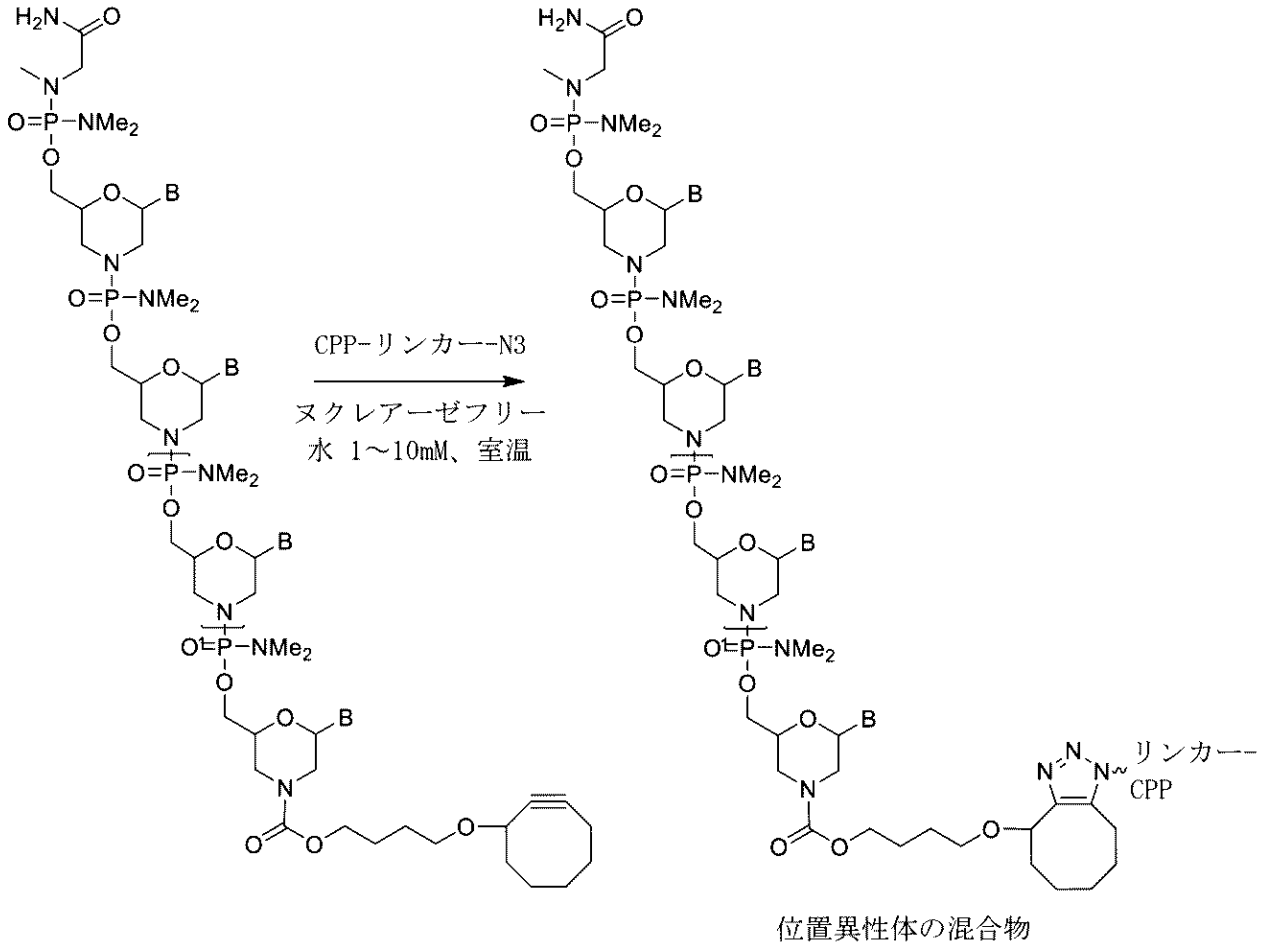
【化１４３】



【０４２３】

株促進アジド－アルキン環化付加を介した３’－シクロオクチン修飾ＰＭＯへのＣＰＰ及びリンカーのコンジュゲーションの例示的なスキームが以下に示される。

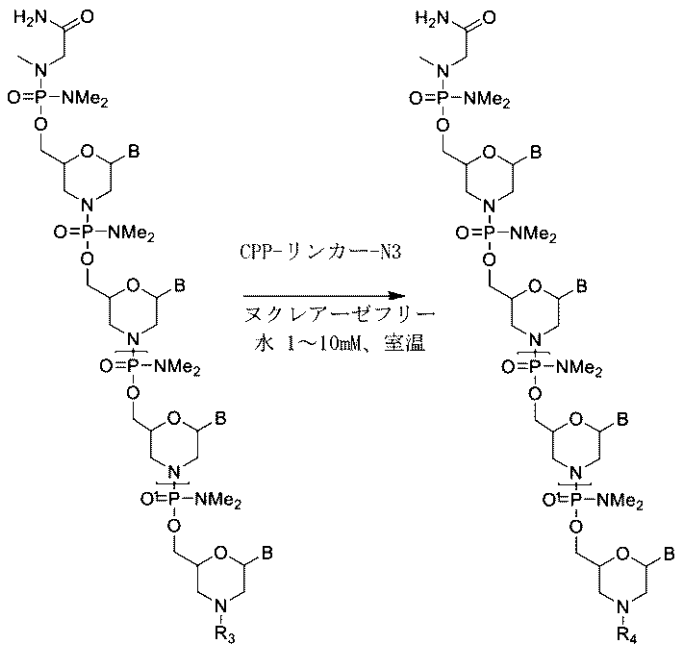
【化１４４】



【０４２４】

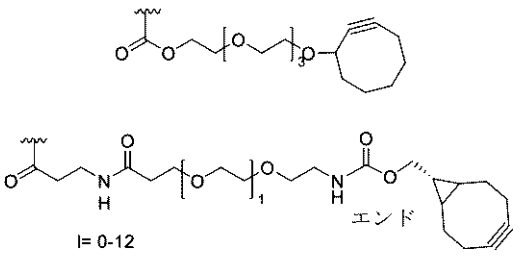
ＡＣ及びＣＰＰを、ポリエチレングリコール部分を含む追加のリンカーに結合するために使用されるコンジュゲーション化学の例が以下に示される。

【化１４５】



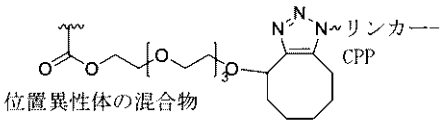
R3:

R4:

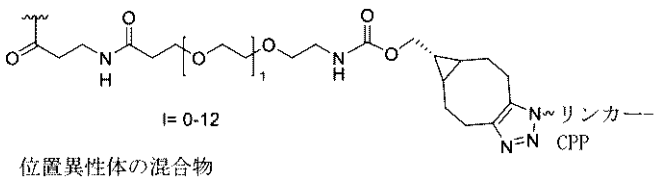


エンド

l= 0-12



位置異性体の混合物

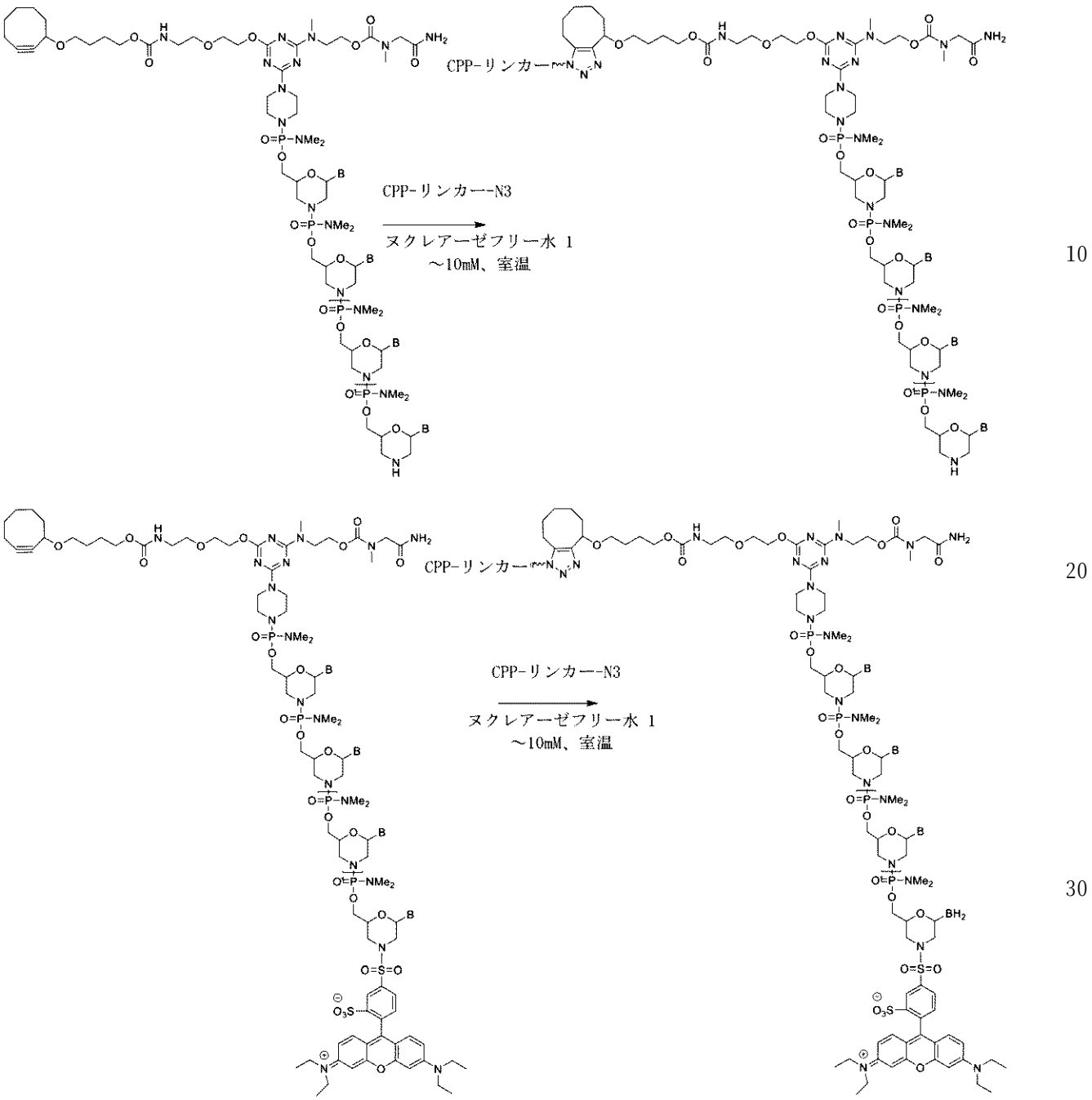


位置異性体の混合物

【０４２５】

株促進アジド－アルキン環化付加（クリックケミストリー）を介したＣＰＰリンカーの５’－シクロオクチン修飾ＰＭＯへのコンジュゲーションの例が以下に示される。

【化１４６】



【０４２６】

オリゴマーアンチセンス化合物を合成する方法は、当該技術分野で既知である。本開示は、ＡＣを合成する方法によって限定されない。複数の実施形態では、例えばホスホジエステルヌクレオシド間結合及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むヌクレオシド間結合の形成に有用な反応性リン基を有する化合物が本明細書に提供される。前駆体又はアンチセンス化合物を調製する方法及び／又は精製する方法は、本明細書に提供される組成物又は方法を限定するものではない。ＤＮＡ、ＲＮＡ、及びアンチセンス化合物を合成するための方法及び精製するための方法は、当業者に周知である。

【０４２７】

修飾ヌクレオシド及び非修飾ヌクレオシドのオリゴマー化は、ＤＮＡ（Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｆｏｒ Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ａｎａｌｏｇｓ，Ｅｄ．Ａｇｒａｗａｌ（１９９３），Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ）及び／又はＲＮＡ（Ｓｃａｒｉｎｇｅ，Ｍｅｔｈｏｄｓ（２００１），２３，２０６－２１７、Ｇａｉｔ ｅｔ ａｌ．

，Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌｌｙ ｓｙｎｔｈｅｓｉｚｅｄ ＲＮＡ ｉｎ ＲＮＡ：Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ，Ｅｄ．Ｓｍｉｔｈ（１９９８），１－３６、Ｇａｌｌｏ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ（２００１），５７，５７０７－５７１３）についての参考文献の手順に従って日常的に行うことができる。

【０４２８】

本明細書に提供されるアンチセンス化合物は、固相合成の周知の技法により好都合かつ日常的に作製することができる。かかる合成のための装置は、例えば、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ，ＣＡ）を含むいくつかのベンダーによって販売されている。当該技術分野で既知のかかる合成のための任意の他の手段が追加的に又は代替で用いられ得る。同様の技法を使用して、ホスホロチオエート及びアルキル化誘導体などのオリゴヌクレオチドを調製することが周知である。本発明は、アンチセンス化合物の合成法によって限定されない。

【０４２９】

オリゴヌクレオチドの精製法及び分析法は、当業者に既知である。分析法には、キャピラリー電気泳動（ＣＥ）及びエレクトロスプレー質量分光法が含まれる。かかる合成法及び分析法は、マルチウェルプレートで行うことができる。本発明の方法は、オリゴマーの精製法によって限定されない。

【０４３０】

本明細書に開示される化合物では、ＡＣは、ＣＰＰ（例えば、環状ペプチド）にカップリングされている。本明細書で使用される場合、「カップリングされる」とは、ＣＰＰのＡＣへの融合及びＣＰＰ（例えば、環状ペプチド）のＡＣへの化学的コンジュゲートを含む、ＣＰＰとＡＣとの間の共有結合性会合又は非共有結合性会合を指すことができる。ＣＰＰをＡＣに非共有結合する手段の非限定的な例は、ストレプトアビジン／ビオチン相互作用を介したもの、例えば、ビオチンをＣＰＰにコンジュゲートしてＡＣをストレプトアビジンに融合することである。結果として得られた化合物では、ＣＰＰは、ビオチンとストレプトアビジンとの間の非共有結合性会合を介してＡＣにカップリングされている。

【０４３１】

複数の実施形態では、ＣＰＰ（例えば、環状ペプチド）は、ＡＣに直接又は間接的にコンジュゲートされ、それにより、ＣＰＰ－ＡＣコンジュゲートを形成する。ＡＣのＣＰＰへのコンジュゲーションは、これらの部分上の任意の適切な部位で起こり得る。例えば、複数の実施形態では、ＡＣの５’末端又は３’末端は、ＣＰＰ中のアミノ酸のＣ末端、Ｎ末端、又は側鎖にコンジュゲートされ得る。

【０４３２】

複数の実施形態では、ＡＣは、ＣＰＰ（例えば、環状ペプチド）に共有結合されている。本明細書で使用される共有結合とは、ＣＰＰ部分がＡＣ部分の５’末端及び／又は３’末端に共有結合されている構築物を指す。あるいは、かかるコンジュゲートは、ＣＰＰ部分（例えば、環状ペプチド部分）及びオリゴヌクレオチド部分を有するものといわれ得る。ある特定の実施形態による共有結合されたＡＣ－ＣＰＰ又はＣＰＰ－ＡＣコンジュゲートは、本明細書に記載のリンカーによって互いに会合されたＡＣ成分及びＣＰＰ成分を含む。

【０４３３】

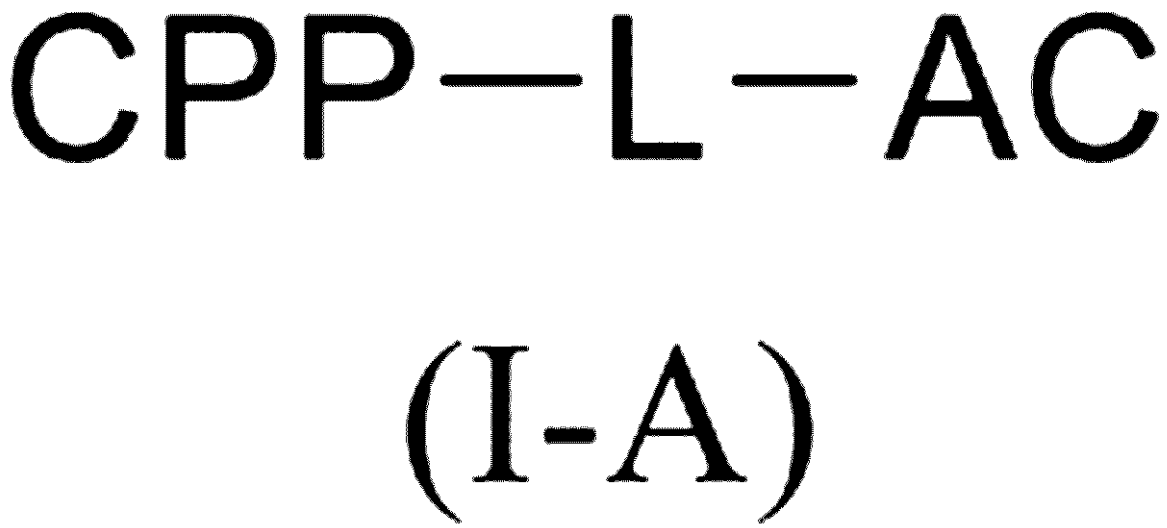
複数の実施形態では、ＡＣは、ＣＰＰ上のアミノ酸の側鎖を介してＣＰＰ（例えば、環状ペプチド）にコンジュゲートされ得る。共有結合を形成することができるか、又はそのように修飾され得るＣＰＰ上の任意のアミノ酸側鎖を使用して、ＡＣをＣＰＰに連結することができる。ＣＰＰ上のアミノ酸は、天然アミノ酸又は非天然アミノ酸とすることができる。複数の実施形態では、ＡＣをコンジュゲートするために使用されるＣＰＰ上のアミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン、リジン、オルニチン、２，３－ジアミノプロピオン酸、又はそれらの類似体であり、ここで、側鎖がＡＣ又はリンカーへの結合で置換される。複数の実施形態では、アミノ酸は、リジン又はその類

似体である。複数の実施形態では、アミノ酸は、グルタミン酸又はその類似体である。複数の実施形態では、アミノ酸は、アスパラギン酸又はその類似体である。

【０４３４】

複数の実施形態では、ＣＰＰは、環状である。本明細書に開示される化合物には多数の可能な立体配置が存在する。複数の実施形態では、本開示の化合物は、ＡＣが環状ペプチド中のアミノ酸の側鎖にコンジュゲートされる化合物を含む。複数の実施形態では、本明細書に開示される化合物は、式Ｉ－Ａに従う構造（すなわち、環外）を有し、

【化１４７】



、

式中、リンカーが、ＣＰＰ上のアミノ酸の側鎖に、かつＡＣの５’末端、ＡＣの骨格、又はＡＣの３’末端に共有結合している。

【０４３５】

疾患及び標的遺伝子

複数の実施形態では、伸長ヌクレオチドリピート（例えば、伸長トリヌクレオチドリピートなどの伸長トリヌクレオチドリピート）を有する１つ以上の遺伝子に関連する疾患又は障害を治療するための化合物及び方法が提供される。複数の実施形態では、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する１つ以上の遺伝子に関連する疾患又は障害を治療するための化合物及び方法が提供される。複数の実施形態では、遺伝子の３’－ＵＴＲ内に伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する１つ以上の遺伝子に関連する疾患又は障害を治療するための化合物及び方法が提供される。複数の実施形態では、ＤＭＰＫ、ＡＴＸＮ８ＯＳ　ＡＴＸＮ８、及び／又はＪＰＨ３などの３’ＵＴＲ内に伸長ＣＴＧ・ＣＵＧを有する遺伝子に関連する疾患又は障害を治療するための化合物及び方法が提供される。複数の実施形態では、遺伝子のイントロン中に伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを有する１つ以上の遺伝子に関連する疾患又は障害を治療するための化合物及び方法が提供される。複数の実施形態では、ＴＣＦ４のイントロン中に伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートに関連する疾患又は障害を治療するための化合物及び方法が提供される。複数の実施形態では、筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）、フックス角膜内皮ジストロフィー（ＦＥＣＤ）、脊髄小脳失調症－８（ＳＣＡ８）、及び／又はハンチントン病様（ＨＤＬ２）を治療するための化合物及び方法が提供される。

【０４３６】

筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）

複数の実施形態では、筋強直性ジストロフィー（ＤＭ１又はシュタイネルト病）を治療

するための化合物、組成物、及び方法が提供される。ＤＭ１は、筋線維における反復活動能による筋変性及び筋強直又は筋弛緩遅延を特徴とすることが多い多系統障害である。筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）は、筋ジストロフィーの最も一般的な形態であり、８０００人に１人が罹患している。ＤＭ１は、ＣＴＧ・ＣＵＧ伸長によって引き起こされる遺伝性障害のパラダイムである。ＤＭ１は、筋強直性ジストロフィータンパク質キナーゼ（ＤＭＰＫ）遺伝子の３’－非翻訳領域（ＵＴＲ）内のＣＴＧ・ＣＵＧリピート伸長によって引き起こされる神経筋障害である。ＲＮＡレベルでは、ＤＭＰＫ転写物（例えば、伸長ＣＵＧリピート）は、例えば、筋盲様（ＭＢＮＬ）タンパク質などのスプライシング調節因子タンパク質を捕捉し、これにより、ＭＢＮＬ１によって調節されるいくつかの下流プレｍＲＮＡ（伸長ＣＵＧリピートを含まないプレｍＲＮＡ）の不正確なスプライシングがもたらされる。この機能獲得がＤＭ１の原因である。

【０４３７】

過剰数のＣＵＧリピートにより、毒性獲得機能と称される毒性活性が付与される。複数の重要なタンパク質が誤って処理され、これにより、全身性四肢脱力、呼吸筋障害、心臓異常、疲労、胃腸合併症、白内障、失禁、及び日中の過剰な眠気を含む、疾患の多系統的性質が引き起こされる。

【０４３８】

ＤＭＰＫ遺伝子の３’－非翻訳領域内にＣＴＧ・ＣＵＧ伸長を有するＤＭ１患者は、ＦＥＣＤのリスクが高く、角膜内皮にＣＵＧｅｘｐ－ＭＢＮＬ１病巣を形成する。（Ｍｏｏｔｈａ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｖｅ ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ ＆ ｖｉｓｕａｌ ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１７；５８，４５７９－４５８５）。ＭＢＮＬ１と変異ＲＮＡとの会合は、遊離ＭＢＮＬ１の細胞プールに影響を及ぼし、罹患した脳、筋肉、及び心臓組織において、（例えば、ＭＢＮＬ１によって調節される）いくつかのＭＢＮＬ１標的遺伝子のミススプライシングを誘発する（Ｊｉａｎｇ ｅｔ ａｌ．Ｈｕｍ Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ．２００４；１３：３０７９－３０８８）。Ｇａｔｔｅｙら（Ｃｏｒｎｅａ．２０１４；３３：９６－９８）は、母親－娘ペアを含む４名のＤＭ１対象においてＦＥＣＤを報告した。したがって、ＤＭ１とＦＥＣＤとの間の会合が存在する可能性が高い（ＦＥＣＤは、本明細書の他の箇所でより詳細に説明される）。

【０４３９】

理論に束縛されるものではないが、ＤＭ１の病因を説明するために提案された少なくとも２つの仮説が存在する。１つは、伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートがＤＭＰＫ ｍＲＮＡ又はタンパク質産生を阻害し、その結果、ＤＭＰＫハプロ不全がもたらされることである。これは、ＤＭ１筋肉におけるＤＭＰＫ ｍＲＮＡ及びタンパク質の発現の減少を示す研究によって支持された（Ｆｕ，Ｙ．Ｈ．ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｄｅｃｒｅａｓｅｄ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｍｙｏｔｏｎｉｎ－ｐｒｏｔｅｉｎ ｋｉｎａｓｅ ｍｅｓｓｅｎｇｅｒ ＲＮＡ ａｎｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ｉｎ ａｄｕｌｔ ｆｏｒｍ ｏｆ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０，２３５－２３８）。複数の実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、ＤＭＰＫハプロ不全を改善する。別のＲＮＡ機能獲得仮説は、伸長対立遺伝子から転写された変異ＲＮＡが疾患の症状を誘導するのに十分であることを提案する。これは、以下の観察：（ｉ）伸長ＣＴＧリピートが個別の核病巣に蓄積するＣＵＧリピートに転写される、（ｉｉ）２００個のＣＴＧリピートを有するＤＭＰＫ ３’－ＵＴＲのみの発現が筋形成を阻害するのに十分である（Ｄａｖｉｓ，Ｂ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｅｘｐａｎｓｉｏｎ ｏｆ ａ ＣＵＧ ｔｒｉｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ｒｅｐｅａｔ ｉｎ ｔｈｅ ３ｌ ｕｎｔｒａｎｓｌａｔｅｄ ｒｅｇｉｏｎ ｏｆ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ ｐｒｏｔｅｉｎ ｋｉｎａｓｅ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｓ ｒｅｓｕｌｔｓ ｉｎ ｎｕｃｌｅａｒ ｒｅｔｅｎｔｉｏｎ ｏｆ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｓ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９４，７３８８－７３９３、Ａｍａｃｋ，Ｊ．Ｄ．ｅｔ ａｌ．，（１９９９）Ｃｉｓ ａｎｄ ｔｒａｎｓ ｅｆｆｅｃｔｓ ｏｆ ｔｈｅ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ（ＤＭ）ｍｕｔａｔｉｏｎ ｉｎ ａ ｃｅｌｌ ｃｕｌｔ

ｕｒｅ ｍｏｄｅｌ．Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．８，１９７５－１９８４）によって示唆された。複数の実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、伸長対立遺伝子に関連する変異ＲＮＡの転写を減少させる。

【０４４０】

ＤＭＰＫ ｍＲＮＡの３’非翻訳領域内の伸長ＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートは、小さいリボ核複合体又は顕微鏡的に可視的な封入体中の細胞核に蓄積する不完全な安定したヘアピン構造を形成し、転写、スプライシング、又はＲＮＡ輸出に関与するタンパク質の機能を損なう。ＣＵＧリピートを有するＤＭＰＫ遺伝子はｍＲＮＡに転写されるが、変異転写物は凝集体（病巣）として核内で捕捉され、これにより、細胞質ＤＭＰＫ ｍＲＮＡレベルの低下がもたらされる。これらの凝集は、２つのＲＮＡ結合タンパク質：ＭＢＮＬ１（筋盲様１）及びＣＵＧＢＰ１（ＣＵＧ結合タンパク質１）の捕捉に起因して多くの異なる転写物の選択的スプライシングの調節解除につながり、ＭＢＮＬ１の機能喪失及びＣＵＧＢＰ１の上方制御がもたらされる（Ｌｅｅ ａｎｄ Ｃｏｏｐｅｒ．（２００９）“Ｐａｔｈｏｇｅｎｉｃ ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ ｏｆ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ，”Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｓｏｃ Ｔｒａｎｓ．３７（０６）：１２８１－１２８６）。

【０４４１】

ＤＭ１では、ＲＮＡ結合タンパク質ＭＢＮＬ１は、ＣＵＧリピートによって形成された二本鎖ヘアピン構造に捕捉され、それを核質から枯渇させる。その後、ＭＢＮＬ１が結合したＣＵＧリピートが未知の機構を介してタンパク質キナーゼＣ（ＰＫＣ）活性化を刺激し、これにより、ＣＵＧＢＰ１過剰リン酸化及び安定化が誘導される。下流効果には、下流遺伝子の選択的スプライシングの破壊、ｍＲＮＡ翻訳、及びｍＲＮＡ崩壊が含まれる。ＤＭ１の重要な分子特徴は、二本鎖ヘアピン構造を有するＣＵＧリピートへのＭＢＮＬ１の捕捉による選択的スプライシングの誤調節である。ＤＭ１において誤調節された２４を超えるスプライシング事象の中で、骨格筋特異的ＣｌＣ－１（塩化物チャネル１）の異常なスプライシングが筋強直の原因の１つであることが知られている。未成熟停止コドンを含むエクソンの包含の増加により、筋強直を引き起こすのに十分なＣｌＣ－１ ｍＲＮＡ及びタンパク質の下方制御がもたらされる（Ｃｈａｒｌｅｔ－Ｂ ｅｔ ａｌ．（２００２）Ｌｏｓｓ ｏｆ ｔｈｅ ｍｕｓｃｌｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｃｈｌｏｒｉｄｅ ｃｈａｎｎｅｌ ｉｎ ｔｙｐｅ １ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ ｄｕｅ ｔｏ ｍｉｓｒｅｇｕｌａｔｅｄ ａｌｔｅｒｎａｔｉｖｅ ｓｐｌｉｃｉｎｇ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ １０，４５－５３、Ｍａｎｋｏｄｉ，Ａ．ｅｔ ａｌ．（２００２）Ｅｘｐａｎｄｅｄ ＣＵＧ ｒｅｐｅａｔｓ ｔｒｉｇｇｅｒ ａｂｅｒｒａｎｔ ｓｐｌｉｃｉｎｇ ｏｆ ＣｌＣ－１ ｃｈｌｏｒｉｄｅ ｃｈａｎｎｅｌ ｐｒｅ－ｍＲＮＡ ａｎｄ ｈｙｐｅｒｅｘｃｉｔａｂｉｌｉｔｙ ｏｆ ｓｋｅｌｅｔａｌ ｍｕｓｃｌｅ ｉｎ ｍｙｏｔｏｎｉｃ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ １０，３５－４４）。複数の実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、下流遺伝子の選択的スプライシング、ｍＲＮＡ翻訳、及びｍＲＮＡ崩壊を含む下流効果を改善する。複数の実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、本開示の化合物又は方法で治療されていないＤＭ１を有する対象と比較して、ＤＭ１において誤調節されたスプライシング事象の数を減少させる。例えばいくつかの実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、４８３３４３９Ｌ１９Ｒｉｋ、Ａｂｃｃ９、Ａｔｐ２ａ１、Ａｒｈｇｅｆ１０、Ａｒｈｇａｐ２８、Ａｒｍｃｘ６、Ａｎｇｅｌ１、Ｂｅｓｔ３、Ｂｉｎ１、Ｂｒｄ２、Ｃａｃｎａ１ｓ、Ｃａｃｎａ２ｄ１、Ｃｐｄ、Ｃｐｅｂ３、Ｃｃｐｇ１、Ｃｌａｓｐ１、Ｃｌｃｎ１、Ｃｌｋ４、Ｃｐｅｂ２、Ｃａｍｋ２ｇ、Ｃａｐｚｂ、Ｃｏｐｚ２、Ｃｏｃｈ、ｃＴＮＴ、Ｃｔｕ２、Ｃｙｐ２ｓ１、Ｄｃｔｎ４、Ｄｎｍ１ｌ、Ｅｙａ４、Ｅｆｎａ３、Ｅｆｎａ２、Ｆｂｘｏ３１、Ｆｂｘｏ２１、Ｆｒｅｍ２、Ｆｇｄ４、Ｆｕｃａ１、Ｆｎ１、Ｇｏｇｌａ４、Ｇｐｒ３７ｌ１、Ｇｒｅｂ１、Ｈｅｇ１、Ｉｎｓｒ、Ｉｍｐｄｈ２、ＩＲ、Ｉｔｇａｖ、Ｊａｇ２、Ｋｌｃ１、Ｋｃａｎ６、Ｋｉｆ１３ａ、Ｌｄｂ３、Ｌｒｒｆｉｐ２、Ｍａｐｔ、Ｍａｃｆ１、Ｍａｐ３ｋ４、Ｍａｐｋａｐ１、Ｍｂｎｌ１、Ｍｌｌｔ３、Ｍｂｎｌ２、Ｍ

ｅｆ２ｃ、Ｍｐｄｚ、Ｍｒｐｌ１、Ｍｘｒａ７、Ｍｙｂｐｃ１、Ｍｙｏ９ａ、Ｎｃａｐｄ３、Ｎｇｆｒ、Ｎｄｒｇ３、Ｎｄｕｆｖ３、Ｎｅｂ、Ｎｆｉｘ、Ｎｕｍａ１、Ｏｐａ１、Ｐａｃｓｉｎ２、Ｐｃｏｌｃｅ、Ｐｄｌｉｍ３、Ｐｌａ２ｇ１５、Ｐｈａｃｔｒ４、Ｐｈｋａ１、Ｐｈｔｆ２、Ｐｐｐ１ｒ１２ｂ、Ｐｐｐ３ｃｃ、Ｐｐｐ１ｃｃ、Ｒａｍｐ２、Ｒａｐｇｅｆ１、Ｒｕｒ１、Ｒｙｒ１、Ｓｏｒｃｓ２、Ｓｐｓｂ４、Ｓｃｕｂｅ２、Ｓｅｍａ６ｃ、Ｓｆｃ８ａ３、Ｓｌａｉｎ２、Ｓｏｒｂｓ１、Ｓｐａｇ９、Ｔｍｅｍ２８、Ｔａｃｃ１、Ｔａｃｃ２、Ｔｔｃ７、Ｔｎｉｋ、Ｔｎｆｒｓｆ２２、Ｔｎｆｒｓｆ２５、Ｔｒａｐｐｃ９、Ｔｒｉｍ５５、Ｔｔｎ、Ｔｘｎｌ４ａ、Ｔｘｌｎｂ、Ｕｂｅ２ｄ３、又はＶｓｐ３９などの１つ以上の下流遺伝子における誤調節スプライシング事象の数を減少させ得る。複数の実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、本開示の化合物又は方法で治療されていないＤＭ１を有する対象と比較して、ＣｌＣ－１　ｍＲＮＡの下方制御をもたらす未成熟停止コドンを含むエクソンの数を減少させる。

【０４４２】

核中のＭＢＮＬ１及びＣＵＧＢＰ１のレベルは、ＤＭ１において逆転する発生的に調節されたスプライシング事象のサブセットを制御する。胚期では、ＭＢＮＬ１核レベルは低く、ＣＵＧＢＰ１レベルは高い。発生過程で、ＭＢＮＬ１核レベルが増加する一方で、ＣＵＧＢＰ１レベルは減少し、下流スプライシング標的（ＩＲエクソン１１、終止コドンを含むＣｌＣ－１エクソン、及びｃＴＮＴエクソン５を含む）の胚から成体への移行を誘導する。しかしながら、ＤＭ１では、ＭＢＮＬ１がＣＵＧリピートに捕捉され、その結果、機能的ＭＢＮＬ１の減少がもたらされる一方で、ＣＵＧＢＰ１レベルはリン酸化及び安定化に起因して増加する。これは、胚性状態をシミュレートし、成体における胚性アイソフォームの発現を増強し、その結果、複数の疾患症状がもたらされる（Ｌｅｅ　ａｎｄ　Ｃｏｏｐｅｒ．；２００９）。複数の実施形態では、本明細書に記載の化合物及び方法は、本開示の化合物又は方法で治療されていないＤＭ１を有する対象と比較して、捕捉されたＭＢＮＬ１の量を減少させ、機能的ＭＢＮＬ１の量を増加させ、ＣＵＧＢＰ１レベルを低下させる。

【０４４３】

ＭＢＮＬ１及びＣＥＬＦ１（「ＣＵＧＢＰ１」とも称される）は、胎児から成体への移行中のスプライシング事象の発生調節因子であり、ＤＭ１におけるそれらの活性の修飾により、成体組織における胎児スプライシングパターンの発現がもたらされる。低ＭＢＮＬ１及び高ＣＥＬＦ１の下流影響には、ＭＢＮＬ１に加えて、心臓トロポニンＴ（ｃＴＮＴ）、インスリン受容体（ＩＮＳＲ）、筋特異的塩素イオンチャネル（ＣＬＣＮ１）、及び筋形質／小胞体カルシウムＡＴＰａｓｅ　１（ＡＴＰ２Ａ１）転写物などのタンパク質における、選択的スプライシングの破壊、ｍＲＮＡ翻訳、及びｍＲＮＡ崩壊が含まれる。Ｋｏｎｉｅｃｚｎｙ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）“Ｍｙｏｔｏｎｉｃ　ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ：ｃａｎｄｉｄａｔｅ　ｓｍａｌｌ　ｍｏｌｅｃｕｌｅ　ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，”Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　Ｔｏｄａｙ．２２（１１）：１７４０－１７４８。

【０４４４】

ＤＭＰＫ遺伝子の３’－ＵＴＲ内のポリＣＵＧリピートを標的とするアンチセンスオリゴマーを使用して筋強直性ジストロフィーを治療するための化合物及び方法は、各々全ての目的のために参照により全体が本明細書に組み込まれる、ＵＳ１０１０６７９６Ｂ２、ＵＳ１０１１１９６２Ｂ２、ＵＳ２０１５００８０３１１Ａ１に記載されている。しかしながら、ＤＭ１を治療するためのＣＵＧリピートを標的とするかかるＰＭＯ又はＰＰＭＯは、罹患組織である筋肉へのオリゴ送達に限界があり得る。

【０４４５】

複数の実施形態では、本開示は、本明細書、例えば表２及び表１０に記載のＡＣ（例えば、ＰＭＯ又はＡＳＯ）及び分解配列を細胞のサイトゾルに送達するための多様な細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）の使用を教示する。複数の実施形態では、ＡＣにコンジュゲートされたＣＰＰ又はＥＥＶは、目的とするＡＣを、プレｍＲＮＡ上の標的配列が位置する細胞位置に送達する。

【０４４６】

複数の実施形態では、疾患は、筋強直性ジストロフィー（例えば、筋強直性ジストロフィー１型又は筋強直性ジストロフィー２型）の形態である。複数の実施形態では、標的遺伝子は、筋強直タンパク質キナーゼをコードするＤＭＰＫ遺伝子である。複数の実施形態では、本明細書に提供される化合物は、ＤＭＰＫ遺伝子を分解するためにＤＭＰＫ（例えば、ＤＭＰＫ遺伝子の３’－非翻訳領域／ポリアデニル化）を標的とするＡＣ（例えば、ＡＳＯ）を含む。分解のためにＤＭＰＫを標的とする例示的なオリゴヌクレオチドが表１０に提供される。分解配列は、表２に提供されるＡＣを含むが、これらに限定されない、１０～４０個のＣＡＧリピートを含むＡＣ配列と組み合わせて使用され得る。

【表１０】

表１０．分解のためにＤＭＰＫを標的とするオリゴヌクレオチド（ＡＣ）

オリゴ(AC)ID	配列(5’-3’)	配列番号	標的
	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG-3’-クリック-K-PEG12-Lys(CPP12)-NLS-AC (全てPMOモノマー)		DMPK
DMPK-A-17	GGGCCTTTTATTCGCGAGGGTCGGG	151	DMPK
DMPK-A-18	GAGGGCCTTTTATTCGCGAGGGTCG	152	DMPK
DMPK-A-19	TGGAGGGCCTTTTATTCGCGAGGGT	153	DMPK
DMPK-A-20	GATGGAGGGCCTTTTATTCGCGAGG	154	DMPK
DMPK-A-21	CAGATGGAGGGCCTTTTATTCGCGA	155	DMPK
DMPK-A-22	GGCAGATGGAGGGCCTTTTATTCGC	156	DMPK
DMPK-A-23	TGGGCAGATGGAGGGCCTTTTATTC	157	DMPK
DMPK-A-24	TTTGGGCAGATGGAGGGCCTTTTAT	158	DMPK
DMPK-A-25	GCTTTGGGCAGATGGAGGGCCTTTT	159	DMPK
DMPK-A-26	GAGCTTTGGGCAGATGGAGGGCCTT	160	DMPK
DMPK-A-27	CAGAGCTTTGGGCAGATGGAGGGCC	161	DMPK
DMPK-A-28	TCCAGAGCTTTGGGCAGATGGAGGG	162	DMPK
DMPK-A-29	AGTCCAGAGCTTTGGGCAGATGGAG	163	DMPK
DMPK-A-30	GGAGTCCAGAGCTTTGGGCAGATGG	164	DMPK
DMPK-A-31	GTGGAGTCCAGAGCTTTGGGCAGAT	165	DMPK
DMPK-A-32	CTGTGGAGTCCAGAGCTTTGGGCAG	166	DMPK
DMPK-A-33	CACTGTGGAGTCCAGAGCTTTGGGC	177	DMPK
DMPK-A-34	GACACTGTGGAGTCCAGAGCTTTGG	178	DMPK
DMPK-A-35	CGGACACTGTGGAGTCCAGAGCTTT	179	DMPK
DMPK-A-36	CGCGGACACTGTGGAGTCCAGAGCT	180	DMPK
DMPK-A-37	ACCGCGGACACTGTGGAGTCCAGAG	181	DMPK
DMPK-A-38	AAACCGCGGACACTGTGGAGTCCAG	182	DMPK
DMPK-A-39	GCAAACCGCGGACACTGTGGAGTCC	183	DMPK
DMPK-A-40	ACGCAAACCGCGGACACTGTGGAGT	184	DMPK
DMPK-A-41	CAACGCAAACCGCGGACACTGTGGA	185	DMPK

【０４４７】

脊髄小脳失調症－８（ＳＣＡ８）

複数の実施形態では、脊髄小脳失調症－８（ＳＣＡ８）を治療するための化合物、組成物、及び方法が提供される。ＳＣＡ８は、緩徐に進行する運動失調を特徴とする遺伝性神経変性状態である。症状は、通常、３０歳代から５０歳代の間に現れる。症状には、眼球運動異常、感覚性ニューロパチー、嚥下障害、小脳失調、及び認知障害が含まれる。

【０４４８】

ＳＣＡ８は、２つの重複遺伝子ＡＴＸＮ８ＯＳ及びＡＴＸＮ８の３’ＵＴＲ内のヘテロ接合性異常伸長ＣＴＧ・ＣＵＧリピートに関連している。健常な個体は、一般に、ＡＴＸＮ８ＯＳ遺伝子及びＡＴＸＮ８遺伝子に１５～５０個のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有する。ＳＣＡ８を有する患者は、ＡＴＸＮ８ＯＳ遺伝子及びＡＴＸＮ８遺伝子に５０個を超えるＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有し、２４０個ものＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有することも

ある。
【０４４９】
ハンチントン病様－２（ＨＤＬ２）
複数の実施形態では、ハンチントン病様－２（ＨＤＬ２）疾患を治療するための化合物、組成物、及び方法が提供される。ＨＤＬ２は、ハンチントン病に表現型的に関連する常染色体優性神経変性障害である。ＨＤＬ２は、舞踏病、ジストニア、硬直、運動緩慢、及び認知症などの精神症状を含む症状を特徴とする。ＨＤＬ２の症状は、典型的には、中年期に発生し、約１０～１５年の早期死亡をもたらし得る。
【０４５０】
ＨＤＬ２は、ジャンクトフィリン３（ＪＰＨ３）遺伝子（１６ｑ２４．３）の３’ＵＴＲ内の伸長ＣＴＧ・ＣＵＧに関連している。健常な個体は、一般に、ＪＰＨ３遺伝子に６～２７個のＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有する。ＨＤＬ２を有する患者は、ＪＰＨ３遺伝子に４０個を超えるＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有し、６０個以上ものＣＴＧ・ＣＵＧリピートを有することもある。
【０４５１】
フックス角膜内皮ジストロフィー
複数の実施形態では、フックス角膜内皮ジストロフィー（ＦＥＣＤ）を治療するための化合物、組成物、及び方法が提供される。ＦＥＣＤ（ＭＩＭ　１３６８００）は、角膜内皮の加齢性変性障害である。ＦＥＣＤは、角膜内皮細胞の進行性消失、デスメ膜の肥厚、及び滴状の形態の細胞外マトリックスの沈着を特徴とする。内皮細胞の数が非常に少なくなると、角膜が膨張し、失明が引き起こされる（Ｅｌｈａｌｉｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｏｃｕｌ　Ｓｕｒｆ．２０１０；８（４）：１７３－１８４）。
【０４５２】
ＦＥＣＤは、遺伝的異質性を有する常染色体優性形質として遺伝する可能性がある。コラーゲン、ＶＩＩＩ型、アルファ２遺伝子（ＣＯＬ８Ａ２、ＭＩＭ　１２０２５２）における稀なヘテロ接合性変異は、早期発症型角膜内皮ジストロフィーを引き起こす可能性がある。溶質担体ファミリー４、ホウ酸ナトリウム輸送体、メンバー１１（ＳＬＣ４Ａ１１、ＭＩＭ　６１０２０６）、転写因子８（ＴＣＦ８、ＭＩＭ　１８９９０９）、リポキシゲナーゼ相同ドメイン１（ＬＯＸＨＤ１、ＭＩＭ　６１３２６７）、及びＡＴＰ／ＧＴＰ結合タンパク質様１（ＡＧＢＬ１、ＭＩＭ　６１５５２３）などの他の遺伝子は、わずかな割合の成人発症型ＦＥＣＤ症例に集合的に関連している。成人発症型ＦＥＣＤのゲノムワイド関連研究は、転写因子４（ＴＣＦ４、ＭＩＭ　６０２２７２）、より最近ではＫＮモチーフ及びアンキリンリピートドメイン含有タンパク質４（ＫＡＮＫ４、ＭＩＭ　６１４６１２）、ラミニンガンマ－１（ＬＡＭＣ１、ＭＩＭ１５０２９０）、Na^+／K^+輸送ＡＴＰａｓｅ、並びにベーター１ポリペプチド（ＡＴＰ１Ｂ１、ＭＩＭ　１８２３３０）が、ＴＣＦ４遺伝子座とともに、ＦＥＣＤに支配的な影響を及ぼすことを示唆している（Ｍｏｏｔｈａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｖｅ　ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ　＆　ｖｉｓｕａｌ　ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１７；５８，４５７９－４５８５）。
【０４５３】
ＴＣＦ４のイントロン２中のＣＴＧ１８．１遺伝子座における伸長トリヌクレオチドリピートがＦＥＣＤに関連している（Ｗｉｅｂｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２０１２；７（１１）：ｅ４９０８３）。４０個を超えるＣＴＧ・ＣＵＧトリヌクレオチドリピートの伸長ＣＴＧ１８．１対立遺伝子のコピーは各々、ＦＥＣＤを発症する重大なリスクをもたらす（Ｍｏｏｔｈａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｖｅｓｔ　Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ　Ｖｉｓ　Ｓｃｉ．２０１４；５５：３３－４２）。毒性機能獲得ＲＮＡの特徴であるＲＮＡ核病巣は、単純なリピート伸長によって引き起こされる神経変性障害で報告されている。伸長ＣＵＧリピートＲＮＡは、ＣＴＧ１８．１トリプレットリピート伸長を有するＦＥＣＤ対象の角膜内皮に核病巣として蓄積するが、トリプレット伸長を欠く対照試料には存在しない（Ｍｏｏｔｈａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｉｎｖｅｓｔ　Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ　Ｖｉｓ　Ｓｃｉ．２０１５；５６（３）：２００３－２０１１）。伸長ＣＵＧリピートＲＮＡは、

分子特徴として内皮の核病巣にｍＲＮＡスプライシング因子である筋盲様１（ＭＢＮＬ１）と共局在する。ＣＴＧ１８．１遺伝子座におけるトリプレットリピート伸長は、ＭＢＮＬ１を捕捉する変異ＣＵＧ　ＲＮＡ転写物の結果として、異常な遺伝子スプライシングを介して内皮機能不全を媒介し得る（Ｄｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ．２０１５；２９０：５９７９－５９９０）。したがって、２つの別個のトリプレットリピートがＲＮＡ病巣及びＦＥＣＤに収束し、その病巣がＦＥＣＤ因果的役割を果たし得る。

【０４５４】

複数の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて伸長ＣＵＧリピートＲＮＡを減少させるフックス角膜内皮ジストロフィー（ＦＥＣＤ）の治療に有用な化合物及び方法は、各々全ての目的のために参照により全体が本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１８１６５５４１Ａ１、ＵＳ１０７６００７６Ｂ２に記載されている。しかしながら、ＤＭ１を治療するための先行技術に記載のものなどのＣＵＧリピートを標的とするかかるホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー（ＰＭＯ）又はペプチドコンジュゲートＰＭＯ（ＰＰＭＯ）は、罹患組織である標的組織（例えば、角膜内皮層）へのオリゴ送達に限界があり得る。

【０４５５】

複数の実施形態では、本開示は、本明細書、例えば、表６に記載のＡＣ（例えば、ＰＭＯ又はＡＳＯ）を細胞のサイトゾルに送達するための多様な細胞膜透過性ペプチド（ＣＰＰ）又はエンドソームエスケープビヒクル（ＥＥＶ）の使用を教示する。複数の実施形態では、ＡＣにコンジュゲートされたＣＰＰ又はＥＥＶは、目的とするＡＣを、プレｍＲＮＡ上の標的配列が位置する細胞位置に送達する。

【０４５６】

複数の実施形態では、疾患は、フックス角膜内皮ジストロフィー（ＦＥＣＤ）である。複数の実施形態では、標的遺伝子は、免疫グロブリン転写因子２（ＩＴＦ－２）としても知られている転写因子４（ＴＣＦ－４）をコードするＴＣＦ４である。複数の実施形態では、本明細書に提供される化合物は、ＴＣＦ４を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。ＴＣＦ４を標的とするために使用され得る例示的なオリゴヌクレオチドが表２及び表１１に提供される。

【表１１】

表１１．ＴＣＦ４の伸長トリプレットリピートを標的とする例示的なオリゴヌクレオチド

オリゴ化学	設計	標的
21-mer PMO	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG -3’ (全て PMO モノマー、配列番号 146)	TCF4 (CUG)n
25-mer PMO	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG C-3’ (全て PMO モノマー、配列番号 147)	TCF4 (CUG)n
21-mer EEV-NLS-PMO	EEV-NLS_PMO_CAG 21 mer (配列番号 146 からコンジュゲーション)	TCF4 (CUG)n
30-mer PMO	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG-3’ (全て PMO モノマー、配列番号 148)	TCF4 (CUG)n
30-mer PMO	5’-AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC-3’ (全て PMO モノマー、配列番号 149)	TCF4 (CUG)n
30-mer PMO	5’-GCA GCA GCA GCA GCA GCA GCA GCA GCA GCA-3’ (全て PMO モノマー、配列番号 150)	TCF4 (CUG)n

ＰＭＯ：ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー

【０４５７】

Ｍｏｏｔｈａら（２０１７）は、ＤＭ１及びＦＥＣＤが同一の疾患ではないが、それらが非コードＣＴＧ伸長に由来すると報告した。ＤＭ１におけるＤＭＰＫ伸長により、水晶体、網膜、及び角膜内皮を含む眼の様々な組織に関与する多器官疾患がもたらされる。対照的に、ＴＣＦ４リピート伸長は、他の眼組織又は身体器官への臨床的に明らかな後遺症を引き起こすことなく、角膜内皮に影響を及ぼすようである。ＤＭＰＫ及びＴＣＦ４にお

ける変異伸長は、（ｉ）伸長ＣＵＧリピートを含む核病巣、（ｉｉ）病巣とＭＢＮＬ１タンパク質との会合、及び（ｉｉｉ）ＦＥＣＤを引き起こす能力などの重要な類似性を共有する。ＤＭＰＫ及びＴＣＦ４の両方におけるトリプレット伸長により、共有分子機構を介してＦＥＣＤの同じ角膜内皮組織表現型が引き起こされ得ることが示唆されている。

【０４５８】

各々参照により本明細書に組み込まれ、かつ疾患及び対応する遺伝子がタンデムヌクレオチドリピートを形成する及び／又は伸長する傾向があることを開示している、米国特許第１０７６００７６Ｂ２号、国際出願公開第２０１８１６５５４１Ａ１号、米国特許出願公開第２０１６／０３５５７９６号、及び米国特許出願公開第２０１８／０３４４８１７号に記載を参照されたい。

【０４５９】

組成物及び投与方法

本開示の化合物は、インビボ用途に好適な組成物に製剤化され得る。本化合物及び／又は本組成物は、伸長トリヌクレオチドリピートに関連する疾患を有する又は有する疑いのある患者に投与され得る。

【０４６０】

開示される化合物及びそれらを含む組成物のインビボ適用は、当業者に現在既知の又は将来を見越して既知の任意の好適な方法及び技法によって達成することができる。例えば、開示される化合物は、生理学的又は薬学的に許容される組成物に製剤化することができ、例えば、経口投与経路及び非経口投与経路を含む、当該技術分野で既知の任意の好適な経路によって投与することができる。本明細書で使用される場合、非経口という用語は、皮下投与、皮内投与、静脈内投与、筋肉内投与、腹腔内投与、胸骨内投与、及びくも膜下腔内投与、例えば、注射を含む。開示される化合物若しくは組成物の投与は、単回投与とすることができるか、又は当業者によって容易に決定され得る連続した間隔若しくは別個の間隔とすることができる。

【０４６１】

本明細書に開示される化合物及びそれらを含む組成物は、リポソーム技術、徐放性カプセル、移植可能ポンプ、及び生分解性容器を利用して投与することもできる。これらの送達方法は、有利なことに、長期間にわたって均一な投薬量を提供することができる。本化合物は、それらの塩誘導体形態又は結晶形態で投与することもできる。

【０４６２】

本明細書に開示される化合物は、薬学的に許容される組成物を調製するための既知の方法に従って、医薬組成物に製剤化することができる。製剤は、当業者に周知であり、かつ当業者が容易に入手可能ないくつかの供給源で詳細に説明される。例えば、Ｅ．Ｗ．ＭａｒｔｉｎによるＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ（１９９５）は、開示される方法に関連して使用することができる製剤について記載している。概して、本明細書に開示される化合物は、有効量の化合物が好適な担体と組み合わせられて本化合物の効果的な投与を容易にするように製剤化することができる。使用される組成物は、様々な形態とすることもできる。これらには、例えば、錠剤、丸剤、散剤、液体溶液又は懸濁液、座剤、注射用溶液及び注入用溶液、並びに噴霧剤などの固体、半固体、及び液体剤形が含まれる。形態は、意図される投与様式及び治療用途に依存する。本組成物は、当業者に既知の従来の薬学的に許容される担体及び希釈剤も含む。本化合物とともに使用するための担体又は希釈剤の例としては、エタノール、ジメチルスルホキシド、グリセロール、アルミナ、デンプン、生理食塩水、並びに同等の担体及び希釈剤が挙げられる。かかる投薬量の投与に所望の治療的治療を提供するために、本明細書に開示される組成物は、有利には、担体又は希釈剤を含む総組成物重量に基づいて、合計約０．１重量％～１００重量％の主題の化合物のうちの１つ以上を含み得る。

【０４６３】

投与に好適な製剤としては、例えば、製剤を意図されるレシピエントの血液と等張にする抗酸化剤、緩衝液、静菌薬、及び溶質を含むことができる水性滅菌注射溶液、並びに懸

濁化剤及び増粘剤を含むことができる水性及び非水性滅菌懸濁液が挙げられる。製剤は、単位用量又は複数回用量容器、例えば、密封アンプル及びバイアルで提示することができ、使用前に滅菌液体担体、例えば、注射用水の状態のみを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保存することができる。即時注射溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒、錠剤などから調製することができる。上で具体的に記述された成分に加えて、本明細書に開示される組成物が、問題となっている製剤のタイプを考慮して、当該技術分野で従来使用されている他の薬剤を含むことができることを理解されたい。

【０４６４】

本明細書に開示される化合物及びそれらを含む組成物は、細胞との直接接触によって又は担体手段を介して細胞に送達することができる。化合物及び組成物を細胞に送達するための担体手段は、当該技術分野で既知であり、例えば、リポソーム部分に組成物を封入することを含む。本明細書に開示される化合物及び組成物を細胞に送達するための別の手段は、標的細胞への送達を標的とするタンパク質又は核酸に本化合物を結合することを含む。米国特許第６，９６０，６４８号、並びに米国特許出願公開第２００３００３２５９４号及び同第２００２０１２０１００号は、別の組成物にカップリングすることができ、かつその組成物が生物学的膜にわたって移動することを可能にするアミノ酸配列を開示している。米国特許出願公開第２００２００３５２４３号は、細胞内送達のために細胞膜にわたって生物学的部分を輸送するための組成物についても記載している。化合物をポリマーに組み込むこともでき、ポリマーの例には、頭蓋内腫瘍用のポリ（Ｄ－Ｌラクチド－コ－グリコリド）ポリマー、２０：８０モル比（ＧＬＩＡＤＥＬで使用される場合）のポリ［ビス（ｐ－カルボキシフェノキシ）プロパン：セバシン酸］、コンドロイチン、キチン、及びキトサンが含まれる。

【０４６５】

本明細書に開示される化合物及び組成物（それらの薬学的に許容される塩又はプロドラッグを含む）は、注入又は注射により、静脈内、筋肉内、又は腹腔内投与することができる。活性剤又はその塩の溶液を水中で調製することができ、任意選択で、非毒性界面活性剤と混合することができる。分散液を、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、トリアセチン、及びそれらの混合物、並びに油中で調製することもできる。通常の保存及び使用条件下で、これらの調製物は、微生物の成長を防止するための防腐剤を含むことができる。

【０４６６】

注射又は注入に好適な医薬剤形は、滅菌注射用若しくは注入用溶液又は分散液の即時調製に適しており、任意選択でリポソームに封入された、活性成分を含む滅菌水溶液若しくは分散液又は滅菌散剤を含むことができる。最終剤形は、滅菌であり、流体であり、製造及び保管条件下で安定しなければならない。液体担体又はビヒクルは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど）、植物油、非毒性グリセリルエステル、及びそれらの好適な混合物を含む溶媒又は液体分散媒体とすることができる。適切な流動性は、例えば、リポソームの形成によって、分散液の場合には必要な粒径の維持によって、又は界面活性剤の使用によって維持することができる。任意選択で、微生物の作用の防止は、様々な他の抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサールなどによってもたらすことができる。多くの事例では、等張剤、例えば、糖、緩衝剤、又は塩化ナトリウムが含まれ得る。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを含めることによってもたらすことができる。

【０４６７】

滅菌注射用溶液は、必要に応じて、上で列挙された様々な他の成分を有する適切な溶媒中に、必要な量で本明細書に開示される化合物及び／又は薬剤を組み込み、続いて、濾過滅菌することによって調製される。滅菌注射用溶液の調製用の滅菌粉末の場合、調製法は、真空乾燥技法及びフリーズドライ技法を含み、これにより、活性成分の粉末に加えて、

事前に滅菌濾過された溶液中に存在する任意の追加の所望の成分がもたらされる。

【０４６８】

本明細書に開示される化合物及び薬剤及び医薬組成物の有用な投薬量は、動物モデルにおけるそれらのインビトロ活性及びインビボ活性を比較することによって決定することができる。マウス及び他の動物におけるヒトへの有効投薬量を推定するための方法は、当該技術分野で既知である。

【０４６９】

本組成物の投与の投薬量範囲は、症状又は障害に影響が及ぼされる所望の効果を生じさせるのに十分に大きい範囲である。投薬量は、望ましくない交差反応、アナフィラキシー反応などの有害な副作用を引き起こすほど大量になるべきではない。一般に、投薬量は、患者の年齢、状態、性別、及び疾患の程度によって変化し、当業者によって決定され得る。投薬量は、任意の対症適応の場合に個々の医師によって調整され得る。投薬量は変化することができ、１日１回以上の用量投与で、１日間又は数日間投与することができる。

【０４７０】

薬学的に許容される担体と組み合わせた本明細書に開示される化合物を含む医薬組成物も開示される。ある量の化合物を含む、経口投与、局所投与、又は非経口投与に適した医薬組成物が本明細書に開示される。患者、具体的には、ヒトに投与される用量は、致死毒性を引き起こすことなく、かつ許容レベルを超える副作用又は罹患率を引き起こすことなく、合理的な時間枠にわたって患者において治療応答を達成するのに十分であるべきである。当業者であれば、投薬量が、対象の状態（健康）、対象の体重、存在する場合、併用治療の種類、治療頻度、治療比、並びに病理学的状態の重症度及び病期を含む様々な要因に依存するであろうことを認識するであろう。

【０４７１】

本明細書に開示される化合物及び／又はそれを含む医薬組成物を１つ以上の容器に含むキットも開示される。開示されるキットは、任意選択で、薬学的に許容される担体及び／又は希釈剤を含むことができる。一実施形態では、キットは、本明細書に記載の１つ以上の他の構成成分、補助剤、又はアジュバントを含む。一実施形態では、キットは、キットの化合物又は組成物を投与する方法を説明する説明書又は包装材料を含む。キットの容器は、任意の好適な材料、例えば、ガラス、プラスチック、金属などのものとすることができ、任意の好適なサイズ、形状、又は構成とすることができる。一実施形態では、本明細書に開示される化合物及び／又は薬剤は、錠剤、丸剤、又は散剤形態などの固体としてキット内に提供される。別の実施形態では、本明細書に開示される化合物及び／又は薬剤は、液体又は溶液としてキット内に提供される。一実施形態では、キットは、液体又は溶液形態で本明細書に開示される化合物及び／又は薬剤を含むアンプル又はシリンジを含む。

【０４７２】

複数の実施形態では、本開示の化合物及び／又は組成物は、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１０００ｍｇ／ｋｇ、例えば、それらの間の全ての値及び部分範囲を含む、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．２ｍｇ／ｋｇ、約０．３ｍｇ／ｋｇ、約０．４ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約０．６ｍｇ／ｋｇ、約０．７ｍｇ／ｋｇ、約０．８ｍｇ／ｋｇ、約０．９ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約２ｍｇ／ｋｇ、約３ｍｇ／ｋｇ、約４ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約６ｍｇ／ｋｇ、約７ｍｇ／ｋｇ、約８ｍｇ／ｋｇ、約９ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１１ｍｇ／ｋｇ、約１２ｍｇ／ｋｇ、約１３ｍｇ／ｋｇ、約１４ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約１６ｍｇ／ｋｇ、約１７ｍｇ／ｋｇ、約１８ｍｇ／ｋｇ、約１９ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２１ｍｇ／ｋｇ、約２２ｍｇ／ｋｇ、約２３ｍｇ／ｋｇ、約２４ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約２６ｍｇ／ｋｇ、約２７ｍｇ／ｋｇ、約２８ｍｇ／ｋｇ、約２９ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約３１ｍｇ／ｋｇ、約３２ｍｇ／ｋｇ、約３３ｍｇ／ｋｇ、約３４ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ、約３６ｍｇ／ｋｇ、約３７ｍｇ／ｋｇ、約３８ｍｇ／ｋｇ、約３９ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約４１ｍｇ／ｋｇ、約４２ｍｇ／ｋｇ、約４３ｍｇ／ｋｇ、約４４ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ、約４６ｍｇ／ｋｇ、約４７ｍｇ／ｋｇ、約４８ｍｇ／ｋｇ、約４９ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ

／ｋｇ、約５１ｍｇ／ｋｇ、約５２ｍｇ／ｋｇ、約５３ｍｇ／ｋｇ、約５４ｍｇ／ｋｇ、約５５ｍｇ／ｋｇ、約５６ｍｇ／ｋｇ、約５７ｍｇ／ｋｇ、約５８ｍｇ／ｋｇ、約５９ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約６１ｍｇ／ｋｇ、約６２ｍｇ／ｋｇ、約６３ｍｇ／ｋｇ、約６４ｍｇ／ｋｇ、約６５ｍｇ／ｋｇ、約６６ｍｇ／ｋｇ、約６７ｍｇ／ｋｇ、約６８ｍｇ／ｋｇ、約６９ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約７１ｍｇ／ｋｇ、約７２ｍｇ／ｋｇ、約７３ｍｇ／ｋｇ、約７４ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ、約７６ｍｇ／ｋｇ、約７７ｍｇ／ｋｇ、約７８ｍｇ／ｋｇ、約７９ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約８１ｍｇ／ｋｇ、約８２ｍｇ／ｋｇ、約８３ｍｇ／ｋｇ、約８４ｍｇ／ｋｇ、約８５ｍｇ／ｋｇ、約８６ｍｇ／ｋｇ、約８７ｍｇ／ｋｇ、約８８ｍｇ／ｋｇ、約８９ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、約９１ｍｇ／ｋｇ、約９２ｍｇ／ｋｇ、約９３ｍｇ／ｋｇ、約９４ｍｇ／ｋｇ、約９５ｍｇ／ｋｇ、約９６ｍｇ／ｋｇ、約９７ｍｇ／ｋｇ、約９８ｍｇ／ｋｇ、約９９ｍｇ／ｋｇ、約１００ｍｇ／ｋｇ、約１１０ｍｇ／ｋｇ、約１２０ｍｇ／ｋｇ、約１３０ｍｇ／ｋｇ、約１４０ｍｇ／ｋｇ、約１５０ｍｇ／ｋｇ、約１６０ｍｇ／ｋｇ、約１７０ｍｇ／ｋｇ、約１８０ｍｇ／ｋｇ、約１９０ｍｇ／ｋｇ、約２００ｍｇ／ｋｇ、約２１０ｍｇ／ｋｇ、約２２０ｍｇ／ｋｇ、約２３０ｍｇ／ｋｇ、約２４０ｍｇ／ｋｇ、約２５０ｍｇ／ｋｇ、約２６０ｍｇ／ｋｇ、約２７０ｍｇ／ｋｇ、約２８０ｍｇ／ｋｇ、約２９０ｍｇ／ｋｇ、約３００ｍｇ／ｋｇ、約３１０ｍｇ／ｋｇ、約３２０ｍｇ／ｋｇ、約３３０ｍｇ／ｋｇ、約３４０ｍｇ／ｋｇ、約３５０ｍｇ／ｋｇ、約３６０ｍｇ／ｋｇ、約３７０ｍｇ／ｋｇ、約３８０ｍｇ／ｋｇ、約３９０ｍｇ／ｋｇ、約４００ｍｇ／ｋｇ、約４１０ｍｇ／ｋｇ、約４２０ｍｇ／ｋｇ、約４３０ｍｇ／ｋｇ、約４４０ｍｇ／ｋｇ、約４５０ｍｇ／ｋｇ、約４６０ｍｇ／ｋｇ、約４７０ｍｇ／ｋｇ、約４８０ｍｇ／ｋｇ、約４９０ｍｇ／ｋｇ、約５００ｍｇ／ｋｇ、約５１０ｍｇ／ｋｇ、約５２０ｍｇ／ｋｇ、約５３０ｍｇ／ｋｇ、約５４０ｍｇ／ｋｇ、約５５０ｍｇ／ｋｇ、約５６０ｍｇ／ｋｇ、約５７０ｍｇ／ｋｇ、約５８０ｍｇ／ｋｇ、約５９０ｍｇ／ｋｇ、約６００ｍｇ／ｋｇ、約６１０ｍｇ／ｋｇ、約６２０ｍｇ／ｋｇ、約６３０ｍｇ／ｋｇ、約６４０ｍｇ／ｋｇ、約６５０ｍｇ／ｋｇ、約６６０ｍｇ／ｋｇ、約６７０ｍｇ／ｋｇ、約６８０ｍｇ／ｋｇ、約６９０ｍｇ／ｋｇ、約７００ｍｇ／ｋｇ、約７１０ｍｇ／ｋｇ、約７２０ｍｇ／ｋｇ、約７３０ｍｇ／ｋｇ、約７４０ｍｇ／ｋｇ、約７５０ｍｇ／ｋｇ、約７６０ｍｇ／ｋｇ、約７７０ｍｇ／ｋｇ、約７８０ｍｇ／ｋｇ、約７９０ｍｇ／ｋｇ、約８００ｍｇ／ｋｇ、約８１０ｍｇ／ｋｇ、約８２０ｍｇ／ｋｇ、約８３０ｍｇ／ｋｇ、約８４０ｍｇ／ｋｇ、約８５０ｍｇ／ｋｇ、約８６０ｍｇ／ｋｇ、約８７０ｍｇ／ｋｇ、約８８０ｍｇ／ｋｇ、約８９０ｍｇ／ｋｇ、約９００ｍｇ／ｋｇ、約９１０ｍｇ／ｋｇ、約９２０ｍｇ／ｋｇ、約９３０ｍｇ／ｋｇ、約９４０ｍｇ／ｋｇ、約９５０ｍｇ／ｋｇ、約９６０ｍｇ／ｋｇ、約９７０ｍｇ／ｋｇ、約９８０ｍｇ／ｋｇ、約９９０ｍｇ／ｋｇ、又は約１０００ｍｇ／ｋｇの用量でヌクレオチドリピート伸長に関連する疾患と診断された患者に投与される。

【０４７３】

治療方法

本開示は、疾患の治療を必要とする対象における疾患を治療する方法であって、本明細書に開示される化合物及び／又はその化合物を含む組成物を投与することを含む、方法を提供する。複数の実施形態では、疾患は、本開示に提供される疾患のうちのいずれかである。複数の実施形態では、標的遺伝子又は遺伝子転写物は、本開示に提供される標的遺伝子又は遺伝子転写物のうちのいずれかである。

【０４７４】

複数の実施形態では、患者は、本明細書に記載のいずれかの疾患を有する又は有するリスクがあるとして特定される。複数の実施形態では、遺伝子／転写物の３’非翻訳領域内のＣＴＧ・ＣＵＧリピートに関連する疾患を治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、筋強直性ジストロフィーを治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、筋強直性ジストロフィー１型（ＤＭ１）を治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、ＳＣＡ８を治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、ＨＤＬ２を治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、ＦＥＣＤを治療する

ための方法が提供される。

【０４７５】

複数の実施形態では、治療とは、対象における１つ以上の症状の部分的又は完全な軽減、改善、緩和、抑制、その発症の遅延、その重症度の低下、及び／又はその発生率の低下を指す。

【０４７６】

疾患及び／又は疾患の症状の治療は、本明細書に記載の分子機構などの様々な分子機構を介して起こり得る。

【０４７７】

複数の実施形態では、標的遺伝子の発現及び／又は活性の改変を必要とする対象における標的遺伝子の発現及び／又は活性を改変するための方法であって、本明細書に開示される化合物を投与することを含む、方法が提供される。複数の実施形態では、治療により、標的転写物からの標的タンパク質の発現の低下がもたらされる。複数の実施形態では、治療により、標的転写物のレベルの低下がもたらされる。複数の実施形態では、治療により、標的転写物及び／又は標的転写物に結合するタンパク質によって調節される下流遺伝子転写物のスプライシングの調節がもたらされる。複数の実施形態では、下流遺伝子転写物のスプライシングの調節により、健常な表現型に関連する下流転写物及び／又は下流タンパク質アイソフォームの増加がもたらされる。複数の実施形態では、選択的スプライシングにより、疾患表現型に関連する下流転写物及び／又は下流タンパク質アイソフォームの減少がもたらされる。

【０４７８】

複数の実施形態では、少なくとも１つの伸長ＣＵＧリピートを含むプレｍＲＮＡへの少なくとも１つのＲＮＡ結合タンパク質の捕捉を減少させることによってＤＭ１を治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、少なくとも１つの伸長ＣＵＧリピートを含むプレｍＲＮＡの蓄積を減少させることによってＤＭ１を治療するための方法が提供される。複数の実施形態では、下流遺伝子転写物のスプライシング欠陥を補正することによってＤＭ１を治療するための方法が提供される。

【０４７９】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均タンパク質レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均タンパク質レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、標的転写物レベル並びに／又は標的転写物（例えば、ＤＭＰＫ、ＴＣＦ４、ＪＰＨ３、ＡＴＸＮ８ＯＳ、及び／若しくはＡＴＸＮ８）遺伝子の発現レベルの約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％超の減少がもたらされる。複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均転写物及び／若しくはタンパク質レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均転写物及び／若しくはタンパク質レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、標的転写物（例えば、ＤＭＰＫ、ＴＣＦ４、ＪＰＨ３、ＡＴＸＮ８ＯＳ、及び／若しくはＡＴＸＮ８）レベル並びに／又は標的転写物の発現レベルの約５％～約１００％、約１０％～約１００％、約２０％～約１００％、約５０％～約１００％、約７０％～約１００％、約８０％～約１００％、約９０％～約１００％、約９５％～約１００％、約４０％～約９５％、約５０％～約９５％、約７０％～約９５％、又は約９０％～約９５％の減少がもたらされる。

【０４８０】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均病巣レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均病巣レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、標的遺伝子（例えば、ＤＭＰＫ、ＴＣＦ４、ＪＰＨ３、ＡＴＸＮ８

ＯＳ、及び／又はＡＴＸＮ８）のＣＵＧリピートＲＮＡ核病巣の数の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％の減少がもたらされる。複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均病巣レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均病巣レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、標的遺伝子（例えば、ＤＭＰＫ、ＴＣＦ４、ＪＰＨ３、ＡＴＸＮ８ＯＳ、及び／又はＡＴＸＮ８）のＣＵＧリピートＲＮＡ核病巣の数の約５％～約１００％、約１０％～約１００％、約２０％～約１００％、約５０％～約１００％、約７０％～約１００％、約８０％～約１００％、約９０％～約１００％、約９５％～約１００％、約４０％～約９５％、約５０％～約９５％、約７０％～約９５％、又は約９０％～約９５％の減少がもたらされる。

【０４８１】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均タンパク質レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均タンパク質レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、疾患表現型に関連する下流転写物レベル及び／又は下流遺伝子産物の発現レベルの約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％超の減少がもたらされる。複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均タンパク質レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均タンパク質レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、疾患表現型に関連する下流転写物レベル及び／又は下流遺伝子産物の発現レベルの約５％超、例えば、約５％～約１００％、約１０％～約１００％、約２０％～約１００％、約５０％～約１００％、約７０％～約１００％、約８０％～約１００％、約９０％～約１００％、約９５％～約１００％、約４０％～約９５％、約５０％～約９５％、約７０％～約９５％、又は約９０％～約９５％の減少がもたらされる。

【０４８２】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均タンパク質レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均タンパク質レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、健常表現型に関連する下流転写物レベル及び／又は下流遺伝子産物の発現レベルの約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％超の増加がもたらされる。複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象における平均タンパク質レベル若しくは治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体の平均タンパク質レベルと比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、健常表現型に関連する下流転写物レベル及び／又は下流遺伝子産物の発現レベルの約５％～約１００％、約１０％～約１００％、約２０％～約１００％、約５０％～約１００％、約７０％～約１００％、約８０％～約１００％、約９０％～約１００％、約９５％～約１００％、約４０％～約９５％、約５０％～約９５％、約７０％～約９５％、又は約９０％～約９５％の増加がもたらされる。

【０４８３】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、三頭筋、前脛骨筋、腓腹筋、若しくは心臓における平均タンパク

質レベルと比較して、治療されていない類似の疾患を有する１体以上の対象個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、三頭筋、前脛骨筋、腓腹筋、若しくは心臓における疾患表現型に関連するタンパク質アイソフォームの発現の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％の減少がもたらされる。複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、三頭筋、前脛骨筋、腓腹筋、若しくは心臓における平均タンパク質レベルと比較して、治療されていない類似の疾患を有する１体以上の対象個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、三頭筋、前脛骨筋、腓腹筋、若しくは心臓における疾患表現型に関連するタンパク質アイソフォームの発現の約５％～約１００％、約１０％～約１００％、約２０％～約１００％、約５０％～約１００％、約７０％～約１００％、約８０％～約１００％、約９０％～約１００％、約９５％～約１００％、約４０％～約９５％、約５０％～約９５％、約７０％～約９５％、又は約９０％～約９５％の減少がもたらされる。

【０４８４】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、若しくは心臓における平均下流タンパク質レベルと比較して、治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、若しくは心臓における交互にスプライシングされた下流タンパク質の発現の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、約１００％、約１５０％、約２００％、約２５０％、約３００％、約３５０％、約４００％、約４５０％、約５００％、約５５０％、約６００％、約６５０％、約７００％、約７５０％、約８００、約８５０％、約９００％、約９５０％、又は約１０００％、又はそれ以上の増加がもたらされる。

【０４８５】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、若しくは心臓における平均野生型タンパク質異性体レベルと比較して、治療されていない類似の疾患を有する１体以上の対象個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の角膜組織、筋組織、横隔膜組織、四頭筋、若しくは心臓における野生型タンパク質異性体の発現の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％の増加又は減少がもたらされる。

【０４８６】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の目的とする組織における平均タンパク質レベルと比較して、治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の目的とする組織における発現の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％超の減少がもたらされる。

【０４８７】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の目的とする組織に

おける平均下流タンパク質レベルと比較して、治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の目的とする組織における交互にスプライシングされた下流タンパク質の発現の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、約１００％、約１５０％、約２００％、約２５０％、約３００％、約３５０％、約４００％、約４５０％、約５００％、約５５０％、約６００％、約６５０％、約７００％、約７５０％、約８００、約８５０％、約９００％、約９５０％、又は約１０００％、又はそれ以上の増加がもたらされる。

【０４８８】

複数の実施形態では、本開示による治療により、当該治療前の対象の目的とする組織における平均下流タンパク質レベルと比較して、治療を受けていない類似の疾患を有する１体以上の対照個体と比較して、又は本明細書に開示される環状ＣＰＰにコンジュゲートされていないＡＣでの治療と比較して、対象の目的とする組織における野生型下流タンパク質異性体の発現の約５％超、例えば、約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、及び約１００％超の増加又は減少がもたらされる。

【０４８９】

複数の実施形態では、対象の目的とする組織は、角膜組織又は筋組織である。

【０４９０】

本明細書で使用される「改善する」、「増加させる」、「減少させる」、「低下させる」などの用語は、対照と比較した値を示す。複数の実施形態では、好適な対照は、本明細書に記載の治療開始前の同じ個体の測定値、又は本明細書に記載の治療の不在下での対照個体（若しくは複数の対照個体）の測定値などのベースライン測定値である。対照個体は、（治療される個体及び対照個体における病期が同等であることを確実にするために）治療される個体とほぼ同じ年齢及び／又は性別である、同じ疾患に罹患している個体である。

【０４９１】

治療される個体（「患者」又は「対象」とも称される）は、疾患を有するか、又は疾患を発症する可能性のある個体（胎児、乳児、小児、青年、又は成人ヒト）である。個体は、異常な遺伝子発現又は異常な遺伝子スプライシングによって媒介される疾患を有し得る。様々な実施形態では、疾患を有する個体は、疾患に罹患していない個体における正常な野生型タンパク質発現又は活性レベルの約１～９９％未満である下流タンパク質発現又は活性レベルを有し得る。複数の実施形態では、この範囲には、正常な野生型タンパク質発現又は活性レベルの約８０～９９％未満、約６５～８０％未満、約５０～６５％未満、約３０～５０％未満、約２５～３０％未満、約２０～２５％未満、約１５～２０％未満、約１０～１５％未満、約５～１０％未満、約１～５％未満が含まれるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、個体は、疾患に罹患していない個体における正常な野生型標的タンパク質発現又は活性レベルよりも１～５００％高い下流タンパク質発現又は活性レベルを有し得る。複数の実施形態では、この範囲は、野生型標的タンパク質発現又は活性レベルの約１超～１０％、約１０～５０％、約５０～１００％、約１００～２００％、約２００～３００％、約３００～４００％、約４００～５００％、又は約５００～１０００％が含まれるが、これらに限定されない。

【０４９２】

複数の実施形態では、個体は、最近疾患と診断された個体である。典型的には、早期治療（診断後できる限り早く開始する治療）は、疾患の影響を最小限に抑え、治療の利点を最大化するために重要である。

【０４９３】

ある特定の定義
発明を実施するための形態及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」には、文脈が別途明確に指示しない限り、複数の指示対象が含まれる。したがって、例えば、「組成物（ａ　ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ）」への言及には、２つ以上のかかる組成物の混合物が含まれ、「薬剤（ａｎ　ａｇｅｎｔ）」への言及には、２つ以上のかかる薬剤の混合物が含まれ、「構成成分（ｔｈｅ　ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」への言及には、２つ以上のかかる構成成分の混合物が含まれるといった具合である。

【０４９４】
数値の直前の「約」という用語は、範囲（例えば、その値のプラス又はマイナス２０％、１０％、又は５％）を意味する。例えば、本開示の文脈が別途指示しない限り、又はかかる解釈と矛盾しない限り、「約５０」は、４５～５５を意味することができ、「約２５，０００」は、２２，５００～２７，５００を意味することができる。例えば、「約４９、約５０、約５５、．．．」などの数値のリストでは、「約５０」とは、先行値と後続値との間の間隔の半分未満、例えば、４９．５超～５２．５未満にわたる範囲を意味する。更に、「約」ある値「未満」又は「約」ある値「超の」という語句は、本明細書に提供される「約」という用語の定義を考慮して理解されるべきである。同様に、一連の数値又は値の範囲（例えば、約１０、２０、３０、又は約１０～３０）に先行する「約」という用語は、それぞれ、その一連の全ての値又はその範囲の終点を指す。

【０４９５】
本明細書で使用される場合、「細胞膜透過性ペプチド」又は「ＣＰＰ」とは、カーゴ、例えば、治療部分（ＴＭ）の細胞への送達を容易にするペプチドを指す。複数の実施形態では、ＣＰＰは、環状であり、「ｃＣＰＰ」として表される。複数の実施形態では、ｃＣＰＰは、治療部分に細胞の膜を透過するように指示することができる。複数の実施形態では、ｃＣＰＰは、治療部分を細胞のサイトゾルに送達する。複数の実施形態では、ｃＣＰＰは、アンチセンス化合物（ＡＣ）を、プレｍＲＮＡが位置する細胞位置に送達する。

【０４９６】
本明細書で使用される場合、「エンドソームエスケープビヒクル」（ＥＥＶ）という用語は、リンカー及び／又は環外ペプチド（ＥＰ）への化学結合（すなわち、共有結合又は非共有結合相互作用）によってコンジュゲートされたｃＣＰＰを指す。ＥＥＶは、式（Ｂ）のＥＥＶとすることができる。

【０４９７】
本明細書で使用される場合、「ＥＥＶ－コンジュゲート」という用語は、カーゴへの化学結合（すなわち、共有結合又は非共有結合相互作用）によってコンジュゲートされた本明細書で定義されるエンドソームエスケープビヒクルを指す。カーゴは、ＥＥＶによって細胞内に送達され得る治療部分（例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、又は小分子）とすることができる。ＥＥＶ－コンジュゲートは、式（Ｃ）のＥＥＶ－コンジュゲートとすることができる。

【０４９８】
本明細書で使用される場合、「環外ペプチド」（ＥＰ）及び「調節ペプチド」（ＭＰ）という用語は、本明細書に開示される環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）にコンジュゲートされ得るペプチド結合によって連結された２つ以上のアミノ酸残基を指すために互換的に使用され得る。ＥＰは、本明細書に開示される環状ペプチドにコンジュゲートされると、本化合物の組織分布及び／又は保持を改変し得る。典型的には、ＥＰは、少なくとも１つの正に荷電したアミノ酸残基、例えば、少なくとも１つのリジン残基及び／又は少なくとも１つのアルギニン残基を含む。ＥＰの非限定的な例が本明細書に記載される。ＥＰは、当該技術分野で「核局在化配列」（ＮＬＳ）として特定されているペプチドとすることができる。核局在化配列の非限定的な例としては、ＳＶ４０ウイルスラージＴ抗原の核局在化配列（その最小機能単位は７アミノ酸配列ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４２）である）、配列ＮＬＳＫＲＰＡＡＩＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫ（配列番号５２）を有するヌクレオ

プラスミン二分ＮＬＳ、アミノ酸配列ＰＡＡＫＲＶＫＬＤ（配列番号５３）又はＲＱＲＲＮＥＬＫＲＳＦ（配列番号５４）を有するｃ－ｍｙｃ核局在化配列、インポーチン－アルファ由来のＩＢＢドメインの配列ＲＭＲＫＦＫＮＫＧＫＤＴＡＥＬＲＲＲＶＥＶＳＶＥＬＲＫＡＫＫＤＥＱＩＬＫＲＲＮＶ（配列番号５０）、筋腫Ｔタンパク質の配列ＶＳＲＫＲＰＲＰ（配列番号５７）及びＰＰＫＫＡＲＥＤ（配列番号５８）、ヒトｐ５３の配列ＰＱＰＫＫＫＰＬ（配列番号５９）、マウスｃ－ａｂｌ　ＩＶの配列ＳＡＬＩＫＫＫＫＫＭＡＰ（配列番号６０）、インフルエンザウイルスＮＳ１の配列ＤＲＬＲＲ（配列番号６１）及びＰＫＱＫＫＲＫ（配列番号６２）、肝炎ウイルスデルタ抗原の配列ＲＫＬＫＫＫＩＫＫＬ（配列番号６３）、マウスＭｘｌタンパク質の配列ＲＥＫＫＫＦＬＫＲＲ（配列番号６４）、ヒトポリ（ＡＤＰ－リボース）ポリメラーゼの配列ＫＲＫＧＤＥＶＤＧＶＤＥＶＡＫＫＫＳＫＫ（配列番号６５）、並びにステロイドホルモン受容体（ヒト）グルココルチコイドの配列ＲＫＣＬＱＡＧＭＮＬＥＡＲＫＴＫＫ（配列番号６６）が挙げられる。国際公開第２００１／０３８５４７号は、ＮＬＳの追加の例を記載しており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０４９９】

本明細書で使用される場合、「リンカー」又は「Ｌ」とは、１つ以上の部分（例えば、環外ペプチド（ＥＰ）及びカーゴ、例えば、オリゴヌクレオチド、ペプチド、又は小分子）を環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）に共有結合する部分を指す。リンカーは、天然又は非天然アミノ酸又はポリペプチドを含むことができる。リンカーは、ｃＣＰＰをカーゴ部分に結合し、それにより、本明細書に開示される化合物を形成するのに好適な２つ以上の適切な官能基を含む合成化合物とすることができる。リンカーは、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部分を含むことができる。リンカーは、１個以上のアミノ酸を含むことができる。ｃＣＰＰは、リンカーを介してカーゴに共有結合され得る。

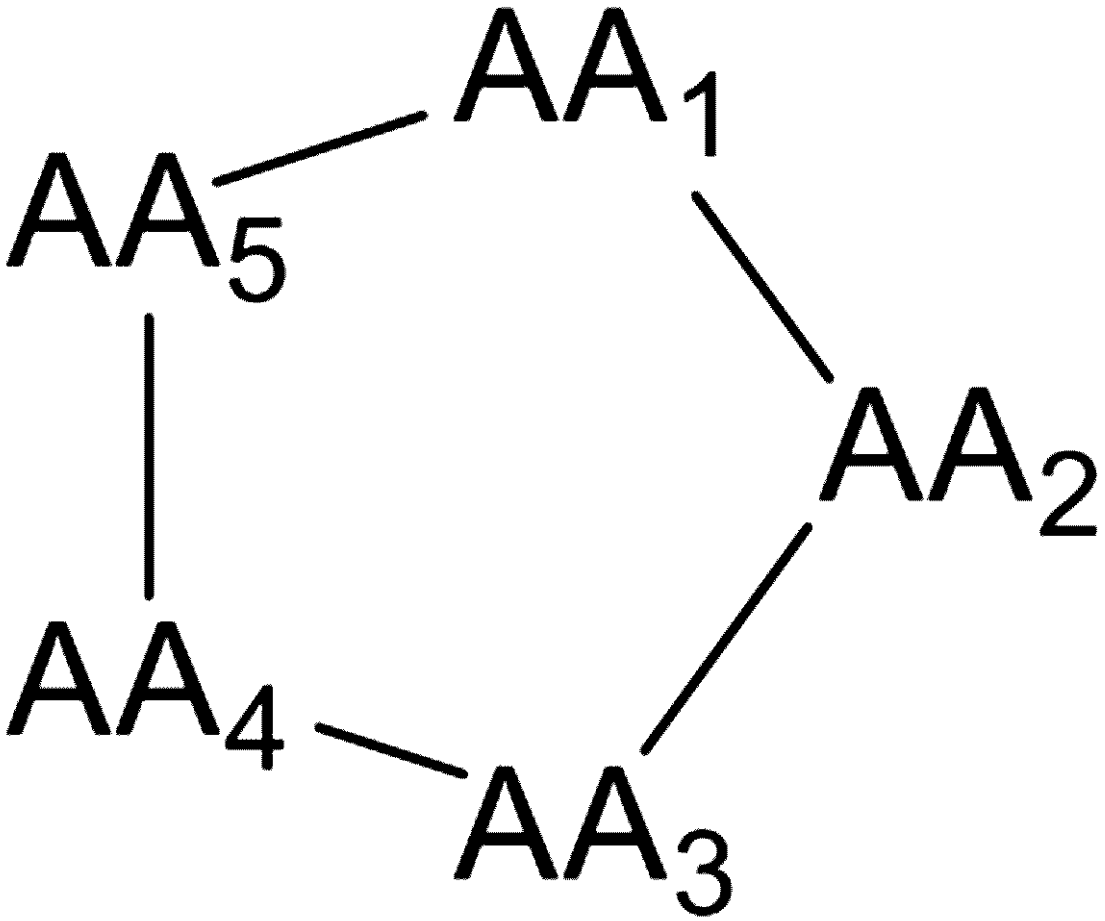
【０５００】

「ペプチド」、「タンパク質」、及び「ポリペプチド」という用語は、１つのアミノ酸のカルボキシル基によって別のアミノ酸のアルファアミノ基に連結された２つ以上のアミノ酸を含む天然又は合成分子を指すために互換的に使用される。２つ以上のアミノ酸残基は、１つのアミノ酸のカルボキシル基によってアルファアミノ基に連結することができる。ポリペプチドの２つ以上のアミノ酸は、ペプチド結合によって結合することができる。ポリペプチドは、２つ以上のアミノ酸がペプチド結合以外の結合によって共有結合しているペプチド骨格修飾を含むことができる。ポリペプチドは、ポリペプチドに組み込むことができる１つ以上の非天然アミノ酸、アミノ酸類似体、又は他の合成分子を含むことができる。ポリペプチドという用語は、天然に存在するアミノ酸及び人工的に産出されたアミノ酸を含む。ポリペプチドという用語は、抗体、酵素、受容体、可溶性タンパク質などの治療用タンパク質を含むが、これらに限定されない、例えば、約２～約１００個のアミノ酸残基を含むペプチド、並びに約１００個超のアミノ酸残基、又は約１０００個超のアミノ酸残基を含むタンパク質を含む。

【０５０１】

本明細書で使用される場合、「連続した」という用語は、共有結合によって結合された２つのアミノ酸を指す。例えば、

【化１４８】

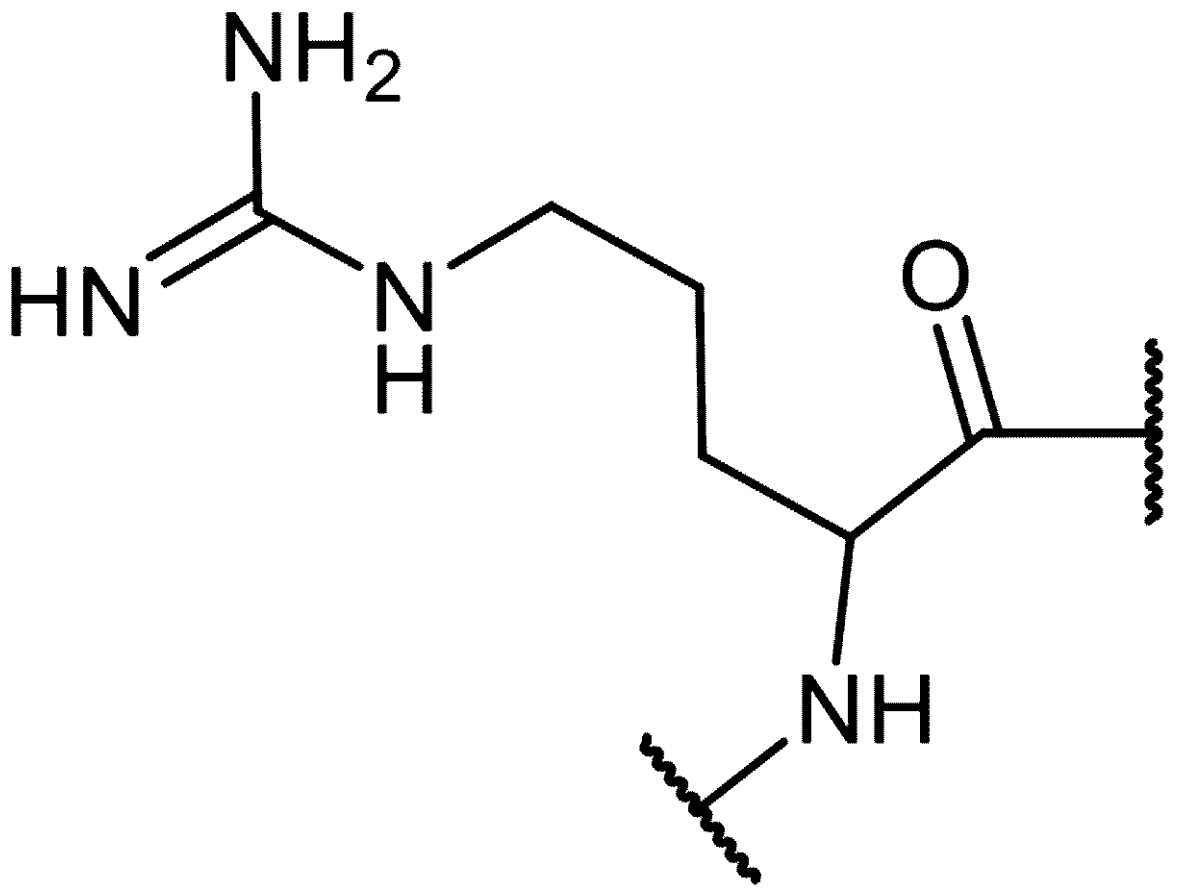


ＡＡ１／ＡＡ２、ＡＡ２／ＡＡ３、ＡＡ３／ＡＡ４、及びＡＡ５／ＡＡ１などの代表的な環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）との関連で、連続したアミノ酸の対を例示する。

【０５０２】

化学種の残基とは、本明細書で使用される場合、特定の生成物中に存在する化学種の誘導体を指す。生成物を形成するために、種の少なくとも１つの原子が別の部分への結合によって置き換えられ、これにより、生成物が化学種の誘導体又は残基を含むようになる。例えば、本明細書に記載の環状細胞膜透過性ペプチド（ｃＣＰＰ）は、１つ以上のペプチド結合の形成によりアミノ酸（例えば、アルギニン）がその中に組み込まれている。ｃＣＰＰに組み込まれたアミノ酸は、残基、又は単にアミノ酸と称され得る。例えば、アルギニン又はアルギニン残基は、

【化１４９】

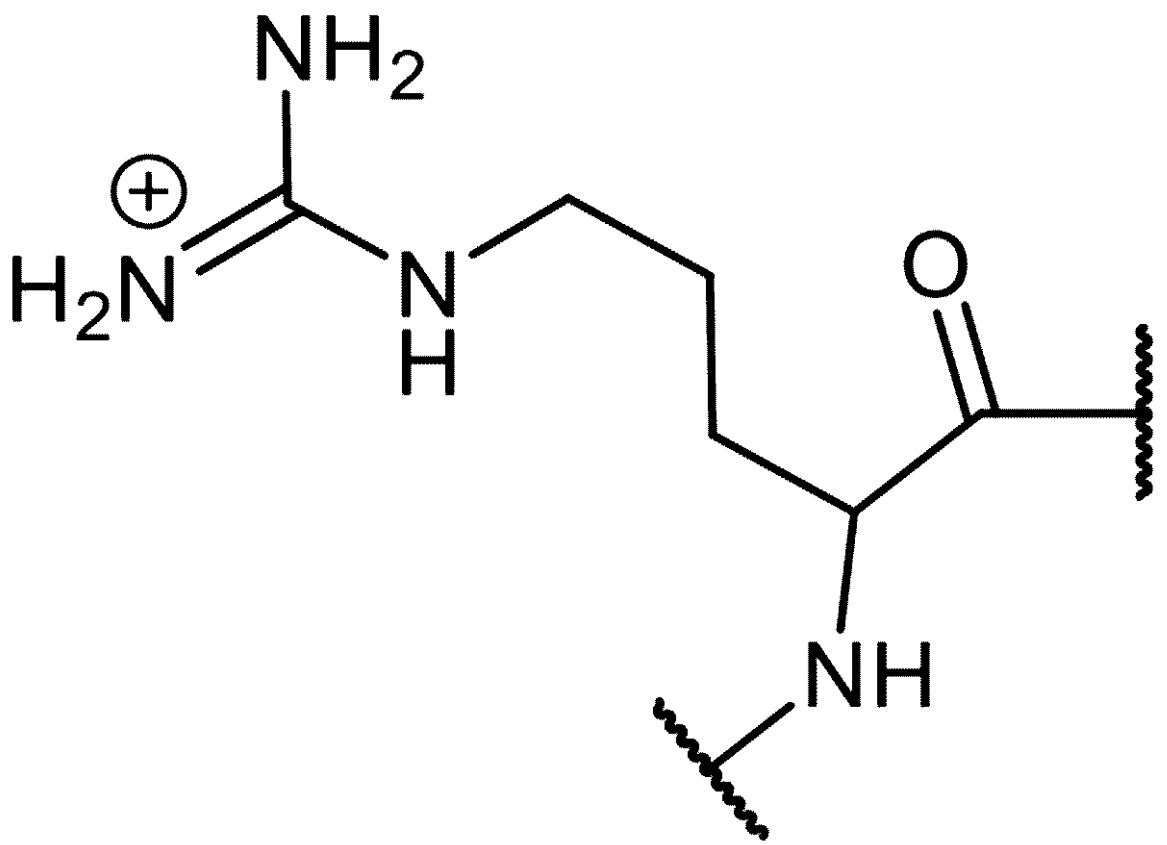


を指す。

【０５０３】

「そのプロトン化形態」という用語は、アミノ酸又は側鎖のプロトン化形態を指す。例えば、アルギニンの側鎖上のグアニジン基をプロトン化して、グアニジニウム基を形成することができる。アルギニンのプロトン化形態の構造は、

【化１５０】



である。

【０５０４】

本明細書で使用される場合、「キラリティ」という用語は、一方の立体異性体が他方の立体異性体の非超越性重ね合わせることができない鏡像である、原子の三次元空間配置が異なる２つ以上の立体異性体を有する分子を指す。アミノ酸は、グリシンを除いて、カルボキシル基に隣接するキラル炭素原子を有する。「エナンチオマー」という用語は、キラルである立体異性体を指す。キラル分子は、「Ｄ」エナンチオマー及び「Ｌ」エナンチオマーを有するアミノ酸残基とすることができる。グリシンなどのキラル中心を有しない分子は、「アキラル」と称することができる。

【０５０５】

本明細書で使用される場合、「疎水性」という用語は、水に溶けないか、又は水に最小限にしか溶けない部分を指す。一般に、中性部分及び／若しくは非極性部分、又は主に中性及び／若しくは非極性である部分は、疎水性である。疎水性は、本明細書に開示される方法のうちの１つによって測定することができる。

【０５０６】

本明細書で使用される場合、「芳香族」とは、４ｎ＋２π電子（式中、ｎが任意の整数である）を有する不飽和環状分子を指す。以下に定義される「ヘテロ芳香族」は、芳香族のサブセットである。芳香族アミノ酸の例としては、フェニルアラニン及びナプチルアラニンが挙げられる。「非芳香族」という用語は、芳香族の定義に含まれないあらゆる分子を指す。例えば、芳香族の定義に含まれないいずれの直鎖状、分岐状、又は環状分子も非芳香族である。非芳香族アミノ酸の例としては、グリシン及びシトルリンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０５０７】

「アルキル」、「アルキル鎖」、又は「アルキル基」とは、１～４０個の炭素原子を有し、かつ単結合によって分子の残りの部分に結合している、完全飽和直鎖状又は分岐状炭化水素鎖ラジカルを指す。１～４０個の任意の数の炭素原子を含むアルキルが含まれる。最大４０個の炭素原子を含むアルキルは、C_1－C_{40}アルキルであり、最大１０個の炭素原子を含むアルキルは、C_1－C_{10}アルキルであり、最大６個の炭素原子を含むアルキルは、C_1－C_6アルキルであり、最大５個の炭素原子を含むアルキルは、C_1－C_5アルキルである。C_1－C_5アルキルには、C_5アルキル、C_4アルキル、C_3アルキル、C_2アルキル、及びC_1アルキル（すなわち、メチル）が含まれる。C_1－C_6アルキルには、C_1－C_5アルキルについて上述した全ての部分が含まれるが、C_6アルキルも含まれる。C_1－C_{10}アルキルには、C_1－C_5アルキル及びC_1－C_6アルキルについて上述した全ての部分が含まれるが、C_7アルキル、C_8アルキル、C_9アルキル、及びC_{10}アルキルも含まれる。同様に、C_1－C_{12}アルキルには、前述の全ての部分が含まれるが、C_{11}アルキル及びC_{12}アルキルも含まれる。C_1－C_{12}アルキルの非限定的な例としては、メチル、エチル、ｎ－プロピル、ｉ－プロピル、ｓｅｃ－プロピル、ｎ－ブチル、ｉ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、ｔ－アミル、ｎ－ヘキシル、ｎ－ヘプチル、ｎ－オクチル、ｎ－ノニル、ｎ－デシル、ｎ－ウンデシル、及びｎ－ドデシルが挙げられる。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルキル基は、任意選択で置換され得る。

【０５０８】

「アルキレン」、「アルキレン鎖」、又は「アルキレン基」とは、１～４０個の炭素原子を有する、完全飽和直鎖状又は分岐状二価炭化水素鎖ラジカルを指す。C_2－C_{40}アルキレンの非限定的な例としては、エチレン、プロピレン、ｎ－ブチレン、エテニレン、プロペニレン、ｎ－ブテニレン、プロピニレン、ｎ－ブチニレンなどが挙げられる。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルキレン鎖は、任意選択で置換され得る。

【０５０９】

「アルケニル」、「アルケニル鎖」、又は「アルケニル基」とは、２～４０個の炭素原子を有し、かつ１つ以上の炭素－炭素二重結合を有する、直鎖状又は分岐状炭化水素鎖ラジカルを指す。アルケニル基は各々、単結合によって分子の残りの部分に結合している。２～４０個の任意の数の炭素原子を含むアルケニル基が含まれる。最大４０個の炭素原子を含むアルケニル基は、C_2－C_{40}アルケニルであり、最大１０個の炭素原子を含むアルケニルは、C_2－C_{10}アルケニルであり、最大６個の炭素原子を含むアルケニル基は、C_2－C_6アルケニルであり、最大５個の炭素原子を含むアルケニルは、C_2－C_5アルケニルである。C_2－C_5アルケニルには、C_5アルケニル、C_4アルケニル、C_3アルケニル、及びC_2アルケニルが含まれる。C_2－C_6アルケニルには、C_2－C_5アルケニルについて上述した全ての部分が含まれるが、C_6アルケニルも含まれる。C_2－C_{10}アルケニルには、C_2－C_5アルケニル及びC_2－C_6アルケニルについて上述した全ての部分が含まれるが、C_7アルケニル、C_8アルケニル、C_9アルケニル、及びC_{10}アルケニルも含まれる。同様に、C_2－C_{12}アルケニルには、前述の全ての部分が含まれるが、C_{11}アルケニル及びC_{12}アルケニルも含まれる。C_2－C_{12}アルケニルの非限定的な例としては、エテニル（ビニル）、１－プロペニル、２－プロペニル（アリル）、イソ－プロペニル、２－メチル－１－プロペニル、１－ブテニル、２－ブテニル、３－ブテニル、１－ペンテニル、２－ペンテニル、３－ペンテニル、４－ペンテニル、１－ヘキセニル、２－ヘキセニル、３－ヘキセニル、４－ヘキセニル、５－ヘキセニル、１－ヘプテニル、２－ヘプテニル、３－ヘプテニル、４－ヘプテニル、５－ヘプテニル、６－ヘプテニル、１－オクテニル、２－オクテニル、３－オクテニル、４－オクテニル、５－オクテニル、６－オクテニル、７－オクテニル、１－ノネニル、２－ノネニル、３－ノネニル、４－ノネニル、５－ノネニル、６－ノネニル、７－ノネニル、８－ノネニル、１－デセニル、２－デセニル、３－デセニル、４－デセニル、５－デセニル、６－デセニル、７－デセニル、８－デセニル、９－デセニル、１－ウンデセニル、２－ウンデセニル、３－ウンデセニル、４－ウンデセニル、５－ウンデセニル、６－ウンデセニル、７－ウン

デセニル、８－ウンデセニル、９－ウンデセニル、１０－ウンデセニル、１－ドデセニル、２－ドデセニル、３－ドデセニル、４－ドデセニル、５－ドデセニル、６－ドデセニル、７－ドデセニル、８－ドデセニル、９－ドデセニル、１０－ドデセニル、及び１１－ドデセニルが挙げられる。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルキル基は、任意選択で置換され得る。

【０５１０】

「アルケニレン」、「アルケニレン鎖」、又は「アルケニレン基」とは、２～４０個の炭素原子を有し、かつ１つ以上の炭素－炭素二重結合を有する、直鎖状又は分岐状二価炭化水素鎖ラジカルを指す。C_2－C_{40}アルケニレンの非限定的な例としては、エテン、プロペン、ブテンなどが挙げられる。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルケニレン鎖は、任意選択とすることができる。

【０５１１】

「アルコキシ」又は「アルコキシ基」とは、－ＯＲ基（式中、Ｒが、本明細書に定義されるアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、又はヘテロシクリルである）を指す。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルコキシ基は、任意選択で置換され得る。

【０５１２】

「アシル」又は「アシル基」とは、－Ｃ（Ｏ）Ｒ基（式中、Ｒが、本明細書に定義される水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、又はヘテロシクリルである）を指す。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アシルは、任意選択で置換され得る。

【０５１３】

「アルキルカルバモイル」又は「アルキルカルバモイル基」とは、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－ＮR_aR_b基（式中、R_a及びR_bが同じであるか若しくは異なり、独立して、本明細書に定義されるアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリールであるか、又はR_aR_bが一緒になって、本明細書に定義されるシクロアルキル基若しくはヘテロシクリル基を形成することができる）を指す。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルキルカルバモイル基は、任意選択で置換され得る。

【０５１４】

「アルキルカルボキサミジル」又は「アルキルカルボキサミジル基」とは、－Ｃ（Ｏ）－ＮR_aR_b基（式中、R_a及びR_bが同じであるか若しくは異なり、独立して、本明細書に定義されるアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、若しくはヘテロシクリル基であるか、又はR_aR_bが一緒になって、本明細書に定義されるシクロアルキル基を形成することができる）を指す。本明細書に別段の明確な記載がない限り、アルキルカルボキサミジル基は、任意選択で置換され得る。

【０５１５】

「アリール」とは、水素、６～１８個の炭素原子、及び少なくとも１個の芳香族環を含む、炭化水素環系ラジカルを指す。本発明の目的のために、アリールラジカルは、縮合環系又は架橋環系を含むことができる、単環式、二環式、三環式、又は四環式環系とすることができる。アリールラジカルには、アセアントリレン、アセナフチレン、アセフェナントリレン、アントラセン、アズレン、ベンゼン、クリセン、フルオランテン、フルオレン、ａｓ－インダセン、ｓ－インダセン、インダン、インデン、ナフタレン、フェナレン、フェナントレン、プレイアデン、ピレン、及びトリフェニレンに由来するアリールラジカルが含まれるが、これらに限定されない。本明細書に別段の明確な記載がない限り、「アリール」という用語は、任意選択で置換されるアリールラジカルを含むよう意図されている。

【０５１６】

「ヘテロアリール」とは、水素原子、１～１３個の炭素原子、窒素、酸素、及び硫黄から選択される１～６個のヘテロ原子、並びに少なくとも１個の芳香族環を含む、５～２０

員環系ラジカルを指す。本発明の目的のために、ヘテロアリールラジカルは、縮合環系又は架橋環系を含むことができ、ヘテロアリールラジカル中の窒素、炭素、又は硫黄原子が任意選択で酸化され得、窒素原子が任意選択で四級化され得る、単環式、二環式、三環式、又は四環式環系とすることができる。例としては、アゼピニル、アクリジニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズインドリル、ベンゾジオキソリル、ベンゾフラニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾ［ｂ］［１，４］ジオキセピニル、１，４－ベンゾジオキサニル、ベンゾナフトフラニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾジオキソリル、ベンゾジオキシニル、ベンゾピラニル、ベンゾピラノニル、ベンゾフラニル、ベンゾフラノニル、ベンゾチエニル（ベンゾチオフェニル）、ベンゾトリアゾリル、ベンゾ［４，６］イミダゾ［１，２－ａ］ピリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、ジベンゾフラニル、ジベンゾチオフェニル、フラニル、フラノニル、イソチアゾリル、イミダゾリル、インダゾリル、インドリル、インダゾリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、イソキノリル、インドリジニル、イソオキサゾリル、ナフチリジニル、オキサジアゾリル、２－オキソアゼピニル、オキサゾリル、オキシラニル、１－オキシドピリジニル、１－オキシドピリミジニル、１－オキシドピラジニル、１－オキシドピリダジニル、１－フェニル－１Ｈ－ピロリル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、フタラジニル、プテリジニル、プリニル、ピロリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、キノリニル、キヌクリジニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、チアゾリル、チアジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、トリアジニル、及びチオフェニル（すなわち、チエニル）が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に別段の明確な記載がない限り、ヘテロアリール基は、任意選択で置換され得る。

【０５１７】

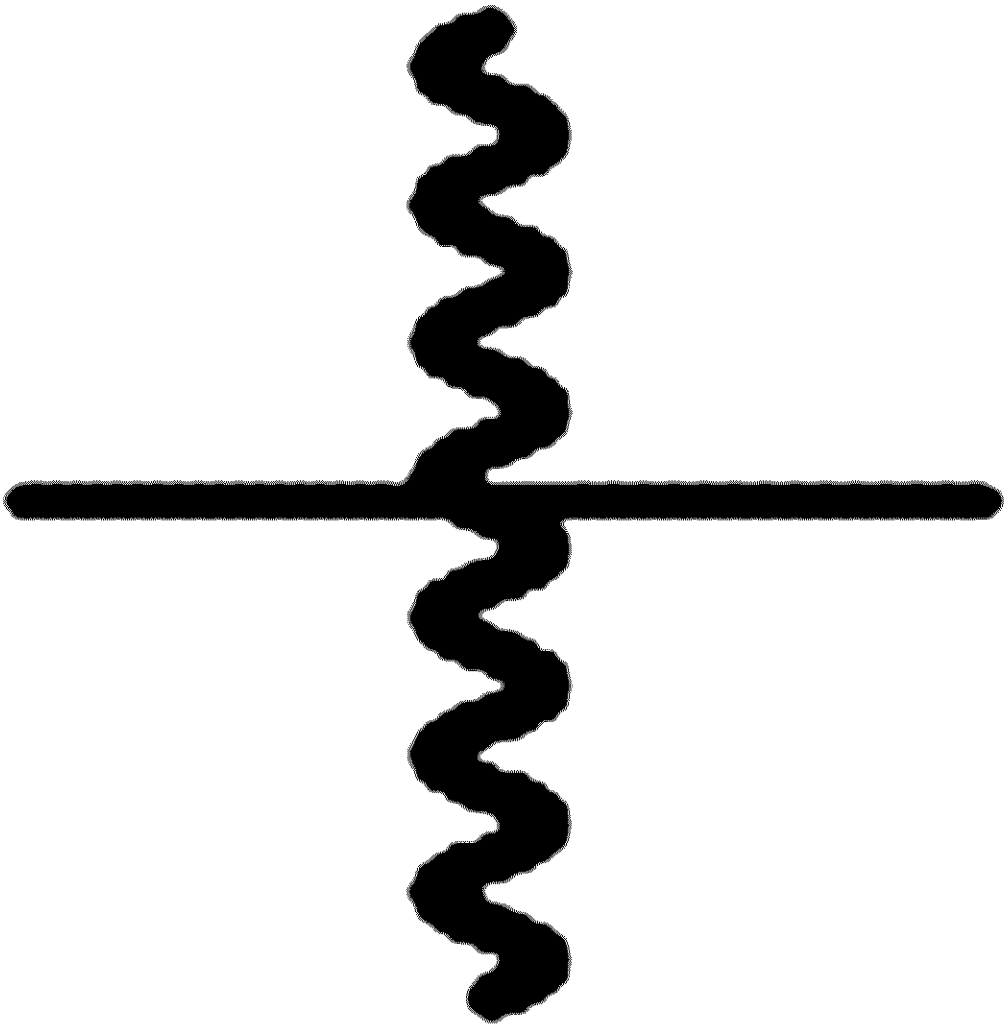
本明細書で使用される「置換される」という用語は、少なくとも１個の原子が、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、及びＩなどのハロゲン原子；ヒドロキシル基、アルコキシ基、及びエステル基などの基中の酸素原子；チオール基、チオアルキル基、スルホン基、スルホニル基、及びスルホキシド基などの基中の硫黄原子；アミン、アミド、アルキルアミン、ジアルキルアミン、アリール、アルキルアリールアミン、ジアリール、Ｎ－オキシド、イミド、及びエナミンなどの基中の窒素原子；トリアルキルシリル基、ジアルキルアリールシリル基、アルキルジアリルシリル基、及びトリアリールシリル基などの基中のシリコン原子；並びに様々な他の基中の他のヘテロ原子などであるが、これらに限定されない非水素原子によって置き換えられる、上記の基（すなわち、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、アリールオキシ、アシル、アルキルカルバモイル、アルキルカルボキサミジル、アルコキシカルボニル、アルキルチオ、又はアリールチオ）のうちのいずれかを意味する。「置換される」とは、１個以上の原子が、オキソ基、カルボニル基、カルボキシル基、及びエステル基中の酸素などのヘテロ原子、並びにイミン、オキシム、ヒドラゾン、及びニトリルなどの基中の窒素への高次結合（例えば、二重結合又は三重結合）によって置き換えられる、上記の基のうちのいずれかも意味する。例えば、「置換される」は、１個以上の原子が、－ＮＲ$_g$Ｒ$_h$、－ＮＲ$_g$Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_h$、－ＮＲ$_g$Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_g$Ｒ$_h$、－ＮＲ$_g$Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_h$、－ＮＲ$_g$ＳＯ$_2$Ｒ$_h$、－ＯＣ（＝Ｏ）ＮＲ$_g$Ｒ$_h$、－ＯＲ$_g$、－ＳＲ$_g$、－ＳＯＲ$_g$、－ＳＯ$_2$Ｒ$_g$、－ＯＳＯ$_2$Ｒ$_g$、－ＳＯ$_2$ＯＲ$_g$、＝ＮＳＯ$_2$Ｒ$_g$、及び－ＳＯ$_2$ＮＲ$_g$Ｒ$_h$で置き換えられる、上記の基のうちのいずれかを含む。「置換される」とは、１個以上の水素原子が、－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_g$、－Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_g$、－Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_g$Ｒ$_h$、－ＣＨ$_2$ＳＯ$_2$Ｒ$_g$、－ＣＨ$_2$ＳＯ$_2$ＮＲ$_g$Ｒ$_h$で置き換えられる、上記の基のうちのいずれかも意味する。前述において、Ｒ$_g$及びＲ$_h$は、同一であるか又は異なり、独立して、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルアミノ、チオアルキル、アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、シクロアルキルアルキル、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、ヘテロシクリル、Ｎ－ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロ

アリール、Ｎ－ヘテロアリール、及び／又はヘテロアリールアルキルである。「置換される」とは、１個以上の原子が、アミノ、シアノ、ヒドロキシル、イミノ、ニトロ、オキソ、チオキソ、ハロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルアミノ、チオアルキル、アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、シクロアルキルアルキル、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、ヘテロシクリル、Ｎ－ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、Ｎ－ヘテロアリール、及び／又はヘテロアリールアルキル基によって置き換えられる、上記の基のうちのいずれかを更に意味する。「置換される」とは、側鎖上の１個以上の原子が、アルキル、アルケニル、アルキニル、アシル、アルキルカルボキサミジル、アルコキシカルボニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、又はヘテロアリールによって置き換えられる、アミノ酸を意味することもできる。加えて、前述の置換基は各々、上記の置換基のうちの１つ以上で任意選択で置換される場合もある。

【０５１８】

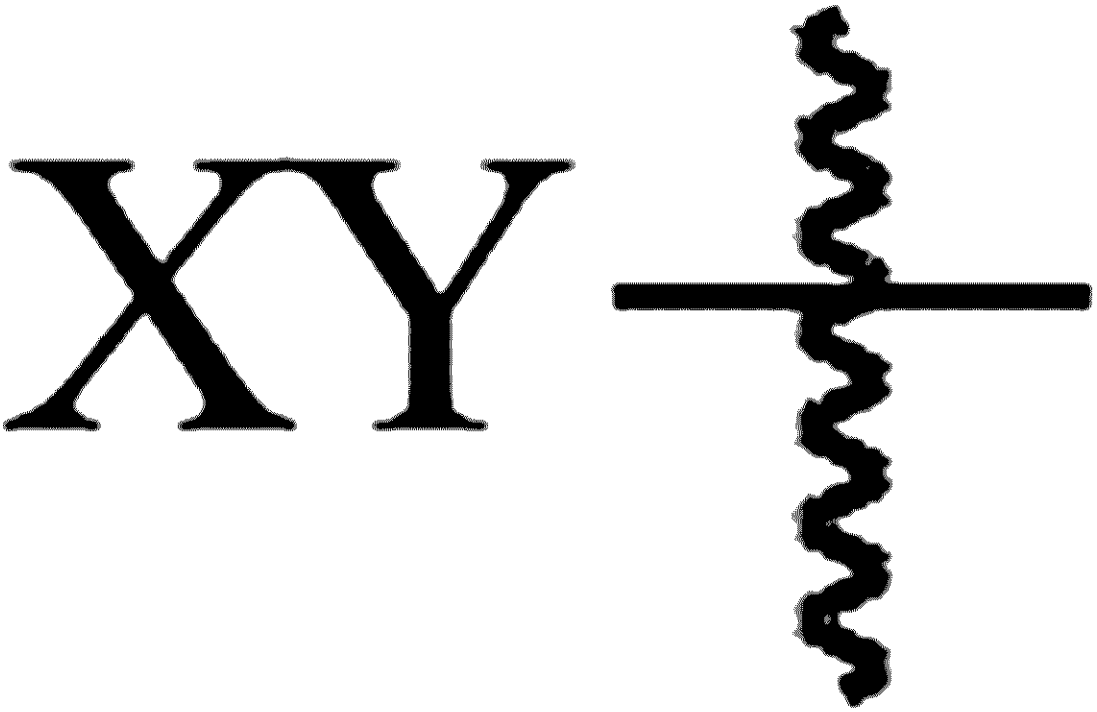
本明細書で使用される場合、

【化１５１】



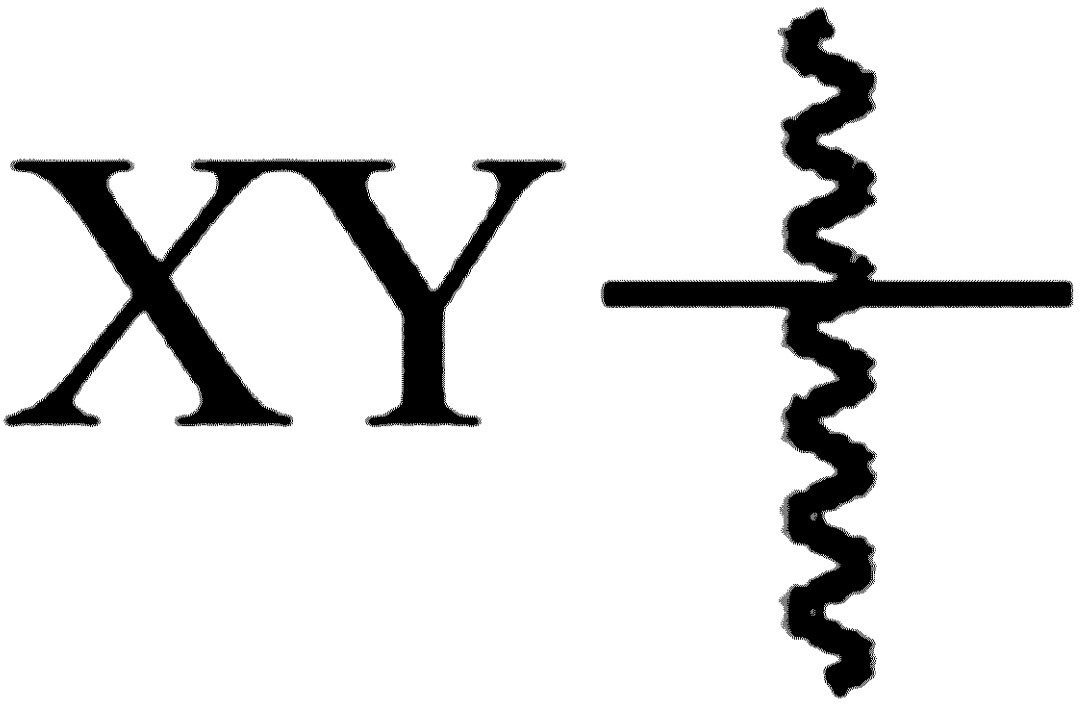
「」
という記号（以下、「結合点」と称することができる）は、一方が結合点に結合していると示され、他方が結合点に結合していると示されていない、２つの化学実体間の結合点である結合を示す。例えば、

【化１５２】



「」
は、化学実体「ＸＹ」が結合点を介して別の化学実体に結合していることを示す。更に、図示されていない化学実体への特定の結合点は、推測によって特定することができる。例えば、化合物CH_3-R^3（式中、R^3がＨ又は

【化１５３】



「」
である）は、Ｒ^{3}が「ＸＹ」である場合、結合点が、Ｒ^{3}がＣＨ$_{3}$に結合していると示される結合と同じ結合であると推測する。

【０５１９】

本明細書で使用される場合、「対象」とは、個体を意味する。したがって、「対象」は、飼い慣らされた動物（例えば、ネコ、イヌなど）、家畜（例えば、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギなど）、実験動物（例えば、マウス、ウサギ、ラット、モルモットなど）、及びトリを含むことができる。「対象」は、霊長類又はヒトなどの哺乳動物を含むこともできる。したがって、対象は、ヒト又は獣医患者とすることができる。「患者」という用語は、臨床医、例えば、医師の治療を受けている対象を指す。

【０５２０】

「抑制する」、「抑制すること」、又は「抑制」という用語は、活性、発現、機能、又は他の生物学的パラメータの低下を指し、活性、発現、機能、又は他の生物学的パラメータの完全消失を含むことができるが、それを必要としない。抑制は、例えば、対照と比較して、活性、応答、状態、又は疾患の少なくとも約１０％の減少を含むことができる。複数の実施形態では、遺伝子又はタンパク質の発現、活性、又は機能は、統計的に有意な量低下する。複数の実施形態では、活性又は機能は、少なくとも約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、及び最大約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、又は約１００％低下する。

【０５２１】

「減少させる」又は「減少させること」若しくは「減少」などの他の形態の単語は、事象又は特徴（例えば、腫瘍成長）の低下を意味する。これは、典型的には、何らかの標準値又は期待値との関連であり、言い換えれば、これは相対的であるが、標準値又は相対値

の参照が必ずしも必要ではないことが理解される。例えば、「腫瘍成長を減少させる」とは、標準又は対照（例えば、未処理の腫瘍）と比較して腫瘍の成長速度を減少させることを意味する。

【０５２２】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療すること」、「治療」、及びそれらの変形は、本明細書に記載の疾患の１つ以上の症状又は特徴を部分的又は完全に軽減する、改善する、緩和する、抑制する、その発症を遅延させる、その重症度を低下させる、及び／又はその発生率を低下させる開示される化合物の任意の投与を指す。患者に関して、「治療」という用語は、疾患、病理学的状態、又は障害の治癒、改善、安定化、又は予防を意図した患者の医学的管理を指す。この用語には、能動的治療、すなわち、特に疾患、病理学的状態、又は障害の改善を対象とした治療が含まれ、原因治療、すなわち、関連疾患、病理学的状態、又は障害の原因の除去を対象とした治療も含まれる。加えて、この用語には、緩和治療、すなわち、疾患、病理学的状態、若しくは障害の治癒ではなく症状の軽減のために設計された治療；予防的治療、すなわち、関連疾患、病理学的状態、若しくは障害の発症を最小限に抑えるか、又はそれを部分的若しくは完全に抑制することを対象とした治療；並びに支持的治療、すなわち、関連疾患、病理学的状態、若しくは障害の改善を対象とした別の特異的療法を補完するために用いられる治療が含まれる。

【０５２３】

「治療有効」という用語は、疾患又は障害の１つ以上の原因又は症状を改善するのに十分な量の開示される化合物及び／又は組成物の量を指す。かかる改善は、必ずしも排除ではなく、軽減又は変化のみを必要とする。

【０５２４】

「薬学的に許容される」という用語は、合理的な利益／リスク比に見合った、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー応答、又は他の問題若しくは合併症なしにヒト及び／又は動物の組織との接触における使用に好適な化合物、材料、組成物、及び／又は剤形を指す。

【０５２５】

「担体」という用語は、本開示の化合物又は組成物と組み合わせて、その意図される使用若しくは目的又はそれらの組み合わせのための化合物又は組成物の調製、保管、投与、送達、有効性、選択性、又は任意の他の特徴を補助する又は容易にする化合物、組成物、物質、又は構造を意味する。例えば、担体は、活性成分のいずれの分解も最小限に抑え、かつ対象におけるいずれの有害な副作用も最小限に抑えるように選択することができる。

【０５２６】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、患者への投与に好適な担体を指す。医薬担体は、その意図される使用若しくは目的又はそれらの組み合わせのための本開示の化合物又は組成物の調製、保管、投与、送達、有効性、選択性、又は任意の他の特徴を補助する又は容易にする物質であり得る。例えば、担体は、化合物の分解を減少させるか、又は患者における有害な副作用を軽減するように選択することができる。複数の実施形態では、薬学的に許容される担体は、使用直前に滅菌注射用溶液又は分散液に再構成するための滅菌水溶液又は非水溶液、分散液、懸濁液、又はエマルション、並びに滅菌粉末とすることができる。好適な水性担体及び非水性担体、希釈剤、溶媒、又はビヒクルの例としては、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、カルボキシメチルセルロース及びそれらの好適な混合物、植物油（オリーブ油など）、並びにオレイン酸エチルなどの注射用有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用によって、分散液の場合には必要な粒径の維持によって、かつ界面活性剤の使用によって維持することができる。これらの組成物は、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、及び分散剤などのアジュバントを含むこともできる。微生物の作用の防止は、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などの様々な抗菌剤及び抗真菌剤を含めることによって確実にすることができる。糖、塩化ナトリウムなどの等張剤を含めることが望ましい場合もある。

注射用製剤は、例えば、細菌保持フィルターを通した濾過によって、又は使用直前に滅菌水若しくは他の滅菌注射用媒体中に溶解若しくは分散することができる滅菌固体組成物の形態の滅菌剤を組み込むことによって滅菌することができる。好適な不活性担体は、ラクトースなどの糖を含むことができる。

【０５２７】

「薬学的に許容される塩」という用語には、塩基として機能する活性化合物を無機酸又は有機酸と反応させて、塩、例えば、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、メタンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、ギ酸塩、臭化水素酸塩、安息香酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、サリチル酸塩、マンデル酸塩、炭酸塩などを形成することによって得られるものが含まれる。当業者であれば、酸付加塩が、いくつかの既知の方法のうちのいずれかにより化合物を適切な無機酸又は有機酸と反応させることによって調製され得ることを更に認識するであろう。「薬学的に許容される塩」という用語は、酸として機能する活性化合物を無機塩基又は有機塩基と反応させて、塩、例えば、エチレンジアミン塩、Ｎ－メチル－グルカミン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、コリン塩、Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、ジエタノールアミン塩、プロカイン塩、Ｎ－ベンジルフェネチルアミン塩、ジエチルアミン塩、ピペラジン塩、トリス－（ヒドロキシメチル）－アミノメタン塩、水酸化テトラメチルアンモニウム塩、トリエチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、エフェナミン塩、デヒドロアビエチルアミン塩、Ｎ－エチルピペリジン塩、ベンジルアミン塩、テトラメチルアンモニウム塩、テトラエチルアンモニウム塩、メチルアミン塩、ジメチルアミン塩、トリメチルアミン塩、エチルアミン塩、塩基性アミノ酸塩などを形成することによって得られるものも含まれる。無機塩又は金属塩の非限定的な例としては、リチウム塩、ナトリウム塩、カルシウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩などが挙げられる。

【０５２８】

本明細書で使用される場合、「非経口投与」という用語は、注射又は注入による投与を指す。非経口投与には、皮下投与、静脈内投与、又は筋肉内投与が含まれるが、これらに限定されない。

【０５２９】

本明細書で使用される場合、「皮下投与」という用語は、皮膚直下の投与を指す。「静脈内投与」とは、静脈内への投与を意味する。

【０５３０】

本明細書で使用される場合、「用量」という用語は、単回投与で提供される医薬品の特定の量を指す。複数の実施形態では、用量は、２回以上のボーラス、錠剤、又は注射で投与され得る。皮下投与が所望される複数の実施形態では、所望の用量は、単回注射によって容易に収容されない体積を必要とする。かかる実施形態では、２回以上の注射を使用して、所望の用量を達成することができる。複数の実施形態では、用量は、２回以上の注射で投与されて、患者における注射部位反応を軽減することができる。

【０５３１】

本明細書で使用される場合、「投薬量単位」という用語は、医薬品が提供される形態を指す。複数の実施形態では、投薬量単位は、本明細書に記載の凍結乾燥化合物又は組成物を含むバイアルである。複数の実施形態では、投薬量単位は、本明細書に記載の再構成化合物又は組成物を含むバイアルである。

【０５３２】

「治療部分」（ＴＭ）という用語は、疾患又は障害の少なくとも１つの症状を治療するために使用することができる化合物を指し、治療用ポリペプチド、オリゴヌクレオチド、小分子、及び疾患又は障害の少なくとも１つの症状を治療するために使用することができる他の薬剤を含むことができるが、これらに限定されない。複数の実施形態では、ＴＭは、標的転写物の活性、発現、及び／又はレベルを調節する。複数の実施形態では、ＴＭは、減衰機構を介して標的転写物のレベルを減少させる。複数の実施形態では、活性とは、標的転写物が１つ以上のタンパク質に結合する（例えば、それを捕捉する）能力である。

複数の実施形態では、ＴＭは、標的転写物と標的転写物に結合する１つ以上のタンパク質との間の親和性を減少させることによって標的転写物の活性を調節する。標的転写物と１つ以上のタンパク質との間の親和性を減少させた結果として、１つ以上のタンパク質の活性が調節され得る。例えば、１つ以上のタンパク質が標的転写物に結合していない場合、それらは、例えば、他の転写物のスプライシング、選択的スプライシング、及び／又はエクソンスキッピングを容易にするなどのそれらの機能を実行するために利用可能である。ＴＭの機能の結果として、標的転写物との相互作用がＴＭによって破壊される１つ以上のタンパク質によって調節される下流遺伝子の活性、発現、及び／又はレベルが調節され得る。

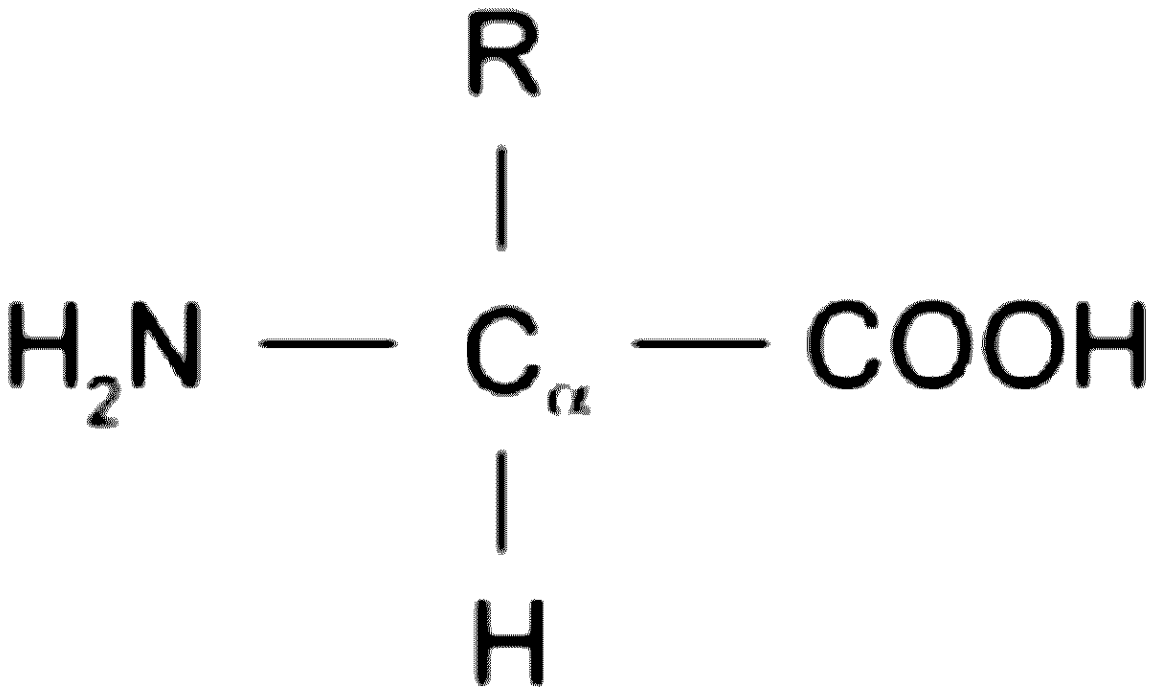
【０５３３】

「調節する」、「調節すること」、及び「調節」という用語は、調節前の発現、機能、又は活性のレベルと比較した発現、機能、又は活性の摂動を指す。調節は、発現、機能、又は活性の増加（刺激若しくは誘導）又は減少（抑制若しくは低下）を含むことができる。複数の実施形態では、標的転写物の活性が調節される。複数の実施形態では、標的転写物の活性を調節することは、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることを含む。複数の実施形態では、標的転写物と１つ以上のタンパク質との間の親和性を減少させることにより、標的転写物と相互作用する１つ以上のタンパク質の活性の調節がもたらされる。例えば、１つ以上のタンパク質が標的転写物に結合していない場合、それらは、例えば、他の転写物（例えば、下流転写物）のスプライシング、選択的スプライシング、及び／又はエクソンスキッピングを容易にするなどのそれらの機能を実行するために利用可能である。したがって、標的転写物の活性を調節することにより、標的転写物との相互作用が破壊され得る１つ以上のタンパク質によって調節される下流遺伝子の活性、発現、及び／又はレベルの調節がもたらされ得る。

【０５３４】

「アミノ酸」とは、アミノ基及びカルボン酸基を含み、かつ一般式

【化１５４】



（式中、Ｒが任意の有機基とすることができる）を有する有機化合物を指す。アミノ酸は

、天然に存在するアミノ酸又は天然に存在しないアミノ酸であり得る。アミノ酸は、タンパク質を構成するアミノ酸又はタンパク質を構成しないアミノ酸であり得る。アミノ酸は、Ｌ－アミノ酸又はＤ－アミノ酸とすることができる。「アミノ酸側鎖」又は「側鎖」という用語は、天然又は非天然α－アミノ酸のα－炭素に結合した特徴付け置換基（ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚｉｎｇ　ｓｕｂｓｔｉｔｕｅｎｔ）（「Ｒ」）を指す。アミノ酸は、ペプチド結合を介してポリペプチドに組み込まれ得る。

【０５３５】

本明細書で使用される場合、「非荷電」アミノ酸とは、ｐＨ７．３５～７．４５で正味中性電荷を有する側鎖を有するアミノ酸である。非荷電アミノ酸の例としては、グリシン及びシトルリンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０５３６】

本明細書で使用される場合、「荷電」アミノ酸とは、ｐＨ７．３５～７．４５で正味電荷を有する側鎖を有するアミノ酸である。荷電アミノ酸の一例は、アルギニンである。

【０５３７】

本明細書で使用される場合、「配列同一性」という用語は、それぞれ、同じであり、かつ同じ相対位置にある、２つのオリゴヌクレオチド配列間又はポリペプチド配列間の核酸又はアミノ酸のパーセンテージを指す。したがって、ある配列は、別の配列と比較して、ある特定のパーセンテージの配列同一性を有する。配列比較の場合、典型的には、ある配列が参照配列として機能し、試験配列がそれと比較される。当業者であれば、２つの配列が対応する位置に同一の残基を含む場合、これらの２つの配列が一般に「実質的に同一である」とみなされることを理解するであろう。複数の実施形態では、配列間の配列同一性は、出願日時点で存在するバージョンで、ＥＭＢＯＳＳパッケージ（ＥＭＢＯＳＳ：Ｔｈｅ　Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　Ｏｐｅｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｓｕｉｔｅ，Ｒｉｃｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ　Ｇｅｎｅｔ．（２０００），１６：２７６－２７７）のＮｅｅｄｌｅプログラムに実装されているようなＮｅｅｄｌｅｍａｎ－Ｗｕｎｓｃｈアルゴリズム（Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ，１９７０，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３－４５３）を使用して決定され得る。使用されるパラメータは、ギャップオープンペナルティ１０、ギャップ伸長ペナルティ０．５、及びＥＢＬＯＳＵＭ６２（ＢＬＯＳＵＭ６２のＥＭＢＯＳＳバージョン）置換マトリックスである。「最も長い同一性」とラベル付けされたＮｅｅｄｌｅの出力（－ｎｏｂｒｉｅｆオプションを使用して得られる）は、同一性パーセントとして使用され、以下のように計算される：（同一の残基×１００）／（アライメントの長さ－アライメント中の総ギャップ数）。

【０５３８】

他の実施形態では、配列同一性は、出願日時点で存在するバージョンで、Ｓｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムを使用して決定され得る。

【０５３９】

本明細書で使用される場合、「配列相同性」とは、相同であり、かつ同じ相対位置にある２つのポリペプチド配列間のアミノ酸のパーセンテージを指す。したがって、あるポリペプチド配列は、別のポリペプチド配列と比較して、ある特定のパーセンテージの配列相同性を有する。当業者によって理解されるように、２つの配列が対応する位置に相同残基を含む場合、これらの２つの配列は、一般に「実質的に相同である」とみなされる。相同残基は、同一の残基であり得る。あるいは、相同残基は、適切に類似した構造的及び／又は機能的特徴を有する非同一の残基であり得る。例えば、当業者に周知であるように、ある特定のアミノ酸は、典型的には、「疎水性」アミノ酸又は「親水性」アミノ酸に分類され、かつ／又は「極性」側鎖又は「非極性」側鎖を有すると分類され、１つのアミノ酸の同じタイプの別のアミノ酸での置換は、多くの場合、「相同」置換とみなされ得る。

【０５４０】

当該技術分野で周知であるように、アミノ酸配列は、出願日時点で存在する、ＢＬＡＳＴＰ、ギャップＢＬＡＳＴ、及びＰＳＩ－ＢＬＡＳＴなどの市販のコンピュータプログラ

ムで利用可能なものを含む、様々なアルゴリズムのうちのいずれかを使用して比較され得る。かかるプログラムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，（１９９０），２１５（３）：４０３－４１０、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．（１９９７），２５：３３８９－３４０２、Ｂａｘｅｖａｎｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ ｔｈｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｗｉｌｅｙ，１９９８、及びＭｉｓｅｎｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（ｅｄｓ．），Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ（Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．１３２），Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，１９９９に記載されている。相同配列の特定に加えて、上述のプログラムは、典型的には、相同性の程度の表示を提供する。

【０５４１】

本明細書で使用される場合、「細胞標的部分」とは、標的細胞の表面上の受容体などの分子に特異的に結合する分子又は巨大分子を指す。複数の実施形態では、細胞表面分子は、標的細胞の表面上にのみ発現される。複数の実施形態では、細胞表面分子は、１つ以上の非標的細胞の表面上にも存在するが、細胞表面分子の発現量は、標的細胞の表面上でより高い。細胞標的部分の例としては、抗体、ペプチド、タンパク質、アプタマー、又は低分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【０５４２】

本明細書で使用される場合、「アンチセンス化合物」及び「ＡＣ」という用語は、それ（ＡＣ）がハイブリダイズする標的核酸分子に少なくとも部分的に相補的な高分子核酸構造を指すために互換的に使用される。ＡＣは、標的配列に相補的な配列の少なくとも一部分を含む短い（複数の実施形態では、５０塩基未満の）ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド相同体であり得る。複数の実施形態では、ＡＣは、標的プレｍＲＮＡ鎖の標的配列に相補的な配列を有する部分を含むポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド相同体である。ＡＣは、天然核酸、合成核酸、核酸相同体、又はそれらの任意の組み合わせで形成され得る。複数の実施形態では、ＡＣは、オリゴヌクレオシドを含む。複数の実施形態では、ＡＣは、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。複数の実施形態では、ＡＣは、コンジュゲート基を含む。ＡＣの非限定的な例としては、プライマー、プローブ、アンチセンスオリゴヌクレオチド、外部ガイド配列（ＥＧＳ）オリゴヌクレオチド、ｓｉＲＮＡ、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド類似体、オリゴヌクレオチド模倣物、及びこれらのキメラ組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。したがって、これらの化合物は、一本鎖、二本鎖、円形、分岐状、又はヘアピンの形態で導入することができ、内部又は末端バルジ又はループなどの構造要素を含むことができる。オリゴマー二本鎖化合物は、二本鎖化合物を形成するようにハイブリダイズされた二本鎖とすることができるか、又は完全に若しくは部分的に二本鎖の化合物のハイブリダイゼーション及び形成を可能にするのに十分な自己相補性を有する一本鎖とすることができる。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物（例えば、標的核酸）の発現、レベル、及び／又は活性を調節する（増加させる、減少させる、又は変化させる）。複数の実施形態では、ＡＣは、減衰機構を誘導することによって標的転写物のレベルを減少させる。複数の実施形態では、ＡＣは、標的転写物の活性を調節する。複数の実施形態では、ＡＣは、１つ以上のタンパク質に結合する標的転写物の能力を低下させることによって標的転写物の活性を調節する。複数の実施形態では、標的転写物と１つ以上のタンパク質との間の親和性を減少させることにより、１つ以上のタンパク質の活性の調節がもたらされ得る。例えば、１つ以上のタンパク質が標的転写物に結合していない場合、それらは、例えば、他の転写物（下流転写物）のスプライシング、選択的スプライシング、及び／又はエクソンスキッピングを容易にするなどのそれらの機能を実行するために利用可能である。したがって、標的転写物の活性のＡＣ媒介調節により、標的転写物との相互作用が破壊され得る１つ以上のタンパク質によって調節される下流遺伝子の活性、発現、及び／又はレベルの調節がもたらされ得る。

【０５４３】
本明細書で使用される場合、「標的とする」又は「に標的とされる」という用語は、治療部分、例えば、アンチセンス化合物と、標的核酸分子又は標的核酸分子のある領域との会合を指す。複数の実施形態では、治療部分は、生理学的条件下で標的核酸にハイブリダイズすることができるアンチセンス化合物を含む。複数の実施形態では、アンチセンス化合物は、標的核酸内の特定の部分又は部位、例えば、特定のエクソン若しくはイントロン、又はエクソン若しくはイントロン内の選択された核酸塩基若しくはモチーフなどの少なくとも１つの特定可能な構造、機能、若しくは特徴を有する標的核酸の一部分を標的とする。
【０５４４】
本明細書で使用される場合、「標的核酸配列」、「標的ヌクレオチド配列」、及び「標的配列」という用語は、アンチセンス化合物などの治療部分が結合又はハイブリダイズする核酸配列又はヌクレオチド配列を指す。標的核酸には、標的転写物の一部分、標的ＲＮＡ（プレｍＲＮＡ及びｍＲＮＡ又はそれらの一部分を含むが、これらに限定されない）、かかるＲＮＡに由来する標的ｃＤＮＡの一部分、並びにｍｉＲＮＡなどの標的非翻訳ＲＮＡの一部分が含まれるが、これらに限定されない。例えば、複数の実施形態では、標的核酸は、その発現又は転写が特定の障害又は病態に関連する標的細胞遺伝子（又はかかる遺伝子から転写されたｍＲＮＡ）の一部分とすることができる。「一部分」という用語は、核酸の定義された数の連続した（すなわち、連結された）ヌクレオチドを指す。
【０５４５】
本明細書で使用される場合、「転写物」又は「遺伝子転写物」という用語は、ＤＮＡから転写されたＲＮＡ分子を指し、ｍＲＮＡ、プレｍＲＮＡ、及び部分的にプロセシングされたＲＮＡを含むが、これらに限定されない。
【０５４６】
「標的転写物」及び「標的ＲＮＡ」という用語は、治療部分によって結合されたプレｍＲＮＡ又はｍＲＮＡ転写物を指す。標的転写物は、標的ヌクレオチド配列を含み得る。複数の実施形態では、標的転写物は、伸長ＣＵＧトリヌクレオチドリピートを含む標的ヌクレオチド配列を含む。
【０５４７】
「標的遺伝子」及び「目的とする遺伝子」という用語は、発現及び／又は活性の調節が所望される又は意図される遺伝子を指す。標的遺伝子は、標的ヌクレオチド配列を含む標的転写物に転写され得る。標的転写物は、目的とするタンパク質に翻訳され得る。
【０５４８】
「標的タンパク質」という用語は、標的転写物（例えば、標的ｍＲＮＡ）によってコードされるポリペプチド又はタンパク質を指す。
【０５４９】
本明細書で使用される場合、「ｍＲＮＡ」という用語は、タンパク質をコードするＲＮＡ分子を指し、プレｍＲＮＡ及び成熟ｍＲＮＡを含む。「プレｍＲＮＡ」とは、ＤＮＡ転写の直後に新たに合成された真核生物ｍＲＮＡ分子を指す。複数の実施形態では、プレｍＲＮＡは、５’キャップでキャップされ、３’ポリＡテールで修飾され、かつ／又はスプライシングされて、成熟ｍＲＮＡ配列を生成する。複数の実施形態では、プレｍＲＮＡは、１つ以上のイントロンを含む。複数の実施形態では、プレｍＲＮＡは、スプライシングとして既知のプロセスを経て、イントロンを除去し、エクソンを結合させる。複数の実施形態では、プレｍＲＮＡは、１つ以上のスプライシング要素又はスプライシング調節要素を含む。複数の実施形態では、プレｍＲＮＡは、ポリアデニル化部位を含む。
【０５５０】
本明細書で使用される場合、「発現」、「遺伝子発現」、「遺伝子の発現」などの用語は、遺伝子にコードされる情報が細胞内のポリペプチド又は非コードＲＮＡなどの機能性遺伝子産物に変換される全ての機能及びステップを指す。非コードＲＮＡの例としては、トランスファーＲＮＡ（ｔＲＮＡ）及びリボソームＲＮＡが挙げられる。ポリペプチドの

遺伝子発現には、プレｍＲＮＡを形成するための遺伝子の転写、成熟ｍＲＮＡを形成するためのプレｍＲＮＡのプロセシング、核から細胞質への成熟ｍＲＮＡの転座、成熟ｍＲＮＡからポリペプチドへの翻訳、及びコードされたポリペプチドのアセンブリが含まれる。発現には、部分的発現が含まれる。例えば、遺伝子の発現は、遺伝子転写物の生成と称され得る。成熟ｍＲＮＡの翻訳は、成熟ｍＲＮＡの発現と称され得る。

【０５５１】

本明細書で使用される場合、「遺伝子発現の調節」とは、遺伝子発現に関連するプロセスのうちの１つ以上の調節を指す。例えば、遺伝子発現の修飾には、遺伝子転写、ＲＮＡプロセシング、核から細胞質へのＲＮＡ転座、及びｍＲＮＡからタンパク質への翻訳のうちの１つ以上の修飾が含まれ得る。

【０５５２】

本明細書で使用される場合、「遺伝子」という用語は、遺伝子産物の発現に関連する５’プロモーター領域、並びに遺伝子産物の発現に関連する任意のイントロン領域及びエクソン領域並びに３’非翻訳領域（ＵＴＲ）を包含する核酸配列を指す。

【０５５３】

「免疫細胞」という用語は、造血起源のものであり、かつ免疫応答に関与する細胞を指す。免疫細胞としては、リンパ球（例えば、Ｂ細胞及びＴ細胞）、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、並びに骨髄細胞が挙げられるが、これらに限定されない。「骨髄細胞」という用語は、単球、マクロファージ、及び顆粒球（例えば、好塩基球、好中球、好酸球、及びマスト細胞）を含む。単球は、血液を通って１～３日間循環するリンパ球であり、その後、組織中に遊走し、マクロファージ若しくは炎症性樹状細胞に分化するか、又は死滅する。本明細書で使用される「マクロファージ」という用語には、胎児由来マクロファージ（常在組織マクロファージと称することもできる）、及び体内で血流から組織中に遊走した単球に由来するマクロファージ（単球由来マクロファージと称することもできる）が含まれる。マクロファージがどの組織に位置するかに応じて、とりわけ、クッパー細胞（肝臓）、糸球体内メサンギウム細胞（腎臓）、肺胞マクロファージ（肺）、洞組織球（リンパ節）、ホーフバウアー細胞（胎盤）、ミクログリア（脳及び脊髄）、又はランゲルハンス（皮膚）と称される。

【０５５４】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」という用語は、複数の連結されたヌクレオチド又はヌクレオシドを含むオリゴマー化合物を指す。オリゴヌクレオチドの１つ以上のヌクレオチドを修飾することができる。オリゴヌクレオチドは、リボ核酸（ＲＮＡ）又はデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）を含むことができる。オリゴヌクレオチドは、天然及び／又は修飾核酸塩基、糖、並びに共有結合ヌクレオシド間結合で構成され得、非核酸コンジュゲートを更に含むことができる。

【０５５５】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド」という用語は、核酸塩基及び糖を含むグリコシルアミンを指す。ヌクレオシドには、天然ヌクレオシド、非塩基ヌクレオシド、修飾ヌクレオシド、並びに模倣塩基及び／又は糖基を有するヌクレオシドが含まれるが、これらに限定されない。「天然ヌクレオシド」又は「非修飾ヌクレオシド」とは、天然核酸塩基及び天然糖を含むヌクレオシドである。天然ヌクレオシドには、ＲＮＡヌクレオシド及びＤＮＡヌクレオシドが含まれる。

【０５５６】

本明細書で使用される場合、「天然糖」という用語は、ＲＮＡ（２’－ＯＨ）又はＤＮＡ（２’－Ｈ）中のその天然に存在する形態から修飾されていないヌクレオシドの糖を指す。

【０５５７】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、糖に共有結合したリン酸基を有するヌクレオシドを指す。ヌクレオチドは、様々な置換基のうちのいずれかで修飾され得る。

【０５５８】
本明細書で使用される場合、「核酸塩基」という用語は、ヌクレオシド又はヌクレオチドの塩基部分を指す。核酸塩基は、別の核酸の塩基に水素結合することができる任意の原子又は原子群を含み得る。天然核酸塩基は、ＲＮＡ又はＤＮＡ中のその天然に存在する形態から修飾されていない核酸塩基である。
【０５５９】
本明細書で使用される場合、「複素環式塩基部分」という用語は、複素環を含む核酸塩基を指す。
【０５６０】
本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド間結合」とは、隣接するヌクレオシド間の共有結合を指す。
【０５６１】
本明細書で使用される場合、「天然ヌクレオシド間結合」とは、３’から５’へのホスホジエステル結合を指す。
【０５６２】
本明細書で使用される場合、「修飾ヌクレオシド間結合」という用語は、天然に存在するヌクレオシド間結合以外のヌクレオシド間又はヌクレオチド間の任意の結合を指す。
【０５６３】
本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシド間結合がリン原子を含まないオリゴヌクレオチドを指す。
【０５６４】
本明細書で使用される場合、「キメラアンチセンス化合物」という用語は、同じオリゴマー化合物内の他の糖、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合と比較して差次的に修飾された少なくとも１つの糖、核酸塩基、及び／又はヌクレオシド間結合を有するアンチセンス化合物を指す。糖、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合の残りの部分は独立して、修飾又は非修飾とすることができる。一般に、キメラオリゴマー化合物は、単離された位置に存在することができるか、又は特定のモチーフを規定する領域で一緒にグループ化することができる修飾ヌクレオシドを有する。修飾及び／又は模倣基のいずれの組み合わせも、本明細書に記載のキメラオリゴマー化合物を含むことができる。
【０５６５】
本明細書で使用される場合、「混合骨格アンチセンスオリゴヌクレオチド」という用語は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの少なくとも１つのヌクレオシド間結合がアンチセンスオリゴヌクレオチドの少なくとも１つの他のヌクレオシド間結合とは異なるアンチセンスオリゴヌクレオチドを指す。
【０５６６】
本明細書で使用される場合、「核酸塩基相補性」という用語は、別の核酸塩基と塩基対合することができる核酸塩基を指す。例えば、ＤＮＡでは、アデニン（Ａ）は、チミン（Ｔ）に相補的である。例えば、ＲＮＡでは、アデニン（Ａ）は、ウラシル（Ｕ）に相補的である。複数の実施形態では、相補的核酸塩基とは、その標的核酸の核酸塩基と塩基対合することができるアンチセンス化合物の核酸塩基を指す。例えば、アンチセンス化合物のある特定の位置の核酸塩基が標的核酸のある特定の位置の核酸塩基と水素結合することができる場合、オリゴヌクレオチドと標的核酸との間の水素結合の位置は、その核酸塩基対で相補的であるとみなされる。
【０５６７】
本明細書で使用される場合、「非相補的核酸塩基」という用語は、互いに水素結合を形成しないか、又は別様にハイブリダイゼーションを支持する一対の核酸塩基を指す。
【０５６８】
本明細書で使用される場合、「相補的」という用語は、核酸塩基相補性により別のオリゴマー化合物又は核酸にハイブリダイズするオリゴマー化合物の能力を指す。複数の実施形態では、アンチセンス化合物及びその標的は、各分子中の十分な数の対応する位置が、

互いに結合してアンチセンス化合物と標的との間の安定した会合を可能にすることができる核酸塩基によって占有される場合、互いに相補的である。当業者であれば、会合したまま留まるオリゴマー化合物の能力を排除することなくミスマッチの包含が可能であることを認識する。したがって、ミスマッチである（すなわち、標的の対応するヌクレオチドに相補的な核酸塩基ではない）最大約２０％のヌクレオチドを含み得るアンチセンス化合物が本明細書に記載される。複数の実施形態では、アンチセンス化合物は、約１５％以下、例えば、約１０％以下、例えば、５％以下のミスマッチを含むか、又はミスマッチを含まない。残りのヌクレオチドは、核酸塩基相補的であるか、又は別様にハイブリダイゼーションを妨害しない（例えば、ユニバーサル塩基）。当業者であれば、本明細書に提供される化合物が、標的核酸に少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、又は１００％核酸塩基相補的であることを認識するであろう。

【０５６９】

本明細書で使用される場合、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的なオリゴマー化合物（例えば、アンチセンス化合物及びその標的核酸）の対合を意味する。特定の機構に限定されないが、対合の最も一般的な機構は、相補的ヌクレオシド又はヌクレオチド塩基（核酸塩基）間のワトソン・クリック、フーグスティーン、又は逆フーグスティーン水素結合であり得る水素結合を伴う。例えば、天然塩基アデニンは、水素結合の形成により対合する天然核酸塩基チミン及びウラシルに相補的な核酸塩基である。天然塩基グアニンは、天然塩基シトシン及び５－メチルシトシンに相補的な核酸塩基である。ハイブリダイゼーションは、様々な状況下で生じ得る。

【０５７０】

本明細書で使用される場合、「特異的にハイブリダイズする」という用語は、別の核酸部位にハイブリダイズするよりも高い親和性である核酸部位にハイブリダイズするオリゴマー化合物の能力を指す。複数の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、２つ以上の標的部位に特異的にハイブリダイズする。複数の実施形態では、オリゴマー化合物は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、その標的に特異的にハイブリダイズする。

【０５７１】

核酸ハイブリダイゼーションの文脈における「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」及び「ストリンジェントなハイブリダイゼーション洗浄条件」は、配列依存性であり、異なる環境パラメータ下で異なる。核酸のハイブリダイゼーションの広範なガイドは、Ｔｉｊｓｓｅｎ，Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ－Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｐｒｏｂｅｓ ｐａｒｔ Ｉ ｃｈａｐｔｅｒ ２ ”Ｏｖｅｒｖｉｅｗ ｏｆ ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ ｔｈｅ ｓｔｒａｔｅｇｙ ｏｆ ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ ｐｒｏｂｅ ａｓｓａｙｓ” Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９３）で見つけられる。一般に、高度にストリンジェントなハイブリダイゼーション及び洗浄条件は、定義されたイオン強度及びｐＨでの特定の配列の熱融点（Ｔｍ）よりも約５℃低くなるように選択される。Ｔｍとは、標的配列の５０％が完全に一致したプローブにハイブリダイズする温度（定義されたイオン強度及びｐＨ下）である。非常にストリンジェントな条件は、特定のプローブのＴｍと等しくなるように選択される。サザンブロット又はノーザンブロットのフィルター上に１００個超の相補的残基を有する相補的ヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションのためのストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の例は、４２℃での１ｍｇのヘパリンを有する５０％ホルムアミドであり、このハイブリダイゼーションは一晩行われる。高度にストリンジェントな洗浄条件の例は、７２℃で約１５分間の０．１５Ｍ ＮａＣｌである。ストリンジェントな洗浄条件の一例は、６５℃で１５分間の０．２倍ＳＳＣ洗浄である（ＳＳＣ緩衝液の説明については、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｒｕｓｓｅｌ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａ

ｎｕａｌ，３ｒｄ ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２００１を参照されたい）。多くの場合、バックグラウンドプローブシグナルを除去するために、高ストリンジェンシー洗浄の前に低ストリンジェンシー洗浄が先行する。例えば、１００ヌクレオチド超の二本鎖に対する中程度ストリンジェンシー洗浄の一例は、４５℃で１５分間の１倍ＳＳＣである。例えば、１００ヌクレオチド超の二本鎖に対する低ストリンジェンシー洗浄の例は、４０℃で１５分間の４～６倍ＳＳＣである。短いプローブ（例えば、約１０～５０ヌクレオチド）の場合、ストリンジェントな条件は、典型的には、ｐＨ７．０～８．３で約１．０Ｍ未満のＮａイオンの塩濃度、典型的には約０．０１～１．０ＭのＮａイオン濃度（又は他の塩）を伴い、温度は、典型的には、少なくとも約３０℃である。ストリンジェントな条件は、ホルムアミドなどの不安定化剤の添加によって達成することもできる。

【０５７２】

本明細書で使用される場合、「２’－修飾」又は「２’－置換」という用語は、２’位にＨ又はＯＨ以外の置換基を含む糖を意味する。２’－修飾モノマーとしては、アリル、アミノ、アジド、チオ、Ｏ－アリル、Ｏ－Ｃ１－Ｃ１０アルキル、－ＯＣＦ３、Ｏ－（ＣＨ２）２－Ｏ－ＣＨ３、２’－Ｏ（ＣＨ２）２ＳＣＨ３、Ｏ－（ＣＨ２）２－Ｏ－Ｎ（Ｒｍ）（Ｒｎ）、又はＯ－ＣＨ２－Ｃ（＝Ｏ）－Ｎ（Ｒｍ）（Ｒｎ）（式中、Ｒｍ及びＲｎが各々独立して、Ｈであるか、又は置換若しくは非置換Ｃ１－Ｃ１０アルキルである）などの２’－置換基を有するＢＮＡ及びモノマー（例えば、ヌクレオシド及びヌクレオチド）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０５７３】

本明細書で使用される場合、「ＭＯＥ」という用語は、２’－Ｏ－メトキシエチル置換基を指す。

【０５７４】

本明細書で使用される場合、「高親和性修飾ヌクレオチド」という用語は、修飾が標的核酸に対する修飾ヌクレオチドを含むアンチセンス化合物の親和性を増加させるように、少なくとも１つの修飾核酸塩基、ヌクレオシド間結合、又は糖部分を有するヌクレオチドを指す。高親和性修飾としては、ＢＮＡ、ＬＮＡ、及び２’－ＭＯＥが挙げられるが、これらに限定されない。

【０５７５】

本明細書で使用される場合、「模倣物」という用語は、ＡＣ中の糖、核酸塩基、及び／又はヌクレオシド間結合に置換される基を指す。一般に、模倣物は、糖又は糖とヌクレオシド間結合との組み合わせの代わりに使用され、核酸塩基は、選択された標的へのハイブリダイゼーションのために維持される。糖模倣物の代表的な例としては、シクロヘキセニル又はモルホリノが挙げられるが、これらに限定されない。糖とヌクレオシド間結合との組み合わせの模倣物の代表的な例には、非荷電アキラル結合によって連結されたペプチド核酸（ＰＮＡ）及びモルホリノ基が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの事例では、模倣物は、核酸塩基の代わりに使用される。代表的な核酸塩基模倣物は、当該技術分野で周知であり、三環式フェノキサジン類似体及びユニバーサル塩基を含むが、これらに限定されない（参照により本明細書に組み込まれる、Ｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．２０００，２８：２９１１－１４）。糖模倣物、ヌクレオシド模倣物、及び核酸塩基模倣物を合成する方法は、当業者に周知である。

【０５７６】

本明細書で使用される場合、「二環式ヌクレオシド」又は「ＢＮＡ」という用語は、ヌクレオシドのフラノース部分がフラノース環上に２個の原子を結合する架橋を含み、それにより、二環式環系を形成するヌクレオシドを指す。ＢＮＡとしては、α－Ｌ－ＬＮＡ、β－Ｄ－ＬＮＡ、ＥＮＡ、オキシアミノＢＮＡ（２’－Ｏ－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＨ２－４’）、及びアミノオキシＢＮＡ（２’－Ｎ（ＣＨ３）－Ｏ－ＣＨ２－４’）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０５７７】

本明細書で使用される場合、「４’－２’二環式ヌクレオシド」という用語は、フラノース環の２個の原子を結合する架橋がフラノース環の４’炭素原子と２’炭素原子を架橋し、それにより、二環式環系を形成するＢＮＡを指す。

【０５７８】

本明細書で使用される場合、「ロックド核酸」又は「ＬＮＡ」とは、リボシル糖環の２’－ヒドロキシル基がメチレン基を介してその糖環の４’炭素原子に連結され、それにより、２’－Ｃ，４’－Ｃ－オキシメチレン結合を形成するように修飾されたヌクレオチドを指す。ＬＮＡとしては、α－Ｌ－ＬＮＡ及びβ－Ｄ－ＬＮＡが挙げられるが、これらに限定されない。

【０５７９】

本明細書で使用される場合、「キャップ構造」又は「末端キャップ部分」という用語は、ＡＣのいずれかの末端に組み込まれた化学修飾を指す。「治療用ポリペプチド」という用語は、２つ以上のアミノ酸を含み、かつ治療的活性、予防的活性、又は他の生物学的活性を有する、天然に存在する又は組換えにより産生された巨大分子を指す。

【０５８０】

「小分子」という用語は、薬理活性を有し、かつ約２０００ダルトン未満、又は約１０００ダルトン未満、又は約５００ダルトン未満の分子量を有する有機化合物を指す。小分子治療薬は、典型的には、化学合成によって製造される。

【０５８１】

「野生型標的タンパク質」とは、標的遺伝子の野生型、正常型、又は未変異型バージョンによって産生された天然機能性タンパク質異性体を指す。野生型標的タンパク質とは、再スプライシングされた標的プレｍＲＮＡに由来するタンパク質も指す。

【０５８２】

本明細書で使用される「再スプライシングされた標的タンパク質」とは、ＡＣがハイブリダイズする標的プレｍＲＮＡのスプライシングに由来するｍＲＮＡによってコードされるタンパク質を指す。再スプライシングされた標的タンパク質は、野生型標的タンパク質と同一であってもよく、野生型標的タンパク質と相同であってもよく、野生型標的タンパク質の機能的バリアントであってもよく、野生型標的タンパク質のアイソフォームであってもよく、又は野生型標的タンパク質の活性断片であってもよい。

【０５８３】

本明細書で使用される場合、「伸長」ＣＵＧ又は「伸長」ＣＴＧリピートなどの「伸長トリヌクレオチドリピート」とは、トリヌクレオチドリピートを含む又はコードする遺伝子が、野生型遺伝子中に存在するよりも大きい、いくつかのリピートされた連続したトリヌクレオチドを含むことを意味する。伸長ヌクレオチドリピートは、ＸＸＸ・ＮＮＮ又は（ＸＸＸ・ＮＮＮ）として書かれてもよく、ここで、ＸＸＸがＤＮＡリピートを指し、ＮＮＮがＤＮＡリピートから転写されるＲＮＡリピートを指す。例えば、ＣＴＧ・ＣＵＧリピートとは、ＣＵＧリピートを有するＲＮＡが転写されるＣＴＧ　ＤＮＡリピートを有する遺伝子を指す。複数の実施形態では、伸長トリヌクレオチドリピート中のリピート数は、野生型遺伝子よりも５個以上、１０個以上、１５個以上、又は２０個以上多い。複数の実施形態では、伸長トリヌクレオチドリピートは、野生型遺伝子よりも２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍、２０倍、５０倍、又はそれ以上多くのトリヌクレオチドリピートを含む。伸長トリヌクレオチドリピートは、伸長トリヌクレオチドリピートを含む遺伝子を有する対象に疾患をもたらし得る。例えば、遺伝子中に伸長ＣＴＧリピートを有する対象は、ＤＭ１又はＦＥＣＤに罹患している可能性がある。ＤＭ１では、ＤＰＭＫ遺伝子は、伸長ＣＴＧリピートを含む。ＤＭ１に罹患している対象が、ＤＰＭＫ遺伝子の３’非翻訳領域（ＵＴＲ）内に５０個以上のＣＴＧリピートを有し得る一方で、非疾患対象は、典型的には、ＤＰＭＫ遺伝子の３’ＵＴＲ内に５～３４個のＣＴＧリピートを有する。ＦＥＣＤでは、ＴＣＦ４遺伝子は、伸長ＣＴＧリピートを含む。ＦＥＣＤに罹患している対象が、ＴＣＦ４遺伝子のＣＴＧ１８．１遺伝子座に４０個以上のＣＴＧリピートを有し得る一方で、非疾患対象は、典型的には、ＴＣＦ４遺伝子のＣＴＧ１８．１遺伝子座に３０個以下の

ＣＴＧリピートを有する。伸長ＣＴＧリピートを有する遺伝子から転写されたｍＲＮＡは、伸長ＣＵＧリピートを有する。

【０５８４】

本開示における「下流」という用語は、遺伝子、ｍＲＮＡ、又はタンパク質に関連する場合、ＡＣの標的ヌクレオチド（例えば、標的転写物）への結合の影響を受けるが、標的ヌクレオチドに対応する遺伝子、ｍＲＮＡ、又はタンパク質ではない遺伝子、ｍＲＮＡ、又はタンパク質を指す。ＡＣの標的ヌクレオチドへの結合により、ＣＵＧリピートを有する蓄積されたｍＲＮＡ上のＭＢＮＬ１又はＣＵＧＢＰ１などのＲＮＡ結合タンパク質の凝集又は捕捉が減少し得、これにより、下流遺伝子産物の適切な転写、ＲＮＡプロセシング、及び／又は発現にかかるＲＮＡ結合タンパク質が利用可能になり得る。

【０５８５】

本明細書で使用される場合、「機能的断片」又は「活性断片」とは、全長野生型標的タンパク質の１つ以上の活性などの活性を呈するか、又は別の活性を有する真核生物野生型標的タンパク質の一部分を指す。複数の実施形態では、野生型標的タンパク質の少なくとも１つの生物学的活性を共有する再スプライシングされた標的タンパク質は、野生型標的タンパク質の活性断片であるとみなされる。活性は、野生型標的タンパク質と比較して約１％の活性、約２％、約３％、約４％、約５％、約１０％、約２０％、約３０％、約４０％、約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、約１００％、約２００％、約３００％、約４００％、約５００％、又はそれ以上（それらの値の間の全ての値及び範囲を含む）の活性を含むが、これらに限定されない、完全長野生型標的タンパク質の活性の任意のパーセンテージ（すなわち、それ以上又はそれ以下）とすることができる。したがって、複数の実施形態では、活性断片は、野生型標的タンパク質の１つ以上の生物学的活性の少なくとも一部分を保持し得る。複数の実施形態では、活性断片は、野生型標的タンパク質の１つ以上の生物学的活性を増強し得る。

【０５８６】

「野生型標的タンパク質」とは、標的遺伝子の野生型、正常型、又は未変異型バージョンによって産生された天然機能性タンパク質異性体を指す。野生型標的タンパク質は、適切にスプライシングされた標的プレｍＲＮＡに由来するタンパク質も指す。

【０５８７】

本明細書で使用される場合、「スプライシング」及び「プロセシング」という用語は、イントロンが除去されてエクソンが結合される転写後のプレｍＲＮＡの修飾を指す。スプライシングは、スプライセオソームと称される５つの核内低分子リボ核タンパク質（ｓｎＲＮＰ）で構成されている大きいＲＮＡタンパク質複合体によって触媒される一連の反応で生じる。イントロン内では、３’スプライス部位、５’スプライス部位、及び分岐部位がスプライシングに必要とされる。ｓｎＲＮＰのＲＮＡ成分がイントロンと相互作用し、触媒に関与し得る。

【０５８８】

本明細書で使用される場合、選択的スプライシングとは、遺伝子中に存在するエクソンの異なる組み合わせのスプライシングを指し、これにより、単一の遺伝子からの異なるｍＲＮＡ転写物の生成がもたらされる。

【０５８９】

本明細書で使用される「再スプライシングされた標的タンパク質」とは、ＡＣがハイブリダイズする標的プレｍＲＮＡのスプライシングに由来するｍＲＮＡによってコードされるタンパク質を指す。再スプライシングされた標的タンパク質は、野生型標的タンパク質と同一であってもよく、野生型標的タンパク質と相同であってもよく、野生型標的タンパク質の機能的バリアントであってもよく、又は野生型標的タンパク質の活性断片であってもよい。

【０５９０】

本明細書で言及される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、本発明が関連する当業者

のスキルのレベルを示す。全ての刊行物、特許、及び特許出願は、個々の刊行物又は特許出願が各々参照により組み込まれることが具体的かつ個別に示されているのと同じ程度まで参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【０５９１】

実施例１．ＤＭ１関連細胞株におけるＲＮＡ病巣形成及びスプライシングレスキューに対する影響についてのＰＭＯ及びＰＭＯ－ＥＥＶ化合物の評価

（ＣＵＧ）$_7$リピートＰＭＯ及び（ＣＵＧ）$_7$リピートＰＭＯ－ＥＥＶ化合物（表１２のＡ及びＤ）のＲＮＡ病巣形成及びスプライシングレスキューに対する影響をＤＭ１関連細胞株で評価した。ミスマッチＰＭＯ配列を有するＰＭＯ－ＥＥＶ化合物及びスクランブル配列を有するＰＭＯも含めた（表１２のＢ及びＣ）。

【０５９２】

実験

細胞。ＰＭＯ及びＰＭＯ－ＥＥＶを、高いＣＵＧリピート負荷及び下流スプライシング欠陥を有する安定した細胞株であるＤＭ１　ＨｅＬａ細胞モデル（ＨｅＬａ－４８０）、並びに約２６００個のＣＴＧリピート及び下流スプライシング欠陥を有するＤＭ１患者に由来するＤＭ１筋芽細胞で評価した。ＨｅＬａ－４８０は、ＣＵＧリボ核病巣及び筋盲（ＭＢＮＬ）選択的スプライシング因子のプレｍＲＮＡ標的のミススプライシングを含む、ＤＭ１の病原性特徴を再現する。ＤＭ１筋芽細胞が非常に緩徐に成長し（約７日間の倍加時間）、うまくトランスフェクトしないことに留意した。対照ＨｅＬａ細胞及びＨｅＬａ－４８０細胞を、追加の化合物なしで、ＥＮＤＯＰＯＲＴＥＲで処理した。ＨｅＬａ－４８０細胞は病態を表し、ＨｅＬａ細胞は非疾患状態を表す。

【０５９３】

ＲＮＡ病巣分析。ＨｅＬａ－４８０細胞又はＤＭ１筋芽細胞を、１μＭ、３μＭ、又は１０μＭの化合物Ａ～Ｄで処理した（表１２）。全ての化合物を、トランスフェクション試薬なしで、又は天然に荷電したＰＭＯを細胞に送達するように設計されたＥＮＤＯＰＯＲＴＥＲ（ＧＥＮＥＴＯＯＬＳ　ＬＬＣ（Ｐｈｉｌｏｍａｔｈ，Ｏｒｅｇｏｎ）から入手可能）トランスフェクション剤を使用してトランスフェクトした。細胞を２４時間インキュベートし、その後、顕微鏡法による定性的ＲＮＡ病巣分析のために固定した。処理したＨｅｌａ－４８０細胞の定性的目視検査時、化合物Ａ（ＰＭＯ－ＥＥＶ）が最小量のＲＮＡ病巣を示した。ＤＭ１筋芽細胞から結論は導かれなかった。

【０５９４】

スプライシング分析及びＲＴ－ＰＣＲ。上述のように処理したＨｅＬａ－４８０細胞を２４時間又は４８時間のインキュベーション後に採取し、総ＲＮＡを抽出した。ＲＴ－ＰＣＲを行い、ＭＢＮＬ１及びＣＬＡＳＰ１などの標的ＲＮＡ中のＤＭ罹患エクソンのスプライシングパターンを測定及び／又は定量した。目的とするエクソン包含のパーセンテージを評価した。

【表１２】

表１２：実施例１で試験したＰＭＯ及びＰＭＯ－ＥＥＶ

ID	配列(全て PMO)	純度	溶媒
A	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG-click-K-PEG12-K(FfΦRrRrQ)-PKKKRKV-Ac (配列番号 154)-クリック-K-PEG12-(配列番号 78)-(配列番号 42)-Ac	91	生理食塩水 (0.9%NaCl)
B	GTAACTGTATTTGGTACTTCC-C3-NH2-PEG4-COT-PEG12-PKKKRKV-(FfΦRrRrQ) (配列番号 317)-C3-NH2-PEG4-COT-PEG12-(配列番号 78)-(配列番号 42)-Ac	99	PBSX1
C	AGCCAGAGCACCGCAACCGGACGAG(配列番号 318)	81	生理食塩水 (0.9%NaCl)
D	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG(配列番号 154)	75	生理食塩水 (0.9%NaCl)

【０５９５】

結果。図６Ａ～６Ｄは、ＨｅＬａ－４８０細胞を化合物Ａ～Ｄ及びＥＮＤＯＰＯＲＴＥＲトランスフェクション剤で２４時間（図６Ａ及び図６Ｂ）並びに４８時間（図６Ｃ及び図６Ｄ）処理した後のＭＢＮＬ１（図６Ａ及び図６Ｃ、エクソン５包含）並びにＣＬＡＳＰ１（図６Ｂ及び図６Ｄ、エクソン１９包含）の選択的スプライシング事象のＲＴ－ＰＣＲ結果を示す。ＭＢＮＬ１におけるエクソン５包含の減少は、２４時間及び４８時間の両時点で化合物Ａ～Ｄの各々で処理した細胞において観察された（図６Ａ及び図６Ｃ）。化合物Ａで処理した細胞は、最大レスキューを示した（エクソン５包含の減少）。ＣＬＡＳＰ１におけるエクソン１９包含の増加は、２４時間及び４８時間の両時点で化合物Ａ～Ｄの各々で処理した細胞において観察された（図６Ｂ及び図６Ｄ）。化合物Ａで処理した細胞は、最大レスキューを示した（エクソン１９包含の増加）。対照的に、ＥＮＤＯＰＯＲＴＥＲトランスフェクション試薬なしでＨｅＬａ－４８０細胞をＡ～Ｄで処理した場合、化合物Ａを除いて、ＭＢＮＬ１（図６Ｅ）又はＣＬＡＳＰ１（図６Ｆ）のスプライシング事象に変化は観察されなかった。

【０５９６】

図７Ａ～７Ｂは、ＤＭ１筋芽細胞を化合物Ａ～Ｄ、陰性対照ＤＭ－０４、又は陽性対照ＤＭ－０５で処理した後のＭＢＮＬ１及びＣＬＡＳＰ１の選択的スプライシング事象のＲＴ－ＰＣＲ結果を示す。全ての化合物での処理により、ＭＢＮＬ１（図７Ａ）及びＣＬＡＳＰ１（図７Ｂ）のスプライシング事象のレスキューがもたらされた。

【０５９７】

実施例２．ＤＭ１－マウスモデルにおけるスプライシングレスキューに対する影響についてのＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１０６の評価

スプライシングレスキューに対するＰＭＯのみ及びＰＭＯ－ＥＥＶ（表１３）の影響を、ＨＳＡ－ＬＲ　ＤＭ１－マウスモデルを使用してインビボで評価した。

【０５９８】

実験

マウスモデル。ＨＳＡ－ＬＲは、ヒト骨格アクチン（ＨＳＡ）導入遺伝子の３’－ＵＴＲ内に長い伸長ＣＵＧリピート（ＬＲ）を有するトランスジェニックマウスモデルであり、骨格筋において高レベルでＣＵＧｅｘｐ　ＲＮＡ（例えば、伸長ＣＵＧ　ＲＮＡ）を発現する（Ｍａｎｋｏｄｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２０００，２８９（５４８５）：１７６９－１７７３）。ＨＳＡ－ＬＲマウスは、スプライシング欠陥に加えて筋強直表現型を示す。フレンドウイルスＢ　ＮＩＨジャクソン（ＦＶＢ／ＮＪ）マウスモデルを対照として使用し、ＨＳＡ－ＬＲトランスジェニックマウスを作製した。

【０５９９】

実験設計。化合物Ａ～Ｄを、体重２０ｇ当たり１００μＬの化合物溶液の単回投与で、後眼窩注射又は静脈内（ＩＶ）注射によりマウスに投与した。スケールは各マウスの体重に比例した（例えば、体重３０ｇ当たり１５０μＬ）。

【表１３】

表１３：実施例２で試験したＰＭＯ及びＰＭＯ－ＥＥＶ

ID	化合物	配列(全て PMO)	濃度 (mg/ml)	溶媒
(A)	生理食塩水	ビヒクル対照	該当なし	生理食塩水 (0.9%NaCl)
(B)	221	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG-3’(配列番号 154)	6	生理食塩水 (0.9%NaCl)
(C)	20mpk の 221-1106	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG-3’-PEG4COT-クリック-K-ミニ PEG2-Lys(FfFGRGRE)-ミニ PEG2-VKRKKKP-Ac (配列番号 154)-PEG4COT-クリック-K-ミニ PEG2-K(配列番号 76)-ミニ PEG2-(配列番号 42)-Ac	4	生理食塩水 (0.9%NaCl)
(D)	40mpk の 221-1106	5’-CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG-3’-PEG4COT-クリック-K-ミニ PEG2-Lys(FfFGRGRE)-ミニ PEG2-VKRKKKP-AC (配列番号 154)-PEG4COT-クリック-K-ミニ PEG2-K(配列番号 76)-ミニ PEG2-(配列番号 42)-Ac	8	生理食塩水 (0.9%NaCl)

【０６００】

動物の年齢を適合させ、６つの処理群に割り当てた。２つの対照群（第１群：ＦＶＢ／ＮＪマウス（ＦＶＢ／ＮＪ、非疾患対照）及び第２群：ＨＳＡ－ＬＲ（疾患対照）マウス）を使用し、各々に生理食塩水を注射した。４つの処理群（Ａ～Ｄ群）を使用し、ＨＳＡ－ＬＲマウスに化合物Ａ、Ｂ、Ｃ、又はＤを注射した。ＦＶＢ／ＮＪマウスは、注射時、５週４日齢であり、ＨＳＡ－ＬＲマウスは、注射時、６週１日又は２日齢であった。１群当たり４匹のマウス（雄２匹及び雌２匹）をこの実験に利用した。マウスを処理の１週間後に　　殺した。組織（腓腹筋、四頭筋、前脛骨筋（ＴＡ））を採取し、液体窒素中で急速凍結し、スプライシングレスキュー分析の更なる評価のために－８０℃で保管した。

【０６０１】

総ＲＮＡを組織試料から抽出し、ＲＴ－ＰＣＲにより分析して、（ｉ）Ａｔｐ２ａ１エクソン２２、（ｉｉ）Ｎｆｉｘエクソン７、（ｉｉｉ）Ｃｌｃｎ１エクソン７ａ、及び（ｉｖ）Ｍｂｎｌ１エクソン５におけるＡＣ誘導選択的ＲＮＡスプライシングレスキュー事象を評価した。目的とするエクソン包含のパーセンテージを評価した。

【０６０２】

結果。処理前に、全てのＨＳＡ－ＬＲマウスが筋強直を有した。化合物の注射後、全てのマウスに見当識障害が起こった。化合物Ａ及び化合物Ｂを注射したマウス（群Ａ及び群Ｂ）は１５分以内に回復し、化合物Ｃ及びＤを注射したマウス（群Ｃ及び群Ｄ）は回復に数時間かかった。処理したマウスは全て、翌日までに完全に回復した。　　殺時点で、群Ａ及び群Ｂは筋強直を有したが、群Ｃ及び群Ｄは明らかに筋強直を有しなかった。

【０６０３】

図８Ａ～１０Ｄは、処理したマウスの腓腹筋（図８Ａ～８Ｄ）、四頭筋（図９Ａ～９Ｄ

）、及び前脛骨筋（図１０Ａ～１０Ｄ）組織における、Ａｔｐ２ａ１（エクソン２２包含、図８Ａ、図９Ａ、及び図１０Ａ）、Ｎｆｉｘ（エクソン７包含、図８Ｂ、図９Ｂ、及び図１０Ｂ）、Ｃｌｃｎ１（エクソン７ａ包含、図８Ｃ、図９Ｃ、及び図１０Ｃ）、並びにＭｂｎｌ１（エクソン５包含、図８Ｄ、図９Ｄ、及び図１０Ｄ）のＲＮＡスプライシング測定結果を示す。化合物Ｃ及び化合物Ｄ（ＰＭＯ－ＥＥＶ）で処理したマウスが、腓腹筋、四頭筋、及び前脛骨筋組織において、Ａｔｐ２ａ１及びＮｆｉｘスプライシング事象のレスキューを示した一方で、ＰＭＯ群及び生理食塩水群は、スプライシング事象のレスキューを示さなかった（図８Ａ、図８Ｂ、図９Ａ、図９Ｂ、図１０Ａ、及び図１０Ｂ。同様に、腓腹筋及び四頭筋組織では、化合物Ｃ及びＤで処理したマウスが、Ｃｌｃｎ１（図８Ｃ及び図９Ｃ）並びにＭｂｎｌ１（図８Ｄ及び図９Ｄ）スプライシング事象のレスキューを示した一方で、ＰＭＯ群及び生理食塩水群は、スプライシング事象のレスキューを示さなかった。脛骨筋組織におけるＣｌｃｎ１及びＭｂｎｌ１のスプライシングに関して（図１０Ｃ～１０Ｄ）、対照マウス系統（ＦＶＢ／ＮＪ）及びＤＭ１マウスモデル（ＨＳＡ－ＬＲ）において選択的スプライシング欠陥は検出されなかった。したがって化合物Ａ～Ｄでの処理により、脛骨筋組織中のＣｌｃｎ１遺伝子及びＭｂｎｌ１遺伝子におけるスプライシングレスキューはもたらされなかった。

【０６０４】

これらの結果は、ＤＭ１マウスモデルを使用したインビボ研究におけるスプライシングレスキューに対するＰＭＯ－ＥＥＶ処理のプラスの影響、並びに筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）を治療するためのＰＭＯ－ＥＥＶ化合物の使用可能性を実証する。

【０６０５】

実施例３．ＤＭ１患者由来の不死化筋芽細胞におけるミススプライシング事象を補正するための様々なＰＭＯ－ＥＥＶ化合物の評価

ＤＭ１関連遺伝子のスプライシングレスキューに対する２つのＤＭＰＫ　ＣＵＧ標的ＰＭＯ－ＥＥＶ（１９７－７７７及び２２１－１１０６、表１４）の影響を、ＤＭ１患者由来の筋筋芽細胞及び筋管を使用してインビトロで評価した。

【０６０６】

実験

細胞培養。不死化筋芽細胞をＤＭ１患者（ＡＳＡ３０８ＤＭ１）及び非罹患個体（ＫＭ１４２１、ＡＢ１１９０）から得た。ＤＭ１患者の筋芽細胞は、ＤＭＰＫの３’－ＵＴＲ内に２６００個のＣＴＧリピートを有する。筋芽細胞を、骨格筋細胞増殖培地（ＰｒｏｍｏＣｅｌｌ（Ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）から入手可能）、２％ウマ血清（Ｇｉｂｃｏ（Ｂｒｉｓｔｏｌ，ＲＩ）から入手可能）、１％トリ胚抽出物（ＵＳＢ　Ｃｏｒｐ（Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ，ＯＨ）から入手可能）、及び０．５ｍｇ／ｍＬペニシリン／ストレプトマイシン（Ｇｉｂｃｏ）の増殖培地中で培養した。筋原分化のために、コンフルエントな培養物を、２％ウマ血清を補充したＤＭＥＭの分化培地に切り替え、４日間培養した。

【表１４】

表１４：実施例３で試験した化合物

化合物 ID	EEV 配列(N-C)	PMO 配列(5'-3')	PMO 修飾	コンジュゲーション化学
PMO のみ	該当なし	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 154)	5'OH	該当なし
197-777(DM1-1)	Ac-PKKKRKV-Lys(シクロ[Ff-Nal-RrRrQ])-PEG_{12}-K(N3)-NH2 Ac-(配列番号 42)--Lys(配列番号 78)-PEG_{12}-K(N3)-NH2	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 154)	5'-サルコシンアミド、3'-C4-シクロオクチン	クリック
221-1106(DM1-2)	Ac-PKKKRKV-ミニ PEG2-Lys(シクロ[FfFGRGRQ]-ミニ PEG2-K(N3)-NH2 Ac-(配列番号 42)-ミニ PEG2-Lys(配列番号 76)-ミニ PEG2-K(N3)NH2	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG (配列番号 154)	5'-OH、3'-二級アミンモルホリノ	?PEG4-COT リンカーでクリック

【０６０７】

処理。ＤＭ１患者の筋細胞を、２つの異なる処理条件を使用して、１０μｍ、３μｍ、１μｍ、又は０．３μｍの化合物で処理した。第１の条件下では、筋芽細胞を７５～８０％コンフルエンスでプレーティングし、化合物を増殖培地中で段階希釈し、細胞を２４時間浸漬して、化合物の自由な取り込みを可能にした。化合物を含む培地を除去し、筋芽細胞を１倍ＤＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）で洗浄し、４日間分化させた後、採取した。並行して行う第２の条件について、筋芽細胞を処理の３日前に分化させ、化合物を分化培地中で段階希釈し、筋管を２４時間後に分析のために採取した。

【０６０８】

ＲＮＡ単離及びＰＣＲ。総ＲＮＡを、製造業者の指示に従ってＲＮＥＡＳＹ Ｍｉｎｉ Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ（Ｇｅｒｍａｎｔｏｗｎ，ＭＤ）から入手可能）を用いて単離した。エクソン包含の場合、１００ｎｇのＲＮＡを逆転写し、ＰＣＲに使用した（ＯｎｅＳｔｅｐ ＲＴ－ＰＣＲ Ｋｉｔ、Ｑｉａｇｅｎ）。試料を、ＨＴ ＤＮＡ Ｈｉｇｈ Ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ Ａｓｓａｙ Ｋｉｔを用いてＬａｂＣｈｉｐ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ（Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＤ）から入手可能）により分析した。

【０６０９】

結果。ＤＭＰＫ ＣＵＧ標的ＰＭＯ（ＥＥＶとコンジュゲートされていない）は、ＭＢＮＬ１エクソン５のミススプライシングを改善した（データ示さず）。図１１Ａ～１１Ｆは、様々な濃度のＤＭＰＫ ＣＵＧ標的ＥＥＶ－ＰＭＯ（CUG^{exp} １９７－７７７及びCUG^{exp} ２２１－１１０６）で処理したＤＭ１患者由来の筋細胞におけるＭＢＮＬ１（図１１Ａ）及びその標的（ＳＯＳ１、ＩＲ、ＤＭＤ、ＢＩＮ１、ＬＤＢ３；図１１Ｂ～１１Ｆ）のスプライシング欠陥の混合レスキューを示す。ＥＥＶ－ＰＭＯ １９７－７７７は、ＤＭ１患者の筋細胞におけるミススプライシング事象の中等度の補正を誘発した。ＭＢＮＬ１及びＳＯＳ１は、ミススプライシング補正の最良の応答を示した。ＥＥＶ－ＰＭＯ １９７－７７７を、以下に記載の追跡実験のためのツール化合物として選択した。

【０６１０】

ＤＭ１患者由来の筋芽細胞及び筋管を、上述の方法と同様の方法を使用して、１０μｍ、３μｍ、及び１μｍのＤＭＰＫ ＣＵＧ標的ＥＥＶ－ＰＭＯ １９７－７７７で処理した。ＭＮＢＬ１標的及びＭＮＢＬ１標的の選択的ＲＮＡスプライシング事象のレスキュー

を評価した。筋芽細胞及び筋管をＥＥＶ－ＰＭＯで処理した後、ＭＮＢＬ１（エクソン５排除、図１２Ａ）、ＳＯＳ１（エクソン２５包含、図１２Ｂ）、ＩＮＳＲ（エクソン１１包含、図１２Ｃ）、ＤＭＤ（エクソン７８包含、図１２Ｄ）、ＢＩＮ１（エクソン１１包含、図１２Ｅ）、及びＬＤＢ３（エクソン１１排除、図１２Ｆ）の様々な程度のスプライシング補正が観察された。

【０６１１】

図４４Ａ～４４Ｄは、筋弛緩アッセイにより定量された２０ｍｐｋの２２１－１１０６で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスにおける筋強直表現型の逆転を示す。図４４Ａ及び図４４Ｃは、ピーク等尺性筋力の８０％までの弛緩時間のプロットを示し、図４４Ｂは、力トレース未加工データを示す。図４４Ｄは、代表的な筋電図（ＥＭＧ）トレースにより定量された２０ｍｐｋの２２１－１１０６で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスにおける筋強直表現型の逆転を示す。

【０６１２】

実施例４．ＤＭ１マウスモデルにおけるＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０の評価

ＤＭ１マウスモデルを用いて、実施例２に記載の同じＨＳＡ－ＬＲトランスジェニックマウスモデルにおける下流遺伝子のスプライシング及びｍＲＮＡレベルに対するＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０（別名、ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３又はＤＭ１－３、ＰＭＯ２２１＝５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’（配列番号１５４、全てＰＭＯモノマー）、ＥＥＶ　１１２０＝Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ＡＥＥＡ－Ｌｙｓ（シクロ［ＦＧＦＧＲＧＲＱ］－ＰＥＧ１２－ＯＨ（Ａｃ－（配列番号４２）－ＡＥＥＡ－Ｌｙｓ（配列番号８２）－ＰＥＧ１２－ＯＨ））の影響を研究した。ＰＭＯ及びＥＥＶを、アミド化学を使用してコンジュゲートした。

【０６１３】

実験。２つの一般的な処理群：１）野生型マウス、及び２）ＨＳＡ－ＬＲマウス（ＤＭ１疾患モデル）が存在した。ＨＳＡ－ＬＲ処理群には、２つの下位処理群：１）生理食塩水で処理したＨＳＡ－ＬＲ（対照）、及び２）ＨＳＡ－ＬＲ＋ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０が存在した。マウスを、尾静脈注射により１５ｍｐｋ、３０ｍｐｋ、６０ｍｐｋ、又は９０ｍｐｋ（ＰＭＯに基づく）のＰＭＯ－ＥＥＶ又は生理食塩水で処理した。処理の７日後、マウスを　　殺し、組織を分析のために採取した。

【０６１４】

ＲＴ－ＰＣＲアッセイ（スプライシングの補正）。組織をＯＭＮＩ　ＢＥＡＤ　ＭＩＬＬ　ＨＯＭＯＧＥＮＩＺＥＲにより均質化し、ＲＮＡをＱＩＡＣＵＢＥＱにより抽出した。ＲＴ－ＰＣＲアッセイを、製造業者のプロトコルに従ってワンステップＲＴ－ＰＣＴキット（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して、９４℃で３０秒間、６０℃で３０秒間、及び７２℃で３０秒間の３５回のＰＣＲサイクルで行った。遺伝子特異的プライマーの配列は、以下のとおりである：Ｃｌｃｎ１エクソン７ａ包含フォワードプライマー＝５’－ＴＴＣＡＣＡＴＣＧＣＣＡＧＣＡＴＣＴＧＴＧＣ－３’（配列番号３１９）、リバースプライマー＝５’－ＣＡＣＧＧＡＡＣＡＣＡＡＡＧＧＣＡＣＴＧＡＡＴＧＴ－３’（配列番号３２０）；Ｍｂｎｌ１エクソン５包含フォワードプライマー＝５’－ＧＣＴＧＣＣＣＡＡＴＡＣＣＡＧＧＴＣＡＡＣ－３’（配列番号３２１）、リバースプライマー＝５’－ＴＧＧＴＧＧＧＡＧＡＡＡＴＧＣＴＧＴＡＴＧＣ－３’（配列番号３２２）；

Ａｔｐ２ａ１エクソン２２包含フォワードプライマー＝５’－ＧＣＴＣＡＴＧＧＴＣＣＴＣＡＡＧＡＴＣＴＣＡＣ－３’（配列番号３２３）、リバースプライマー＝５’－ＧＧＧＴＣＡＧＴＧＣＣＴＣＡＧＣＴＴＴＧ－３’（配列番号３２４）；

Ｎｆｉｘエクソン７包含フォワードプライマー＝５’－ＴＣＧＡＣＧＡＣＡＧＴＧＡＧＡＴＧＧＡＧ－３’（配列番号３２５）、リバースプライマー＝５’ＣＡＡＡＣＴＣＣＴＴＣＡＧＣＧＡＧＴＣＣ－３’（配列番号３２６）。Ｃｌｃｎ１、Ｍｂｎｌ１、及びＡｔｐ２ａ１のプライマーは、Ｋｌｅｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ．２０１９，１２９（１１），ｐｇ．４７３９からのものであり、Ｎｆｉｘのプライマーは、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｔ

ｉｆｉｃ Ｒｅｐｏｒｔｓ．２０１６，６（１），ｐｇ．１からのものであった。ｃＤＮＡ産物を、ＳＹＢＲ ＳＡＦＥ色素を用いて２％アガロースＥ－ゲル上で分離した。エクソン包含パーセンテージを、スキップされていないバンド／（スキップされていないバンド＋スキップされたバンド）の比率によって計算した。

【０６１５】

マウスＤＭ１スプライシング指数（ｍＤＳＩ）の計算。ｍＤＳＩを、Ｔａｎｎｅｒ ｅｔ．ａｌ．（Ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄｓ ｒｅｓｅａｒｃｈ．２０２１，４９（４），ｐｇ．２２４０－５４）の文献プロトコルに従って計算した。各試料ｉに対して、正規化スプライシング値を（$PSI_{i,j}$－$PSI_{野生型,j}$）／（$PSI_{HSALR,j}$－$PSI_{野生型,j}$）（式中、$PSI_{野生型,j}$が野生型マウスにわたる事象ｊの平均ＰＳＩであり、$PSI_{HSALR,j}$がＨＳＡＬＲマウスにわたる事象ｊの平均ＰＳＩである）として各スプライシング事象ｊに対して計算した。その後、ｍＤＳＩを、全ての正規化スプライシング値（本研究では、Ａｔｐ２ａ１、Ｎｆｉｘ、Ｍｂｎｌ１、及びＣｌｃｎ１である）の平均値として計算する。

【０６１６】

ｑＲＴ－ＰＣＲアッセイ（ＨＳＡ ｍＲＮＡノックダウン）。逆転写を、製造業者のプロトコルに従ってＬｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの高容量ｃＤＮＡ逆転写キットを使用して行った。リアルタイム定量ＰＣＲを、遺伝子特異的プライマー：ＨＳＡ ｍＲＮＡフォワードプライマー＝５’－ＴＴＣＣＡＴＣＧＴＣＣＡＣＣＧＣＡＡＡＴ－３’（配列番号３２７）、リバースプライマー＝５’－ＡＧＴＴＴＡＣＧＡＴＧＧＣＡＧＣＡＡＣＧ－３’（配列番号３２８）（いずれのプライマーもＫｌｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ．２０１９，１２９（１１），ｐｇ．４７３９からのものである）；及びマウスＧＡＰＤＨフォワードプライマー＝５’－ＡＧＧＴＣＧＧＴＧＴＧＡＡＣＧＧＡＴＴＴＧ－３’（配列番号３２９）、リバースプライマー＝５’－ＴＧＴＡＧＡＣＣＡＴＧＴＡＧＴＴＧＡＧＧＴＣＡ－３’（配列番号３３０）を用いて、Ｂｉｏ－Ｒａｄ ＳｙＢｒ Ｇｒｅｅｎ Ｓｕｐｅｒｍｉｘ及びＱｕａｎｔＳｔｕｄｉｏ３ ｑＰＣＲ装置を使用して行った。

【０６１７】

ＲＮＡｓｅｑ。次世代シーケンシングを使用したポリＡ ＲＮＡｓｅｑを、トランスクリプトームプロファイリングのために行った。各遺伝子のＺスコアを、（試料値－平均値）／（標準偏差）として計算した。ＲＮＡｓｅｑデータに対して差次的スプライシング分析を行い、各遺伝子の個々のエクソンのスプライシングパーセント（ＰＳＩ）を計算した。ＰＳＩは、転写要素の包含を示す正規化リード数の、その事象の総正規化リード（包含リード及び排除リード）に対する比率である。例えば、エクソンが常にリードに含まれている場合、ＰＳＩは１である。加えて、エクソンが常にリードから排除されている場合、ＰＳＩは０である。

【０６１８】

ＤＭ１を予測することが知られている２２個の目的とする遺伝子を分析した。加えて、Ｗａｇｎｅｒ ｅｔ ａｌ．（ＰＬＯＳ Ｇｅｎ ２０１６（４７））及びＴａｎｎｅｒ ｅｔ ａｌ．（ＮＡＲ ２０２１（４８），４，２２４０－２２５４）において研究された遺伝子を分析した。マウスエクソンをヒト位置にマッピングした。いくつかの事例では、マウス及び／又はヒトゲノムにおけるエクソンの境界は完全には分からなかった。したがって、異なる境界を使用してデータを分析した。ＲＮＡｓｅｑデータを使用して正しい境界を検証した。

【０６１９】

ＲＮＡ ＣＵＧ病巣分析。前脛骨筋切片を、ＣＵＧ病巣（ＦＩＳＨ、赤色）及び核（Ｈｏｅｃｈｓｔ、青色）について染色した。ＴＡ筋切片をイメージングし、ＣＵＧ ＲＮＡ病巣を有する核の数を定量した。

【０６２０】

結果

ＨＳＡ　ｍＲＮＡノックダウン。横隔膜は、四頭筋、前脛骨筋、及び三頭筋と比較して、ＨＳＡ　ｍＲＮＡレベルの５～１０％しか発現しなかった（図１３Ａ）。ＥＥＶ－ＰＭＯ処理は、横隔膜におけるＨＳＡ　ｍＲＮＡレベルを変化させないようであった（図１３Ｂ）。ＨＳＡ　２２０　ＣＵＧリピートの発現レベルは、横隔膜のＤＭ１におけるミススプライシング表現型には十分ではない場合がある。

【０６２１】

ＥＥＶ－ＰＭＯは、ＨＳＡ　ｍＲＮＡを用量依存的にノックダウンし、これは、四頭筋（図１４Ａ）、腓腹筋（図１４Ｂ）、三頭筋（図１４Ｃ）、及び前脛骨筋（図１４Ｄ）組織における標的結合を裏付けた。加えて、ＨＳＡ　ｍＲＮＡのＣｔ（サイクル閾値）値は、マウスＧＡＰＤＨのレベル（約１５）に類似しており、これは、ＨＳＡ－ＬＲマウスにおける四頭筋でのＨＳＡ導入遺伝子の高い発現を示唆している。

【０６２２】

ｍＤＳＩ（スプライシングの補正）。四頭筋、腓腹筋、三頭筋、及び前脛骨筋のマウスＤＭ１スプライシング指数（ｍＤＳＩ）を図１５Ａ～１５Ｄに示す。ＥＥＶ－ＰＭＯでの処理により、四頭筋（図１５Ａ）、腓腹筋（図１５Ｂ）、三頭筋（図１５Ｃ）、及び前脛骨筋（図１５Ｄ）に野生型に近いか又は野生型と同等の高用量を用量依存的様式で注射した１週間後に、ＤＭ１関連スプライシング欠陥（Ａｔｐ２ａ１エクソン２２、Ｎｆｉｘエクソン７、Ｃｌｃｎ１エクソン７ａ、Ｍｂｎｌ１エクソン５）が補正された（完全補正）。ＨＳＡ－ＬＲマウスにおいて、およそ５０％～６０％のヒト骨格アクチンＲＮＡノックダウンが、ほぼ完全なスプライシング補正を達成する薬物濃度で達成された。

【０６２３】

図１６Ａ～Ｂは、ＣＵＧ病巣（赤色）及び核（青色）について染色したＨＳＡ－ＬＲマウス（図１６Ａ）及びＥＥＶ－ＰＭＯで処理したＨＳＡ－ＬＲマウス（図１６Ｂ）の前脛骨筋組織の画像を示す。定性的及び定量的評価（図１６Ｃ）は、ＥＥＶ－ＰＭＯ処理がＣＵＧ病巣を有する核の数を減少させたことを示した。

【０６２４】

薬物曝露。薬物曝露を、ＬＣ－ＭＳを使用して研究した。図１７Ａ～１７Ｄは、四頭筋（図１７Ａ）、三頭筋（図１７Ｂ）、心臓（図１７Ｃ）、腓腹筋（図１７Ｄ）、前脛骨筋（ＴＡ、図１７Ｆ）、肝臓（図１７Ｉ）、及び腎臓（図１７Ｊ）におけるＰＭＯ－ＥＥＶ曝露の用量依存的反応を示す。横隔膜では用量依存的反応は観察されなかった（図１７Ｇ）。６０ｍｐｋ及び９０ｍｐｋの投薬量レベルを除いて、ＥＥＶ－ＰＭＯは脳では検出されなかった。図１７Ｋは、６０ｍｐｋの投薬量レベルでの様々な組織の薬物曝露を示す。

【０６２５】

筋強直応答：１５、３０、６０、及び９０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３ａｔで７日間処理した後のＨＳＡ－ＬＲマウスにおける用量依存的筋強直軽減が観察された（図１８Ａ）。筋強直は、ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理した１週間後に改善される可能性が高い。９０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の単回投与で処理したＨＳＡ－ＬＲマウスは、導入後に後肢の筋強直の明らかな兆候を呈しなかった。

【０６２６】

ＲＮＡｓｅｑデータ分析。図１９Ａ～１９Ｄは、主成分分析の結果を示す。主成分分析を使用して、距離行列に基づく試料間の類似性を明らかにすることができる。このタイプのプロットは、実験共変量及びバッチ効果の全体的効果を可視化するのに有用である。ｘ軸は最大の分散を説明する方向であり、ｙ軸は２番目の分散を説明する方向である。方向毎の総分散のパーセンテージをＰＣＡとして示す。野生型マウスとＨＳＡ－ＬＲマウスは別個の群にある。ＰＭＯ－ＥＥＶで処理したＨＳＡ－ＬＲマウスの腓腹筋における遺伝子発現を野生型マウスの遺伝子発現にシフトさせた。

【０６２７】

図２０Ａは、３つの処理群：１）ＷＴマウス、２）ＨＳＡ－ＬＲマウス、及び３）ＨＳＡ－ＬＲ＋ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０（６０ｍｐｋ）由来の差次的に発現された

遺伝子を示すヒートマップ（Ｚスコアによる）である。合計９５６個（ｐ＜０．５）の遺伝子が処理群間で差次的に発現され、これは、野生型マウス（ＷＴ）と疾患モデルマウス（ＨＳＡ－ＬＲ）との間の差を示す。ＥＥＶ－ＰＭＯ（ＨＳＡ－ＬＲ（＋，＋））での処理により、広範囲の遺伝子発現補正がもたらされ、疾患プロファイル（赤色、ＨＳＡ－ＬＲ（－，－））から、野生型マウス（上記のＷＴ）の遺伝子発現にシフトした。

【０６２８】

図２０Ｂは、ＢＬＡＳＴ分析から７個を超えるＣＴＧリピートを有することが分かった４３個の遺伝子のうちの４０個の遺伝子の発現プロファイルを可視化するために使用したヒートマップである。Ｂｌａｓｔ分析で見つかったＣＴＧリピート遺伝子のうちの３つ（Ｃｒｂ２、Ｈｓｄ３ｂ６、及びＩｎｈｂｅ）のリード数が少なかったため、これらを含めなかった。この分析は、処理条件にわたって同時制御された遺伝子を特定するのに有用である。

【０６２９】

図２１は、ＥＥＶ－ＰＭＯ処理群及びＨＳＡ－ＬＡ群にわたる全体的な転写変化のボルケーノプロットを示す。散布図の各データ点は、遺伝子を表す。各遺伝子の倍率変化をｘ軸に表し、その調整ｐ値のｌｏｇ１０をｙ軸に示す。０．０５未満の調整ｐ値及び２超の倍率変化を有する遺伝子を赤色の点で示している。これらは上方制御された遺伝子を表す。０．０５未満の調整ｐ値及び－２未満の倍率変化を有する遺伝子を青色の点で示している。これらは下方制御された遺伝子を表す。３つの遺伝子が有意に下方制御され（Ｔｘｌｎｂ、Ｓｃｕｂｅ２、及びＧｒｅｂ１）、１つの遺伝子が有意に上方制御された（Ｔｘｌｎｂ）ことが見出された。少なくとも$(CUG)_7$を含むほとんどの転写物が有意に影響されなかった。これらの遺伝子のＰＣＡ分析は、Ｓｃｕｂｅ２（図２２Ａ）、Ｇｒｅｂ１（図２２Ｂ）、Ｔｔｃ７（図２２Ｃ）、Ｔｘｌｎｂ（ＣＵＧ）９、及びＮｄｒｇ３（図２２Ｅ）が、ＥＥＶ－ＰＭＯで処理したときに補正を示したことを示した。Ｔｘｌｎｂは、処理により過補正される（図２２Ｄ）。

【０６３０】

図２３Ａ～２３Ｄは、様々な遺伝子及び様々な処理群のトランスクリプトームデータを示す。ＨＳＡ－ＬＲ＋ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０処理群は、Ａｔｐ２ａ１のエクソン２２の包含（図２３Ａ）、Ｃｌｃｎ１のエクソン７の排除（図２３Ｂ）、Ｎｆｉｘのエクソン７の排除（図２３Ｃ）、及びＭｂｎｌ１のエクソン７の排除（図２３Ｄ）の補正を示した。

【０６３１】

図２４は、様々な遺伝子に対する個々のエクソンのスプライシングパーセント（ＰＳＩ）を示す。これらの遺伝子は、ＭＢＮＬ－１応答性スプライシングバイオマーカー（例えば、下流遺伝子）である。ＭＢＮＬ－１依存性バイオマーカーの選択を、本文献に記載の野生型群と疾患群との間の動的範囲に基づいて選択した。ＨＳＡ－ＬＲ＋ＥＥＶ－ＰＭＯ２２１－１１２０処理群は、Ｍｂｎｌ１、Ｎｆｉｘ、Ａｔｐ２ａ１、Ｌｄｂ３、Ｃａｍｋ２ｇ、Ｔｒｉｍ５５、Ｆｂｏｘ３１、Ｓｌｃ８ａ３、Ｍａｐ３ｋ４、Ｄｃｔｎ４、Ｃａｃｎａ１ｓ、Ｒｙｒ１、Ｓｌａｉｎ２、Ｐｈｋａ１、Ｐｐｐ３ｃｃ、Ｔｔｎ、Ｎｅｂ、ｌｒｒｆｉｐ２、Ｒａｐｇｅｆ１、及びＶｓｐ３９を含む目的とする２０個の遺伝子の全てに対するエクソン包含／排除の補正を示した。

【０６３２】

実施例５．ＤＭ１マウスモデル第２のＤＭ１マウスモデルにおけるＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１２０の評価

ＰＭＯ－ＥＥＶ　ＤＭ１－３（２２１－１１２０、配列については実施例４を参照されたい）を、実施例４に記載の方法と同様の方法を使用して、第２のＤＭ１マウスモデルで評価した。

【０６３３】

実験。７週齢のＨＳＡ－ＬＲマウスに、８０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３又は２０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３を隔週で６週間（４回投与にわたって合計８０

ｍｐｋ）静脈内に単回投与し、組織を単回投与後１週間～１２週間後又は最終投与後２週間後に採取した。ＲＴ－ＰＣＲを使用して、特定の遺伝子（Ａｔｐ２ａ１、Ｃｌｃｎ１、Ｎｆｉｘ、ＭＢＮＬ１）の選択的スプライシングを決定した。Ｑ－ＰＣＲを使用して、処理後のアクチン－ＨＳＡのｍＲＮＡレベルの減少を決定した。ＬＣ質量を使用して、四頭筋、腓腹筋、前脛骨筋、三頭筋、横隔膜、心臓、腎臓、肝臓、脳、及び血漿中の薬物レベルを決定した。ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３化合物で処理した７日後に筋強直軽減を記録した。

【０６３４】

結果。前脛骨筋、腓腹筋、三頭筋、及び四頭筋組織におけるＡｔｐ２ａ１、Ｃｌｃｎ１、Ｎｆｉｘ、及びＭＢＮＬ１のスプライシングのレスキューについて、実施例４で観察された傾向と同様の傾向が観察された（データ示さず）。加えて、ＨＳＡ　ｍＲＮＡノックダウン前脛骨筋、腓腹筋、三頭筋、及び四頭筋組織について、処理の１週間後及び４週間後の両方で、実施例４で観察された傾向と同様の傾向が観察された（データ示さず）。

【０６３５】

図２５Ａ～２５Ｄは、８０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理した１週間～８週間後の前脛骨筋（図２５Ａ）、腓腹筋（図２５Ｂ）、三頭筋（図２５Ｃ）、及び四頭筋（図２５Ｄ）組織における薬物レベルの減少を示すプロットである。ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３（６０ｍｐｋのオリゴ、８０ｍｐｋの全薬物）は、１週間の処理後に、腓腹筋、三頭筋、前脛骨筋、及び四頭筋におけるミススプライシングを完全に補正する。図２６Ａ～２６Ｂは、ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の８０ｍｐｋ単回投与の１週間～４週間、８週間、及び１２週間後に、肝臓での薬物レベルの減少が観察されたことを示すプロットである。単回投与レジメンの４週間後と比較して、比較的高い量のＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３が、６週間投与レジメンの最終投与の２週間後に肝臓で観察された。

図２６Ｃ～２６Ｄは、ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の８０ｍｐｋ単回投与の１週間～４週間、８週間、及び１２週間後に、腎臓での薬物レベルの減少が観察されたことを示す。単回投与レジメンの４週間後と比較して、比較的低い量のＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３も、６週間投与レジメンの最終投与の２週間後から腎臓で観察された。ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の単回投与後１２週間時点で、薬物は腎臓に依然として存在したが、肝臓には存在しなかった。

【０６３６】

主観的な筋強直観察を行い、表１５に示した。複数回投与レジメン（Ｑ２Ｗ）は、処理の２週間後に筋強直レスキューの兆候を示さなかった。８０ｍｐｋ単回用量で処理したマウスでは、筋強直に混合効果があり、この混合効果は処理の１２週間後までに消失した。

【表１５】

表１５．筋強直観察

群	投与前		投与1週間後		投与4週間後		投与8週間後		投与12週間後	
性別	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
FVB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HSA-LR	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
221-112 80mpk	++	++	+	+	+	+	0	+	++	++
221-1120 20mpk Q2W	++	++	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	++	++	該当なし	該当なし
F=雌、M=雄、0=筋強直を呈したマウスはいなかった、+=混合筋強直、一部のマウスが筋強直の減少を呈した、++=全てのマウスが筋強直を呈した。										

【０６３７】

同様の実験を行い、ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の静脈内投与をより長い期間及びより高用量で評価した。８週齢のＨＳＡ－ＬＲマウスを、４０ｍｐｋ、６０ｍｐｋ、８０ｍｐｋ、又は１２０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で静脈内処理し、組織を４週間～１２週間後に採取した。ＲＴ－ＰＣＲを使用して、特定の遺伝子（Ａｔｐ２ａ１、Ｃｌｃｎ１、Ｎｆｉｘ、ＭＢＮＬ１）の選択的スプライシングを決定した。ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３で処理した７日後に筋強直軽減を記録した。前脛骨筋腓腹筋組織におけるＡｔｐ２ａ１、Ｃｌｃｎ１、Ｎｆｉｘ、及びＭＢＮＬ１のスプライシングのレスキューについて、実施例４で観察された傾向と同様の傾向が観察された（データ示さず）。

【０６３８】

主観的な筋強直観察を行い、表１６に示した。雌は雄よりも高い筋強直を呈した。１２０ｍｐｋを投与した雄マウス及び雌マウスの両方において、処理の８週間後に筋強直の兆候はない。

【表１６】

表１６．筋強直観察

群	投与前		投与1週間後		投与4週間後		投与8週間後		投与12週間後	
性別	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
FVB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HSA-LR	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
221-1120 40mpk	++	++	+	++	++	++	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし
221-1120 60mpk	++	++	+	0	+	+	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし
221-1120 80mpk	++	++	0	0	+	+	+	0	+	0
221-1120 120mpk	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0
F=雌、M=雄、0=筋強直を呈したマウスはいなかった、+=混合筋強直、一部のマウスが筋強直の減少を呈した、++=全てのマウスが筋強直を呈した。										

【０６３９】

実施例６．患者由来のＤＭ１細胞のＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３での処理

ＰＭＯ－ＥＥＶ　ＤＭ１－３（２２１－１１２０、配列については実施例４を参照されたい）をＤＭ１患者由来の筋芽細胞で評価した。

【０６４０】

実験。患者の筋芽細胞を、分化の４日間を通して３０マイクロモルのＤＭ１－３で処理した。スプライシング補正を、ワンステップＲＴ－ＰＣＲ及びＬａｂｐｃｈｉｐにより評価した（プロット平均±標準偏差、ｎ＝４）。ＨＣＲ－ＦＩＳＨアッセイ及び捕捉ＭＢＮＬ１タンパク質検出アッセイを使用して、ＲＮＡ　ＣＵＧ病巣を検出した。結果：ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３は、ＤＭ１患者由来の筋細胞における有意なバイオマーカースプライシング補正及び核病巣の減少を促進する。

【０６４１】

結果。図２７Ａ～２７Ｃは、ＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３がＤＭ１患者由来の筋細胞における有意なバイオマーカースプライシング補正を促進する（ＭＢＬＮ１、ＳＯＳ１、及びＮＦＩＸ）ことを示すプロットである。加えて、ＤＭ１－３での処理により、ＤＭ１患者由来の筋細胞における核病巣の減少がもたらされた（図２８Ａ～２８Ｃ）。

【０６４２】

実施例７．腎細胞におけるＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３の細胞毒性スクリーニング

ＰＭＯ－ＥＥＶ　ＤＭ１－３（２２１－１１２０、配列については実施例４を参照されたい）をヒト腎細胞で評価した。

【０６４３】
実験。ヒト初代腎近位尿細管上皮細胞（ＲＰＴＥＣ）を、様々な濃度（生理食塩水中１：２段階希釈、約６μＭ～約８００μＭの最終希釈係数４倍）のＰＭＯ－ＤＭ１及びＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３に２４時間曝露し、ＣＥＬＬＴＩＴＥＲ－ＧＬＯ発光生存率アッセイを使用して生存率についてスクリーニングした。メリチンを１６．６μＭで陽性対照として使用した。
【０６４４】
結果。図２９Ａ～２９Ｂは、ＰＭＯ－ＤＭ１又はそのコンジュゲートされたＥＥＶ－ＰＭＯ－ＤＭ１－３が、それぞれ、８１７μＭ又は７９７μＭの最高濃度であってもいかなる毒性も示さなかったことを示す。
【０６４５】
実施例８．不死化細胞ＤＭ１患者及びＨｅＬａ－４８０細胞におけるミススプライシング事象及び下流スプライシングを補正する能力についてのＰＭＯ－ＥＥＶ　２２１－１１１３の評価
ＤＭ１患者由来の（２，６００個のＣＵＧリピート）不死化筋細胞及びＨｅＬａ－４８０（ＤＭ１モデル細胞株、実施例１を参照されたい）をＥＥＶ－ＰＭＯ構築物２２１－１１１３で処理し、異常なスプライシングの補正及び病巣定量について分析した。ＥＥＶ１１１３は、Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ－Ｋ（シクロ（Ｆｆ－Ｎａｌ－ＧｒＧｒＱ）－ＰＥＧ１２－ＯＨ（Ａｃ－（配列番号４２）－ミニＰＥＧ－Ｋ（シクロ（配列番号８０）－ＰＥＧ１２－ＯＨ）である。ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１１３は、アミド結合化学を介してＰＭＯ配列２２１（５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’（配列番号１５４、全てＰＭＯモノマー）にコンジュゲートされたＥＥＶ１１１３である。
【０６４６】
実験。実施例１及び実施例３に記載の方法と同様の方法を使用した。
【０６４７】
結果
ＲＮＡ　ＣＵＧ病巣分析。細胞を核（Ｈｏｅｓｃｈｅｔ、青色）及びＲＮＡ　ＣＵＧリピート病巣（緑色）について染色し、イメージングした。未処理のＤＭ１患者細胞とＥＥＶ－ＰＭＯで処理したＤＭ１細胞との間でＲＮＡ　ＣＵＧ病巣の減少が観察された（図３０Ａ～３０Ｃ）。同様に、未処理のＨｅＬａ－４８０細胞とＥＥＶ－ＰＭＯ　ＨｅＬａ－４８０細胞との間でＲＮＡ　ＣＵＧ病巣の減少が観察された（図３１Ａ～３１Ｂ）。
【０６４８】
下流スプライシングの補正。ＰＭＯ－ＥＥＶで処理したＤＭ１患者由来の細胞及びＨｅＬａ－４８０細胞を、ＭＢＬＮ１のエクソン５包含パーセント、ＳＯＳ１のエクソン２５包含パーセント、及びＮＦＩＸのエクソン７包含パーセントについて分析した。ＥＥＶ－ＰＭＯでの処理により、Ｍｂｎｌ１（図３２Ａ）、Ｓｏｓ１（図３２Ｂ）、及びＮＦＩＸ（図３２Ｃ）のスプライシング事象のレスキューがもたらされた。
【０６４９】
加えて、ＥＥＶ－ＰＭＯで処理したＨｅＬａ－４８０細胞は、用量依存的様式で、ＭＢＮＬ１（図３３Ａ）、ＳＯＳ１（図３３Ｂ）、ＣＬＡＳＰ１（図３３Ｃ）、ＮＦＩＸ（図３３Ｄ）、及びＩＮＳＲ（図３３Ｅ）のスプライシング及び下流ミススプライシングの用量依存的補正を示した。
【０６５０】
実施例９．第２のＤＭ１マウスモデルにおけるＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１０６の評価
ＤＭ１マウスモデルを用いて、下流遺伝子のスプライシング及びｍＲＮＡレベルに対するＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１０６の影響を研究した。
【０６５１】
実験。ヒト骨格アクチンロングリピート（ＨＳＡ－ＬＲ）トランスジェニックマウスをＤＭ１疾患モデルとして使用した。実施例５に記載の方法と同様の方法を使用した。

【０６５２】
結果。図３４Ａ～３４Ｄは、様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ ２２１－１１０６で処理したマウスの腓腹筋における、Ａｔｐ２ａ１のエクソン２２（図３４Ａ）、Ｎｆｉｘのエクソン７（図３４Ｂ）、Ｃｌｃｎ１のエクソン７Ａ（図３４Ｃ）、及びＭｂｎｌ１のエクソン７Ａ（図３４Ｄ）の包含の用量依存的補正を示す。ＰＭＯ ２２１のみでの処理により、スプライシングの補正はもたらされなかった。
【０６５３】
実施例１０．ＰＭＯにおける異なる長さのＣＵＧリピートの影響を研究するためのＤＭ１マウスモデル
ＤＭ１マウスモデルを用いて、下流遺伝子のスプライシング及びｍＲＮＡレベルに対するＰＭＯ－ＥＥＶ ２２１－１１２１（ＰＭＯは７個のＣＡＧリピートを有する、２１ｍｅｒ）及びＰＭＯ－ＥＥＶ ０３２５－１１２１（ＰＭＯは８個のＣＡＧリピートを有する、２４ｍｅｒ）の効果を研究した。ＰＭＯ－ＥＥＶ ２２１－１１２１は、アミド化学を介してＥＥＶ １１２１（Ａｃ－ＰＫＫＫＲＫＶ－ミニＰＥＧ２－Ｌｙｓ（シクロ［ＧｆＦＧｒＧｒＱ］）－ＰＥＧ１２－ＯＨ；Ａｃ－（配列番号４２）－ミニＰＥＧ２－Ｌｙｓ（配列番号７４）－ＰＥＧ１２－ＯＨ）にコンジュゲートされたＰＭＯ ２２１（５’－ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ－３’；配列番号１５４；全てＰＭＯモノマー）である。ＰＭＯ－ＥＥＶ ０３２５－１１２１は、アミド化学を介してＥＥＶ １１２１にコンジュゲートされたＰＭＯ ０３２５（５’－ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ ＣＡＧ－ＣＡＧ－３’；配列番号１５５；全てＰＭＯモノマー）である。
【０６５４】
実験。ヒト骨格アクチンロングリピート（ＨＳＡ－ＬＲ）トランスジェニックマウスをＤＭ１疾患モデルとして使用した。簡潔に述べると、ＨＳＡ－ＬＲマウスに、尾静脈への静脈内注射により、０２２１－１１２１又は０３２５－１１２１のいずれかを２０ｍｐｋ、４０ｍｐｋ、又は６０ｍｐｋで投与した。注射の１週間後、マウスを 殺し、組織を採取した。他の実験方法は、実施例５に記載の方法と類似しており、それらを使用した。
【０６５５】
結果。前脛骨筋組織では、Ｍｂｎｌ１（図３５Ａ）、Ｎｆｉｘ（図３５Ｂ）、及びＡｔｐ２ａ１（図３５Ｃ）におけるエクソンスプライシングの補正の際に、０２２１－１１２１（２１ｍｅｒ）が０３２５－１１２１（２４ｍｅｒ）よりも効果的であった。この結果は予想外であった。２４ｍｅｒがより高いハイブリダイゼーション効率及びより高い熱融解温度を有するため、２４ｍｅｒがより効果的であると予想された。図３６Ａ～３６Ｃに示すように、腓腹筋組織では、差異は比較的顕著ではなかった。雄マウスを使用して主観的な筋強直観察を行った（表１７）。表１１の結果と同様に、混合筋強直が４０ｍｐｋの２１ｍｅｒで処理した１週間後に観察された。

【表１７】

表１７：筋強直観察

群	投与前	投与１週間後	投与４週間後
性別	M	M	M
FVB	0	0	該当なし
HSA-LR	＋＋	＋＋	該当なし
221-112 20mpk	＋＋	＋＋	該当なし
221-1120 40mpk	＋＋	＋	
325-1120 20mpk	＋＋	＋＋	該当なし
325-1120 40mpk	＋＋	＋＋	
M=雄、0=筋強直を呈したマウスはいなかった、+=混合筋強直、一部のマウスが筋強直の減少を呈した、++=全てのマウスが筋強直を呈した。			

【０６５６】

実施例１１．ＣＤ１マウスにおけるＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０の薬物動態試験

ＣＤ１マウスモデルを使用して、ＥＥＶ－ＰＭＯ構築物２２１－１１２０（配列については実施例４を参照されたい）及びＰＭＯ－０２２１ａに対する血漿、腎臓、及び前脛骨筋薬物曝露（ＡＵＣ）を研究し、２２１－１１２０の主要代謝物（図３７を参照されたい）も測定した。

【０６５７】

実験。５～７週齢のＣＤ１マウスを、静脈内注射により８０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯ構築物２２１－１１２０で処理した。マウスを様々な時点で採血及び／又は瘢痕化した。

【０６５８】

結果。表１８、表１９、及び表２０は、それぞれ、血漿、腎臓、及び前脛骨筋で観察された薬物動態特性を示す。これらの表について、AUC_{last}＝ゼロから最終定量可能濃度までの曲線下面積、Ｄ＝用量、C_{max}＝最大血清又は血漿濃度、T_{max}＝C_{max}に到達するまでの時間、ＣＬ＝総血漿、血清、又は血液クリアランス、$t_{1/2}$＝消失半減期、V_{ss}＝平衡状態での見かけの分布体積、Q_h＝肝血流（ｍｌ／分／ｋｇ）。

【０６５９】

代謝物のＡＵＣ値は、腎臓と比較して、前脛骨において約１０００倍低い。血漿中の代謝物平均滞留時間（ＭＲＴ）値は、尿排泄前に組織から血漿に移動した結果として、組織ＭＲＴ値に直接関連し得る。

【表１８】

表１８：血漿薬物動態特性

	221-1120	PMO-0221a
AUC_{last}(nM*時間)	9290	953
AUC_{last}/D	1121	115
C_{max}(nM)	16217	12
C_{max}/D	1956	1.4
T_{max}(時間)	0.1	24
CL(mL/分/kg)	15	-
Q_h(%)	16	-
$t_{1/2}$(時間)	19	68
MRT_{last}(時間)	1.2	60.0
V_{ss}(mL/kg)	1325	-

【表１９】

表１９：腎臓薬物動態特性

	221-1120	PMO-0221a
AUC_{last}(pmol/g*時間)	51609	10113709
AUC_{last}/D	6225	1219865
C_{max}(pmol/g)	8754	105053
C_{max}/D	1056	12671
T_{max}(時間)	4	24
$t_{1/2}$(時間)	5	87
MRT_{last}(時間)	8	68

【表２０】

表２０：前脛骨筋薬物動態特性

	221-1120	PMO-0221a
AUC_{last}(pmol/g*時間)	-	9140
AUC_{last}/D	-	1102
C_{max}(pmol/g)	34	162
C_{max}/D	4	20
T_{max}(時間)	4	24
$t_{1/2}$(時間)	-	48
MRT_{last}(時間)	-	50

【０６６０】

実施例１２．第３のＤＭ１マウスモデルにおけるＰＭＯ－ＥＥＶ ２２１－１１２０の評価

実施例５及び実施例９と同様のＤＭ１マウスモデル試験を行い、ＨＳＡ－ＬＲマウスにおける様々な用量のＰＭＯ－ＥＥＶ ２２１－２２０（配列については実施例４を参照されたい）の影響を評価した。

【０６６１】

実験。８週齢のＨＳＡ－ＬＲマウスに、４０ｍｐｋ、６０ｍｐｋ、８０ｍｐｋ、又は１２０ｍｐｋのＰＭＯ－ＥＥＶ ２２１－１１２０を静脈内投与し、組織を４～１２週間後に採取した。ＲＴ－ＰＣＲを使用して、特定の遺伝子（Ａｔｐ２ａ１、Ｃｌｃｎ１、Ｎｆｉｘ、ＭＢＮＬ１）の選択的スプライシングを決定した。ＬＣ質量を使用して、四頭筋、胃、ＴＡ、三頭筋、横隔膜、心臓、腎臓、肝臓、脳、血漿中の薬物レベルを決定した。ＲＮＡ－ｓｅｑを使用して、処理した疾患モデルと未処理の疾患モデルと野生型との間の転写レベルの変化を決定した。Ｑ－ＰＣＲを使用して、処理後のアクチン－ＨＳＡのｍＲＮＡレベルの減少を決定した。

【０６６２】

結果。蛍光イメージングを使用して、ＥＥＶ－オリゴ化合物で処理した後のＲＮＡ病巣減少を決定した（データ示さず）。ＥＥＶ－オリゴ化合物で処理した７日後に筋強直軽減を記録した（データ示さず）。これらの実験の結果は、実施例５及び実施例１４におけるＰＭＯ－ＥＥＶ ２２１－１１２０で処理したマウスと同様の傾向を示す。

【０６６３】

ＭＢＮＬ１、ＮＦＩＸ、及びＡＴＰ２Ａ１スプライシング補正が、様々な用量のＥＥＶ－ＰＭＯで、前脛骨筋（図３８Ａ、図３９Ａ、図４０Ａ）及び腓腹筋（図３８Ｂ、図３９Ｂ、図４０Ｂ）で観察された。ＭＢＮＬ１、ＮＦＩＸ、及びＡＴＰ２Ａ１スプライシング補正が、１２０ｍｐｋのＥＥＶ－ＰＭＯで処理した１２週間後に前脛骨筋及び腓腹筋の両方で観察された。

【０６６４】

実施例１３．ＨｅＬａ４８０細胞におけるＥＥＶ－ＰＭＯ ２２１－１１２０の評価

ＨｅＬａ４８０細胞を様々な濃度のＥＥＶ－ＰＭＯ ２２１－１１２０で処理し（配列については実施例４を参照されたい）、ＭＢＮＬ１及びＳＯＳ１のＣＵＧリピート病巣、

選択的ｒ（ＣＵＧ）減少、及び下流スプライシング補正について分析した。

【０６６５】

実験。Ｈｅｌａ４８０細胞を、前述の実施例に記載のように構築した。ＲＴ－ＰＣＲ及び病巣染色を、本明細書に記載の他の実施例と同様に行った。

【０６６６】

結果。図４１Ａ～４１Ｂは、対照細胞（未処理）、並びに５μＭ、１０μＭ、２０μＭ、５０μＭ、及び１００μＭのＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０で処理した細胞の例示的な画像を示す。未処理のＨｅＬａ４８０細胞と比較して、処理したＨｅＬａ４８０群においてＣＵＧ病巣（緑色）の減少が見られる。図４１Ｂは、核面積当たりの病巣を定量するプロットである。図４１Ａ～４１Ｂは、ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０が核ＣＵＧＲＮＡ病巣を減少させることができることを示す。５μＭ用量では、ほぼ完全な減少が観察される。

【０６６７】

図４２Ａ～４２Ｂは、ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０での処理により、ＨｅＬａ４８０細胞株におけるリピート伸長含有ＤＭＰＫ転写物を選択的にノックダウンすることができることを示す。

【０６６８】

図４２Ｃ～４２Ｄは、ＥＥＶ－ＰＭＯ　２２１－１１２０での処理により、ＭＢＮＬ１（図４２Ｃ）及びＳＯＣＳ１（図４２Ｄ）スプライシングが用量依存的様式で補正されたことを示す。

【０６６９】

本発明のいくつかの実施形態が説明されている。それにもかかわらず、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、様々な修正が加えられてもよいことが理解される。したがって、他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内である。

【図面】

【図１】

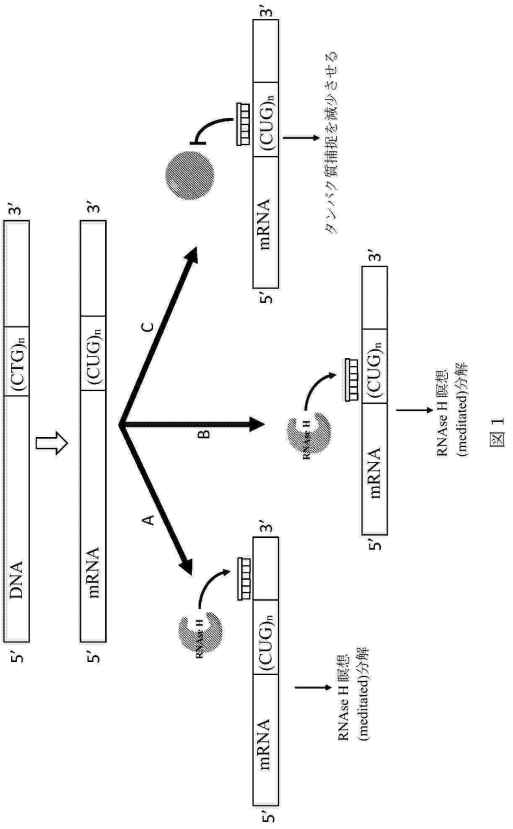


図１

【図２】

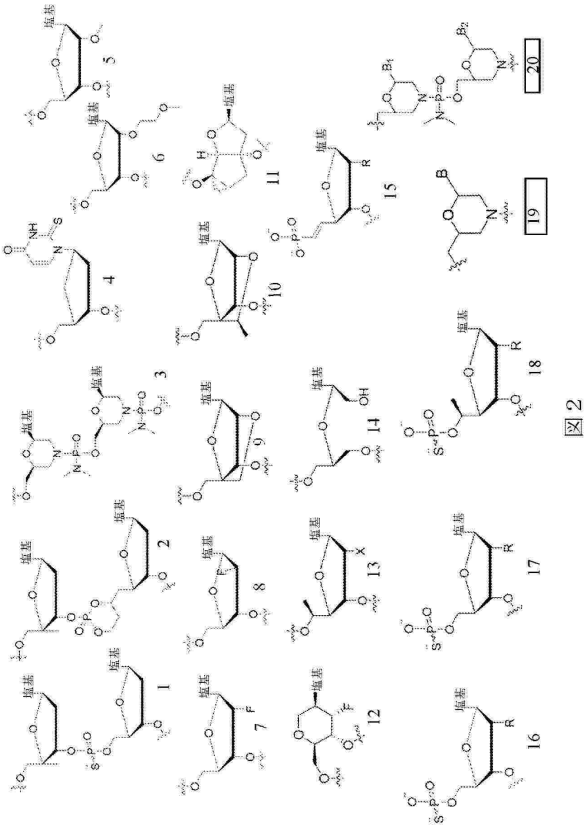


図２

【図３Ａ】

図３Ａ

【図３Ｂ】

図３Ｂ

【図３Ｃ】

図３Ｃ

【図３Ｄ】

図３Ｄ

【図４】

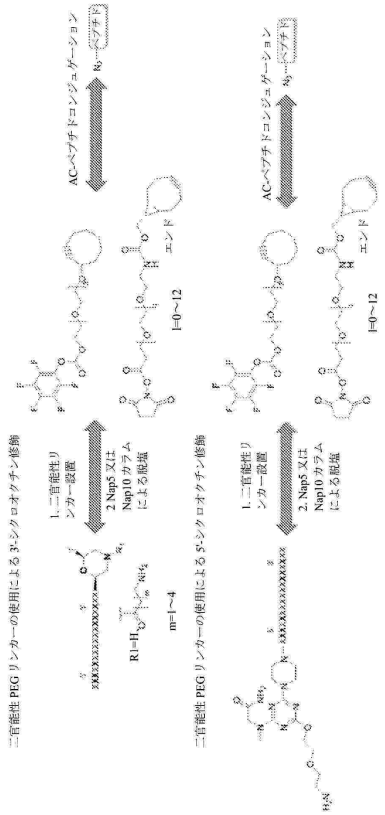


図４

【図５Ａ】

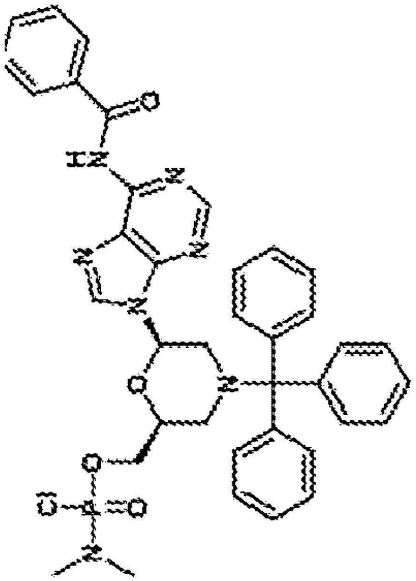


図５Ａ

【図５Ｂ】

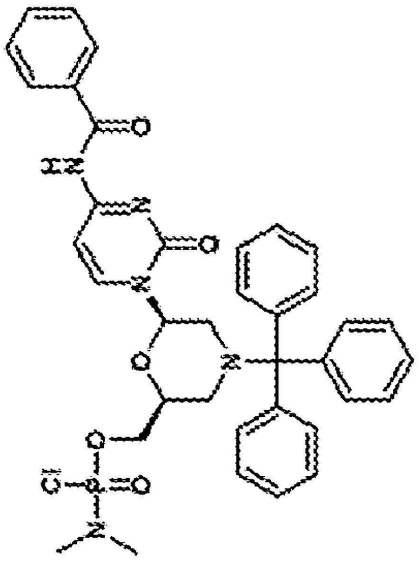


図５Ｂ

【図５Ｃ】

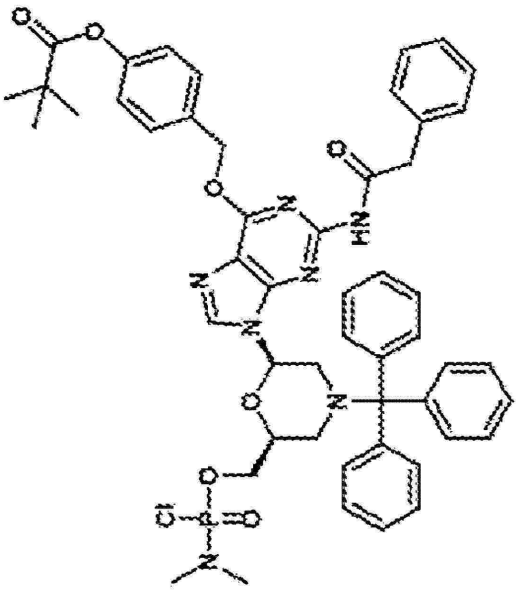


図５Ｃ

【図５Ｄ】

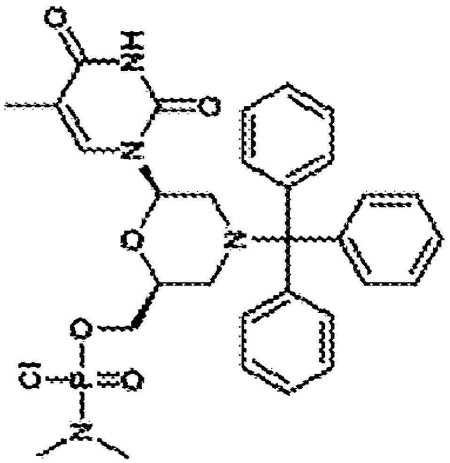


図５Ｄ

【図６Ａ】

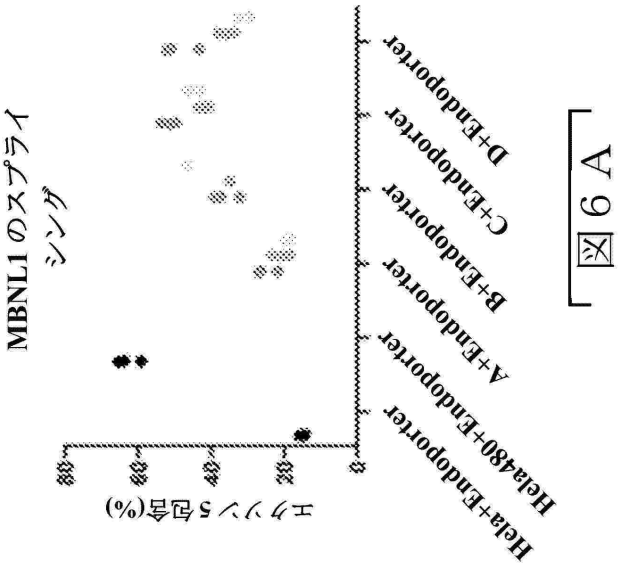


図６Ａ

【図６Ｂ】

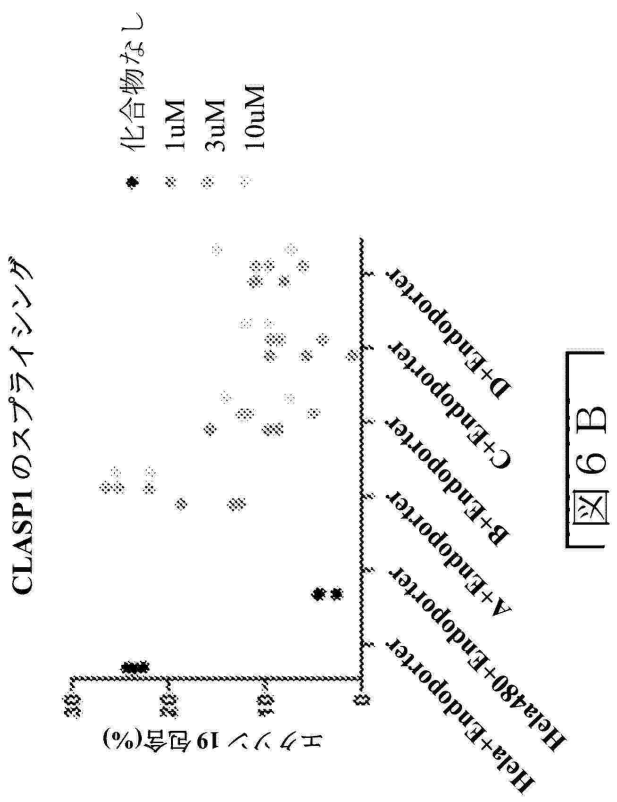


図６Ｂ

【図６Ｃ】

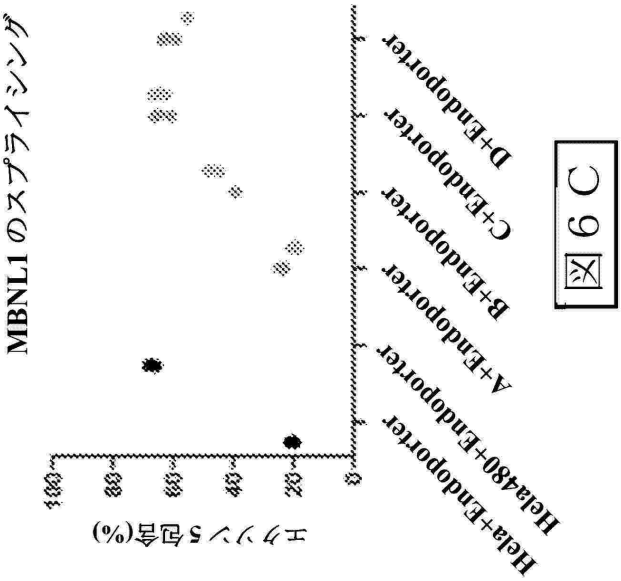


図６Ｃ

【図６Ｄ】

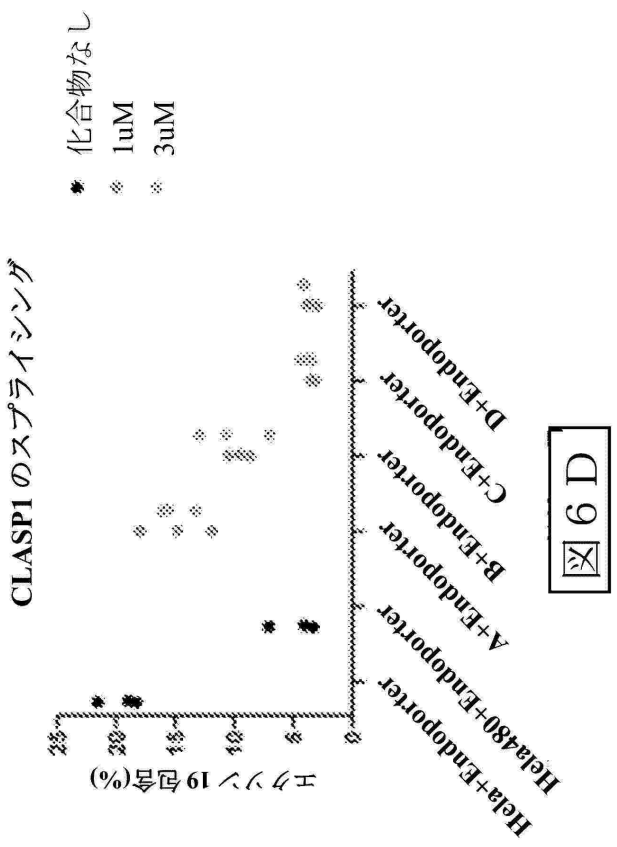


図６Ｄ

【図６Ｅ】

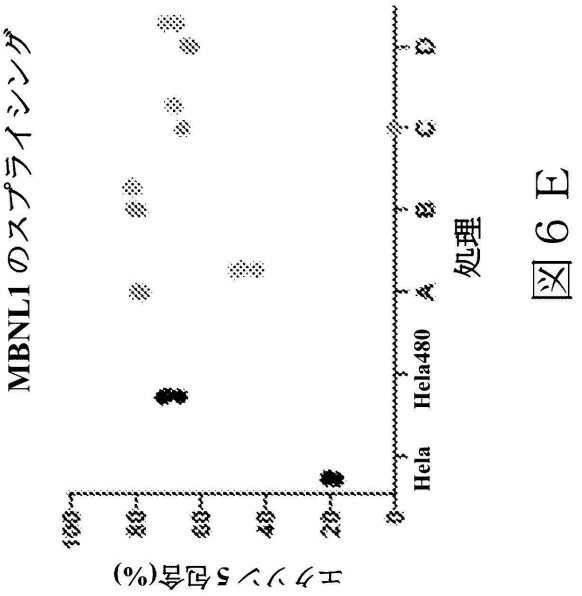


図６Ｅ

【図６Ｆ】

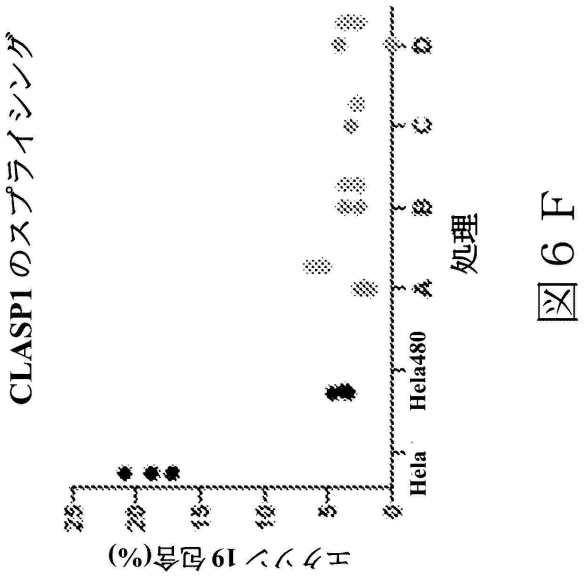


図６Ｆ

【図７Ａ】

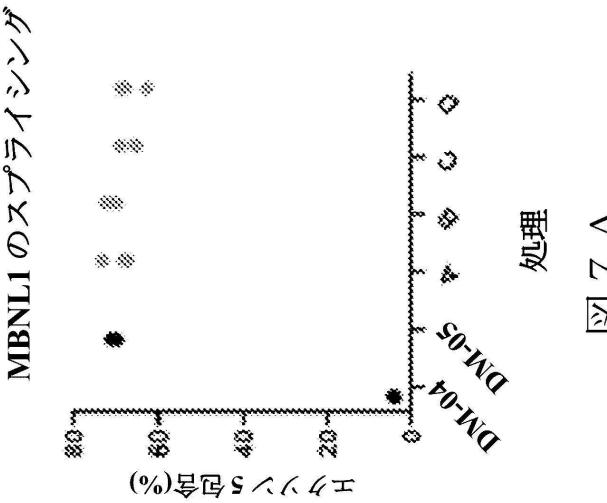


図７Ａ

【図７Ｂ】

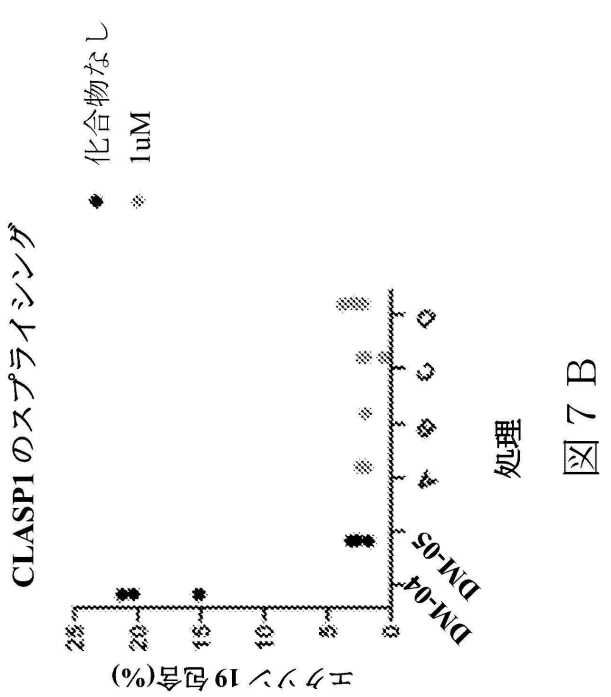


図７Ｂ

【図８Ａ】

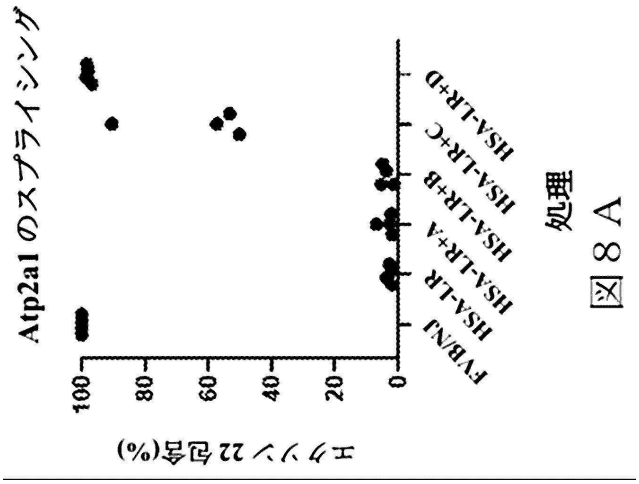


図８Ａ

【図８Ｂ】

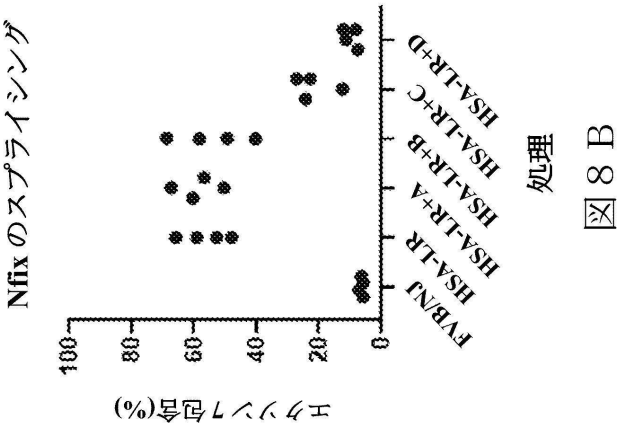


図８Ｂ

【図８Ｃ】

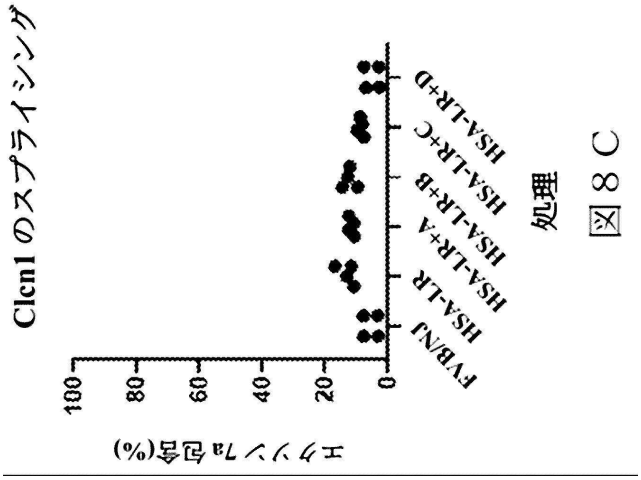


図８Ｃ

【図８Ｄ】

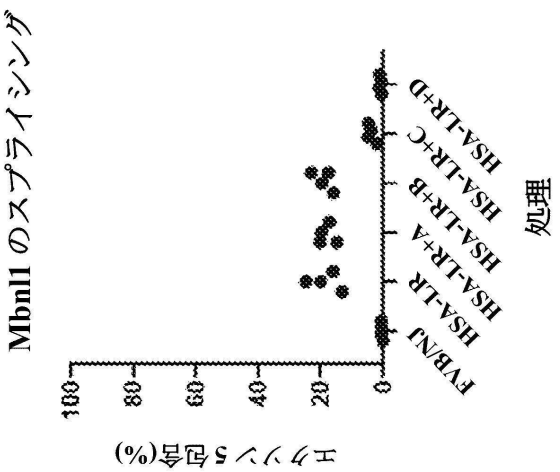


図８Ｄ

【図９Ａ】

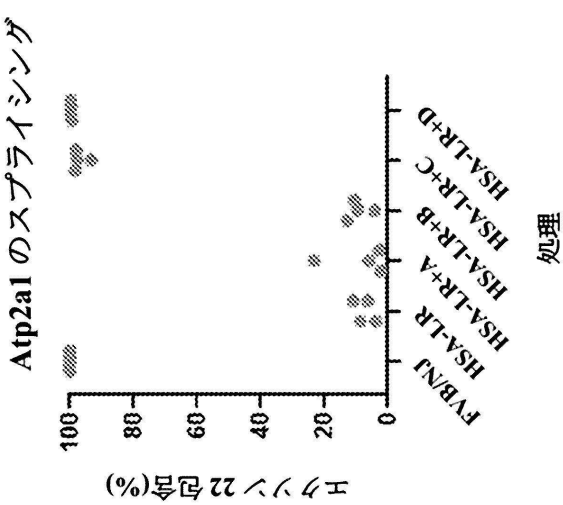


図９Ａ

【図９Ｂ】

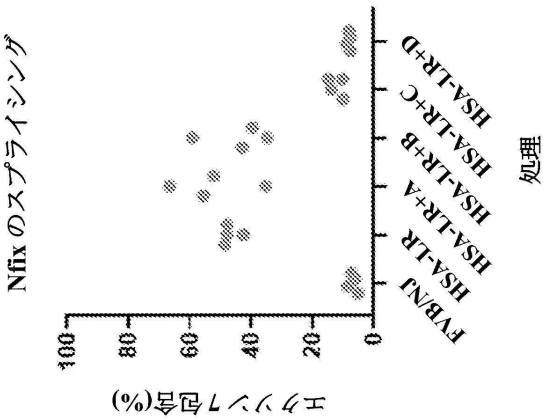


図９Ｂ

【図９Ｃ】

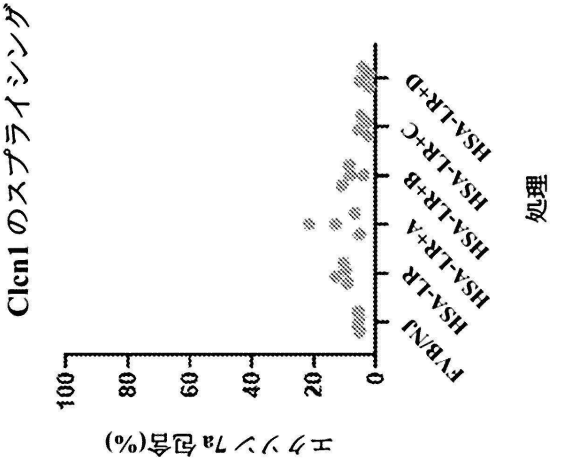


図９Ｃ

【図９Ｄ】

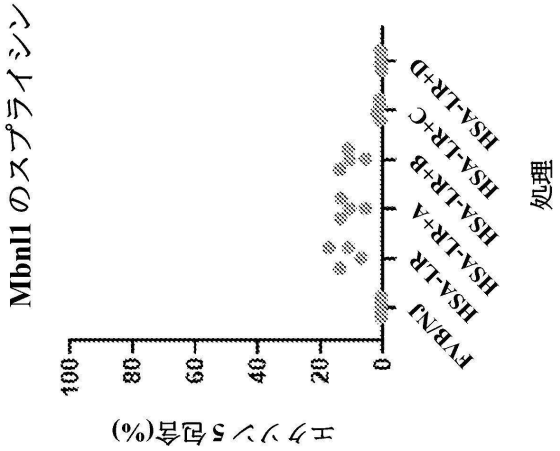


図９Ｄ

【図１０Ａ】

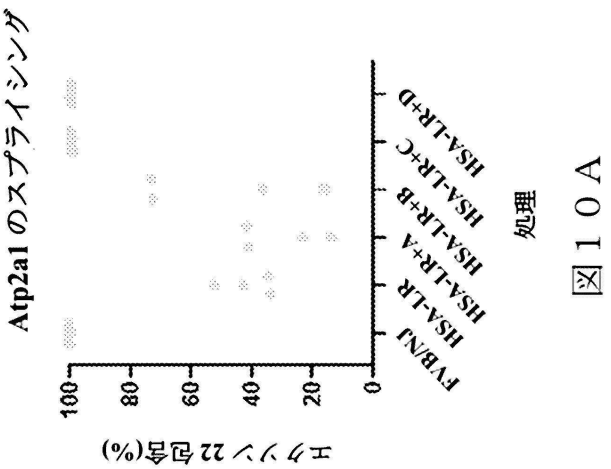


図１０Ａ

【図１０Ｂ】

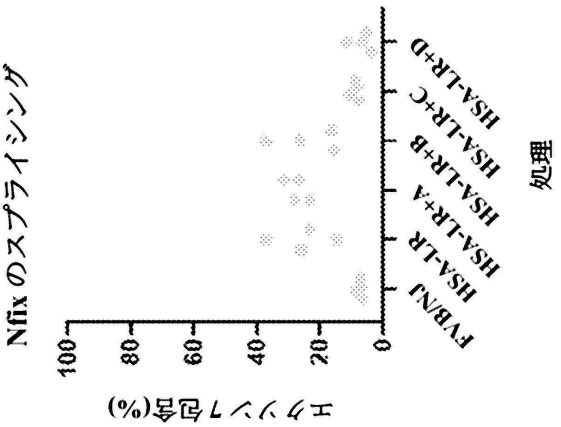


図１０Ｂ

【図１０Ｃ】

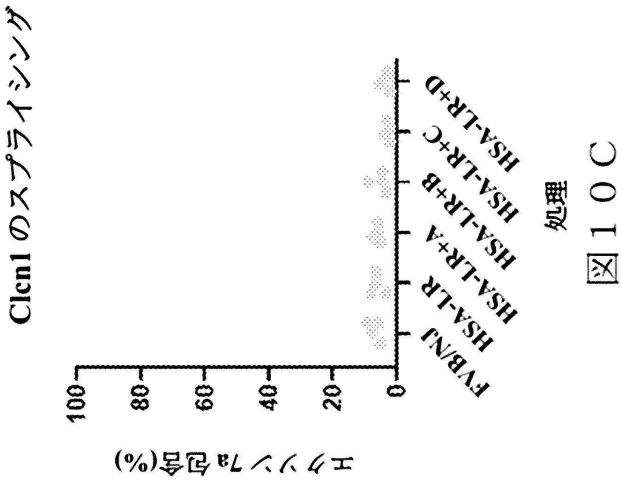


図１０Ｃ

【図１０Ｄ】

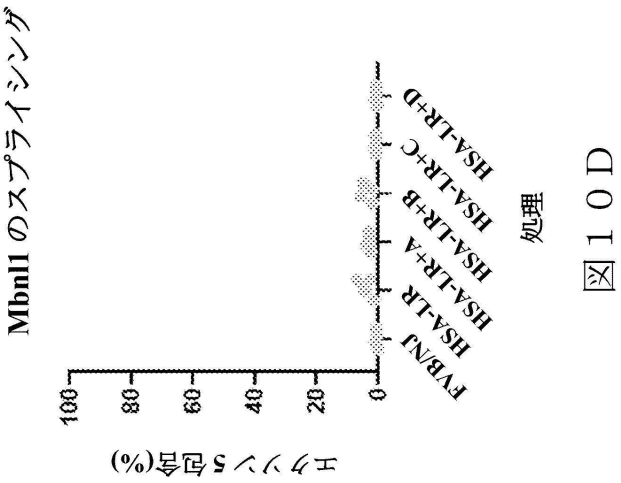


図１０Ｄ

【図１１Ａ】

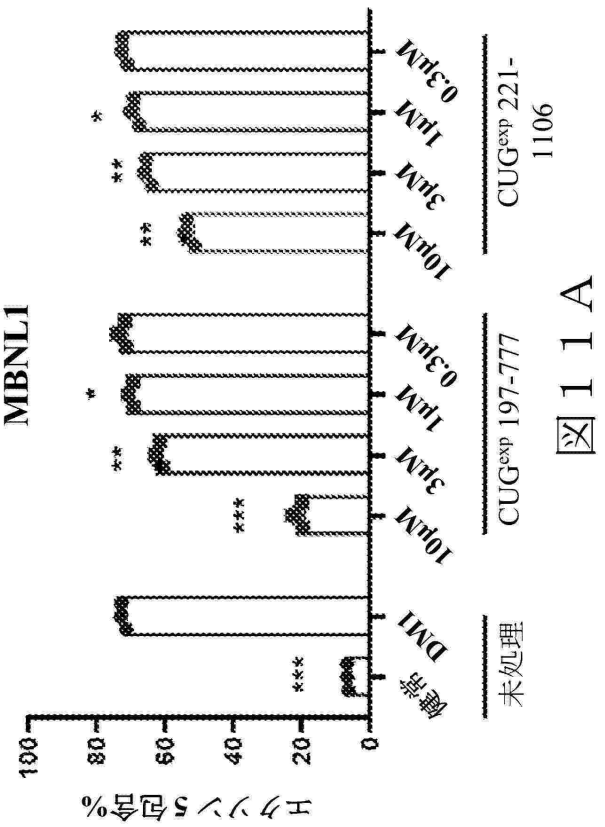


図１１Ａ

【図１１Ｂ】

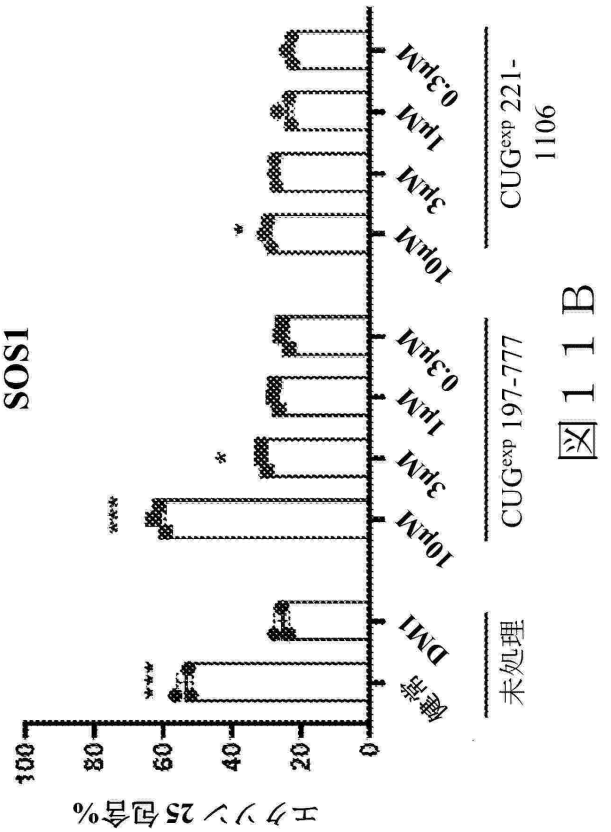


図１１Ｂ

【図１１Ｃ】

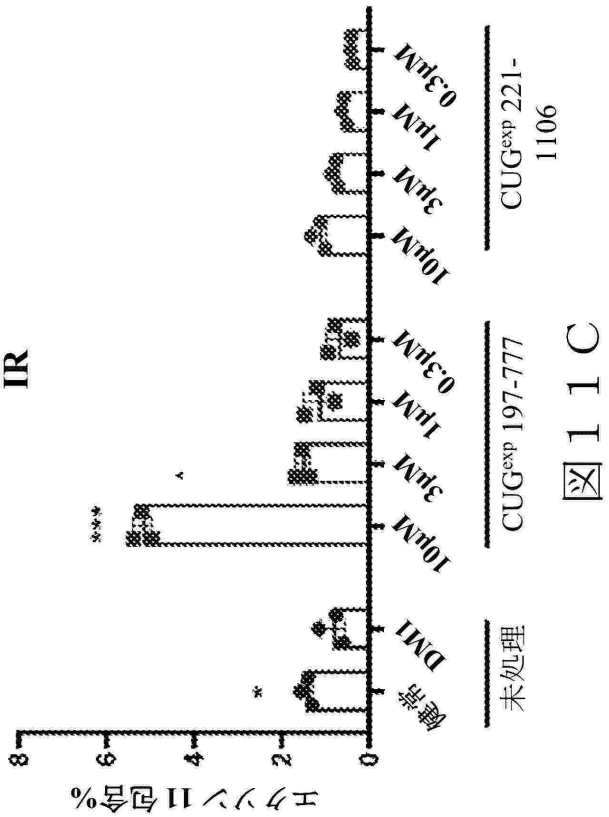


図１１Ｃ

【図１１Ｄ】

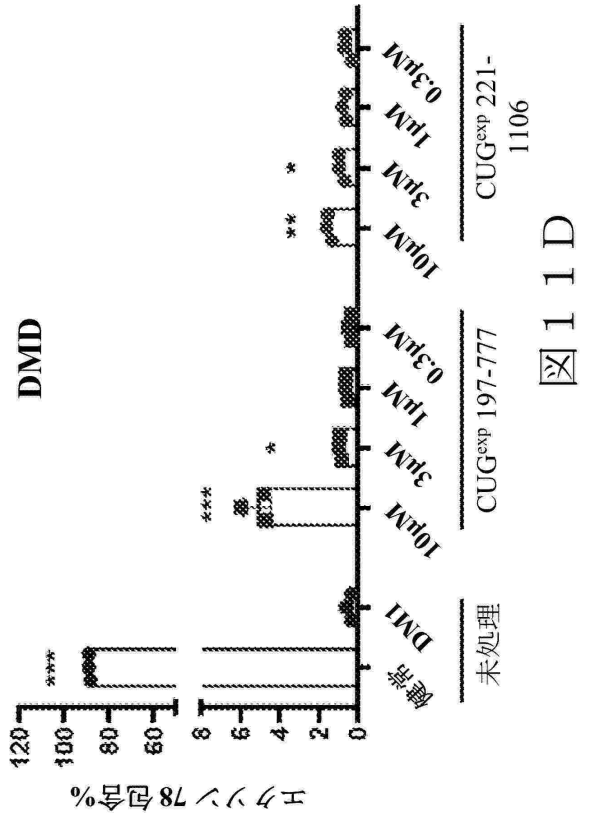


図１１Ｄ

【図１１Ｅ】

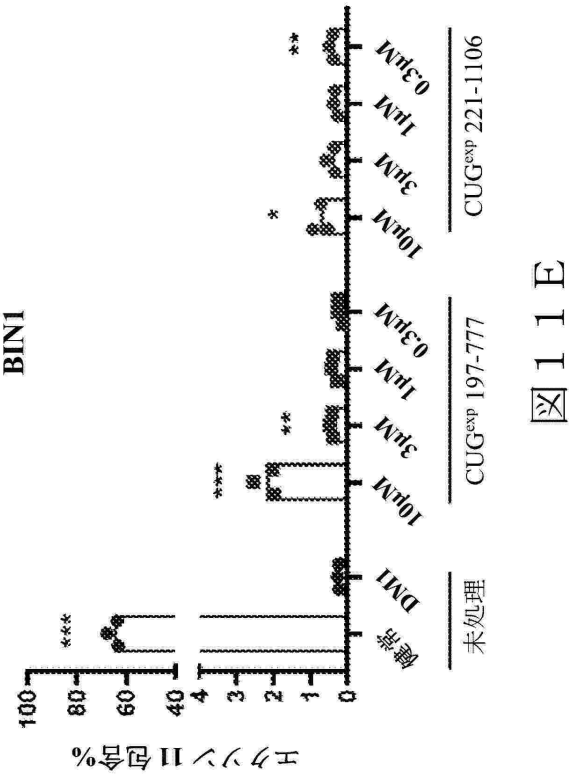


図１１Ｅ

【図１１Ｆ】

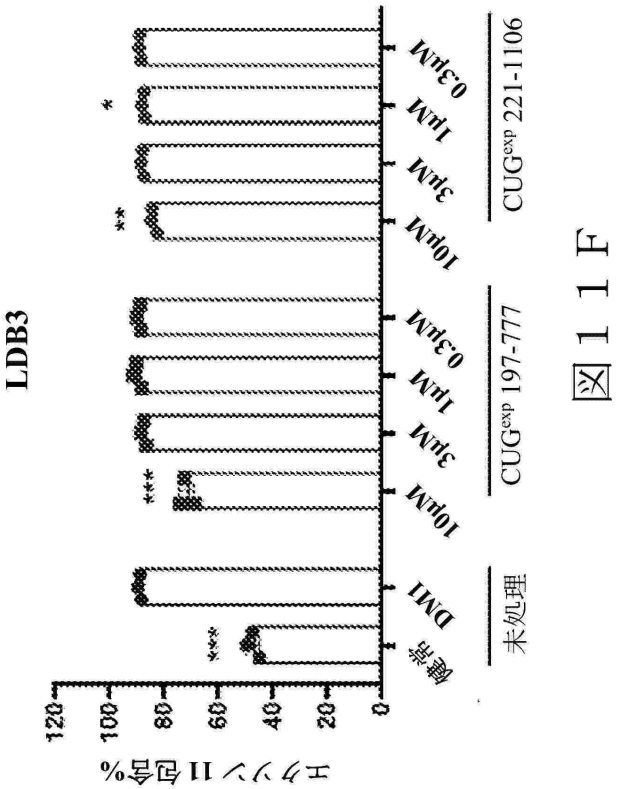


図１１Ｆ

【図１２Ａ】

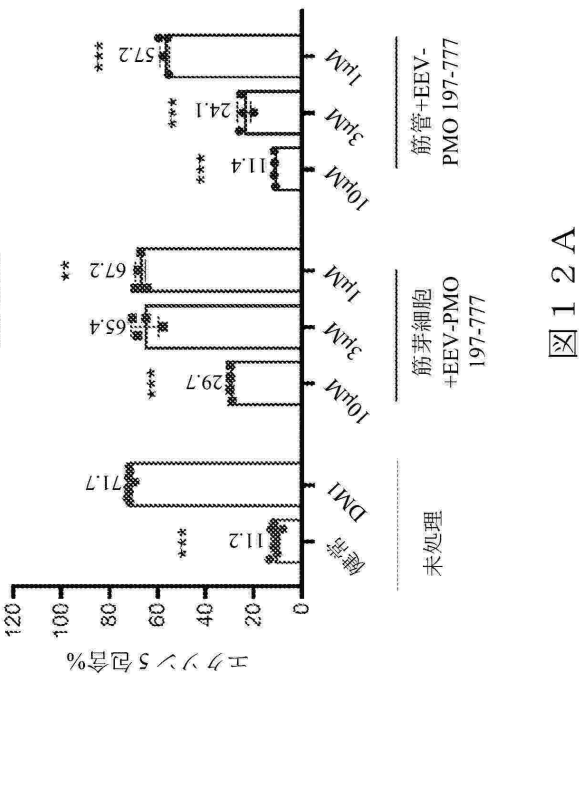


図１２Ａ

【図１２Ｂ】

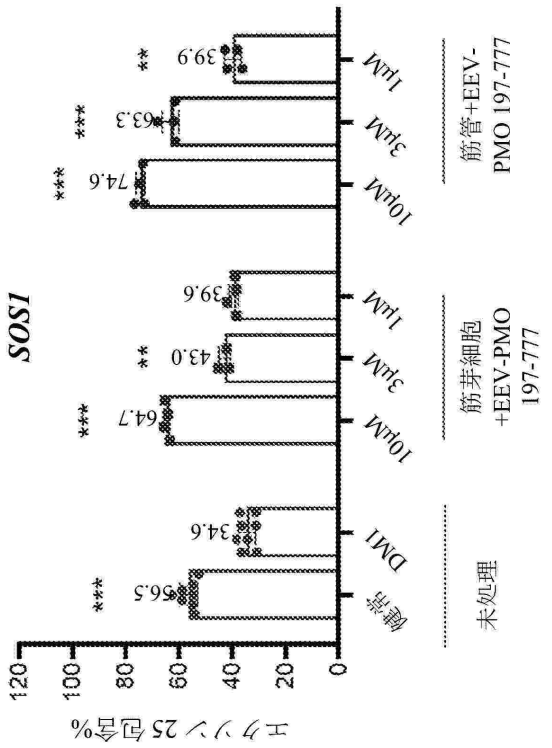


図１２Ｂ

【図１２Ｃ】

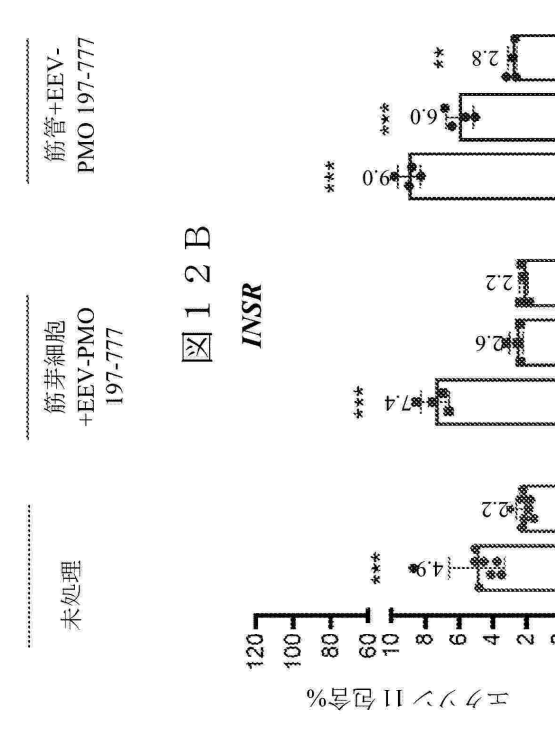


図１２Ｃ

【図１２Ｄ】

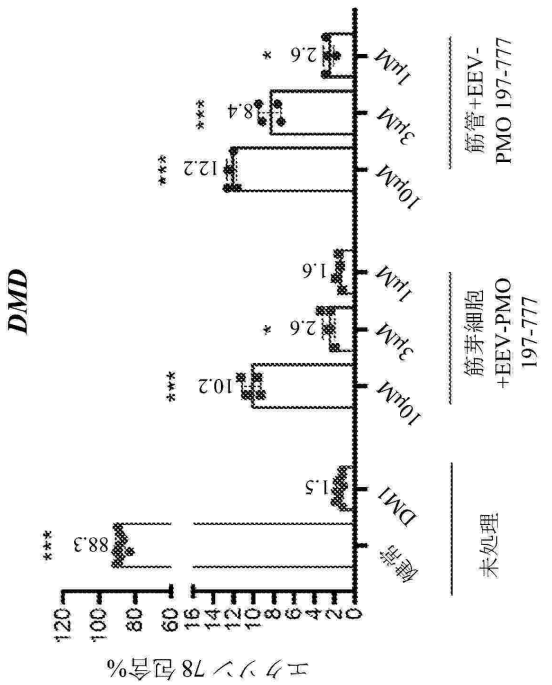


図１２Ｄ

【図１２Ｅ】

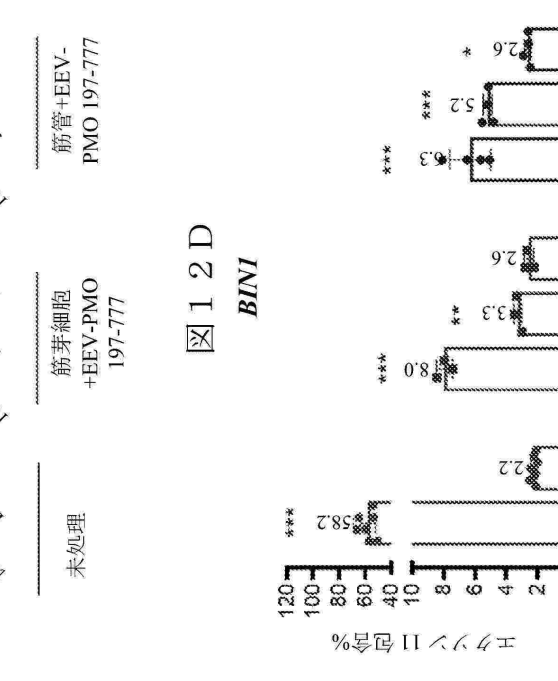


図１２Ｅ

【図１２Ｆ】

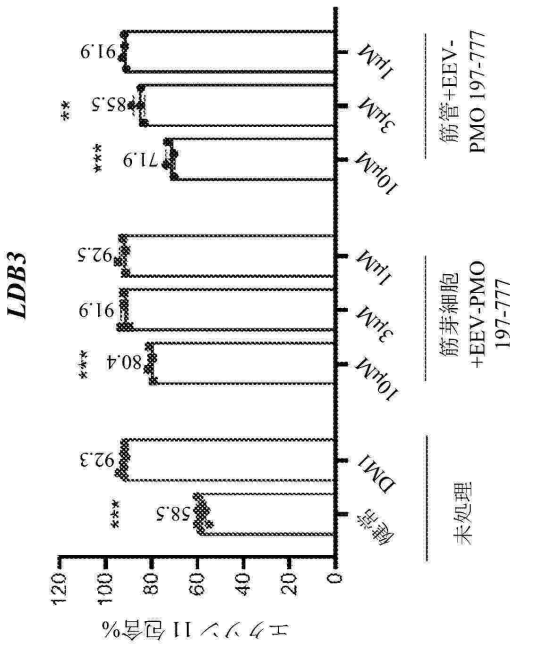


図１２Ｆ

【図１３Ａ】

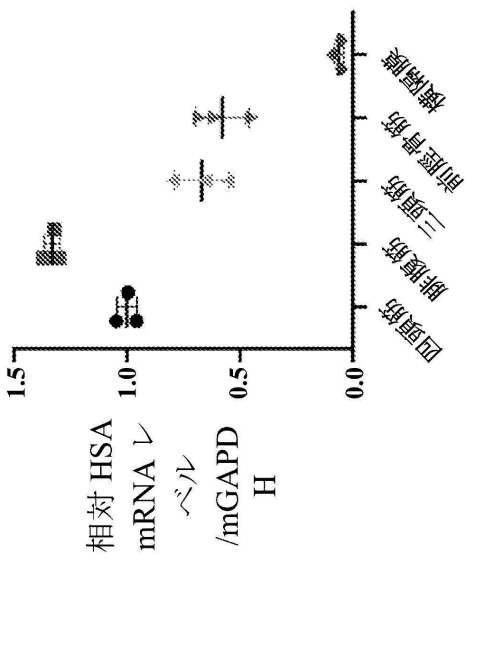


図１３Ａ

【図１３Ｂ】

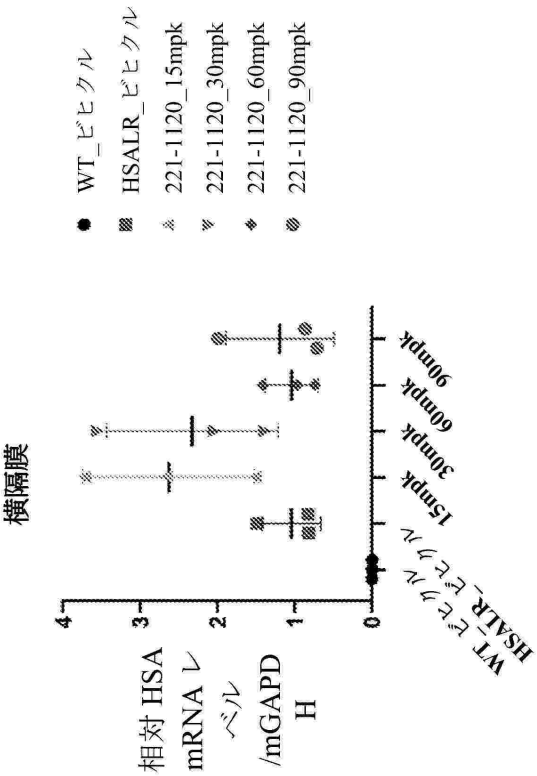


図１３Ｂ

【図１４Ａ】

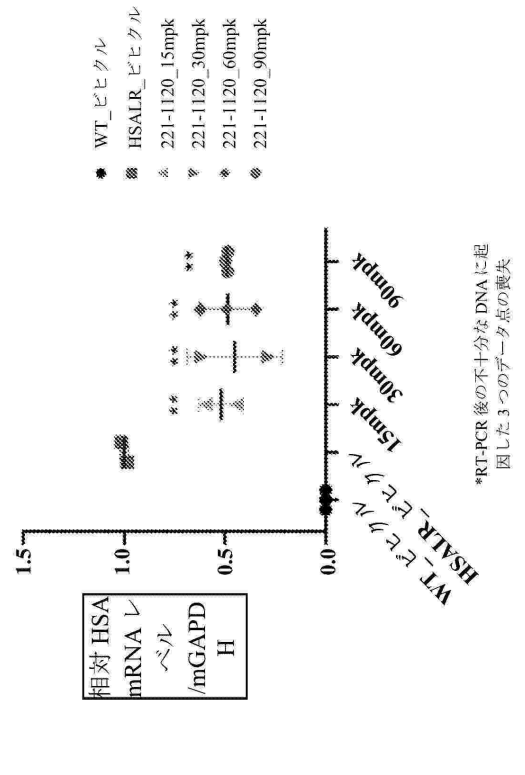


図１４Ａ

【図１４Ｂ】

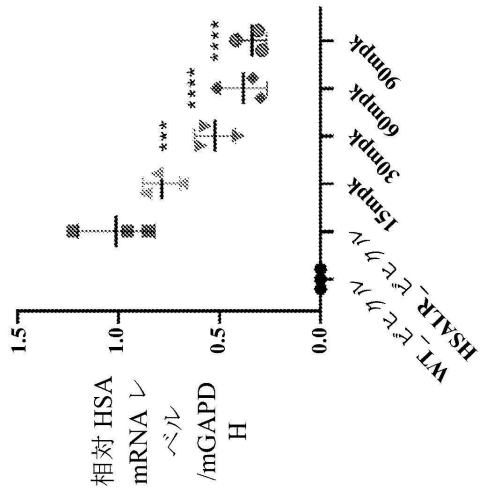


図１４Ｂ

【図１４Ｃ】

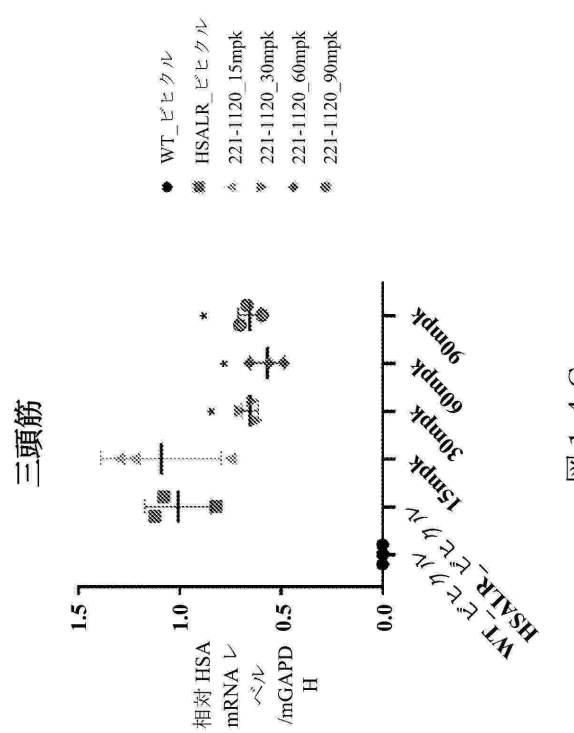


図１４Ｃ

【図１４Ｄ】

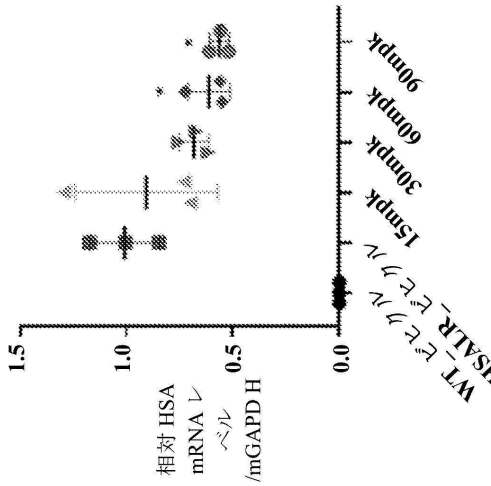


図１４Ｄ

【図１５Ａ】

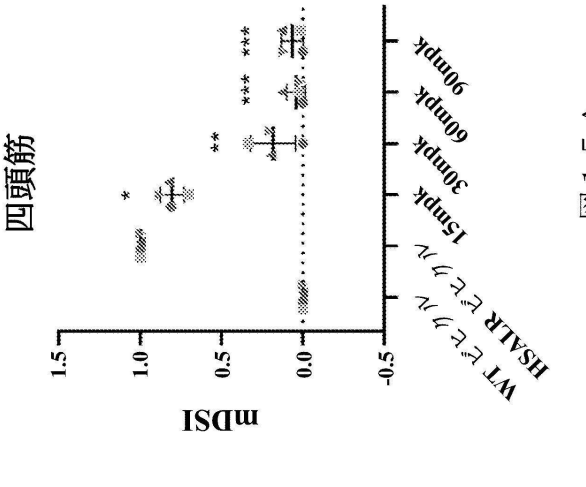


図１５Ａ

【図１５Ｂ】

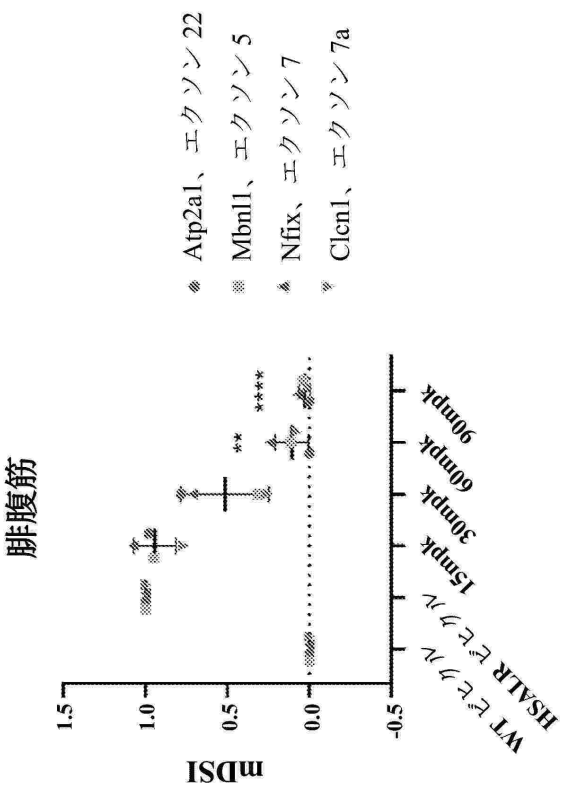


図１５Ｂ

【図１５Ｃ】

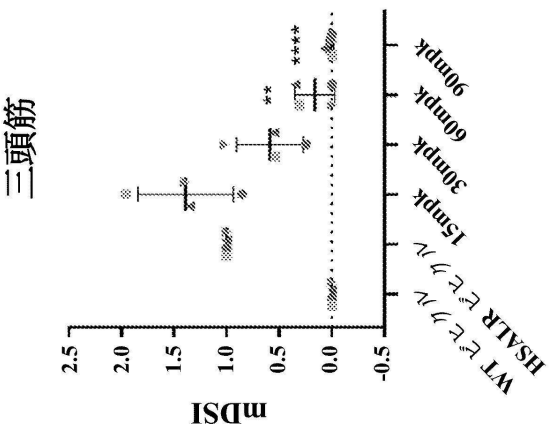


図１５Ｃ

【図１５Ｄ】

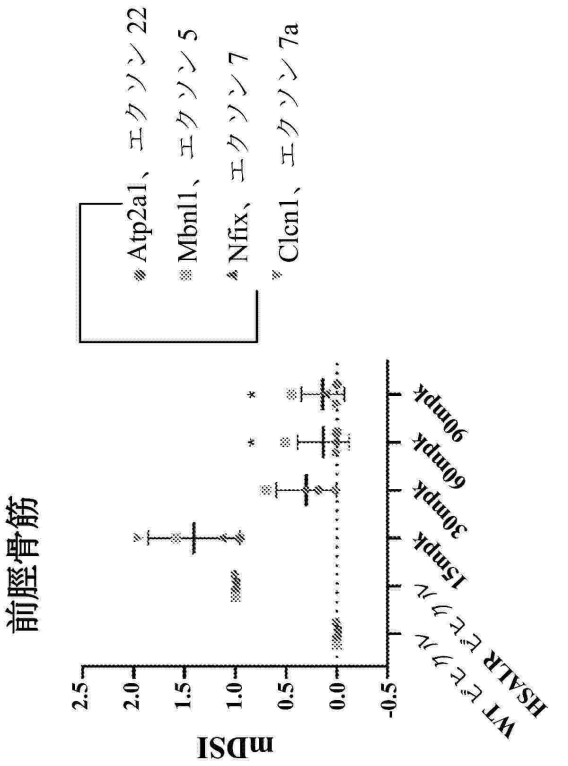


図１５Ｄ

【図１６Ａ】

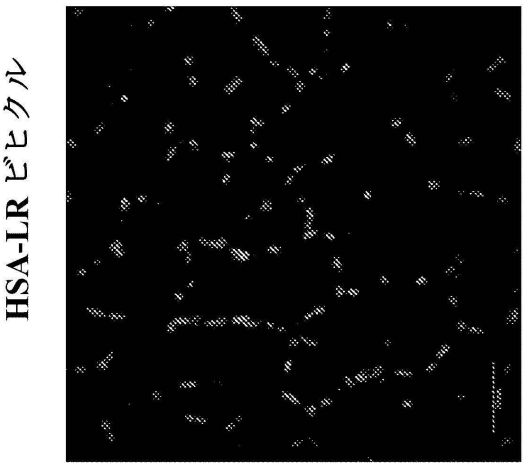


図１６Ａ

【図１６Ｂ】

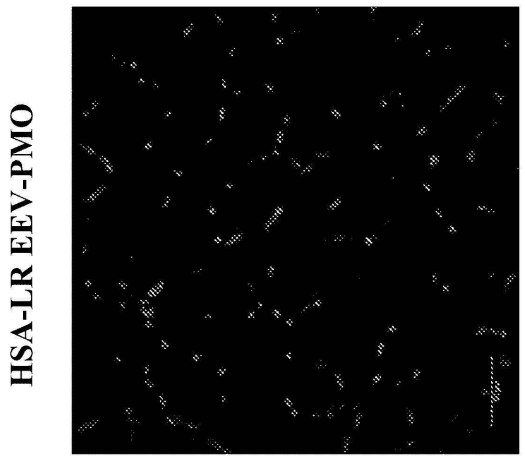


図１６Ｂ

【図１６Ｃ】

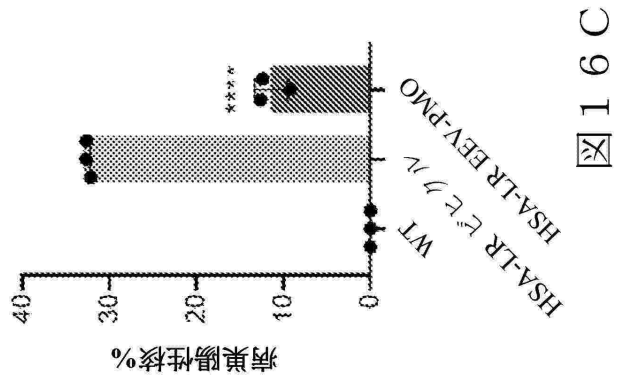


図１６Ｃ

【図１７Ａ】

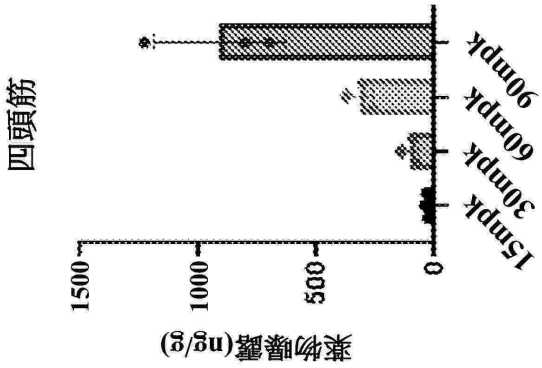


図１７Ａ

【図１７Ｂ】

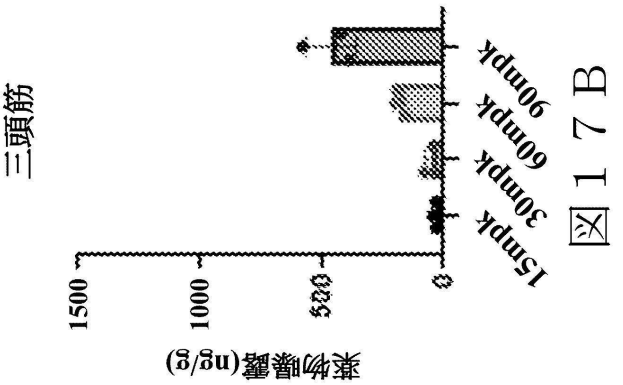


図１７Ｂ

【図１７Ｃ】

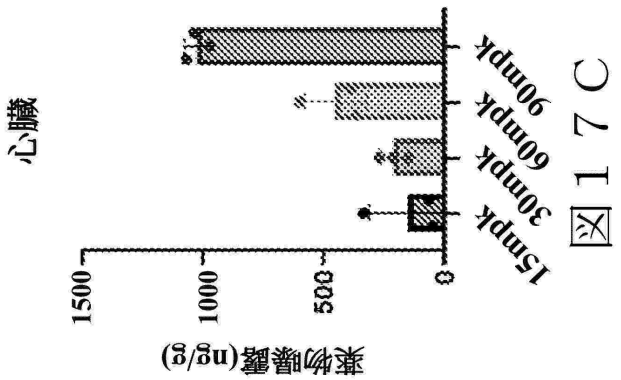


図１７Ｃ

【図１７Ｅ】

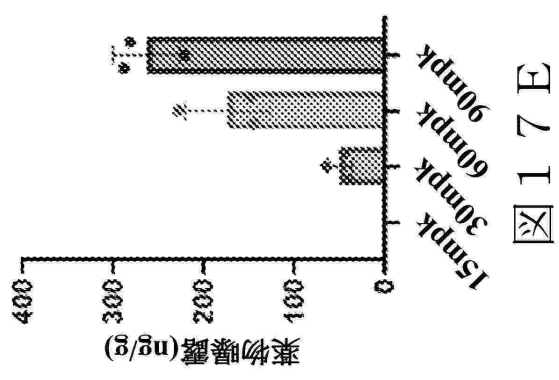


図１７Ｅ

【図１７Ｆ】

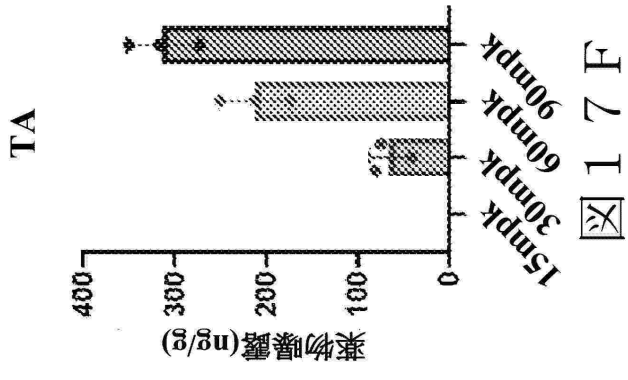


図１７Ｆ

【図１７Ｇ】

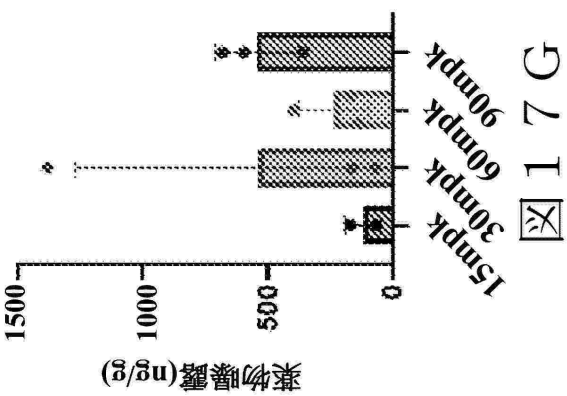


図１７Ｇ

【図１７Ｈ】

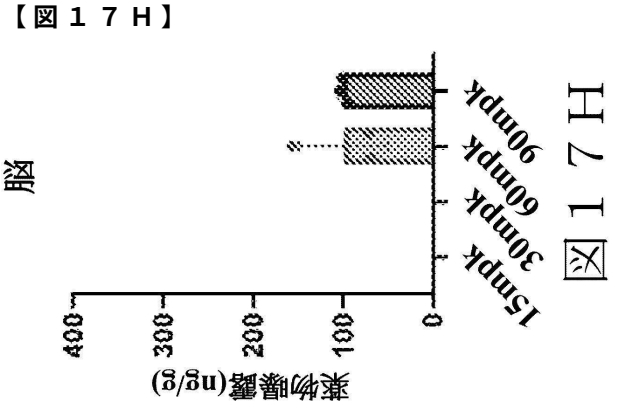


図１７Ｈ

【図１７Ｉ】

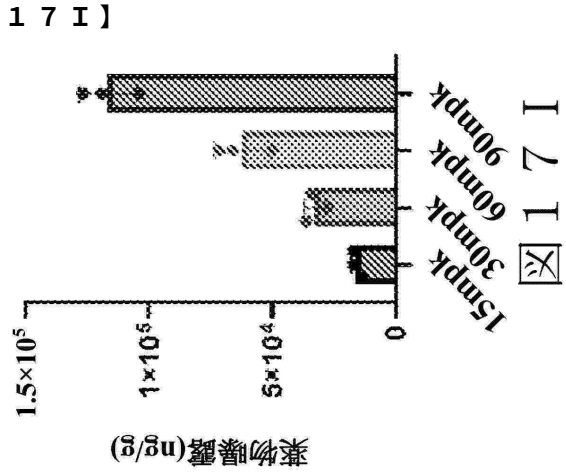


図１７Ｉ

【図１７Ｊ】

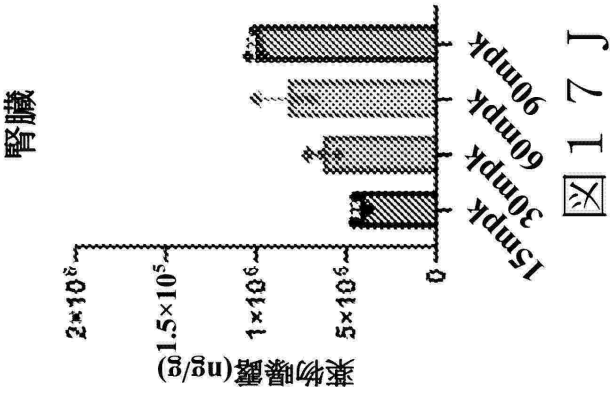


図１７Ｊ

【図１７Ｋ】

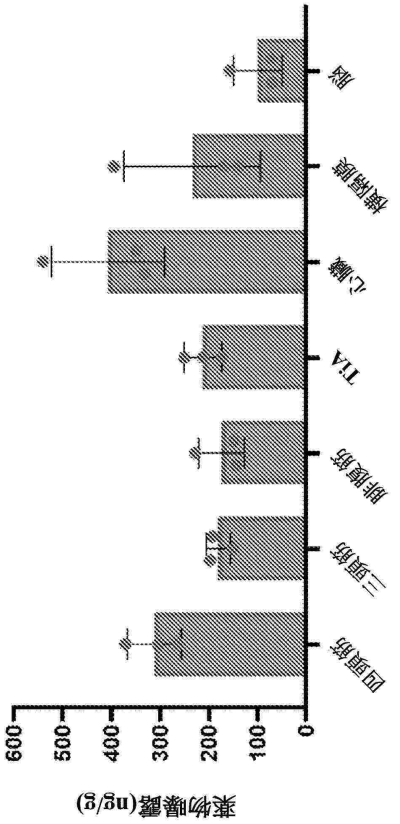


図１７Ｋ

【図１８】

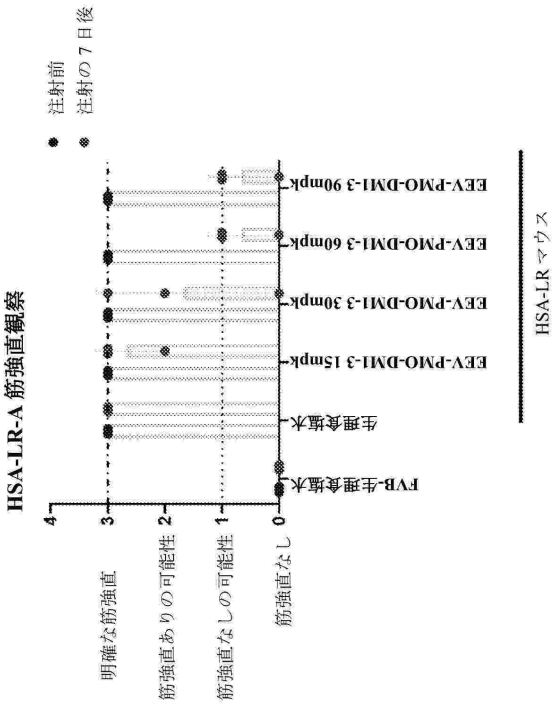


図１８Ａ

【図１９Ａ】

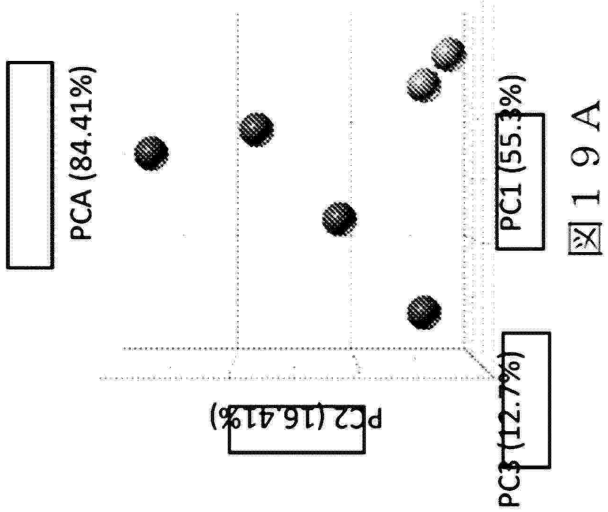


図１９Ａ

【図１９Ｂ】

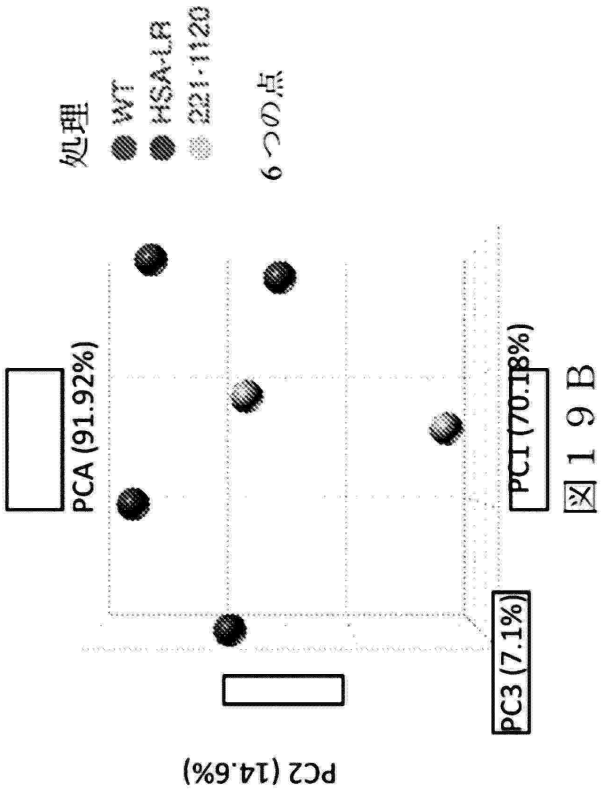


図１９Ｂ

【図１９Ｃ】

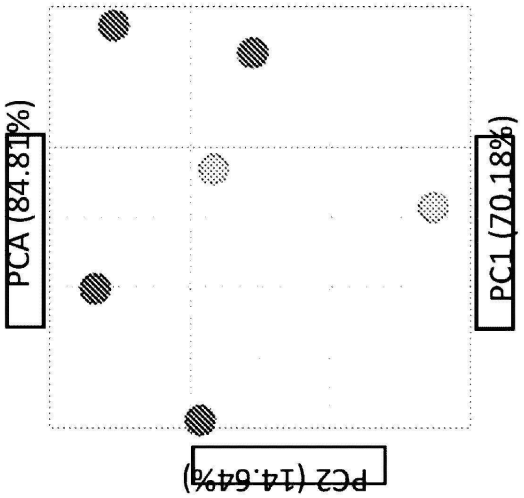


図１９Ｃ

【図１９Ｄ】

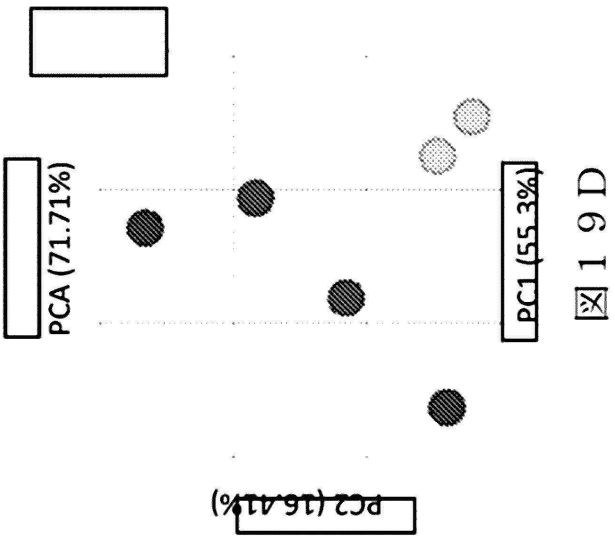


図１９Ｄ

【図２０Ａ】

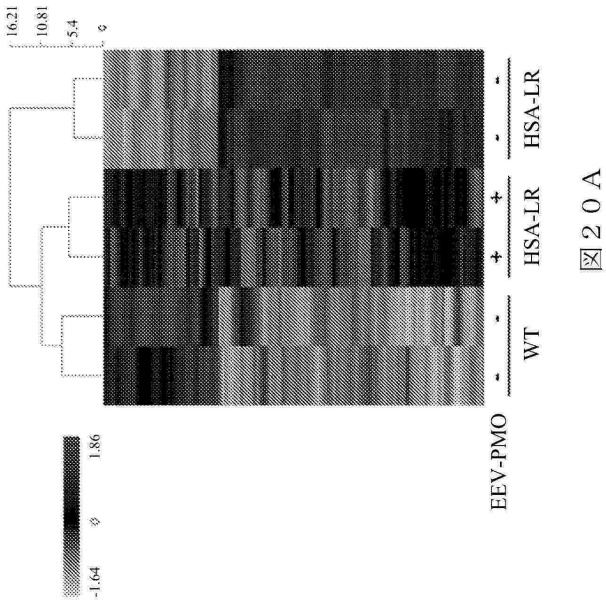


図２０Ａ

【図２０Ｂ】

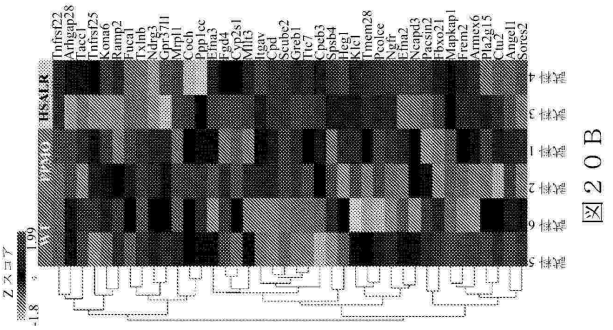


図２０Ｂ

【図２１】

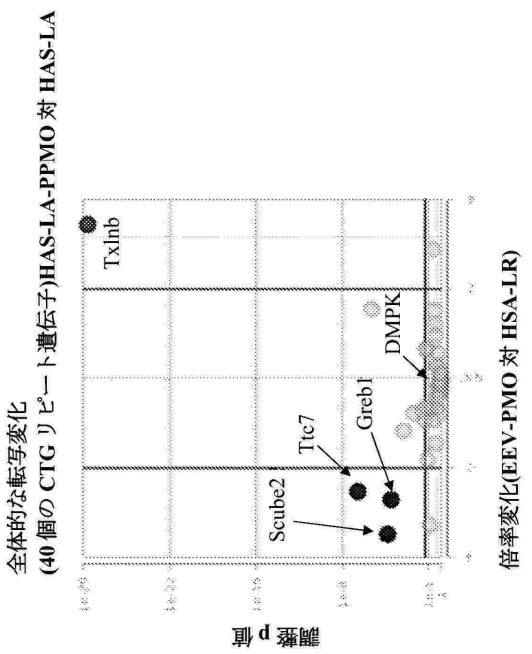


図２１

【図２２】

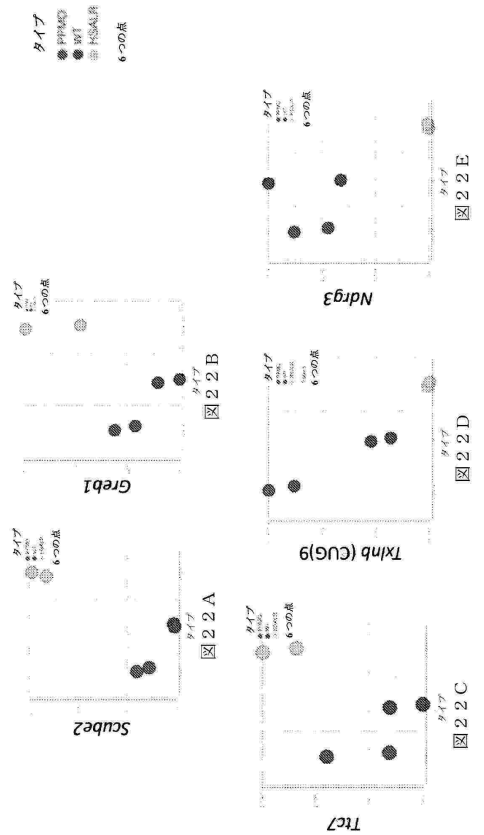


図２２Ａ
図２２Ｂ
図２２Ｃ
図２２Ｄ
図２２Ｅ

【図２３Ａ】

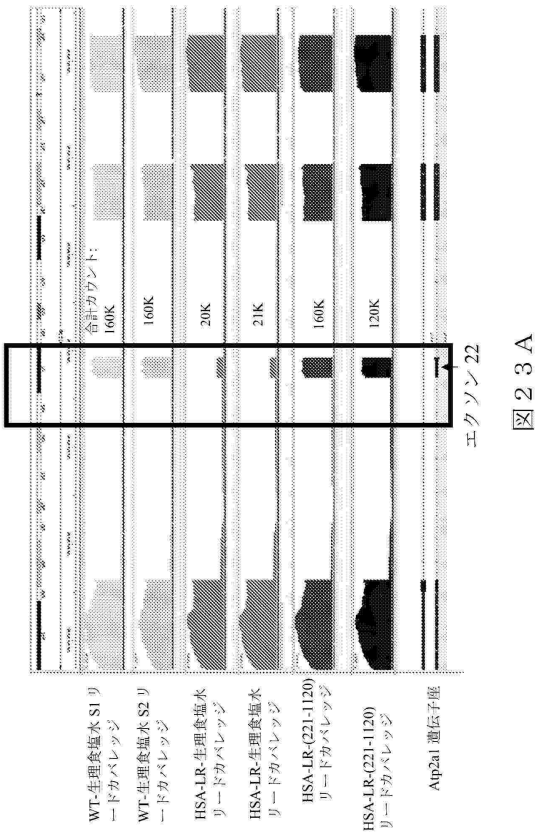


図２３Ａ

【図２３Ｂ】

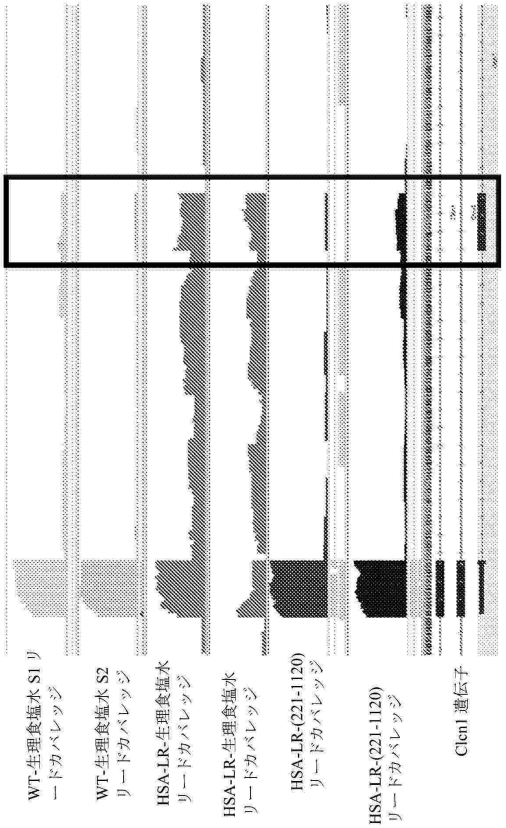


図２３Ｂ

【図２３Ｃ】

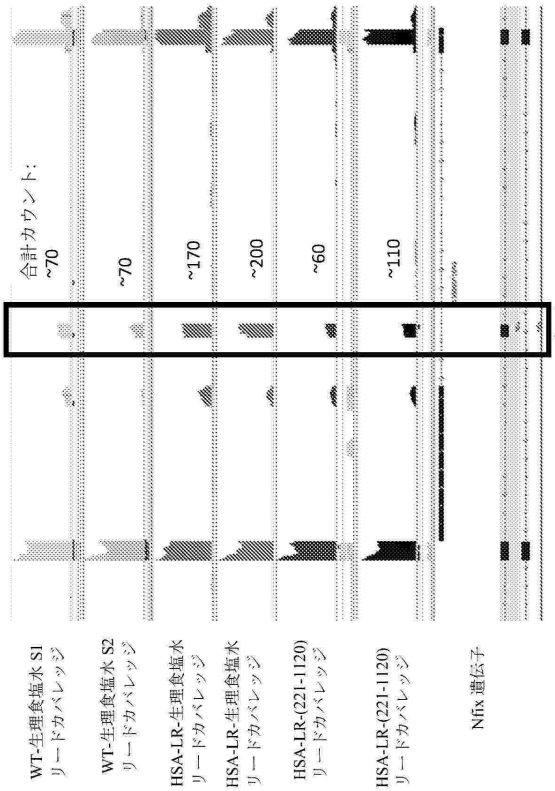


図２３Ｃ

【図２３Ｄ】

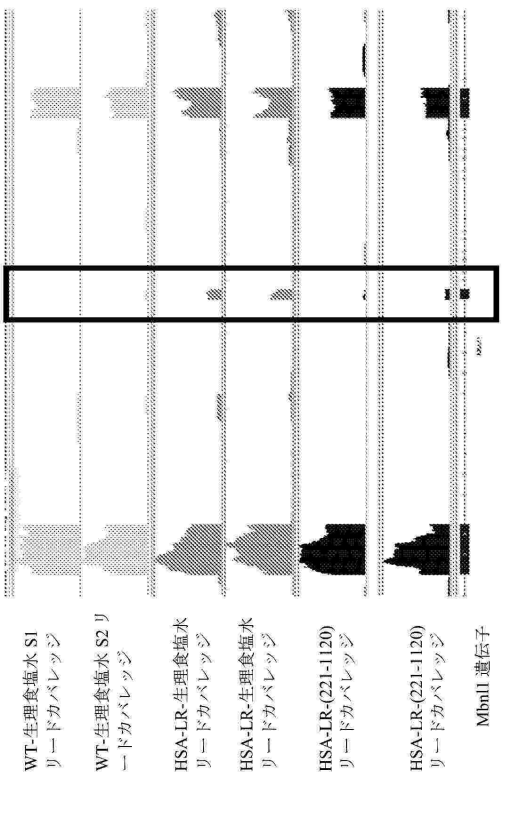


図２３Ｄ

【図２４】

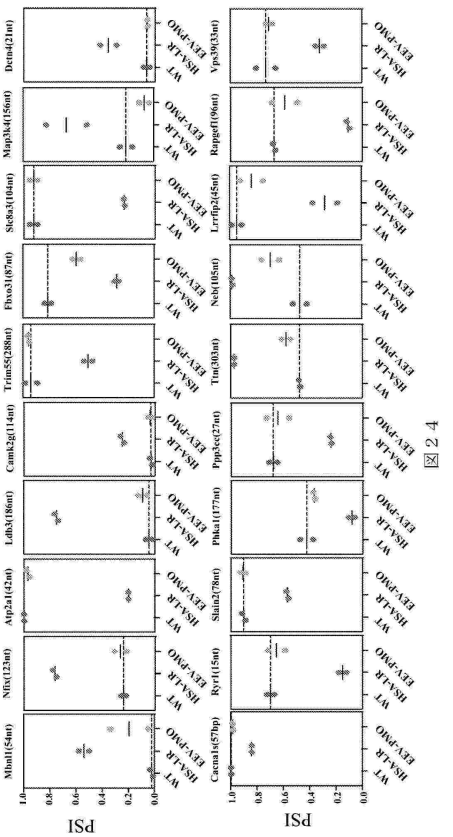


図２４

【図２５Ａ】

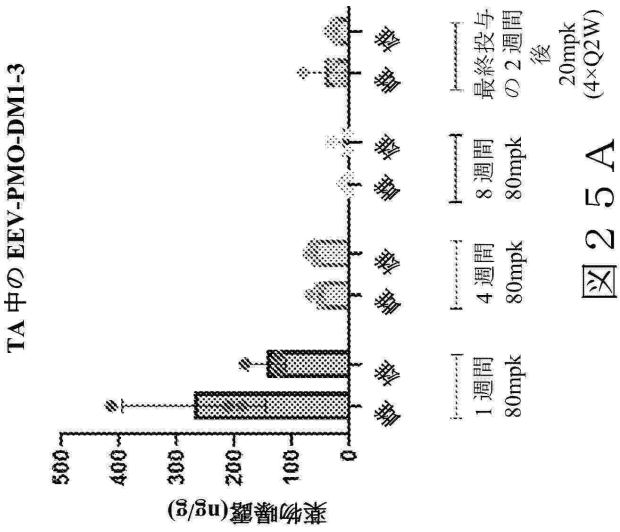


図２５Ａ

【図２５Ｂ】

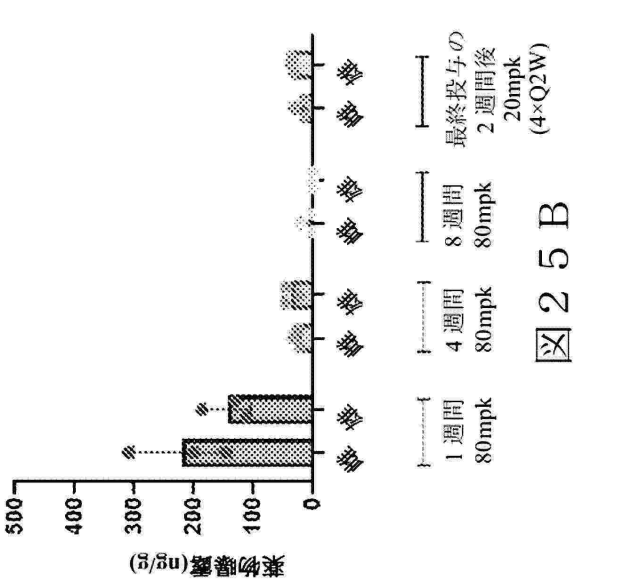


図２５Ｂ

【図２５Ｃ】

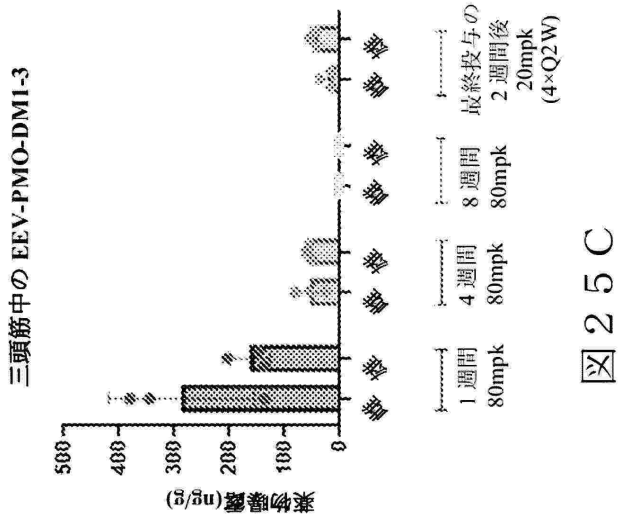


図２５Ｃ

【図２５Ｄ】

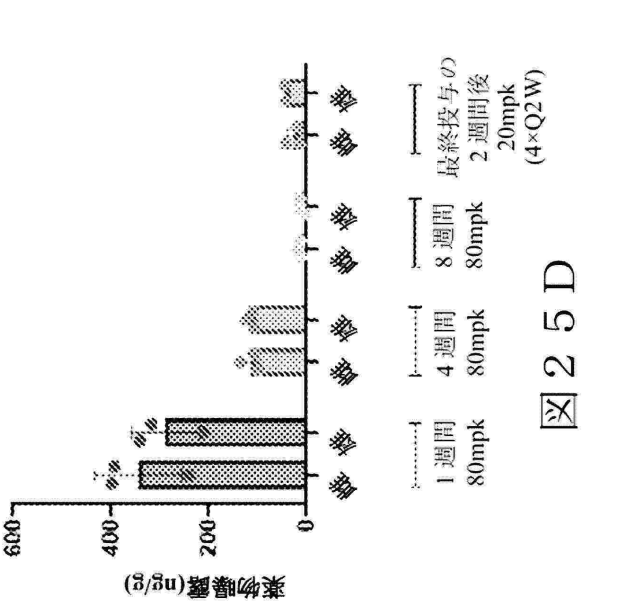


図２５Ｄ

【図２６Ａ】

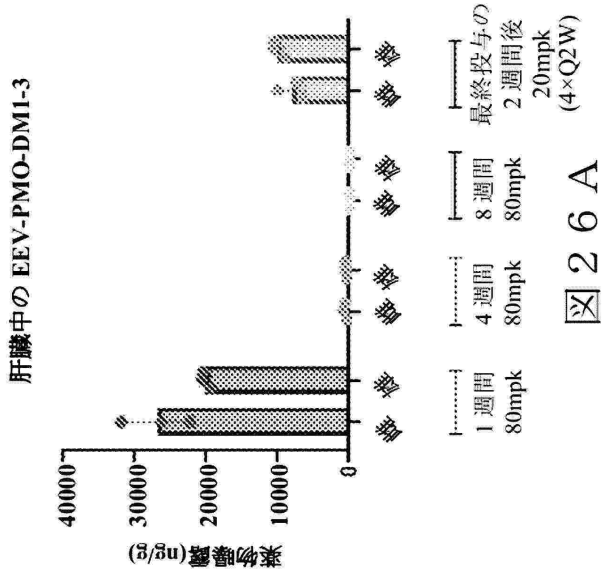


図２６Ａ

【図２６Ｂ】

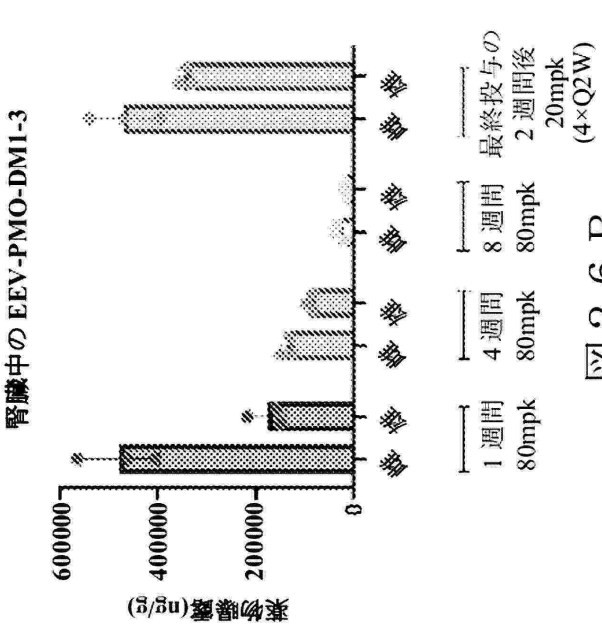


図２６Ｂ

【図２６Ｃ】

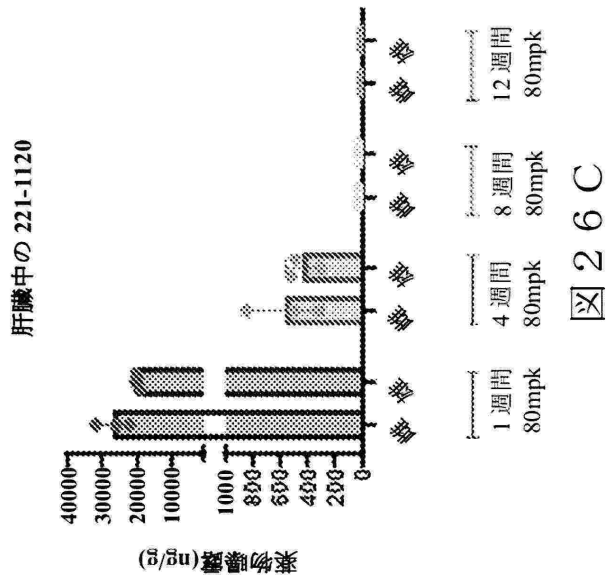


図２６Ｃ

【図２６Ｄ】

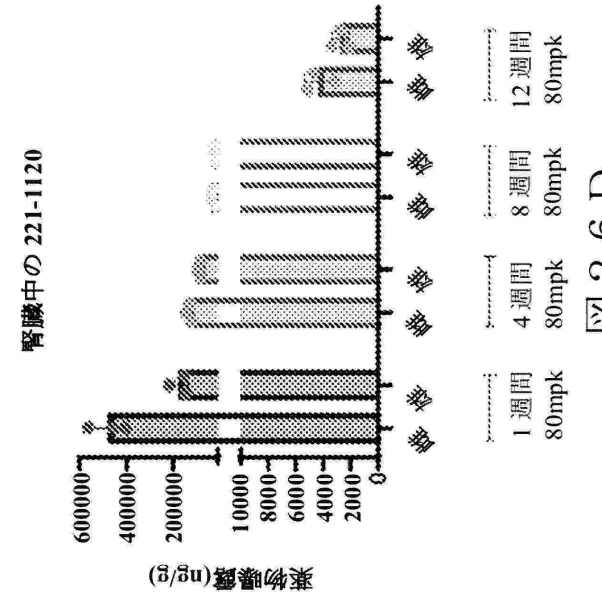


図２６Ｄ

【図２７Ａ】

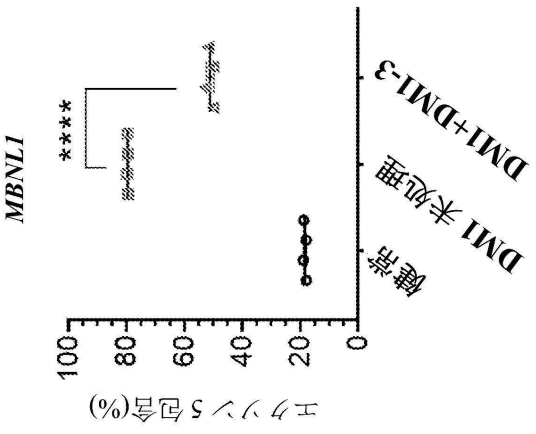


図２７Ａ

【図２７Ｂ】

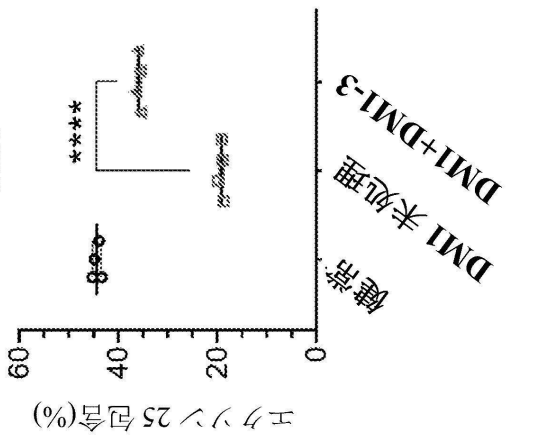


図２７Ｂ

【図２７Ｃ】

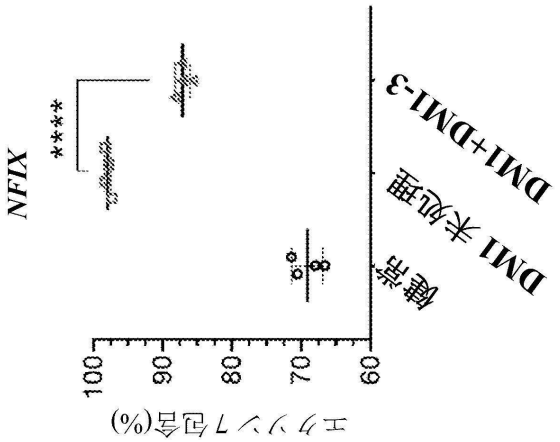


図２７Ｃ

【図２８Ａ】

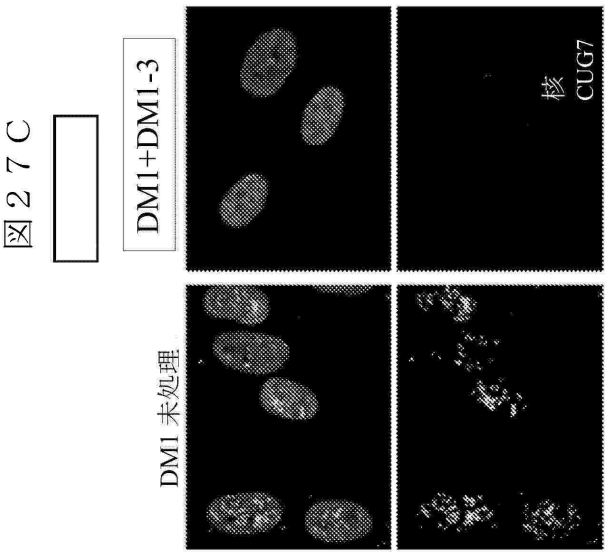


図２８Ａ

【図２８Ｂ】

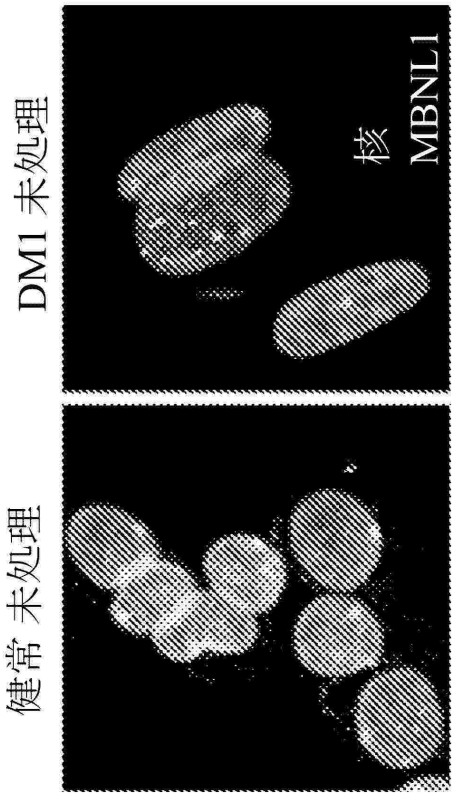


図２８Ｂ

【図２８Ｃ】

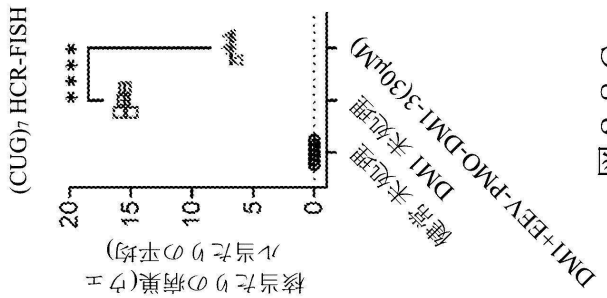


図２８Ｃ

【図２９Ａ】

図２９Ａ

【図２９Ｂ】

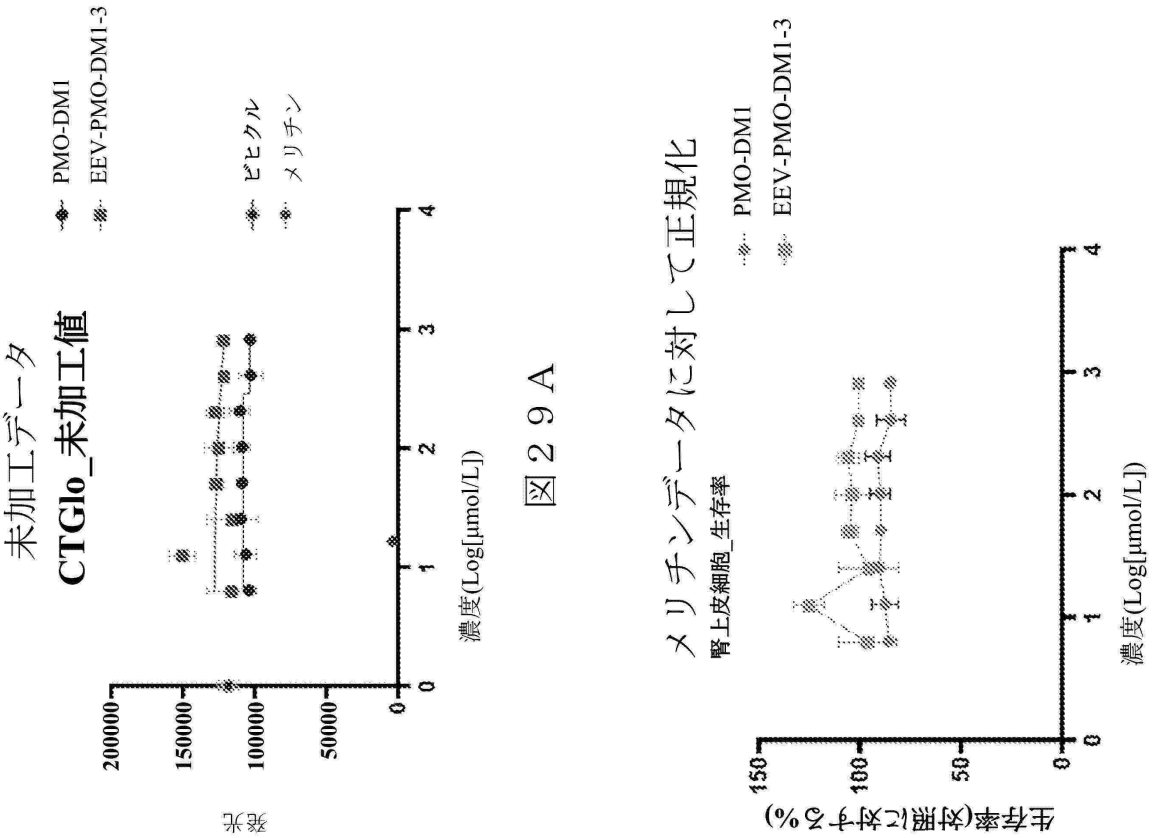


図２９Ｂ

【図３０Ａ】

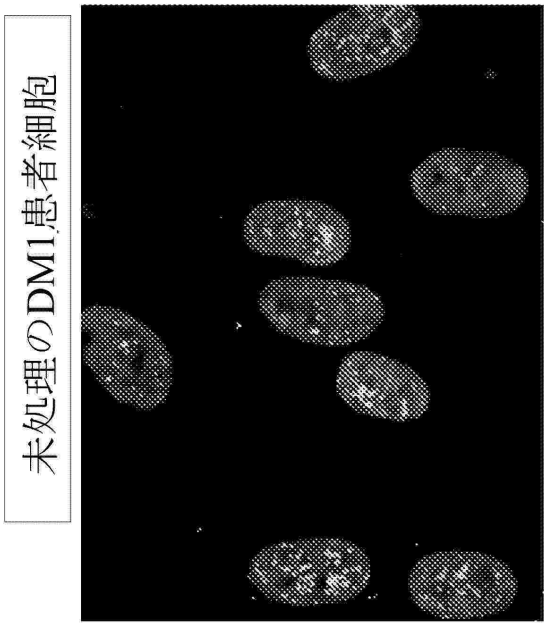


図３０Ａ

【図３０Ｂ】

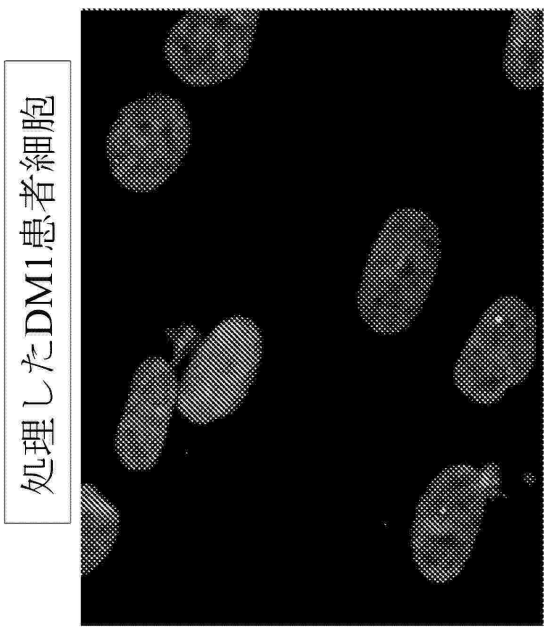


図３０Ｂ

【図３０Ｃ】

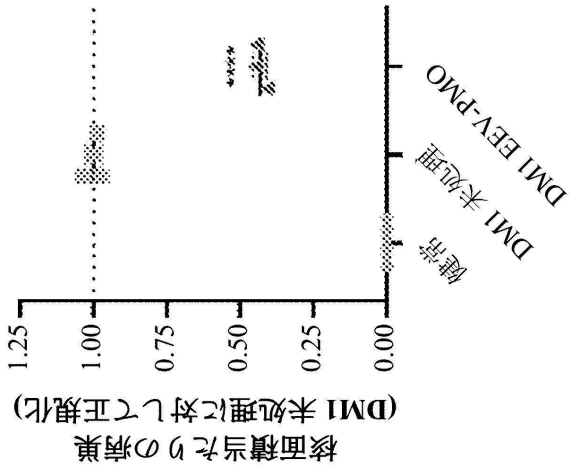


図３０Ｃ

【図３１Ａ】

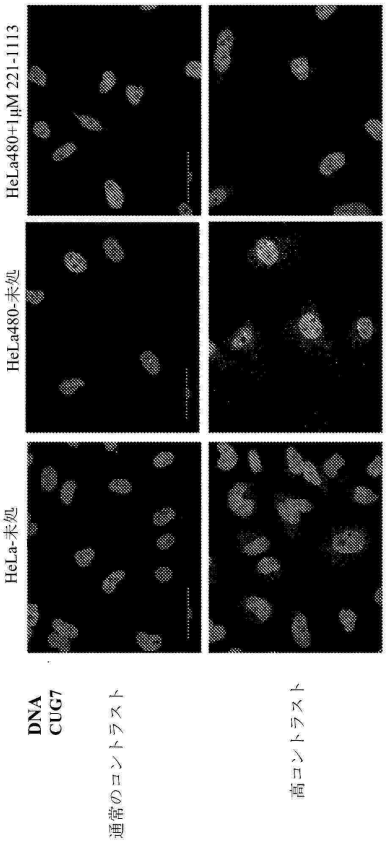
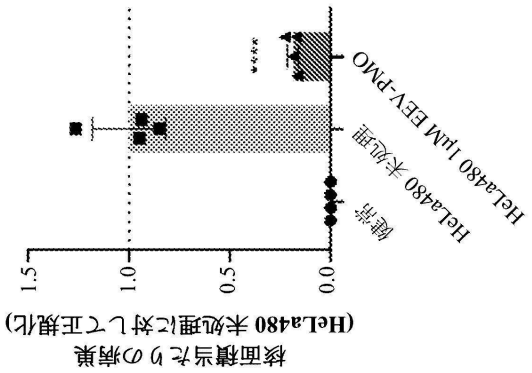
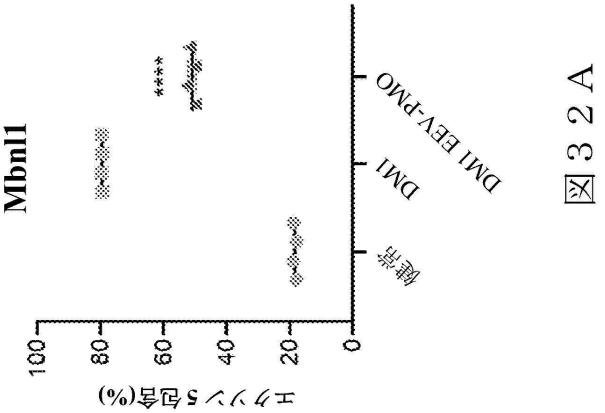


図３１Ａ

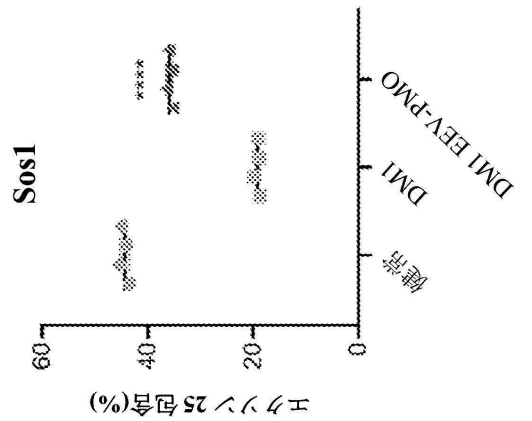
【図３１Ｂ】



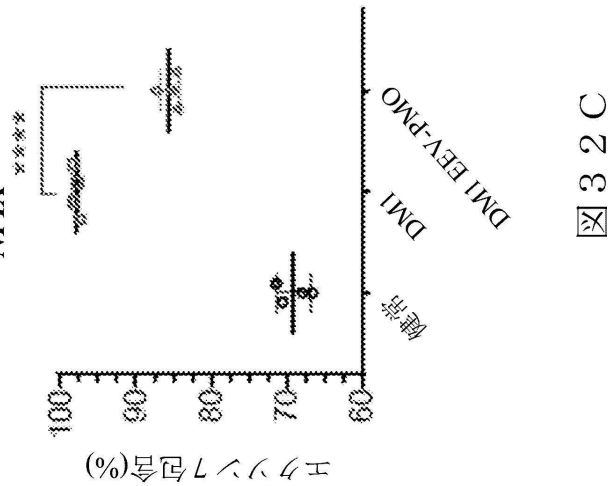
【図３２Ａ】



【図３２Ｂ】



【図３２Ｃ】



【図３３Ａ】

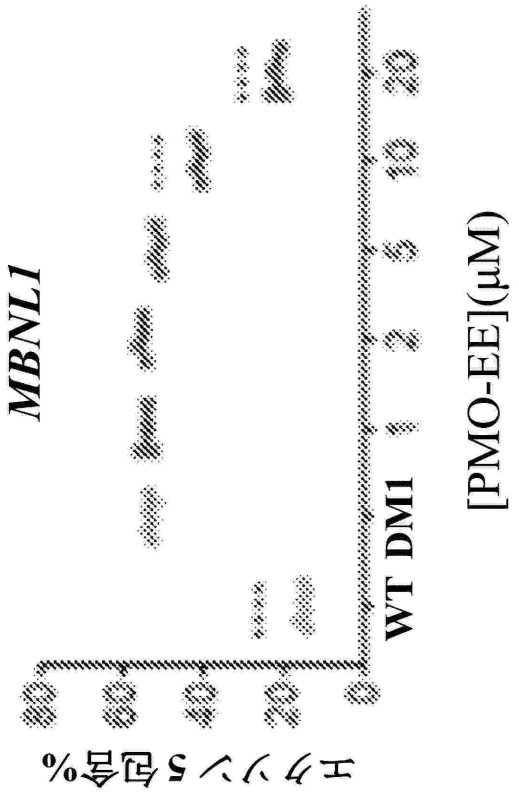


図３３Ａ

【図３３Ｂ】

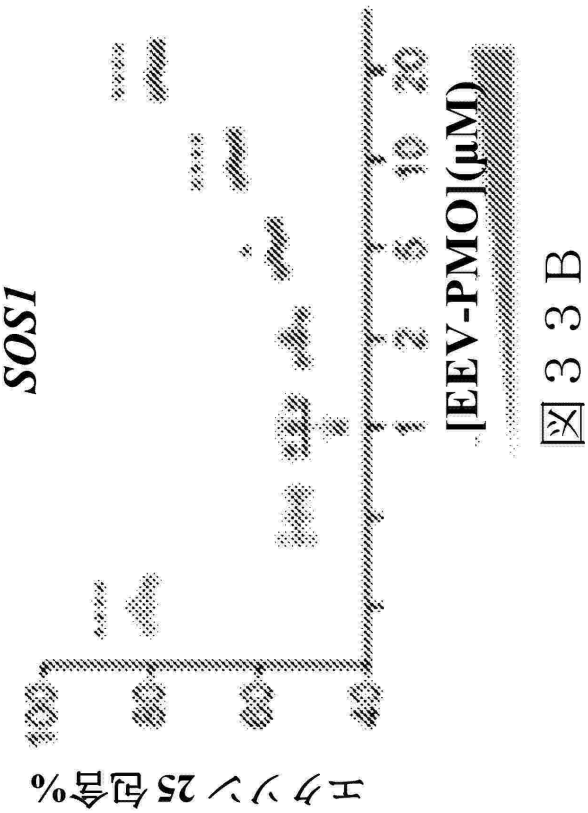


図３３Ｂ

【図３３Ｃ】

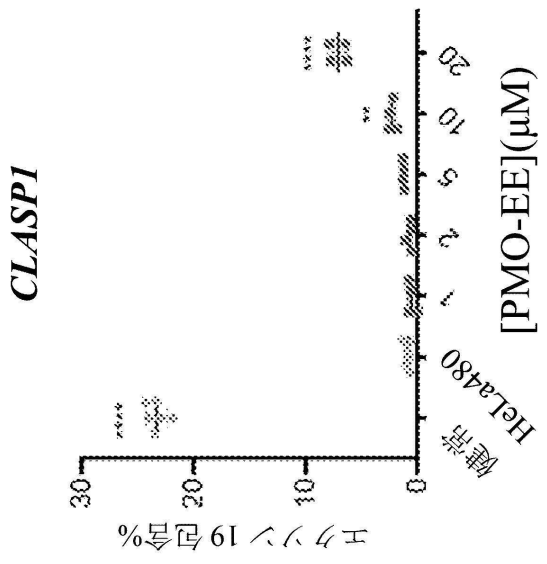


図３３Ｃ

【図３３Ｄ】

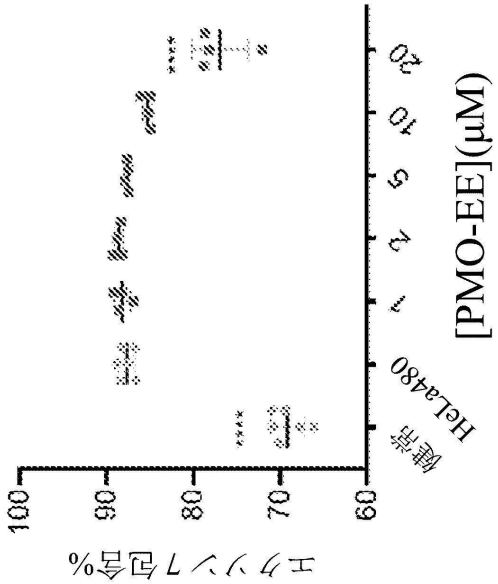


図３３Ｄ

【図３３Ｅ】

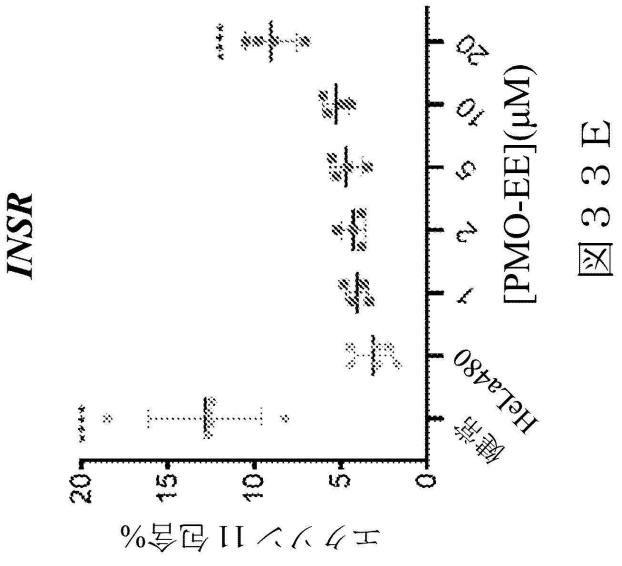


図３３Ｅ

【図３４Ａ】

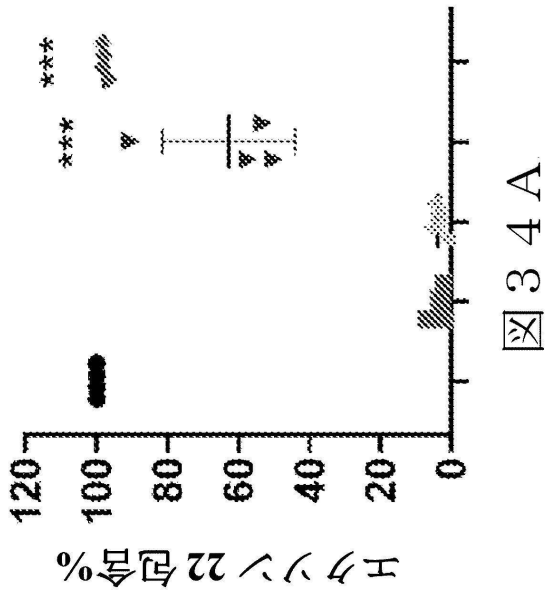


図３４Ａ

【図３４Ｂ】

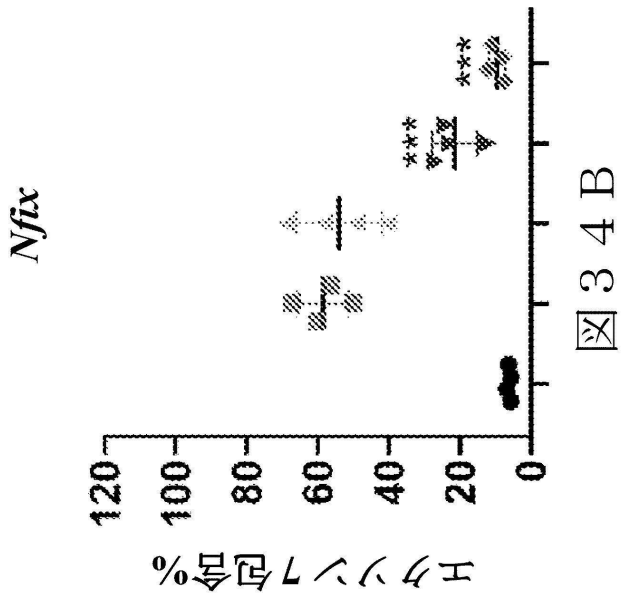


図３４Ｂ

【図３４Ｃ】

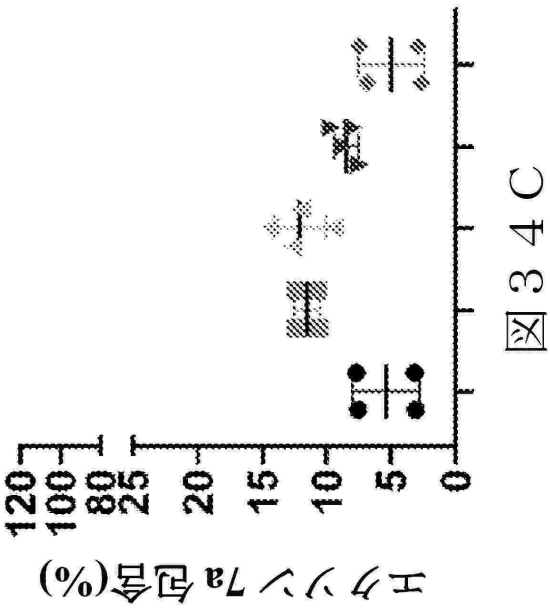


図３４Ｃ

【図３４Ｄ】

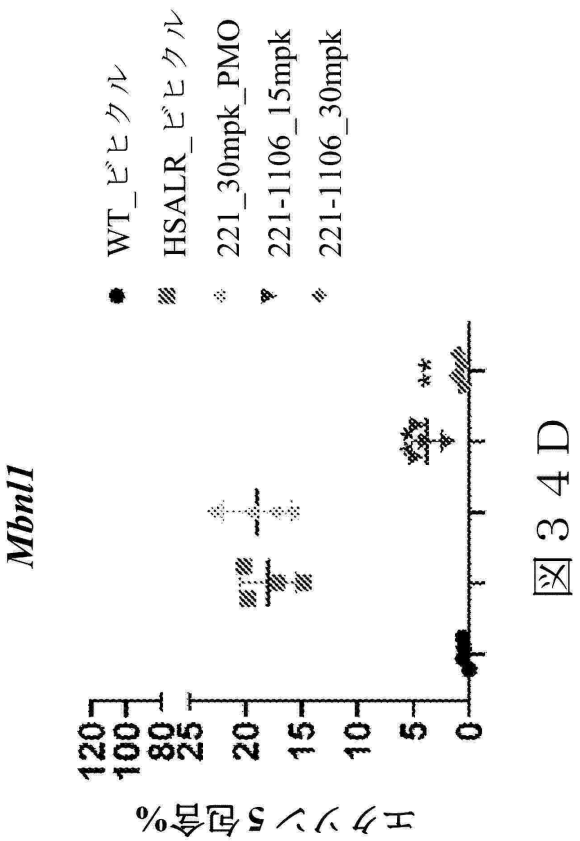


図３４Ｄ

【図３５Ａ】

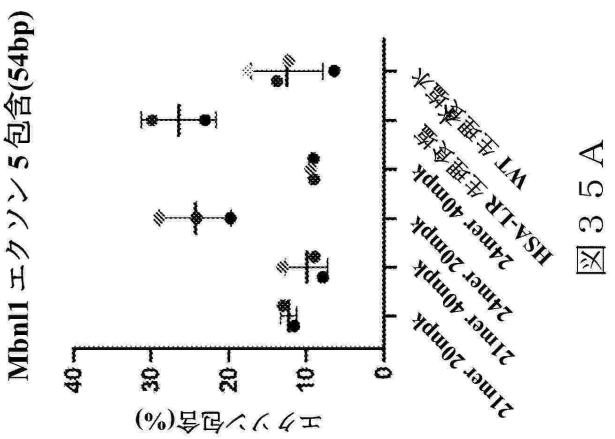


図３５Ａ

【図３５Ｂ】

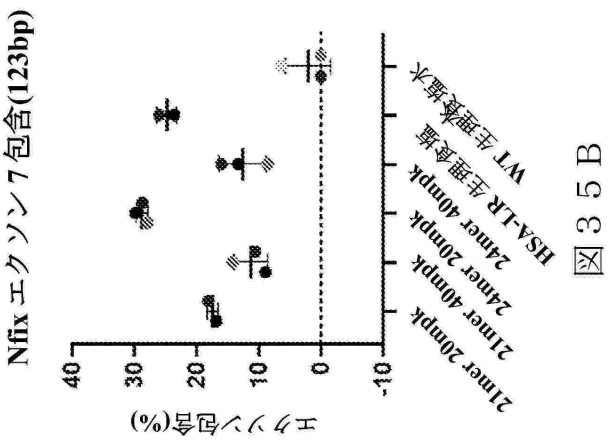


図３５Ｂ

【図３５Ｃ】

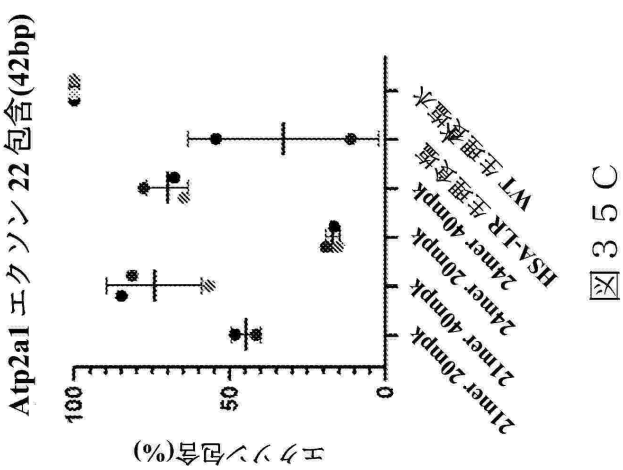


図３５Ｃ

【図３６Ａ】

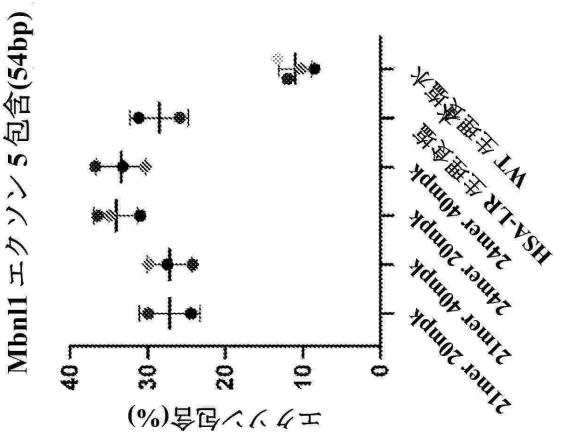


図３６Ａ

【図３６Ｂ】

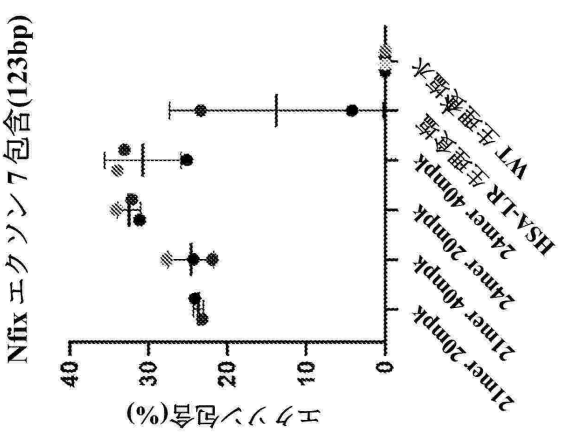


図３６Ｂ

【図３６Ｃ】

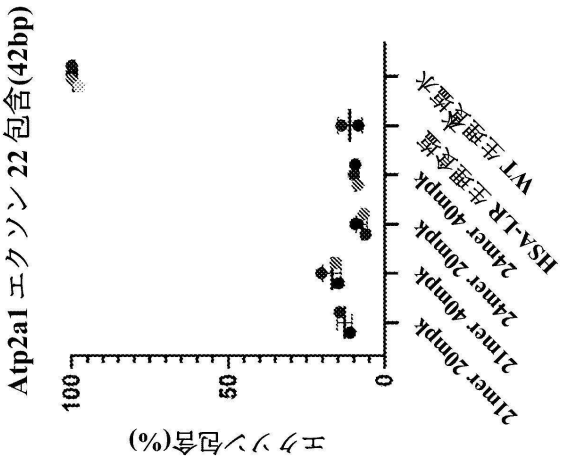


図３６Ｃ

【図３７】

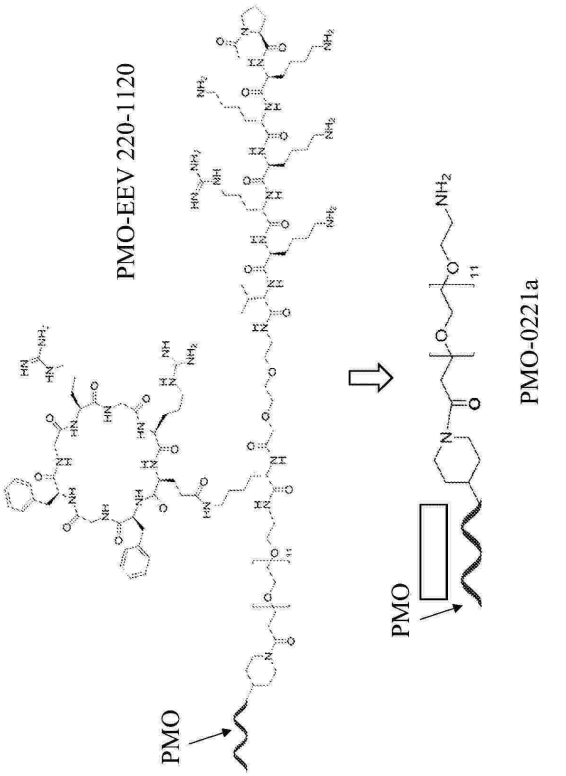


図３７

【図３８Ａ】

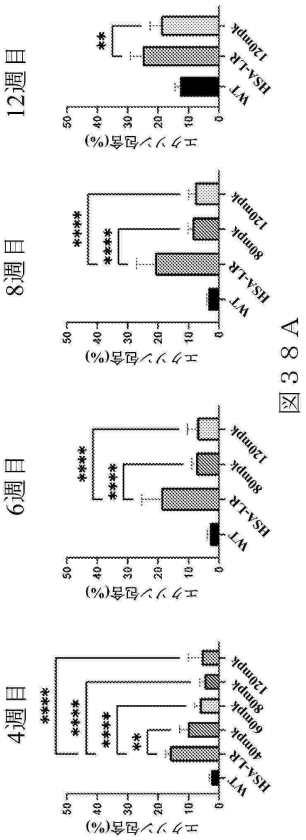


図３８Ａ

【図３８Ｂ】

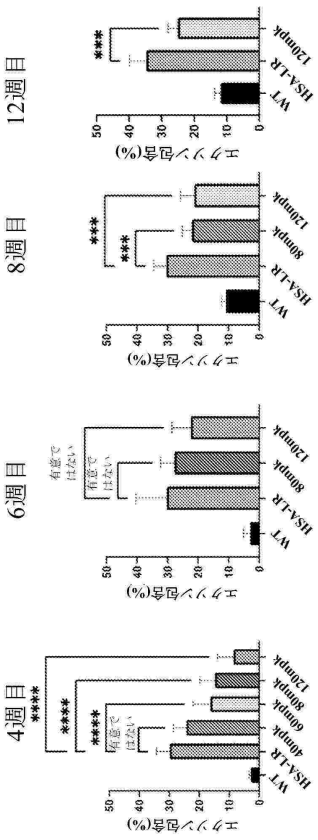


図３８Ｂ

【図３９Ａ】

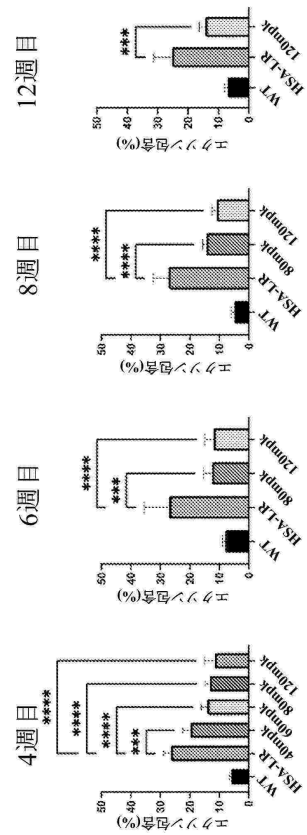


図３９Ａ

【図３９Ｂ】

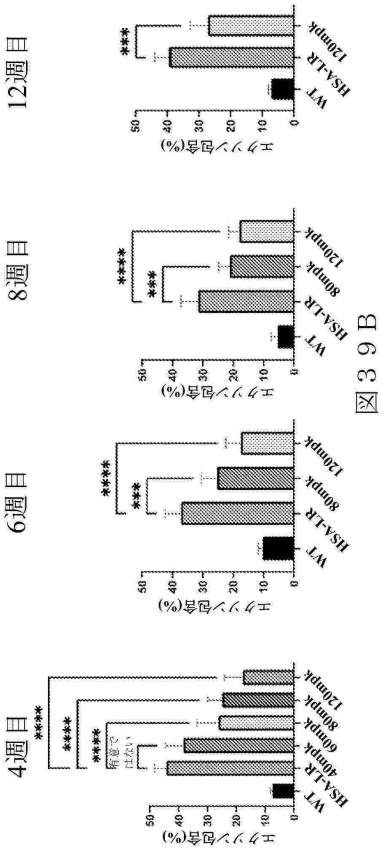


図３９Ｂ

【図４０Ａ】

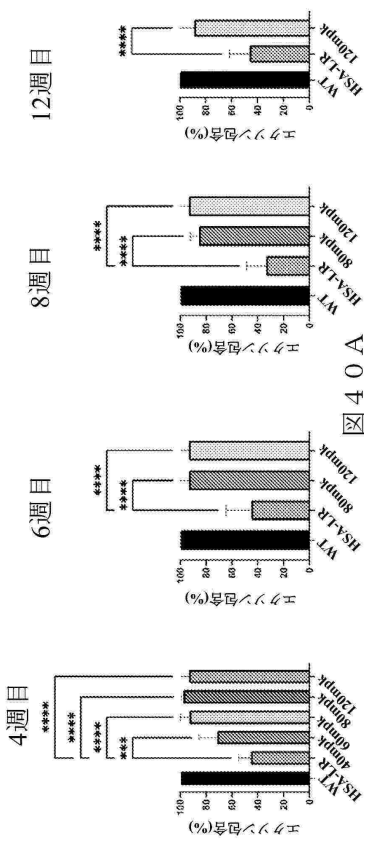


図４０Ａ

【図４０Ｂ】

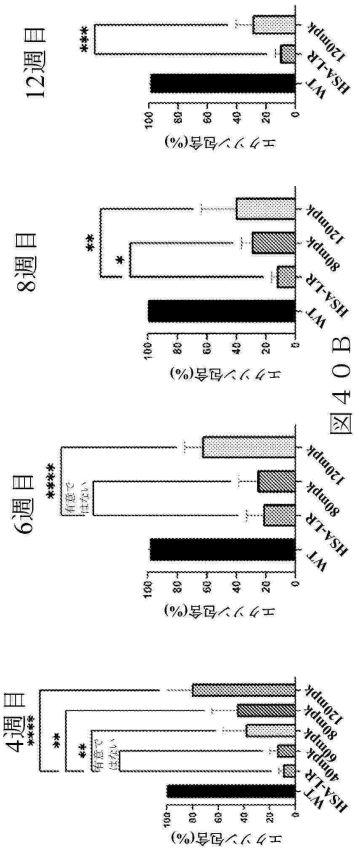


図４０Ｂ

【図４１Ａ】

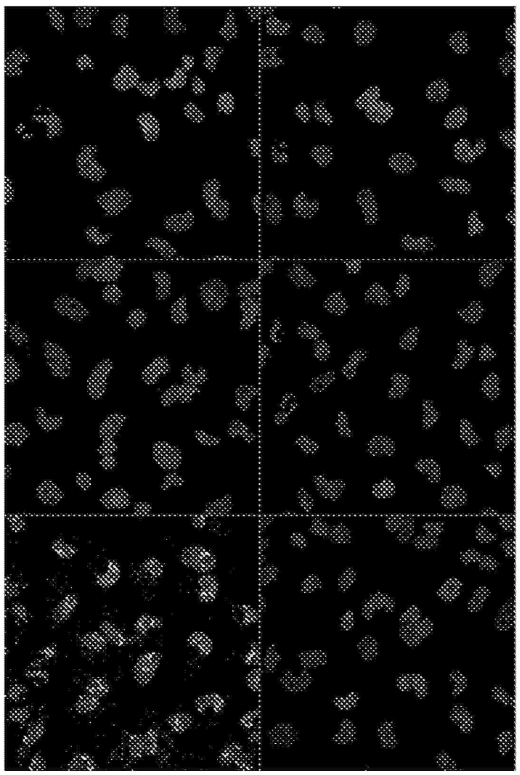


図４１Ａ

【図４１Ｂ】

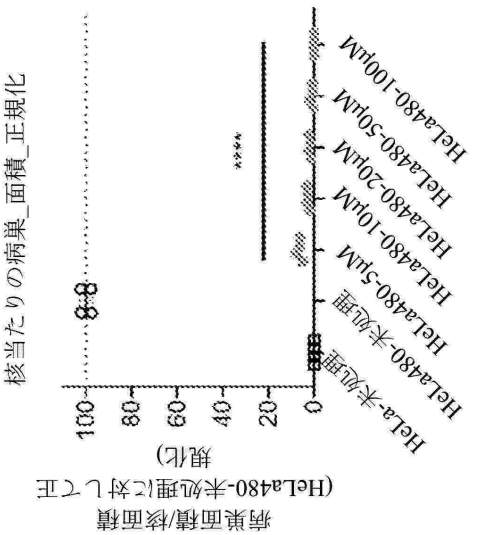


図４１Ｂ

【図４２Ａ】

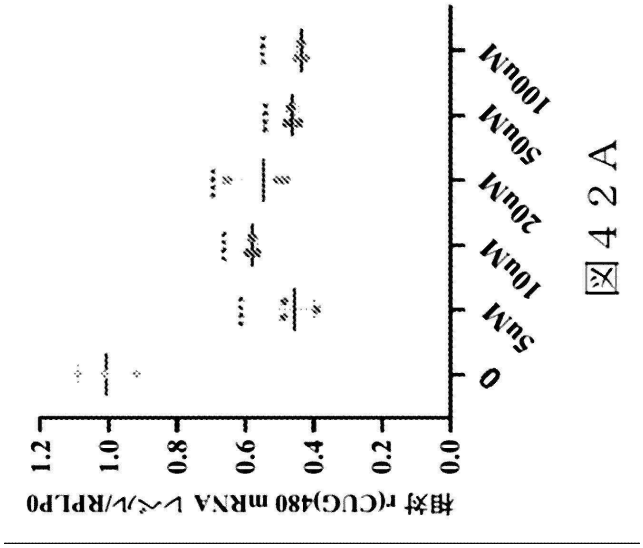


図４２Ａ

【図４２Ｂ】

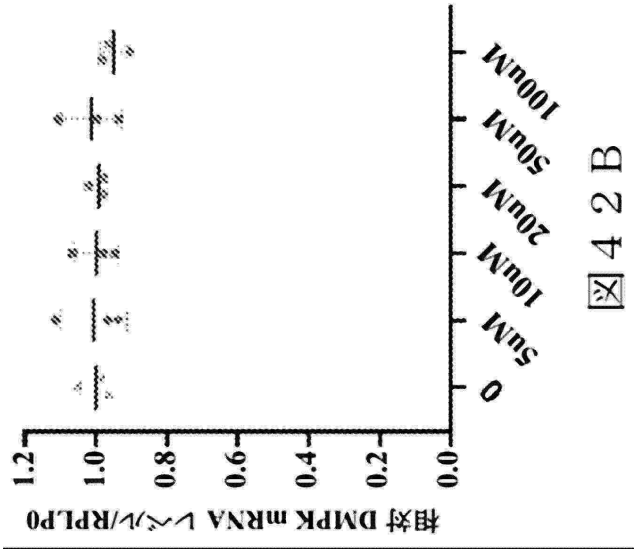


図４２Ｂ

【図４２Ｃ】

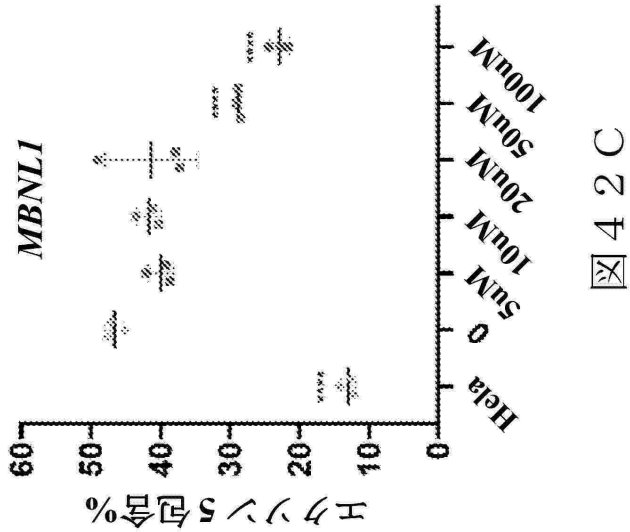


図４２Ｃ

【図４２Ｄ】

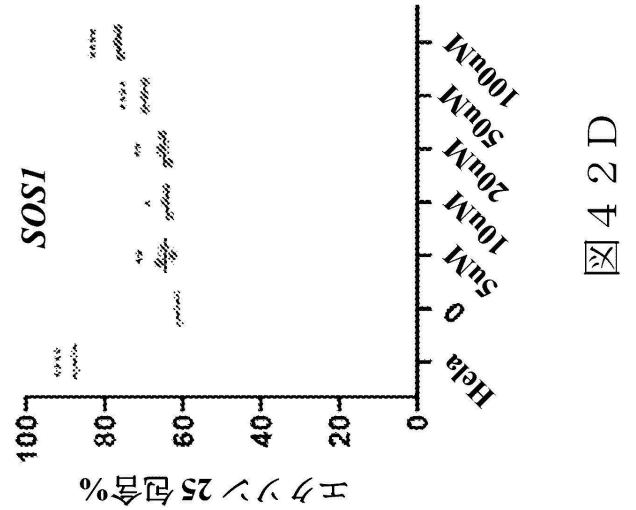


図４２Ｄ

【図４３】

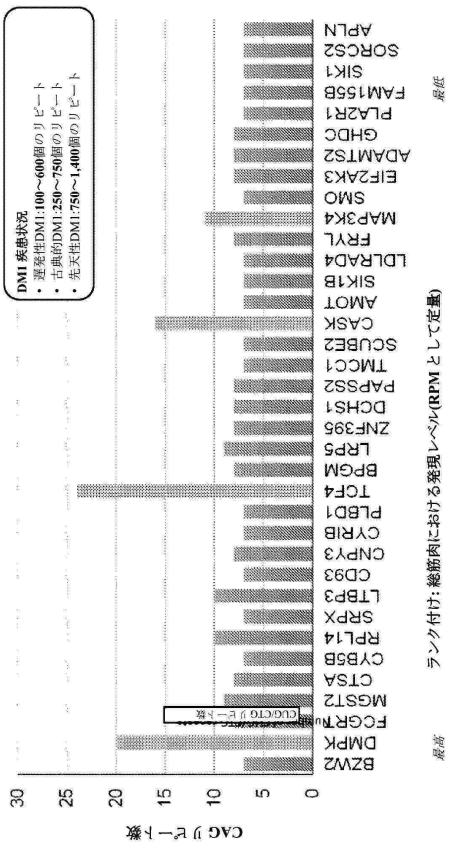


図４３

【図４４Ａ】

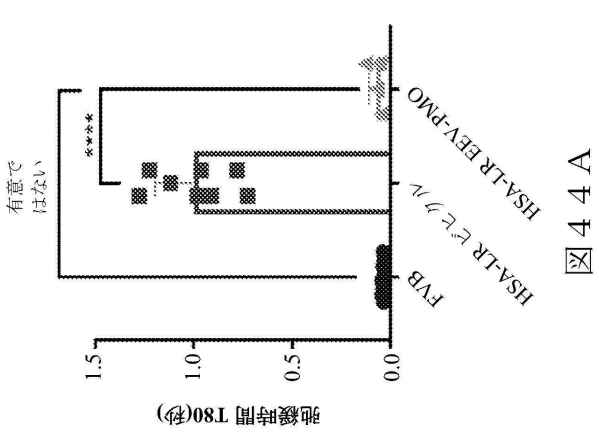


図４４Ａ

【図４４Ｂ】

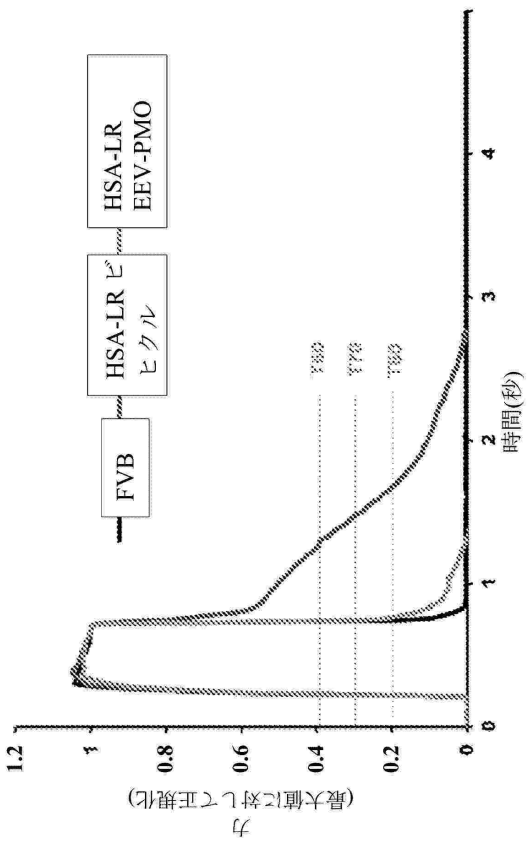


図４４Ｂ

【図４４Ｃ】

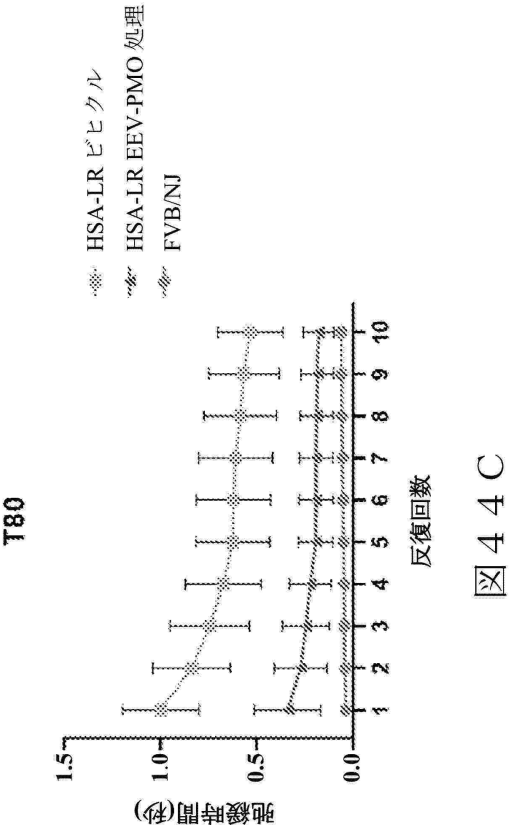


図４４Ｃ

【図４４Ｄ】

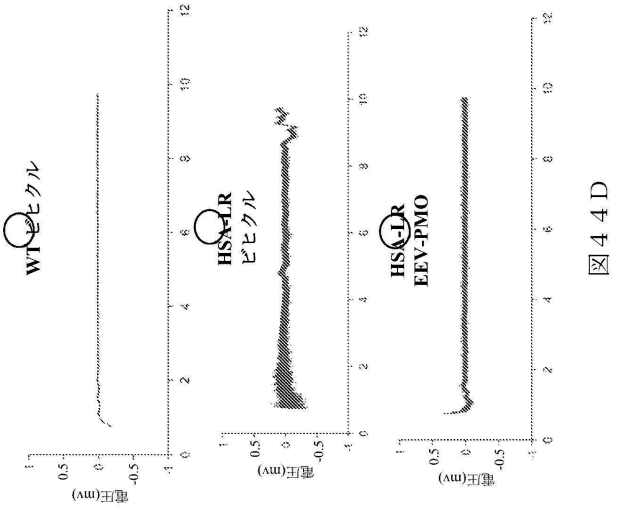
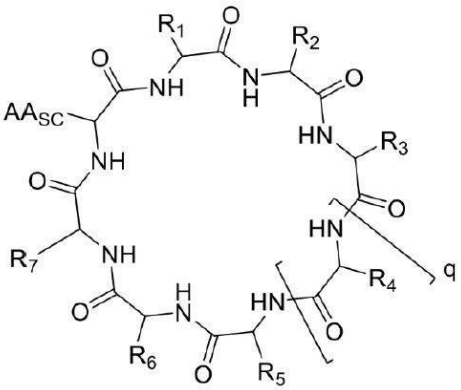


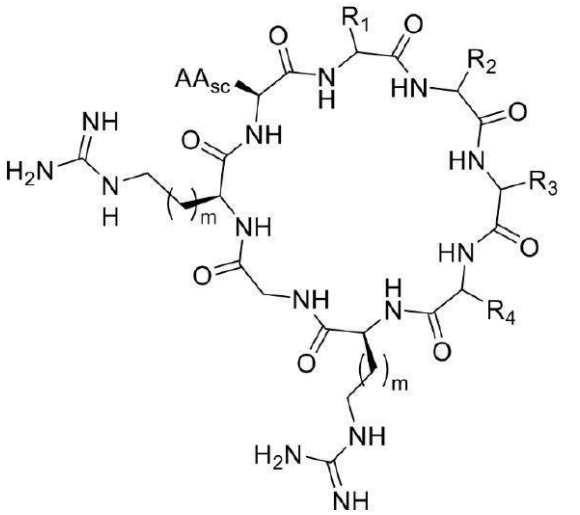
図４４Ｄ

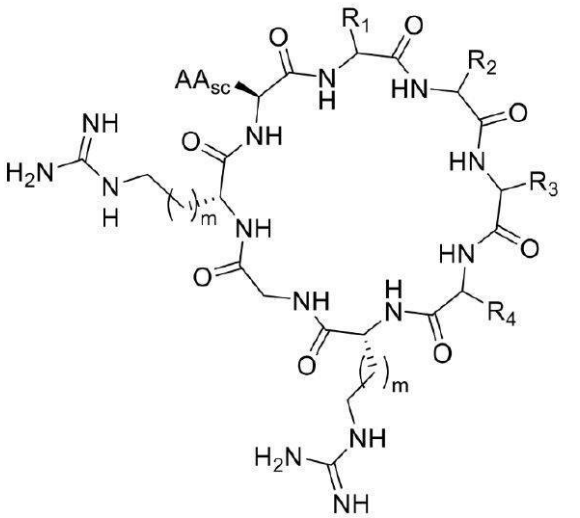
【手続補正書】
【提出日】令和６年４月４日(２０２４.４.４)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
化合物であって、
（ａ）標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物、
（ｂ）以下の式、
【化２０１】



又はそのプロトン化形態の環状ペプチドを含み、
式中、Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$が各々独立して、Ｈ、又はアミノ酸の芳香族若しくはヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ$_4$、Ｒ$_5$、Ｒ$_6$、Ｒ$_7$が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ＡＡ$_{SC}$が、アミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、化合物。
【請求項２】
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの少なくとも２つが、芳香族疎水性アミノ酸の側鎖である、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの少なくとも２つが独立して、フェニルアラニン又はナフチルアラニンである、請求項１に記載の化合物。
【請求項４】
Ｒ$_5$、Ｒ$_6$、及びＲ$_7$のうちの少なくとも２つが、荷電アミノ酸の側鎖である、請求項１又は請求項２に記載の化合物。
【請求項５】
Ｒ$_5$、Ｒ$_6$、及びＲ$_7$のうちの少なくとも２つが独立して、アルギニン、ホモアルギニン、Ｎ－メチルアルギニン、及びＮ，Ｎ－ジメチルアルギニンである、請求項１又は２に記載の化合物。

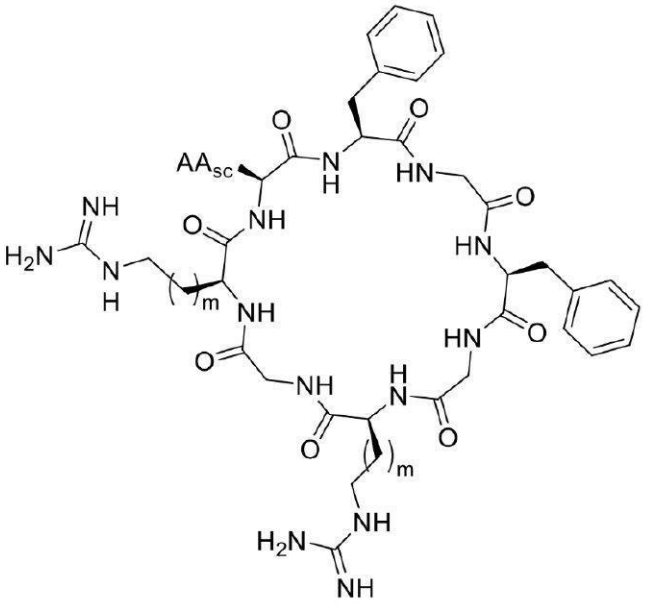
【請求項６】
ｑが１である、請求項１～５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項７】
R_4がＨである、請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項８】
化合物であって、
（ａ）標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物、
（ｂ）以下の式、
【化２０２】

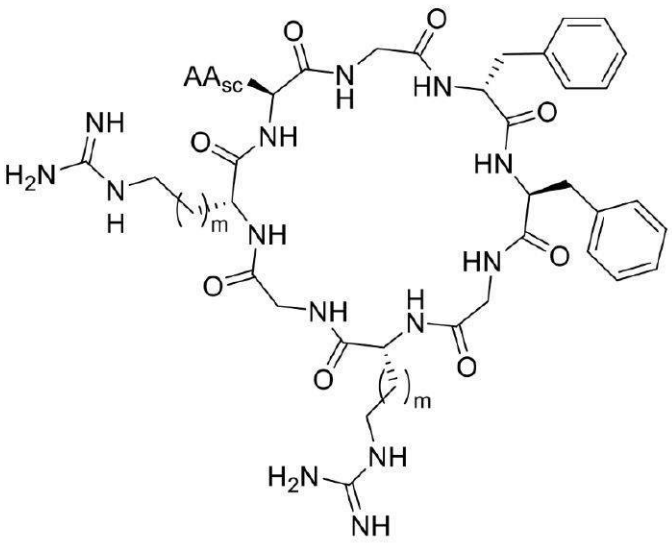




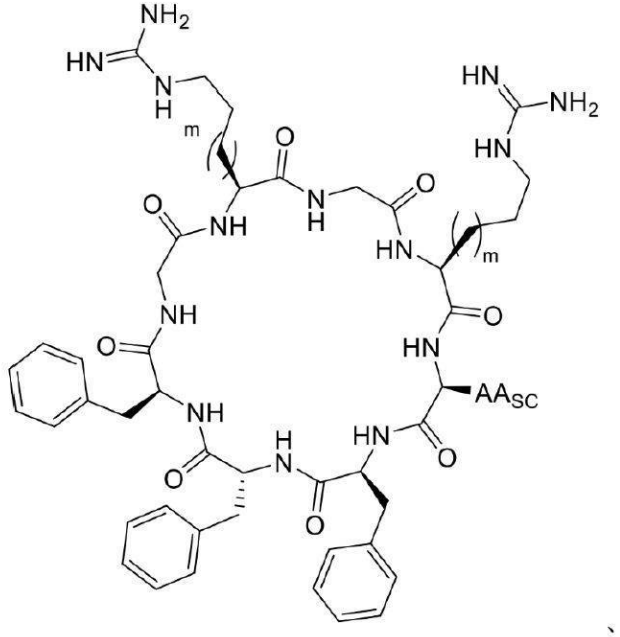
又はそれらのプロトン化形態の環状ペプチドを含み、
式中、R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも２つが、フェニルアラニンの側鎖であり、
R_4が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
AA_{SC}が、アミノ酸側鎖であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、化合物。
【請求項９】
R_1、R_2、及びR_3のうちの１つが、ナフチルアラニンである、請求項８に記載の化合物。

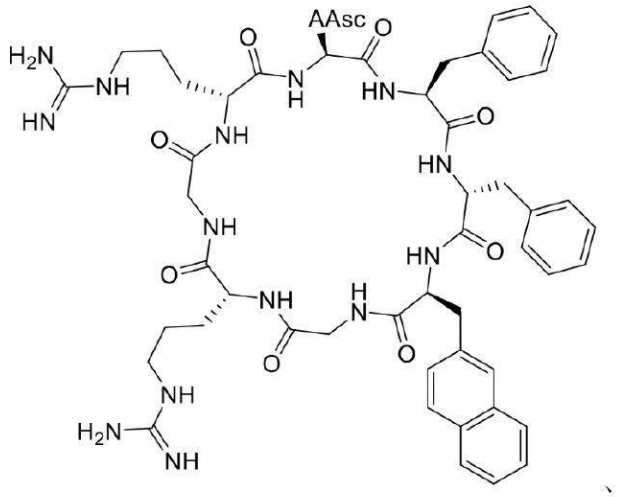
【請求項１０】
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの１つが、Ｈである、請求項８に記載の化合物。
【請求項１１】
Ｒ$_4$がＨである、請求項８～１０のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２】
前記環状細胞膜透過性ペプチドが、
【化２０３－１】





【化２０３－２】





又はそれらのプロトン化形態から選択される、請求項１～１１のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項１３】

前記化合物が環外ペプチドを更に含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項１４】

前記環外ペプチドが、２～１０個のアミノ酸を含む、請求項１３に記載の化合物。

【請求項１５】

前記環外ペプチドが、２、３、又は４個のリジン残基を含む、請求項１３又は１４に記載の化合物。

【請求項１６】

前記環外ペプチドが、疎水性側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸残基を含む、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の化合物。

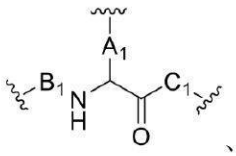
【請求項１７】

前記環外ペプチドが、ＰＧＫＫＲＫＶを含む、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の化合物。

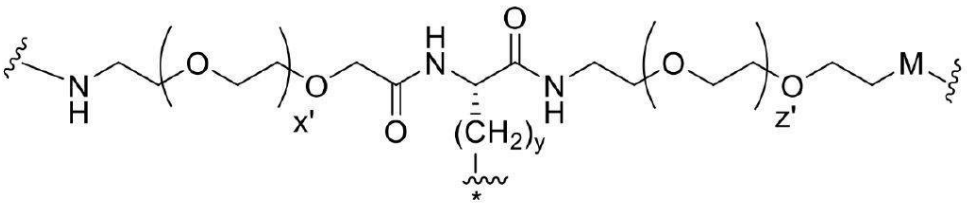
【請求項１８】

前記環外ペプチドが、ＰＫＫＫＲＫＶを含む、請求項１３～１５のいずれか一項に記載

の化合物。
【請求項１９】
前記環外ペプチドが、ＰＫＫＫＧＫＶを含む、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２０】
前記環外ペプチドが、ＰＫＫＫＲＫＧを含む、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２１】
リンカーを更に含み、前記リンカーが前記アンチセンス化合物及び前記環外ペプチドを前記環状ペプチドにコンジュゲートする、請求項１３～２０のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２２】
前記リンカーが、以下の構造を有し、
【化２０４】



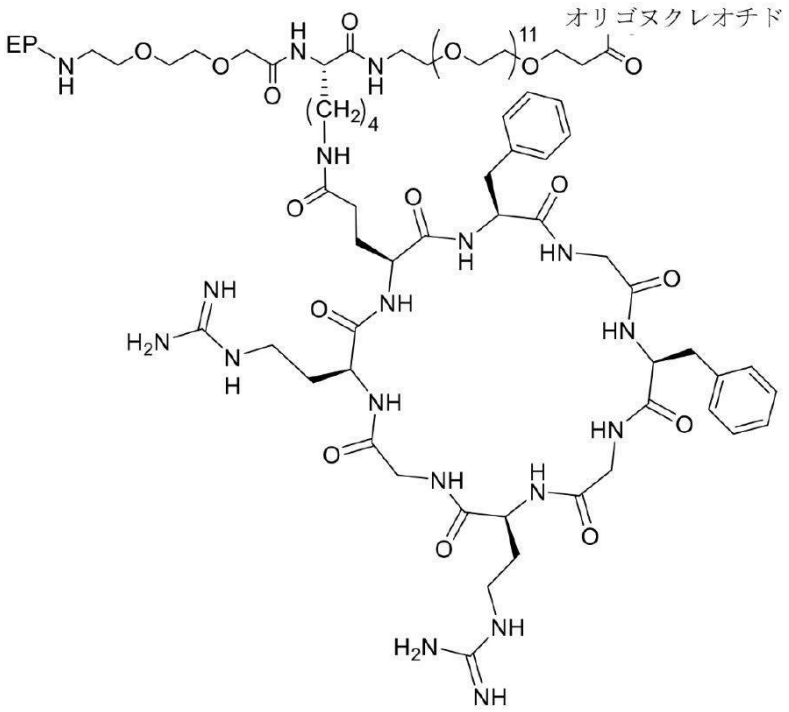
式中、A_1、B_1、及びC_1が各々独立して、炭化水素リンカー、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）リンカー、又は１つ以上のアミノ酸残基を含む、請求項２１に記載の化合物。
【請求項２３】
前記リンカーが、以下の式を有し、
【化２０５】

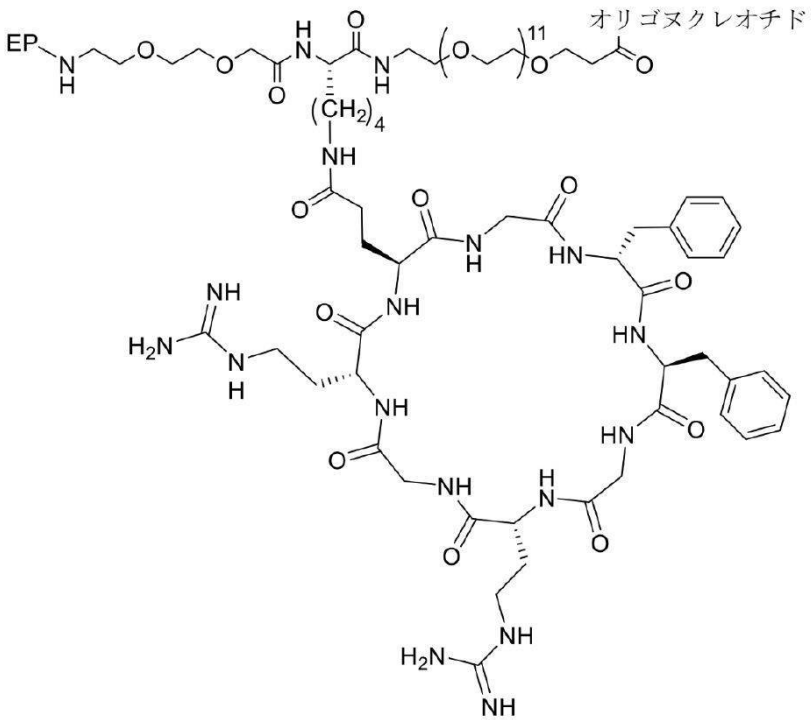


式中、
ｘ’が、１～２３の整数であり、
ｙが、１～５の整数であり、
ｚ’が、１～２３の整数であり、
＊が、前記環状ペプチドの前記AA_{SC}への結合点であり、
Ｍが、結合基である、請求項２１に記載の化合物。
【請求項２４】
ｚ’が１１である、請求項２３に記載の化合物。
【請求項２５】
ｘ’が１である、請求項２３又は２４に記載の化合物。
【請求項２６】
前記環外ペプチドが前記リンカーのアミノ末端で前記リンカーにコンジュゲートされており、前記アンチセンス化合物がＭにコンジュゲートされている、請求項２３～２５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２７】
Ｍが－Ｃ（Ｏ）－である、請求項２３～２６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項２８】

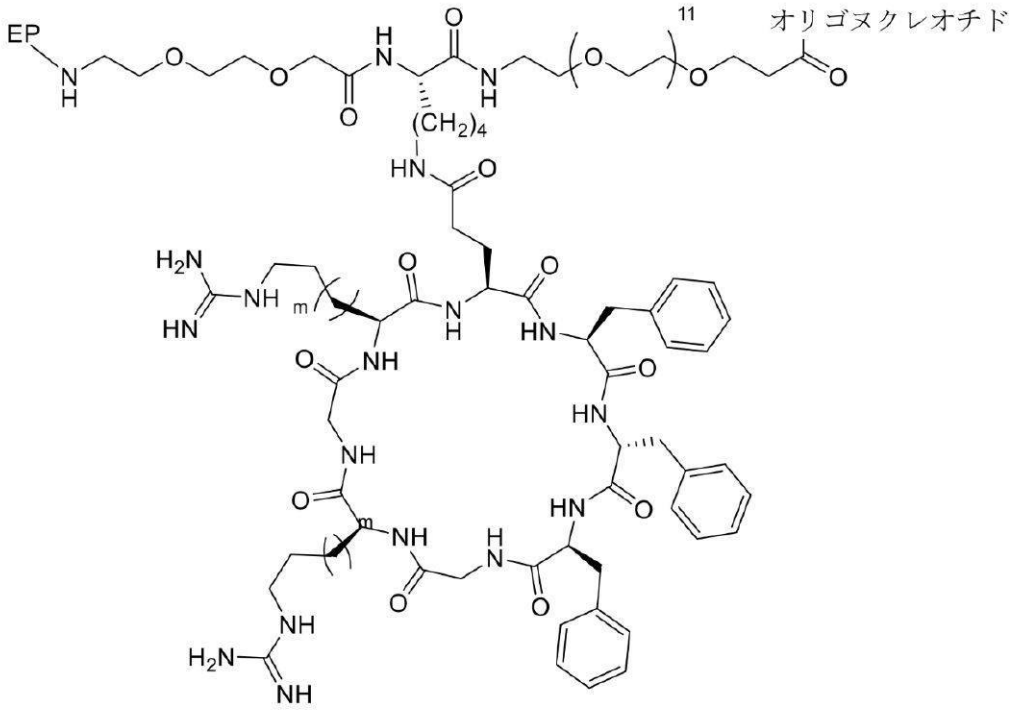
前記化合物が、

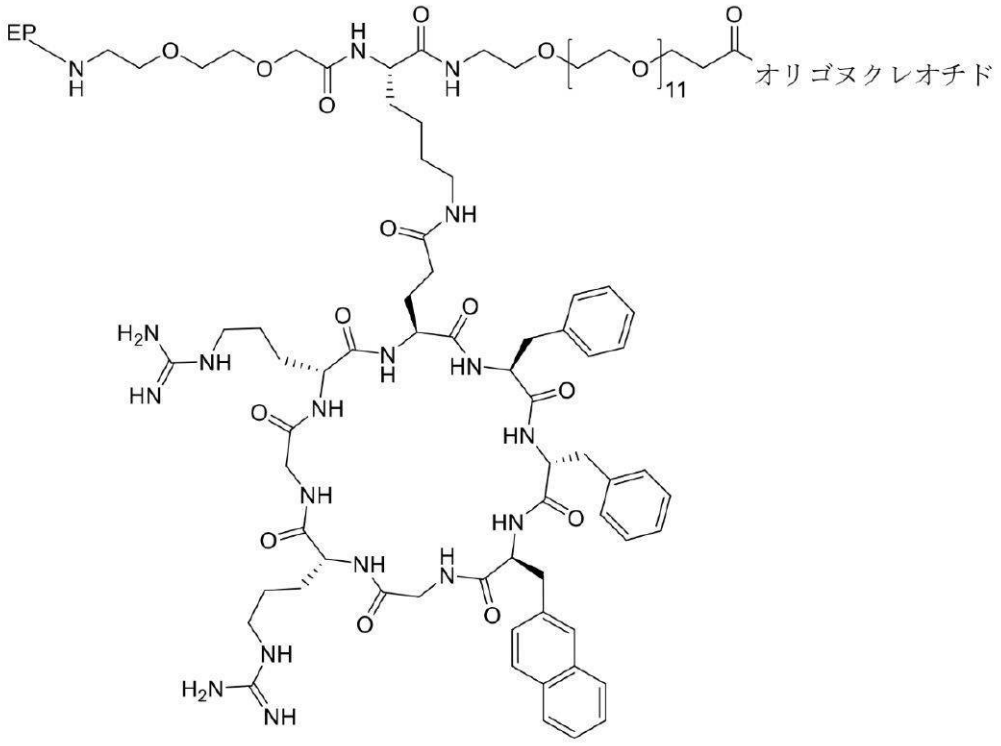
【化２０６－１】





【化２０６－２】





又はそれらのプロトン化形態若しくは塩から選択され、
式中、ＥＰが、環外ペプチドであり、
オリゴヌクレオチドが、前記アンチセンス化合物である、請求項２３に記載の化合物。

【請求項２９】

前記アンチセンス化合物が、ＡＧ（ＣＡＧ）ｎ、Ｇ（ＣＡＧ）ｎ、（ＣＡＧ）ｎＡＧ、又は（ＣＡＧ）ｎＡを含み、式中、ｎが、１～５０の整数である、請求項１～２８のいずれか一項に記載の化合物。

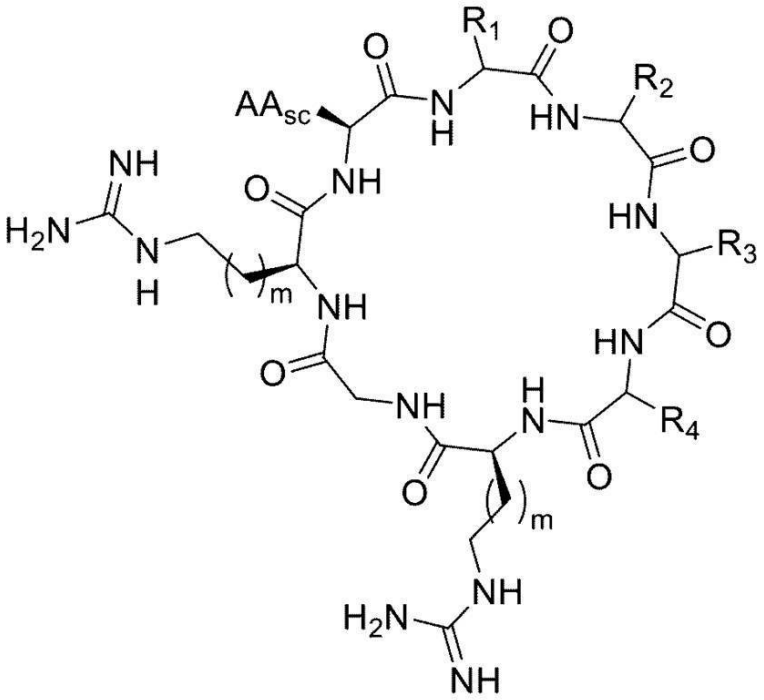
【請求項３０】

前記アンチセンス化合物が、５～１０個のＣＡＧリピートを含む、請求項１～２８のい

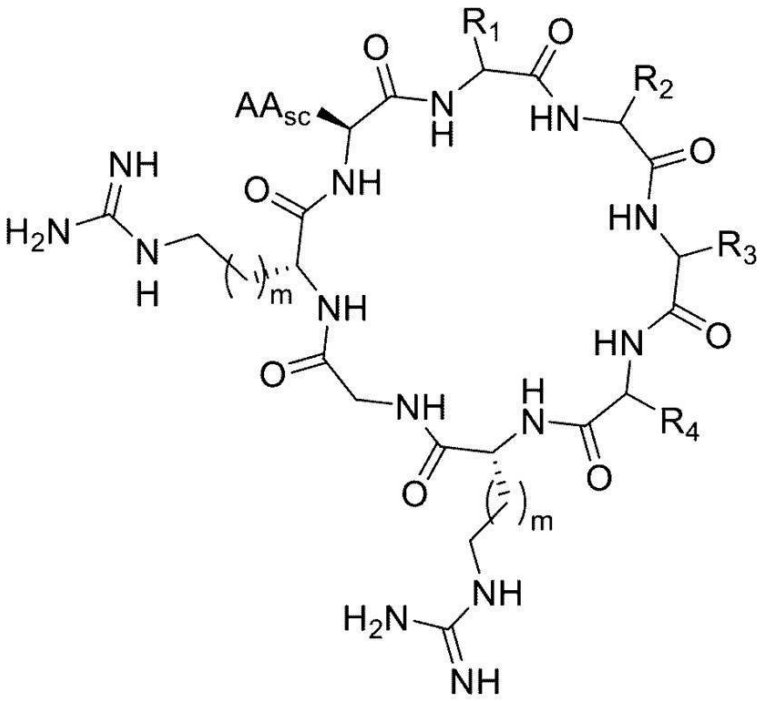
ずれか一項に記載の化合物。
【請求項３１】
前記アンチセンス化合物が、５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’を含む、請求項１～２８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項３２】
前記アンチセンス化合物が、５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’を含む、請求項１～２８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項３３】
前記アンチセンス化合物が、５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’を含む、請求項１～２８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項３４】
前記アンチセンス化合物が、
ＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣＧＣＧＡＧＧＧＴＣＧＧＧ、
ＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣＧＣＧＡＧＧＧＴＣＧ、
ＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣＧＣＧＡＧＧＧＴ、
ＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣＧＣＧＡＧＧ、
ＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣＧＣＧＡ、
ＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣＧＣ、
ＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴＴＣ、
ＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴＡＴ、
ＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴＴＴ、
ＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣＴＴ、
ＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧＣＣ、
ＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧＧＧ、
ＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧＡＧ、
ＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴＧＧ、
ＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧＡＴ、
ＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣＡＧ、
ＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＣ、
ＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴＧＧ、
ＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴＴＴ、
ＣＧＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧＣＴ、
ＡＣＣＧＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧＡＧ、
ＡＡＡＣＣＧＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣＡＧ、
ＧＣＡＡＡＣＣＧＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴＣＣ、
ＡＣＧＣＡＡＡＣＣＧＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡＧＴ、又は
ＣＡＡＣＧＣＡＡＡＣＣＧＣＧＧＡＣＡＣＴＧＴＧＧＡのうちのいずれか１つを更に含む、請求項２９又は３３のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項３５】
請求項１～３４のいずれか一項に記載の化合物を含む、医薬組成物。
【請求項３６】
筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）の治療を必要とする対象におけるＤＭを治療するための、請求項１～３４のいずれか一項に記載の化合物を含む組成物または請求項３５に記載の組成物であって、前記組成物が前記対象に投与されることを特徴とする、組成物。
【請求項３７】
前記投与により、筋組織における野生型タンパク質の発現の増加がもたらされ、前記野生型タンパク質が、伸長ＣＵＧリピートを有しない遺伝子から発現される、請求項３６に記載の組成物。
【請求項３８】
前記筋組織が、横隔膜組織、四頭筋組織、熱組織、又はそれらの任意の組み合わせであ

る、請求項３７に記載の組成物。
【請求項３９】
前記投与により、病巣形成が予防又は軽減される、請求項３６～３８のいずれか一項に記載の組成物。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０６６９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０６６９】
本発明のいくつかの実施形態が説明されている。それにもかかわらず、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、様々な修正が加えられてもよいことが理解される。したがって、他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内である。
本発明は、例えば、以下の項目を提供する。
(項目１)
化合物であって、
６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドと、
標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）であって、前記ＡＣがホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドを含む、アンチセンス化合物と、を含む、化合物。
(項目２)
前記環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸がアルギニンである、項目１に記載の化合物。
(項目３)
前記環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸が、フェニルアラニン、ナフチルアラニン、又はそれらの組み合わせである、項目１又は２に記載の化合物。
(項目４)
少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸が、シトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである、項目１～３のいずれか一項に記載の化合物。
(項目５)
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

【化１５５】



（Ｉ－ａ）、



（Ｉ－ｂ）、

又は

そのプロトン化形態を有し、

式中、

R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、

R_4が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、

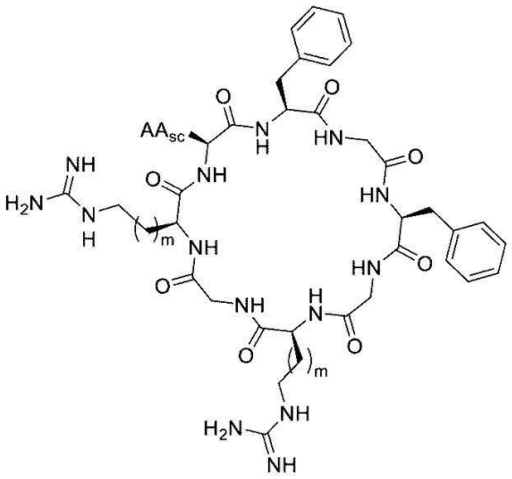
AA_{sc}が、前記アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、

mが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、項目１に記載の化合物。

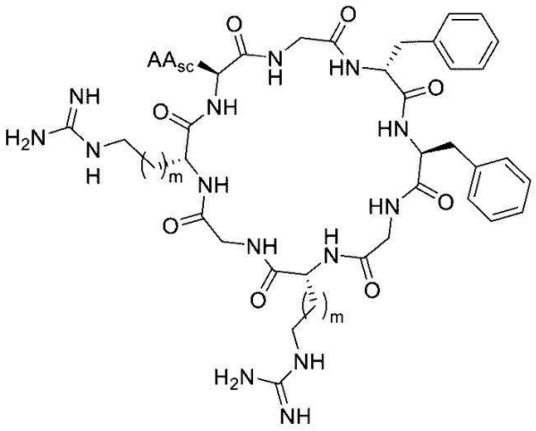
(項目６)

前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

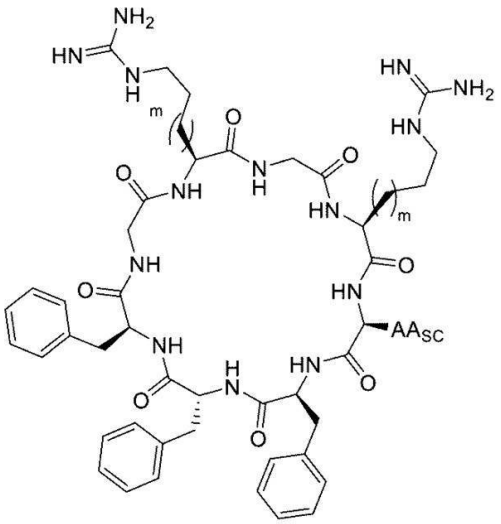
【化１５６－１】



（Ｉ－１）、

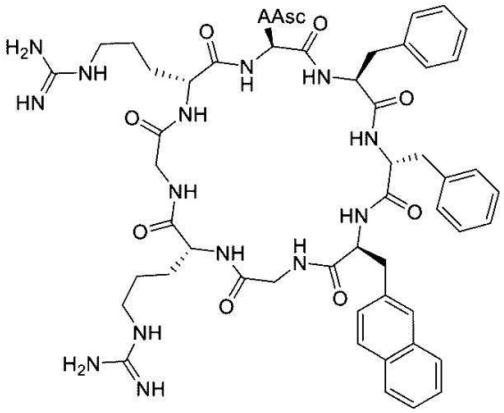


（Ｉ－２）、

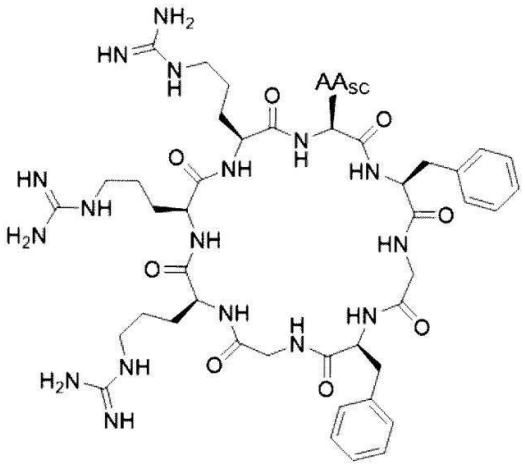


（Ｉ－３）、

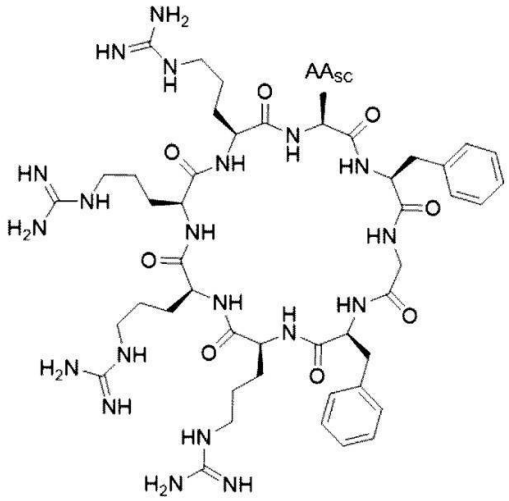
【化１５６－２】



（Ｉ－４）、



（Ｉ－５）、



（Ｉ－６）、

又は

そのプロトン化形態を有する、項目５に記載の化合物。

(項目７)

ＡＡ$_{SC}$が、アスパラギン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、ホモグルタミン酸残基、又はホモグルタメート残基の側鎖である、項目５又は６に記載の化合物。

(項目８)

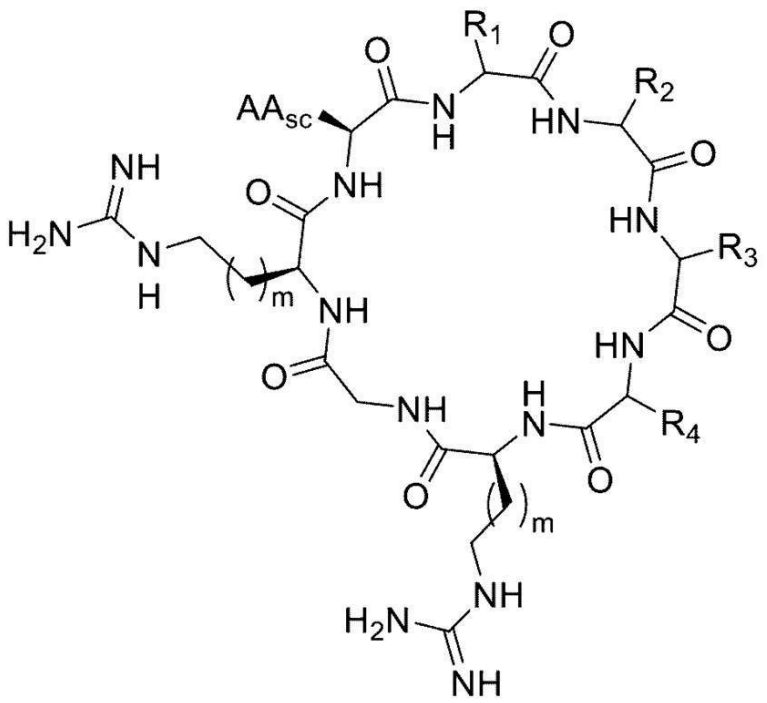
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、

Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族

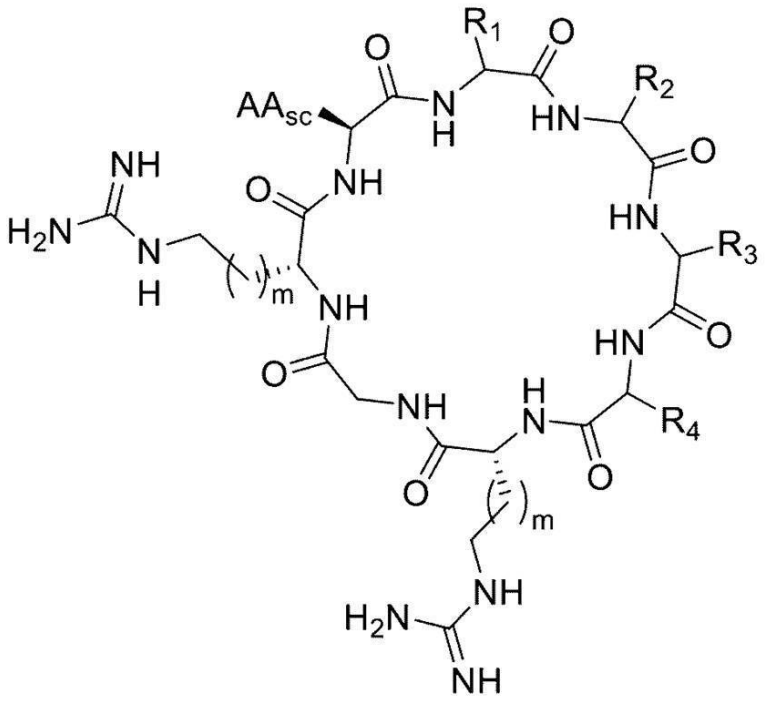
側鎖であり、
Ｒ４が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ｍが、２であり、
ＡＡｓｃが、グルタミン酸残基の側鎖である、項目５又は６に記載の化合物。
(項目９)
ＡＡｓｃが、
【化１５７】

であり、式中、ｔが、０～５の整数である、項目５又は６に記載の化合物。
(項目１０)
リンカーを更に含み、前記リンカーが前記アンチセンス化合物を前記ＡＡｓｃにコンジュゲートする、項目１～９のいずれか一項に記載の化合物。
(項目１１)
前記リンカーが－（ＯＣＨ２ＣＨ２）ｚ’－サブユニットを含み、式中、ｚ’が、１～２３の整数である、項目１０に記載の化合物。
(項目１２)
前記リンカーが、
（ｉ）－（ＯＣＨ２ＣＨ２）ｚ－サブユニット（式中、ｚ’が、１～２３の整数である）、
（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、若しくは６－アミノヘキサン酸、又はそれらの組み合わせの残基などの１個以上のアミノ酸残基、あるいは
（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、項目１０に記載の化合物。
(項目１３)
前記リンカーが、
（ｉ）－（ＯＣＨ２ＣＨ２）ｚ－サブユニット（式中、ｚが、２～２０の整数である）、
（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、６－アミノヘキサン酸、若しくはそれらの組み合わせの１個以上の残基、又は
（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、項目１０に記載の化合物。
(項目１４)
化合物であって、
環状ペプチド及び環外ペプチドを含むエンドソームエスケープビヒクルであって、前記環状ペプチドが６～１２個のアミノ酸を含み、前記環外ペプチドが２～１０個のアミノ酸を含む、エンドソームエスケープビヒクルと、
標的ｍＲＮＡ配列中の伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）であって、前記ＡＣがホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドを含む、アンチセンス化合物と、を含む、化合物。
(項目１５)
前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少な

くとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、項目１４に記載の化合物。
(項目１６)
前記環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸がアルギニンであり、前記環状ペプチドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸がフェニルアラニン、ナプチルアラニン、又はそれらの組み合わせであり、少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸がシトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである、項目１５に記載の化合物。
(項目１７)
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：
【化１５８】



（Ｉ－ａ）、

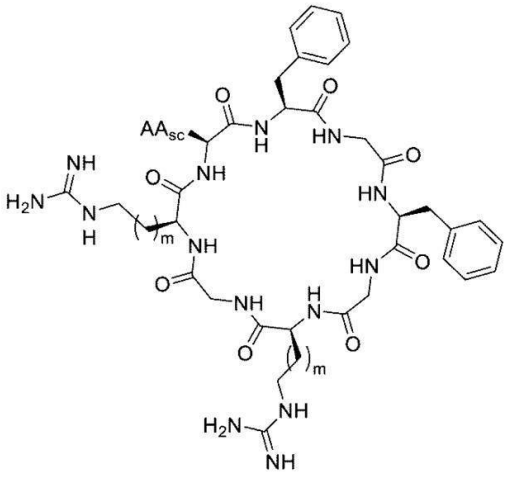


（Ｉ－ｂ）、

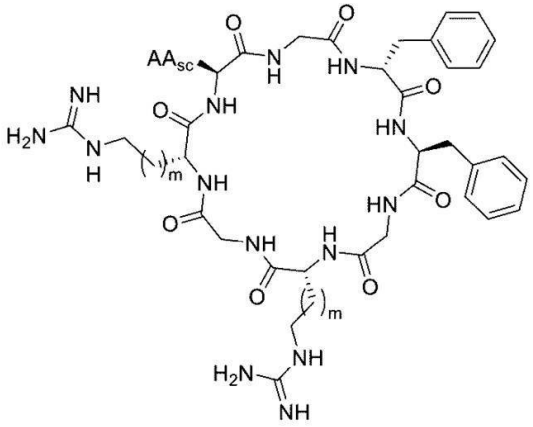
又は

そのプロトン化形態を有し、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4が、H又はアミノ酸側鎖であり、
AA_{SC}が、前記アンチセンス化合物及び前記環外ペプチドがコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、
mが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、項目１４に記載の化合物。
(項目１８)
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

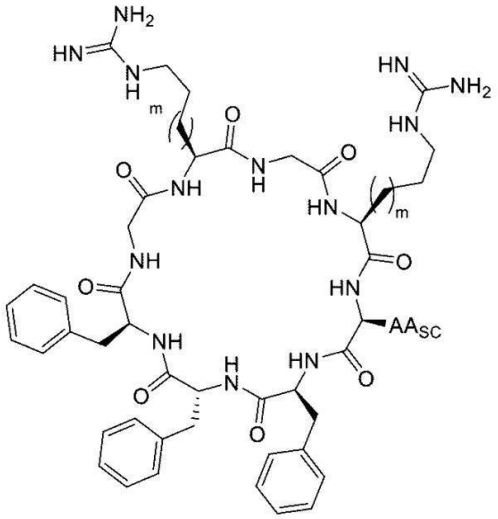
【化１５９－１】



（Ｉ－１）、

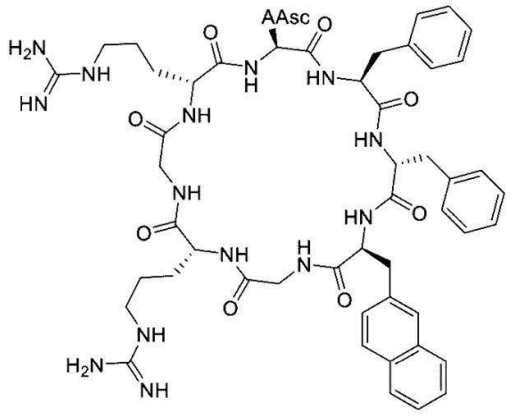


（Ｉ－２）、

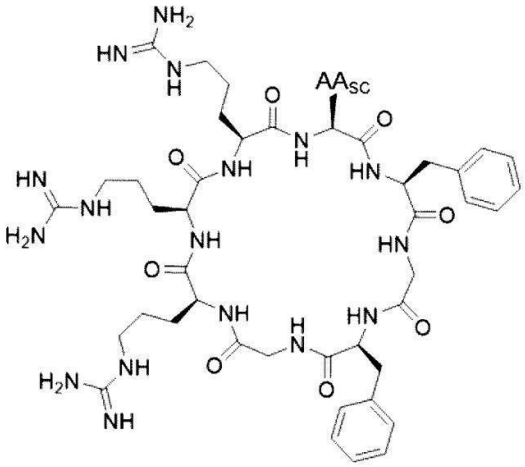


（Ｉ－３）、

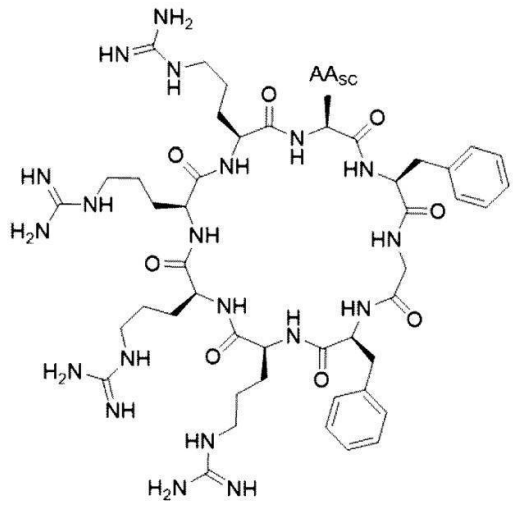
【化１５９－２】



（Ｉ－４）、



（Ｉ－５）、



（Ｉ－６）、

又は

そのプロトン化形態を有する、項目１７に記載の化合物。

(項目１９)

ＡＡｓｃが、アスパラギン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、ホモグルタミン酸残基、又はホモグルタメート残基の側鎖である、項目１７又は１８に記載の化合物。

(項目２０)

ＡＡｓｃが、グルタミン酸残基の側鎖である、項目１７又は１８に記載の化合物。

(項目２１)

Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
Ｒ$_4$が、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
ｍが、２であり、
ＡＡ$_{SC}$が、グルタミン酸残基の側鎖である、項目１７又は１８に記載の化合物。
(項目２２)
ＡＡ$_{SC}$が、
【化１６０】

であり、式中、ｔが、０～５の整数である、項目１７～２１のいずれか一項に記載の化合物。
(項目２３)
前記環外ペプチドが、４～８個のアミノ酸残基を含む、項目１４～２２のいずれか一項に記載の化合物。
(項目２４)
前記環外ペプチドが、グアニジン基を含む側鎖を含む１個若しくは２個のアミノ酸残基、又はそのプロトン化形態若しくは塩を含む、項目１４～２３のいずれか一項に記載の化合物。
(項目２５)
前記環外ペプチドが、２、３、又は４個のリジン残基を含む、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。
(項目２６)
各リジン残基の前記側鎖上の前記アミノ基が、トリフルオロアセチル（－ＣＯＣＦ$_3$）、アリルオキシカルボニル（Ａｌｌｏｃ）、１－（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキシリデン）エチル（Ｄｄｅ）、又は（４，４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキサ－１－イリデン－３）－メチルブチル（ｉｖＤｄｅ）基で置換される、項目２５に記載の化合物。
(項目２７)
前記環外ペプチドが、疎水性側鎖を有する少なくとも２個のアミノ酸残基を含む、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。
(項目２８)
疎水性側鎖を有する前記アミノ酸残基が、バリン、プロリン、アラニン、ロイシン、イソロイシン、及びメチオニンから選択される、項目２７に記載の化合物。
(項目２９)
前記環外ペプチドが、以下の配列：ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＨＨ、ＨＫ、ＨＲ、ＲＨ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＨ、ＫＨＫ、ＨＫＫ、ＨＲＲ、ＨＲＨ、ＨＨＲ、ＨＢＨ、ＨＨＨ、ＨＨＨＨ、ＫＨＫＫ、ＫＫＨＫ、ＫＫＫＨ、ＫＨＫＨ、ＨＫＨＫ、ＫＫＫＫ、ＫＫＲＫ、ＫＲＫＫ、ＫＲＲＫ、ＲＫＫＲ、ＲＲＲＲ、ＫＧＫＫ、ＫＫＧＫ、ＨＢＨＢＨ、ＨＢＫＢＨ、ＲＲＲＲＲ、ＫＫＫＫＫ、ＫＫＫＲ

Ｋ、ＲＫＫＫＫ、ＫＲＫＫＫ、ＫＫＲＫＫ、ＫＫＫＫＲ、ＫＢＫＢＫ、ＲＫＫＫＫＧ、ＫＲＫＫＫＧ、ＫＫＲＫＫＧ、ＫＫＫＫＲＧ、ＲＫＫＫＫＢ、ＫＲＫＫＫＢ、ＫＫＲＫＫＢ、ＫＫＫＫＲＢ、ＫＫＫＲＫＶ、ＲＲＲＲＲＲ、ＨＨＨＨＨＨ、ＲＨＲＨＲＨ、ＨＲＨＲＨＲ、ＫＲＫＲＫＲ、ＲＫＲＫＲＫ、ＲＢＲＢＲＢ、ＫＢＫＢＫＢ、ＰＫＫＫＲＫＶ、ＰＧＫＫＲＫＶ、ＰＫＧＫＲＫＶ、ＰＫＫＧＲＫＶ、ＰＫＫＫＧＫＶ、ＰＫＫＫＲＧＶ、又はＰＫＫＫＲＫＧのうちの１つを含み、式中、Ｂが、ベーターアラニンである、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

(項目３０)

前記環外ペプチドが、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶ、ＲＲ、ＲＲＲ、ＲＨＲ、ＲＢＲ、ＲＢＲＢＲ、ＲＢＨＢＲ、又はＨＢＲＢＨのうちの１つを含み、式中、Ｂが、ベーターアラニンである、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

(項目３１)

前記環外ペプチドが、以下の配列：ＫＫ、ＫＲ、ＲＲ、ＫＫＫ、ＫＧＫ、ＫＢＫ、ＫＢＲ、ＫＲＫ、ＫＲＲ、ＲＫＫ、ＲＲＲ、ＫＫＫＫ、ＫＫＲＫ、ＫＲＫＫ、ＫＲＲＫ、ＲＫＫＲ、ＲＲＲＲ、ＫＧＫＫ、ＫＫＧＫ、ＫＫＫＫＫ、ＫＫＫＲＫ、ＫＢＫＢＫ、ＫＫＫＲＫＶ、ＰＫＫＫＲＫＶ、ＰＧＫＫＲＫＶ、ＰＫＧＫＲＫＶ、ＰＫＫＧＲＫＶ、ＰＫＫＫＧＫＶ、ＰＫＫＫＲＧＶ、又はＰＫＫＫＲＫＧのうちの１つを含む、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

(項目３２)

前記環外ペプチドが、ＰＫＫＫＲＫＶを含む、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

(項目３３)

前記環外ペプチドが、以下の配列：ＮＬＳＫＲＰＡＡＩＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫ、ＰＡＡＫＲＶＫＬＤ、ＲＱＲＲＮＥＬＫＲＳＦ、ＲＭＲＫＦＫＮＫＧＫＤＴＡＥＬＲＲＲＲＶＥＶＳＶＥＬＲ、ＫＡＫＫＤＥＱＩＬＫＲＲＮＶ、ＶＳＲＫＲＰＲＰ、ＰＰＫＫＡＲＥＤ、ＰＱＰＫＫＫＰＬ、ＳＡＬＩＫＫＫＫＫＭＡＰ、ＤＲＬＲＲ、ＰＫＱＫＫＲＫ、ＲＫＬＫＫＫＩＫＫＬ、ＲＥＫＫＫＦＬＫＲＲ、ＫＲＫＧＤＥＶＤＧＶＤＥＶＡＫＫＫＳＫＫ、又はＲＫＣＬＱＡＧＭＮＬＥＡＲＫＴＫＫのうちの１つを含む、項目１４～２４のいずれか一項に記載の化合物。

(項目３４)

前記アンチセンス化合物及び前記環外ペプチドを前記AA_{SC}にコンジュゲートするリンカーを更に含む、項目１４～３３のいずれか一項に記載の化合物。

(項目３５)

前記リンカーが、

（ｉ）－（$OCH_2CH_2)_{z'}$－サブユニット（式中、ｚ’が、１～２３の整数である）、

（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、若しくは６－アミノヘキサン酸、又はそれらの組み合わせの残基などの１個以上のアミノ酸残基、あるいは

（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、項目３４に記載の化合物。

(項目３６)

前記リンカーが、

（ｉ）－（$OCH_2CH_2)_z$－サブユニット（式中、ｚが、２～２０の整数である）、

（ｉｉ）グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノペント酸、６－アミノヘキサン酸、若しくはそれらの組み合わせの１個以上の残基、又は

（ｉｉｉ）（ｉ）と（ｉｉ）の組み合わせ、を含む、項目３４に記載の化合物。

(項目３７)

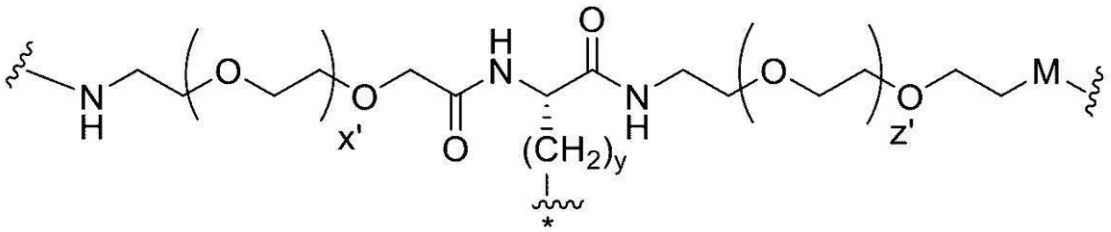
前記リンカーが、二価又は三価のC_1－C_{50}アルキレンを含み、ここで、１～２５個のメチレン基が、任意選択でかつ独立して、－Ｎ（Ｈ）－、－Ｎ（C_1－C_4アルキル）－、－Ｎ（シクロアルキル）－、－Ｏ－、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｓ－、－Ｓ

（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｎ（シクロアルキル）－、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）Ｃ（Ｏ）－、－Ｎ（シクロアルキル）Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｈ）－、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（シクロアルキル）、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はシクロアルケニルによって置き換えられる、項目３４に記載の化合物。

(項目３８)

前記リンカーが、以下の構造を有し、

【化１６１】



式中、

ｘ’が１～２３の整数であり、ｙが１～５の整数であり、ｚ’が１～２３の整数であり、＊が前記環状ペプチドのアミノ酸残基のアミノ酸側鎖への結合点であり、Ｍが結合基である、項目３４に記載の化合物。

(項目３９)

ｚ’が１１である、項目３８に記載の化合物。

(項目４０)

ｘ’が１である、項目３８又は３９に記載の化合物。

(項目４１)

前記環外ペプチドが前記リンカーのアミノ末端で前記リンカーにコンジュゲートされている、項目３８～４０のいずれか一項に記載の化合物。

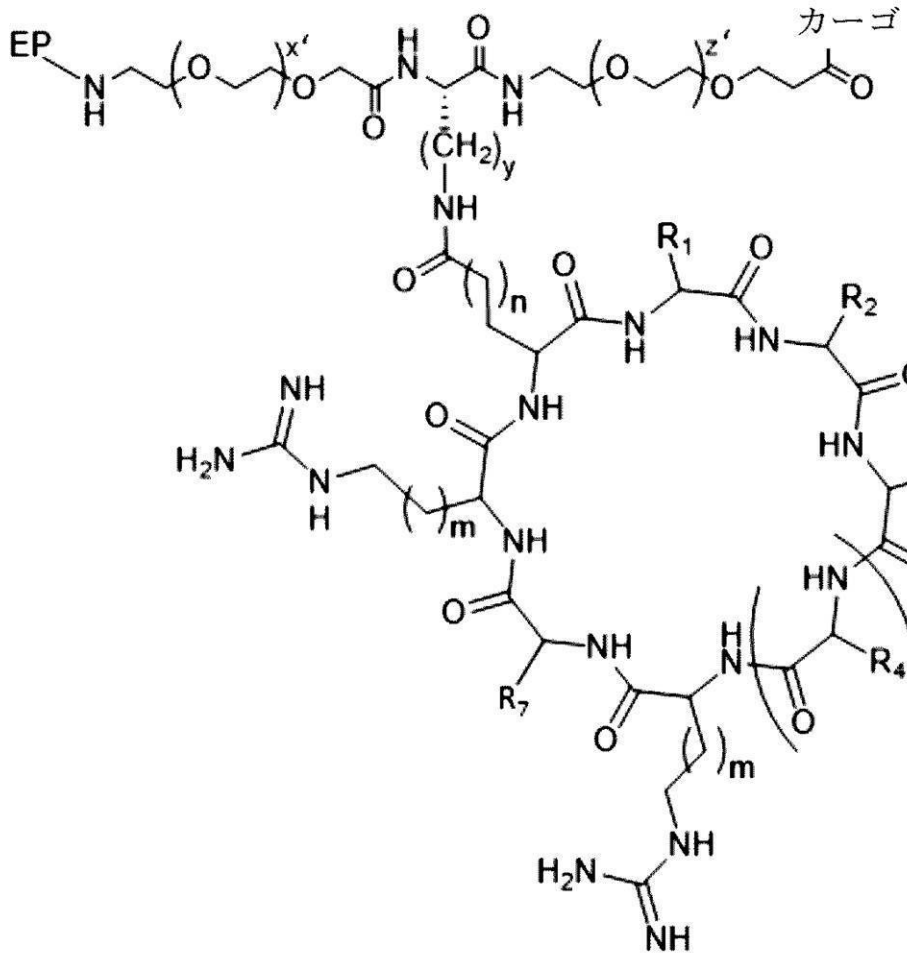
(項目４２)

前記アンチセンス化合物がＭにコンジュゲートされている、項目３８～４１のいずれか一項に記載の化合物。

(項目４３)

前記化合物が、式（Ｃ）のもの：

【化１６２】



（C）

又は

そのプロトン化形態若しくは塩であり、

式中、

R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又はアリール基若しくはヘテロアリール基を含む側鎖であり、R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アリール基若しくはヘテロアリール基を含む側鎖であり、

R_4及びR_7が独立して、H又はアミノ酸側鎖であり、

ＥＰが、環外ペプチドであり、

ｍが各々独立して、０～３の整数であり、

ｎが、０～２の整数であり、

ｘ’が、１～２３の整数であり、

ｙが、１～５の整数であり、

ｑが、１～４の整数であり、

ｚ’が、１～２３の整数であり、

カーゴが、前記アンチセンス化合物である、項目１７に記載の化合物。

(項目４４)

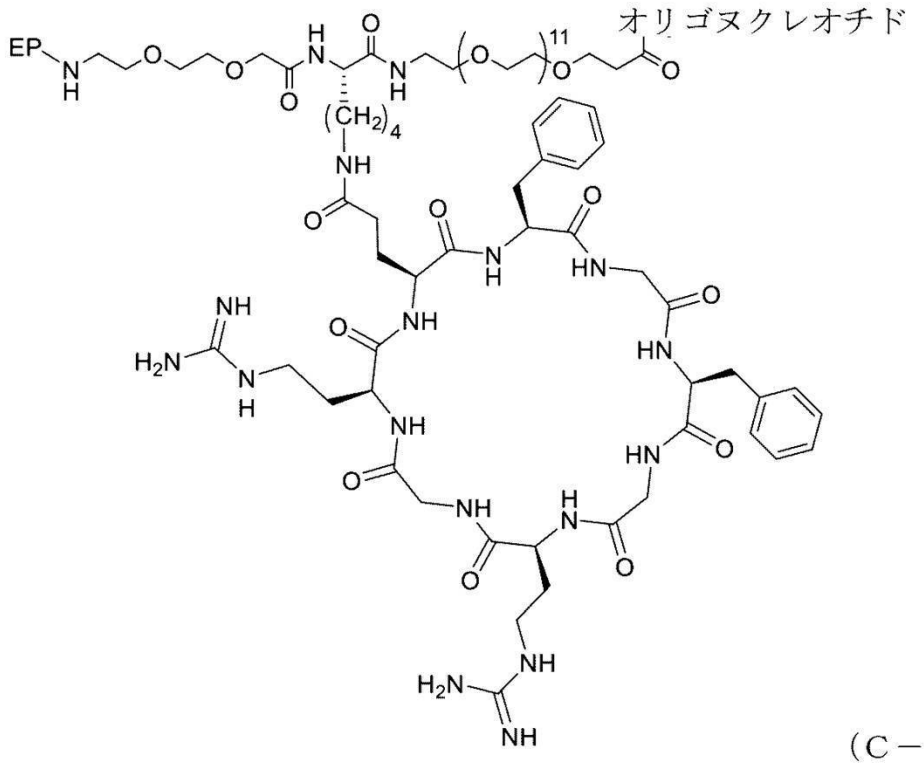
R_1、R_2、及びR_3が、H、又はアリール基を含む側鎖である、項目４３に記載の化合物。

(項目４５)

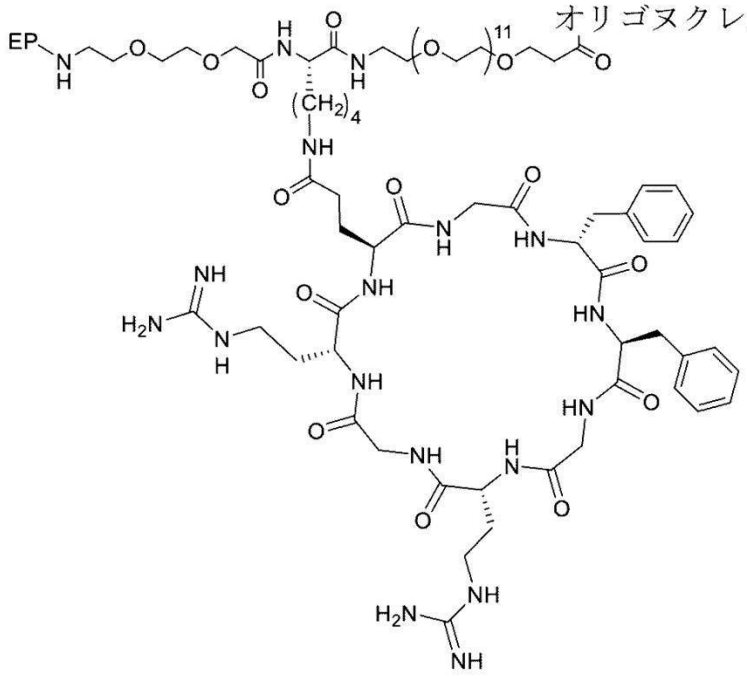
アリール基を含む前記側鎖が、フェニルアラニンの側鎖である、項目４４に記載の化合物。

(項目４６)
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、及びＲ$_3$のうちの２つがフェニルアラニンの側鎖である、項目４５に記載の化合物。
(項目４７)
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$、Ｒ$_3$、及びＲ$_4$のうちの２つがＨである、項目４４～４６のいずれか一項に記載の化合物。
(項目４８)
ｚ’が１１である、項目４４～４７のいずれか一項に記載の化合物。
(項目４９)
ｘ’が１である、項目４４～４８のいずれか一項に記載の化合物。
(項目５０)
式（Ｃ－１）、式（Ｃ－２）、式（Ｃ－３）、若しくは式（Ｃ－４）の構造：

【化１６３－１】

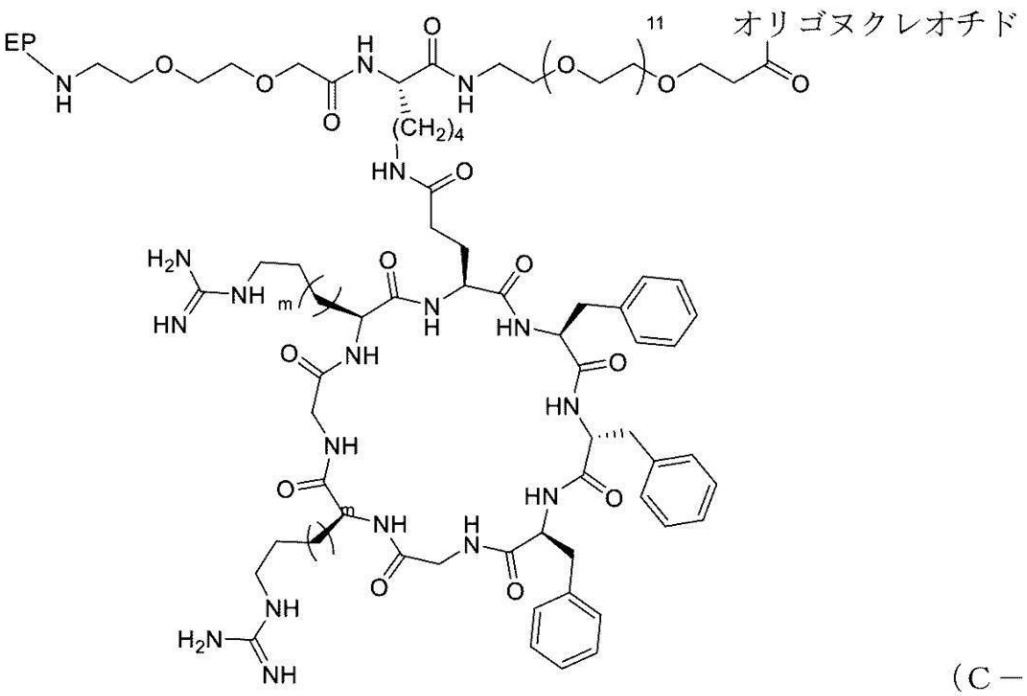


（Ｃ－１）、

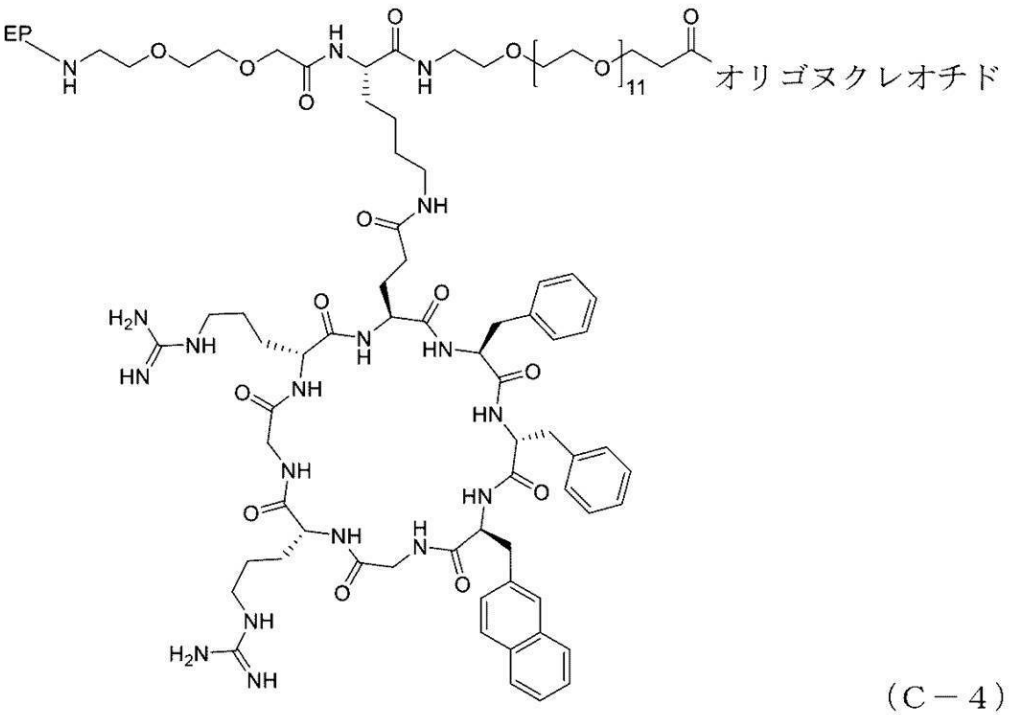


（Ｃ－２）、

【化１６３－２】



（Ｃ－３）、



（Ｃ－４）

又はそのプロトン化形態若しくは塩を含み、
式中、ＥＰが、環外ペプチドであり、
オリゴヌクレオチドが、前記アンチセンス化合物である、項目１７に記載の化合物。
(項目５１)
前記オリゴヌクレオチドが、以下の配列：５’－ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ　ＣＡＧ－３’を含む、項目５０に記載の化合物。
(項目５２)
前記ＥＰが、以下の配列：ＰＫＫＫＲＫＶを含む、項目５０又は５１に記載の化合物。
(項目５３)
前記伸長トリヌクレオチドリピートが、前記標的ｍＲＮＡ配列の３’ＵＴＲ内にある、

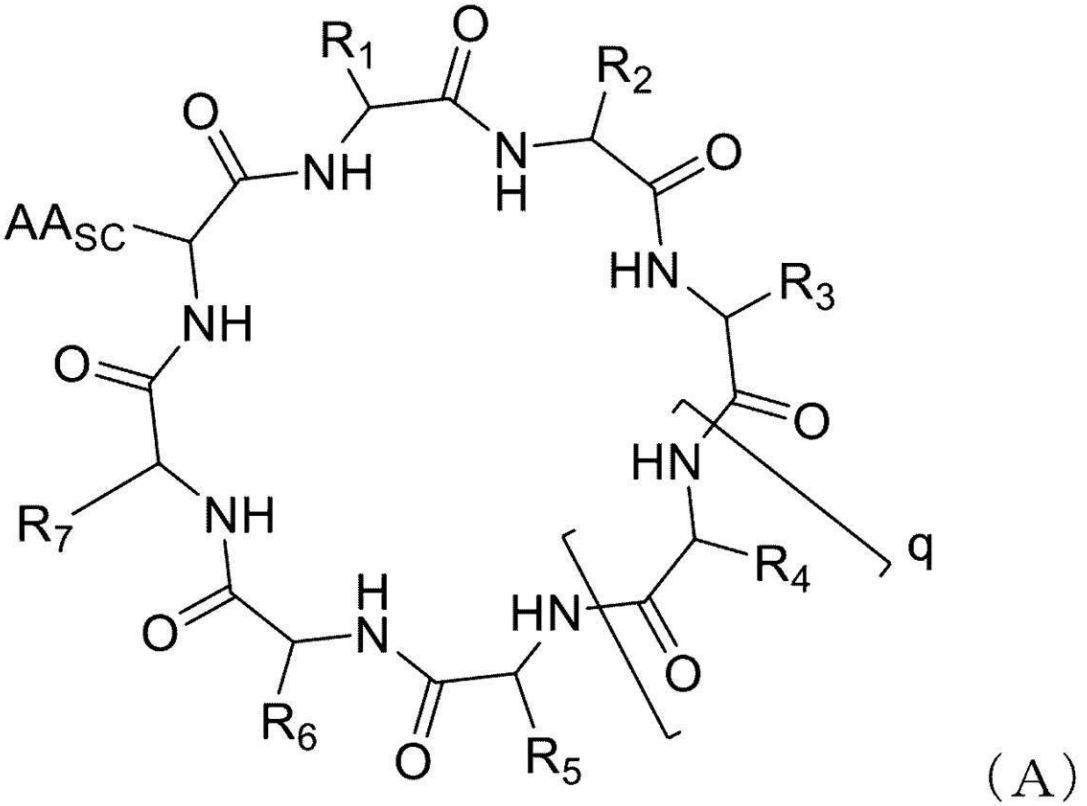
先行項目のいずれか一項に記載の化合物。
(項目５４)
前記標的ｍＲＮＡ配列が、ＤＭＰＫ　ｍＲＮＡ配列である、項目５３に記載の化合物。
(項目５５)
前記標的ｍＲＮＡ配列が、ＡＴＸＮ８ＯＳ／ＡＴＸＮ８　ｍＲＮＡ配列である、項目５３に記載の化合物。
(項目５６)
前記標的ｍＲＮＡ配列が、ＪＰＨ３　ｍＲＮＡ配列である、項目５３に記載の化合物。
(項目５７)
前記ＡＣが、５～１０個のＣＡＧリピートを含む、先行項目のいずれか一項に記載の化合物。
(項目５８)
前記ｍＲＮＡが、プレｍＲＮＡ又は成熟ｍＲＮＡである、先行項目のいずれか一項に記載の化合物。
(項目５９)
前記ｍＲＮＡが、プレｍＲＮＡである、先行項目のいずれか一項に記載の化合物。
(項目６０)
有効量の項目１～５９のいずれか一項に記載の化合物を含む、医薬組成物。
(項目６１)
項目１～５９のいずれか一項に記載の化合物を含む、細胞。
(項目６２)
筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）の治療を必要とする対象におけるＤＭを治療する方法であって、前記対象に、項目１～５９のいずれか一項に記載の化合物又は項目６０に記載の組成物を投与することを含む、方法。
(項目６３)
前記投与により、筋組織における野生型タンパク質の発現の増加がもたらされる、項目６２に記載の方法。
(項目６４)
前記投与により、横隔膜組織、四頭筋組織、及び／又は心臓組織における前記野生型タンパク質の発現の増加がもたらされる、項目６３のいずれか一項に記載の方法。
(項目６５)
前記野生型タンパク質が、伸長ＣＵＧリピートを有しない遺伝子から発現されたタンパク質である、項目６３又は６４に記載の方法。
(項目６６)
前記投与により、病巣形成が予防又は軽減される、項目６２～６５のいずれか一項に記載の方法。
(項目６７)
前記ヌクレオチドリピート伸長が、ＤＭＰＫ　ｍＲＮＡの３’ＵＴＲ内に位置する、項目６２～６６のいずれか一項に記載の方法。
(項目６８)
３’非翻訳領域（ＵＴＲ）内に伸長ＣＵＧリピートを有するｍＲＮＡに関連する疾患を治療するための方法であって、それを必要とする対象に、
前記ｍＲＮＡ中の前記伸長ＣＵＧリピートの少なくとも一部分に相補的なアンチセンス化合物（ＡＣ）と、
６～１２個のアミノ酸を有する環状ペプチドであって、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が荷電アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が芳香族疎水性アミノ酸であり、前記環状ペプチドの少なくとも２個のアミノ酸が非荷電非芳香族アミノ酸である、環状ペプチドと、を含む化合物を投与することを含む、方法。
(項目６９)
前記環状ペプチドの少なくとも２個の荷電アミノ酸がアルギニンであり、前記環状ペプ

チドの少なくとも２個の芳香族疎水性アミノ酸がフェニルアラニン、ナプチルアラニン、又はそれらの組み合わせであり、前記環状ペプチドの少なくとも２個の非荷電非芳香族アミノ酸がシトルリン、グリシン、又はそれらの組み合わせである、項目６８に記載の方法。

(項目７０)

前記環状ペプチドが、以下の構造：

【化１６４】



(A)

、

又は

そのプロトン化形態を有し、

式中、

R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、H、又はアミノ酸の芳香族若しくはヘテロ芳香族側鎖であり、

R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、

R_4、R_5、R_6、R_7が独立して、H又はアミノ酸側鎖であり、

R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つが、H又はシトルリンの側鎖であり、

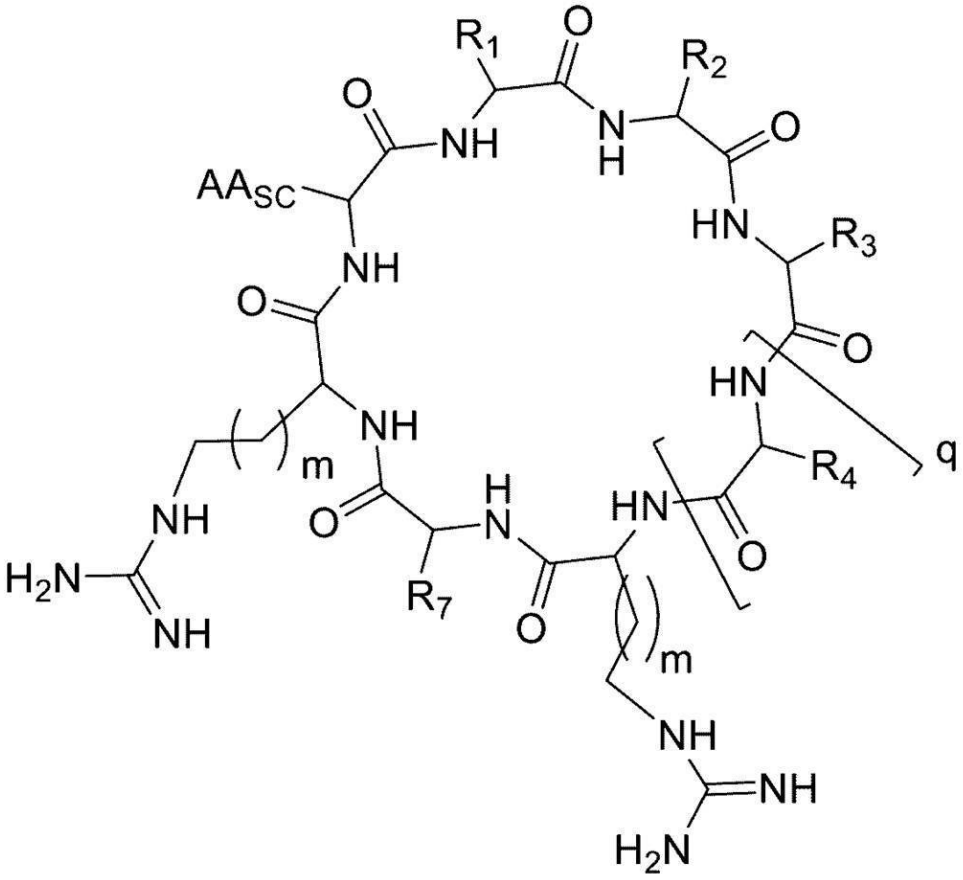
AA_{SC}が、前記アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、

qが、１、２、３、又は４である、項目６８に記載の方法。

(項目７１)

R_4、R_5、R_6、R_7のうちの少なくとも１つが、３－グアニジノ－２－アミノプロピオン酸、４－グアニジノ－２－アミノブタン酸、アルギニン、ホモアルギニン、Ｎ－メチルアルギニン、Ｎ，Ｎ－ジメチルアルギニン、２，３－ジアミノプロピオン酸、２，４－ジアミノブタン酸、リジン、Ｎ－メチルリジン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、Ｎ－エチルリジン、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、４－グアニジノフェニルアラニン、Ｎ，Ｎ－ジメチルリジン、β－ホモアルギニン、又は３－（１－ピペリジニル）アラニンの側鎖である、項目７０に記載の方法。

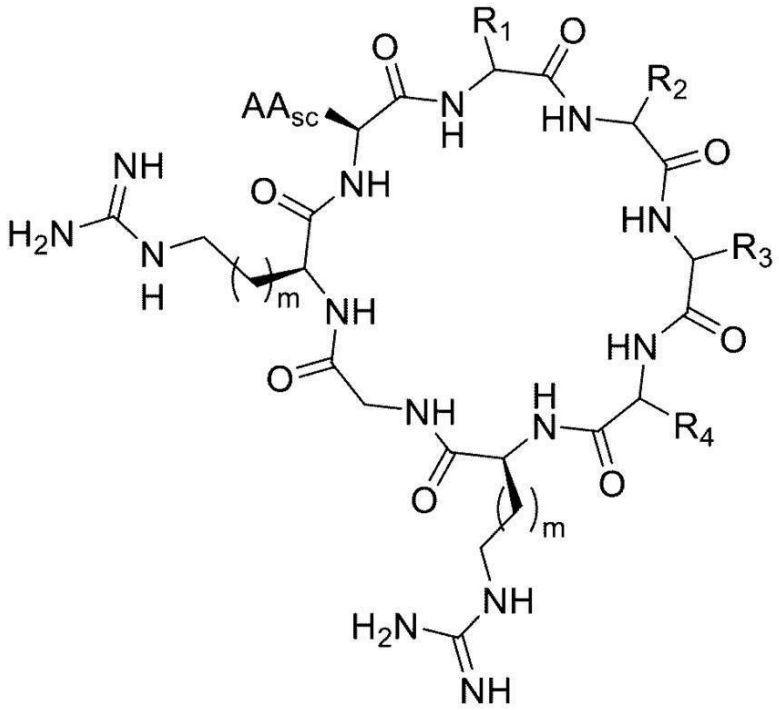
(項目７２)
前記環状ペプチドが、以下の構造：
【化１６５】



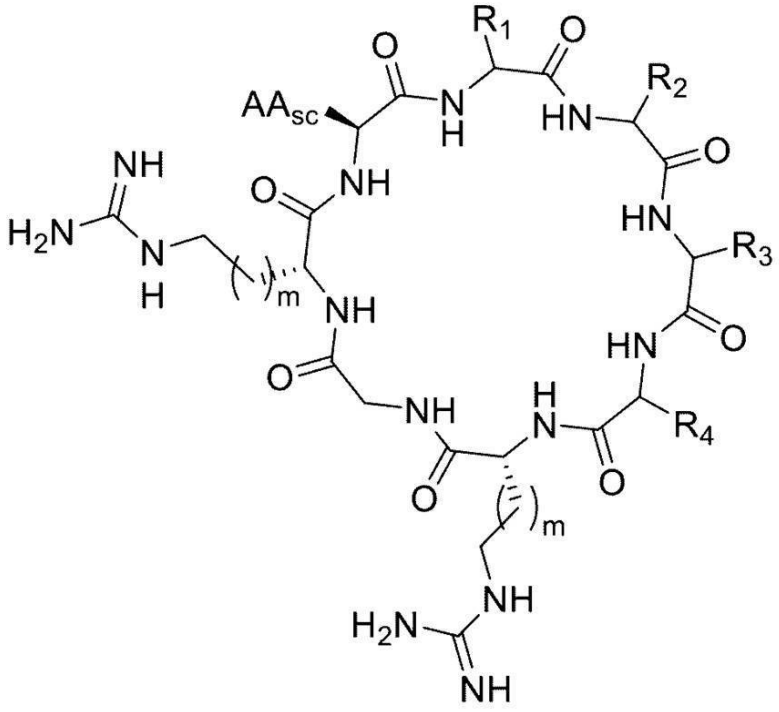
（Ｉ）

又はそのプロトン化形態を有し、
式中、
R_1、R_2、及びR_3が各々独立して、Ｈ、又は芳香族基を含む側鎖を有するアミノ酸残基であり、
R_1、R_2、及びR_3のうちの少なくとも１つが、アミノ酸の芳香族又はヘテロ芳香族側鎖であり、
R_4及びR_7が独立して、Ｈ又はアミノ酸側鎖であり、
AA_{SC}が、前記アンチセンス化合物がコンジュゲートされるアミノ酸側鎖であり、
ｑが、１、２、３、又は４であり、
ｍが各々独立して、０、１、２、又は３の整数である、項目６８に記載の方法。
(項目７３)
前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

【化１６６】



（Ｉ－ａ）、



（Ｉ－ｂ）、

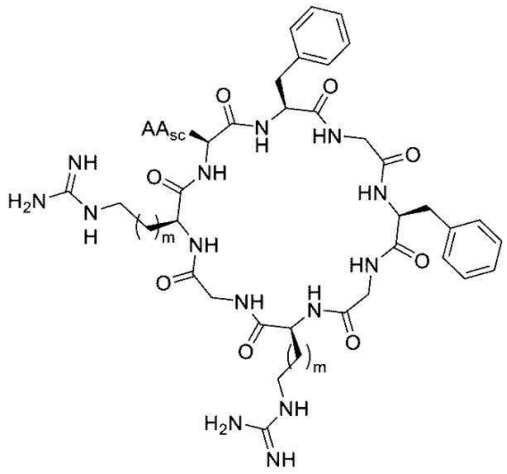
又は

そのプロトン化形態を有する、項目７２に記載の方法。

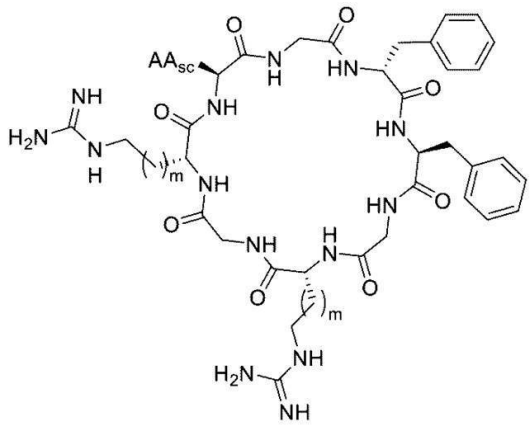
(項目７４)

前記環状ペプチドが、以下の構造のうちの１つ：

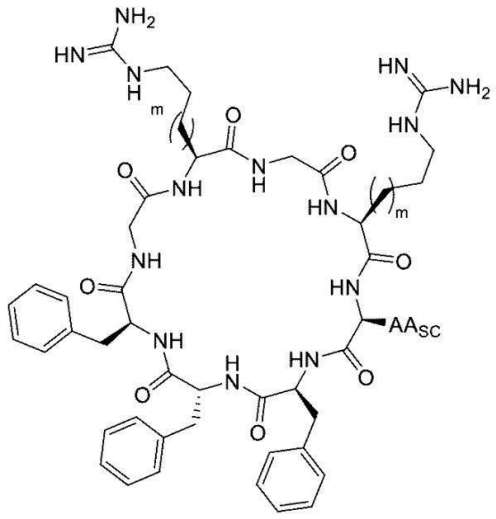
【化１６７－１】



（Ｉ－１）、

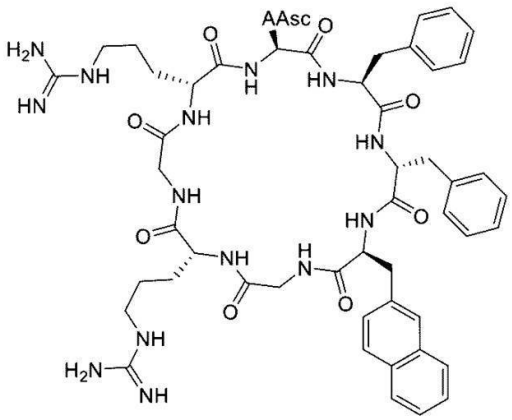


（Ｉ－２）、

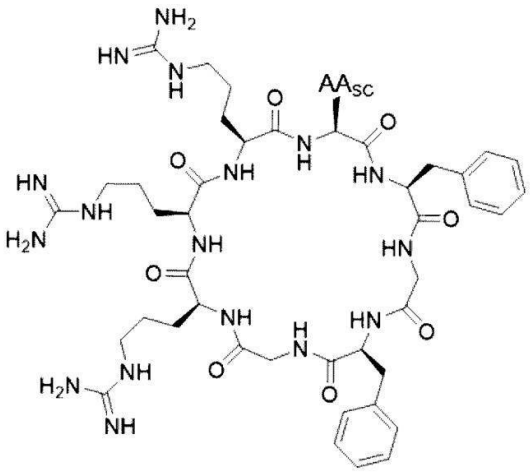


（Ｉ－３）、

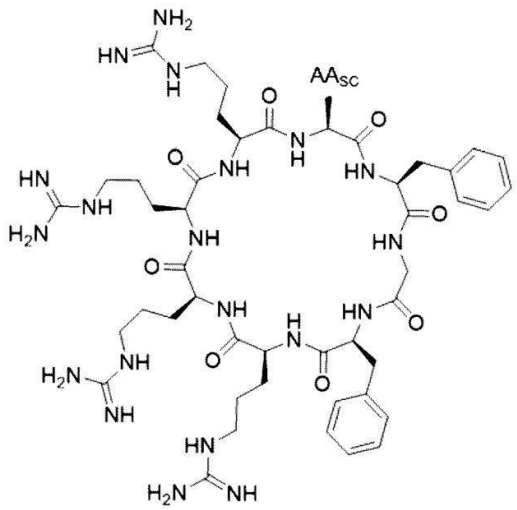
【化１６７－２】



（Ｉ－４）、



（Ｉ－５）、



（Ｉ－６）、

又は

そのプロトン化形態を有する、項目７２に記載の方法。

(項目７５)

前記アンチセンス化合物が、ホスホロジアミデートモルホリノ（ＰＭＯ）ヌクレオチドを含む、項目６８～７４のいずれか一項に記載の方法。

(項目７６)

前記アンチセンス化合物をＡＡｓｃにコンジュゲートするリンカーを更に含む、項目６８～７５のいずれか一項に記載の方法。

(項目７７)

エンドソームエスケープビヒクルを含み、前記エンドソームエスケープビヒクルが前記環状ペプチド及び環外ペプチドを含む、項目６８～７６のいずれか一項に記載の方法。

(項目７８)

前記疾患が筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）である、項目６８～７７のいずれか一項に記載の方法。

(項目７９)

前記疾患が脊髄小脳失調症８型（ＳＣＡ８）である、項目６８～７７のいずれか一項に記載の方法。

(項目８０)

前記疾患がハンチントン病様２（ＨＤＬ２）である、項目６８～７７のいずれか一項に記載の方法。

(項目８１)

前記アンチセンス化合物が、表２に列記されるヌクレオチドの配列を含む、先行項目のいずれか一項に記載の化合物、組成物、又は方法。

【手続補正３】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図面】

【図１】

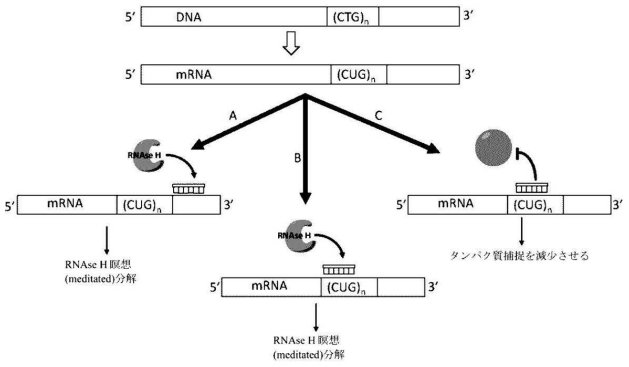


図１

【図２】

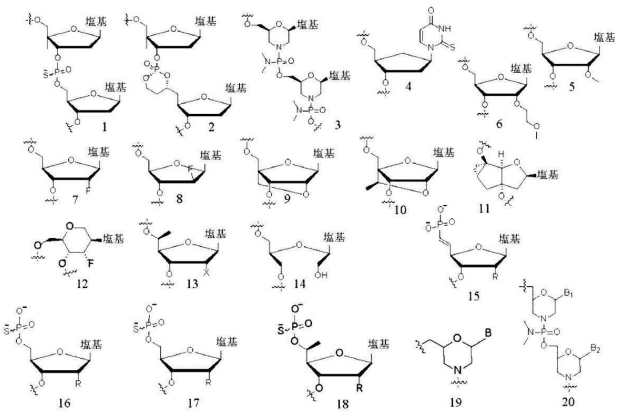


図２

【図３Ａ】

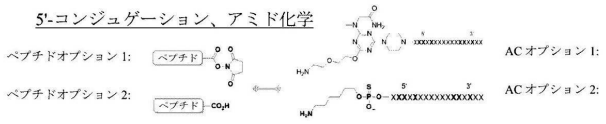


図３Ａ

【図３Ｂ】

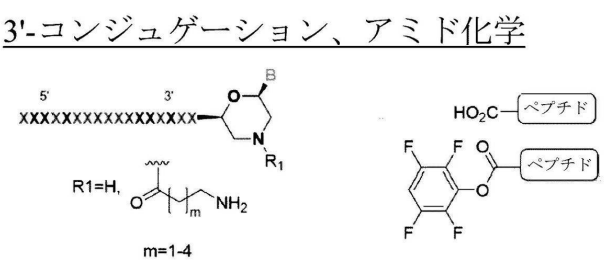


図３Ｂ

【図３Ｃ】

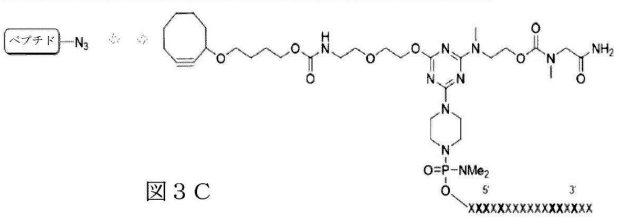


図３Ｃ

【図３Ｄ】

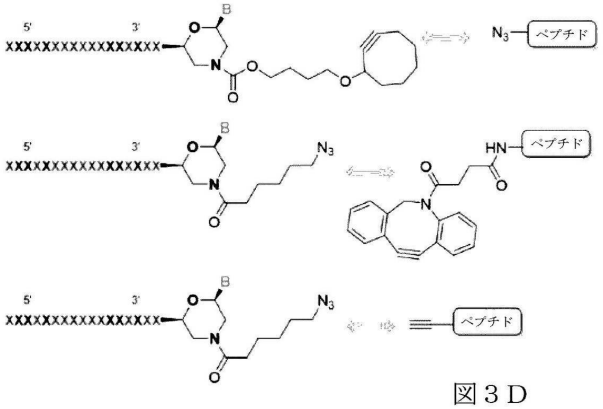


図３Ｄ

【図４】

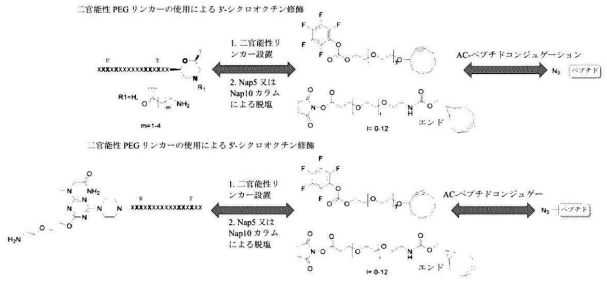


図４

【図５Ａ】

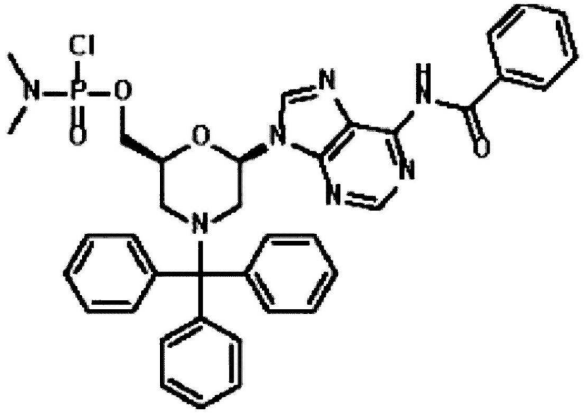


図５Ａ

【図５Ｂ】

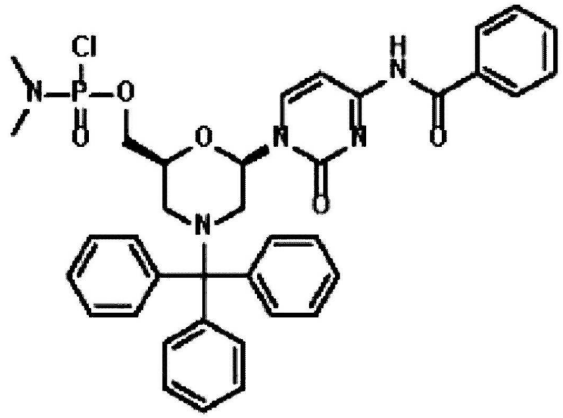


図５Ｂ

【図５Ｃ】

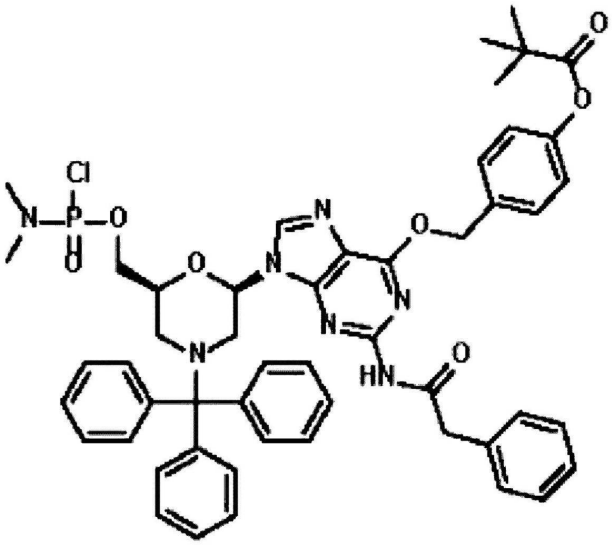


図５Ｃ

【図５Ｄ】

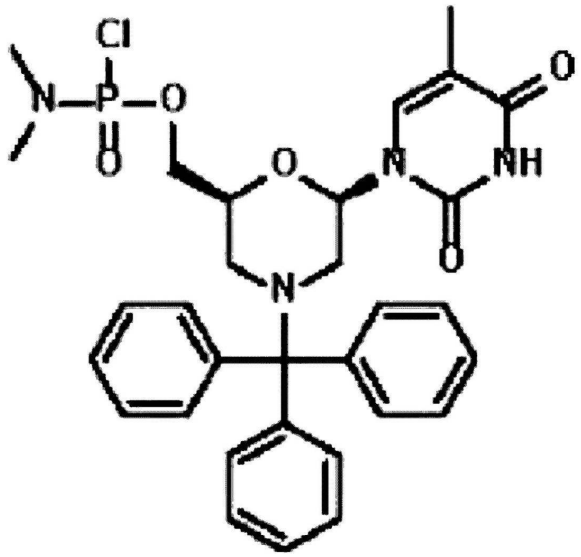


図５Ｄ

【図６Ａ】

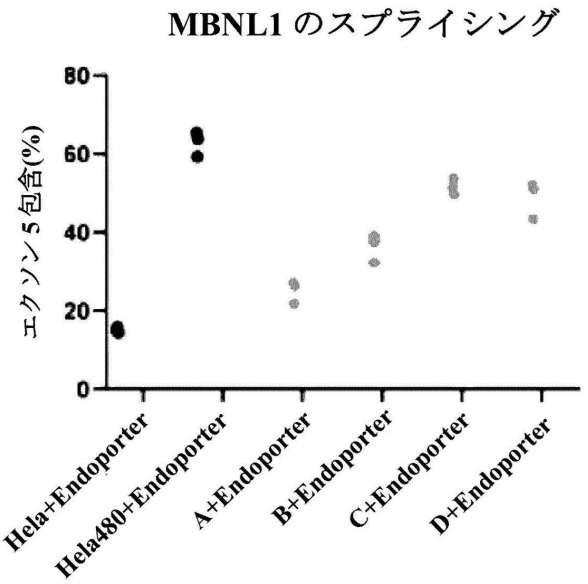


図６Ａ

【図６Ｂ】

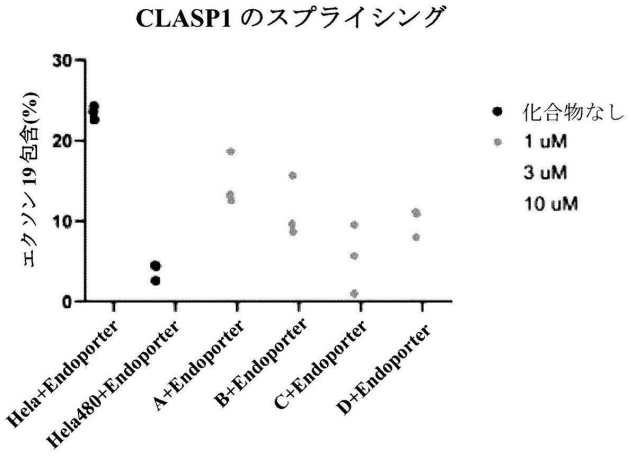


図６Ｂ

【図６Ｃ】

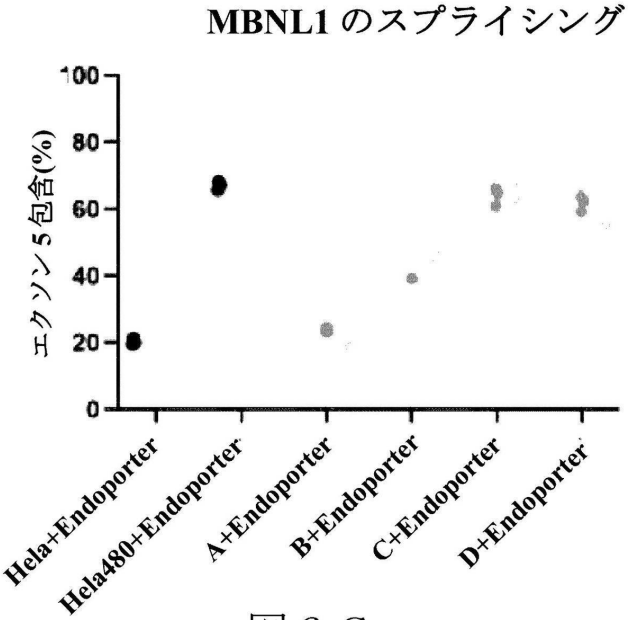


図６Ｃ

【図６Ｄ】

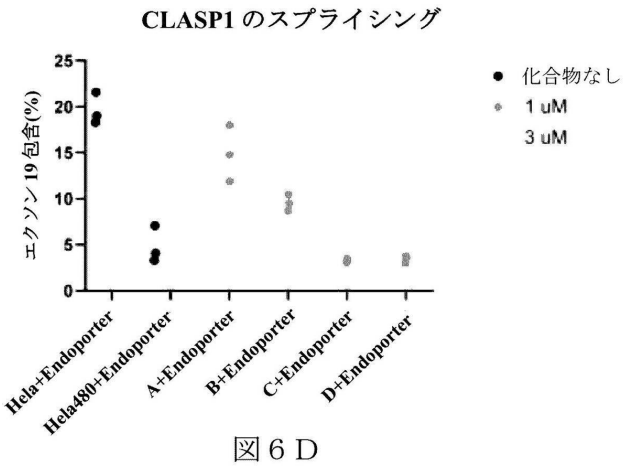


図６Ｄ

【図６Ｅ】

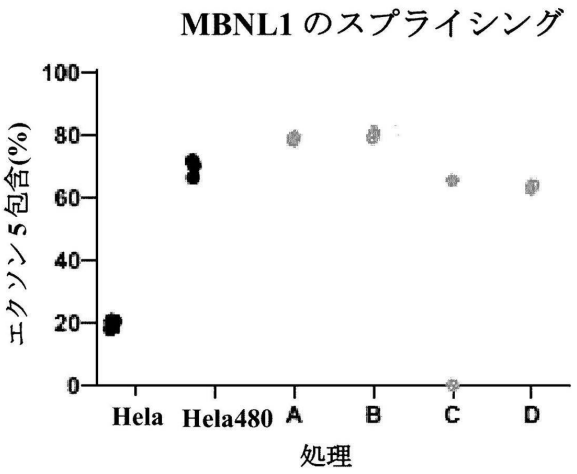


図６Ｅ

【図６Ｆ】

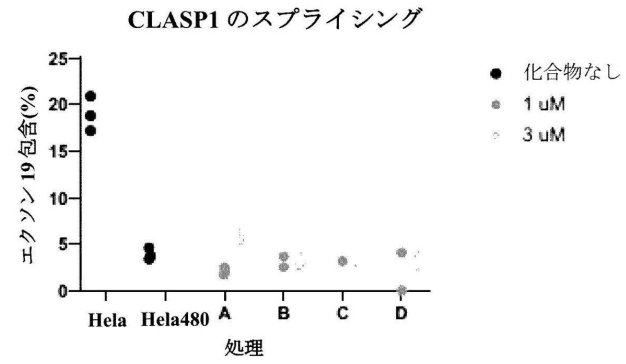


図６Ｆ

【図７Ａ】

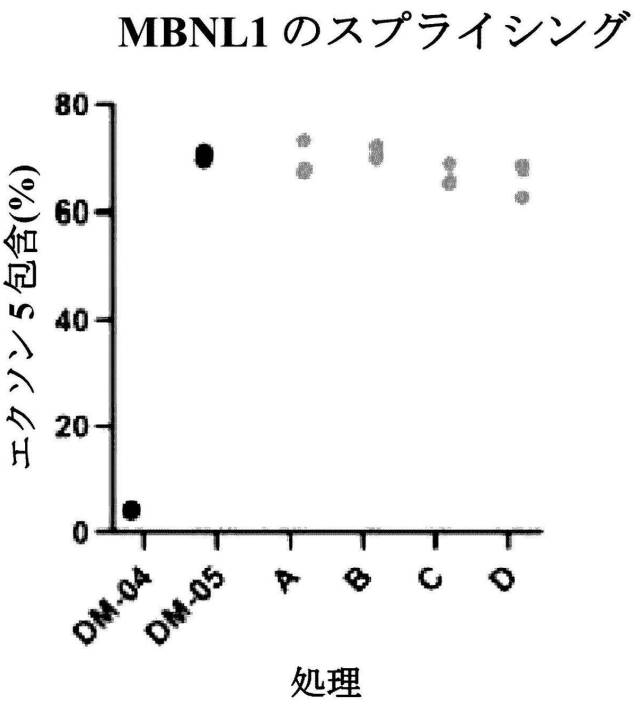


図７Ａ

【図７Ｂ】

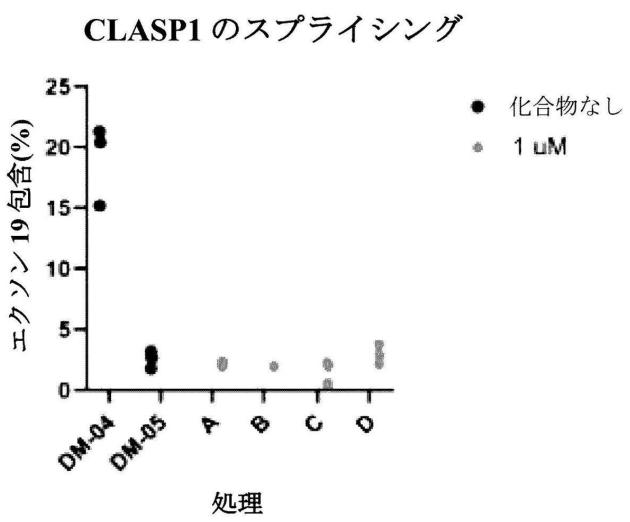


図７Ｂ

【図８Ａ】

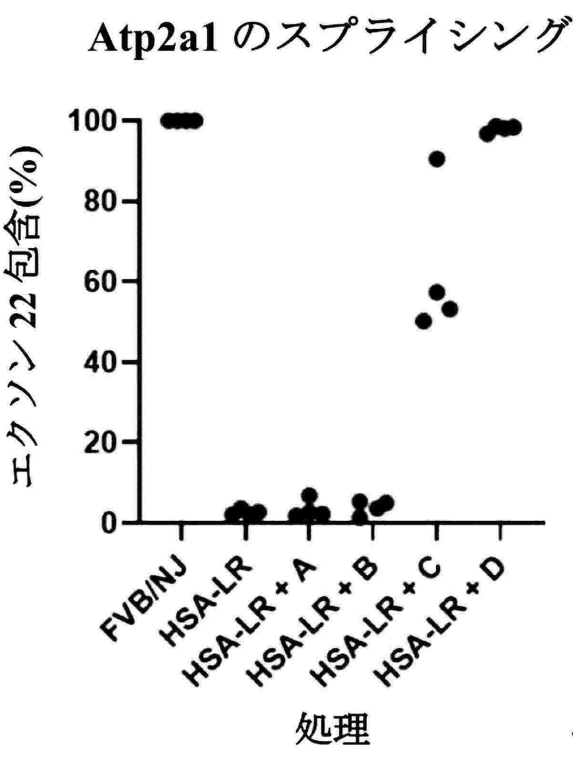


図８Ａ

【図８Ｂ】

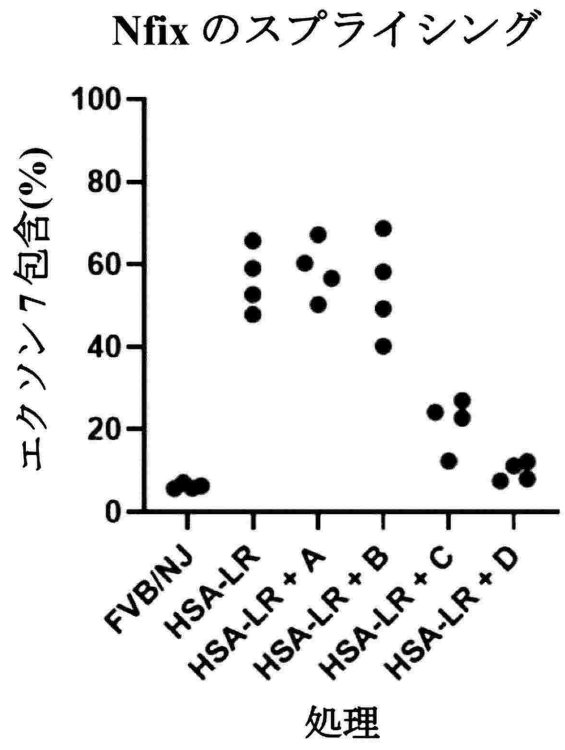


図８Ｂ

【図８Ｃ】

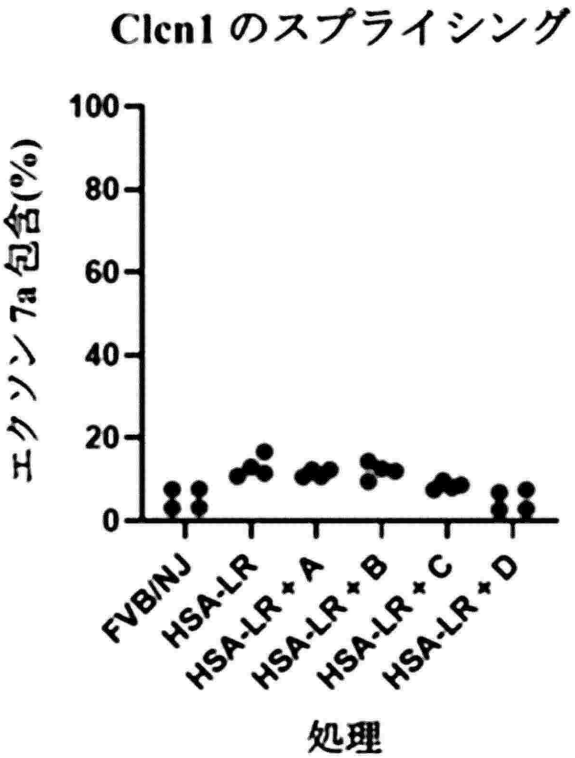


図８Ｃ

【図８Ｄ】

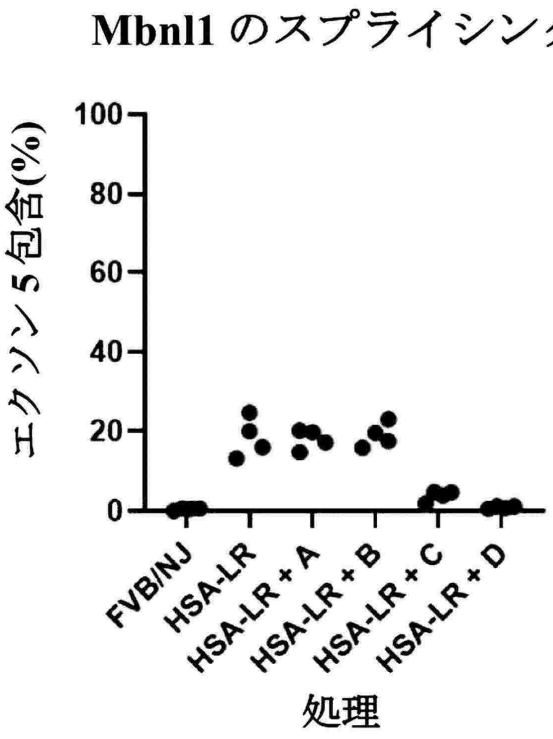


図８Ｄ

【図９Ａ】

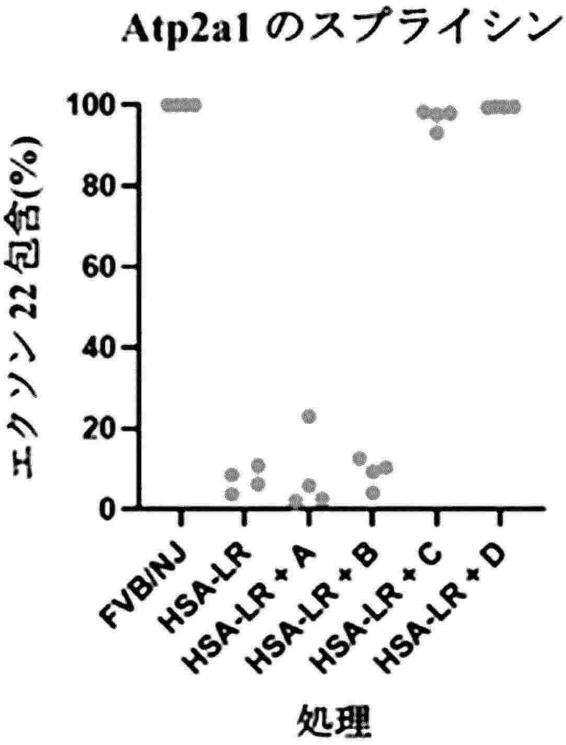


図９Ａ

【図９Ｂ】

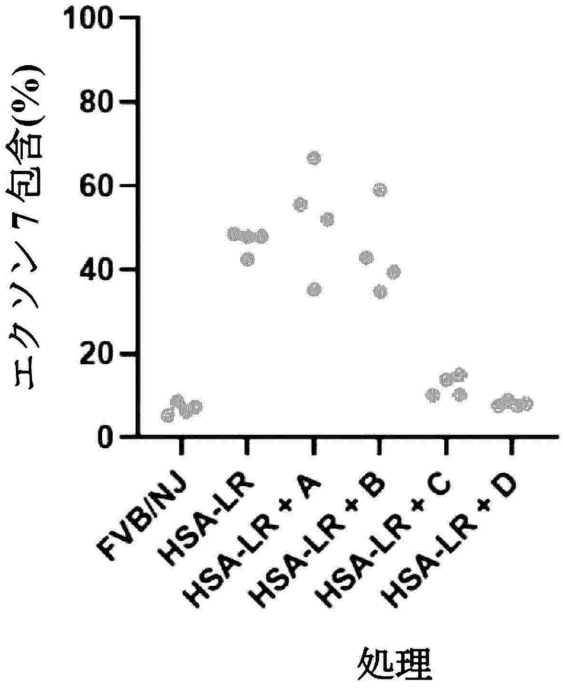


図９Ｂ

【図９Ｃ】

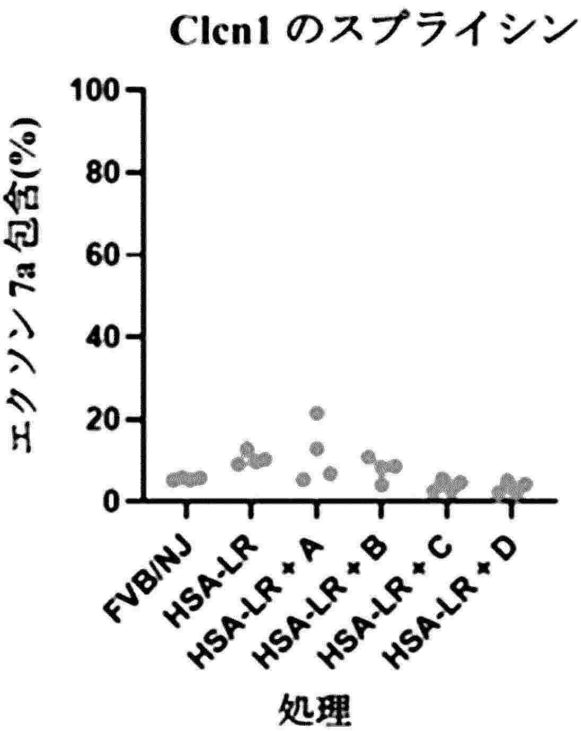


図９Ｃ

【図９Ｄ】

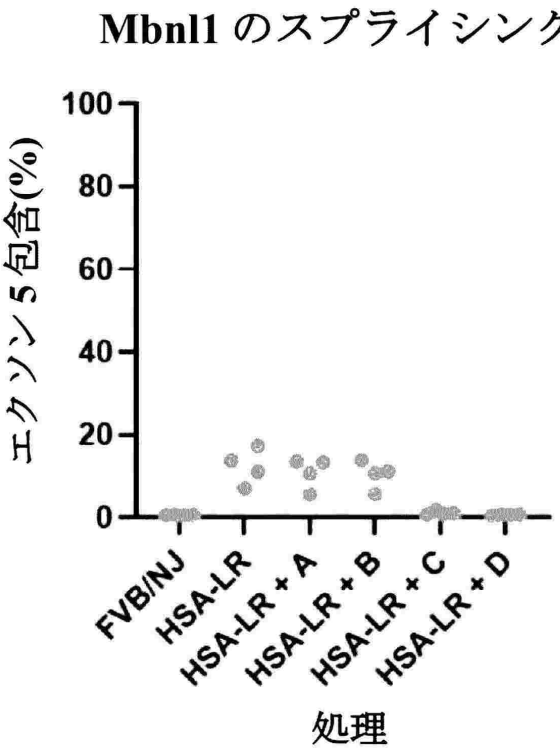


図９Ｄ

【図１０Ａ】

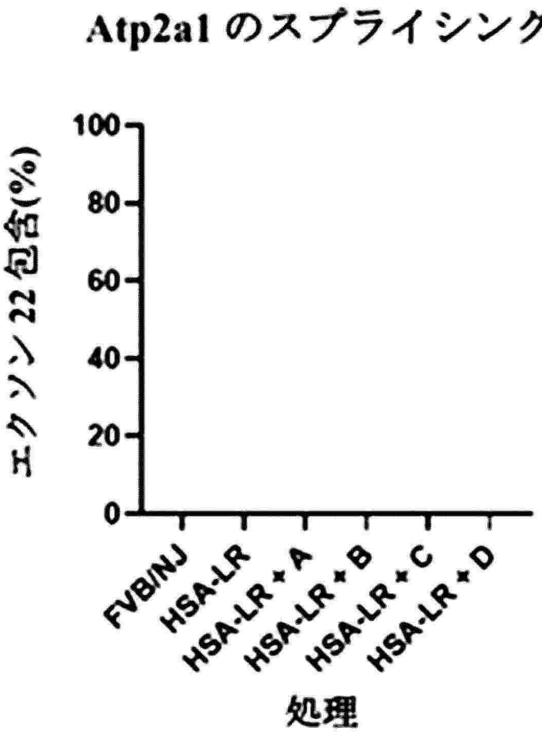


図１０Ａ

【図１０Ｂ】

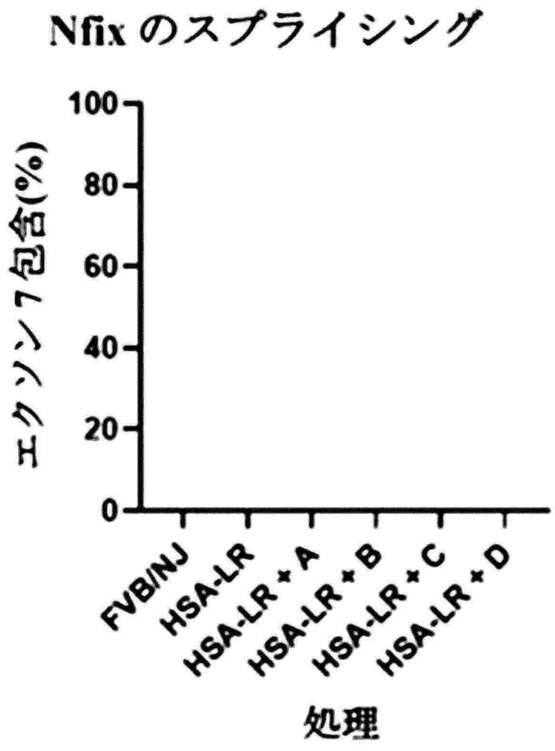


図１０Ｂ

【図１０Ｃ】

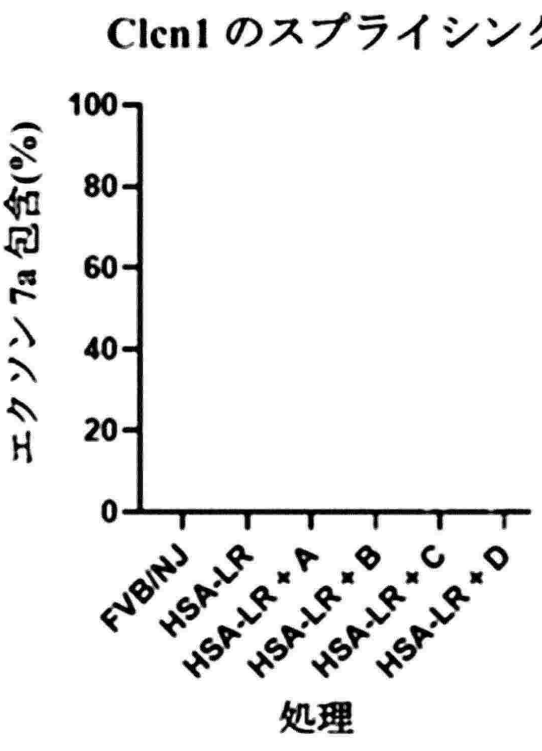


図１０Ｃ

【図１０Ｄ】

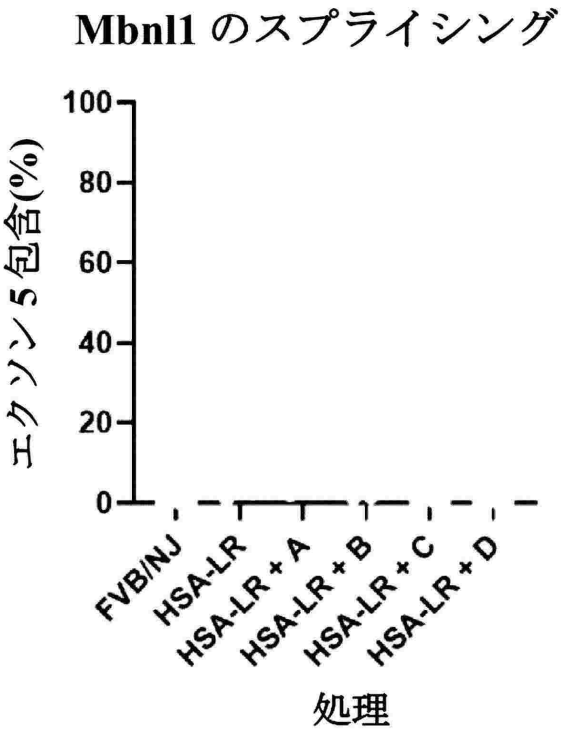


図１０Ｄ

【図１１Ａ】

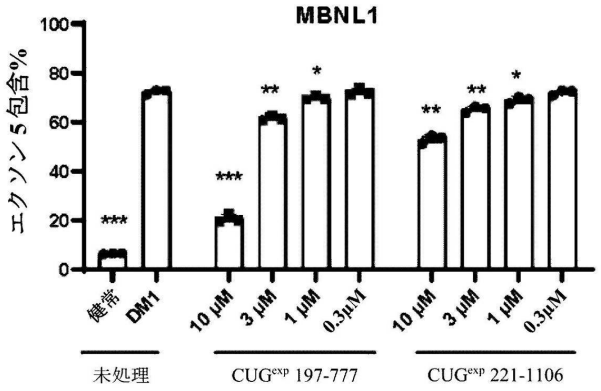


図１１Ａ

【図１１Ｂ】

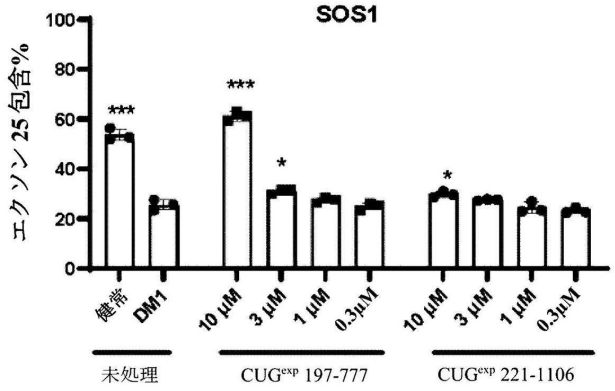


図１１Ｂ

【図１１Ｃ】

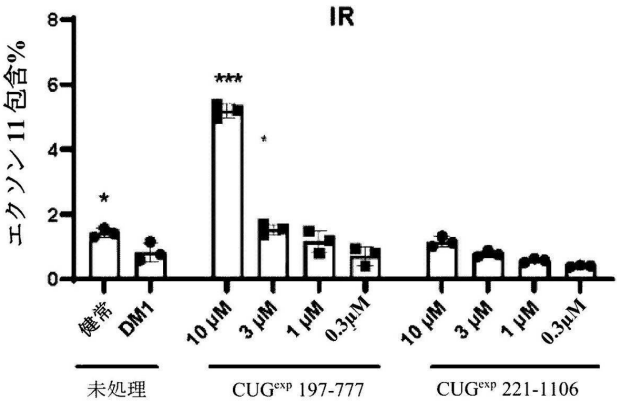


図１１Ｃ

【図１１Ｄ】

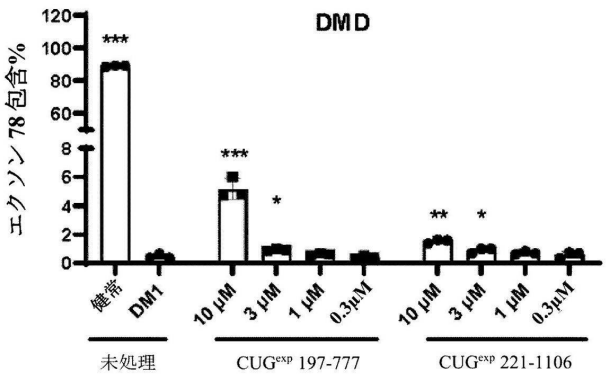


図１１Ｄ

【図１１Ｅ】

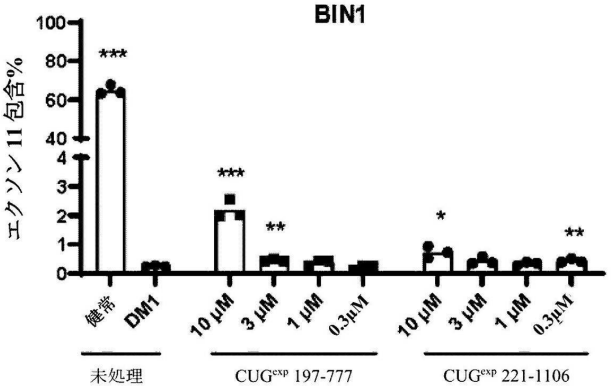


図１１Ｅ

【図１１Ｆ】

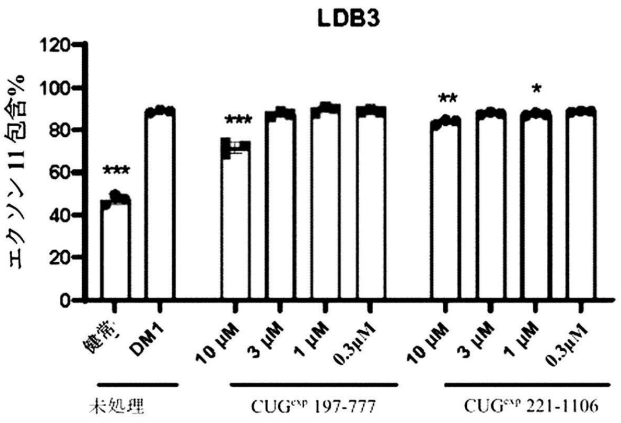


図１１Ｆ

【図１２Ａ】

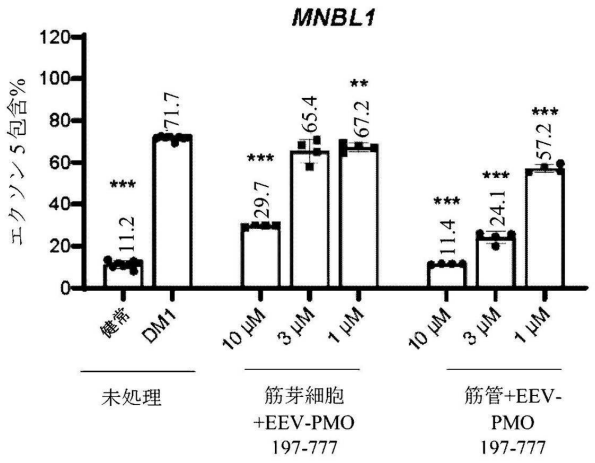


図１２Ａ

【図１２Ｂ】

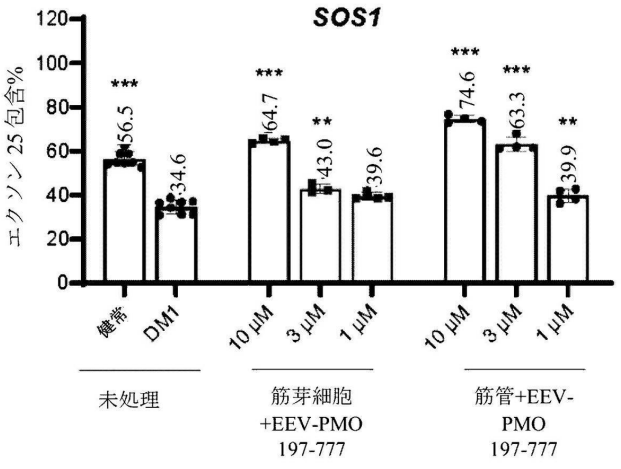


図１２Ｂ

【図１２Ｃ】

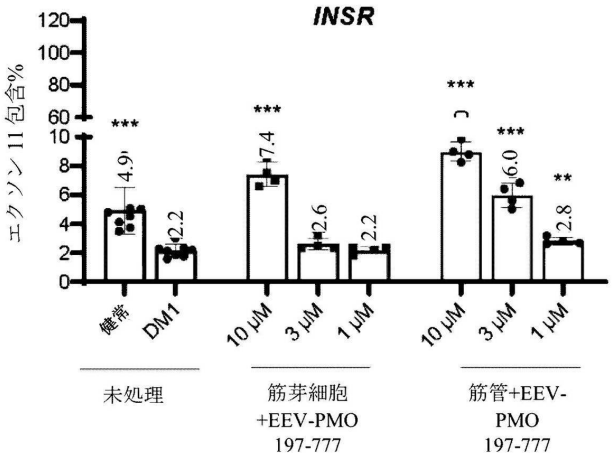


図１２Ｃ

【図１２Ｄ】

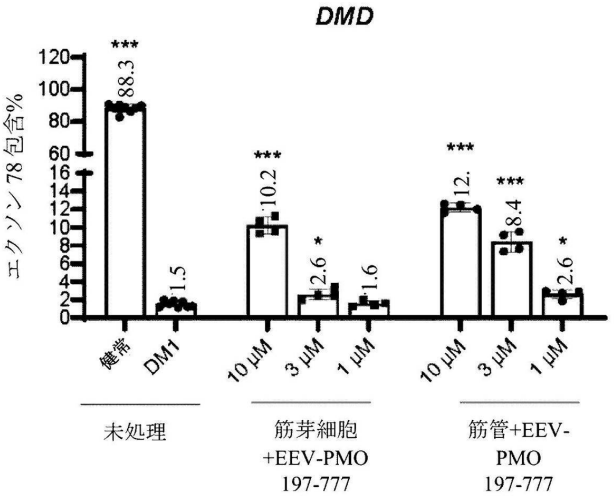


図１２Ｄ

【図１２Ｅ】

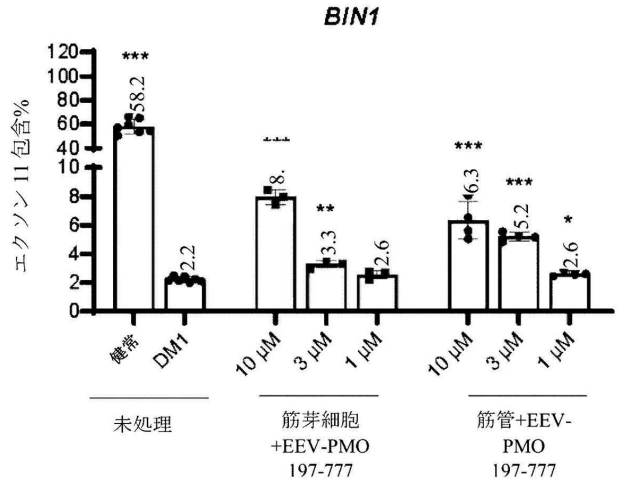


図１２Ｅ

【図１２Ｆ】

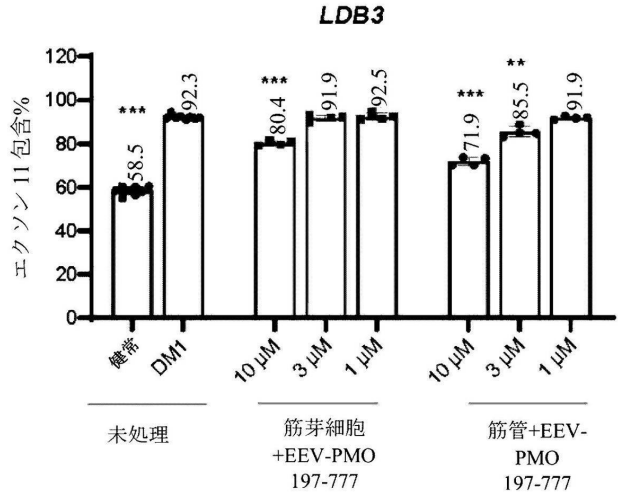


図１２Ｆ

【図１３Ａ】

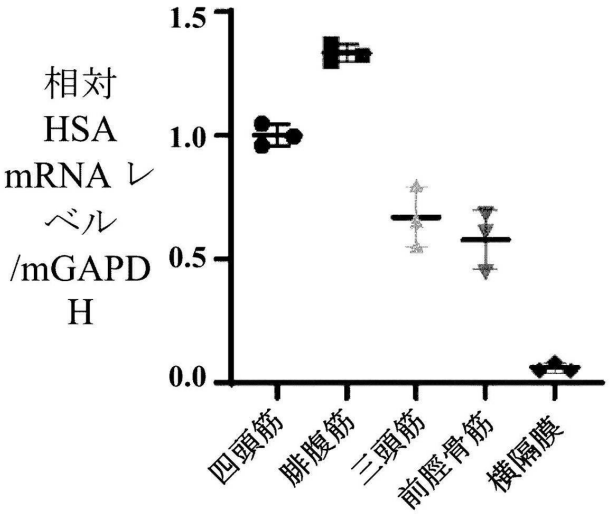


図１３Ａ

【図１３Ｂ】

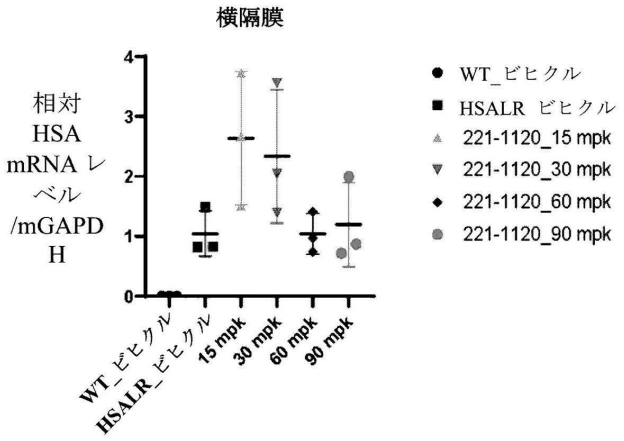


図１３Ｂ

【図１４Ａ】

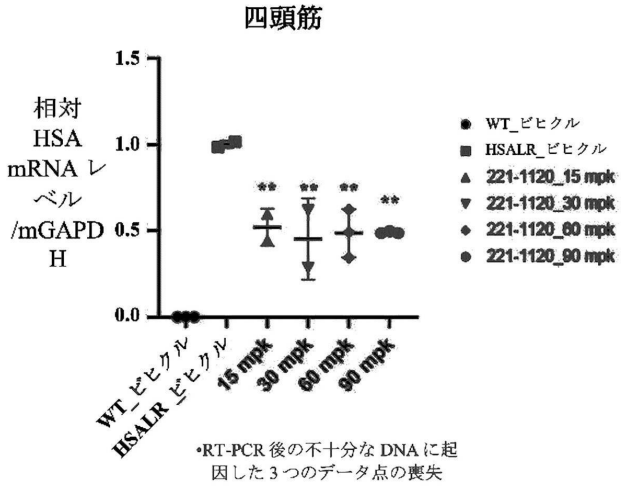


図１４Ａ

【図１４Ｂ】

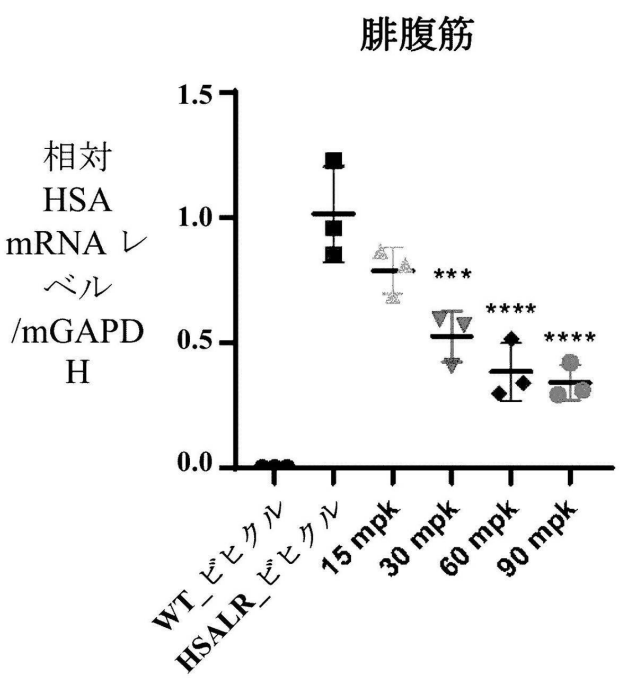


図１４Ｂ

【図１４Ｃ】

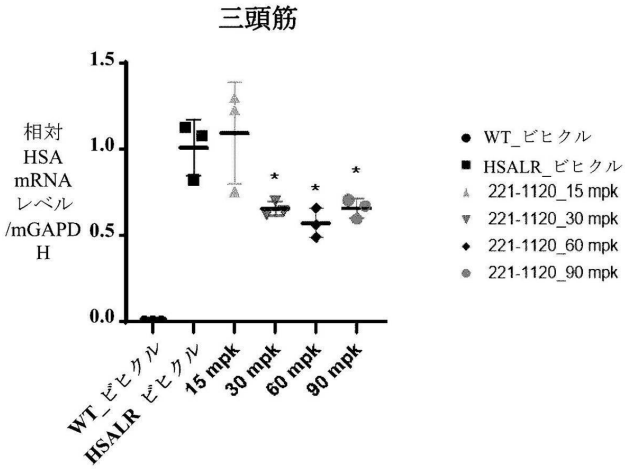


図１４Ｃ

【図１４Ｄ】

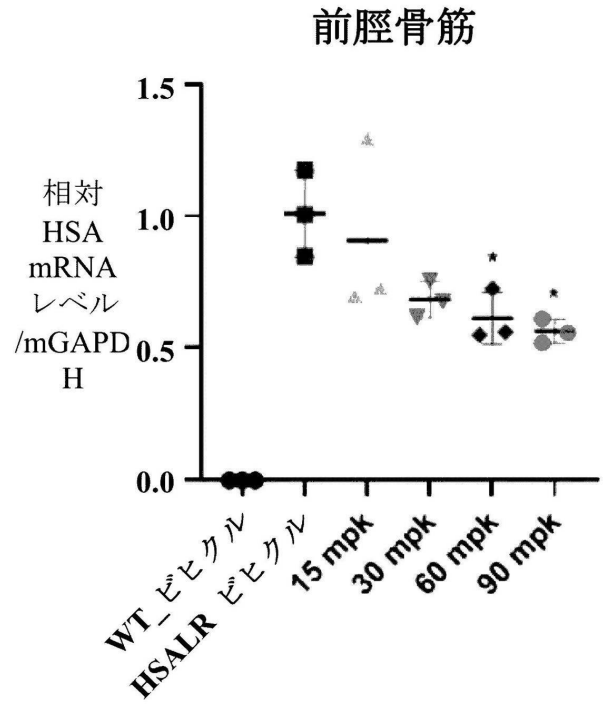


図１４Ｄ

【図１５Ａ】

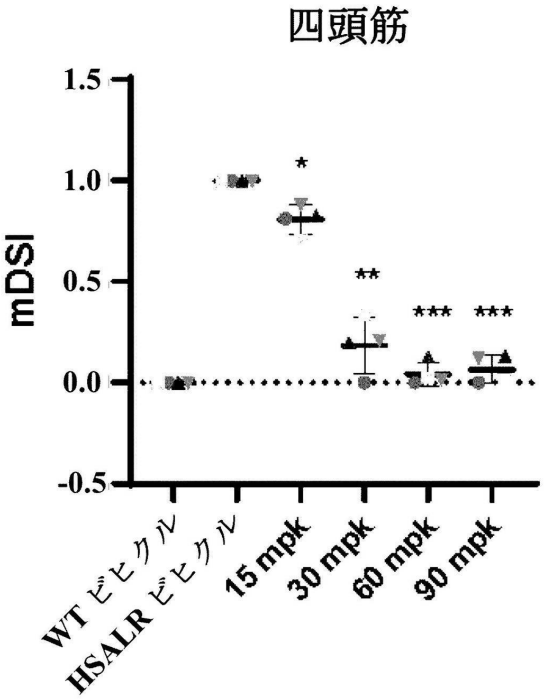


図１５Ａ

【図１５Ｂ】

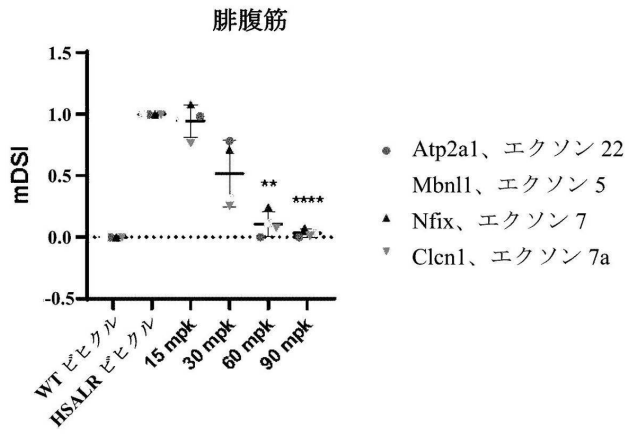


図１５Ｂ

【図１５Ｃ】

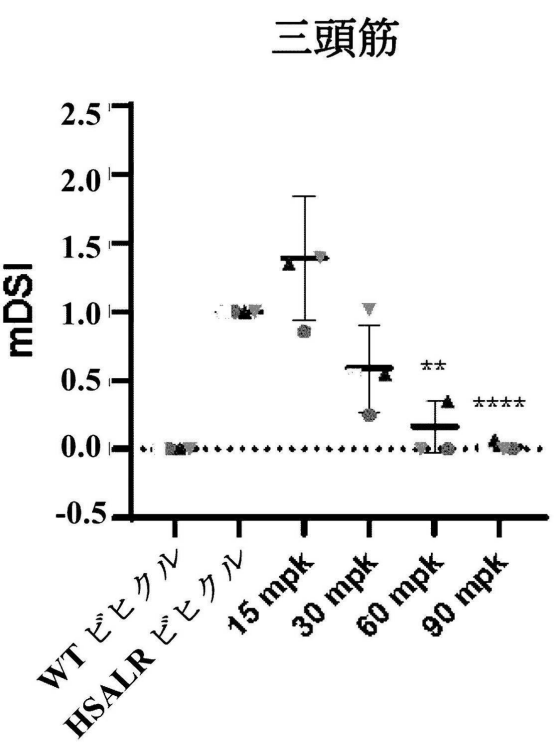


図１５Ｃ

【図１５Ｄ】

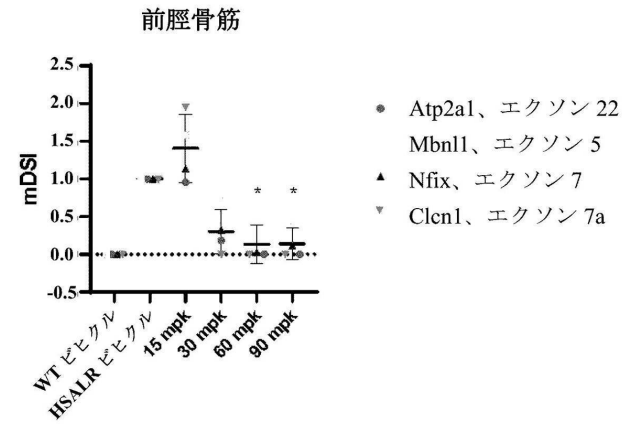


図１５Ｄ

【図１６Ａ】

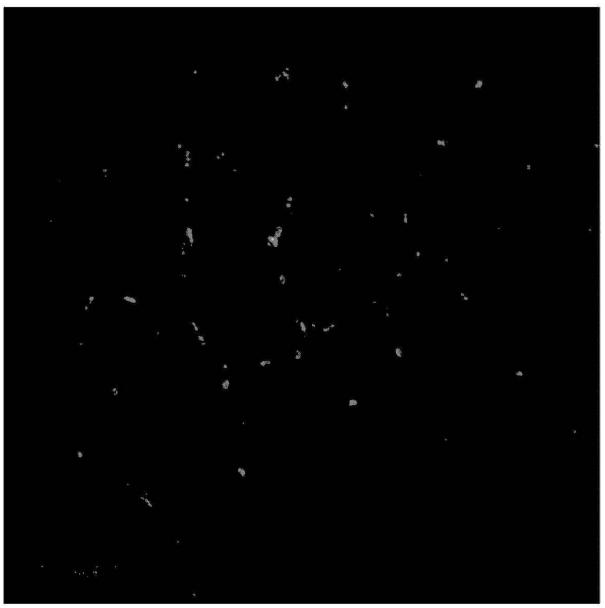


図１６Ａ

【図１６Ｂ】

図１６Ｂ

【図１６Ｃ】

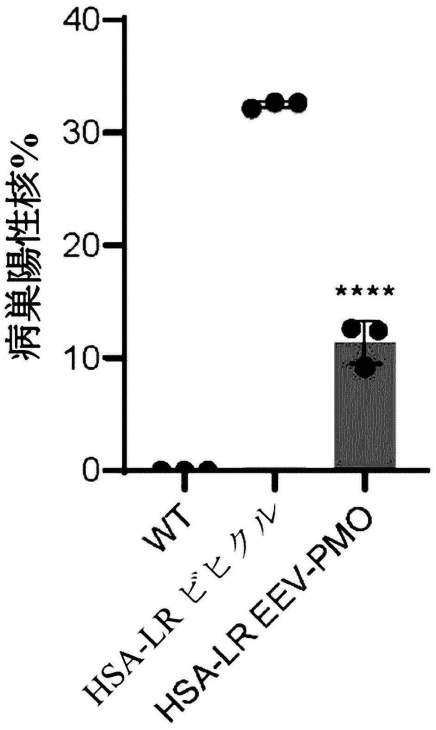


図１６Ｃ

【図１７Ａ】

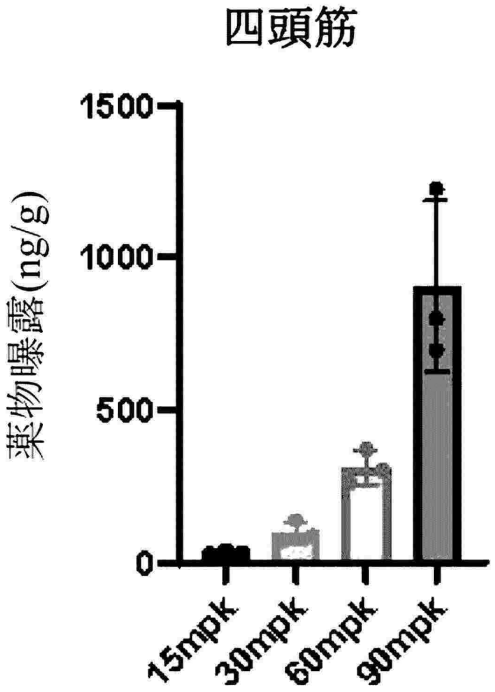


図１７Ａ

【図１７Ｂ】

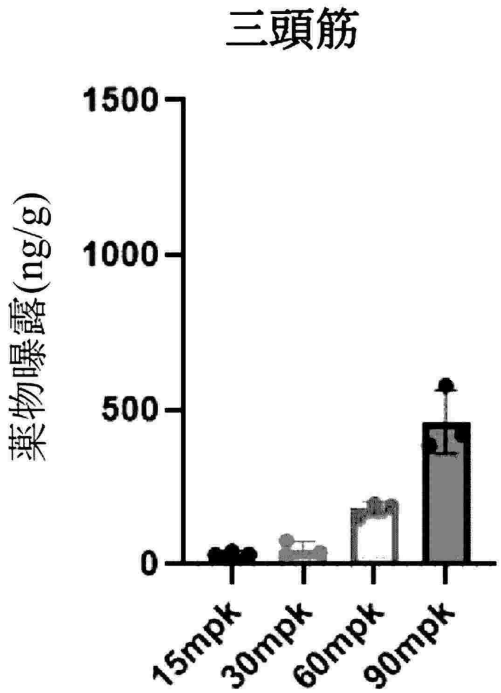


図１７Ｂ

【図１７Ｃ】

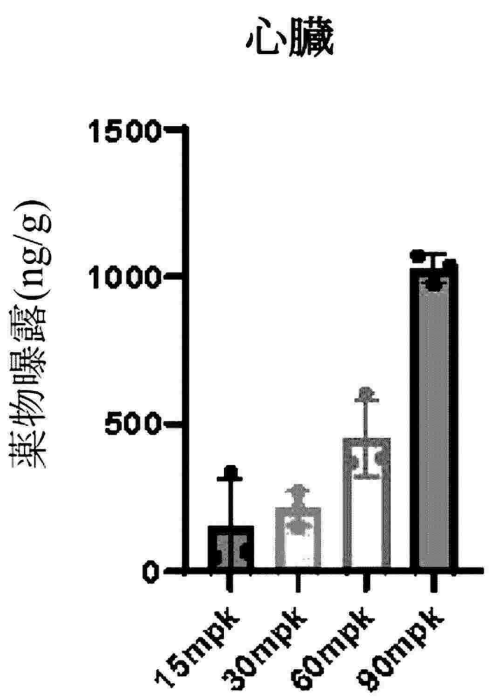


図１７Ｃ

【図１７Ｅ】

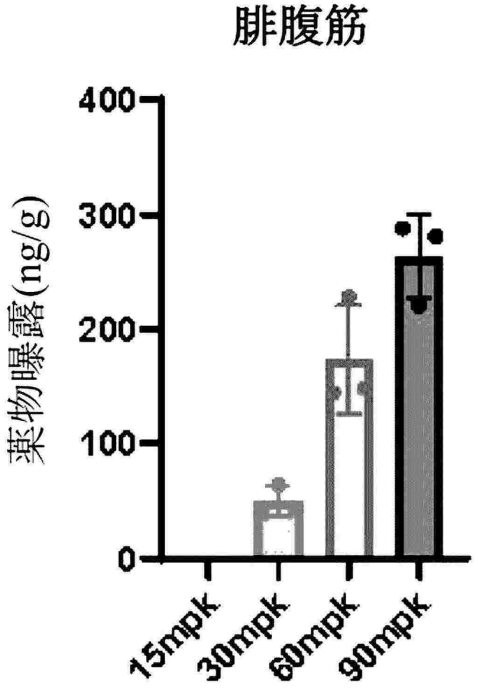


図１７Ｅ

【図１７Ｆ】

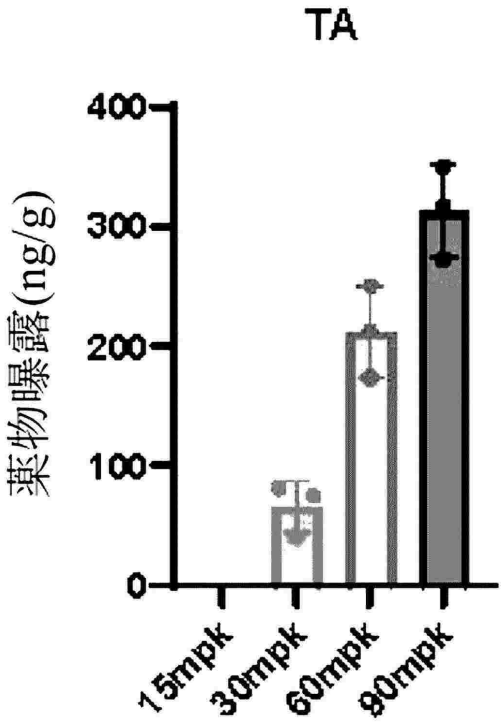


図１７Ｆ

【図１７Ｇ】

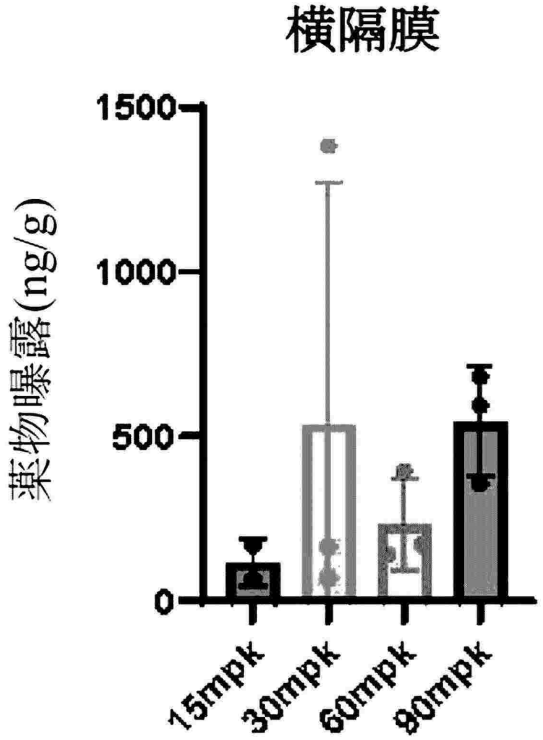


図１７Ｇ

【図１７Ｈ】

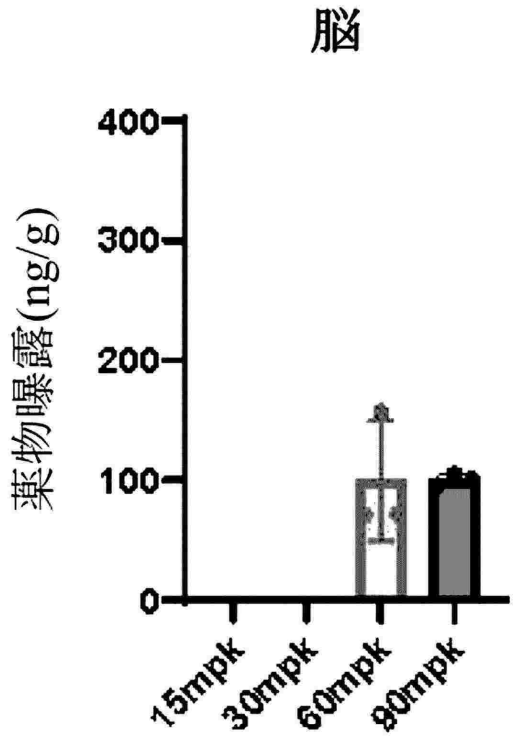


図１７Ｈ

【図１７Ｉ】

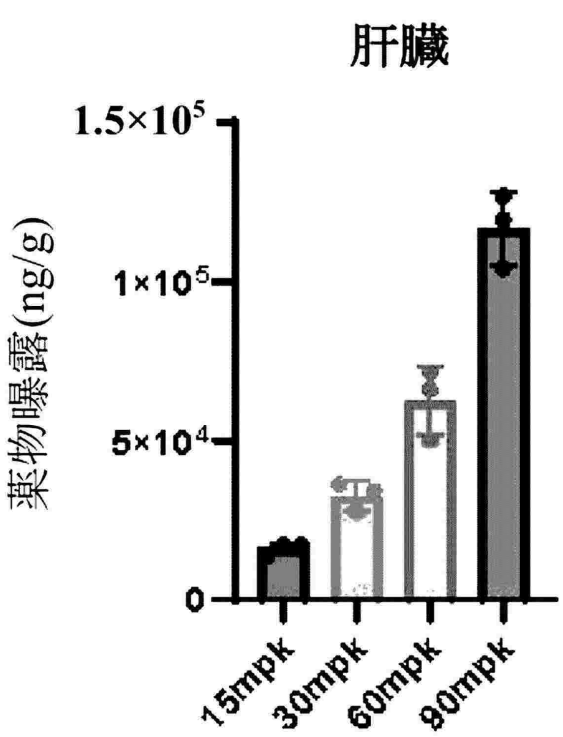


図１７Ｉ

【図１７Ｊ】

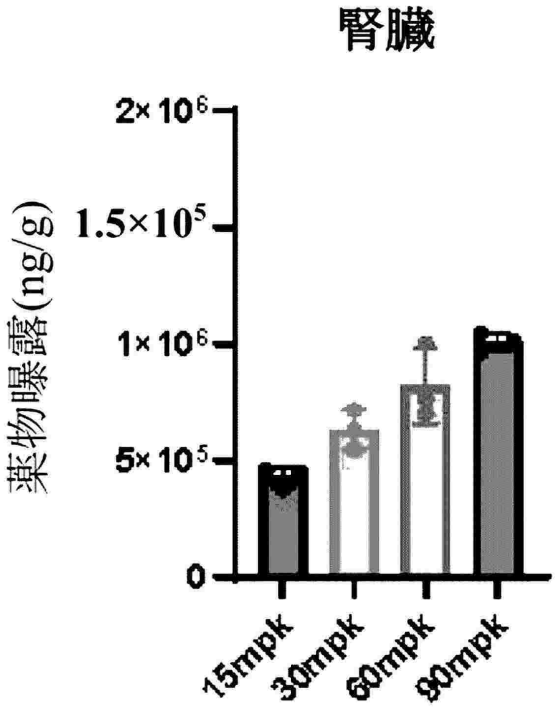


図１７Ｊ

【図１７Ｋ】

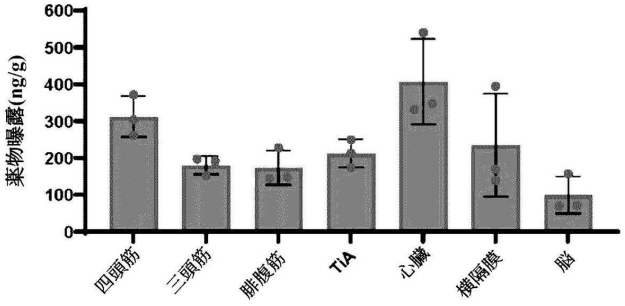


図１７Ｋ

【図１８Ａ】

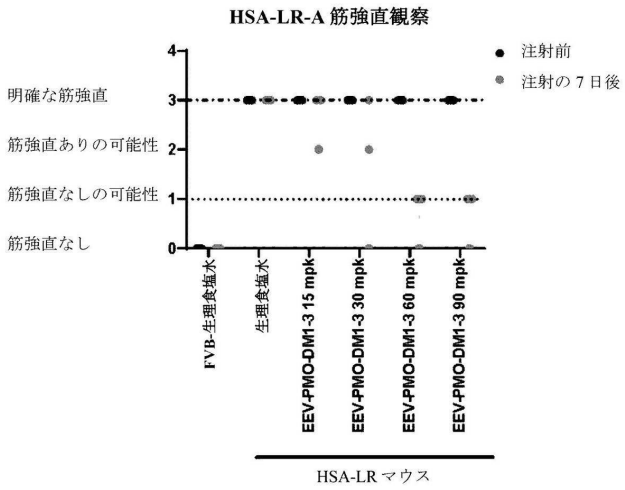


図１８Ａ

【図１９Ａ】

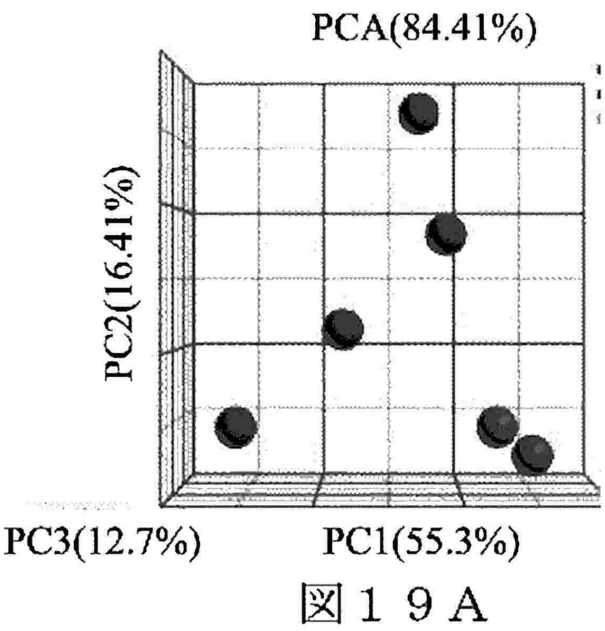


図１９Ａ

【図１９Ｂ】

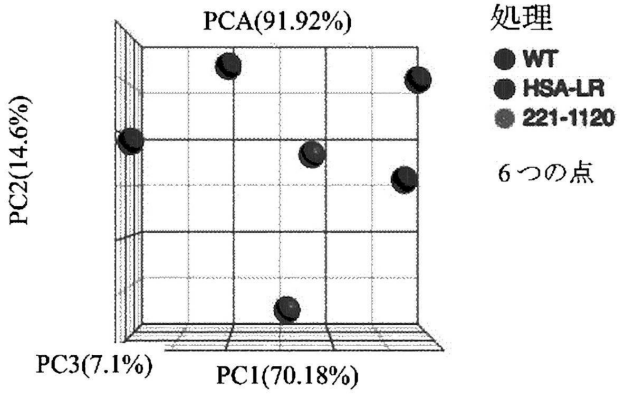


図１９Ｂ

【図１９Ｃ】

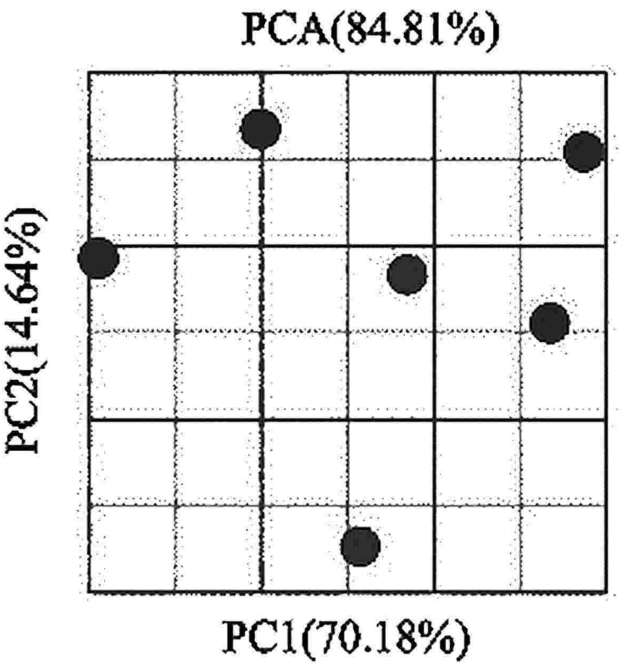


図１９Ｃ

【図１９Ｄ】

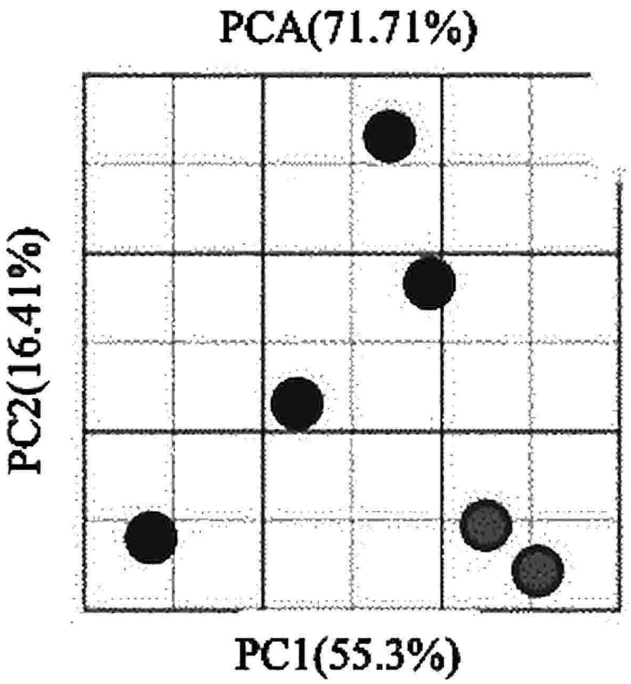


図１９Ｄ

【図２０Ａ】

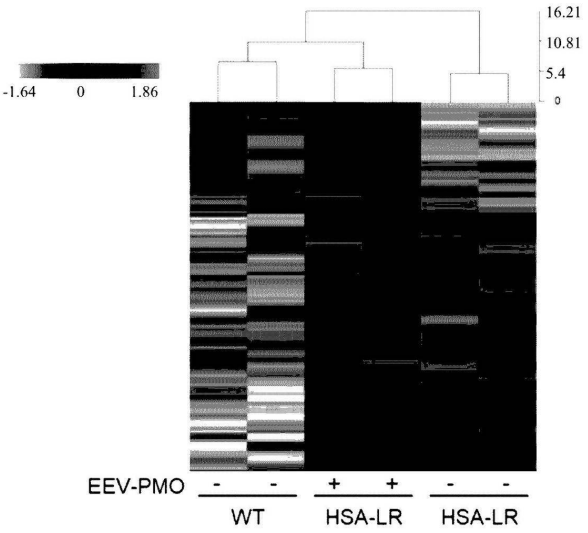


図２０Ａ

【図２０Ｂ】

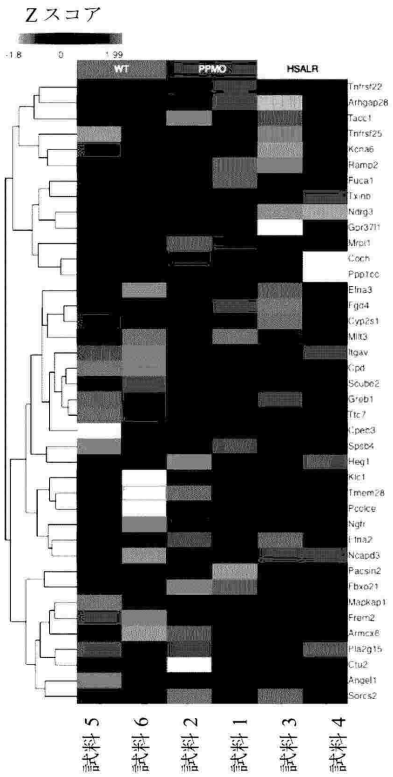


図２０Ｂ

【図２１】

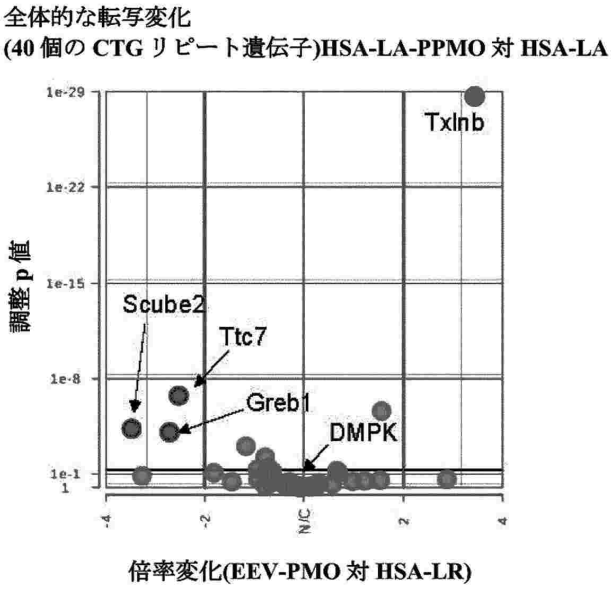


図２１

【図２２】

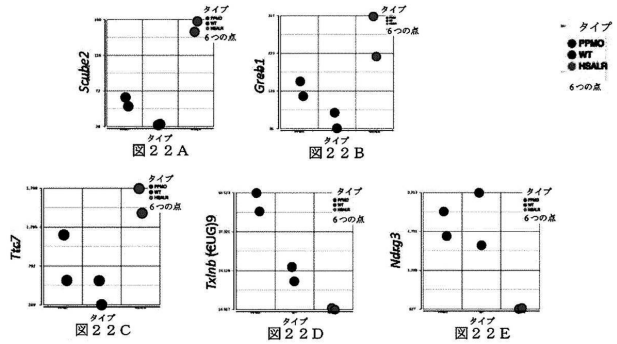


図２２Ａ　図２２Ｂ　図２２Ｃ　図２２Ｄ　図２２Ｅ

【図２３Ａ】

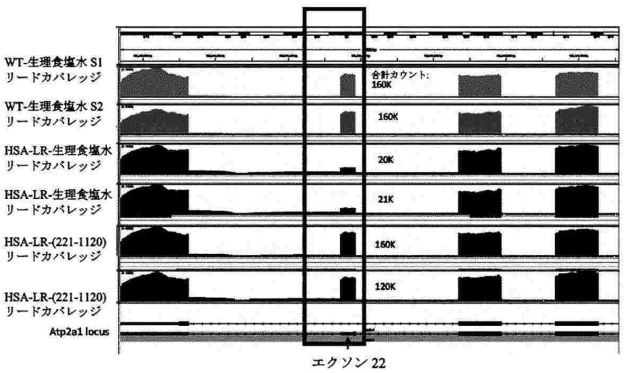


図２３Ａ

【図２３Ｂ】

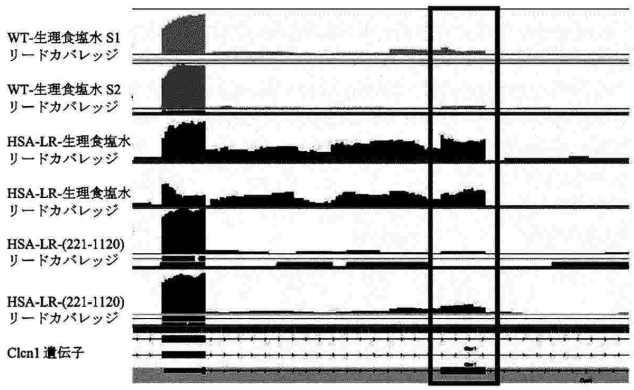


図２３Ｂ

【図２３Ｃ】

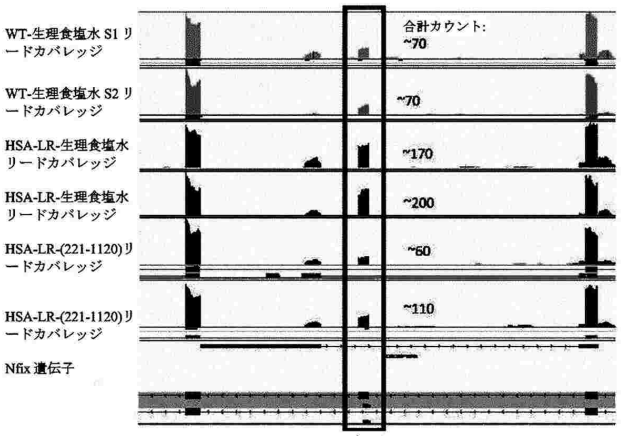


図２３Ｃ

【図２３Ｄ】

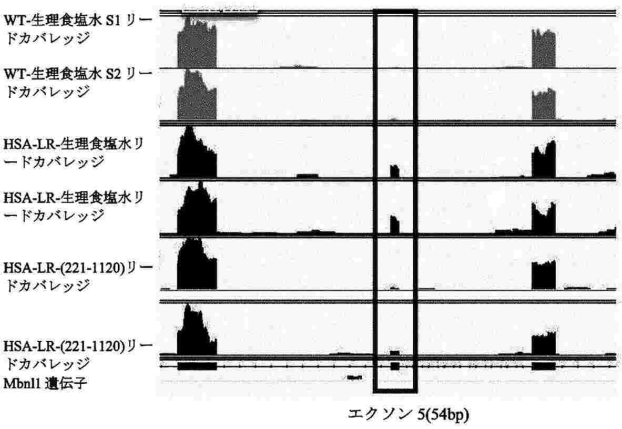


図２３Ｄ

【図２４】

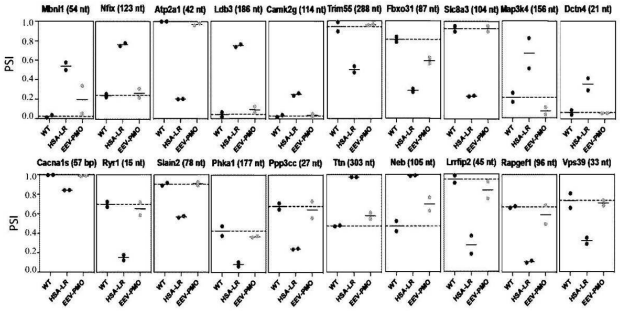


図２４

【図２５Ａ】

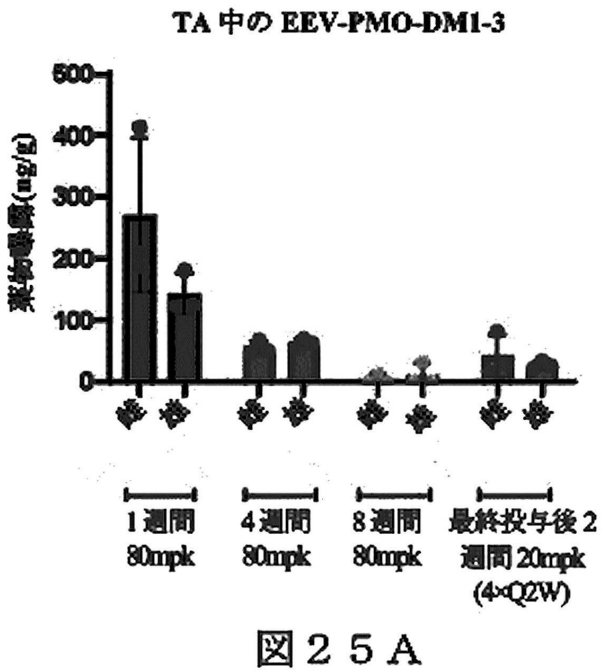


図２５Ａ

【図２５Ｂ】

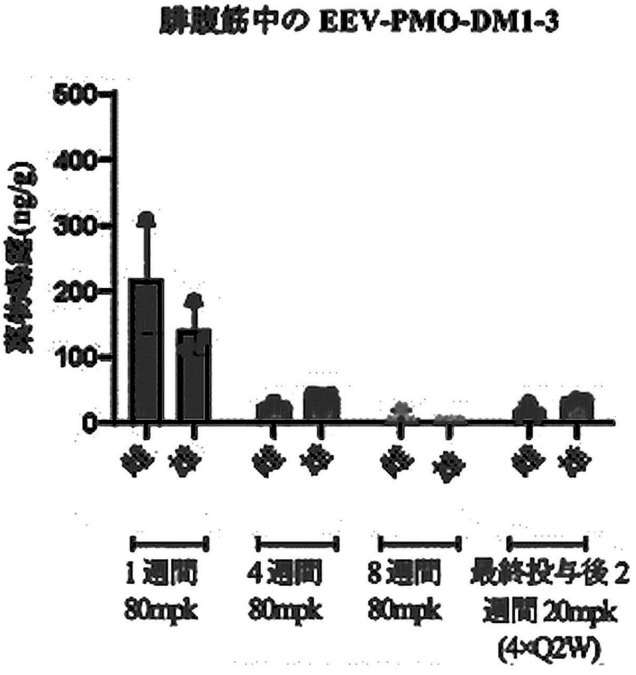


図２５Ｂ

【図２５Ｃ】

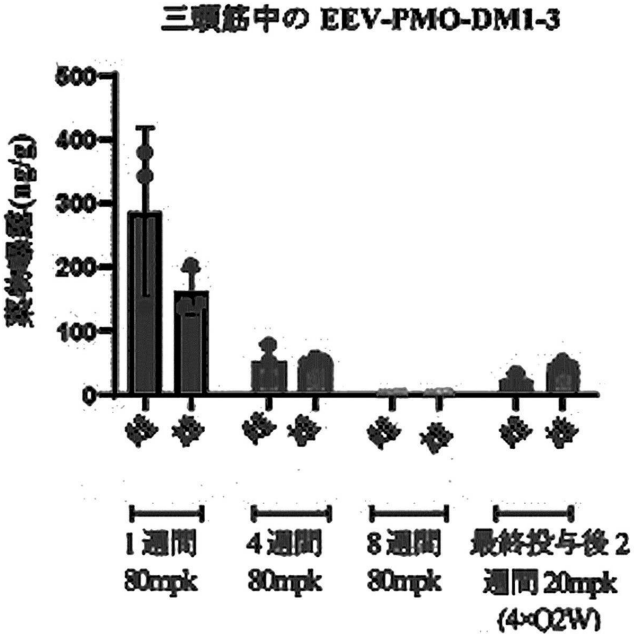


図２５Ｃ

【図２５Ｄ】

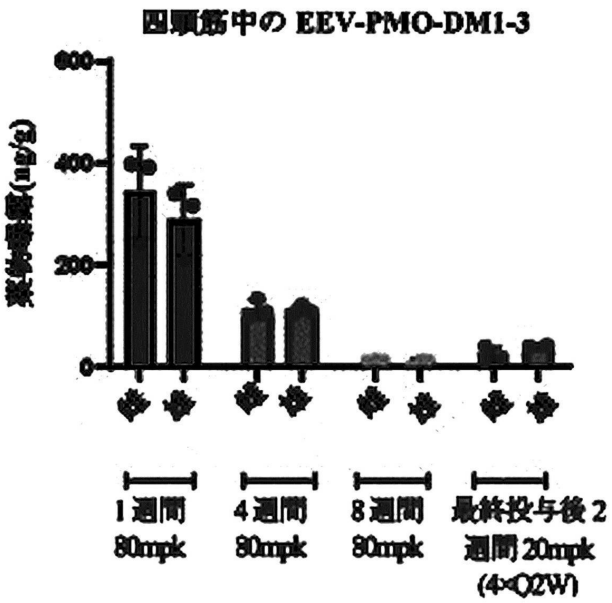


図２５Ｄ

【図２６Ａ】

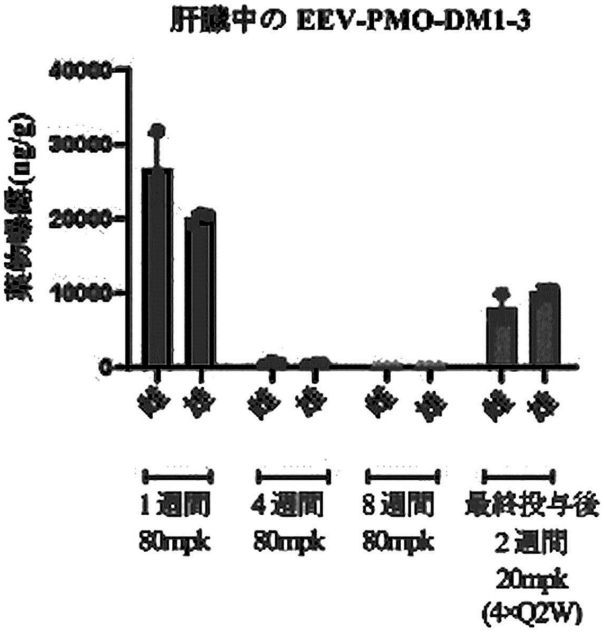


図２６Ａ

【図２６Ｂ】

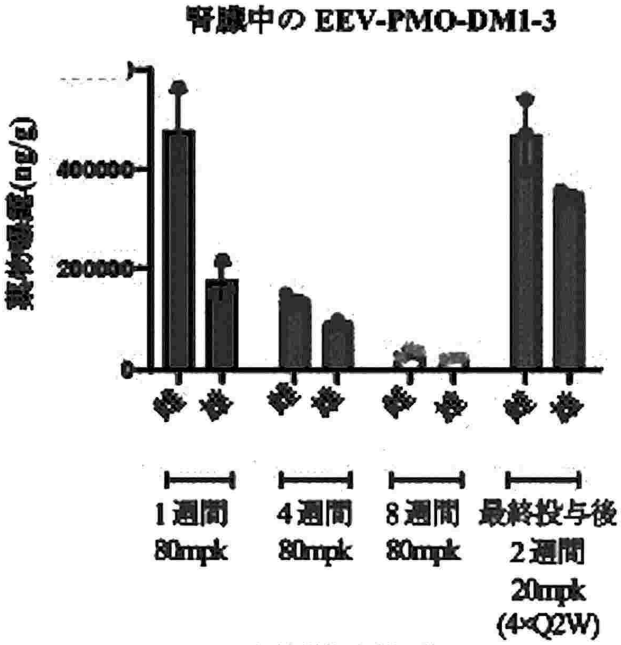


図２６Ｂ

【図２６Ｃ】

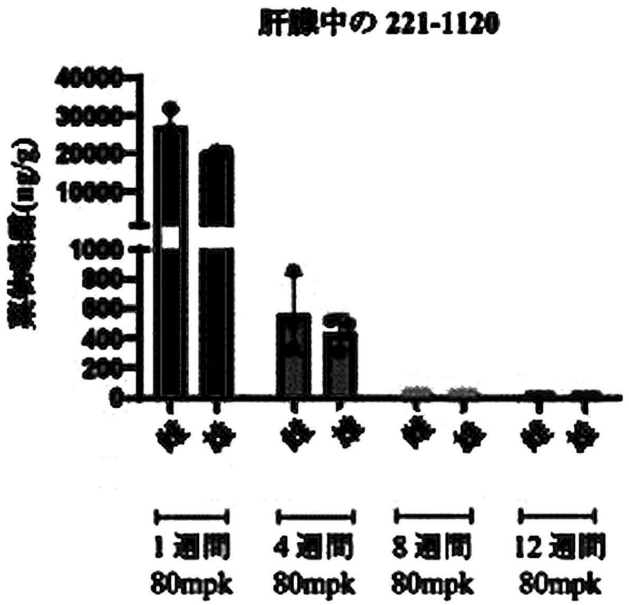


図２６Ｃ

【図２６Ｄ】

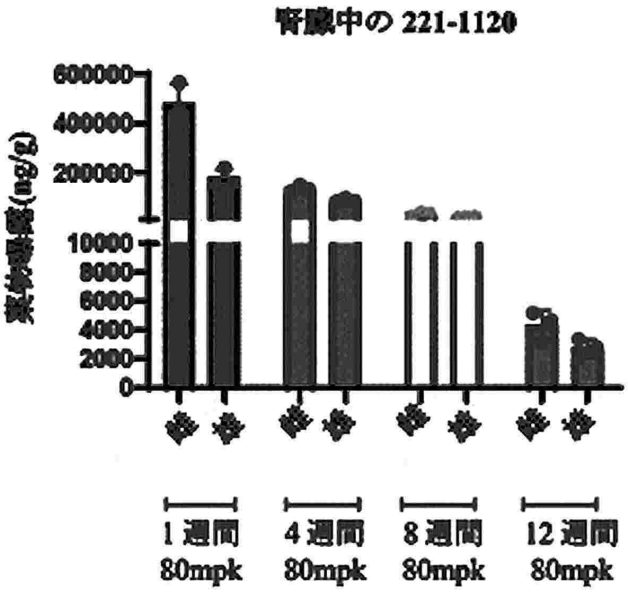


図２６Ｄ

【図２７Ａ】

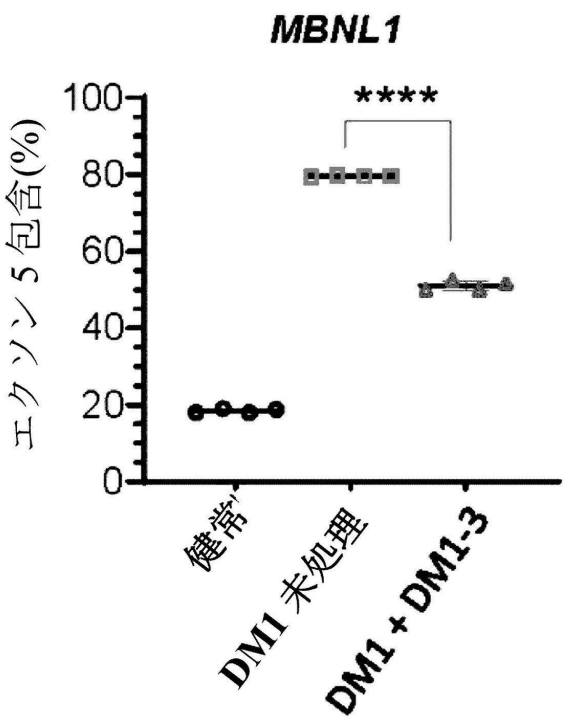


図２７Ａ

【図２７Ｂ】

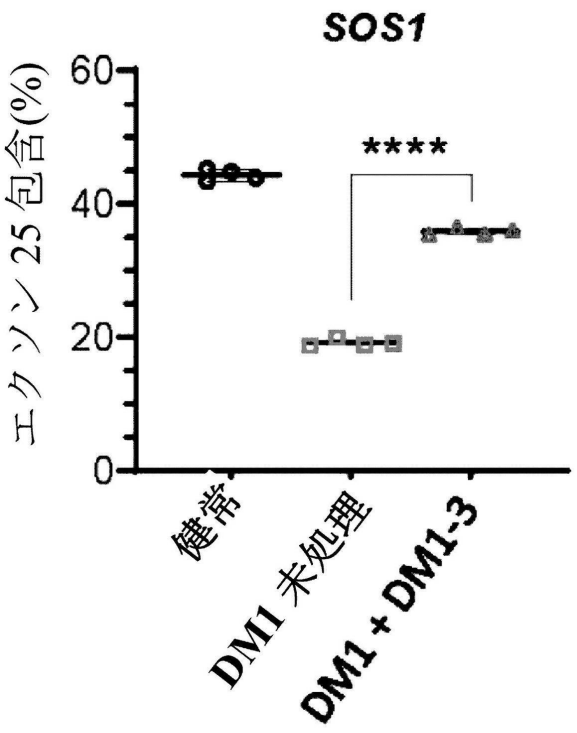


図２７Ｂ

【図２７Ｃ】

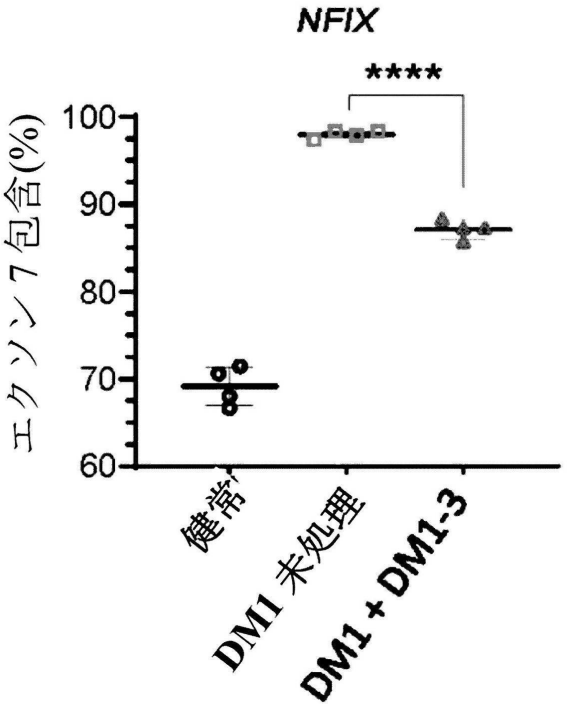


図２７Ｃ

【図２８Ａ】

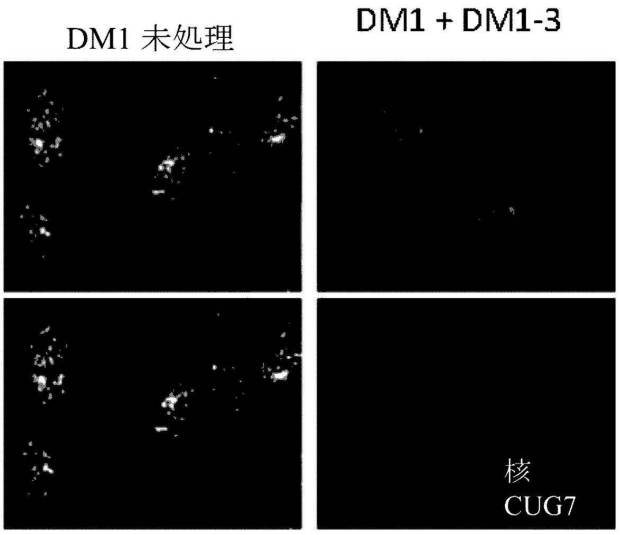


図２８Ａ

【図２８Ｂ】

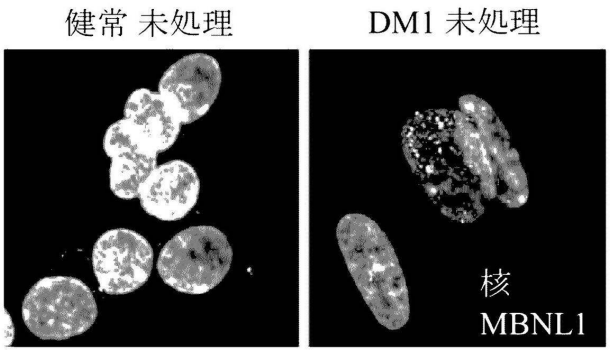


図２８Ｂ

【図２８Ｃ】

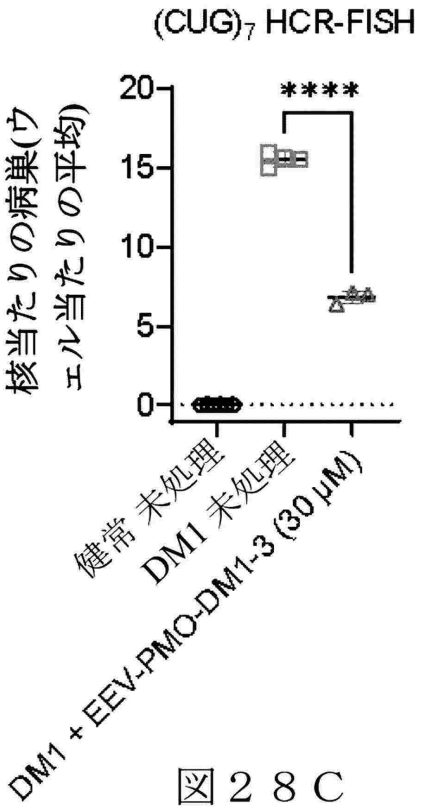


図２８Ｃ

【図２９Ａ】

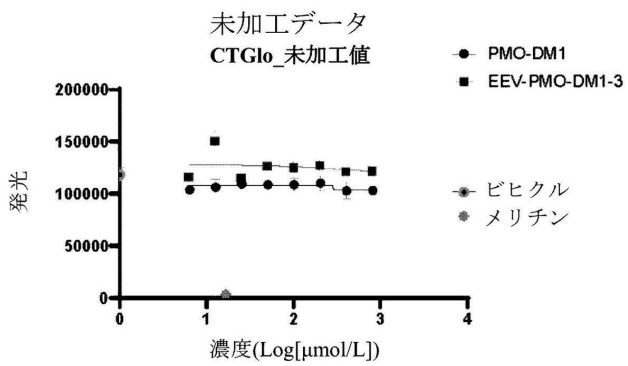


図２９Ａ

【図２９Ｂ】

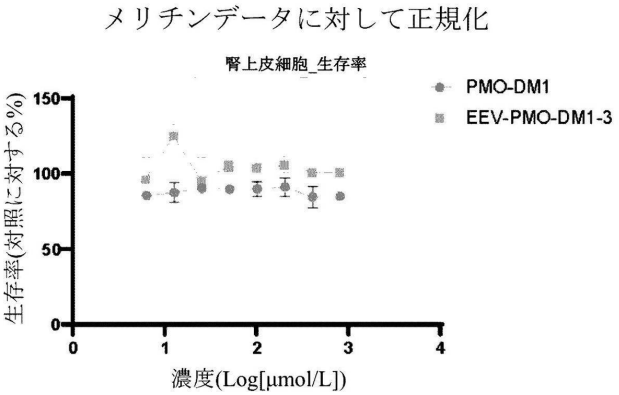


図２９Ｂ

【図３０Ａ】

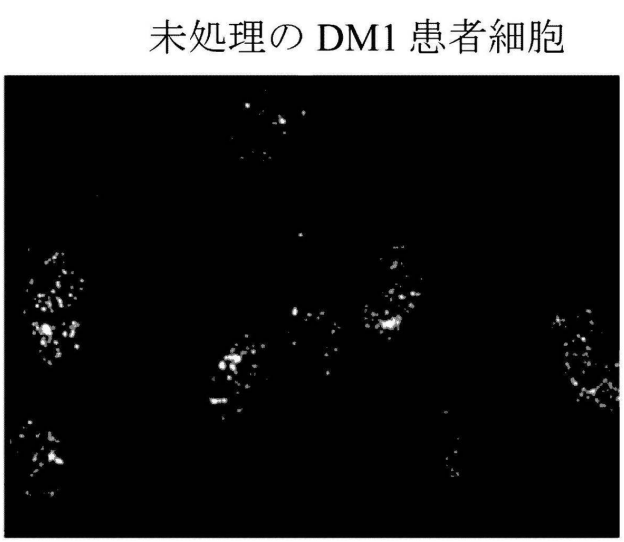


図３０Ａ

【図３０Ｂ】

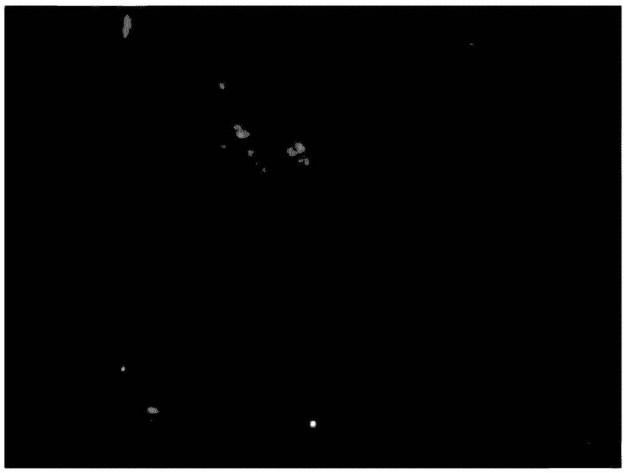


図３０Ｂ

【図３０Ｃ】

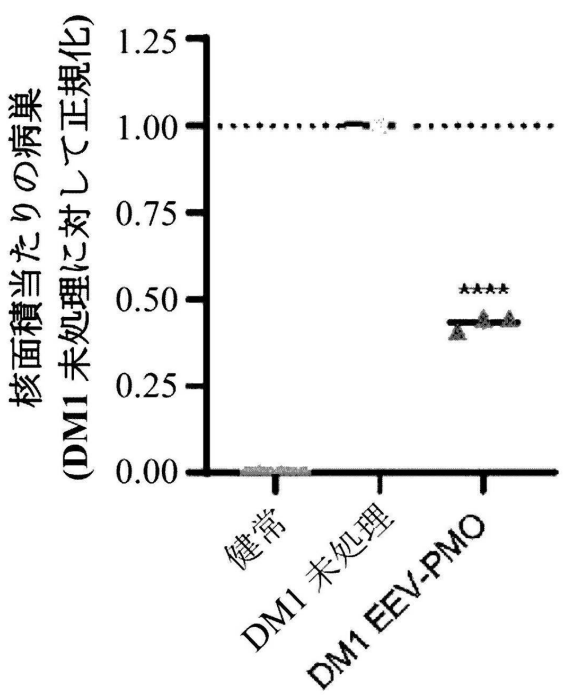


図３０Ｃ

【図３１Ａ】

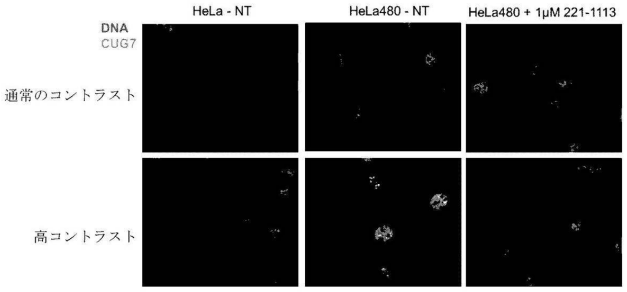


図３１Ａ

【図３１Ｂ】

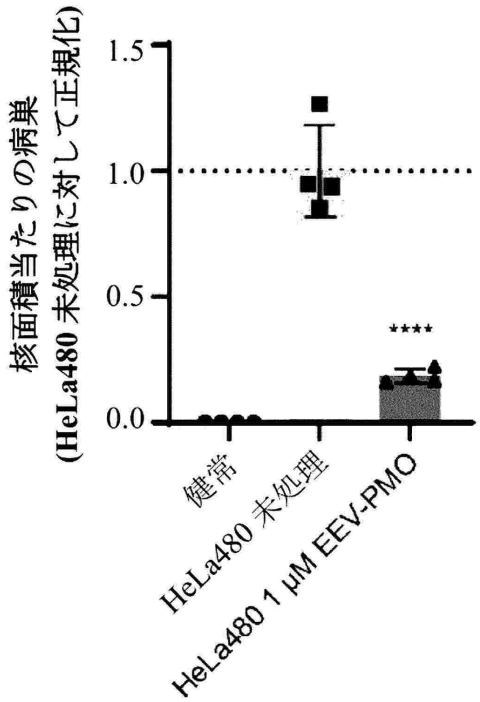


図３１Ｂ

【図３２Ａ】

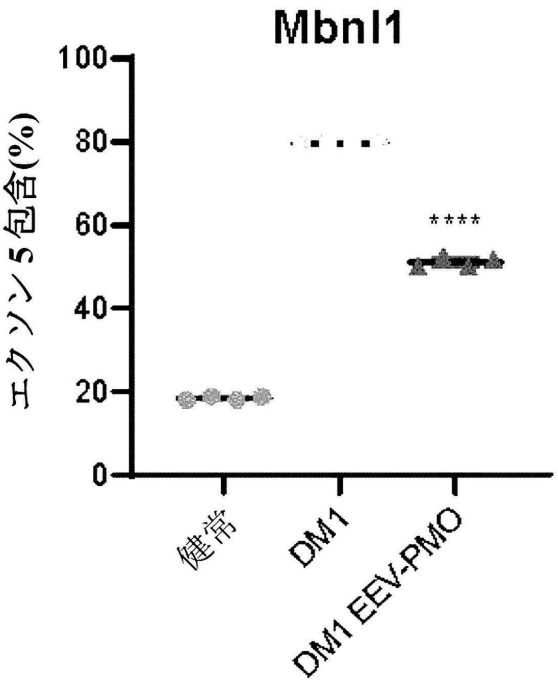


図３２Ａ

【図３２Ｂ】

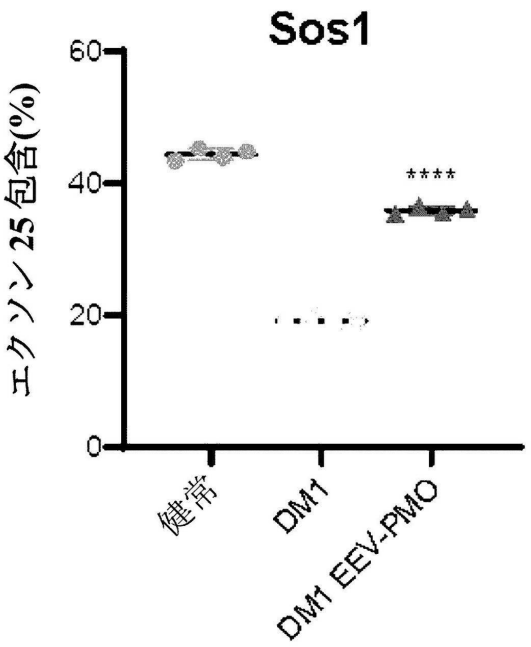


図３２Ｂ

【図３２Ｃ】

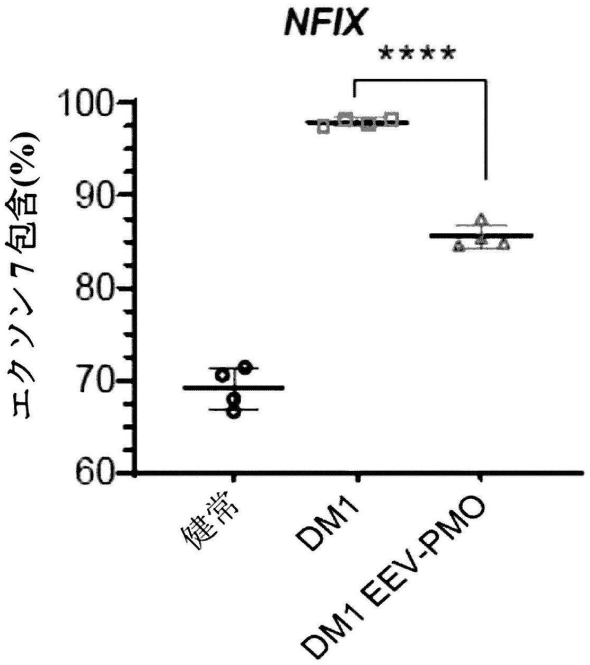


図３２Ｃ

【図３３Ａ】

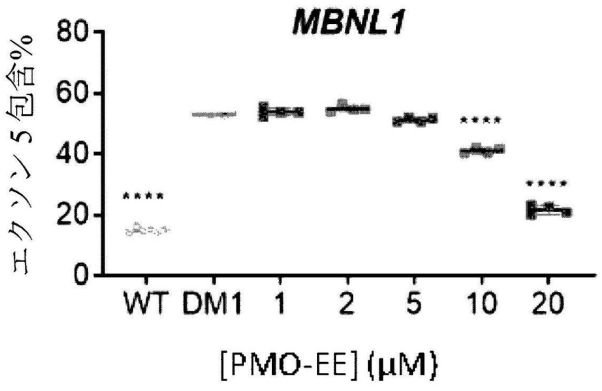


図３３Ａ

【図３３Ｂ】

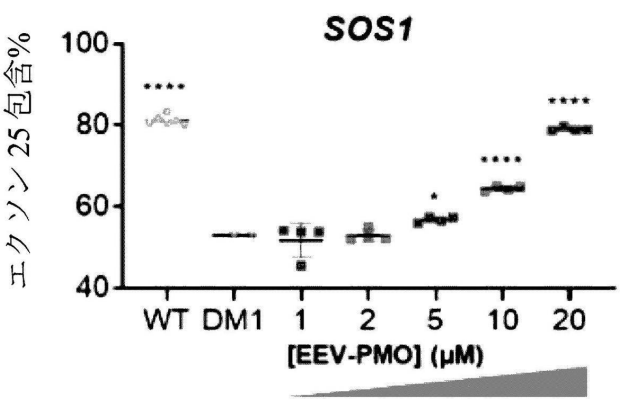


図３３Ｂ

【図３３Ｃ】

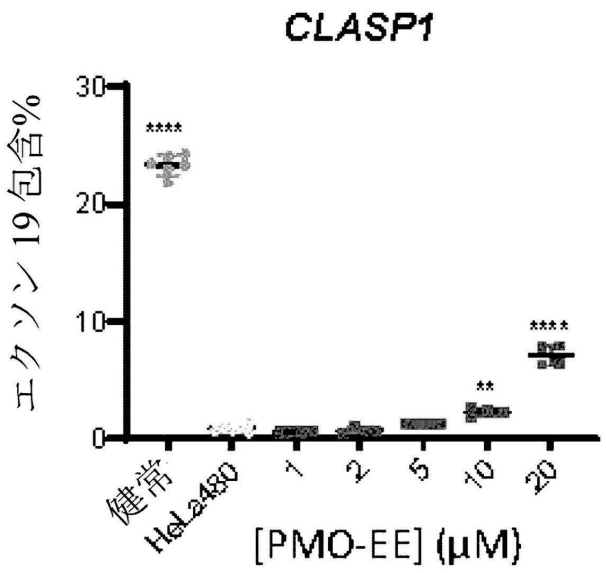


図３３Ｃ

【図３３Ｄ】

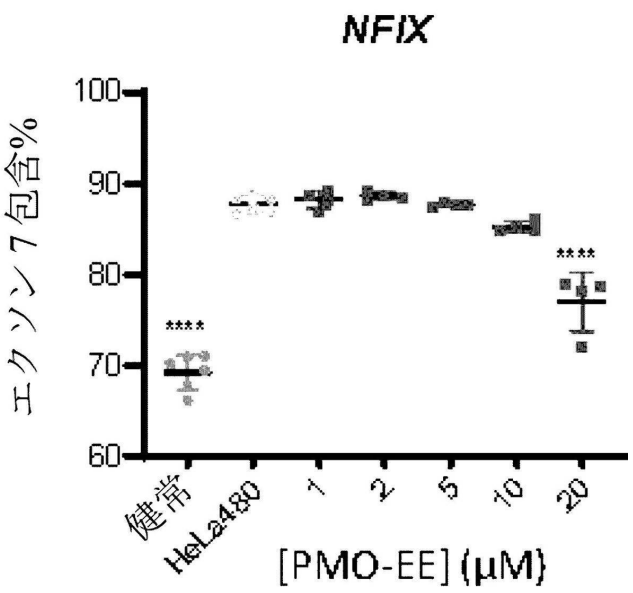


図３３Ｄ

【図３３Ｅ】

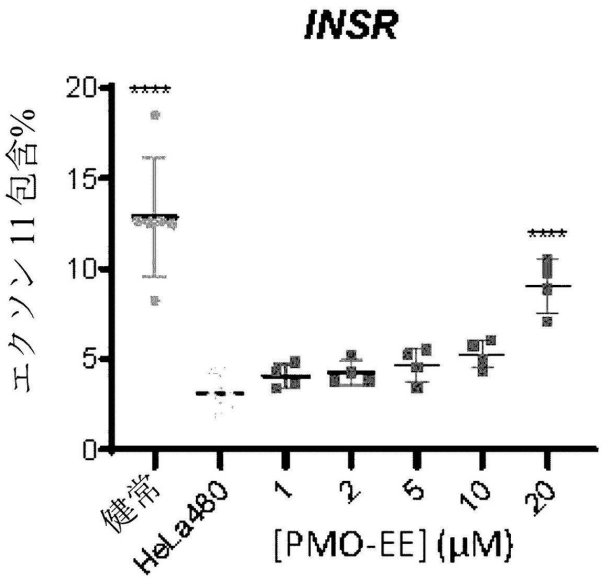


図３３Ｅ

【図３４Ａ】

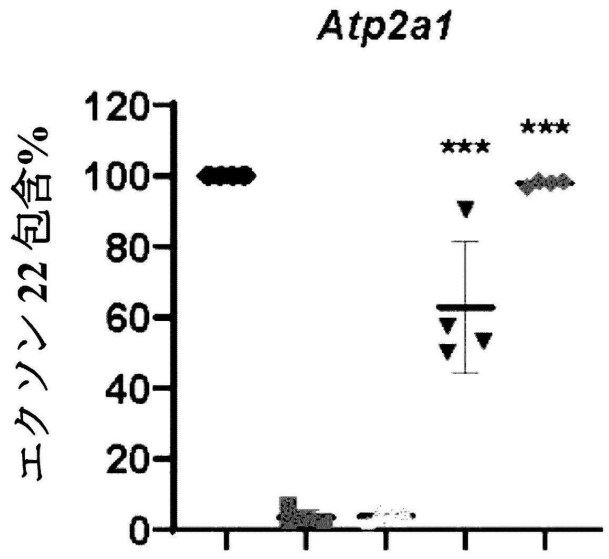


図３４Ａ

【図３４Ｂ】

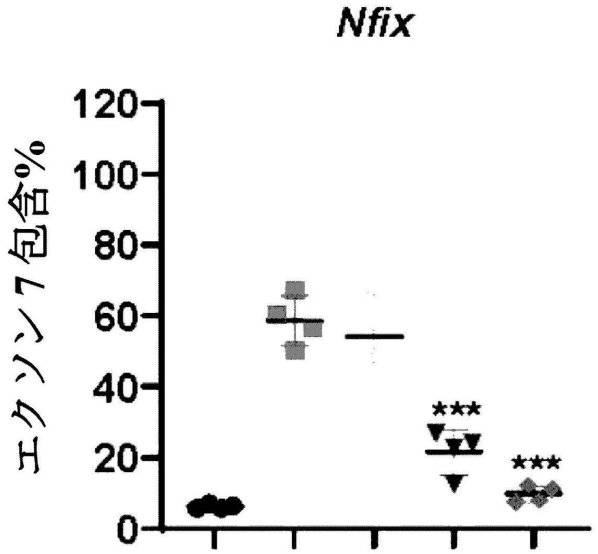


図３４Ｂ

【図３４Ｃ】

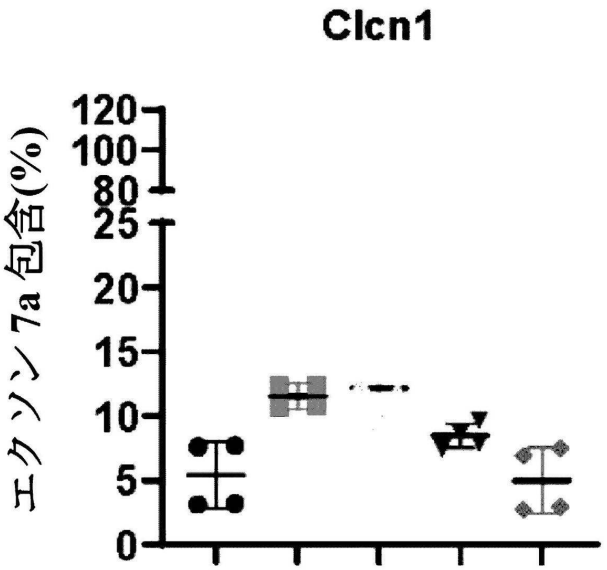


図３４Ｃ

【図３４Ｄ】

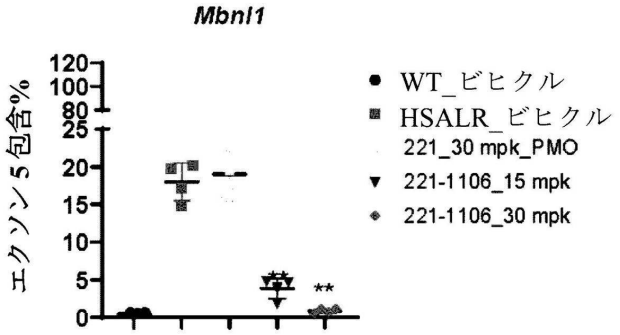


図３４Ｄ

【図３５Ａ】

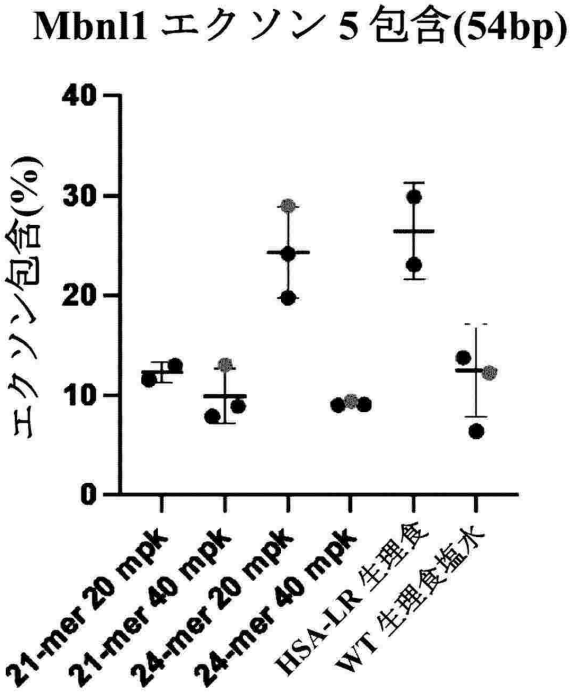


図３５Ａ

【図３５Ｂ】

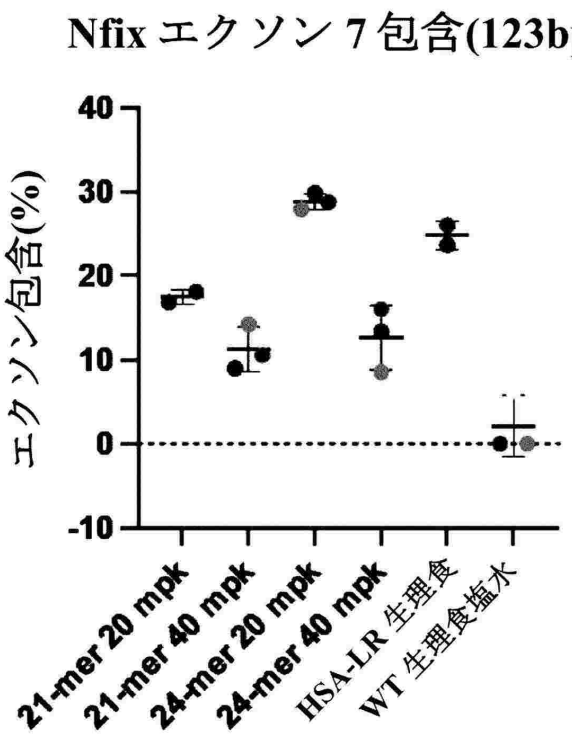


図３５Ｂ

【図３５Ｃ】

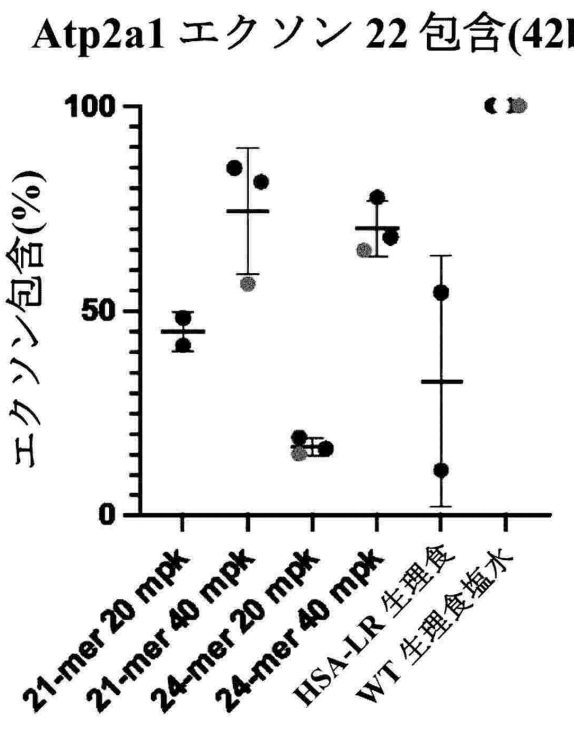


図３５Ｃ

【図３６Ａ】

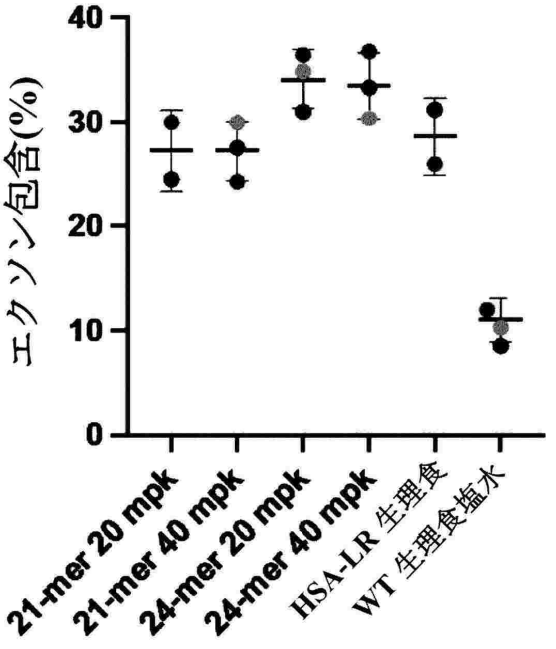


図３６Ａ

【図３６Ｂ】

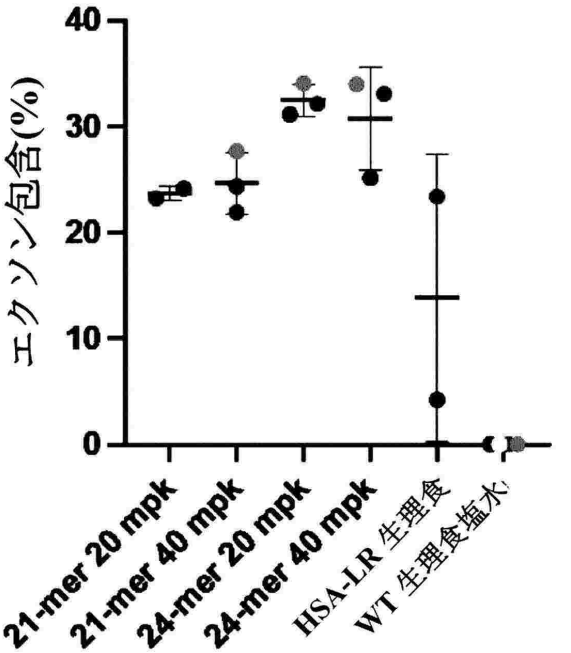


図３６Ｂ

【図３６Ｃ】

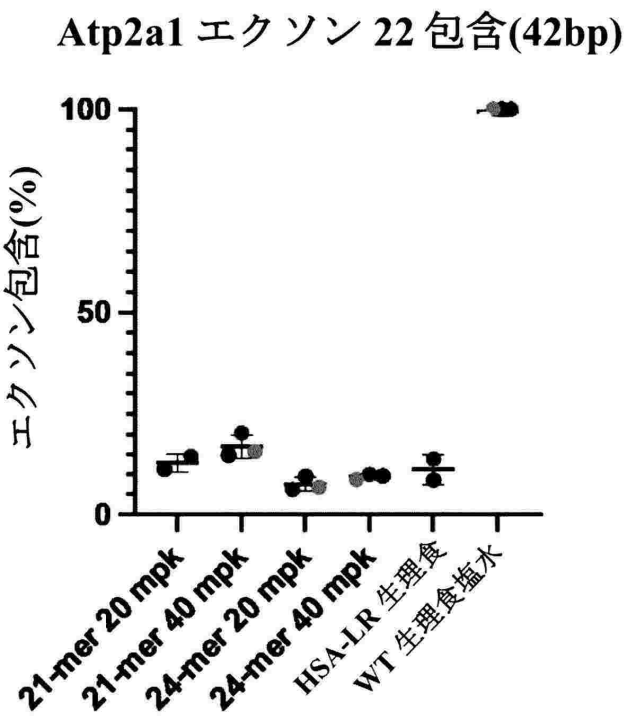


図３６Ｃ

【図３７】

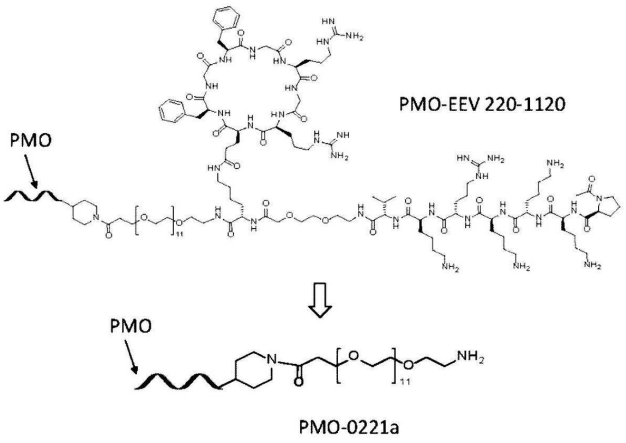


図３７

【図３８Ａ】

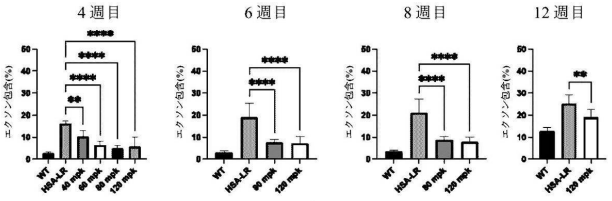


図３８Ａ

【図３８Ｂ】

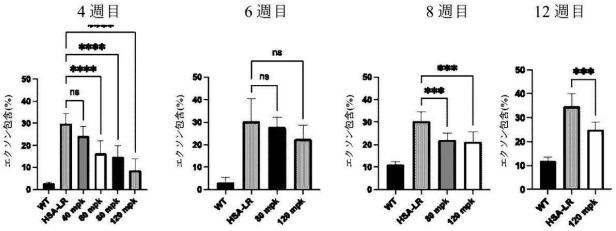


図３８Ｂ

【図３９Ａ】

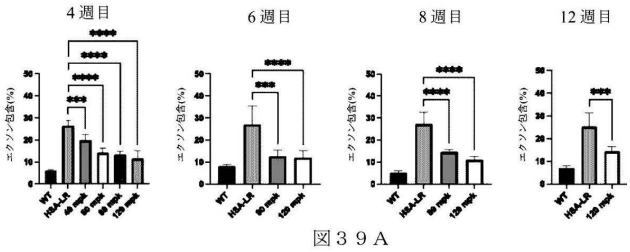


図３９Ａ

【図３９Ｂ】

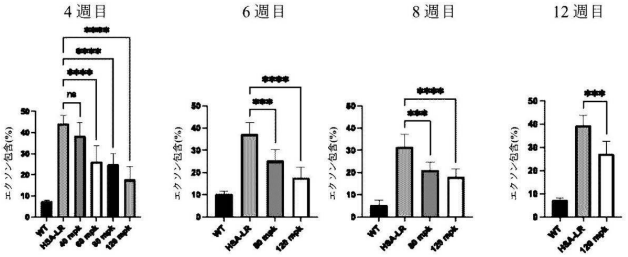


図３９Ｂ

【図４０Ａ】

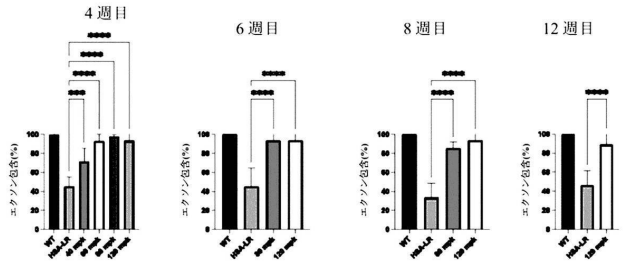


図４０Ａ

【図４０Ｂ】

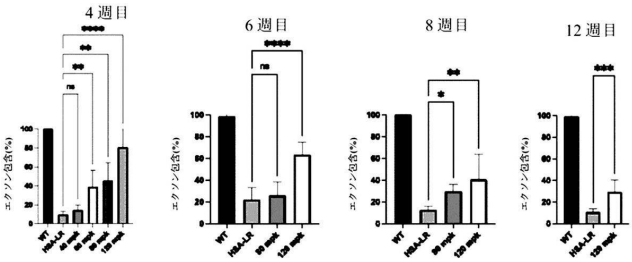


図４０Ｂ

【図４１Ａ】

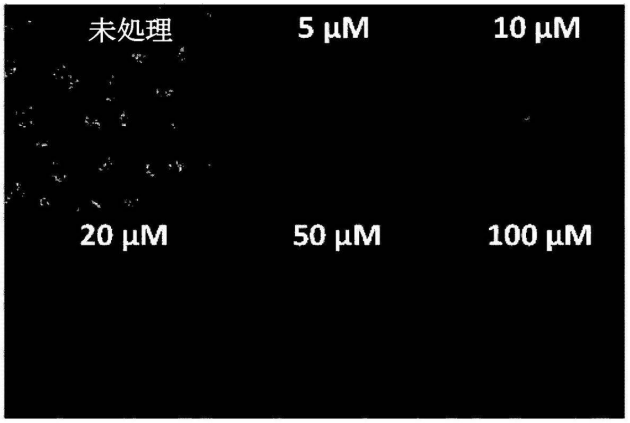


図４１Ａ

【図４１Ｂ】

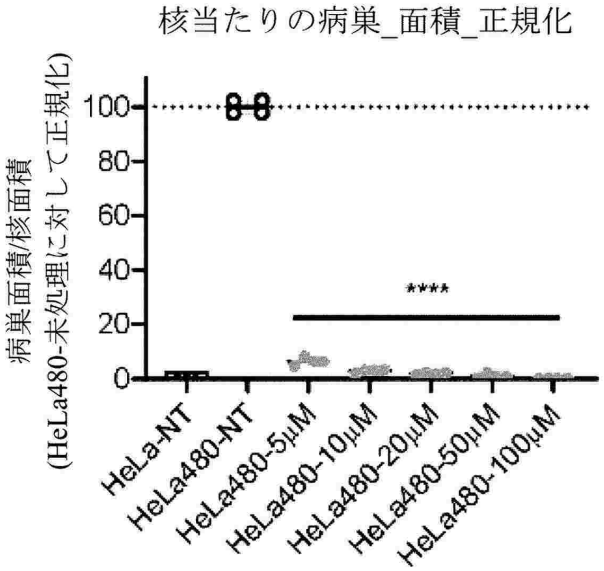


図４１Ｂ

【図４２Ａ】

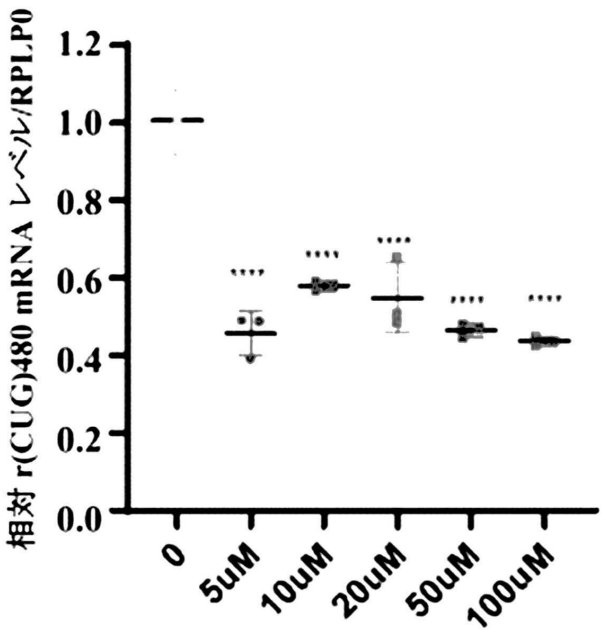


図４２Ａ

【図４２Ｂ】

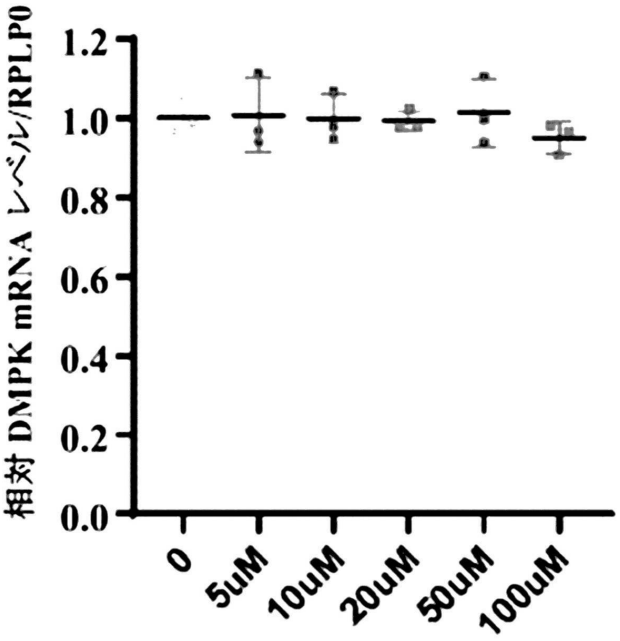


図４２Ｂ

【図４２Ｃ】

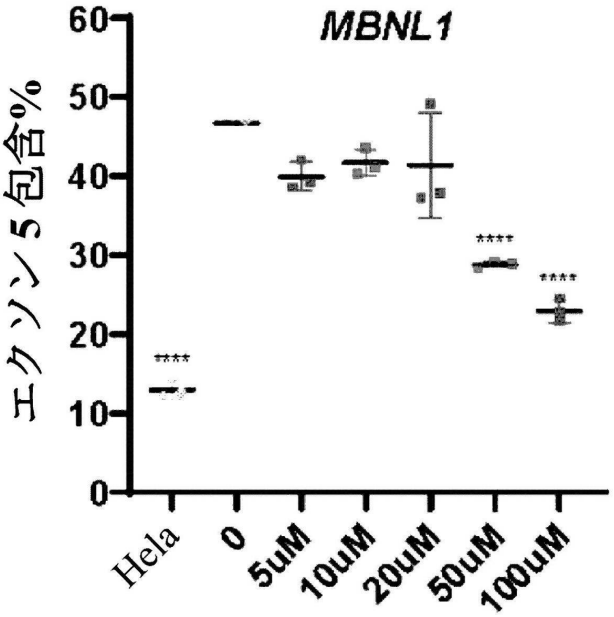


図４２Ｃ

【図４２Ｄ】

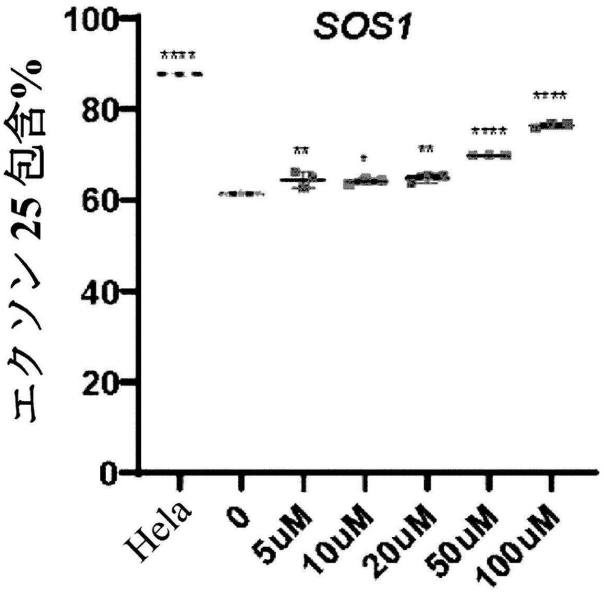


図４２Ｄ

【図４３】

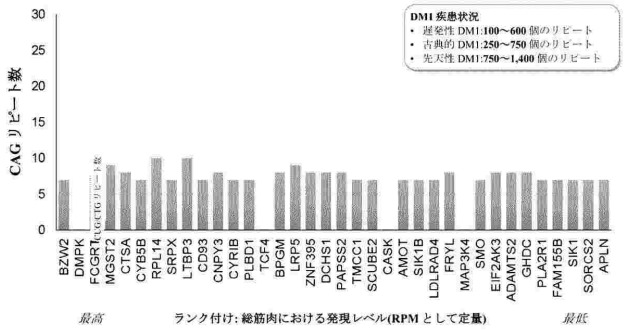


図４３

【図４４Ａ】

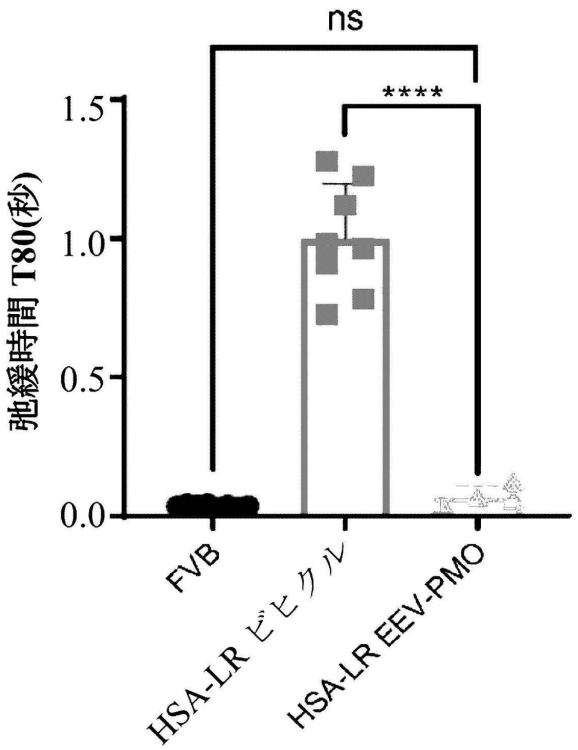


図４４Ａ

【図４４Ｂ】

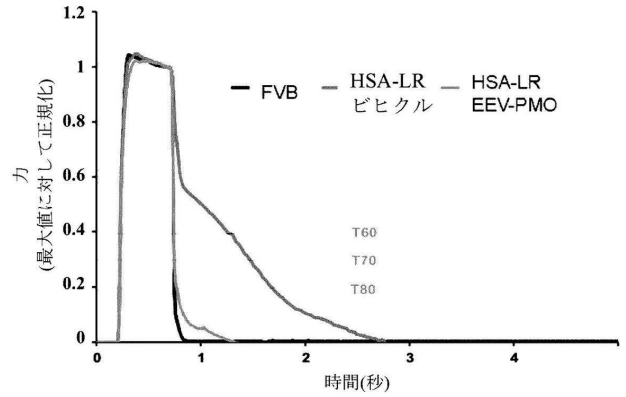


図４４Ｂ

【図４４Ｃ】

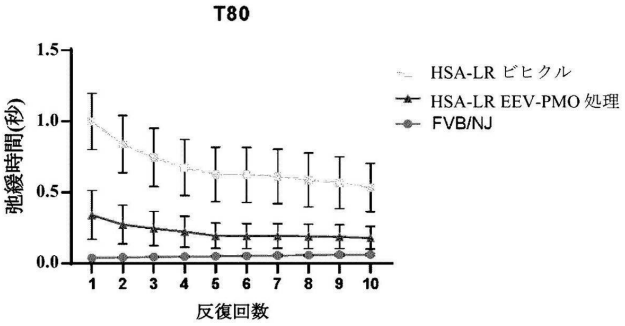


図４４Ｃ

【図４４Ｄ】

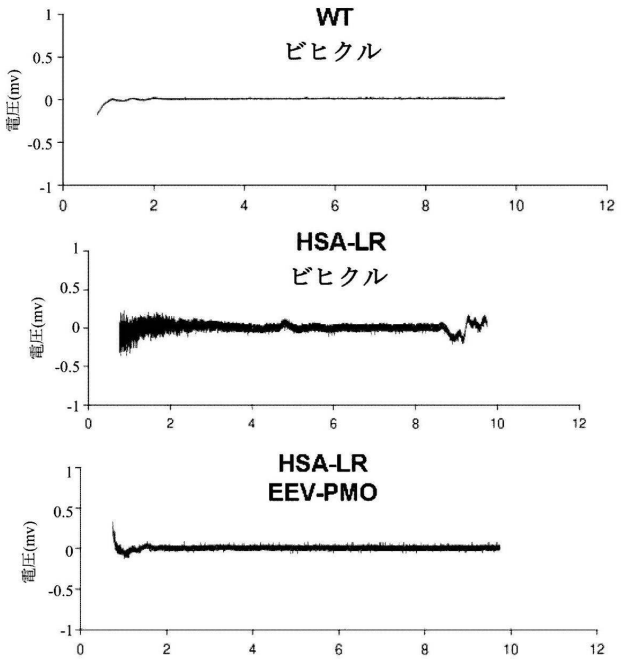


図４４Ｄ

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/034517

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/64 C07K7/64 C12N15/113
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K C12N

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2014/052276 A1 (GENZYME CORP [US]) 3 April 2014 (2014-04-03) claims 1-22; examples 1-4	1-81
Y	SAJID MUHAMMAD IMRAN ET AL: "Applications of amphipathic and cationic cyclic cell-penetrating peptides: Significant therapeutic delivery tool", PEPTIDES, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 141, 29 March 2021 (2021-03-29), XP086588682, ISSN: 0196-9781, DOI: 10.1016/J.PEPTIDES.2021.170542 [retrieved on 2021-03-29] figures 1-4; tables 1,4	1-81

-/--

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

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 November 2022	18/11/2022

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/034517

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2019/165183 A1 (ENTRADA THERAPEUTICS INC [US]; SETHURAMAN NATARAJAN [US] ET AL.) 29 August 2019 (2019-08-29) claims 1-30	1-81
A	KALAFATOVIC DANIELA ET AL: "Cell-Penetrating Peptides: Design Strategies beyond Primary Structure and Amphipathicity", MOLECULES, vol. 22, no. 11, 8 November 2017 (2017-11-08), page 1929, XP55886265, DOI: 10.3390/molecules22111929 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6150340/pdf/molecules-22-01929.pdf> figures 8,9	1-81
A	US 2011/269665 A1 (KOLE RYSZARD [US]) 3 November 2011 (2011-11-03) claims 1-10; figure 1; examples 1,2	1-81
A	WO 2020/030927 A1 (UNIV OXFORD INNOVATION LTD [GB]; RES & INNOVATION UK [GB]) 13 February 2020 (2020-02-13) page 34 - page 49; claims 1,19-25	1-81
A	SILVANA M.G. JIRKA ET AL: "Cyclic Peptides to Improve Delivery and Exon Skipping of Antisense Oligonucleotides in a Mouse Model for Duchenne Muscular Dystrophy", MOLECULAR THERAPY, 12 October 2017 (2017-10-12), XP55436795, US ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.10.004 figure 4; table 1	1-81
A	Andrew J Leger ET AL: "Systemic Delivery of a Peptide-Linked Morpholino Oligonucleotide Neutralizes Mutant RNA Toxicity in a Mouse Model of Myotonic Dystrophy", Nucleic acid therapeutics, 4 April 2013 (2013-04-04), pages 19-117, XP055096144, United States DOI: 10.1089/nat.2012.0404 Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23308382 figure 1	1-81

-/--

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/034517

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2021/127650 A1 (ENTRADA THERAPEUTICS INC [US]) 24 June 2021 (2021-06-24) paragraph [0521]; claims 1-44,84-96	1-81
X,P	Hicks Amy N ET AL: "A Novel EEV-Conjugated PMO, ENTR-701, Reduces Nuclear Foci and Corrects Aberrant Splicing in Myotonic Dystrophy Type 1 Preclinical Models", New Directions in Biology and Disease of Skeletal Muscle Conference , 20 June 2022 (2022-06-20), XP55966142, Retrieved from the Internet: URL:https://www.entradatx.com/documents/presentations/Entrada_Hicks-ENTR-701-in-DM1-Preclinical-Models_New-Directions-2022.pdf [retrieved on 2022-09-28] figures 2,3	1-81

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/034517

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

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

   a. ☐ forming part of the international application as filed:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

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

   c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/034517

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014052276 A1	03-04-2014	AR 092658 A1	29-04-2015
		AU 2013323820 A1	16-04-2015
		AU 2019203929 A1	11-07-2019
		CA 2886017 A1	03-04-2014
		CN 104837997 A	12-08-2015
		EP 2900821 A1	05-08-2015
		JP 6404219 B2	10-10-2018
		JP 2015532264 A	09-11-2015
		JP 2019006808 A	17-01-2019
		JP 2020196751 A	10-12-2020
		KR 20150060738 A	03-06-2015
		MX 369519 B	11-11-2019
		RU 2015115721 A	20-11-2016
		RU 2018123569 A	07-03-2019
		SG 10201700751X A	30-03-2017
		SG 11201501544P A	30-03-2015
		TW 201424752 A	01-07-2014
		US 2015238627 A1	27-08-2015
		WO 2014052276 A1	03-04-2014
WO 2019165183 A1	29-08-2019	CA 3092062 A1	29-08-2019
		EP 3755351 A1	30-12-2020
		TW 201945014 A	01-12-2019
		US 2020354697 A1	12-11-2020
		US 2022033787 A1	03-02-2022
		WO 2019165183 A1	29-08-2019
US 2011269665 A1	03-11-2011	US 2011269665 A1	03-11-2011
		US 2014107013 A1	17-04-2014
		US 2015141321 A1	21-05-2015
		US 2019264210 A1	29-08-2019
		US 2022002733 A1	06-01-2022
WO 2020030927 A1	13-02-2020	AU 2019317789 A1	04-03-2021
		BR 112021002447 A2	04-05-2021
		CA 3108876 A1	13-02-2020
		CN 113347989 A	03-09-2021
		EP 3833376 A1	16-06-2021
		IL 280678 A	25-03-2021
		JP 2021534131 A	09-12-2021
		KR 20210090157 A	19-07-2021
		US 2021299263 A1	30-09-2021
		WO 2020030927 A1	13-02-2020
WO 2021127650 A1	24-06-2021	EP 4058032 A1	21-09-2022
		WO 2021127650 A1	24-06-2021

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

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/7088(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7088	
Ａ６１Ｐ	*21/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00	
Ａ６１Ｐ	*25/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00	
Ａ６１Ｐ	*25/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/14	
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	

(32)優先日　令和3年9月1日(2021.9.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/290,892
(32)優先日　令和3年12月17日(2021.12.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/290,960
(32)優先日　令和3年12月17日(2021.12.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/298,565
(32)優先日　令和4年1月11日(2022.1.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/305,071
(32)優先日　令和4年1月31日(2022.1.31)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/268,577
(32)優先日　令和4年2月25日(2022.2.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/314,369
(32)優先日　令和4年2月26日(2022.2.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/316,634
(32)優先日　令和4年3月4日(2022.3.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/317,856
(32)優先日　令和4年3月8日(2022.3.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/326,201
(32)優先日　令和4年3月31日(2022.3.31)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/362,295
(32)優先日　令和4年3月31日(2022.3.31)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/327,179

(32)優先日　令和4年4月4日(2022.4.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/339,250
(32)優先日　令和4年5月6日(2022.5.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW
弁護士　山本 健策
(72)発明者　シェン， シウロン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１０， ボストン， ワン デザイン センター プレイス， スイート １７－５００
(72)発明者　チャン， ジーチン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１０， ボストン， ワン デザイン センター プレイス， スイート １７－５００
(72)発明者　ドーハティ， パトリック
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１０， ボストン， ワン デザイン センター プレイス， スイート １７－５００
(72)発明者　ケイラーバーディ， マーボウベ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１０， ボストン， ワン デザイン センター プレイス， スイート １７－５００
(72)発明者　リー， シャン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１０， ボストン， ワン デザイン センター プレイス， スイート １７－５００
Ｆターム（参考）　4C076　AA95 CC01 CC41 EE23 EE59 FF31 FF33
4C084　AA02 AA03 AA13 BA01 BA08 BA17 BA18 BA24 BA35 NA05 NA13 NA14 ZA01 ZA15 ZA94
4C086　AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA05 NA13 NA14 ZA01 ZA15 ZA94
4H045　AA10 AA30 BA14 BA30 BA35 BA41 BA50 BA54 EA20 FA40 FA50