

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7001663号

(P7001663)

(45)発行日 令和4年2月4日(2022.2.4)

(24)登録日 令和3年12月28日(2021.12.28)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 15/113

Z Z N A

A 6 1 K 31/7088(2006.01)

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 47/61 (2017.01)

A 6 1 K 47/61

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 27/02

請求項の数 15 (全574頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-228789(P2019-228789)

(22)出願日 令和1年12月19日(2019.12.19)

(62)分割の表示 特願2016-565465(P2016-565465)  
の分割

原出願日 平成27年5月1日(2015.5.1)

(65)公開番号 特開2020-58368(P2020-58368A)

(43)公開日 令和2年4月16日(2020.4.16)

審査請求日 令和2年1月17日(2020.1.17)

(31)優先権主張番号 61/987,471

(32)優先日 平成26年5月1日(2014.5.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/076,273

(32)優先日 平成26年11月6日(2014.11.6)

(33)優先権主張国・地域又は機関

最終頁に続く

(73)特許権者 595104323

アイオーニス ファーマシューティカル  
ズ, インコーポレーテッドIonis Pharmaceutic  
als, Inc.アメリカ合衆国カリフォルニア州920  
10, カールズバッド, ガゼル コート  
2855

(74)代理人 100140109

弁理士 小野 新次郎

(74)代理人 100118902

弁理士 山本 修

(74)代理人 100106208

弁理士 宮前 徹

(74)代理人 100120112

最終頁に続く

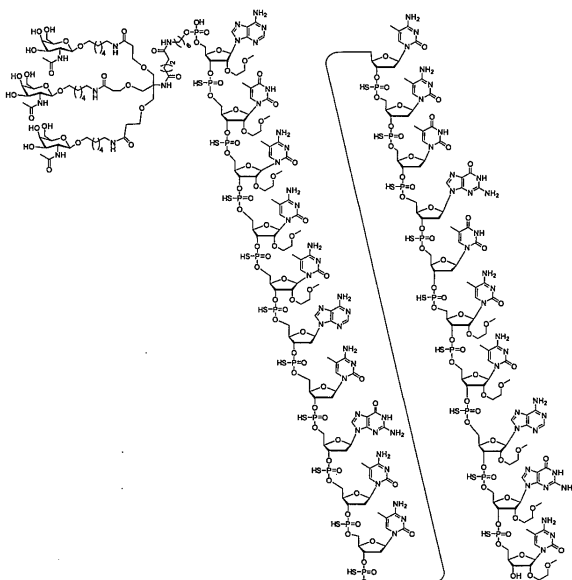
(54)【発明の名称】 補体B因子発現を調節するための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の化学構造で表わされるオリゴマー化合物:

【化1】

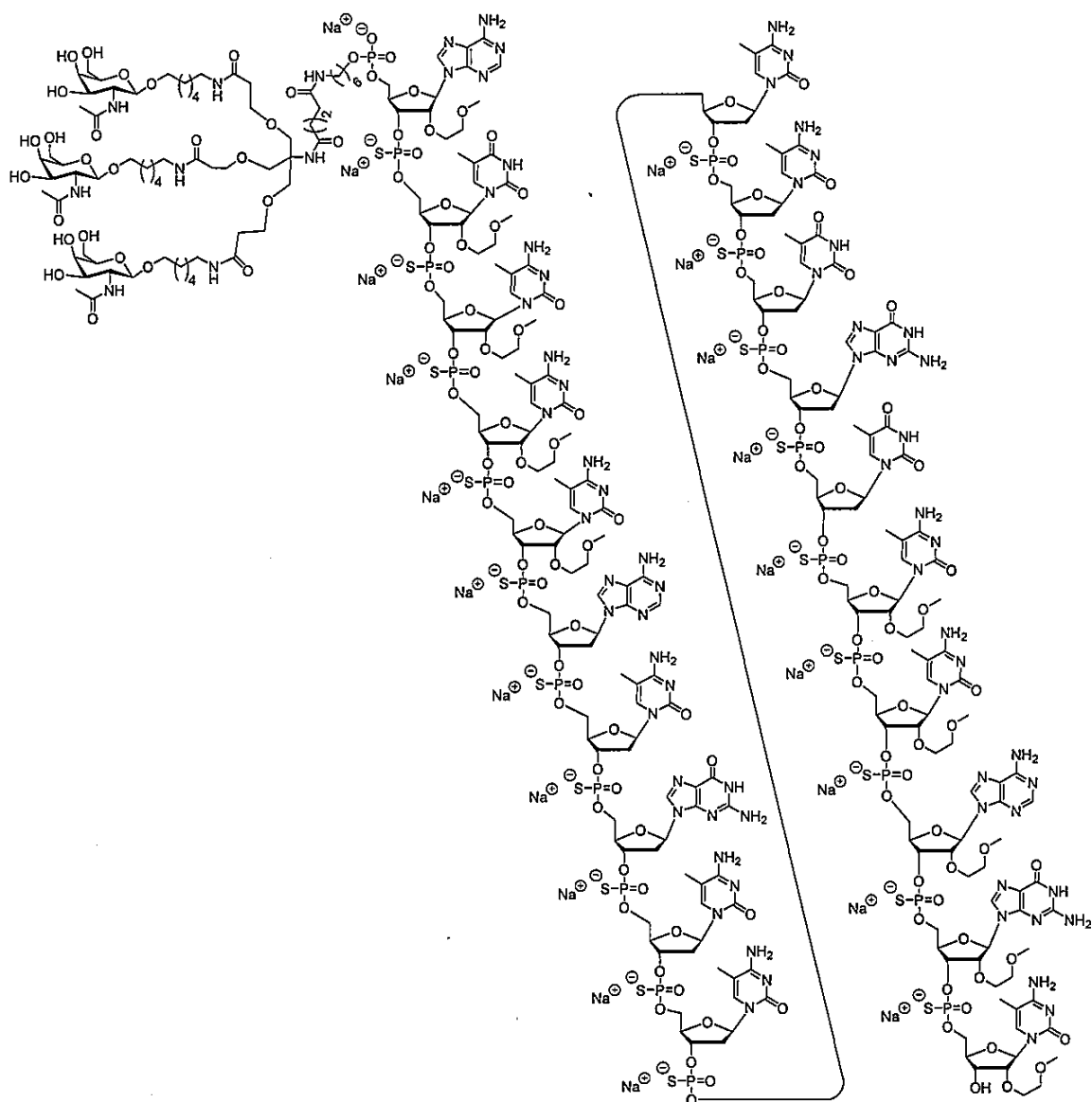


( 配列番号 4 4 0 )。

【請求項 2】

以下の化学構造で表わされるオリゴマー化合物：

【化 2】



( 配列番号 4 4 0 )。

【請求項 3】

以下の式：

【化 3】

GalNAc<sub>3-7a-o'</sub>A<sub>es</sub>T<sub>es</sub><sup>m</sup>C<sub>es</sub><sup>m</sup>C<sub>es</sub><sup>m</sup>C<sub>es</sub><sup>m</sup>A<sub>ds</sub><sup>m</sup>C<sub>ds</sub>G<sub>ds</sub><sup>m</sup>C<sub>ds</sub><sup>m</sup>C<sub>ds</sub><sup>m</sup>C<sub>ds</sub><sup>m</sup>T<sub>ds</sub>G<sub>ds</sub><sup>m</sup>C<sub>es</sub><sup>m</sup>C<sub>es</sub><sup>m</sup>A<sub>es</sub>G<sub>es</sub><sup>m</sup>C<sub>e</sub> (配列番号 440)

で表わされる修飾オリゴヌクレオチドとコンジュゲート基とを含むオリゴマー化合物であって、上記式中、

Aは、アデニンであり、

mCは、5 - メチルシトシンであり、

10

20

30

40

50

G は、グアニンであり、

T は、チミンであり、

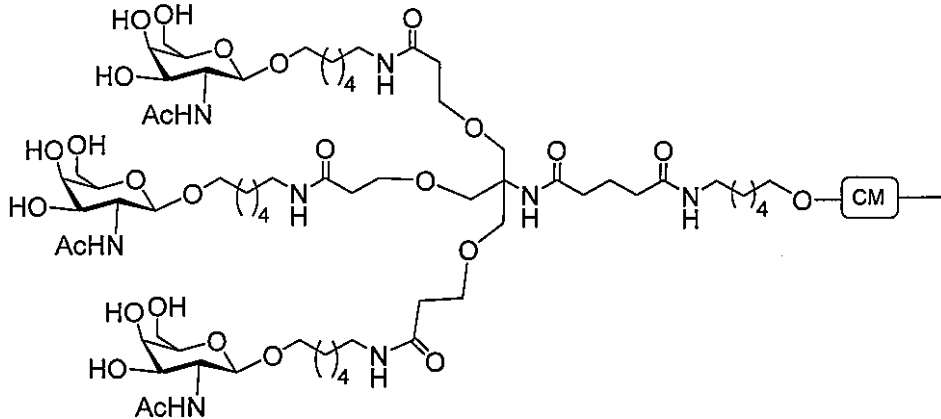
e は、2' - MOE 修飾ヌクレオシドを示し、

d は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、

s は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結を示し、

G a l N A c 3 - 7 \_ a - o は、

【化 4】



10

20

で示され、式中、切断可能部分（CM）は、5' -P(OH)(=O)-O-3'である  
前記オリゴマー化合物。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物またはその塩と、医薬上許容される担体または希釈剤の少なくとも 1 つを含む組成物。

【請求項 5】

組成物が、40 センチポアズ（cP）未満、30 センチポアズ（cP）未満、20 センチポアズ（cP）未満、15 センチポアズ（cP）未満、または 10 センチポアズ（cP）未満の粘度を有する、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を治療するための医薬であって、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物または請求項 4 または 5 に記載の組成物を含む、前記医薬。

【請求項 7】

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 6 に記載の医薬。

【請求項 8】

前記疾患が黄斑変性、加齢黄斑変性（AMD）、滲出型 AMD、乾性 AMD または地図状萎縮である、請求項 6 に記載の医薬。

【請求項 9】

前記疾患が腎臓疾患である、請求項 6 に記載の医薬。

【請求項 10】

前記腎臓疾患が IgA ネフロパシー、ループス腎炎、全身性エリテマトーデス（SLE）、デンスデポジット病（DDD）、C3 系球体腎炎（C3GN）、CFHR5 ネフロパシー、または非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）である、請求項 9 に記載の医薬。

【請求項 11】

補体代替経路の調節異常に関連する疾患を治療するための医薬の製造における、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物または請求項 4 または 5 に記載の組成物の使用。

【請求項 12】

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 11 に記載の医薬の製造にお

30

40

50

けるオリゴマー化合物または組成物の使用。

【請求項 1 3】

前記疾患が黄斑変性、加齢黄斑変性（A M D）、滲出型 A M D、乾性 A M D または地図状萎縮である、請求項 1 1 に記載の医薬の製造におけるオリゴマー化合物または組成物の使用。

【請求項 1 4】

前記疾患が腎臓疾患である、請求項 1 1 に記載の医薬の製造におけるオリゴマー化合物または組成物の使用。

【請求項 1 5】

前記腎臓疾患が I g A ネフロパシー、ループス腎炎、全身性エリテマトーデス（S L E）  
、デンスデポジット病（D D D）、C 3 系球体腎炎（C 3 G N）、C F H R 5 ネフロパシー、または非典型溶血性尿毒症症候群（a H U S）である、請求項 1 4 に記載の医薬の製造におけるオリゴマー化合物または組成物の使用。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

配列表

本願は、電子形式の配列表とともに出願されている。この配列表は、2 0 1 5 年 4 月 2 8 日に作成されたサイズ 2 0 4 k b の B I O L 0 2 5 1 W O S E Q \_ \_ S T 2 5 . t x t という名称のファイルとして提供される。この配列表の電子形式の情報は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0 0 0 2】

本実施形態は、補体 B 因子（C F B）特異的阻害剤を対象に投与することによって、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善するための方法、化合物、及び組成物を提供する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

補体系は、外来細胞の溶解、抗原貪食の強化、抗原保持因子の凝集、ならびにマクロファージ及び好中球の誘引に関与する宿主自然免疫系の一部である。補体系は 3 つの初期経路 - 古典経路、レクチン経路、及び代替経路 - に分類され、それらは、成分 C 3 に収束して、C 3 コンバーターとして知られる酵素複合体を生成させ、それが C 3 を C 3 a と C 3 b とに切断する。C 3 b は C F B に媒介されて C 3 コンバーターと会合し、C 5 コンバーターの生成をもたらす。C 5 コンバーターは C 5 を C 5 a と C 5 b とに切断し、その C 5 b が膜侵襲経路を開始して、成分 C 5 b、C 6、C 7、C 8、及び C 9 を含む膜侵襲複合体（M A C）の形成をもたらす。膜侵襲複合体（M A C）は膜貫通チャネルを形成して標的細胞のリン脂質二重層を破壊し、それが細胞溶解につながる。

30

【0 0 0 4】

ホメオスタシス状態では、C 3 の自発的加水分解と C 3 b の生成とによる代替経路の活性化の結果として、代替経路が低い「アイドリング（t i c k o v e r）」レベルで絶えず活性化されて、C 5 コンバーターを生成している。

40

【発明の概要】

【0 0 0 5】

概要

補体系は自然免疫を媒介し、傷害に対する正常な炎症応答に重要な役割を果たすが、その調節異常は重度の傷害を引き起こしうる。代替補体経路がその構成的「アイドリング」レベルを超えて活性化すると、無制限な機能亢進が起こり、補体調節異常の疾患として顕在化しうる。

【0 0 0 6】

ここに提供する特定の実施形態は、補体 B 因子（C F B）特異的阻害剤の投与によって、対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善する

50



方法に関する。ここに提供するいくつかの実施形態は、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象におけるC F Bの発現を、前記対象にC F B特異的阻害剤を投与することによって阻害する方法に向けられる。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の眼におけるC 3沈着を低減しまたはC 3沈着の蓄積を阻害する方法には、前記対象にC F B特異的阻害剤を投与することが含まれる。いくつかの実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の腎臓におけるC 3沈着を低減しまたはC 3沈着の蓄積を阻害する方法には、前記対象にC F B特異的阻害剤を投与することが含まれる。

【発明を実施するための形態】

10

【0007】

詳細な説明

前記一般的な説明及び以下の詳細な説明はどちらも例示的かつ説明的であるにすぎず、本願に係る発明を限定するものではないと理解すべきである。本明細書において、単数形の使用は、別段の明示がある場合を除き、複数形を含む。本明細書において「または(or)」の使用は、別段の言明がある場合を除き、「及び/または(and/or)」を意味する。さらに、「～を含む(including)」という用語、ならびに「～を含む(includes)」及び「含まれる(included)」などの他の形態の使用は、限定的ではない。また、「要素」または「成分」などの用語は、別段の明示がある場合を除き、1つのユニットを含む要素及び成分と2つ以上のサブユニットを含む要素及び成分をどちらも包含する。

20

【0008】

本明細書において使用する見出しには構成上の目的しかなく、記載される主題を限定するものと解釈してはならない。本願において引用する文書または文書の一部は、すべて、例えば限定するわけではないが特許、特許出願、記事、書籍、及び論文を含めて、その文書のうちの本明細書において論じる部分も、その全体も、参照により明確に組み込まれる。

【0009】

特別な定義が与えられない限り、本明細書に記載する分析化学、合成有機化学、ならびに医化学及び製薬化学に関連して用いられる術語、ならびにそれらの手順及び技法は、周知であり、当技術分野で一般に使用されるものである。化学合成及び化学分析には、標準的技法を使用することができる。そのような技法及び手順のうち特定のものは、例えば「Carbohydrate Modifications in Antisense Research」Sangvi及びCook編、American Chemical Society、ワシントンD.C.、1994、「Remington's Pharmaceutical Sciences」Mack Publishing Co.、ペンシルベニア州イーストン、第21版、2005、及び「Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications」Stanley T. Crooke編、CRC Press、フロリダ州ボカラトン、ならびにSambrook et al.、「Molecular Cloning, A Laboratory Manual」第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、1989に見いだすことができ、これらは、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる。許容される場合、本開示の全体を通して言及する特許、出願、公開された出願、及び他の出版物、ならびに他のデータはすべて、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

30

40

別段の表示がある場合を除き、以下の用語は、以下の意味を有する。

【0010】

「2'-Fヌクレオシド」とは、2'位にフッ素を含む糖を含むヌクレオシドを指す。別段の表示がある場合を除き、2'-Fヌクレオシドにおけるフッ素は(天然リボースのOHを置き換える)リボ位に存在する。

【0011】

50

「2'-O-メトキシエチル」(2'-MOE及び2'-O(2'-OCH<sub>3</sub>ともいう)は、フラノース環の2'位にあるO-メトキシエチル修飾を指す。2'-O-メトキシエチル修飾糖は、修飾糖である。

【0012】

「2'-MOEヌクレオシド」(2'-O-メトキシエチルヌクレオシドともいう)は、2'-MOE修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0013】

「2'-置換ヌクレオシド」とは、フラノシル環の2'位にHまたはOH以外の置換基を含むヌクレオシドを意味する。特定の実施形態において、2'置換ヌクレオシドは、二環式糖修飾を有するヌクレオシドを含む。

【0014】

「3'標的部位」とは、ある特定アンチセンス化合物の最も3'側のヌクレオチドに相補的な標的核酸のヌクレオチドを指す。

【0015】

「5'標的部位」とは、ある特定アンチセンス化合物の最も5'側のヌクレオチドに相補的な標的核酸のヌクレオチドを指す。

【0016】

「5-メチルシトシン」とは、5位に取り付けられたメチル基で修飾されたシトシンを意味する。5-メチルシトシンは修飾核酸塩基である。

【0017】

「約」とは、ある値の±10%以内を意味する。例えば、「CFBの少なくとも約70%阻害を達成する化合物」と言明した場合、それは、CFBレベルが60%~80%の範囲内で阻害されることを含意する。

【0018】

「投与」または「投与すること」とは、ここに提供するアンチセンス化合物を、意図したその機能を果たすように対象に導入する経路を指す。使用することができる投与経路の一例として、非経口投与、例えば皮下、静脈内、または筋肉内への注射または注入が挙げられるが、これらに限定されない。

【0019】

本明細書にいう「アルキル」とは、最大24個の炭素原子を含有する飽和直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味する。アルキル基の例として、メチル、エチル、プロピル、ブチル、イソプロピル、n-ヘキシル、オクチル、デシル、ドデシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。アルキル基は、典型的には、1~約24個の炭素原子、より典型的には、1~約12個の炭素原子(C1~C12アルキル)を含み、1~約6個の炭素原子がより好ましい。

【0020】

本明細書にいう「アルケニル」とは、最大24個の炭素原子を含有し、かつ少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有する直鎖または分岐鎖炭化水素鎖ラジカルを意味する。アルケニル基の例として、エテニル、プロペニル、ブテニル、1-メチル-2-ブテン-1-イル、1,3-ブタジエンなどのジエンなどが挙げられるが、これらに限定されない。アルケニル基は、典型的には、2~約24個の炭素原子、より典型的には、2~約12個の炭素原子を含み、2~約6個の炭素原子がより好ましい。本明細書にいうアルケニル基は、場合によっては、1つ以上のさらなる置換基を含みうる。

【0021】

本明細書にいう「アルキニル」とは、最大24個の炭素原子を含有し、かつ少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を有する直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味する。アルキニル基の例として、エチニル、1-プロピニル、1-ブチニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。アルキニル基は、典型的には、2~約24個の炭素原子、より典型的には、2~約12個の炭素原子を含み、2~約6個の炭素原子がより好ましい。本明細書にいうアルキニル基は、場合によっては、1つ以上のさらなる置換基を含みうる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 2 】

本明細書にいう「アシル」とは、有機酸からヒドロキシル基を除去することによって形成されるラジカルを意味し、一般式  $-C(O)-X$  を有し、式中、 $X$  は、典型的には、脂肪族、脂環式、または芳香族である。例として、脂肪族カルボニル、芳香族カルボニル、脂肪族スルホニル、芳香族スルフィニル、脂肪族スルフィニル、芳香族ホスフェート、脂肪族ホスフェートなどが挙げられる。本明細書にいうアシル基は、さらなる置換基を場合によっては含みうる。

## 【 0 0 2 3 】

本明細書にいう「脂環式」とは、環式環系を意味し、前記環は、脂肪族である。前記環系は、1つ以上の環を含むことができ、少なくとも1つの環は脂肪族である。好ましい脂環式基は、環内に約5～約9個の炭素原子を有する環を含む。本明細書にいう脂環式基は、場合によっては、さらなる置換基を含みうる。

10

## 【 0 0 2 4 】

本明細書にいう「脂肪族」とは、最大24個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味し、任意の2つの炭素原子の間の飽和度は、一重、二重、または三重結合である。脂肪族基は、好ましくは、1～約24個の炭素原子、より典型的には、1～約12個の炭素原子を含有し、1～約6個の炭素原子がより好ましい。脂肪族基の直鎖または分岐鎖は、窒素、酸素、硫黄、及びリンを含む1つ以上のヘテロ原子で中断されていてもよい。ヘテロ原子によって中断されているそのような脂肪族基には、ポリアルコキシ、例えば、ポリアルキレングリコール、ポリアミン、及びポリイミンが含まれるが、これらに限定されない。本明細書にいう脂肪族基は、場合によっては、さらなる置換基を含みうる。

20

## 【 0 0 2 5 】

本明細書にいう「アルコキシ」とは、アルキル基と酸素原子とで形成されるラジカルを意味し、アルコキシ基は前記酸素原子を使って親分子に取り付けられる。アルコキシ基の例として、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、*n*-ブトキシ、*sec*-ブトキシ、*tert*-ブトキシ、*n*-ペントキシ、ネオペントキシ、*n*-ヘキソキシなどが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書にいうアルコキシ基は、場合によっては、さらなる置換基を含みうる。

## 【 0 0 2 6 】

本明細書にいう「アミノアルキル」とは、アミノ置換されたC1～C12アルキルラジカルを意味する。前記ラジカルアルキル部分は、親分子と共有結合を形成する。アミノ基は、任意の位置に位置することができ、アミノアルキル基は、アルキル部分及び/またはアミノ部分を、さらなる置換基で置換することができる。

30

## 【 0 0 2 7 】

本明細書にいう「アラルキル」及び「アリールアルキル」とは、C1～C12アルキルラジカルに共有結合で連結されている芳香族基を意味する。結果として生じるアラルキル（またはアリールアルキル）基のアルキルラジカル部分は、親分子と共有結合を形成する。例として、ベンジル、フェネチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書にいうアラルキル基は、場合によっては、当該ラジカル基を形成するアルキル基、アリール基、またはそれら両方の基に取り付けられたさらなる置換基を含みうる。

40

## 【 0 0 2 8 】

本明細書にいう「アリール」及び「芳香族」とは、1つ以上の芳香族環を有する単環式または多環式炭素環式環系ラジカルを意味する。アリール基の例として、フェニル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、インダニル、イデニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。好ましいアリール環系は、1つ以上の環内に約5～約20個の炭素原子を有する。本明細書にいうアリール基は、場合によっては、さらなる置換基を含みうる。

## 【 0 0 2 9 】

「改善」とは、関連する疾患、障害、または状態の少なくとも1つの指標、徴候、または症状の軽減を指す。特定の実施形態では、改善は、状態または疾患の1つ以上の指標の進

50

行の遅延または減速を包含する。指標の重症度は、当業者に知られている主観的尺度または客観的尺度によって決定することができる。

【 0 0 3 0 】

「動物」とは、ヒトまたはヒト以外の動物を指し、これには、例えばマウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、及び非ヒト霊長類（サル及びチンパンジーを含むが、これらに限定されない）が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 0 3 1 】

「アンチセンス活性」とは、アンチセンス化合物によるその標的核酸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活性または測定可能な活性を意味する。特定の実施形態では、アンチセンス活性が、標的核酸またはそのような標的核酸がコードするタンパク質の量または発現の減少である。

10

【 0 0 3 2 】

「アンチセンス化合物」とは、水素結合によって標的核酸へのハイブリダイゼーションを起こすことができるオリゴマー化合物を意味する。アンチセンス化合物の例として、一本鎖化合物及び二本鎖化合物、例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド、*siRNA*、*shRNA*、*ssRNA*、及び占有に基づく（*occupancy-based*）化合物が挙げられる。

【 0 0 3 3 】

「アンチセンス阻害」とは、アンチセンス化合物が存在しない場合の標的核酸レベルとの比較で、標的核酸に相補的なアンチセンス化合物の存在下での標的核酸レベルの低減を意味する。

20

【 0 0 3 4 】

「アンチセンス機序」とは、化合物と標的核酸とのハイブリダイゼーションを伴うすべての機序をいう。前記ハイブリダイゼーションの結果または効果は、標的の分解または標的の占有であり、これに付随して、例えば転写またはスプライシングに関わる細胞機構の停止が起こる。

【 0 0 3 5 】

「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、標的核酸の対応する領域または対応するセグメントへのハイブリダイゼーションを可能にする核酸塩基配列を有する一本鎖オリゴヌクレオチドを意味する。

30

【 0 0 3 6 】

「塩基相補性」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの核酸塩基が標的核酸中の対応する核酸塩基と正確な塩基対合（すなわちハイブリダイゼーション）を起こす能力を指し、これは、対応する核酸塩基間のワトソン・クリック型、フーグスティーン型または逆フーグスティーン型水素結合によって媒介される。

【 0 0 3 7 】

「二環式糖部分」とは、4～7員環の2つの原子をつないで第2の環を形成することで二環式構造をもたらし橋を含む4～7員環（フラノシルを含むが、これに限定されない）を含む修飾糖部分を意味する。特定の実施形態では、前記4～7員環が糖環である。特定の実施形態では、前記4～7員環がフラノシルである。特定のそのような実施形態では、前記橋が、フラノシルの2'-炭素と4'-炭素とをつなぐ。

40

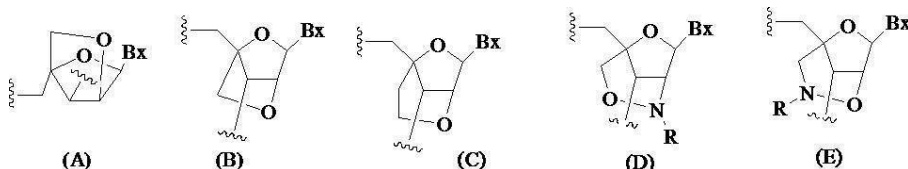
【 0 0 3 8 】

「二環式核酸」または「BNA」または「BNAヌクレオシド」とは、ヌクレオシド糖単位の4'位と2'位の間の2つの炭素原子をつないで二環式糖を形成する橋を有する核酸モノマーを意味する。そのような二環式糖の例として、以下に図示するA) - L - メチレンオキシ（4'-CH<sub>2</sub>-O-2'）LNA、（B） - D - メチレンオキシ（4'-CH<sub>2</sub>-O-2'）LNA、（C）エチレンオキシ（4'-（CH<sub>2</sub>）<sub>2</sub>-O-2'）LNA、（D）アミノオキシ（4'-CH<sub>2</sub>-O-N（R）-2'）LNA及び（E）オキシアミノ（4'-CH<sub>2</sub>-N（R）-O-2'）LNAが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 3 9 】

50

## 【化 1】



## 【0040】

本明細書にいう LNA 化合物には、糖の 4' 位と 2' 位との間に少なくとも 1 つの橋を有する化合物であって、橋のそれぞれが、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-C(R_1)=C(R_2)-$ 、 $-C(R_1)=N-$ 、 $-C(=NR_1)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_1)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$  及び  $-N(R_1)-[$  ここで、 $x$  は 0、1、または 2 であり、 $n$  は 1、2、3、または 4 であり、各  $R_1$  及び  $R_2$  は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1-C_{12}$  アルキル、置換  $C_1-C_{12}$  アルキル、 $C_2-C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2-C_{12}$  アルケニル、 $C_2-C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2-C_{12}$  アルキニル、 $C_5-C_{20}$  アリール、置換  $C_5-C_{20}$  アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $C_5-C_7$  脂環式ラジカル、置換  $C_5-C_7$  脂環式ラジカル、ハロゲン、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $COOJ_1$ 、アシル( $C(=O)-H$ )、置換アシル、 $CN$ 、スルホニル( $S(=O)_2-J_1$ )、またはスルホキシル( $S(=O)-J_1$ ) であり、各  $J_1$  及び  $J_2$  は、独立して、H、 $C_1-C_{12}$  アルキル、置換  $C_1-C_{12}$  アルキル、 $C_2-C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2-C_{12}$  アルケニル、 $C_2-C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2-C_{12}$  アルキニル、 $C_5-C_{20}$  アリール、置換  $C_5-C_{20}$  アリール、アシル( $C(=O)-H$ )、置換アシル、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、 $C_1-C_{12}$  アミノアルキル、置換  $C_1-C_{12}$  アミノアルキルまたは保護基である ] から独立して選択される 1 つまたは 2 ~ 4 つの連結基を、独立して含むものが含まれるが、これらに限定されない。

## 【0041】

LNA の定義に包含される 4' - 2' 架橋基の例として、次式の 1 つが挙げられるが、これらに限定されない： $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$ 、 $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$  または  $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$ 。さらに、LNA の定義に包含される他の架橋基には、4' -  $CH_2$  - 2'、4' -  $(CH)_2$  - 2'、4' -  $(CH)_3$  - 2'、4' -  $CH-O$  - 2'、4' -  $(CH)_2-O$  - 2'、4' -  $CH_2-O-N(R_1)-2'$  及び 4' -  $CH-N(R_1)-O-2'$  - 橋があり、ここで、各  $R_1$  及び  $R_2$  は、独立して、H、保護基または  $C_1-C_{12}$  アルキルである。

## 【0042】

本発明の LNA の定義には、リボシル糖環の 2' - ヒドロキシル基が糖環の 4' 炭素原子につながれてメチレンオキシ(4' -  $CH_2-O-2'$ ) 橋を形成し、よって二環式糖部分を形成している LNA も含まれる。橋は、2' 酸素原子と 4' 炭素原子とをつなぐメチレン( $-CH_2-$ ) 基であってもよく、これにはメチレンオキシ(4' -  $CH_2-O-2'$ ) LNA という用語が使用される。さらに、この位置にエチレン架橋基を有する二環式糖部分の場合は、エチレンオキシ(4' -  $CH_2CH_2-O-2'$ ) LNA という用語が使用される。メチレンオキシ(4' -  $CH_2-O-2'$ ) LNA の異性体である  $-L-$  メチレンオキシ(4' -  $CH_2-O-2'$ ) も、本明細書にいう LNA の定義に包含される。

## 【0043】

「キャップ構造」または「末端キャップ部分」とは、アンチセンス化合物のどちらかの末端に組み込まれた化学修飾を意味する。

## 【0044】

「炭水化物」とは、天然に存在する炭水化物、修飾炭水化物、または炭水化物誘導体を意味する。

## 【0045】

「炭水化物クラスター」とは、足場基またはリンカー基に取り付けられた 1 つ以上の炭水

10

20

30

40

50

化物残基を有する化合物を意味する（例えば、炭水化物共役クラスターの例として、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Maier et al. 「Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting」Bioconjugate Chemistry, 2003, (14): 18-29、またはRensen et al. 「Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor」J. Med. Chem. 2004, (47): 5798-5808を参照のこと）。

10

#### 【0046】

「炭水化物誘導体」とは、出発物質または中間体として炭水化物を用いて合成されうる任意の化合物を意味する。

#### 【0047】

「cEt」または「拘束エチル」とは、4'-炭素と2'-炭素とをつなぐ橋を含む二環式糖部分を意味し、この橋は4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'という式を有する。

#### 【0048】

「化学修飾」とは、天然に存在する対応物と比較した場合の化合物の化学的相違を意味する。オリゴヌクレオチドの化学修飾は、ヌクレオシド修飾（糖部分修飾及び核酸塩基修飾を含む）ならびにヌクレオシド間連結部修飾を含む。オリゴヌクレオチドの場合、核酸塩基配列だけの相違は、化学修飾には含まれない。

20

#### 【0049】

「切断可能な結合」とは、開裂されうる任意の化学結合を意味する。特定の実施形態では、切断可能な結合は、アミド、ポリアミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの一方もしくは両方のエステル、リン酸エステル、カルバメート、ジスルフィド、またはペプチドのなかから選択される。

#### 【0050】

「切断可能部分」とは、生理学的条件下で開裂されうる結合または基を意味する。特定の実施形態では、切断可能部分が、細胞の内部またはリソソームなどの細胞内コンパートメントの内部で切断される。特定の実施形態では、切断可能部分が、ヌクレアーゼなどの内在性酵素によって切断される。特定の実施形態では、切断可能部分が、1個、2個、3個、4個、または5個以上の切断可能な結合を有する原子団を含む。

30

#### 【0051】

「共役体」または「共役基」とは、オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に結合される原子または原子団を意味する。概して、共役基は、それらに取り付けられた化合物の1つ以上の特性、例えば限定するわけではないが、薬力学的特性、薬物動態学的特性、結合特性、吸収特性、細胞分布特性、細胞取り込み特性、電荷特性、及び/またはクリアランス特性などを修飾する。

#### 【0052】

共役基に関連して「共役リンカー」または「リンカー」とは、任意の原子または原子団を含む共役基の一部分であって、(1)オリゴヌクレオチドを共役基の別の部分と共有結合で連結するか、または(2)共役基の2つ以上の部分を共有結合で連結するものを意味する。

40

#### 【0053】

共役基は、本明細書においてはラジカルとして示され、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのオリゴマー化合物への共有結合を形成するための結合を提供する。特定の実施形態では、オリゴマー化合物における結合点が、オリゴマー化合物の3'末端ヌクレオシドの3'-ヒドロキシル基の3'-酸素原子である。特定の実施形態では、オリゴマー化合物における結合点が、オリゴマー化合物の5'末端ヌクレオシドの5'-ヒドロキシル基の5'-酸

50

素原子である。特定の実施形態では、オリゴマー化合物への結合を形成するための結合は、切断可能な結合である。特定のそのような実施形態において、そのような切断可能な結合は、切断可能部分のすべてまたは一部を構成する。

【0054】

特定の実施形態では、共役基が、切断可能部分（例えば、切断可能な結合または切断可能なヌクレオシド）と、GalNAcクラスター部分などの炭水化物クラスター部分とを含む。そのような炭水化物クラスター部分は、標的部分と、場合によっては、共役リンカーとを含む。ある特定の実施形態では、炭水化物クラスター部分が、リガンドの数及びその実体によって特定される。例えば、ある特定の実施形態では、炭水化物クラスター部分が3個のGalNAc基を含み、「GalNAc3」と表記される。ある特定の実施形態では、炭水化物クラスター部分が4個のGalNAc基を含み、「GalNAc4」と表記される。具体的な炭水化物クラスター部分（具体的なテザー基、分岐基、及び共役リンカー基を有するもの）を、本明細書では、ローマ数字と、それに続く下付き文字「a」で説明し、表記する。したがって、「GalNAc3-1a」とは、3個のGalNAc基、ならびに具体的に特定されたテザー基、分岐基、及び連結基を有する共役基の具体的な炭水化物クラスター部分を指す。そのような炭水化物クラスター断片は、切断可能な結合または切断可能なヌクレオシドなどの切断可能部分を介してオリゴマー化合物に取り付けられる。

10

【0055】

「共役化合物」とは、共役基としての使用に好適な任意の原子、原子団、または連結された原子団を意味する。ある特定の実施形態では、共役化合物は、1つ以上の特性、例えば限定するわけではないが、薬力学的特性、薬物動態学的特性、結合特性、吸収特性、細胞分布特性、細胞取り込み特性、電荷特性、及び/またはクリアランス特性などを有しうるか、または付与しうる。

20

【0056】

「拘束エチルヌクレオシド」（cEtヌクレオシドともいう）は、4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0057】

「補体B因子（CFB）」とは、CFBの任意の核酸またはタンパク質を意味する。「CFB核酸」とは、CFBをコードする任意の核酸を意味する。例えば特定の実施形態において、CFB核酸は、CFBをコードするDNA配列、CFBをコードするDNA（イントロンとエクソンとを含むゲノムDNAを含む）から転写されたRNA配列（これには非タンパク質コード（すなわちノンコーディング）RNA配列と、CFBをコードするmRNA配列とが含まれる）を包含する。「CFB mRNA」とはCFBタンパク質をコードするmRNAを意味する。

30

【0058】

「CFB特異的阻害剤」とは、CFB RNA及び/またはCFBタンパク質の発現または活性を分子レベルで特異的に阻害することができる任意の薬剤を指す。例えばCFB特異的阻害剤には、CFB RNA及び/またはCFBタンパク質の発現を阻害することができる核酸（アンチセンス化合物を含む）、ペプチド、抗体、小分子その他の薬剤が含まれる。

40

【0059】

「化学的に異なる領域」とは、同じアンチセンス化合物の別の領域と何らかの形で異なっているアンチセンス化合物の領域を指す。例えば、2'-O-メトキシエチルヌクレオチドを有する領域は、2'-O-メトキシエチル修飾を持たないヌクレオチドを有する領域とは化学的に異なる。

【0060】

「キメラアンチセンス化合物」とは、少なくとも2つの化学的に異なる領域を有するアンチセンス化合物を意味し、それぞれの位置は複数のサブユニットを有する。

【0061】

50

「相補性」とは、第 1 核酸と第 2 核酸の核酸塩基間で対合する能力を意味する。

【 0 0 6 2 】

「を含む」(comprise、comprises、及びcomprising)は、明言したステップもしくは要素またはステップ群もしくは要素群の包含を含意するが、他の任意のステップもしくは要素またはステップ群もしくは要素群の排除を含意しないと理解されるであろう。

【 0 0 6 3 】

「連続する核酸塩基」とは、互いに直接隣り合っている核酸塩基を意味する。

【 0 0 6 4 】

「デオキシヌクレオシド」とは、天然に存在するデオキシリボヌクレオシド(DNA)に見られる 2' - H フラノシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。特定の実施形態において、2' - デオキシヌクレオシドは修飾核酸塩基を含むか、またはRNA核酸塩基(例えばウラシル)を含みうる。

10

【 0 0 6 5 】

「デオキシリボヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの糖部分の 2' 位に水素を有するヌクレオチドを意味する。デオキシリボヌクレオチドは、さまざまな置換基のいずれでも修飾することができる。

【 0 0 6 6 】

「設計」または「設計された」とは、選ばれた核酸分子と特異的にハイブリダイズするオリゴマー化合物を設計するプロセスを指す。

20

【 0 0 6 7 】

「異なる修飾がなされた」とは、修飾の不在を含めて、互いに異なる化学修飾または化学置換基を意味する。したがって、例えば、MOEヌクレオシドと無修飾DNAヌクレオシドは、DNAヌクレオシドが修飾されていなくても、「異なる修飾がなされている」という。同様に、DNAとRNAは、たとえそのどちらもが天然に存在する無修飾ヌクレオシドであったとしても、「異なる修飾がなされている」という。異なる核酸塩基を含んでいる点以外は同じであるヌクレオシドは、異なる修飾がなされているとは言わない。例えば、2' - OMe修飾糖及び無修飾アデニン核酸塩基を含むヌクレオシドと、2' - OMe修飾糖及び無修飾チミン核酸塩基を含むヌクレオシドとは、異なる修飾がなされているとは言わない。

30

【 0 0 6 8 】

「二本鎖」とは、互いにハイブリダイズしている 2 つの別個のオリゴマー化合物を指す。そのような二本鎖化合物は、生理的に妥当な条件下でハイブリダイゼーションを維持するのに十分な相補性が存在するのであれば、一方もしくは両方の鎖の一方もしくは両方の末端に 1 つ以上のハイブリダイズしていないヌクレオシド(オーバーハング)及び/または 1 つ以上のハイブリダイズしていない内部ヌクレオシド(ミスマッチ)を有しうる。

【 0 0 6 9 】

「有効量」とは、ある活性医薬剤を必要とする個体において所望する生理学的結果を実現するのに十分な前記活性医薬剤の量を意味する。有効量は、処置される個体の健康状態及び身体状態、処置される個体の分類群、組成物の製剤、個体の医学的状態の評価、及び他の関連因子に依存して個体間で変動しうる。

40

【 0 0 7 0 】

「効力」とは、所望の効果を生じさせる能力を意味する。

【 0 0 7 1 】

「発現」には、遺伝子にコードされている情報を、細胞中に存在し細胞中で作動する構造物へと変換する機能のすべてが含まれる。そのような構造物として、転写産物及び翻訳産物が挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 7 2 】

「完全に相補的」または「100%相補的」とは、第 1 核酸の各核酸塩基が第 2 核酸中に相補的核酸塩基を有することを意味する。特定の実施形態では、第 1 核酸がアンチセンス

50



化合物であり、標的核酸が第2核酸である。

【0073】

「フラノシル」とは、4つの炭素原子と1つの酸素原子とを含む5員環を含む構造を意味する。

【0074】

「ギャップマー」とは、キメラアンチセンス化合物であって、RNAase H切断を支持する複数のヌクレオシドを有する内側領域が、1つ以上のヌクレオシドを有する外側領域の間に配置されており、内側領域を構成するヌクレオシドが、外側領域を構成する1または複数のヌクレオシドと化学的に異なっているものを意味する。前記内側領域を「ギャップ」と呼び、前記外側領域を「ウイング」と呼ぶことができる。

10

【0075】

「ハロ」及び「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択される原子を意味する。

【0076】

「ヘテロアリール」及び「ヘテロ芳香族」とは、単環式もしくは多環式芳香族環、環系、または縮合環系を含むラジカルであって、前記環のうちの少なくとも1つが芳香族であり、かつ1つ以上のヘテロ原子を含むものを意味する。ヘテロアリールは、縮合環のうちの1つ以上がヘテロ原子を含有していない系を含む縮合環系も包含するものとする。ヘテロアリール基は、典型的には、硫黄、窒素、または酸素から選択される1つの環原子を含む。ヘテロアリール基の例として、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、チオフェニル、フラニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、キノキサリニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロアリールラジカルは、親分子に直接取り付けるか、または脂肪族基もしくはヘテロ原子などの連結部分を介して取り付けることができる。本明細書にいうヘテロアリール基は、場合によっては、さらなる置換基を含みうる。

20

【0077】

「ハイブリダイゼーション」とは、相補的核酸分子のアニーリングを意味する。特定の実施形態では、相補的核酸分子に、アンチセンス化合物と核酸標的が含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、相補的核酸分子に、アンチセンスオリゴヌクレオチドと核酸標的が含まれるが、これらに限定されない。

30

【0078】

「ある疾患、障害及び/または状態を有するか、またはそれらを有するリスクがある動物を同定する」とは、前記疾患、障害及び/または状態と診断された動物を同定すること、あるいは前記疾患、障害及び/または状態を発症する素因を有する動物を同定することを意味する。そのような同定は、個体の病歴を評価することや標準的な臨床検査または臨床評価を含む任意の方法によって達成することができる。

【0079】

「直接隣り合っている」とは、直接隣り合っている要素の間に介在する要素が存在しないことを意味する。

40

【0080】

「個体」とは、処置または治療のために選ばれたヒトまたはヒト以外の動物を意味する。

【0081】

「発現または活性を阻害する」とは、発現または活性の低減、遮断を指し、必ずしも発現または活性の完全な排除を示すわけではない。

【0082】

「ヌクレオシド間連結部」とは、ヌクレオシド間の化学結合を指す。

【0083】

「ヌクレオシド間中性連結基」とは、2つのヌクレオシドを直接連結する中性連結基を意味する。

50

## 【 0 0 8 4 】

「ヌクレオシド間リン連結基」とは、2つのヌクレオシドを直接連結するリン連結基を意味する。

## 【 0 0 8 5 】

「延長された」アンチセンスオリゴヌクレオチドは、本明細書に開示するアンチセンスオリゴヌクレオチドとの比較で、1つ以上の追加ヌクレオシドを有するものである。

## 【 0 0 8 6 】

「連結部モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドまたはその一領域における連結部修飾のパターンを意味する。そのようなオリゴヌクレオチドのヌクレオシドは修飾されていても無修飾でもよい。別段の表示がある場合を除き、連結部の説明しかない本明細書におけるモチーフは、連結部モチーフであるものとする。したがって、そのような事例では、ヌクレオシドは限定されない。

10

## 【 0 0 8 7 】

「連結されたデオキシヌクレオシド」とは、デオキシリボースで置換された核酸塩基（A、G、C、T、U）が、リン酸エステルで連結されているものを意味する。

## 【 0 0 8 8 】

「連結されたヌクレオシド」とは、ヌクレオシド間連結部によって一つに連結された隣り合うヌクレオシドを意味する。

## 【 0 0 8 9 】

「ロック核酸ヌクレオシド」または「LNA」とは、4'-CH<sub>2</sub>-O-2'橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

20

## 【 0 0 9 0 】

「ミスマッチ」または「非相補的核酸塩基」とは、第1核酸の核酸塩基が第2核酸または標的核酸の対応する核酸塩基と対合できない場合を指す。

## 【 0 0 9 1 】

「修飾ヌクレオシド間連結部」とは、天然に存在するヌクレオシド間結合（すなわちホスホジエステルヌクレオシド間結合）からの置換または何らかの改変を指す。

## 【 0 0 9 2 】

「修飾核酸塩基」とは、アデニン、シトシン、グアニン、チミジン、またはウラシル以外の任意の核酸塩基を意味する。「無修飾核酸塩基」とは、プリン塩基で（A）及びグアニン（G）、ならびにピリミジン塩基であるチミン（T）、シトシン（C）及びウラシル（U）を意味する。

30

## 【 0 0 9 3 】

「修飾ヌクレオシド」とは、修飾糖部分及び/または修飾核酸塩基を独立して有するヌクレオシドを意味する。

## 【 0 0 9 4 】

「修飾ヌクレオチド」とは、修飾糖部分、修飾ヌクレオチド間連結部、または修飾核酸塩基を独立して有するヌクレオチドを意味する。

## 【 0 0 9 5 】

「修飾オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間連結部、修飾糖、及び/または修飾核酸塩基を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

40

## 【 0 0 9 6 】

「修飾糖」とは、天然糖部分からの置換及び/または何らかの改変を意味する。

## 【 0 0 9 7 】

「調節する」とは、細胞、組織、器官または生物における特徴を変化させまたは調整することを指す。例えば、CFB mRNAを調節するとは、細胞、組織、器官、または生物におけるCFB mRNA及び/またはCFBタンパク質のレベルを増加または減少させることを意味する。「調節因子」は、細胞、組織、器官または生物における変化をもたらす。例えばCFBアンチセンス化合物は、細胞、組織、器官または生物におけるCFB mRNA及び/またはCFBタンパク質の量を減少させる調節因子であることができる。

50

## 【 0 0 9 8 】

「モノマー」とはオリゴマーの一単位を指す。モノマーとしては、天然に存在するものが修飾体かを問わず、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。

## 【 0 0 9 9 】

「単環式または多環式の環系」という用語は、単環式または縮合されもしくは連結された多環式のラジカル環系から選択されるすべての環系を包含するものとし、脂肪族、脂環式、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、アリールアルキル、複素環式、ヘテロアリール、ヘテロ芳香族、及びヘテロアリールアルキルから個別に選択される単一の環系及び混成環系を包含するものとする。そのような単環式及び多環式の構造は、それぞれが同一のレベルの飽和を有する環を含有するか、またはそれぞれが独立して、完全飽和、部分飽和、もしくは完全不飽和を含むさまざまな飽和度を有する環を含有することができる。各環は、複素環式環が生じるように、そしてまた、例えば一方の環が炭素環原子のみを有しかつ縮合している環が2つの窒素原子を有するベンズイミダゾールなどの混合モチーフに存在しうるC環原子のみを含む環が生じるように、C、N、O、及びSから選択される環原子を含むことができる。単環式または多環式の環系は、例えば一方の環に2つの=O基が取り付けられているフタルイミドのように、さらに置換基で置換することができる。単環式または多環式の環系は、環原子を介した直接結合、複数の環原子を介した縮合、置換基を介した結合、または二機能性連結部分を介した結合などといったさまざまな戦略を用いて、親分子に取り付けることができる。

## 【 0 1 0 0 】

「モチーフ」とは、アンチセンス化合物における無修飾ヌクレオシドと修飾ヌクレオシドのパターンを意味する。

## 【 0 1 0 1 】

「天然糖部分」とは、DNA (2' - H) またはRNA (2' - OH) に見いだされる糖部分を意味する。

## 【 0 1 0 2 】

「天然に存在するヌクレオシド間連結部」とは、3' 5' ホスホジエステル連結部を意味する。

## 【 0 1 0 3 】

「中性連結基」とは、荷電していない連結基を意味する。中性連結基には、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI (-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-)、アミド-3 (-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(H)-)、アミド-4 (-CH<sub>2</sub>-N(H)-C(=O)-)、ホルムアセタール (-O-CH<sub>2</sub>-O-)、及びチオホルムアセタール (-S-CH<sub>2</sub>-O-) などがあるが、これらに限定されない。さらに、中性連結基には、シロキサン (ジアルキルシロキサン)、カルボン酸エステル、カルボキサミド、硫化物、スルホン酸エステル、及びアミドを含む非イオン性連結部も含まれる (例えば「Carbohydrate Modifications in Antisense Research」Y. S. Sanghvi 及び P. D. Cook 編, ACS Symposium Series 580; Chapter 3 及び 4 (pp. 40 - 65) を参照されたい)。さらに、中性連結基には、混合N、O、S、及びCH<sub>2</sub>成分パーツを含む非イオン性連結部も含まれる。

## 【 0 1 0 4 】

「非相補的核酸塩基」とは、互いに水素結合を形成せず、他のいかなる形でもハイブリダイゼーションを支持することのない、一対の核酸塩基を指す。

## 【 0 1 0 5 】

「非ヌクレオシド間中性連結基」とは、2つのヌクレオシドを直接連結しない中性連結基を意味する。特定の実施形態では、非ヌクレオシド間中性連結基が、ヌクレオシドをヌクレオシド以外の基に連結する。特定の実施形態では、非ヌクレオシド間中性連結基は、どちらもヌクレオシドではない2つの基を連結する。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 0 6 】

「非ヌクレオシド間リン連結基」とは、2つのヌクレオシドを直接連結しないリン連結基を意味する。特定の実施形態では、非ヌクレオシド間リン連結基がヌクレオシドをヌクレオシド以外の基に連結する。特定の実施形態では、非ヌクレオシド間リン連結基が、どちらもヌクレオシドではない2つの基を連結する。

## 【 0 1 0 7 】

「核酸」とは、モノマー型ヌクレオチドで構成された分子を指す。核酸には、リボ核酸 (RNA)、デオキシリボ核酸 (DNA)、一本鎖核酸、及び二本鎖核酸などがあるが、これらに限定されない。

## 【 0 1 0 8 】

「核酸塩基」とは、もう一つの核酸の塩基と対合することができる複素環式部分を意味する。

## 【 0 1 0 9 】

「核酸塩基相補性」とは、もう一つ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) がチミン (T) と相補的である。例えばRNAでは、アデニン (A) がウラシル (U) と相補的である。特定の実施形態では、相補的核酸塩基とは、アンチセンス化合物の核酸塩基であって、その標的核酸の核酸塩基と塩基対合することができるものを指す。例えば、あるアンチセンス化合物の特定の位置にある核酸塩基が標的核酸の特定の位置にある核酸塩基と水素結合することができるなら、前記オリゴヌクレオチドと前記標的核酸の間の水素結合の位置は、それら核酸塩基対において相補的であるとみなされる。

## 【 0 1 1 0 】

「核酸塩基修飾モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドに沿った核酸塩基への修飾のパターンを意味する。別段の表示がある場合を除き、核酸塩基修飾モチーフは、核酸塩基配列に依存しない。

## 【 0 1 1 1 】

「核酸塩基配列」とは、連続する核酸塩基の順序を意味し、糖、連結部、及び/または核酸塩基修飾には依存しない。

## 【 0 1 1 2 】

「ヌクレオシド」とは、糖に連結された核酸塩基を意味する。

## 【 0 1 1 3 】

「ヌクレオシド模倣物」には、例えばモルホリノ、シクロヘキセニル、シクロヘキシル、テトラヒドロピラニル、ピシクロまたはトリシクロ糖模倣物、例えば非フラノース糖単位を有するヌクレオシド模倣物などといった、オリゴマー化合物の1つ以上の位置において糖または糖及び塩基を置き換えるため (連結部は必ずしも置き換えられない) に使用される構造が含まれる。ヌクレオチド模倣物には、例えばペプチド核酸またはモルホリノ ( $-N(H)-C(=O)-O-$  または他の非ホスホジエステル連結部によって連結されたモルホリノ) などといった、オリゴマー化合物の1つ以上の位置においてヌクレオシド及び連結部を置き換えるために使用される構造が含まれる。糖代用物は、わずかに広い意味を持つ用語であるヌクレオシド模倣物と一部重複するが、糖単位 (フラノース環) のみの置き換えを示すものとする。ここに提供するテトラヒドロピラニル環は、フラノース糖基がテトラヒドロピラニル環系で置き換えられた糖代用物の一例を例示するものである。「模倣物」とは、糖、核酸塩基、及び/またはヌクレオシド間連結部の代わりに使用される基を指す。一般的には、模倣物は、糖または糖-ヌクレオシド間連結部の組み合わせの代わりに使用され、核酸塩基は、選ばれたターゲットへのハイブリダイゼーションのために維持される。

## 【 0 1 1 4 】

「ヌクレオシドモチーフ」とは、オリゴヌクレオチドまたはその一領域におけるヌクレオシド修飾のパターンを意味する。そのようなオリゴヌクレオチドの連結部は修飾されていても無修飾であってもよい。別段の表示がある場合を除き、ヌクレオシドの説明しかない

10

20

30

40

50

本明細書におけるモチーフは、ヌクレオシドモチーフであるものとする。したがって、そのような事例では、連結部は限定されない。

【0115】

「ヌクレオチド」は、ヌクレオシドの糖部分にリン酸基が共有結合で連結されているヌクレオシドを意味する。

【0116】

「オリゴマー化合物」とは、連結されたモノマー型サブユニットのポリマーであって、核酸分子の少なくとも一領域にハイブリダイズすることができるものを意味する。

【0117】

「オリゴヌクレオシド」とは、ヌクレオシド間連結部がリン原子を含有しないオリゴヌクレオチドを意味する。

10

【0118】

「オリゴヌクレオチド」とは、連結されたヌクレオシドのポリマーを意味し、ヌクレオシドのそれぞれは互いに依存することなく修飾されていても無修飾でもよい。

【0119】

「非経口投与」とは、注射または注入による投与を意味する。非経口投与には、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、腹腔内投与、または頭蓋内投与、例えば髄腔内投与もしくは脳室内投与が含まれる。

【0120】

「医薬組成物」とは、個体への投与に適した物質の混合物を意味する。例えば医薬組成物は1つ以上の活性医薬剤と滅菌水溶液とを含みうる。

20

【0121】

「医薬上許容される塩」とは、アンチセンス化合物の生理学的かつ医薬的に許容される塩、すなわち、親オリゴヌクレオチドの望ましい生物学的活性を保持しており、しかも望ましくない毒性効果をそこに付与しない塩を意味する。

【0122】

「ホスホロチオエート連結部」とは、ホスホジエステル結合が非架橋酸素原子の1つを硫黄原子で置き換えることによって修飾されているヌクレオシド間の連結部を意味する。ホスホロチオエート連結部は修飾ヌクレオシド間連結部である。

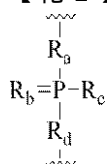
【0123】

「リン連結基」とは、リン原子を含む連結基を意味する。リン連結基には、以下の式を有する基が含まれるが、これに限定されない：

30

【0124】

【化2】



式中、

40

$R_a$  及び  $R_d$  はそれぞれ、独立して、O、S、 $CH_2$ 、NH、または  $NJ_1$  であり、 $J_1$  は、 $C_1 \sim C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、

$R_b$  は、OまたはSであり、

$R_c$  は、OH、SH、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、置換  $C_1 \sim C_6$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルコキシ、置換  $C_1 \sim C_6$  アルコキシ、アミノ、または置換アミノであり、

$J_1$  は、 $R_b$  は、OまたはSである。

リン連結基には、ホスホジエステル、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホネート、ホスホラミデート、ホスホロチオアミデート、チオノアルキルホスホネート、ホスホトリエステル、チオノアルキルホスホトリエステル、及びボラノホスフェートが含まれるが、これらに限定されない。

50

## 【0125】

「一部分 (portion)」とは、核酸の、所定の数の連続する (すなわち連結された) 核酸塩基を意味する。特定の実施形態では、一部分が、標的核酸の、所定の数の連続する核酸塩基である。特定の実施形態では、一部分が、アンチセンス化合物の、所定の数の連続する核酸塩基である。

## 【0126】

「防止」とは、数分から無限までのある期間にわたって、疾患、障害、または状態の発症、発生または進行を遅延させまたは未然に防ぐことを指す。防止は、疾患、障害、または状態が発生するリスクを低減することとも意味する。

## 【0127】

「プロドラッグ」とは、不活性な形態または活性が低い形態の化合物であって、対象に投与した場合に、代謝されることで活性なまたはより活性な化合物 (例えば薬物) を形成するものを意味する。

## 【0128】

「予防有効量」とは、動物に予防的利益または防止的利益を与える医薬剤の量を指す。

## 【0129】

「保護基」とは、当業者に知られている任意の化合物または保護基を意味する。保護基の非限定的な例は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる「Protective Groups in Organic Chemistry」T. W. Greene, P. G. M. Wuts, ISBN 0 - 471 - 62301 - 6, John Wiley & Sons, Inc, ニューヨークに見いだすことができる。

## 【0130】

「領域」は、少なくとも1つの同定可能な構造、機能、または特徴を有する標的核酸の一部と定義される。

## 【0131】

「リボヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの糖部分の2'位にヒドロキシを有するヌクレオチドを意味する。リボヌクレオチドはさまざまな置換基のいずれでも修飾することができる。

## 【0132】

「RISCベースのアンチセンス化合物」とは、当該アンチセンス化合物のアンチセンス活性の少なくとも一部がRNA誘導サイレンシング複合体 (RISC) に起因するアンチセンス化合物を意味する。

## 【0133】

「RNase Hベースのアンチセンス化合物」とは、当該アンチセンス化合物のアンチセンス活性の少なくとも一部が、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションと、それに続くRNase Hによる標的核酸の切断に起因する、アンチセンス化合物を意味する。

## 【0134】

「セグメント」は、標的核酸内の領域の、さらに小さな一部分または下位部分と定義される。

## 【0135】

「別個の領域」とは、オリゴヌクレオチドの複数の部分であって、任意の隣接する部分の化学修飾または化学修飾のモチーフが、当該別個の領域を互いに区別することを可能にする少なくとも1つの相違点を含むものを意味する。

## 【0136】

「配列モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドまたはその一部分に沿って配置された核酸塩基のパターンを意味する。別段の表示がある場合を除き、配列モチーフは化学修飾には依存しないので、化学修飾なしを含めて、化学修飾の任意の組み合わせを有しうる。

## 【0137】

「副作用」とは、処置に起因する所望の効果以外の生理学的疾患及び/または状態を意味

10

20

30

40

50

する。特定の実施形態では、副作用に、注射部位反応、肝機能検査異常、腎機能検査異常、肝毒性、腎毒性、中枢神経系異常、ミオパシー、及び倦怠感が含まれる。例えば、血清中のアミノトランスフェラーゼレベルの増加は、肝毒性または肝機能異常を示しうる。例えば、ビリルビンの増加は、肝毒性及び肝機能異常を示しうる。

【0138】

本明細書にいう「部位」は、標的核酸内のユニークな核酸塩基位置と定義される。

【0139】

「進行を減速する」とは、該疾患の発達の減少を意味する。

【0140】

「特異的にハイブリダイズ可能」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチドと標的核酸との間に、特異的結合が望まれる条件下で、すなわちインビボアッセイや治療的処置の場合は生理的条件下で、所望の効果を誘導すると共に非標的核酸には最小限の効果しか呈さないかまたは効果を全く呈さないような、十分な相補度を有するアンチセンス化合物を指す。「ストリンジントなハイブリダイゼーション条件」または「ストリンジントな条件」とは、オリゴマー化合物がそのターゲット配列にはハイブリダイズするが、他の配列にはごくわずかな数の配列にしかハイブリダイズしないような条件を指す。

【0141】

「対象」とは、処置または治療のために選択されたヒトまたはヒト以外の動物を意味する。

【0142】

「置換基 (substituent)」及び「置換基 (substituent group)」とは、指名された親化合物の原子または基を置換する原子または基を意味する。例えば、修飾ヌクレオシドの置換基は、天然に存在するヌクレオシドに見られる原子または基とは異なる任意の原子または基である (例えば修飾 2' - 置換基はヌクレオシドの 2' 位にある H または OH 以外の任意の原子または基である)。置換基は、保護されていても保護されていなくてもよい。特定の実施形態では、本開示の化合物は、親化合物の 1 つの位置または 2 つ以上の位置に置換基を有する。置換基は、他の置換基でさらに置換されていてもよく、親化合物に直接取り付けるか、またはアルキル基もしくはヒドロカルビル基などの連結基を介して取り付けることができる。

【0143】

同様に、本明細書において使用する場合、化学官能基に関して「置換基」とは、指名された官能基に通常存在する原子または原子団とは異なる原子または原子団を意味する。特定の実施形態では、置換基が官能基の水素原子を置き換える (例えば特定の実施形態では、置換メチル基の置換基は、無置換メチル基の水素原子のうちの 1 つを置き換える水素以外の原子または基である)。別段の表示がある場合を除き、置換基としての使用に適する基には、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキル、アルケニル、アルキニル、アシル (-C(O)Raa)、カルボキシル (-C(O)O-Raa)、脂肪族基、脂環式基、アルコキシ、置換オキシ (-O-Raa)、アリール、アラルキル、複素環式ラジカル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、アミノ (N(Rbb)(Rcc))、イミノ (=NRbb)、アミド (C(O)N(Rbb)(Rcc) または N(Rbb)C(O)Raa)、アジド (-N3)、ニトロ (NO2)、シアノ (-CN)、カルバミド (OC(O)N(Rbb)(Rcc) または N(Rbb)C(O)ORaa)、ウレイド (N(Rbb)C(O)N(Rbb)(Rcc))、チオウレイド (N(Rbb)C(S)N(Rbb)(Rcc))、グアニジニル (N(Rbb)C(=NRbb)N(Rbb)(Rcc))、アミジニル (C(=NRbb)N(Rbb)(Rcc) または N(Rbb)C(=NRbb)(Raa))、チオール (-SRbb)、スルフィニル (S(O)Rbb)、スルホニル (-S(O)2Rbb)、及びスルホンアミジル (-S(O)2N(Rbb)(Rcc) または N(Rbb)S(O)2Rbb) が含まれるが、これらに限定されない。式中、各 Raa、Rbb、及び Rcc は、独立して、H、場合によっては連結された化学官能基、またはさらなる置換基であり、好ましいものとしては、アルキル、アルケニル、アルキニル、脂肪族、アルコキシ、アシル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、脂環式

10

20

30

40

50

、複素環式、及びヘテロアリアルアルキルが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載する化合物内の選ばれた置換基は、再帰的に ( t o a r e c u r s i v e d e g r e e ) 存在する。

【 0 1 4 4 】

「置換糖部分」とは、天然に存在する糖部分ではないフラノシルを意味する。置換糖部分には、2'位、3'位、5'位及び/または4'位に置換基を含むフラノシルなどがあるが、これらに限定されない。特定の置換糖部分は二環式糖部分である。

【 0 1 4 5 】

「糖部分」とは、ヌクレオシドの天然に存在する糖部分または修飾糖部分を意味する。

【 0 1 4 6 】

「糖モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドまたはその一領域における糖修飾のパターンを意味する。

【 0 1 4 7 】

「糖代用物」とは、フラノシルを含まない構造であって、しかも、結果として生じるヌクレオチドサブユニットを一つに連結しかつ/または他のヌクレオチドに連結することで相補的なオリゴマー化合物にハイブリダイズすることができるオリゴマー化合物を形成することができるように、ヌクレオチドの天然に存在する糖部分を置き換えることができる構造を意味する。そのような構造には、フラノシルとは異なる数の原子を含むか(例えば4、6、または7員環)、または非酸素原子(例えば炭素、硫黄、もしくは窒素)によるフラノシルの酸素の置き換え、または原子数の変化と酸素の置き換えとの両方が含まれる。そのような構造は、置換糖部分(例えば場合によってはさらなる置換基を含む6員炭素環式二環式糖代用物)について記載したものに対応する置換も含みうる。糖代用物は、さらに複雑な糖の代替物(例えばペプチド核酸の非環系)も包含する。糖代用物には、モルホリノ、シクロヘキセニル及びシクロヘキシトールなどがあるが、これらに限定されない。

【 0 1 4 8 】

「標的」とは、調節することが望まれるタンパク質を指す。

【 0 1 4 9 】

「標的遺伝子」とは、標的をコードする遺伝子を指す。

【 0 1 5 0 】

「ターゲティング」とは、標的核酸に特異的にハイブリダイズして所望の効果を誘導することになるアンチセンス化合物を設計及び選択するプロセスを意味する。

【 0 1 5 1 】

「標的核酸」、「標的RNA」、「標的RNA転写産物」及び「核酸標的」は、いずれも、アンチセンス化合物の標的となりうる核酸を意味する。

【 0 1 5 2 】

「標的領域」とは、標的核酸のうち、1つ以上のアンチセンス化合物の標的となる部分を意味する。

【 0 1 5 3 】

「標的セグメント」とは、標的核酸のうち、アンチセンス化合物が標的とするヌクレオチドの配列を意味する。「5'標的部位」とは、標的セグメントの最も5'側のヌクレオチドを指す。「3'標的部位」とは、標的セグメントの最も3'側のヌクレオチドを指す。

【 0 1 5 4 】

「末端基」とは、オリゴヌクレオチドの3'末端もしくは5'末端のいずれか、またはそれらの両方に取り付けられた1つ以上の原子を意味する。特定の実施形態では、末端基が共役基である。特定の実施形態では、末端基が1つ以上の末端基ヌクレオチドを含む。

【 0 1 5 5 】

「末端ヌクレオチド間連結部」とは、オリゴヌクレオチドまたはその所定の領域の少なくとも2つのヌクレオチド間の連結部を意味する。

【 0 1 5 6 】

「治療有効量」とは、個体に治療的利益を与える医薬剤の量を意味する。

10

20

30

40

50



## 【 0 1 5 7 】

「処置する」とは、動物における疾患、障害、または状態の改変または改善を達成するために、前記動物に医薬組成物を投与することを指す。特定の実施形態では、1つ以上の医薬組成物を前記動物に投与することができる。

## 【 0 1 5 8 】

「無修飾」核酸塩基とは、プリン塩基であるアデニン（A）及びグアニン（G）、ならびにピリミジン塩基であるチミン（T）、シトシン（C）及びウラシル（U）を意味する。

## 【 0 1 5 9 】

「無修飾ヌクレオチド」とは、天然に存在する核酸塩基、糖部分及びヌクレオシド間連結部で構成されるヌクレオシドを意味する。特定の実施形態では、無修飾ヌクレオチドがRNAヌクレオチド（すなわち - D - リボヌクレオシド）またはDNAヌクレオチド（すなわち - D - デオキシリボヌクレオシド）である。

## 【 0 1 6 0 】

特定の実施形態

特定の実施形態は、補体B因子（CFB）発現を阻害するための方法、化合物及び組成物を提供する。

## 【 0 1 6 1 】

特定の実施形態は、CFB核酸を標的とするアンチセンス化合物を提供する。特定の実施形態では、前記CFB核酸が、GENBANKアクセッション番号NM\_\_001710.5（配列番号1として本明細書に組み込まれる）、ヌクレオチド31852000から31861000までを切り出したGENBANKアクセッション番号NT\_\_007592.15（配列番号2として本明細書に組み込まれる）、ヌクレオチド536000から545000までを切り出したGENBANKアクセッション番号NW\_\_001116486.1（配列番号3として本明細書に組み込まれる）、GENBANKアクセッション番号XM\_\_001113553.2（配列番号4として本明細書に組み込まれる）、またはGENBANKアクセッション番号NM\_\_008198.2（配列番号5として本明細書に組み込まれる）に示される配列を有する。

## 【 0 1 6 2 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、配列番号6～808の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有するものを提供する。

## 【 0 1 6 3 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、配列番号6～808の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも9個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有するものを提供する。

## 【 0 1 6 4 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、配列番号6～808の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも10個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有するものを提供する。

## 【 0 1 6 5 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、配列番号6～808の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも11個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有するものを提供する。

## 【 0 1 6 6 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、配列番号6～8

10

20

30

40

50

【 0 1 6 7 】

【 0 1 6 8 】

10

【 0 1 6 9 】

20

30

40

50

9 0、2 5 7 2 ~ 2 5 8 9、2 5 7 2 ~ 2 5 9 0、2 5 7 2 ~ 2 5 9 1、2 5 7 3 ~ 2 5  
 9 0、2 5 7 3 ~ 2 5 9 2、2 5 7 4 ~ 2 5 9 0、2 5 7 4 ~ 2 5 9 1、2 5 7 4 ~ 2  
 5 9 3、2 5 7 5 ~ 2 5 9 0、2 5 7 5 ~ 2 5 9 1、2 5 7 5 ~ 2 5 9 2、2 5 7 5 ~ 2  
 5 9 4、2 5 7 6 ~ 2 5 9 3、2 5 7 6 ~ 2 5 9 5、2 5 7 7 ~ 2 5 9 4、2 5 7 7 ~ 2  
 5 9 5、2 5 7 7 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 4、2 5 7 8 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2  
 5 9 7、2 5 7 9 ~ 2 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 6、2 5 8 0 ~ 2 5 9 7、2 5 8 0 ~ 2  
 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 5 9 7、2 5 8 1 ~ 2 5 9 8、2 5 8 1 ~ 2  
 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 5 9 8、2 5 8 2 ~ 2 5 9 9、2 5 8 2 ~ 2  
 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 5 9 9、2 5 8 3 ~ 2 6 0 0、2 5 8 3 ~ 2  
 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 1、2 5 8 4 ~ 2  
 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 1、2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2  
 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 1、2 5 8 6 ~ 2 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2  
 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 2、2 5 8 7 ~ 2 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 5、2 5 8 8 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 4、2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 9 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 6、2 5 9 0 ~ 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2 6 0 8、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2 6 0 8、2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 3 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、2 5 9 4 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 4 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、2 5 9 5 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 5 ~ 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 6 ~ 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 7 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 8 ~ 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 9 ~ 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 3 ~ 2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2  
 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、または 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1 内で相補  
 的な 1 0 ~ 3 0 個の連結されたヌクレオチドからなり、かつ該修飾オリゴヌクレオチドが  
 、配列番号 1 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または  
 1 0 0 % 相補的であるものを提供する。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 7 0 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号1の核酸塩基30～49、48～63、150～169、151～170、152～171、154～169、154～173、156～171、156～175、157～176、158～173、158～177、480～499、600～619、638～657、644～663、738～757、1089～1108、1135～1154、1141～1160、1147～1166、1150～1169、1153～1172、1159～1178、1162～1181、1165～1184、1171～1186、1171～1190、1173～1188、1173～1192、1175～1190、1175～1194、1177～1196、1183～1202、1208～1227、1235～1254、1298～1317、1304～1323、1310～1329、1316～1335、1319～1338、1322～1341、1328～1347、1349～1368、1355～1374、1393～1412、1396～1415、1399～1418、1405～1424、1421～1440、1621～1640、1646～1665、1646～1665、1647～1666、1689～1708、1749～1768、1763～1782、1912～1931、2073～2092、2085～2104、2166～2185、2172～2191、2189～2208、2191～2210、2193～2212、2195～2210、2195～2214、2196～2215、2197～2212、2197～2216、2202～2221、2223～2238、2223～2242、2225～2240、2226～2245、2227～2242、2227～2246、2238～2257、2241～2260、2267～2286、2361～2380、2388～2407、2397～2416、2448～2467、2453～2472、2455～2474、2457～2472、2457～2476、2459～2474、2459～2478、2461～2476、2461～2480、2532～2551、2550～2569、2551～2566、2551～2570、2552～2568、2552～2570、2552～2571、2553～2568、2553～2570、2553～2571、2553～2572、2554～2571、2554～2572、2554～2573、2555～2570、2555～2572、2555～2574、2556～2573、2556～2574、2556～2575、2557～2573、2557～2574、2557～2575、2557～2576、2558～2575、2558～2576、2558～2577、2559～2576、2559～2577、2559～2578、2560～2577、2560～2578、2560～2579、2561～2576、2561～2578、2561～2579、2561～2580、2562～2577、2562～2579、2562～2581、2563～2578、2563～2580、2563～2582、2564～2581、2564～2583、2565～2584、2566～2583、2566～2585、2567～2582、2567～2584、2567～2586、2568～2583、2568～2585、2568～2587、2569～2586、2569～2588、2570～2585、2570～2587、2570～2589、2571～2586、2571～2588、2571～2590、2572～2589、2572～2590、2572～2591、2573～2590、2573～2592、2574～2590、2574～2591、2574～2593、2575～2590、2575～2591、2575～2592、2575～2594、2576～2593、2576～2595、2577～2594、2577～2595、2577～2596、2578～2594、2578～2596、2578～2597、2579～2598、2580～2596、2580～2597、2580～2598、2581～2599、2581～2600、2582～2598、2582～2599、2582～2600、2582～2601、2583～2599、2583～2600、2583～2601、2583～2602、2584～2600、2584～2601、2584～2602

10

20

30

40

50

6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 1、2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2  
 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 1、2 5 8 6 ~ 2 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2  
 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 2、2 5 8 7 ~ 2 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 5、2 5 8 8 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 4、2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 9 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 6、2 5 9 0 ~ 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2 6 0 8、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2 6 0 8、2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 3 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、2 5 9 4 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 4 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、2 5 9 5 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 5 ~ 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 6 ~ 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 7 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 8 ~ 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 9 ~ 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 3 ~ 2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2  
 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、または 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1 のうちの  
 長さが等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続する核酸塩基部分を含む核酸塩基配列  
 を有する 1 0 ~ 3 0 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ前記修飾オリゴヌクレオ  
 チドの核酸塩基配列が、配列番号 1 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少な  
 くとも 9 5 %、または 1 0 0 % 相補的であるものを提供する。

#### 【 0 1 7 1 】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾  
 オリゴヌクレオチドが、配列番号 2 の核酸塩基 1 6 0 8 ~ 1 6 2 7、1 6 8 5 ~ 1 7 0 4  
 、1 6 8 6 ~ 1 7 0 5、1 7 5 1 ~ 1 7 7 0、1 7 6 9 ~ 1 7 8 4、1 8 7 1 ~ 1 8 9 0  
 、1 8 7 2 ~ 1 8 9 1、1 8 7 3 ~ 1 8 9 2、1 8 7 5 ~ 1 8 9 0、1 8 7 5 ~ 1 8 9 4  
 、1 8 7 7 ~ 1 8 9 2、1 8 7 7 ~ 1 8 9 6、1 8 7 8 ~ 1 8 9 7、1 8 7 9 ~ 1 8 9 4  
 、1 8 7 9 ~ 1 8 9 8、2 2 8 8 ~ 2 3 0 7、2 8 0 8 ~ 2 8 2 7、2 8 4 6 ~ 2 8 6 5  
 、2 8 5 2 ~ 2 8 7 1、2 9 4 6 ~ 2 9 6 5、3 7 7 3 ~ 3 7 9 2、3 8 1 9 ~ 3 8 3 8  
 、3 8 2 5 ~ 3 8 4 4、3 8 3 1 ~ 3 8 5 0、3 8 3 4 ~ 3 8 5 3、3 8 3 7 ~ 3 8 5 6

10

20

30

40

50

、 3 8 4 3 ~ 3 8 6 2、 4 1 5 1 ~ 4 1 6 6、 4 1 5 1 ~ 4 1 7 0、 4 1 5 3 ~ 4 1 7 2  
、 4 1 5 9 ~ 4 1 7 8、 4 1 8 4 ~ 4 2 0 3、 4 2 1 1 ~ 4 2 3 0、 4 6 0 9 ~ 4 6 2  
8、 4 6 1 2 ~ 4 6 3 1、 4 6 1 5 ~ 4 6 3 4、 4 6 2 1 ~ 4 6 4 0、 4 6 4 2 ~ 4 6 6  
1、 4 6 4 8 ~ 4 6 6 7、 4 6 8 6 ~ 4 7 0 5、 4 6 8 9 ~ 4 7 0 8、 4 6 9 2 ~ 4 7 1  
1、 4 6 9 8 ~ 4 7 1 7、 4 7 1 4 ~ 4 7 3 3、 5 2 7 0 ~ 5 2 8 9、 5 2 9 5 ~ 5 3 1  
4、 5 2 9 6 ~ 5 3 1 5、 5 8 3 0 ~ 5 8 4 9、 5 8 9 0 ~ 5 9 0 9、 5 9 0 4 ~ 5 9 2  
3、 6 4 0 6 ~ 6 4 2 5、 6 6 6 2 ~ 6 6 8 1、 6 6 7 4 ~ 6 6 9 3、 6 9 5 4 ~ 6 9 7  
3、 6 9 6 0 ~ 6 9 7 9、 6 9 7 7 ~ 6 9 9 6、 6 9 7 9 ~ 6 9 9 8、 6 9 8 1 ~ 7 0 0  
0、 6 9 8 3 ~ 6 9 9 8、 6 9 8 3 ~ 7 0 0 2、 6 9 8 4 ~ 7 0 0 3、 6 9 8 5 ~ 7 0 0  
0、 6 9 8 5 ~ 7 0 0 4、 6 9 9 0 ~ 7 0 0 9、 7 1 2 2 ~ 7 1 4 1、 7 1 2 5 ~ 7 1 4  
4、 7 1 5 1 ~ 7 1 7 0、 7 3 5 3 ~ 7 3 7 2、 7 3 6 2 ~ 7 3 8 1、 7 6 8 3 ~ 7 7 0  
2、 7 6 8 8 ~ 7 7 0 7、 7 6 9 0 ~ 7 7 0 9、 7 6 9 2 ~ 7 7 0 7、 7 6 9 2 ~ 7 7 1  
1、 7 6 9 4 ~ 7 7 0 9、 7 6 9 4 ~ 7 7 1 3、 7 6 9 6 ~ 7 7 1 1、 7 6 9 6 ~ 7 7 1  
5、 7 7 6 7 ~ 7 7 8 6、 7 7 8 5 ~ 7 8 0 4、 7 7 8 6 ~ 7 8 0 1、 7 7 8 7 ~ 7 8 0  
3、 7 7 8 7 ~ 7 8 0 5、 7 7 8 7 ~ 7 8 0 6、 7 7 8 8 ~ 7 8 0 3、 7 7 8 8 ~ 7 8 0  
5、 7 7 8 8 ~ 7 8 0 6、 7 7 8 8 ~ 7 8 0 7、 7 7 8 9 ~ 7 8 0 6、 7 7 8 9 ~ 7 8 0  
7、 7 7 8 9 ~ 7 8 0 8、 7 7 9 0 ~ 7 8 0 5、 7 7 9 0 ~ 7 8 0 7、 7 7 9 0 ~ 7 8 0  
9、 7 7 9 1 ~ 7 8 0 8、 7 7 9 1 ~ 7 8 0 9、 7 7 9 1 ~ 7 8 1 0、 7 7 9 2 ~ 7 8 0  
8、 7 7 9 2 ~ 7 8 0 9、 7 7 9 2 ~ 7 8 1 0、 7 7 9 2 ~ 7 8 1 1、 7 7 9 3 ~ 7 8 1  
0、 7 7 9 3 ~ 7 8 1 1、 7 7 9 3 ~ 7 8 1 2、 7 7 9 4 ~ 7 8 1 1、 7 7 9 4 ~ 7 8 1  
2、 7 7 9 4 ~ 7 8 1 3、 7 7 9 5 ~ 7 8 1 2、 7 7 9 5 ~ 7 8 1 3、 7 7 9 5 ~ 7 8 1  
4、 7 7 9 6 ~ 7 8 1 1、 7 7 9 6 ~ 7 8 1 3、 7 7 9 6 ~ 7 8 1 4、 7 7 9 6 ~ 7 8 1  
5、 7 7 9 7 ~ 7 8 1 2、 7 7 9 7 ~ 7 8 1 4、 7 7 9 7 ~ 7 8 1 6、 7 7 9 8 ~ 7 8 1  
3、 7 7 9 8 ~ 7 8 1 5、 7 7 9 8 ~ 7 8 1 7、 7 7 9 9 ~ 7 8 1 6、 7 7 9 9 ~ 7 8 1  
8、 7 8 0 0 ~ 7 8 1 9、 7 8 0 1 ~ 7 8 1 8、 7 8 0 1 ~ 7 8 2 0、 7 8 0 2 ~ 7 8 1  
7、 7 8 0 2 ~ 7 8 1 9、 7 8 0 2 ~ 7 8 2 1、 7 8 0 3 ~ 7 8 1 8、 7 8 0 3 ~ 7 8 2  
0、 7 8 0 3 ~ 7 8 2 2、 7 8 0 4 ~ 7 8 2 1、 7 8 0 4 ~ 7 8 2 3、 7 8 0 5 ~ 7 8 2  
0、 7 8 0 5 ~ 7 8 2 2、 7 8 0 5 ~ 7 8 2 4、 7 8 0 6 ~ 7 8 2 1、 7 8 0 6 ~ 7 8 2  
3、 7 8 0 6 ~ 7 8 2 5、 7 8 0 7 ~ 7 8 2 4、 7 8 0 7 ~ 7 8 2 5、 7 8 0 7 ~ 7 8 2  
6、 7 8 0 8 ~ 7 8 2 5、 7 8 0 8 ~ 7 8 2 7、 7 8 0 9 ~ 7 8 2 5、 7 8 0 9 ~ 7 8 2  
6、 7 8 0 9 ~ 7 8 2 8、 7 8 1 0 ~ 7 8 2 5、 7 8 1 0 ~ 7 8 2 6、 7 8 1 0 ~ 7 8 2  
7、 7 8 1 0 ~ 7 8 2 9、 7 8 1 1 ~ 7 8 2 8、 7 8 1 1 ~ 7 8 3 0、 7 8 1 2 ~ 7 8 2  
9、 7 8 1 2 ~ 7 8 3 0、 7 8 1 2 ~ 7 8 3 1、 7 8 1 3 ~ 7 8 2 9、 7 8 1 3 ~ 7 8 3  
1、 7 8 1 3 ~ 7 8 3 2、 7 8 1 4 ~ 7 8 3 3、 7 8 1 5 ~ 7 8 3 1、 7 8 1 5 ~ 7 8 3  
2、 7 8 1 5 ~ 7 8 3 3、 7 8 1 5 ~ 7 8 3 4、 7 8 1 6 ~ 7 8 3 2、 7 8 1 6 ~ 7 8 3  
3、 7 8 1 6 ~ 7 8 3 4、 7 8 1 6 ~ 7 8 3 5、 7 8 1 7 ~ 7 8 3 3、 7 8 1 7 ~ 7 8 3  
4、 7 8 1 7 ~ 7 8 3 5、 7 8 1 7 ~ 7 8 3 6、 7 8 1 8 ~ 7 8 3 4、 7 8 1 8 ~ 7 8 3  
5、 7 8 1 8 ~ 7 8 3 6、 7 8 1 8 ~ 7 8 3 7、 7 8 1 9 ~ 7 8 3 5、 7 8 1 9 ~ 7 8 3  
6、 7 8 1 9 ~ 7 8 3 7、 7 8 1 9 ~ 7 8 3 8、 7 8 2 0 ~ 7 8 3 6、 7 8 2 0 ~ 7 8 3  
8、 7 8 2 0 ~ 7 8 3 9、 7 8 2 1 ~ 7 8 3 6、 7 8 2 1 ~ 7 8 3 7、 7 8 2 1 ~ 7 8 3  
9、 7 8 2 1 ~ 7 8 4 0、 7 8 2 2 ~ 7 8 3 7、 7 8 2 2 ~ 7 8 3 8、 7 8 2 2 ~ 7 8 4  
0、 7 8 2 2 ~ 7 8 4 1、 7 8 2 3 ~ 7 8 3 8、 7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、 7 8 2 3 ~ 7 8 3  
9、 7 8 2 3 ~ 7 8 4 0、 7 8 2 3 ~ 7 8 4 1、 7 8 2 3 ~ 7 8 4 2、 7 8 2 4 ~ 7 8 3  
9、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 0、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 0、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 1、 7 8 2 4 ~ 7 8 4  
2、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 3、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 0、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 1、 7 8 2 5 ~ 7 8 4  
2、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 3、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 4、 7 8 2 6 ~ 7 8 4 2、 7 8 2 6 ~ 7 8 4  
3、 7 8 2 6 ~ 7 8 4 4、 7 8 2 6 ~ 7 8 4 5、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 2、 7 8 2 7 ~ 7 8 4  
3、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 4、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 5、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 6、 7 8 2 8 ~ 7 8 4  
3、 7 8 2 8 ~ 7 8 4 4、 7 8 2 8 ~ 7 8 4 5、 7 8 2 8 ~ 7 8 4 7、 7 8 2 9 ~ 7 8 4  
4、 7 8 2 9 ~ 7 8 4 5、 7 8 2 9 ~ 7 8 4 6、 7 8 2 9 ~ 7 8 4 7、 7 8 2 9 ~ 7 8 4

10

20

30

40

50

8、7830～7845、7830～7846、7830～7847、7830～7848、7830～7849、7831～7846、7831～7847、7831～7848、7831～7849、7831～7850、7832～7847、7832～7848、7832～7849、7832～7850、7832～7851、7833～7848、7833～7849、7833～7850、7833～7851、7833～7852、7834～7849、7834～7850、7834～7851、7834～7852、7834～7853、7835～7850、7835～7851、7835～7852、7835～7853、7835～7854、7836～7851、7836～7852、7836～7853、7836～7854、7836～7855、7837～7852、7837～7853、7837～7854、7837～7855、7837～7856、7838～7853、7838～7854、7838～7855、7838～7856、7838～7857、7839～7854、7839～7855、7839～7856、7839～7857、7839～7858、7840～7855、7840～7856、7840～7857、7840～7858、7840～7859、7841～7856、7841～7857、7841～7858、7841～7859、7841～7860、7842～7857、7842～7858、7842～7859、7842～7860、7842～7861、7843～7858、7843～7859、7843～7860、7843～7861、7843～7862、7844～7859、7844～7860、7844～7861、7844～7862、7845～7860、7845～7861、7845～7862、7846～7861、または7846～7862内で相補的な10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、該修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号2に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的であるものを提供する。

#### 【0172】

特定の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号2の核酸塩基1608～1627、1685～1704、1686～1705、1751～1770、1769～1784、1871～1890、1872～1891、1873～1892、1875～1890、1875～1894、1877～1892、1877～1896、1878～1897、1879～1894、1879～1898、2288～2307、2808～2827、2846～2865、2852～2871、2946～2965、3773～3792、3819～3838、3825～3844、3831～3850、3834～3853、3837～3856、3843～3862、4151～4166、4151～4170、4153～4172、4159～4178、4184～4203、4211～4230、4609～4628、4612～4631、4615～4634、4621～4640、4642～4661、4648～4667、4686～4705、4689～4708、4692～4711、4698～4717、4714～4733、5270～5289、5295～5314、5296～5315、5830～5849、5890～5909、5904～5923、6406～6425、6662～6681、6674～6693、6954～6973、6960～6979、6977～6996、6979～6998、6981～7000、6983～6998、6983～7002、6984～7003、6985～7000、6985～7004、6990～7009、7122～7141、7125～7144、7151～7170、7353～7372、7362～7381、7683～7702、7688～7707、7690～7709、7692～7707、7692～7711、7694～7709、7694～7713、7696～7711、7696～7715、7767～7786、7785～7804、7786～7801、7787～7803、7787～7805、7787～7806、7788～7803、7788～7805、7788～7806、7788～7807、7789～7806、7789～7807、7789～7808、7790～7805、7790～7807、7790～7809、7791～7808、7791～7809、7791～7810、7792～7808

、 7 7 9 2 ~ 7 8 0 9 、 7 7 9 2 ~ 7 8 1 0 、 7 7 9 2 ~ 7 8 1 1 、 7 7 9 3 ~ 7 8 1 0  
 、 7 7 9 3 ~ 7 8 1 1 、 7 7 9 3 ~ 7 8 1 2 、 7 7 9 4 ~ 7 8 1 1 、 7 7 9 4 ~ 7 8 1  
 2 、 7 7 9 4 ~ 7 8 1 3 、 7 7 9 5 ~ 7 8 1 2 、 7 7 9 5 ~ 7 8 1 3 、 7 7 9 5 ~ 7 8 1  
 4 、 7 7 9 6 ~ 7 8 1 1 、 7 7 9 6 ~ 7 8 1 3 、 7 7 9 6 ~ 7 8 1 4 、 7 7 9 6 ~ 7 8 1  
 5 、 7 7 9 7 ~ 7 8 1 2 、 7 7 9 7 ~ 7 8 1 4 、 7 7 9 7 ~ 7 8 1 6 、 7 7 9 8 ~ 7 8 1  
 3 、 7 7 9 8 ~ 7 8 1 5 、 7 7 9 8 ~ 7 8 1 7 、 7 7 9 9 ~ 7 8 1 6 、 7 7 9 9 ~ 7 8 1  
 8 、 7 8 0 0 ~ 7 8 1 9 、 7 8 0 1 ~ 7 8 1 8 、 7 8 0 1 ~ 7 8 2 0 、 7 8 0 2 ~ 7 8 1  
 7 、 7 8 0 2 ~ 7 8 1 9 、 7 8 0 2 ~ 7 8 2 1 、 7 8 0 3 ~ 7 8 1 8 、 7 8 0 3 ~ 7 8 2  
 0 、 7 8 0 3 ~ 7 8 2 2 、 7 8 0 4 ~ 7 8 2 1 、 7 8 0 4 ~ 7 8 2 3 、 7 8 0 5 ~ 7 8 2  
 0 、 7 8 0 5 ~ 7 8 2 2 、 7 8 0 5 ~ 7 8 2 4 、 7 8 0 6 ~ 7 8 2 1 、 7 8 0 6 ~ 7 8 2  
 3 、 7 8 0 6 ~ 7 8 2 5 、 7 8 0 7 ~ 7 8 2 4 、 7 8 0 7 ~ 7 8 2 5 、 7 8 0 7 ~ 7 8 2  
 6 、 7 8 0 8 ~ 7 8 2 5 、 7 8 0 8 ~ 7 8 2 7 、 7 8 0 9 ~ 7 8 2 5 、 7 8 0 9 ~ 7 8 2  
 6 、 7 8 0 9 ~ 7 8 2 8 、 7 8 1 0 ~ 7 8 2 5 、 7 8 1 0 ~ 7 8 2 6 、 7 8 1 0 ~ 7 8 2  
 7 、 7 8 1 0 ~ 7 8 2 9 、 7 8 1 1 ~ 7 8 2 8 、 7 8 1 1 ~ 7 8 3 0 、 7 8 1 2 ~ 7 8 2  
 9 、 7 8 1 2 ~ 7 8 3 0 、 7 8 1 2 ~ 7 8 3 1 、 7 8 1 3 ~ 7 8 2 9 、 7 8 1 3 ~ 7 8 3  
 1 、 7 8 1 3 ~ 7 8 3 2 、 7 8 1 4 ~ 7 8 3 3 、 7 8 1 5 ~ 7 8 3 1 、 7 8 1 5 ~ 7 8 3  
 2 、 7 8 1 5 ~ 7 8 3 3 、 7 8 1 5 ~ 7 8 3 4 、 7 8 1 6 ~ 7 8 3 2 、 7 8 1 6 ~ 7 8 3  
 3 、 7 8 1 6 ~ 7 8 3 4 、 7 8 1 6 ~ 7 8 3 5 、 7 8 1 7 ~ 7 8 3 3 、 7 8 1 7 ~ 7 8 3  
 4 、 7 8 1 7 ~ 7 8 3 5 、 7 8 1 7 ~ 7 8 3 6 、 7 8 1 8 ~ 7 8 3 4 、 7 8 1 8 ~ 7 8 3  
 5 、 7 8 1 8 ~ 7 8 3 6 、 7 8 1 8 ~ 7 8 3 7 、 7 8 1 9 ~ 7 8 3 5 、 7 8 1 9 ~ 7 8 3  
 6 、 7 8 1 9 ~ 7 8 3 7 、 7 8 1 9 ~ 7 8 3 8 、 7 8 2 0 ~ 7 8 3 6 、 7 8 2 0 ~ 7 8 3  
 8 、 7 8 2 0 ~ 7 8 3 9 、 7 8 2 1 ~ 7 8 3 6 、 7 8 2 1 ~ 7 8 3 7 、 7 8 2 1 ~ 7 8 3  
 9 、 7 8 2 1 ~ 7 8 4 0 、 7 8 2 2 ~ 7 8 3 7 、 7 8 2 2 ~ 7 8 3 8 、 7 8 2 2 ~ 7 8 4  
 0 、 7 8 2 2 ~ 7 8 4 1 、 7 8 2 3 ~ 7 8 3 8 、 7 8 2 3 ~ 7 8 3 9 、 7 8 2 3 ~ 7 8 3  
 9 、 7 8 2 3 ~ 7 8 4 0 、 7 8 2 3 ~ 7 8 4 1 、 7 8 2 3 ~ 7 8 4 2 、 7 8 2 4 ~ 7 8 3  
 9 、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 0 、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 0 、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 1 、 7 8 2 4 ~ 7 8 4  
 2 、 7 8 2 4 ~ 7 8 4 3 、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 0 、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 1 、 7 8 2 5 ~ 7 8 4  
 2 、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 3 、 7 8 2 5 ~ 7 8 4 4 、 7 8 2 6 ~ 7 8 4 2 、 7 8 2 6 ~ 7 8 4  
 3 、 7 8 2 6 ~ 7 8 4 4 、 7 8 2 6 ~ 7 8 4 5 、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 2 、 7 8 2 7 ~ 7 8 4  
 3 、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 4 、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 5 、 7 8 2 7 ~ 7 8 4 6 、 7 8 2 8 ~ 7 8 4  
 3 、 7 8 2 8 ~ 7 8 4 4 、 7 8 2 8 ~ 7 8 4 5 、 7 8 2 8 ~ 7 8 4 7 、 7 8 2 9 ~ 7 8 4  
 4 、 7 8 2 9 ~ 7 8 4 5 、 7 8 2 9 ~ 7 8 4 6 、 7 8 2 9 ~ 7 8 4 7 、 7 8 2 9 ~ 7 8 4  
 8 、 7 8 3 0 ~ 7 8 4 5 、 7 8 3 0 ~ 7 8 4 6 、 7 8 3 0 ~ 7 8 4 7 、 7 8 3 0 ~ 7 8 4  
 8 、 7 8 3 0 ~ 7 8 4 9 、 7 8 3 1 ~ 7 8 4 6 、 7 8 3 1 ~ 7 8 4 7 、 7 8 3 1 ~ 7 8 4  
 8 、 7 8 3 1 ~ 7 8 4 9 、 7 8 3 1 ~ 7 8 5 0 、 7 8 3 2 ~ 7 8 4 7 、 7 8 3 2 ~ 7 8 4  
 8 、 7 8 3 2 ~ 7 8 4 9 、 7 8 3 2 ~ 7 8 5 0 、 7 8 3 2 ~ 7 8 5 1 、 7 8 3 3 ~ 7 8 4  
 8 、 7 8 3 3 ~ 7 8 4 9 、 7 8 3 3 ~ 7 8 5 0 、 7 8 3 3 ~ 7 8 5 1 、 7 8 3 3 ~ 7 8 5  
 2 、 7 8 3 4 ~ 7 8 4 9 、 7 8 3 4 ~ 7 8 5 0 、 7 8 3 4 ~ 7 8 5 1 、 7 8 3 4 ~ 7 8 5  
 2 、 7 8 3 4 ~ 7 8 5 3 、 7 8 3 5 ~ 7 8 5 0 、 7 8 3 5 ~ 7 8 5 1 、 7 8 3 5 ~ 7 8 5  
 2 、 7 8 3 5 ~ 7 8 5 3 、 7 8 3 5 ~ 7 8 5 4 、 7 8 3 6 ~ 7 8 5 1 、 7 8 3 6 ~ 7 8 5  
 2 、 7 8 3 6 ~ 7 8 5 3 、 7 8 3 6 ~ 7 8 5 4 、 7 8 3 6 ~ 7 8 5 5 、 7 8 3 7 ~ 7 8 5  
 2 、 7 8 3 7 ~ 7 8 5 3 、 7 8 3 7 ~ 7 8 5 4 、 7 8 3 7 ~ 7 8 5 5 、 7 8 3 7 ~ 7 8 5  
 6 、 7 8 3 8 ~ 7 8 5 3 、 7 8 3 8 ~ 7 8 5 4 、 7 8 3 8 ~ 7 8 5 5 、 7 8 3 8 ~ 7 8 5  
 6 、 7 8 3 8 ~ 7 8 5 7 、 7 8 3 9 ~ 7 8 5 4 、 7 8 3 9 ~ 7 8 5 5 、 7 8 3 9 ~ 7 8 5  
 6 、 7 8 3 9 ~ 7 8 5 7 、 7 8 3 9 ~ 7 8 5 8 、 7 8 4 0 ~ 7 8 5 5 、 7 8 4 0 ~ 7 8 5  
 6 、 7 8 4 0 ~ 7 8 5 7 、 7 8 4 0 ~ 7 8 5 8 、 7 8 4 0 ~ 7 8 5 9 、 7 8 4 1 ~ 7 8 5  
 6 、 7 8 4 1 ~ 7 8 5 7 、 7 8 4 1 ~ 7 8 5 8 、 7 8 4 1 ~ 7 8 5 9 、 7 8 4 1 ~ 7 8 6  
 0 、 7 8 4 2 ~ 7 8 5 7 、 7 8 4 2 ~ 7 8 5 8 、 7 8 4 2 ~ 7 8 5 9 、 7 8 4 2 ~ 7 8 6  
 0 、 7 8 4 2 ~ 7 8 6 1 、 7 8 4 3 ~ 7 8 5 8 、 7 8 4 3 ~ 7 8 5 9 、 7 8 4 3 ~ 7 8 6  
 0 、 7 8 4 3 ~ 7 8 6 1 、 7 8 4 3 ~ 7 8 6 2 、 7 8 4 4 ~ 7 8 5 9 、 7 8 4 4 ~ 7 8 6

10

20

30

40

50



【 0 1 7 3 】

50

8 7、2 5 6 9 ~ 2 5 8 6、2 5 6 9 ~ 2 5 8 8、2 5 7 0 ~ 2 5 8 5、2 5 7 0 ~ 2 5  
 8 7、2 5 7 0 ~ 2 5 8 9、2 5 7 1 ~ 2 5 8 6、2 5 7 1 ~ 2 5 8 8、2 5 7 1 ~ 2  
 5 9 0、2 5 7 2 ~ 2 5 8 9、2 5 7 2 ~ 2 5 9 0、2 5 7 2 ~ 2 5 9 1、2 5 7 3 ~ 2  
 5 9 0、2 5 7 3 ~ 2 5 9 2、2 5 7 4 ~ 2 5 9 0、2 5 7 4 ~ 2 5 9 1、2 5 7 4 ~ 2  
 5 9 3、2 5 7 5 ~ 2 5 9 0、2 5 7 5 ~ 2 5 9 1、2 5 7 5 ~ 2 5 9 2、2 5 7 5 ~ 2  
 5 9 4、2 5 7 6 ~ 2 5 9 3、2 5 7 6 ~ 2 5 9 5、2 5 7 7 ~ 2 5 9 4、2 5 7 7 ~ 2  
 5 9 5、2 5 7 7 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 4、2 5 7 8 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2  
 5 9 7、2 5 7 9 ~ 2 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 6、2 5 8 0 ~ 2 5 9 7、2 5 8 0 ~ 2  
 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 5 9 7、2 5 8 1 ~ 2 5 9 8、2 5 8 1 ~ 2  
 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 5 9 8、2 5 8 2 ~ 2 5 9 9、2 5 8 2 ~ 2  
 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 5 9 9、2 5 8 3 ~ 2 6 0 0、2 5 8 3 ~ 2  
 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 1、2 5 8 4 ~ 2  
 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 1、2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2  
 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 1、2 5 8 6 ~ 2 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2  
 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 2、2 5 8 7 ~ 2 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 5、2 5 8 8 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 4、2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2  
 6 0 6、2 5 8 9 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 6、2 5 9 0 ~ 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2 6 0 8、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2 6 0 8、2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2  
 6 1 0、2 5 9 3 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、2 5 9 4 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 4 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、2 5 9 5 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 5 ~ 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 6 ~ 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 7 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 8 ~ 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 4、2 5 9 9 ~ 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 3 ~ 2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2  
 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2  
 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、及び 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1。

【 0 1 7 4 】

10

20

30

40

50

50

4、7817～7835、7817～7836、7818～7834、7818～783  
 5、7818～7836、7818～7837、7819～7835、7819～783  
 6、7819～7837、7819～7838、7820～7836、7820～783  
 8、7820～7839、7821～7836、7821～7837、7821～783  
 9、7821～7840、7822～7837、7822～7838、7822～784  
 0、7822～7841、7823～7838、7823～7839、7823～783  
 9、7823～7840、7823～7841、7823～7842、7824～783  
 9、7824～7840、7824～7840、7824～7841、7824～784  
 2、7824～7843、7825～7840、7825～7841、7825～784  
 2、7825～7843、7825～7844、7826～7842、7826～784  
 3、7826～7844、7826～7845、7827～7842、7827～784  
 3、7827～7844、7827～7845、7827～7846、7828～784  
 3、7828～7844、7828～7845、7828～7847、7829～784  
 4、7829～7845、7829～7846、7829～7847、7829～784  
 8、7830～7845、7830～7846、7830～7847、7830～784  
 8、7830～7849、7831～7846、7831～7847、7831～784  
 8、7831～7849、7831～7850、7832～7847、7832～784  
 8、7832～7849、7832～7850、7832～7851、7833～784  
 8、7833～7849、7833～7850、7833～7851、7833～785  
 2、7834～7849、7834～7850、7834～7851、7834～785  
 2、7834～7853、7835～7850、7835～7851、7835～785  
 2、7835～7853、7835～7854、7836～7851、7836～785  
 2、7836～7853、7836～7854、7836～7855、7837～785  
 2、7837～7853、7837～7854、7837～7855、7837～785  
 6、7838～7853、7838～7854、7838～7855、7838～785  
 6、7838～7857、7839～7854、7839～7855、7839～785  
 6、7839～7857、7839～7858、7840～7855、7840～785  
 6、7840～7857、7840～7858、7840～7859、7841～785  
 6、7841～7857、7841～7858、7841～7859、7841～786  
 0、7842～7857、7842～7858、7842～7859、7842～786  
 0、7842～7861、7843～7858、7843～7859、7843～786  
 0、7843～7861、7843～7862、7844～7859、7844～786  
 0、7844～7861、7844～7862、7845～7860、7845～786  
 1、7845～7862、7846～7861、及び7846～7862。

#### 【0175】

特定の実施形態では、化合物が、共役体とCFB核酸の3'UTRを標的とする修飾オリゴヌクレオチドとを含むか、またはそれらからなる。特定の態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号1の核酸塩基配列を有するCFB核酸のヌクレオチド2574～2626内を標的とする。特定の態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号1の核酸塩基配列を有するCFB核酸のヌクレオチド2574～2626内の長さが等しい部分に相補的な少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、または16個の連続する核酸塩基部分を有する。

#### 【0176】

特定の実施形態では、化合物が、共役体と、配列番号1の核酸塩基配列を有するCFB核酸のうち核酸塩基2457～2631、2457～2472、2457～2474、2457～2476、2457～2566、2457～2570、2457～2571、2457～2572、2457～2573、2457～2574、2457～2575、2457～2576、2457～2577、2457～2578、2457～2579、2457～2580、2457～2581、2457～2582、2457～2583、2457～2584、2457～2585、2457～2586、2457～2587、24

10

20

30

40

50

50

|   |   |       |   |   |    |   |   |   |       |   |   |    |   |   |   |       |   |   |    |   |   |   |       |   |   |    |   |    |  |
|---|---|-------|---|---|----|---|---|---|-------|---|---|----|---|---|---|-------|---|---|----|---|---|---|-------|---|---|----|---|----|--|
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 5 | 9 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 5 | 9 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 5 | 9 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 5 | 9 | 9、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 3、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 7、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 0 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 1、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 5、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 1 | 9、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 3、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 7、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 2 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 3 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 1 ~ 2 | 6 | 3 | 1、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 3、 | 2 | 10 |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 7、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 7 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 1、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 5、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 8 | 9、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 3、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 7、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 5 | 9 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 1、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 5、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 0 | 9、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 3、 | 2 | 20 |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 7、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 1 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 1、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 5、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 2 | 9、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 3 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 3 ~ 2 | 6 | 3 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 4、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 8、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 7 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 2、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 6、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 8 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 0、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 4、 | 2 | 30 |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 8、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 5 | 9 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 2、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 6、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 0 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 0、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 4、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 8、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 1 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 2、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 6、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 2 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 3 | 0、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 4 ~ 2 | 6 | 3 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 4、 | 2 | 40 |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 8、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 7 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 2、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 6、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 8 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 0、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 4、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 6、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 8、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 5 | 9 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 0、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 2、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 4、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 5、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 6、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 7、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 8、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 0 | 9、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 1 | 0、 | 2 |    |  |
| 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 1 | 1、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 1 | 2、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 1 | 3、 | 2 | 5 | 5 | 5 ~ 2 | 6 | 1 | 4、 | 2 | 50 |  |

20

50

[illegible]



50

50

50

30

50

10  
20  
30  
40  
50

50

~ 2 6 2 6、2 5 9 7 ~ 2 6 2 7、2 5 9 7 ~ 2 6 2 8、2 5 9 7 ~ 2 6 2 9、2 5 9 7  
 ~ 2 6 3 0、2 5 9 7 ~ 2 6 3 1、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 4、2 5 9 8  
 ~ 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 8 ~ 2 6 1 8、2 5 9 8  
 ~ 2 6 1 9、2 5 9 8 ~ 2 6 2 0、2 5 9 8 ~ 2 6 2 1、2 5 9 8 ~ 2 6 2 2、2 5 9 8  
 ~ 2 6 2 3、2 5 9 8 ~ 2 6 2 4、2 5 9 8 ~ 2 6 2 5、2 5 9 8 ~ 2 6 2 6、2 5 9 8  
 ~ 2 6 2 7、2 5 9 8 ~ 2 6 2 8、2 5 9 8 ~ 2 6 2 9、2 5 9 8 ~ 2 6 3 0、2 5 9 8  
 ~ 2 6 3 1、2 5 9 9 ~ 2 6 1 4、2 5 9 9 ~ 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9  
 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 8、2 5 9 9 ~ 2 6 1 9、2 5 9 9 ~ 2 6 2 0、2 5 9 9  
 ~ 2 6 2 1、2 5 9 9 ~ 2 6 2 2、2 5 9 9 ~ 2 6 2 3、2 5 9 9 ~ 2 6 2 4、2 5 9 9 ~

10

2 6 2 5、2 5 9 9 ~ 2 6 2 6、2 5 9 9 ~ 2 6 2 7、2 5 9 9 ~ 2 6 2 8、2 5 9 9 ~  
 2 6 2 9、2 5 9 9 ~ 2 6 3 0、2 5 9 9 ~ 2 6 3 1、2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~  
 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 0 ~  
 2 6 2 0、2 6 0 0 ~ 2 6 2 1、2 6 0 0 ~ 2 6 2 2、2 6 0 0 ~ 2 6 2 3、2 6 0 0 ~  
 2 6 2 4、2 6 0 0 ~ 2 6 2 5、2 6 0 0 ~ 2 6 2 6、2 6 0 0 ~ 2 6 2 7、2 6 0 0 ~  
 2 6 2 8、2 6 0 0 ~ 2 6 2 9、2 6 0 0 ~ 2 6 3 0、2 6 0 0 ~ 2 6 3 1、2 6 0 1 ~  
 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2 6 1 8、2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~  
 2 6 2 0、2 6 0 1 ~ 2 6 2 1、2 6 0 1 ~ 2 6 2 2、2 6 0 1 ~ 2 6 2 3、2 6 0 1 ~  
 2 6 2 4、2 6 0 1 ~ 2 6 2 5、2 6 0 1 ~ 2 6 2 6、2 6 0 1 ~ 2 6 2 7、2 6 0 1 ~  
 2 6 2 8、2 6 0 1 ~ 2 6 2 9、2 6 0 1 ~ 2 6 3 0、2 6 0 1 ~ 2 6 3 1、2 6 0 2 ~  
 2 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 2 ~  
 2 6 2 2、2 6 0 2 ~ 2 6 2 3、2 6 0 2 ~ 2 6 2 4、2 6 0 2 ~ 2 6 2 5、2 6 0 2 ~  
 2 6 2 6、2 6 0 2 ~ 2 6 2 7、2 6 0 2 ~ 2 6 2 8、2 6 0 2 ~ 2 6 2 9、2 6 0 2 ~  
 2 6 3 0、2 6 0 2 ~ 2 6 3 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~  
 2 6 2 2、2 6 0 3 ~ 2 6 2 3、2 6 0 3 ~ 2 6 2 4、2 6 0 3 ~ 2 6 2 5、2 6 0 3 ~  
 2 6 2 6、2 6 0 3 ~ 2 6 2 7、2 6 0 3 ~ 2 6 2 8、2 6 0 3 ~ 2 6 2 9、2 6 0 3 ~  
 2 6 3 0、2 6 0 3 ~ 2 6 3 1、2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 4 ~ 2 6 2 4、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 5、2 6 0 4 ~ 2 6 2 6、2 6 0 4 ~ 2 6 2 7、2 6 0 4 ~ 2 6 2 8、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 9、2 6 0 4 ~ 2 6 3 0、2 6 0 4 ~ 2 6 3 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 5、2 6 0 5 ~ 2 6 2 6、2 6 0 5 ~ 2 6 2 7、2 6 0 5 ~ 2 6 2 8、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 9、2 6 0 5 ~ 2 6 3 0、2 6 0 5 ~ 2 6 3 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~  
 2 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 6 ~  
 2 6 2 6、2 6 0 6 ~ 2 6 2 7、2 6 0 6 ~ 2 6 2 8、2 6 0 6 ~ 2 6 2 9、2 6 0 6 ~  
 2 6 3 0、2 6 0 6 ~ 2 6 3 1、2 6 0 7 ~ 2 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~  
 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 6、2 6 0 7 ~ 2 6 2 7、2 6 0 7 ~  
 2 6 2 8、2 6 0 7 ~ 2 6 2 9、2 6 0 7 ~ 2 6 3 0、2 6 0 7 ~ 2 6 3 1、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 8 ~ 2 6 2 8、2 6 0 8 ~ 2 6 2 9、2 6 0 8 ~ 2 6 3 0、2 6 0 8 ~  
 2 6 3 1、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2 6 2 6、2 6 0 9 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 0 9 ~ 2 6 2 9、2 6 0 9 ~ 2 6 3 0、2 6 0 9 ~  
 2 6 3 1、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~  
 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 0 ~ 2 6 3 0、2 6 1 0 ~ 2 6 3 1、2 6 1 1 ~  
 2 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~  
 2 6 3 0、2 6 1 1 ~ 2 6 3 1、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~  
 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~  
 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~  
 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、または 2 6  
 1 6 ~ 2 6 3 1 内の一領域を標的とする修飾オリゴヌクレオチドとを含むか、またはそれ

20

30

40

50

らからなる。特定の態様では、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドが、前述の核酸塩基領域内の少なくとも 8、9、10、11、12、13、14、15、または 16 個の連続する核酸塩基を標的とする。

【0177】

特定の実施形態では、配列番号 1 の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも 50 % の阻害を示す

：30～49、48～63、150～169、151～170、152～171、154  
 ～169、154～173、156～171、156～175、157～176、158  
 ～173、158～177、480～499、600～619、638～657、644  
 ～663、738～757、1089～1108、1135～1154、1141～11  
 60、1147～1166、1150～1169、1153～1172、1159～11  
 78、1162～1181、1165～1184、1171～1186、1171～11  
 90、1173～1188、1173～1192、1175～1190、1175～11  
 94、1177～1196、1183～1202、1208～1227、1235～12  
 54、1298～1317、1304～1323、1310～1329、1316～13  
 35、1319～1338、1322～1341、1328～1347、1349～13  
 68、1355～1374、1393～1412、1396～1415、1399～14  
 18、1405～1424、1421～1440、1621～1640、1646～16  
 65、1646～1665、1647～1666、1689～1708、1749～17  
 68、1763～1782、1912～1931、2073～2092、2085～21  
 04、2166～2185、2172～2191、2189～2208、2191～22  
 10、2193～2212、2195～2210、2195～2214、2196～22  
 15、2197～2212、2197～2216、2202～2221、2223～22  
 38、2223～2242、2225～2240、2226～2245、2227～22  
 42、2227～2246、2238～2257、2241～2260、2267～22  
 86、2361～2380、2388～2407、2397～2416、2448～24  
 67、2453～2472、2455～2474、2457～2472、2457～24  
 76、2459～2474、2459～2478、2461～2476、2461～24  
 80、2532～2551、2550～2569、2551～2566、2551～25  
 70、2552～2568、2552～2570、2552～2571、2553～25  
 68、2553～2570、2553～2571、2553～2572、2554～25  
 71、2554～2572、2554～2573、2555～2570、2555～25  
 72、2555～2574、2556～2573、2556～2574、2556～25  
 75、2557～2573、2557～2574、2557～2575、2557～25  
 76、2558～2575、2558～2576、2558～2577、2559～25  
 76、2559～2577、2559～2578、2560～2577、2560～25  
 78、2560～2579、2561～2576、2561～2578、2561～25  
 79、2561～2580、2562～2577、2562～2579、2562～25  
 81、2563～2578、2563～2580、2563～2582、2564～25  
 81、2564～2583、2565～2584、2566～2583、2566～25  
 85、2567～2582、2567～2584、2567～2586、2568～25  
 83、2568～2585、2568～2587、2569～2586、2569～25  
 88、2570～2585、2570～2587、2570～2589、2571～25  
 86、2571～2588、2571～2590、2572～2589、2572～25  
 90、2572～2591、2573～2590、2573～2592、2574～2  
 590、2574～2591、2574～2593、2575～2590、2575～2  
 591、2575～2592、2575～2594、2576～2593、2576～2  
 595、2577～2594、2577～2595、2577～2596、2578～2  
 594、2578～2596、2578～2597、2579～2598、2580～2  
 596、2580～2597、2580～2598、2580～2599、2581～2

10

20

30

40

50



5 9 7、2 5 8 1 ~ 2 5 9 8、2 5 8 1 ~ 2 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2  
 5 9 8、2 5 8 2 ~ 2 5 9 9、2 5 8 2 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2  
 5 9 9、2 5 8 3 ~ 2 6 0 0、2 5 8 3 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2  
 6 0 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 1、2 5 8 4 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2  
 6 0 1、2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 1、2 5 8 6 ~ 2  
 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 2、2 5 8 7 ~ 2  
 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2  
 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 5、2 5 8 8 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2  
 6 0 4、2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2 6 0 6、2 5 8 9 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2  
 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2 6 0 6、2 5 9 0 ~ 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2  
 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2  
 6 0 8、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2  
 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2 6 1 0、2 5 9 2 ~ 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2  
 6 0 8、2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2 6 1 0、2 5 9 3 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2  
 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、2 5 9 4 ~ 2 6 1 1、2 5 9 4 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2  
 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、2 5 9 5 ~ 2 6 1 1、2 5 9 5 ~ 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2  
 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2 6 1 1、2 5 9 6 ~ 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2  
 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2  
 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2 6 1 4、2 5 9 7 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2  
 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 4、2 5 9 8 ~ 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2  
 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 4、2 5 9 9 ~ 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2  
 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2  
 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2 6 1 8、2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 1 8、2 6 0 3 ~ 2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2  
 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2  
 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2  
 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2  
 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2  
 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2  
 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2  
 6 3 1、及び 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1。

# **【 0 1 7 8 】**

特定の実施形態では、配列番号 2 の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも 5 0 % の阻害を示す：1 6 0 8 ~ 1 6 2 7、1 6 8 5 ~ 1 7 0 4、1 6 8 6 ~ 1 7 0 5、1 7 5 1 ~ 1 7 7 0、1 7 6 9 ~ 1 7 8 4、1 8 7 1 ~ 1 8 9 0、1 8 7 2 ~ 1 8 9 1、1 8 7 3 ~ 1 8 9 2、1 8 7 5 ~ 1 8 9 0、1 8 7 5 ~ 1 8 9 4、1 8 7 7 ~ 1 8 9 2、1 8 7 7 ~ 1 8 9 6、1 8 7 8 ~ 1 8 9 7、1 8 7 9 ~ 1 8 9 4、1 8 7 9 ~ 1 8 9 8、2 2 8 8 ~ 2 3 0 7、2 8 0 8 ~ 2 8 2 7、2 8 4 6 ~ 2 8 6 5、2 8 5 2 ~ 2 8 7 1、2 9 4 6 ~ 2 9 6 5、3 7 7 3 ~ 3 7 9 2、3 8 1 9 ~ 3 8 3 8、3 8 2 5 ~ 3 8 4 4、3 8 3 1 ~ 3 8 5

0、3 8 3 4 ~ 3 8 5 3、3 8 3 7 ~ 3 8 5 6、3 8 4 3 ~ 3 8 6 2、4 1 5 1 ~ 4 1 6  
6、4 1 5 1 ~ 4 1 7 0、4 1 5 3 ~ 4 1 7 2、4 1 5 9 ~ 4 1 7 8、4 1 8 4 ~ 4 2 0  
3、4 2 1 1 ~ 4 2 3 0、4 6 0 9 ~ 4 6 2 8、4 6 1 2 ~ 4 6 3 1、4 6 1 5 ~ 4 6 3  
4、4 6 2 1 ~ 4 6 4 0、4 6 4 2 ~ 4 6 6 1、4 6 4 8 ~ 4 6 6 7、4 6 8 6 ~ 4 7 0  
5、4 6 8 9 ~ 4 7 0 8、4 6 9 2 ~ 4 7 1 1、4 6 9 8 ~ 4 7 1 7、4 7 1 4 ~ 4 7 3  
3、5 2 7 0 ~ 5 2 8 9、5 2 9 5 ~ 5 3 1 4、5 2 9 6 ~ 5 3 1 5、5 8 3 0 ~ 5 8 4  
9、5 8 9 0 ~ 5 9 0 9、5 9 0 4 ~ 5 9 2 3、6 4 0 6 ~ 6 4 2 5、6 6 6 2 ~ 6 6 8  
1、6 6 7 4 ~ 6 6 9 3、6 9 5 4 ~ 6 9 7 3、6 9 6 0 ~ 6 9 7 9、6 9 7 7 ~ 6 9 9  
6、6 9 7 9 ~ 6 9 9 8、6 9 8 1 ~ 7 0 0 0、6 9 8 3 ~ 6 9 9 8、6 9 8 3 ~ 7 0 0  
2、6 9 8 4 ~ 7 0 0 3、6 9 8 5 ~ 7 0 0 0、6 9 8 5 ~ 7 0 0 4、6 9 9 0 ~ 7 0 0  
9、7 1 2 2 ~ 7 1 4 1、7 1 2 5 ~ 7 1 4 4、7 1 5 1 ~ 7 1 7 0、7 3 5 3 ~ 7 3 7  
2、7 3 6 2 ~ 7 3 8 1、7 6 8 3 ~ 7 7 0 2、7 6 8 8 ~ 7 7 0 7、7 6 9 0 ~ 7 7 0  
9、7 6 9 2 ~ 7 7 0 7、7 6 9 2 ~ 7 7 1 1、7 6 9 4 ~ 7 7 0 9、7 6 9 4 ~ 7 7 1  
3、7 6 9 6 ~ 7 7 1 1、7 6 9 6 ~ 7 7 1 5、7 7 6 7 ~ 7 7 8 6、7 7 8 5 ~ 7 8 0  
4、7 7 8 6 ~ 7 8 0 1、7 7 8 7 ~ 7 8 0 3、7 7 8 7 ~ 7 8 0 5、7 7 8 7 ~ 7 8 0  
6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 3、7 7 8 8 ~ 7 8 0 5、7 7 8 8 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0  
7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 6、7 7 8 9 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 8、7 7 9 0 ~ 7 8 0  
5、7 7 9 0 ~ 7 8 0 7、7 7 9 0 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 0 8、7 7 9 1 ~ 7 8 0  
9、7 7 9 1 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 0 8、7 7 9 2 ~ 7 8 0 9、7 7 9 2 ~ 7 8 1  
0、7 7 9 2 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 0、7 7 9 3 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1  
2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 1、7 7 9 4 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1  
2、7 7 9 5 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 1、7 7 9 6 ~ 7 8 1  
3、7 7 9 6 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 5、7 7 9 7 ~ 7 8 1 2、7 7 9 7 ~ 7 8 1  
4、7 7 9 7 ~ 7 8 1 6、7 7 9 8 ~ 7 8 1 3、7 7 9 8 ~ 7 8 1 5、7 7 9 8 ~ 7 8 1  
7、7 7 9 9 ~ 7 8 1 6、7 7 9 9 ~ 7 8 1 8、7 8 0 0 ~ 7 8 1 9、7 8 0 1 ~ 7 8 1  
8、7 8 0 1 ~ 7 8 2 0、7 8 0 2 ~ 7 8 1 7、7 8 0 2 ~ 7 8 1 9、7 8 0 2 ~ 7 8 2  
1、7 8 0 3 ~ 7 8 1 8、7 8 0 3 ~ 7 8 2 0、7 8 0 3 ~ 7 8 2 2、7 8 0 4 ~ 7 8 2  
1、7 8 0 4 ~ 7 8 2 3、7 8 0 5 ~ 7 8 2 0、7 8 0 5 ~ 7 8 2 2、7 8 0 5 ~ 7 8 2  
4、7 8 0 6 ~ 7 8 2 1、7 8 0 6 ~ 7 8 2 3、7 8 0 6 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2  
4、7 8 0 7 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 6、7 8 0 8 ~ 7 8 2 5、7 8 0 8 ~ 7 8 2  
7、7 8 0 9 ~ 7 8 2 5、7 8 0 9 ~ 7 8 2 6、7 8 0 9 ~ 7 8 2 8、7 8 1 0 ~ 7 8 2  
5、7 8 1 0 ~ 7 8 2 6、7 8 1 0 ~ 7 8 2 7、7 8 1 0 ~ 7 8 2 9、7 8 1 1 ~ 7 8 2  
8、7 8 1 1 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 2 9、7 8 1 2 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 3  
1、7 8 1 3 ~ 7 8 2 9、7 8 1 3 ~ 7 8 3 1、7 8 1 3 ~ 7 8 3 2、7 8 1 4 ~ 7 8 3  
3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 1、7 8 1 5 ~ 7 8 3 2、7 8 1 5 ~ 7 8 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3  
4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 2、7 8 1 6 ~ 7 8 3 3、7 8 1 6 ~ 7 8 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3  
5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 3、7 8 1 7 ~ 7 8 3 4、7 8 1 7 ~ 7 8 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3  
6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 4、7 8 1 8 ~ 7 8 3 5、7 8 1 8 ~ 7 8 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3  
7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 5、7 8 1 9 ~ 7 8 3 6、7 8 1 9 ~ 7 8 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3  
8、7 8 2 0 ~ 7 8 3 6、7 8 2 0 ~ 7 8 3 8、7 8 2 0 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 3  
6、7 8 2 1 ~ 7 8 3 7、7 8 2 1 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8 3  
7、7 8 2 2 ~ 7 8 3 8、7 8 2 2 ~ 7 8 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 3  
8、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8 4 0、7 8 2 3 ~ 7 8 4  
1、7 8 2 3 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8 3 9、7 8 2 4 ~ 7 8 4 0、7 8 2 4 ~ 7 8 4  
0、7 8 2 4 ~ 7 8 4 1、7 8 2 4 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4  
0、7 8 2 5 ~ 7 8 4 1、7 8 2 5 ~ 7 8 4 2、7 8 2 5 ~ 7 8 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4  
4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 2、7 8 2 6 ~ 7 8 4 3、7 8 2 6 ~ 7 8 4 4、7 8 2 6 ~ 7 8 4  
5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 2、7 8 2 7 ~ 7 8 4 3、7 8 2 7 ~ 7 8 4 4、7 8 2 7 ~ 7 8 4  
5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 6、7 8 2 8 ~ 7 8 4 3、7 8 2 8 ~ 7 8 4 4、7 8 2 8 ~ 7 8 4  
5、7 8 2 8 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 4、7 8 2 9 ~ 7 8 4 5、7 8 2 9 ~ 7 8 4

10

20

30

40

50

6、7829～7847、7829～7848、7830～7845、7830～784  
 6、7830～7847、7830～7848、7830～7849、7831～784  
 6、7831～7847、7831～7848、7831～7849、7831～785  
 0、7832～7847、7832～7848、7832～7849、7832～785  
 0、7832～7851、7833～7848、7833～7849、7833～785  
 0、7833～7851、7833～7852、7834～7849、7834～785  
 0、7834～7851、7834～7852、7834～7853、7835～785  
 0、7835～7851、7835～7852、7835～7853、7835～785  
 4、7836～7851、7836～7852、7836～7853、7836～785  
 4、7836～7855、7837～7852、7837～7853、7837～785  
 4、7837～7855、7837～7856、7838～7853、7838～785  
 4、7838～7855、7838～7856、7838～7857、7839～785  
 4、7839～7855、7839～7856、7839～7857、7839～785  
 8、7840～7855、7840～7856、7840～7857、7840～785  
 8、7840～7859、7841～7856、7841～7857、7841～785  
 8、7841～7859、7841～7860、7842～7857、7842～785  
 8、7842～7859、7842～7860、7842～7861、7843～785  
 8、7843～7859、7843～7860、7843～7861、7843～786  
 2、7844～7859、7844～7860、7844～7861、7844～786  
 2、7845～7860、7845～7861、7845～7862、7846～786  
 1、及び7846～7862。

# 【0179】

特定の実施形態では、配列番号1の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも60%の阻害を示す：

48～63、150～169、152～171、154～169、154～173、1  
 56～171、156～175、158～173、158～177、600～619、1  
 135～1154、1141～1160、1147～1166、1153～1172、1  
 171～1186、1173～1188、1175～1190、1749～1768、1  
 763～1782、1763～1782、1912～1931、2189～2208、2  
 191～2210、2193～2212、2195～2210、2195～2214、2  
 197～2212、2197～2216、2223～2238、2225～2240、2  
 227～2242、2238～2257、2448～2467、2453～2472、2  
 455～2474、2457～2472、2457～2476、2459～2474、2  
 459～2478、2461～2476、2461～2480、2550～2569、2  
 551～2566、2552～2571、2553～2568、2553～2570、2  
 553～2571、2553～2572、2554～2571、2554～2572、2  
 554～2573、2555～2572、2555～2574、2556～2573、2  
 556～2574、2556～2575、2557～2574、2557～2575、2  
 557～2576、2558～2575、2558～2576、2558～2577、2  
 559～2576、2559～2577、2559～2578、2560～2577、2  
 560～2578、2560～2579、2561～2578、2561～2579、2  
 561～2580、2562～2577、2562～2579、2562～2581、2  
 563～2578、2563～2580、2563～2582、2564～2581、2  
 564～2583、2565～2584、2566～2583、2566～2585、2  
 567～2582、2567～2584、2567～2586、2568～2583、  
 2568～2585、2568～2587、2569～2586、2569～2588、  
 2570～2587、2570～2589、2571～2588、2572～2590、  
 2572～2591、2573～2590、2573～2592、2574～2591、  
 2574～2593、2575～2590、2575～2592、2575～2594、  
 2576～2593、2576～2595、2577～2594、2577～2595、

2 5 7 7 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 4、2 5 7 8 ~ 2 5 9 7、2 5 7 9 ~ 2 5 9 8、  
 2 5 8 0 ~ 2 5 9 6、2 5 8 0 ~ 2 5 9 7、2 5 8 0 ~ 2 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 9、  
 2 5 8 1 ~ 2 5 9 7、2 5 8 1 ~ 2 5 9 8、2 5 8 1 ~ 2 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 6 0 0、  
 2 5 8 2 ~ 2 5 9 8、2 5 8 2 ~ 2 5 9 9、2 5 8 2 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 6 0 1、  
 2 5 8 3 ~ 2 5 9 9、2 5 8 3 ~ 2 6 0 0、2 5 8 3 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 6 0 2、  
 2 5 8 4 ~ 2 6 0 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 1、  
 2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、  
 2 5 8 6 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 6、  
 2 5 8 8 ~ 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~ 2 6 0 7、  
 2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2 6 0 6、2 5 8 9 ~ 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 8、  
 2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2 6 0 6、2 5 9 0 ~ 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2 6 0 8、  
 2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 1 0、  
 2 5 9 2 ~ 2 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2 6 0 8、  
 2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、  
 2 5 9 4 ~ 2 6 1 1、2 5 9 4 ~ 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、  
 2 5 9 5 ~ 2 6 1 1、2 5 9 5 ~ 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、  
 2 5 9 6 ~ 2 6 1 1、2 5 9 6 ~ 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、  
 2 5 9 6 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2 6 1 4、  
 2 5 9 7 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 4、  
 2 5 9 8 ~ 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 4、  
 2 5 9 9 ~ 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 8、  
 2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2 6 1 8、  
 2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2 6 1 8、  
 2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2 6 1 8、  
 2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 1 8、  
 2 6 0 3 ~ 2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 2、  
 2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、  
 2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、  
 2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 2、  
 2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 2、  
 2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 6、  
 2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、  
 2 6 0 8 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、  
 2 6 0 9 ~ 2 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、  
 2 6 1 0 ~ 2 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、  
 2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、  
 2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、  
 2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、  
 2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、  
 2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、  
 2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、及び 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1。

# 【 0 1 8 0 】

特定の実施形態では、配列番号 2 の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも 6 0 % の阻害を示す：

1 6 8 5 ~ 1 7 0 4、1 6 8 6 ~ 1 7 0 5、1 7 6 9 ~ 1 7 8 4、1 8 7 1 ~ 1 8 9  
 0、1 8 7 3 ~ 1 8 9 2、1 8 7 5 ~ 1 8 9 0、1 8 7 5 ~ 1 8 9 4、1 8 7 7 ~ 1 8 9  
 2、1 8 7 7 ~ 1 8 9 6、1 8 7 9 ~ 1 8 9 4、1 8 7 9 ~ 1 8 9 8、2 8 0 8 ~ 2 8 2  
 7、3 8 1 9 ~ 3 8 3 8、3 8 2 5 ~ 3 8 4 4、3 8 3 1 ~ 3 8 5 0、3 8 3 7 ~ 3 8 5  
 6、4 1 5 1 ~ 4 1 6 6、5 8 9 0 ~ 5 9 0 9、5 9 0 4 ~ 5 9 2 3、5 9 0 4 ~ 5 9 2  
 3、6 4 0 6 ~ 6 4 2 5、6 9 7 7 ~ 6 9 9 6、6 9 7 9 ~ 6 9 9 8、6 9 8 1 ~ 7 0 0

10

20

30

40

50

0、6 9 8 3 ~ 6 9 9 8、6 9 8 3 ~ 7 0 0 2、6 9 8 5 ~ 7 0 0 0、6 9 8 5 ~ 7 0 0  
4、7 1 2 2 ~ 7 1 4 1、7 6 8 3 ~ 7 7 0 2、7 6 8 8 ~ 7 7 0 7、7 6 9 0 ~ 7 7 0  
9、7 6 9 2 ~ 7 7 0 7、7 6 9 2 ~ 7 7 1 1、7 6 9 4 ~ 7 7 0 9、7 6 9 6 ~ 7 7 1  
1、7 6 9 6 ~ 7 7 1 5、7 7 8 6 ~ 7 8 0 1、7 7 8 7 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0  
3、7 7 8 8 ~ 7 8 0 5、7 7 8 8 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0  
6、7 7 8 9 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 8、7 7 9 0 ~ 7 8 0 7、7 7 9 0 ~ 7 8 0  
9、7 7 9 1 ~ 7 8 0 8、7 7 9 1 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 0  
9、7 7 9 2 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 0、7 7 9 3 ~ 7 8 1  
1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 1、7 7 9 4 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1  
3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 2、7 7 9 5 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1  
3、7 7 9 6 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 5、7 7 9 7 ~ 7 8 1 2、7 7 9 7 ~ 7 8 1  
4、7 7 9 7 ~ 7 8 1 6、7 7 9 8 ~ 7 8 1 3、7 7 9 8 ~ 7 8 1 5、7 7 9 8 ~ 7 8 1  
7、7 7 9 9 ~ 7 8 1 6、7 7 9 9 ~ 7 8 1 8、7 8 0 0 ~ 7 8 1 9、7 8 0 1 ~ 7 8 1  
8、7 8 0 1 ~ 7 8 2 0、7 8 0 2 ~ 7 8 1 7、7 8 0 2 ~ 7 8 1 9、7 8 0 2 ~ 7 8 2  
1、7 8 0 3 ~ 7 8 1 8、7 8 0 3 ~ 7 8 2 0、7 8 0 3 ~ 7 8 2 2、7 8 0 4 ~ 7 8 2  
1、7 8 0 4 ~ 7 8 2 3、7 8 0 5 ~ 7 8 2 2、7 8 0 5 ~ 7 8 2 4、7 8 0 6 ~ 7 8 2  
3、7 8 0 6 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 4、7 8 0 7 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2  
6、7 8 0 8 ~ 7 8 2 5、7 8 0 8 ~ 7 8 2 7、7 8 0 9 ~ 7 8 2 6、7 8 0 9 ~ 7 8 2  
8、7 8 1 0 ~ 7 8 2 5、7 8 1 0 ~ 7 8 2 7、7 8 1 0 ~ 7 8 2 9、7 8 1 1 ~ 7 8 2  
8、7 8 1 1 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 2 9、7 8 1 2 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 3  
1、7 8 1 3 ~ 7 8 2 9、7 8 1 3 ~ 7 8 3 2、7 8 1 4 ~ 7 8 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3  
1、7 8 1 5 ~ 7 8 3 2、7 8 1 5 ~ 7 8 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3  
2、7 8 1 6 ~ 7 8 3 3、7 8 1 6 ~ 7 8 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3  
3、7 8 1 7 ~ 7 8 3 4、7 8 1 7 ~ 7 8 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3  
4、7 8 1 8 ~ 7 8 3 5、7 8 1 8 ~ 7 8 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3  
5、7 8 1 9 ~ 7 8 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 8、7 8 2 0 ~ 7 8 3 6、7 8 2 0 ~ 7 8 3  
8、7 8 2 0 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 3 7、7 8 2 1 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 4  
0、7 8 2 2 ~ 7 8 3 8、7 8 2 2 ~ 7 8 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 3  
8、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8 4  
0、7 8 2 4 ~ 7 8 4 1、7 8 2 4 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4  
0、7 8 2 5 ~ 7 8 4 1、7 8 2 5 ~ 7 8 4 2、7 8 2 5 ~ 7 8 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4  
4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 2、7 8 2 6 ~ 7 8 4 4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 5、7 8 2 7 ~ 7 8 4  
3、7 8 2 7 ~ 7 8 4 4、7 8 2 7 ~ 7 8 4 6、7 8 2 8 ~ 7 8 4 3、7 8 2 8 ~ 7 8 4  
4、7 8 2 8 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 4、7 8 2 9 ~ 7 8 4 5、7 8 2 9 ~ 7 8 4  
6、7 8 2 9 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8 4 5、7 8 3 0 ~ 7 8 4  
6、7 8 3 0 ~ 7 8 4 7、7 8 3 0 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8 4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 4  
6、7 8 3 1 ~ 7 8 4 7、7 8 3 1 ~ 7 8 4 8、7 8 3 1 ~ 7 8 4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 5  
0、7 8 3 2 ~ 7 8 4 7、7 8 3 2 ~ 7 8 4 8、7 8 3 2 ~ 7 8 4 9、7 8 3 2 ~ 7 8 5  
0、7 8 3 2 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 4 8、7 8 3 3 ~ 7 8 4 9、7 8 3 3 ~ 7 8 5  
0、7 8 3 3 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8 4 9、7 8 3 4 ~ 7 8 5  
0、7 8 3 4 ~ 7 8 5 1、7 8 3 4 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5  
0、7 8 3 5 ~ 7 8 5 1、7 8 3 5 ~ 7 8 5 2、7 8 3 5 ~ 7 8 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5  
4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 1、7 8 3 6 ~ 7 8 5 2、7 8 3 6 ~ 7 8 5 3、7 8 3 6 ~ 7 8 5  
4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 2、7 8 3 7 ~ 7 8 5 3、7 8 3 7 ~ 7 8 5  
4、7 8 3 7 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8 5 3、7 8 3 8 ~ 7 8 5  
4、7 8 3 8 ~ 7 8 5 5、7 8 3 8 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5  
4、7 8 3 9 ~ 7 8 5 5、7 8 3 9 ~ 7 8 5 6、7 8 3 9 ~ 7 8 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5  
8、7 8 4 0 ~ 7 8 5 5、7 8 4 0 ~ 7 8 5 6、7 8 4 0 ~ 7 8 5 7、7 8 4 0 ~ 7 8 5  
8、7 8 4 0 ~ 7 8 5 9、7 8 4 1 ~ 7 8 5 6、7 8 4 1 ~ 7 8 5 7、7 8 4 1 ~ 7 8 5  
8、7 8 4 1 ~ 7 8 5 9、7 8 4 1 ~ 7 8 6 0、7 8 4 2 ~ 7 8 5 7、7 8 4 2 ~ 7 8 5

10

20

30

40

50

8、7842～7859、7842～7860、7842～7861、7843～7858、7843～7859、7843～7860、7843～7861、7843～7862、7844～7859、7844～7860、7844～7861、7844～7862、7845～7860、7845～7861、7845～7862、7846～7861、7846～7862、及び7847～7862。

【0181】

特定の実施形態では、配列番号1の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも70%の阻害を示す

：48～63、150～169、152～171、154～169、154～173、156～171、156～175、158～173、158～177、1135～1154  
 、1141～1160、1147～1166、1171～1186、1173～1188  
 、1175～1190、1749～1768、1763～1782、1912～1931  
 、2193～2212、2195～2210、2195～2214、2197～2212  
 、2197～2216、2223～2238、2225～2240、2227～2242  
 、2453～2472、2455～2474、2457～2472、2457～2476  
 、2459～2474、2461～2476、2461～2480、2550～2569  
 、2551～2566、2552～2571、2553～2570、2553～2571  
 、2553～2572、2554～2571、2554～2572、2554～2573  
 、2554～2573、2555～2572、2555～2574、2555～2574  
 、2556～2573、2556～2574、2556～2575、2557～2574  
 、2557～2576、2558～2575、2558～2576、2558～2577  
 、2559～2576、2559～2577、2559～2578、2560～2577  
 、2560～2578、2560～2579、2561～2578、2561～2579  
 、2561～2580、2562～2577、2562～2579、2562～2581  
 、2563～2578、2563～2580、2563～2582、2564～2581  
 、2564～2583、2565～2584、2566～2583、2566～2585  
 、2567～2582、2567～2584、2567～2586、2568～2585  
 、2568～2587、2569～2586、2569～2588、2570～2587  
 、2570～2589、2571～2588、2571～2590、2572～2589  
 、2572～2591、2573～2590、2573～2592、2574～2591  
 、2574～2593、2575～2592、2575～2594、2576～2593  
 、2576～2595、2577～2594、2577～2596、2578～2597  
 、2579～2598、2580～2596、2580～2598、2580～2599  
 、2581～2597、2581～2600、2582～2598、2582～2600  
 、2582～2601、2583～2599、2583～2601、2583～2602  
 、2584～2600、2584～2602、2584～2603、2585～2601  
 、2585～2603、2585～2604、2586～2605、2587～2606  
 、2588～2604、2588～2606、2588～2607、2589～2605  
 、2589～2606、2589～2607、2589～2608、2590～2605  
 、2590～2606、2590～2607、2590～2609、2591～2607  
 、2591～2610、2592～2611、2593～2608、2593～2612  
 、2594～2609、2594～2610、2594～2612、2594～2613  
 、2595～2610、2595～2611、2595～2612、2595～2613  
 、2595～2614、2596～2611、2596～2614、2596～2615  
 、2597～2612、2597～2613、2597～2614、2597～261  
 5、2597～2616、2598～2613、2598～2614、2598～261  
 5、2598～2616、2598～2617、2599～2614、2599～261  
 5、2599～2616、2599～2617、2599～2618、2600～261  
 5、2600～2616、2600～2617、2600～2618、2600～261  
 9、2601～2616、2601～2617、2601～2618、2601～261

10

20

30

40

50

9、2601～2620、2602～2617、2602～2618、2602～261  
 9、2602～2620、2602～2621、2603～2619、2603～262  
 0、2603～2621、2603～2622、2604～2619、2604～262  
 0、2604～2621、2604～2622、2604～2623、2605～262  
 0、2605～2621、2605～2622、2605～2623、2605～262  
 4、2606～2621、2606～2622、2606～2623、2606～262  
 4、2606～2625、2607～2622、2607～2623、2607～262  
 4、2607～2625、2607～2626、2608～2623、2608～262  
 4、2608～2625、2608～2626、2608～2627、2609～262  
 4、2609～2625、2609～2626、2609～2627、2609～262  
 8、2610～2625、2610～2626、2610～2627、2610～262  
 8、2610～2629、2611～2626、2611～2627、2611～262  
 9、2611～2630、2612～2627、2612～2628、2612～262  
 9、2612～2630、2612～2631、2613～2628、2613～262  
 9、2613～2630、2613～2631、2614～2629、2614～263  
 0、2614～2631、2615～2630、2615～2630、2615～263  
 1、及び2616～2631。

# 【0182】

特定の実施形態では、配列番号2の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも70%の阻害を示す

：1685～1704、1686～1705、1769～1784、1871～1890  
 、1873～1892、1875～1890、1875～1894、1877～1892  
 、1877～1896、1879～1894、1879～1898、3819～3838  
 、3825～3844、3831～3850、4151～4166、5890～5909  
 、5904～5923、5904～5923、6406～6425、6983～6998  
 、6983～7002、6985～7000、6985～7004、7688～7707  
 、7690～7709、7692～7707、7692～7711、7694～7709  
 、7696～7711、7696～7715、7786～7801、7787～7806  
 、7788～7805、7788～7806、7788～7807、7789～7806  
 、7789～7807、7789～7808、7790～7807、7790～7809  
 、7791～7808、7791～7809、7791～7810、7792～7809  
 、7792～7811、7793～7810、7793～7811、7793～7812  
 、7794～7811、7794～7812、7794～7813、7795～7812  
 、7795～7813、7795～7814、7796～7813、7796～7814  
 、7796～7815、7797～7812、7797～7814、7797～7816  
 、7798～7813、7798～7815、7798～7817、7799～7816  
 、7799～7818、7800～7819、7801～7818、7801～7820  
 、7802～7817、7802～7819、7802～7821、7803～7820  
 、7803～7822、7804～7821、7804～7823、7805～7822  
 、7805～7824、7806～7823、7806～7825、7807～7824  
 、7807～7826、7808～7825、7808～7827、7809～7826  
 、7809～7828、7810～7827、7811～7828、7811～7830  
 、7812～7829、7812～7831、7813～7832、7814～7833  
 、7815～7831、7815～7833、7815～7834、7816～7832  
 、7816～7835、7817～7833、7817～7835、7817～783  
 6、7818～7834、7818～7836、7818～7837、7819～783  
 5、7819～7837、7819～7838、7820～7836、7820～783  
 8、7820～7839、7821～7840、7822～7841、7823～783  
 9、7823～7841、7823～7842、7824～7840、7824～784  
 1、7824～7842、7824～7843、7825～7840、7825～784

1、7825～7842、7825～7844、7826～7842、7826～784  
 5、7827～7846、7828～7843、7828～7847、7829～784  
 4、7829～7845、7829～7847、7829～7848、7830～784  
 5、7830～7846、7830～7847、7830～7848、7830～784  
 9、7831～7846、7831～7849、7831～7850、7832～784  
 7、7832～7848、7832～7849、7832～7850、7832～785  
 1、7833～7848、7833～7849、7833～7850、7833～785  
 1、7833～7852、7834～7849、7834～7850、7834～785  
 1、7834～7852、7834～7853、7835～7850、7835～785  
 1、7835～7852、7835～7853、7835～7854、7836～785  
 1、7836～7852、7836～7853、7836～7854、7836～785  
 5、7837～7852、7837～7853、7837～7854、7837～785  
 5、7837～7856、7838～7854、7838～7855、7838～785  
 6、7838～7857、7839～7854、7839～7855、7839～785  
 6、7839～7857、7839～7858、7840～7855、7840～785  
 6、7840～7857、7840～7858、7840～7859、7841～785  
 6、7841～7857、7841～7858、7841～7859、7841～786  
 0、7842～7857、7842～7858、7842～7859、7842～786  
 0、7842～7861、7843～7858、7843～7859、7843～786  
 0、7843～7861、7843～7862、7844～7859、7844～786  
 0、7844～7861、7844～7862、7845～7860、7845～786  
 1、7845～7862、7846～7861、7846～7862、及び7847～7  
 862。

### 【0183】

特定の実施形態では、配列番号1の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも80%の阻害を示す：

152～171、154～169、156～171、158～173、1135～11  
 54、1171～1186、1173～1188、1175～1190、1763～17  
 82、1912～1931、2197～2212、2223～2238、2225～22  
 40、2227～2242、2457～2472、2459～2474、2461～24  
 76、2551～2566、2553～2570、2553～2571、2553～25  
 72、2554～2573、2555～2572、2555～2574、2556～25  
 73、2556～2574、2556～2575、2557～2574、2557～25  
 76、2558～2575、2558～2576、2559～2577、2559～25  
 78、2560～2577、2560～2578、2560～2579、2561～25  
 78、2561～2579、2561～2580、2562～2577、2562～25  
 79、2562～2581、2563～2580、2563～2582、2564～25  
 81、2564～2583、2565～2584、2566～2583、2567～25  
 84、2567～2586、2568～2585、2568～2587、2569～25  
 86、2569～2588、2570～2587、2571～2588、2571～25  
 90、2572～2589、2572～2591、2573～2590、2573～25  
 92、2574～2591、2574～2593、2575～2592、2576～25  
 93、2576～2595、2577～2594、2577～2596、2578～25  
 97、2580～2598、2580～2599、2581～2597、2581～26  
 00、2582～2601、2583～2602、2584～2603、2585～2  
 604、2586～2605、2587～2606、2588～2607、2589～2  
 608、2590～2606、2590～2607、2590～2609、2591～2  
 610、2592～2611、2593～2608、2593～2612、2594～2  
 613、2595～2611、2595～2614、2596～2615、2597～2  
 612、2597～2613、2597～2614、2597～2615、2597～2



6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 4、2 5 9 8 ~ 2  
 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 4、2 5 9 9 ~ 2  
 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2  
 6 1 8、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2  
 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、2 6 0 5 ~ 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2  
 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2  
 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2  
 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2  
 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2  
 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2  
 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2  
 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、及び 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1。

#### 【0 1 8 4】

特定の実施形態では、配列番号 2 の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも 80 % の阻害を示す

：1 6 8 5 ~ 1 7 0 4、1 6 8 6 ~ 1 7 0 5、1 8 7 3 ~ 1 8 9 2、1 8 7 5 ~ 1 8 9 0  
 、1 8 7 7 ~ 1 8 9 2、1 8 7 9 ~ 1 8 9 4、3 8 1 9 ~ 3 8 3 8、4 1 5 1 ~ 4 1 6 6  
 、5 9 0 4 ~ 5 9 2 3、6 4 0 6 ~ 6 4 2 5、6 9 8 5 ~ 7 0 0 0、7 6 9 2 ~ 7 7 0 7  
 、7 6 9 4 ~ 7 7 0 9、7 6 9 6 ~ 7 7 1 1、7 7 8 6 ~ 7 8 0 1、7 7 8 8 ~ 7 8 0 5  
 、7 7 8 8 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 8、7 7 9 0 ~ 7 8 0 7  
 、7 7 9 0 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 0 8、7 7 9 1 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 1 0  
 、7 7 9 2 ~ 7 8 0 9、7 7 9 2 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 0、7 7 9 3 ~ 7 8 1 1  
 、7 7 9 4 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 2、7 7 9 5 ~ 7 8 1 3  
 、7 7 9 5 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 3、7 7 9 6 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 5  
 、7 7 9 7 ~ 7 8 1 2、7 7 9 7 ~ 7 8 1 4、7 7 9 7 ~ 7 8 1 6、7 7 9 8 ~ 7 8 1 5  
 、7 7 9 8 ~ 7 8 1 7、7 7 9 9 ~ 7 8 1 6、7 7 9 9 ~ 7 8 1 8、7 8 0 0 ~ 7 8 1 9  
 、7 8 0 1 ~ 7 8 1 8、7 8 0 2 ~ 7 8 1 9、7 8 0 2 ~ 7 8 2 1、7 8 0 3 ~ 7 8 2 0  
 、7 8 0 3 ~ 7 8 2 2、7 8 0 4 ~ 7 8 2 1、7 8 0 4 ~ 7 8 2 3、7 8 0 5 ~ 7 8 2 2  
 、7 8 0 6 ~ 7 8 2 3、7 8 0 6 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 4、7 8 0 7 ~ 7 8 2 6  
 、7 8 0 8 ~ 7 8 2 5、7 8 0 8 ~ 7 8 2 7、7 8 0 9 ~ 7 8 2 6、7 8 0 9 ~ 7 8 2 8  
 、7 8 1 0 ~ 7 8 2 7、7 8 1 1 ~ 7 8 2 8、7 8 1 2 ~ 7 8 2 9、7 8 1 2 ~ 7 8 3 1  
 、7 8 1 3 ~ 7 8 3 2、7 8 1 4 ~ 7 8 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 2  
 、7 8 1 6 ~ 7 8 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 8  
 、7 8 2 0 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 4 2  
 、7 8 2 4 ~ 7 8 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4 1、7 8 2 5 ~ 7 8 4 2、7 8 2 5 ~ 7 8 4 4  
 、7 8 2 6 ~ 7 8 4 5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 6、7 8 2 8 ~ 7 8 4 3、7 8 2 8 ~ 7 8 4 7  
 、7 8 2 9 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8 4 6、7 8 3 0 ~ 7 8 4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 5 0  
 、7 8 3 2 ~ 7 8 4 7、7 8 3 2 ~ 7 8 4 8、7 8 3 2 ~ 7 8 4 9、7 8 3 2 ~ 7 8 5 0  
 、7 8 3 2 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 4 8、7 8 3 3 ~ 7 8 4 9、7 8 3 3 ~ 7 8 5  
 0、7 8 3 3 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8 4 9、7 8 3 4 ~ 7 8 5  
 2、7 8 3 4 ~ 7 8 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5 0、7 8 3 5 ~ 7 8 5 2、7 8 3 5 ~ 7 8 5  
 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5 4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 1、7 8 3 6 ~ 7 8 5 2、7 8 3 6 ~ 7 8 5  
 4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 3、7 8 3 7 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8 5  
 5、7 8 3 8 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5 4、7 8 3 9 ~ 7 8 5

10

20

30

40

50

5、7839～7856、7839～7857、7839～7858、7840～7855、7840～7856、7840～7857、7840～7858、7840～7859、7841～7856、7841～7857、7841～7858、7841～7859、7841～7860、7842～7857、7842～7858、7842～7859、7842～7860、7842～7861、7843～7858、7843～7859、7843～7860、7843～7862、7844～7859、7844～7861、7844～7862、7845～7860、7845～7861、7846～7862、及び7847～7862。

#### 【0185】

特定の実施形態では、配列番号1の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも90%の阻害を示す

：154～169、156～171、158～173、1135～1154、1171～1186、1173～1188、1763～1782、1912～1931、2223～2238、2227～2242、2459～2474、2461～2476、2554～2573、2555～2574、2560～2577、2561～2578、2561～2579、2562～2581、2563～2580、2563～2582、2564～2581、2566～2583、2567～2584、2568～2585、2568～2587、2569～2586、2570～2587、2576～2593、2577～2594、2577～2596、2578～2597、2580～2599、2581～2600、2582～2601、2583～2602、2584～2603、2586～2605、2587～2605、2587～2606、2588～2607、2589～2608、2590～2607、2590～2609、2592～2611、2595～2614、2596～2615、2597～2612、2597～2613、2597～2615、2597～2616、2598～2613、2598～2613、2598～2617、2599～2614、2599～2618、2600～2615、2600～2619、2601～2617、2601～2620、2602～2621、2603～2622、2604～2623、2605～2621、2605～2622、2605～2624、2606～2625、2607～2626、2608～2623、2608～2625、2609～2628、2611～2627、2611～2630、2612～2628、2612～2631、2613～2629、2614～2629、2615～2630、及び2616～2631。

#### 【0186】

特定の実施形態では、配列番号2の以下のヌクレオチド領域が、アンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的となった時に、少なくとも90%の阻害を示す

：1685～1704、1686～1705、1875～1890、1877～1892、1879～1894、3819～3838、5904～5923、6406～6425、7694～7709、7696～7711、7789～7808、7790～7809、7795～7812、7795～7813、7796～7813、7796～7814、7797～7814、7797～7816、7798～7815、7798～7817、7799～7816、7801～7818、7802～7819、7803～7820、7803～7822、7804～7821、7805～7822、7811～7828、7812～7829、7812～7831、7813～7832、7815～7834、7818～7837、7819～7838、7821～7840、7822～7840、7822～7841、7825～7842、7832～7847、7832～7848、7832～7850、7833～7848、7833～7852、7834～7849、7834～7853、7835～7850、7836～7852、7836～7855、7837～7856、7838～7856、7839～7857、7839～7858、7840～7856、7840～7857、7840～7859、7843～7858、7843～7860、及び7846～7862。

#### 【0187】

10

20

30

40

50

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドがCFB核酸の一領域を標的とし、少なくとも50%のCFB mRNA阻害を達成する；ISIS番号：516350、532614、532632、532635、532638、532639、532686、532687、532688、532689、532690、532691、532692、532692、532693、532694、532695、532696、532697、532698、532699、532700、532701、532702、532703、532704、532705、532706、532707、532770、532775、532778、532780、532791、532800、532809、532810、532811、532917、532952、588509、588510、588511、588512、588513、588514、588515、588516、588517、588518、588519、588520、588522、588523、588524、588525、588527、588528、588529、588530、588531、588532、588533、588534、588535、588536、588537、588538、588539、588540、588541、588542、588543、588544、588545、588546、588547、588548、588549、588550、588551、588552、588553、588554、588555、588556、588557、588558、588559、588560、588561、588562、588563、588564、588565、588566、588567、588568、588569、588570、588571、588572、588573、588574、588575、588576、588577、588580、588581、588585、588586、588589、588590、588599、588603、588606、588608、588610、588614、588616、588628、588631、588632、588634、588636、588638、588640、588645、588646、588654、588656、588658、588660、588662、588664、588670、588672、588676、588682、588688、588696、588698、588807、588808、588809、588813、588814、588815、588819、588820、588822、588823、588838、588839、588840、588841、588842、588846、588847、588848、588849、588850、588851、588852、588853、588854、588855、588856、588857、588858、588859、588860、588861、588862、588863、588864、588865、588866、588867、588868、588870、588871、588872、588873、588874、588875、588876、588877、588878、588879、588880、588881、588882、588883、588884、598999、599000、599001、599002、599003、599004、599005、599006、599007、599008、599009、599010、599011、599012、599013、599014、599015、599018、599019、599023、599024、599025、599026、599027、599028、599029、599030、599031、599032、599033、599034、599035、599058、599062、599063、599064、599065、599070、599071、599072、599073、599074、599076、599077、599078、599079、599080、599081、599082、599083、599084、599085、599086、599087、599088、599089、599090、599091、599092、599093、599094、599095、599096、599097、599098、599102、599119、599123、599124、599125、599126、599127、599128、599132、599133、599134、599135、599136、59

10

20

30

40

50

9 1 3 7、5 9 9 1 3 8、5 9 9 1 3 9、5 9 9 1 4 0、5 9 9 1 4 1、5 9 9 1 4 2、  
5 9 9 1 4 3、5 9 9 1 4 4、5 9 9 1 4 5、5 9 9 1 4 7、5 9 9 1 4 8、5 9 9 1 4  
9、5 9 9 1 5 0、5 9 9 1 5 1、5 9 9 1 5 2、5 9 9 1 5 3、5 9 9 1 5 4、5 9 9  
1 5 5、5 9 9 1 5 6、5 9 9 1 5 7、5 9 9 1 5 8、5 9 9 1 5 9、5 9 9 1 7 8、5  
9 9 1 7 9、5 9 9 1 8 0、5 9 9 1 8 1、5 9 9 1 8 2、5 9 9 1 8 6、5 9 9 1 8 7  
、5 9 9 1 8 8、5 9 9 1 8 9、5 9 9 1 9 0、5 9 9 1 9 1、5 9 9 1 9 2、5 9 9 1  
9 3、5 9 9 1 9 4、5 9 9 1 9 5、5 9 9 1 9 6、5 9 9 1 9 7、5 9 9 1 9 8、5 9  
9 1 9 9、5 9 9 2 0 0、5 9 9 2 0 1、5 9 9 2 0 2、5 9 9 2 0 3、5 9 9 2 0 4、  
5 9 9 2 0 5、5 9 9 2 0 6、5 9 9 2 0 7、5 9 9 2 0 8、5 9 9 2 0 9、5 9 9 2 1  
0、5 9 9 2 1 1、5 9 9 2 1 2、5 9 9 2 1 3、5 9 9 2 1 4、5 9 9 2 1 5、5 9 9  
2 1 6、5 9 9 2 1 7、5 9 9 2 1 8、5 9 9 2 1 9、5 9 9 2 2 0、5 9 9 2 2 1、5  
9 9 2 2 1、5 9 9 2 2 2、5 9 9 2 2 3、5 9 9 2 2 4、5 9 9 2 2 5、5 9 9 2 2 6  
、5 9 9 2 2 7、5 9 9 2 2 8、5 9 9 2 2 9、5 9 9 2 3 0、5 9 9 2 3 1、5 9 9 2  
3 2、5 9 9 2 3 3、5 9 9 2 3 4、5 9 9 2 3 5、5 9 9 2 3 6、5 9 9 2 4 1、5 9  
9 2 4 7、5 9 9 2 4 8、5 9 9 2 4 9、5 9 9 2 5 5、5 9 9 2 5 6、5 9 9 2 5 7、  
5 9 9 2 5 8、5 9 9 2 6 0、5 9 9 2 6 1、5 9 9 2 6 2、5 9 9 2 6 3、5 9 9 2 6  
4、5 9 9 2 6 5、5 9 9 2 6 6、5 9 9 2 6 7、5 9 9 2 6 8、5 9 9 2 6 9、5 9 9  
2 7 0、5 9 9 2 7 1、5 9 9 2 7 2、5 9 9 2 7 3、5 9 9 2 7 4、5 9 9 2 7 5、5  
9 9 2 7 6、5 9 9 2 7 7、5 9 9 2 7 8、5 9 9 2 7 9、5 9 9 2 8 0、5 9 9 2 9 7  
、5 9 9 2 9 9、5 9 9 3 0 6、5 9 9 3 0 7、5 9 9 3 0 8、5 9 9 3 0 9、5 9 9 3  
1 1、5 9 9 3 1 2、5 9 9 3 1 3、5 9 9 3 1 4、5 9 9 3 1 5、5 9 9 3 1 6、5 9  
9 3 1 7、5 9 9 3 1 8、5 9 9 3 1 9、5 9 9 3 2 0、5 9 9 3 2 1、5 9 9 3 2 2、  
5 9 9 3 2 3、5 9 9 3 2 4、5 9 9 3 2 5、5 9 9 3 2 6、5 9 9 3 2 7、5 9 9 3 2  
8、5 9 9 3 2 9、5 9 9 3 3 0、5 9 9 3 3 8、5 9 9 3 4 9、5 9 9 3 5 3、5 9 9  
3 5 4、5 9 9 3 5 5、5 9 9 3 5 6、5 9 9 3 5 7、5 9 9 3 5 8、5 9 9 3 5 9、5  
9 9 3 6 0、5 9 9 3 6 1、5 9 9 3 6 2、5 9 9 3 6 3、5 9 9 3 6 4、5 9 9 3 6 9  
、5 9 9 3 7 1、5 9 9 3 7 2、5 9 9 3 7 3、5 9 9 3 7 6、5 9 9 3 7 8、5 9 9 3  
7 9、5 9 9 3 8 2、5 9 9 3 8 3、5 9 9 3 8 4、5 9 9 3 8 5、5 9 9 3 8 6、5 9  
9 3 8 7、5 9 9 3 8 8、5 9 9 3 8 9、5 9 9 3 9 0、5 9 9 3 9 1、5 9 9 3 9 2、  
5 9 9 3 9 3、5 9 9 3 9 4、5 9 9 3 9 5、5 9 9 3 9 6、5 9 9 3 9 7、5 9 9 3 9  
8、5 9 9 3 9 9、5 9 9 4 0 0、5 9 9 4 0 1、5 9 9 4 0 2、5 9 9 4 0 3、5 9 9  
4 0 4、5 9 9 4 0 5、5 9 9 4 0 6、5 9 9 4 0 7、5 9 9 4 0 8、5 9 9 4 0 9、5  
9 9 4 1 0、5 9 9 4 1 2、5 9 9 4 1 3、5 9 9 4 1 4、5 9 9 4 1 5、5 9 9 4 1 6  
、5 9 9 4 1 7、5 9 9 4 1 8、5 9 9 4 1 9、5 9 9 4 2 0、5 9 9 4 2 1、5 9 9 4  
2 2、5 9 9 4 2 3、5 9 9 4 2 4、5 9 9 4 2 5、5 9 9 4 2 6、5 9 9 4 3 3、5 9  
9 4 3 4、5 9 9 4 3 5、5 9 9 4 3 6、5 9 9 4 3 7、5 9 9 4 3 8、5 9 9 4 3 9、  
5 9 9 4 4 0、5 9 9 4 4 1、5 9 9 4 4 2、5 9 9 4 4 3、5 9 9 4 4 4、5 9 9 4 4  
5、5 9 9 4 4 6、5 9 9 4 4 7、5 9 9 4 4 8、5 9 9 4 5 0、5 9 9 4 5 4、5 9 9  
4 5 5、5 9 9 4 5 6、5 9 9 4 6 7、5 9 9 4 6 8、5 9 9 4 6 9、5 9 9 4 7 1、5  
9 9 4 7 2、5 9 9 4 7 3、5 9 9 4 7 4、5 9 9 4 7 5、5 9 9 4 7 6、5 9 9 4 7 7  
、5 9 9 4 7 8、5 9 9 4 7 9、5 9 9 4 8 0、5 9 9 4 8 1、5 9 9 4 8 2、5 9 9 4  
8 3、5 9 9 4 8 4、5 9 9 4 8 5、5 9 9 4 8 6、5 9 9 4 8 7、5 9 9 4 8 8、5 9  
9 4 8 9、5 9 9 4 9 0、5 9 9 4 9 1、5 9 9 4 9 2、5 9 9 4 9 3、5 9 9 4 9 4、  
5 9 9 4 9 5、5 9 9 4 9 6、5 9 9 4 9 7、5 9 9 4 9 8、5 9 9 4 9 9、5 9 9 5 0  
0、5 9 9 5 0 1、5 9 9 5 0 2、5 9 9 5 0 3、5 9 9 5 0 4、5 9 9 5 0 5、5 9 9  
5 0 6、5 9 9 5 0 7、5 9 9 5 0 8、5 9 9 5 0 9、5 9 9 5 1 2、5 9 9 5 1 5、5  
9 9 5 1 8、5 9 9 5 3 1、5 9 9 5 4 1、5 9 9 5 4 1、5 9 9 5 4 6、5 9 9 5 4 7  
、5 9 9 5 4 8、5 9 9 5 4 9、5 9 9 5 5 0、5 9 9 5 5 2、5 9 9 5 5 3、5 9 9 5  
5 4、5 9 9 5 5 5、5 9 9 5 5 7、5 9 9 5 5 8、5 9 9 5 6 1、5 9 9 5 6 2、5 9  
9 5 6 3、5 9 9 5 6 4、5 9 9 5 6 5、5 9 9 5 6 6、5 9 9 5 6 7、5 9 9 5 6 8、

10

20

30

40

50

5 9 9 5 6 9、5 9 9 5 7 0、5 9 9 5 7 7、5 9 9 5 7 8、5 9 9 5 7 9、5 9 9 5 8  
 0、5 9 9 5 8 1、5 9 9 5 8 1、5 9 9 5 8 2、5 9 9 5 8 4、5 9 9 5 8 5、5 9 9  
 5 8 6、5 9 9 5 8 7、5 9 9 5 8 8、5 9 9 5 8 9、5 9 9 5 9 0、5 9 9 5 9 1、5  
 9 9 5 9 2、5 9 9 5 9 3、5 9 9 5 9 4、5 9 9 5 9 5、6 0 1 3 2 1、6 0 1 3 2 2  
 、6 0 1 3 2 3、6 0 1 3 2 5、6 0 1 3 2 7、6 0 1 3 2 8、6 0 1 3 2 9、6 0 1 3  
 3 0、6 0 1 3 3 2、6 0 1 3 3 3、6 0 1 3 3 4、6 0 1 3 3 5、6 0 1 3 3 6、6 0  
 1 3 3 7、6 0 1 3 3 8、6 0 1 3 3 9、6 0 1 3 4 1、6 0 1 3 4 2、6 0 1 3 4 3、  
 6 0 1 3 4 4、6 0 1 3 4 5、6 0 1 3 4 6、6 0 1 3 4 7、6 0 1 3 4 8、6 0 1 3 4  
 9、6 0 1 3 6 2、6 0 1 3 6 7、6 0 1 3 6 8、6 0 1 3 6 9、6 0 1 3 7 1、6 0 1  
 3 7 2、6 0 1 3 7 3、6 0 1 3 7 4、6 0 1 3 7 5、6 0 1 3 7 7、6 0 1 3 7 8、6  
 0 1 3 8 0、6 0 1 3 8 1、6 0 1 3 8 2、6 0 1 3 8 3、6 0 1 3 8 4、6 0 1 3 8 5  
 、6 0 1 3 8 6、6 0 1 3 8 7、及び6 0 1 3 8 8。

10

# 【 0 1 8 8 】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチド  
 が C F B 核酸の一領域を標的とし、少なくとも 5 0 % の C F B m R N A 阻害を達成する

；配列番号：1 2、3 0、3 3、3 6、3 7、8 4、8 5、8 6、8 7、8 8、8 9、9  
 0、9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、1 0 0、1 0 1、  
 1 0 2、1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 9 8、2 0 3、2 0 6、2 0 8、2 1 9、2 2 8、  
 2 3 7、2 3 8、2 3 9、3 1 7、3 9 5、3 9 6、3 9 7、3 9 8、3 9 9、4 0 0、  
 4 0 1、4 0 2、4 0 3、4 0 4、4 0 5、4 0 6、4 0 7、4 0 8、4 0 9、4 1 0、  
 4 1 1、4 1 2、4 1 3、4 1 4、4 1 5、4 1 6、4 1 7、4 1 8、4 1 9、4 2 0、  
 4 2 1、4 2 2、4 2 3、4 2 4、4 2 5、4 2 6、4 2 7、4 2 8、4 2 9、4 3 0、  
 4 3 1、4 3 2、4 3 3、4 3 4、4 3 4、4 3 5、4 3 6、4 3 7、4 3 8、4 3 9、  
 4 4 0、4 4 1、4 4 2、4 4 3、4 4 4、4 4 5、4 4 6、4 4 7、4 4 8、4 4 9、  
 4 5 0、4 5 1、4 5 2、4 5 3、4 5 4、4 5 5、4 5 6、4 5 7、4 5 8、4 5 9、  
 4 6 0、4 6 1、4 6 2、4 6 3、4 6 4、4 6 5、4 6 8、4 7 2、4 7 3、4 7 5、  
 4 7 8、4 7 9、4 8 8、4 9 2、4 9 4、4 9 5、4 9 8、4 9 9、5 0 0、5 0 2、  
 5 0 3、5 0 9、5 1 0、5 1 1、5 1 2、5 1 3、5 1 4、5 1 5、5 1 7、5 1 8、  
 5 2 2、5 2 3、5 2 4、5 2 5、5 2 9、5 3 0、5 3 1、5 3 4、5 3 5、5 3 7、  
 5 4 0、5 4 1、5 4 2、5 4 3、5 4 4、5 4 5、5 4 6、5 4 7、5 4 9、5 5 0、  
 5 5 1、5 5 2、5 5 3、5 5 4、5 5 5、5 5 6、5 5 7、5 5 8、5 5 9、5 6 3、  
 5 6 4、5 6 5、5 6 9、5 7 0、5 7 2、5 7 3、5 7 7、5 8 8、5 8 9、5 9 0、  
 5 9 1、5 9 2、5 9 4、5 9 5、5 9 6、5 9 7、5 9 8、5 9 9、6 0 0、6 0 1、  
 6 0 2、6 0 3、6 0 4、6 0 5、6 0 6、6 0 7、6 0 8、6 0 9、6 1 0、6 1 1、  
 6 1 2、6 1 3、6 1 4、6 1 5、6 1 6、6 1 7、6 1 8、6 1 9、6 2 3、6 4 0、  
 6 4 1、6 4 4、6 4 5、6 4 6、6 4 7、6 4 8、6 4 9、6 5 0、6 5 1、6 5 2、  
 6 5 3、6 5 4、6 5 5、6 5 6、6 5 7、6 5 8、6 5 9、6 6 0、6 6 1、6 6 2、  
 6 6 3、6 6 4、6 6 5、6 6 6、6 6 7、6 6 8、6 6 9、6 7 0、6 7 1、6 7 2、  
 6 7 3、6 7 4、6 7 5、6 7 6、6 7 7、6 7 8、6 7 9、6 8 0、6 8 1、6 8 2、  
 6 8 3、6 8 4、6 8 5、6 8 6、6 8 7、6 8 8、6 8 9、7 0 0、7 0 4、7 0 5、  
 7 0 6、7 0 7、7 0 8、7 0 9、7 1 1、7 1 2、7 1 3、7 1 4、7 1 5、7 1 6、  
 7 1 7、7 1 8、7 2 0、7 2 1、7 2 2、7 2 3、7 2 4、7 2 5、7 2 6、7 2 7、  
 7 2 8、7 2 9、7 3 0、7 3 1、7 3 2、7 3 3、7 3 4、7 3 5、7 3 6、7 3 7、  
 7 3 8、7 3 9、7 4 0、7 4 1、7 4 2、7 4 3、7 4 4、7 4 5、7 4 5、7 4 6、  
 7 4 7、7 4 8、7 4 9、7 5 0、7 5 1、7 5 2、7 5 3、7 5 4、7 5 5、7 5 6  
 、7 5 8、7 5 9、7 6 0、7 6 1、7 6 2、7 6 6、7 6 7、7 6 8、7 6 9、7 7 0  
 、7 7 1、7 7 2、7 7 3、7 7 4、7 7 5、7 7 6、7 7 7、7 7 8、7 7 9、7 8 0  
 、7 8 1、7 8 2、7 8 3、7 8 4、7 8 5、7 8 6、7 8 7、7 8 8、7 8 9、7 9 0  
 、7 9 1、7 9 2、7 9 3、7 9 4、7 9 5、7 9 6、7 9 7、7 9 8、7 9 9、8 1 3  
 、8 3 3、8 3 4、8 4 1、8 4 6、8 4 9、8 5 0、8 6 7、及び8 7 3

20

30

40

50

## 【 0 1 8 9 】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチド  
 が C F B 核酸の一領域を標的とし、少なくとも 60 % の C F B mRNA 阻害を達成する  
 ; ISIS 番号 : 5 1 6 3 5 0、5 3 2 6 1 4、5 3 2 6 3 5、5 3 2 6 8 6、5 3 2 6 8 7  
 、5 3 2 6 8 8、5 3 2 6 8 9、5 3 2 7 7 0、5 3 2 8 0 0、5 3 2 8 0 9、5 3 2 8  
 1 0、5 3 2 8 1 1、5 3 2 9 1 7、5 3 2 9 5 2、5 8 8 5 1 2、5 8 8 5 1 3、5 8  
 8 5 1 4、5 8 8 5 1 5、5 8 8 5 1 6、5 8 8 5 1 7、5 8 8 5 1 8、5 8 8 5 1 9、  
 5 8 8 5 2 2、5 8 8 5 2 3、5 8 8 5 2 4、5 8 8 5 2 5、5 8 8 5 2 7、5 8 8 5 2  
 8、5 8 8 5 2 9、5 8 8 5 3 0、5 8 8 5 3 1、5 8 8 5 3 2、5 8 8 5 3 3、5 8 8  
 5 3 4、5 8 8 5 3 5、5 8 8 5 3 6、5 8 8 5 3 7、5 8 8 5 3 8、5 8 8 5 3 9、5  
 8 8 5 4 0、5 8 8 5 4 1、5 8 8 5 4 2、5 8 8 5 4 3、5 8 8 5 4 4、5 8 8 5 4 5  
 、5 8 8 5 4 6、5 8 8 5 4 7、5 8 8 5 4 8、5 8 8 5 4 9、5 8 8 5 5 0、5 8 8 5  
 5 1、5 8 8 5 5 2、5 8 8 5 5 3、5 8 8 5 5 4、5 8 8 5 5 5、5 8 8 5 5 6、5 8  
 8 5 5 7、5 8 8 5 5 8、5 8 8 5 5 9、5 8 8 5 6 0、5 8 8 5 6 1、5 8 8 5 6 2、  
 5 8 8 5 6 3、5 8 8 5 6 4、5 8 8 5 6 5、5 8 8 5 6 6、5 8 8 5 6 7、5 8 8 5 6  
 8、5 8 8 5 6 9、5 8 8 5 7 0、5 8 8 5 7 1、5 8 8 5 7 2、5 8 8 5 7 3、5 8 8  
 5 7 4、5 8 8 5 7 5、5 8 8 5 7 6、5 8 8 5 7 7、5 8 8 6 3 6、5 8 8 6 3 8、5  
 8 8 6 4 0、5 8 8 6 6 4、5 8 8 6 7 6、5 8 8 6 9 6、5 8 8 6 9 8、5 8 8 8 0 7  
 、5 8 8 8 0 8、5 8 8 8 1 4、5 8 8 8 1 5、5 8 8 8 1 9、5 8 8 8 2 0、5 8 8 8  
 4 0、5 8 8 8 4 2、5 8 8 8 4 6、5 8 8 8 4 7、5 8 8 8 4 8、5 8 8 8 4 9、5 8  
 8 8 5 0、5 8 8 8 5 1、5 8 8 8 5 2、5 8 8 8 5 3、5 8 8 8 5 4、5 8 8 8 5 5、  
 5 8 8 8 5 6、5 8 8 8 5 7、5 8 8 8 5 8、5 8 8 8 5 9、5 8 8 8 6 0、5 8 8 8 6  
 1、5 8 8 8 6 2、5 8 8 8 6 3、5 8 8 8 6 4、5 8 8 8 6 6、5 8 8 8 6 7、5 8 8  
 8 6 8、5 8 8 8 7 0、5 8 8 8 7 1、5 8 8 8 7 2、5 8 8 8 7 3、5 8 8 8 7 4、5  
 8 8 8 7 5、5 8 8 8 7 6、5 8 8 8 7 7、5 8 8 8 7 8、5 8 8 8 7 9、5 8 8 8 8 0  
 、5 8 8 8 8 1、5 8 8 8 8 2、5 8 8 8 8 3、5 8 8 8 8 4、5 9 8 9 9 9、5 9 9 0  
 0 0、5 9 9 0 0 1、5 9 9 0 0 2、5 9 9 0 0 3、5 9 9 0 0 4、5 9 9 0 0 5、5 9  
 9 0 0 6、5 9 9 0 0 7、5 9 9 0 0 8、5 9 9 0 0 9、5 9 9 0 1 0、5 9 9 0 1 1、  
 5 9 9 0 1 2、5 9 9 0 1 3、5 9 9 0 1 4、5 9 9 0 1 5、5 9 9 0 1 9、5 9 9 0 2  
 4、5 9 9 0 2 5、5 9 9 0 2 6、5 9 9 0 2 7、5 9 9 0 2 8、5 9 9 0 2 9、5 9 9  
 0 3 0、5 9 9 0 3 1、5 9 9 0 3 2、5 9 9 0 3 3、5 9 9 0 3 4、5 9 9 0 3 5、5  
 9 9 0 6 4、5 9 9 0 6 5、5 9 9 0 7 1、5 9 9 0 7 2、5 9 9 0 7 7、5 9 9 0 7 8  
 、5 9 9 0 7 9、5 9 9 0 8 0、5 9 9 0 8 3、5 9 9 0 8 4、5 9 9 0 8 5、5 9 9 0  
 8 6、5 9 9 0 8 7、5 9 9 0 8 8、5 9 9 0 8 9、5 9 9 0 9 0、5 9 9 0 9 1、5 9  
 9 0 9 2、5 9 9 0 9 3、5 9 9 0 9 4、5 9 9 0 9 5、5 9 9 0 9 6、5 9 9 0 9 7、  
 5 9 9 1 2 5、5 9 9 1 2 6、5 9 9 1 2 7、5 9 9 1 3 3、5 9 9 1 3 4、5 9 9 1 3  
 5、5 9 9 1 3 6、5 9 9 1 3 8、5 9 9 1 3 9、5 9 9 1 4 0、5 9 9 1 4 1、5 9 9  
 1 4 2、5 9 9 1 4 8、5 9 9 1 4 9、5 9 9 1 5 0、5 9 9 1 5 1、5 9 9 1 5 2、5  
 9 9 1 5 4、5 9 9 1 5 5、5 9 9 1 5 6、5 9 9 1 5 7、5 9 9 1 5 8、5 9 9 1 5 9  
 、5 9 9 1 7 8、5 9 9 1 7 9、5 9 9 1 8 0、5 9 9 1 8 1、5 9 9 1 8 7、5 9 9 1  
 8 8、5 9 9 1 9 0、5 9 9 1 9 2、5 9 9 1 9 3、5 9 9 1 9 4、5 9 9 1 9 5、5 9  
 9 1 9 6、5 9 9 1 9 7、5 9 9 1 9 8、5 9 9 1 9 9、5 9 9 2 0 0、5 9 9 2 0 1、  
 5 9 9 2 0 2、5 9 9 2 0 3、5 9 9 2 0 4、5 9 9 2 0 5、5 9 9 2 0 6、5 9 9 2 0  
 7、5 9 9 2 0 8、5 9 9 2 0 9、5 9 9 2 1 0、5 9 9 2 1 1、5 9 9 2 1 2、5 9 9  
 2 1 3、5 9 9 2 1 4、5 9 9 2 1 5、5 9 9 2 1 6、5 9 9 2 1 7、5 9 9 2 1 8、  
 5 9 9 2 1 9、5 9 9 2 2 0、5 9 9 2 2 1、5 9 9 2 2 2、5 9 9 2 2 3、5 9 9 2 2  
 4、5 9 9 2 2 5、5 9 9 2 2 6、5 9 9 2 2 7、5 9 9 2 2 8、5 9 9 2 2 9、5 9 9  
 2 3 0、5 9 9 2 3 1、5 9 9 2 3 2、5 9 9 2 3 3、5 9 9 2 3 4、5 9 9 2 3 5、5  
 9 9 2 3 6、5 9 9 2 4 7、5 9 9 2 5 5、5 9 9 2 5 6、5 9 9 2 5 7、5 9 9 2 6 3  
 、5 9 9 2 6 4、5 9 9 2 6 5、5 9 9 2 6 6、5 9 9 2 7 0、5 9 9 2 7 1、5 9 9 2

10

20

30

40

50

7 2、5 9 9 2 7 3、5 9 9 2 7 4、5 9 9 2 7 5、5 9 9 2 7 6、5 9 9 2 7 7、5 9  
9 2 7 8、5 9 9 2 7 9、5 9 9 2 8 0、5 9 9 3 0 6、5 9 9 3 0 7、5 9 9 3 0 8、  
5 9 9 3 1 1、5 9 9 3 1 2、5 9 9 3 1 3、5 9 9 3 1 4、5 9 9 3 1 5、5 9 9 3 1  
6、5 9 9 3 1 7、5 9 9 3 1 8、5 9 9 3 1 9、5 9 9 3 2 0、5 9 9 3 2 1、5 9 9  
3 2 2、5 9 9 3 2 3、5 9 9 3 2 4、5 9 9 3 2 5、5 9 9 3 2 7、5 9 9 3 2 8、5  
9 9 3 2 9、5 9 9 3 3 0、5 9 9 3 4 9、5 9 9 3 5 3、5 9 9 3 5 5、5 9 9 3 5 6  
、5 9 9 3 5 7、5 9 9 3 5 8、5 9 9 3 5 9、5 9 9 3 6 0、5 9 9 3 6 1、5 9 9 3  
6 2、5 9 9 3 6 3、5 9 9 3 6 4、5 9 9 3 6 9、5 9 9 3 7 1、5 9 9 3 7 2、5 9  
9 3 7 3、5 9 9 3 7 6、5 9 9 3 7 8、5 9 9 3 7 9、5 9 9 3 8 2、5 9 9 3 8 4、  
5 9 9 3 8 6、5 9 9 3 8 7、5 9 9 3 8 8、5 9 9 3 8 9、5 9 9 3 9 0、5 9 9 3 9  
1、5 9 9 3 9 2、5 9 9 3 9 3、5 9 9 3 9 4、5 9 9 3 9 5、5 9 9 3 9 6、5 9 9  
3 9 7、5 9 9 3 9 8、5 9 9 3 9 9、5 9 9 4 0 0、5 9 9 4 0 1、5 9 9 4 0 2、5  
9 9 4 0 3、5 9 9 4 0 4、5 9 9 4 0 5、5 9 9 4 0 6、5 9 9 4 0 7、5 9 9 4 0 8  
、5 9 9 4 0 9、5 9 9 4 1 0、5 9 9 4 1 2、5 9 9 4 1 3、5 9 9 4 1 4、5 9 9 4  
1 5、5 9 9 4 1 6、5 9 9 4 1 7、5 9 9 4 1 8、5 9 9 4 1 9、5 9 9 4 2 0、5 9  
9 4 2 1、5 9 9 4 2 2、5 9 9 4 2 3、5 9 9 4 2 4、5 9 9 4 2 5、5 9 9 4 3 3、  
5 9 9 4 3 4、5 9 9 4 3 5、5 9 9 4 3 6、5 9 9 4 3 7、5 9 9 4 3 8、5 9 9 4 3  
9、5 9 9 4 4 0、5 9 9 4 4 1、5 9 9 4 4 2、5 9 9 4 4 3、5 9 9 4 4 4、5 9 9  
4 4 5、5 9 9 4 4 6、5 9 9 4 4 7、5 9 9 4 4 8、5 9 9 4 5 6、5 9 9 4 6 7、5  
9 9 4 6 8、5 9 9 4 7 1、5 9 9 4 7 2、5 9 9 4 7 3、5 9 9 4 7 4、5 9 9 4 7 5  
、5 9 9 4 7 6、5 9 9 4 7 7、5 9 9 4 7 8、5 9 9 4 7 9、5 9 9 4 8 0、5 9 9 4  
8 1、5 9 9 4 8 2、5 9 9 4 8 3、5 9 9 4 8 4、5 9 9 4 8 5、5 9 9 4 8 6、5 9  
9 4 8 7、5 9 9 4 8 8、5 9 9 4 8 9、5 9 9 4 9 0、5 9 9 4 9 1、5 9 9 4 9 2、  
5 9 9 4 9 3、5 9 9 4 9 4、5 9 9 4 9 5、5 9 9 4 9 6、5 9 9 4 9 7、5 9 9 4 9  
8、5 9 9 4 9 9、5 9 9 5 0 0、5 9 9 5 0 1、5 9 9 5 0 2、5 9 9 5 0 3、5 9 9  
5 0 4、5 9 9 5 0 5、5 9 9 5 0 6、5 9 9 5 0 7、5 9 9 5 0 8、5 9 9 5 1 2、5  
9 9 5 3 1、5 9 9 5 4 7、5 9 9 5 4 8、5 9 9 5 4 9、5 9 9 5 5 2、5 9 9 5 5 3  
、5 9 9 5 5 4、5 9 9 5 5 5、5 9 9 5 5 7、5 9 9 5 5 8、5 9 9 5 6 2、5 9 9 5  
6 3、5 9 9 5 6 4、5 9 9 5 6 5、5 9 9 5 6 6、5 9 9 5 6 7、5 9 9 5 6 8、5 9  
9 5 6 9、5 9 9 5 7 0、5 9 9 5 7 7、5 9 9 5 7 8、5 9 9 5 7 9、5 9 9 5 8 0、  
5 9 9 5 8 1、5 9 9 5 8 2、5 9 9 5 8 4、5 9 9 5 8 5、5 9 9 5 8 6、5 9 9 5 8  
7、5 9 9 5 8 8、5 9 9 5 8 9、5 9 9 5 9 0、5 9 9 5 9 1、5 9 9 5 9 2、5 9 9  
5 9 3、5 9 9 5 9 4、5 9 9 5 9 5、6 0 1 3 2 3、6 0 1 3 2 7、6 0 1 3 2 9、6  
0 1 3 3 2、6 0 1 3 3 3、6 0 1 3 3 3、6 0 1 3 3 4、6 0 1 3 3 5、6 0 1 3 3 6  
、6 0 1 3 3 8、6 0 1 3 3 9、6 0 1 3 4 1、6 0 1 3 4 2、6 0 1 3 4 3、6 0 1 3  
4 4、6 0 1 3 4 5、6 0 1 3 4 6、6 0 1 3 4 7、6 0 1 3 4 8、6 0 1 3 4 9、6 0  
1 3 6 8、6 0 1 3 6 9、6 0 1 3 7 1、6 0 1 3 7 2、6 0 1 3 7 4、6 0 1 3 7 5、  
6 0 1 3 7 7、6 0 1 3 7 8、6 0 1 3 8 0、6 0 1 3 8 1、6 0 1 3 8 2、6 0 1 3 8  
3、6 0 1 3 8 4、6 0 1 3 8 5、6 0 1 3 8 6、6 0 1 3 8 7、及び 6 0 1 3 8 8。

**【 0 1 9 0 】**

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチド  
が C F B 核酸の一領域を標的とし、少なくとも 6 0 % の C F B m R N A 阻害を達成する  
；配列番号：1 2、3 3、8 4、8 5、8 6、8 7、1 9 8、2 2 8、2 3 7、2 3 8、  
2 3 9、3 1 7、3 9 5、3 9 6、3 9 7、3 9 8、3 9 9、4 0 0、4 0 1、4 0 2、  
4 0 3、4 0 4、4 0 5、4 0 6、4 0 7、4 0 8、4 1 0、4 1 1、4 1 2、4 1 3  
、4 1 4、4 1 5、4 1 6、4 1 7、4 1 8、4 1 9、4 2 0、4 2 1、4 2 2、4 2 3  
、4 2 4、4 2 5、4 2 6、4 2 7、4 2 8、4 2 9、4 3 0、4 3 1、4 3 2、4 3 3  
、4 3 4、4 3 5、4 3 6、4 3 7、4 3 8、4 3 9、4 4 0、4 4 1、4 4 2、4 4 3  
、4 4 4、4 4 5、4 4 6、4 4 7、4 4 8、4 4 9、4 5 0、4 5 1、4 5 2、4 5 3  
、4 5 4、4 5 5、4 5 6、4 5 7、4 5 8、4 5 9、4 6 0、4 6 1、4 6 2、4 6 3

10

20

30

40

50

、 4 6 4、 4 6 5、 4 7 2、 4 7 3、 5 1 3、 5 1 4、 5 1 5、 5 3 1、 5 3 7、 5 4 1  
 、 5 4 2、 5 4 3、 5 4 4、 5 4 5、 5 4 6、 5 4 7、 5 4 9、 5 5 0、 5 5 1、 5 5 2  
 、 5 5 3、 5 5 4、 5 5 5、 5 5 6、 5 5 7、 5 5 8、 5 6 4、 5 6 5、 5 6 9、 5 7 0  
 、 5 7 7、 5 9 0、 5 9 2、 5 9 5、 5 9 6、 5 9 7、 5 9 8、 5 9 9、 6 0 0、 6 0 1  
 、 6 0 2、 6 0 3、 6 0 4、 6 0 5、 6 0 6、 6 0 7、 6 0 8、 6 0 9、 6 1 0、 6 1 1  
 、 6 1 2、 6 1 3、 6 1 4、 6 1 5、 6 1 6、 6 1 7、 6 1 8、 6 4 4、 6 4 5、 6 4 6  
 、 6 4 7、 6 4 8、 6 4 9、 6 5 0、 6 5 1、 6 5 2、 6 5 3、 6 5 4、 6 5 5、 6 5 6  
 、 6 5 7、 6 5 8、 6 5 9、 6 6 0、 6 6 1、 6 6 2、 6 6 3、 6 6 4、 6 6 5、 6 6 6  
 、 6 6 7、 6 6 8、 6 6 9、 6 7 0、 6 7 1、 6 7 2、 6 7 3、 6 7 4、 6 7 5、 6 7 6  
 、 6 7 7、 6 7 8、 6 7 9、 6 8 0、 6 8 2、 6 8 3、 6 8 4、 6 8 5、 6 8 6、 6 8 7  
 、 6 8 8、 6 8 9、 7 0 0、 7 0 4、 7 0 6、 7 0 7、 7 0 8、 7 0 9、 7 1 1、 7 1 2  
 、 7 1 3、 7 1 4、 7 1 5、 7 1 6、 7 1 7、 7 2 0、 7 2 1、 7 2 2、 7 2 3、 7 2 4  
 、 7 2 5、 7 2 6、 7 2 7、 7 2 7、 7 2 8、 7 2 9、 7 3 0、 7 3 1、 7 3 2、 7 3 3  
 、 7 3 4、 7 3 6、 7 3 7、 7 3 8、 7 3 9、 7 4 0、 7 4 1、 7 4 2、 7 4 3、 7 4 4  
 、 7 4 5、 7 4 5、 7 4 6、 7 4 7、 7 4 8、 7 4 9、 7 5 0、 7 5 1、 7 5 2、 7 5 3  
 、 7 5 4、 7 5 5、 7 5 6、 7 5 8、 7 5 9、 7 6 0、 7 6 1、 7 6 7、 7 6 8、 7 7 0  
 、 7 7 2、 7 7 3、 7 7 4、 7 7 5、 7 7 5、 7 7 6、 7 7 6、 7 7 7、 7 7 7、 7 7 8  
 、 7 7 9、 7 8 0、 7 8 1、 7 8 2、 7 8 3、 7 8 3、 7 8 4、 7 8 4、 7 8 5、 7 8 6  
 、 7 8 7、 7 8 8、 7 8 9、 7 9 0、 7 9 1、 7 9 2、 7 9 3、 7 9 4、 7 9 5、 7 9 6  
 、 7 9 7、 7 9 8、 7 9 9、 8 1 3、 8 3 3、 8 3 4、 8 4 1、 8 4 6、 8 4 9、 及び 8  
 5 0。

10

20

# 【 0 1 9 1 】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチド  
 が C F B 核酸の一領域を標的とし、少なくとも 7 0 % の C F B m R N A 阻害を達成する  
 ; ISIS 番号 : 5 1 6 3 5 0、 5 3 2 6 1 4、 5 3 2 6 8 6、 5 3 2 6 8 7、 5 3 2 6 8 8  
 、 5 3 2 7 7 0、 5 3 2 8 0 0、 5 3 2 8 0 9、 5 3 2 8 1 0、 5 3 2 8 1 1、 5 3 2 9  
 1 7、 5 3 2 9 5 2、 5 8 8 5 1 2、 5 8 8 5 1 3、 5 8 8 5 1 4、 5 8 8 5 1 5、 5 8  
 8 5 1 6、 5 8 8 5 1 7、 5 8 8 5 1 8、 5 8 8 5 2 4、 5 8 8 5 2 9、 5 8 8 5 3 0、  
 5 8 8 5 3 1、 5 8 8 5 3 2、 5 8 8 5 3 3、 5 8 8 5 3 4、 5 8 8 5 3 5、 5 8 8 5 3  
 6、 5 8 8 5 3 7、 5 8 8 5 3 8、 5 8 8 5 3 9、 5 8 8 5 4 0、 5 8 8 5 4 1、 5 8 8  
 5 4 2、 5 8 8 5 4 3、 5 8 8 5 4 4、 5 8 8 5 4 5、 5 8 8 5 4 6、 5 8 8 5 4 7、 5  
 8 8 5 4 8、 5 8 8 5 4 9、 5 8 8 5 5 0、 5 8 8 5 5 1、 5 8 8 5 5 2、 5 8 8 5 5 3  
 、 5 8 8 5 5 4、 5 8 8 5 5 5、 5 8 8 5 5 6、 5 8 8 5 5 7、 5 8 8 5 5 8、 5 8 8 5  
 5 9、 5 8 8 5 6 0、 5 8 8 5 6 1、 5 8 8 5 6 2、 5 8 8 5 6 3、 5 8 8 5 6 4、 5 8  
 8 5 6 5、 5 8 8 5 6 8、 5 8 8 5 6 9、 5 8 8 5 7 0、 5 8 8 5 7 1、 5 8 8 5 7 2、  
 5 8 8 5 7 3、 5 8 8 5 7 4、 5 8 8 5 7 5、 5 8 8 5 7 7、 5 8 8 6 3 6、 5 8 8 6 3  
 8、 5 8 8 6 4 0、 5 8 8 6 9 6、 5 8 8 6 9 8、 5 8 8 8 0 7、 5 8 8 8 1 4、 5 8 8  
 8 1 5、 5 8 8 8 1 9、 5 8 8 8 4 2、 5 8 8 8 4 7、 5 8 8 8 4 8、 5 8 8 8 4 9、 5  
 8 8 8 5 0、 5 8 8 8 5 1、 5 8 8 8 5 2、 5 8 8 8 5 3、 5 8 8 8 5 6、 5 8 8 8 5 7  
 、 5 8 8 8 5 8、 5 8 8 8 5 9、 5 8 8 8 6 0、 5 8 8 8 6 1、 5 8 8 8 6 2、 5 8 8 8  
 6 3、 5 8 8 8 6 6、 5 8 8 8 6 7、 5 8 8 8 7 0、 5 8 8 8 7 1、 5 8 8 8 7 2、 5 8  
 8 8 7 3、 5 8 8 8 7 4、 5 8 8 8 7 5、 5 8 8 8 7 6、 5 8 8 8 7 7、 5 8 8 8 7 8、  
 5 8 8 8 7 9、 5 8 8 8 8 0、 5 8 8 8 8 1、 5 8 8 8 8 2、 5 8 8 8 8 3、 5 8 8 8 8  
 4、 5 9 9 0 0 0、 5 9 9 0 0 1、 5 9 9 0 0 3、 5 9 9 0 0 4、 5 9 9 0 0 5、 5 9 9  
 0 0 8、 5 9 9 0 0 9、 5 9 9 0 1 0、 5 9 9 0 1 1、 5 9 9 0 1 4、 5 9 9 0 1 5、  
 5 9 9 0 2 4、 5 9 9 0 2 5、 5 9 9 0 2 7、 5 9 9 0 2 8、 5 9 9 0 2 9、 5 9 9 0 3  
 0、 5 9 9 0 3 1、 5 9 9 0 3 2、 5 9 9 0 3 3、 5 9 9 0 3 4、 5 9 9 0 7 2、 5 9 9  
 0 7 7、 5 9 9 0 8 0、 5 9 9 0 8 5、 5 9 9 0 8 6、 5 9 9 0 8 7、 5 9 9 0 8 8、 5  
 9 9 0 8 9、 5 9 9 0 9 0、 5 9 9 0 9 1、 5 9 9 0 9 3、 5 9 9 0 9 4、 5 9 9 0 9 5  
 、 5 9 9 0 9 6、 5 9 9 0 9 7、 5 9 9 1 2 5、 5 9 9 1 2 6、 5 9 9 1 3 4、 5 9 9 1

30

40

50



3 8、5 9 9 1 3 9、5 9 9 1 4 8、5 9 9 1 4 9、5 9 9 1 5 0、5 9 9 1 5 1、5 9  
 9 1 5 2、5 9 9 1 5 4、5 9 9 1 5 5、5 9 9 1 5 6、5 9 9 1 5 7、5 9 9 1 5 8、  
 5 9 9 1 8 7、5 9 9 1 8 8、5 9 9 1 9 3、5 9 9 1 9 5、5 9 9 1 9 6、5 9 9 1 9  
 7、5 9 9 1 9 8、5 9 9 1 9 9、5 9 9 2 0 0、5 9 9 2 0 1、5 9 9 2 0 2、5 9 9  
 2 0 3、5 9 9 2 0 4、5 9 9 2 0 5、5 9 9 2 0 6、5 9 9 2 0 7、5 9 9 2 0 8、5  
 9 9 2 1 0、5 9 9 2 1 1、5 9 9 2 1 2、5 9 9 2 1 3、5 9 9 2 1 4、5 9 9 2 1 5  
 、5 9 9 2 1 6、5 9 9 2 1 7、5 9 9 2 1 8、5 9 9 2 1 9、5 9 9 2 2 0、5 9 9 2  
 2 1、5 9 9 2 2 2、5 9 9 2 2 3、5 9 9 2 2 4、5 9 9 2 2 5、5 9 9 2 2 6、5 9  
 9 2 2 7、5 9 9 2 2 8、5 9 9 2 2 9、5 9 9 2 3 0、5 9 9 2 3 1、5 9 9 2 3 2、  
 5 9 9 2 3 3、5 9 9 2 3 4、5 9 9 2 3 5、5 9 9 2 3 6、5 9 9 2 6 6、5 9 9 2 7  
 2、5 9 9 2 7 2、5 9 9 2 7 3、5 9 9 2 7 4、5 9 9 2 7 5、5 9 9 2 7 7、5 9 9  
 2 7 8、5 9 9 2 7 9、5 9 9 2 8 0、5 9 9 2 8 0、5 9 9 3 0 6、5 9 9 3 1 1、5  
 9 9 3 1 2、5 9 9 3 1 3、5 9 9 3 1 4、5 9 9 3 1 5、5 9 9 3 1 6、5 9 9 3 1 7  
 、5 9 9 3 1 8、5 9 9 3 1 9、5 9 9 3 2 0、5 9 9 3 2 1、5 9 9 3 2 2、5 9 9 3  
 2 3、5 9 9 3 2 5、5 9 9 3 2 7、5 9 9 3 2 8、5 9 9 3 2 9、5 9 9 3 3 0、5 9  
 9 3 5 5、5 9 9 3 5 7、5 9 9 3 5 8、5 9 9 3 5 9、5 9 9 3 6 0、5 9 9 3 6 1、  
 5 9 9 3 6 2、5 9 9 3 6 3、5 9 9 3 6 4、5 9 9 3 6 9、5 9 9 3 7 1、5 9 9 3 7  
 2、5 9 9 3 7 3、5 9 9 3 7 8、5 9 9 3 7 9、5 9 9 3 8 2、5 9 9 3 8 4、5 9 9  
 3 8 6、5 9 9 3 8 7、5 9 9 3 8 8、5 9 9 3 8 9、5 9 9 3 9 0、5 9 9 3 9 1、5  
 9 9 3 9 2、5 9 9 3 9 3、5 9 9 3 9 4、5 9 9 3 9 5、5 9 9 3 9 6、5 9 9 3 9 7  
 、5 9 9 3 9 8、5 9 9 3 9 9、5 9 9 4 0 0、5 9 9 4 0 1、5 9 9 4 0 2、5 9 9 4  
 0 3、5 9 9 4 0 4、5 9 9 4 0 5、5 9 9 4 0 6、5 9 9 4 0 7、5 9 9 4 0 8、5 9  
 9 4 0 9、5 9 9 4 1 0、5 9 9 4 1 3、5 9 9 4 1 4、5 9 9 4 1 5、5 9 9 4 1 6、  
 5 9 9 4 1 7、5 9 9 4 1 8、5 9 9 4 1 9、5 9 9 4 2 0、5 9 9 4 2 1、5 9 9 4 2  
 2、5 9 9 4 2 3、5 9 9 4 2 4、5 9 9 4 3 3、5 9 9 4 3 4、5 9 9 4 3 5、5 9 9  
 4 3 6、5 9 9 4 3 7、5 9 9 4 3 8、5 9 9 4 3 9、5 9 9 4 4 0、5 9 9 4 4 1、5  
 9 9 4 4 2、5 9 9 4 4 3、5 9 9 4 4 5、5 9 9 4 4 6、5 9 9 4 4 7、5 9 9 4 4 8  
 、5 9 9 4 7 2、5 9 9 4 7 3、5 9 9 4 7 4、5 9 9 4 7 5、5 9 9 4 7 6、5 9 9 4  
 7 7、5 9 9 4 7 8、5 9 9 4 7 9、5 9 9 4 8 0、5 9 9 4 8 1、5 9 9 4 8 2、5 9  
 9 4 8 3、5 9 9 4 8 4、5 9 9 4 8 5、5 9 9 4 8 6、5 9 9 4 8 7、5 9 9 4 8 8、  
 5 9 9 4 8 9、5 9 9 4 9 0、5 9 9 4 9 1、5 9 9 4 9 2、5 9 9 4 9 3、5 9 9 4 9  
 4、5 9 9 4 9 5、5 9 9 4 9 6、5 9 9 4 9 7、5 9 9 4 9 8、5 9 9 4 9 9、5 9 9  
 5 0 0、5 9 9 5 0 1、5 9 9 5 0 2、5 9 9 5 0 3、5 9 9 5 0 4、5 9 9 5 0 5、5  
 9 9 5 0 6、5 9 9 5 0 7、5 9 9 5 0 8、5 9 9 5 1 2、5 9 9 5 4 7、5 9 9 5 4 8  
 、5 9 9 5 5 2、5 9 9 5 5 3、5 9 9 5 5 4、5 9 9 5 5 5、5 9 9 5 5 8、5 9 9 5  
 6 2、5 9 9 5 6 3、5 9 9 5 6 4、5 9 9 5 6 6、5 9 9 5 6 7、5 9 9 5 6 8、5 9  
 9 5 6 9、5 9 9 5 7 0、5 9 9 5 7 7、5 9 9 5 7 8、5 9 9 5 7 9、5 9 9 5 8 0、  
 5 9 9 5 8 1、5 9 9 5 8 2、5 9 9 5 8 5、5 9 9 5 8 6、5 9 9 5 8 7、5 9 9 5 8  
 8、5 9 9 5 8 9、5 9 9 5 9 0、5 9 9 5 9 1、5 9 9 5 9 2、5 9 9 5 9 3、5 9 9  
 5 9 4、5 9 9 5 9 5、6 0 1 3 3 2、6 0 1 3 3 5、6 0 1 3 4 1、6 0 1 3 4 3、6  
 0 1 3 4 4、6 0 1 3 4 5、6 0 1 3 4 6、6 0 1 3 4 7、6 0 1 3 4 8、6 0 1 3 4 9  
 、6 0 1 3 7 1、6 0 1 3 7 2、6 0 1 3 8 0、6 0 1 3 8 2、6 0 1 3 8 3、6 0 1 3  
 8 4、6 0 1 3 8 5、6 0 1 3 8 6、及び 6 0 1 3 8 7。

# **【 0 1 9 2 】**

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチ  
 ドが C F B 核酸の一領域を標的とし、少なくとも 7 0 % の C F B mRNA 阻害を達成す  
 る；配列番号：1 2、8 4、8 5、8 6、1 9 8、2 2 8、2 3 7、2 3 8、2 3 9、3  
 1 7、3 9 5、3 9 6、3 9 7、3 9 8、3 9 9、4 0 2、4 0 3、4 0 4、4 0 5、4  
 0 7、4 0 8、4 1 0、4 1 1、4 1 2、4 1 2、4 1 3、4 1 4、4 1 5、4 1 6、4  
 1 7、4 1 8、4 1 9、4 2 0、4 2 1、4 2 2、4 2 3、4 2 4、4 2 5、4 2 6、4

10

20

30

40

50

2 7、4 2 8、4 2 9、4 3 0、4 3 1、4 3 2、4 3 3、4 3 3、4 3 4、4 3 5、4  
 3 6、4 3 7、4 3 8、4 3 9、4 4 0、4 4 1、4 4 2、4 4 3、4 4 4、4 4 5、4  
 4 6、4 4 7、4 4 8、4 4 9、4 5 0、4 5 1、4 5 2、4 5 3、4 5 4、4 5 5、4  
 5 6、4 5 7、4 5 8、4 5 9、4 6 0、4 6 1、4 6 2、4 6 3、4 6 4、4 6 4、4  
 6 5、4 7 2、4 7 3、5 1 3、5 1 4、5 1 5、5 4 1、5 4 2、5 4 3、5 4 4、5  
 4 5、5 4 6、5 4 7、5 4 9、5 5 0、5 5 1、5 5 2、5 5 3、5 5 4、5 5 5、5  
 5 6、5 5 7、5 6 4、5 6 5、5 6 9、5 9 2、5 9 5、5 9 6、5 9 7、5 9 8、5  
 9 9、6 0 0、6 0 1、6 0 2、6 0 3、6 0 4、6 0 6、6 0 7、6 0 8、6 0 9、6  
 1 0、6 1 1、6 1 2、6 1 3、6 1 4、6 1 5、6 1 6、6 1 7、6 1 8、6 4 5、6  
 4 6、6 4 7、6 4 8、6 4 9、6 5 0、6 5 3、6 5 4、6 5 5、6 5 6、6 5 9、6  
 6 0、6 6 2、6 6 3、6 6 4、6 6 5、6 6 6、6 6 8、6 6 9、6 7 0、6 7 1、6  
 7 2、6 7 3、6 7 4、6 7 5、6 7 6、6 7 7、6 7 7、6 7 8、6 7 9、6 8 0、6  
 8 2、6 8 3、6 8 4、6 8 6、6 8 7、6 8 8、6 8 9、7 0 6、7 0 8、7 0 9、7  
 1 1、7 1 2、7 1 3、7 1 4、7 1 5、7 2 0、7 2 1、7 2 2、7 2 3、7 2 4、7  
 2 5、7 2 6、7 2 7、7 2 8、7 2 9、7 3 0、7 3 1、7 3 2、7 3 3、7 3 4、7  
 3 6、7 3 7、7 3 8、7 3 9、7 4 0、7 4 1、7 4 2、7 4 3、7 4 4、7 4 5、7  
 4 6、7 4 7、7 4 8、7 4 9、7 5 0、7 5 1、7 5 2、7 5 3、7 5 4、7 5 5、7  
 5 6、7 6 7、7 6 8、7 7 3、7 7 5、7 7 6、7 7 7、7 7 8、7 7 9、7 8 0、7  
 8 1、7 8 2、7 8 3、7 8 4、7 8 5、7 8 6、7 8 7、7 8 8、7 8 9、7 9 0、7  
 9 1、7 9 2、7 9 3、7 9 3、7 9 4、7 9 5、7 9 7、7 9 8、7 9 9、8 1 3、8  
 3 3、8 3 4、8 4 1、8 4 6、8 4 9、8 6 7、及び 8 7 3。

10

20

# 【 0 1 9 3 】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチド  
 が C F B 核酸の一領域を標的とし、少なくとも 8 0 % の C F B m R N A 阻害を達成する  
 ; ISIS 番号 : 5 3 2 6 8 6、5 3 2 8 0 9、5 3 2 8 1 0、5 3 2 8 1 1、5 3 2 9 1 7  
 、5 3 2 9 5 2、5 8 8 5 1 2、5 8 8 5 1 7、5 8 8 5 1 8、5 8 8 5 3 3、5 8 8 5  
 3 4、5 8 8 5 3 5、5 8 8 5 3 6、5 8 8 5 3 7、5 8 8 5 3 8、5 8 8 5 3 9、5 8  
 8 5 4 0、5 8 8 5 4 2、5 8 8 5 4 3、5 8 8 5 4 4、5 8 8 5 4 5、5 8 8 5 4 6、  
 5 8 8 5 4 7、5 8 8 5 4 8、5 8 8 5 4 9、5 8 8 5 5 0、5 8 8 5 5 1、5 8 8 5 5  
 2、5 8 8 5 5 3、5 8 8 5 5 4、5 8 8 5 5 5、5 8 8 5 5 6、5 8 8 5 5 7、5 8 8  
 5 5 8、5 8 8 5 5 9、5 8 8 5 6 0、5 8 8 5 6 1、5 8 8 5 6 2、5 8 8 5 6 3、5  
 8 8 5 6 4、5 8 8 5 6 5、5 8 8 5 7 1、5 8 8 6 3 8、5 8 8 6 4 0、5 8 8 6 9 6  
 、5 8 8 6 9 8、5 8 8 8 0 7、5 8 8 8 1 4、5 8 8 8 4 9、5 8 8 8 5 0、5 8 8 8  
 5 1、5 8 8 8 5 3、5 8 8 8 5 7、5 8 8 8 5 8、5 8 8 8 5 9、5 8 8 8 6 0、5 8  
 8 8 6 1、5 8 8 8 6 2、5 8 8 8 6 3、5 8 8 8 6 6、5 8 8 8 6 7、5 8 8 8 7 1、  
 5 8 8 8 7 2、5 8 8 8 7 3、5 8 8 8 7 4、5 8 8 8 7 5、5 8 8 8 7 6、5 8 8 8 7  
 7、5 8 8 8 7 8、5 8 8 8 7 9、5 8 8 8 8 0、5 8 8 8 8 1、5 8 8 8 8 2、5 8 8  
 8 8 3、5 9 9 0 0 1、5 9 9 0 2 4、5 9 9 0 2 5、5 9 9 0 3 3、5 9 9 0 8 6、5  
 9 9 0 8 7、5 9 9 0 8 8、5 9 9 0 8 9、5 9 9 0 9 3、5 9 9 0 9 4、5 9 9 0 9 5  
 、5 9 9 0 9 6、5 9 9 1 3 4、5 9 9 1 3 9、5 9 9 1 4 8、5 9 9 1 4 9、5 9 9 1  
 5 1、5 9 9 1 5 4、5 9 9 1 5 5、5 9 9 1 5 6、5 9 9 1 5 8、5 9 9 1 8 8、5 9  
 9 1 9 5、5 9 9 1 9 6、5 9 9 1 9 8、5 9 9 2 0 1、5 9 9 2 0 2、5 9 9 2 0 3、  
 5 9 9 2 0 4、5 9 9 2 0 5、5 9 9 2 0 6、5 9 9 2 0 7、5 9 9 2 1 2、5 9 9 2 1  
 3、5 9 9 2 1 5、5 9 9 2 1 6、5 9 9 2 1 7、5 9 9 2 1 8、5 9 9 2 1 9、5 9 9  
 2 2 0、5 9 9 2 2 1、5 9 9 2 2 2、5 9 9 2 2 3、5 9 9 2 2 4、5 9 9 2 2 5、  
 5 9 9 2 2 6、5 9 9 2 2 7、5 9 9 2 2 8、5 9 9 2 2 9、5 9 9 2 3 0、5 9 9 2 3  
 1、5 9 9 2 3 2、5 9 9 2 3 3、5 9 9 2 3 4、5 9 9 2 3 5、5 9 9 2 3 6、5 9 9  
 2 7 2、5 9 9 2 7 3、5 9 9 2 7 5、5 9 9 2 7 7、5 9 9 2 7 8、5 9 9 2 7 9、5  
 9 9 2 8 0、5 9 9 3 1 1、5 9 9 3 1 3、5 9 9 3 1 4、5 9 9 3 1 6、5 9 9 3 1 7  
 、5 9 9 3 1 8、5 9 9 3 2 0、5 9 9 3 2 1、5 9 9 3 2 2、5 9 9 3 2 3、5 9 9 3

30

40

50

27、599328、599329、599330、599355、599357、599358、599359、599360、599361、599362、599363、599364、599371、599372、599373、599378、599379、599382、599384、599386、599387、599388、599389、599390、599391、599392、599393、599397、599398、599399、599400、599401、599403、599404、599405、599407、599408、599409、599410、599413、599414、599415、599416、599417、599418、599419、599420、599421、599422、599423、599424、599433、599434、599435、599436、599437、599438、599439、599440、599441、599445、599446、599447、599448、599474、599476、599477、599479、599481、599482、599483、599485、599486、599487、599488、599489、599490、599491、599492、599494、599495、599496、599497、599498、599499、599500、599502、599503、599504、599505、599506、599507、599508、599547、599552、599553、599554、599558、599563、599567、599568、599569、599570、599577、599578、599581、599582、599585、599587、599588、599590、599591、599592、599593、599594、601332、601344、601345、601382、601383、及び601385。

#### 【0194】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドがCFB核酸の一領域を標的とし、少なくとも80%のCFB mRNA阻害を達成する；配列番号：84、237、238、239、317、395、397、411、412、413、414、415、417、418、419、420、421、422、423、425、426、427、429、430、431、433、434、435、436、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、472、473、514、515、542、543、544、545、546、547、550、551、552、553、554、555、556、557、564、595、599、600、601、602、603、606、607、608、609、610、611、612、613、614、615、616、617、618、646、655、660、662、663、666、669、670、671、672、673、675、676、677、678、679、682、684、686、687、688、689、706、708、709、711、712、713、714、715、720、722、723、724、725、726、727、729、730、731、732、733、736、737、738、739、740、741、742、743、744、745、746、747、748、749、750、751、752、753、754、755、756、768、775、776、778、781、782、783、784、785、787、788、789、790、791、792、793、794、799、813、833、834、841、849、867、及び873。

#### 【0195】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチドがCFB核酸の一領域を標的とし、少なくとも90%のCFB mRNA阻害を達成する；ISIS番号：532686、532811、532917、588536、588537、588538、588539、588544、588545、588546、588548、588551、588552、588553、588554、588555、58

10

20

30

40

50

8 5 5 6、5 8 8 5 5 7、5 8 8 5 5 8、5 8 8 5 5 9、5 8 8 5 6 0、5 8 8 5 6 1、  
 5 8 8 5 6 2、5 8 8 5 6 4、5 8 8 6 3 8、5 8 8 6 4 0、5 8 8 6 9 6、5 8 8 6 9  
 8、5 8 8 8 4 9、5 8 8 8 5 0、5 8 8 8 5 1、5 8 8 8 6 0、5 8 8 8 6 6、5 8 8  
 8 6 7、5 8 8 8 7 2、5 8 8 8 7 3、5 8 8 8 7 4、5 8 8 8 7 6、5 8 8 8 7 7、5  
 8 8 8 7 8、5 8 8 8 7 9、5 8 8 8 8 1、5 8 8 8 8 3、5 9 9 1 4 9、5 9 9 1 8 8  
 、5 9 9 2 0 3、5 9 9 2 0 6、5 9 9 2 2 0、5 9 9 2 2 1、5 9 9 2 2 2、5 9 9 2  
 2 3、5 9 9 2 2 4、5 9 9 2 2 5、5 9 9 2 2 6、5 9 9 2 2 7、5 9 9 2 2 8、5 9  
 9 2 2 9、5 9 9 2 3 5、5 9 9 2 3 6、5 9 9 2 7 9、5 9 9 2 8 0、5 9 9 3 1 4、  
 5 9 9 3 2 1、5 9 9 3 6 2、5 9 9 3 7 8、5 9 9 3 9 0、5 9 9 3 9 1、5 9 9 3 9  
 8、5 9 9 3 9 9、5 9 9 4 0 4、5 9 9 4 1 3、5 9 9 4 1 4、5 9 9 4 1 6、5 9 9  
 4 1 9、5 9 9 4 2 0、5 9 9 4 2 2、5 9 9 4 3 5、5 9 9 4 3 7、5 9 9 4 3 8、5  
 9 9 4 4 1、5 9 9 4 8 3、5 9 9 4 9 4、5 9 9 5 0 8、5 9 9 5 5 2、5 9 9 5 5 3  
 、5 9 9 5 5 4、5 9 9 5 6 8、5 9 9 5 7 0、5 9 9 5 7 7、5 9 9 5 8 1、5 9 9 5  
 9 1、5 9 9 5 9 2、及び5 9 9 5 9 3。

10

#### 【0196】

特定の実施形態では、以下のアンチセンス化合物またはアンチセンスオリゴヌクレオチド  
 がCFB核酸の一領域を標的とし、少なくとも90%のCFB mRNA阻害を達成する  
 ; 配列番号: 84、238、239、317、412、413、420、421、426  
 、434、436、437、438、439、440、442、443、444、445  
 、446、448、451、452、453、454、455、456、457、458  
 、459、460、461、462、464、465、472、473、514、515  
 、542、543、544、545、546、551、553、555、556、599  
 、600、601、602、610、616、617、618、662、666、670  
 、676、677、678、688、689、713、723、729、730、740  
 、741、742、743、744、745、746、747、748、749、755  
 、756、768、783、793、833、及び867。

20

#### 【0197】

特定の実施形態では、化合物が、本明細書に記載するCFBを標的とする任意のオリゴヌ  
 クレオチドと共役基とを含むか、またはそれらからなることができる。

#### 【0198】

30

特定の実施形態では、化合物が修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含み、前記修飾オリ  
 ゴヌクレオチドは、配列番号1のヌクレオチド2193~2212、2195~2210  
 、2457~2476、2571~2590、2584~2603、2588~2607  
 、2592~2611、2594~2613、2597~2616、2600~2619  
 、または2596~2611内で相補的な10~30個の連結されたヌクレオチドからなる。

#### 【0199】

特定の実施形態では、化合物が修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含み、前記修飾オリ  
 ゴヌクレオチドは、配列番号198、228、237、440、444、448、450  
 、453、455、549、及び598のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する10  
 ~30個の連結されたヌクレオチドからなる。

40

#### 【0200】

特定の実施形態では、化合物が修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含み、前記修飾オリ  
 ゴヌクレオチドは、配列番号198、228、237、440、444、448、450  
 、453、455、549、及び598のいずれか一つからなる核酸塩基配列を有する  
 。

#### 【0201】

特定の実施形態において、前述の化合物またはオリゴヌクレオチドは、いずれも、少なく  
 とも1つの修飾ヌクレオチド間連結部、少なくとも1つの修飾糖、及び/または少なくと  
 も1つの修飾核酸塩基を含むことができる。

50

## 【 0 2 0 2 】

特定の態様において、前述の化合物またはオリゴヌクレオチドはいずれも、少なくとも 1 つの修飾糖を含むことができる。特定の態様では、少なくとも 1 つの修飾糖が、2' - O - メトキシエチル基を含む。特定の態様では、少なくとも 1 つの修飾糖が二環式糖、例えば 4' - CH (CH<sub>3</sub>) - O - 2' 基、4' - CH<sub>2</sub> - O - 2' 基、または 4' - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - 2' 基である。

## 【 0 2 0 3 】

特定の態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間連結部、例えばホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。

## 【 0 2 0 4 】

特定の実施形態では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1、2、3、4、5、6、または 7 個のホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む。

## 【 0 2 0 5 】

特定の実施形態では、前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部が、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部及びホスホロチオエートヌクレオシド間連結部から選択される。

## 【 0 2 0 6 】

特定の実施形態では、前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部がホスホロチオエート連結部である。

## 【 0 2 0 7 】

特定の実施形態において、前述の化合物またはオリゴヌクレオチドは、いずれも、少なくとも 1 つの修飾核酸塩基、例えば 5 - メチルシトシンを含む。

## 【 0 2 0 8 】

特定の実施形態では、化合物が、共役基と、  
連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
連結されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメント、及び  
連結されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメント  
を含む修飾オリゴヌクレオチドとを含み、前記ギャップセグメントは前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントの間に配置されており、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは修飾糖を含む。特定の実施形態では、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、または 598 に示す配列を含む核酸塩基配列を有する 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる。

## 【 0 2 0 9 】

特定の実施形態では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、もしくは 455 に示す配列を含むか、またはそれからなる核酸塩基配列を有し、前記修飾オリゴヌクレオチドは、  
10 個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
5 個の連結されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメント、及び  
5 個の連結されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメント  
を含み、前記ギャップセグメントは前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントの間に配置されており、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは 2' - O - メトキシエチル糖を含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、かつ各シトシンは 5 - メチルシトシンである。

## 【 0 2 1 0 】

特定の実施形態では、化合物が一本鎖修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むか、またはそれらからなり、前記修飾オリゴヌクレオチドは配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、または 455 に示す配列からなる核酸塩基配列を有する 20 個の連結されたヌクレオシドからなり、前記オリゴヌクレオチドは、  
10 個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、

10

20

30

40

50

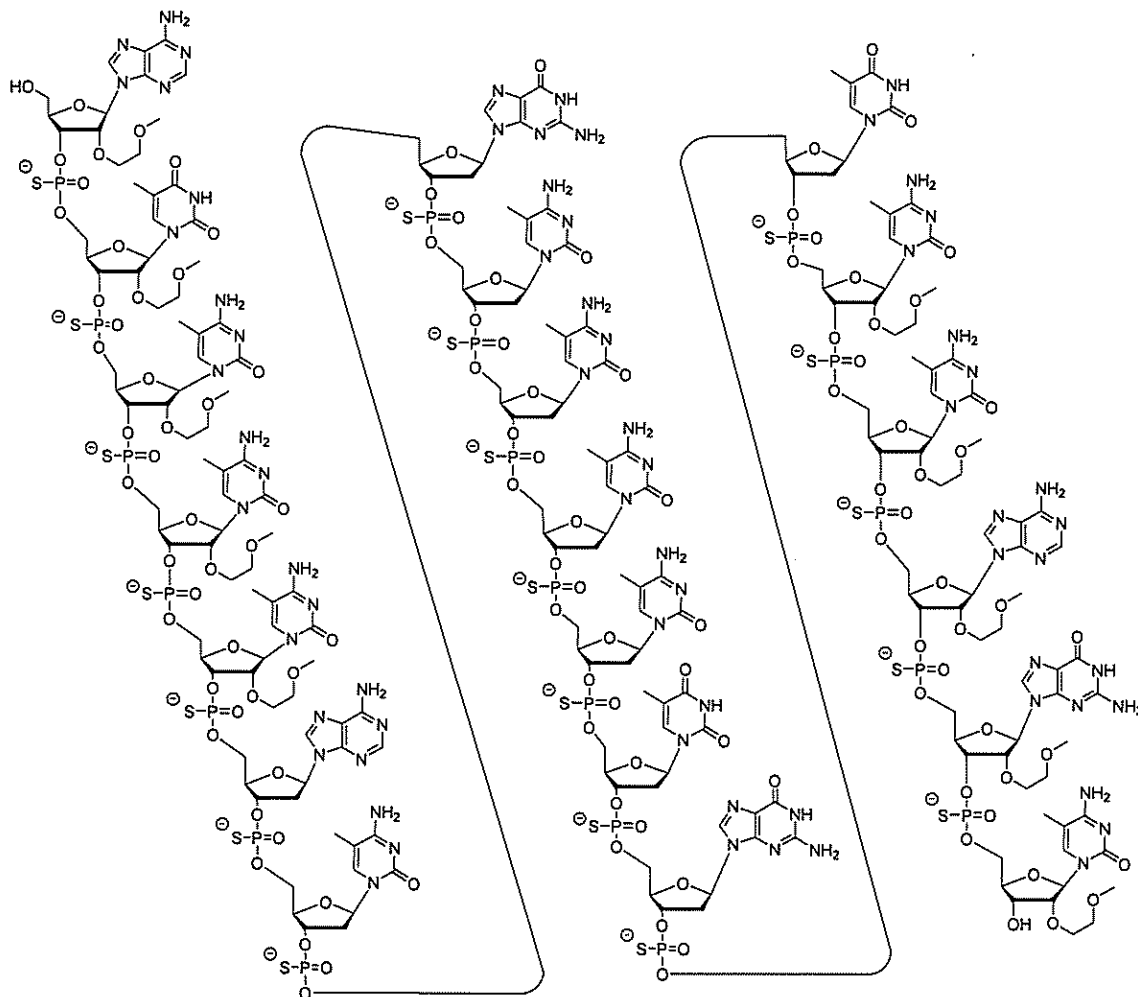
5 個の連結されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメント、及び  
5 個の連結されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメント  
を含み、前記ギャップセグメントは前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントの間に配置されており、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは 2'-O-メトキシエチル糖を含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、各シトシンは 5-メチルシトシンである。

【0211】

特定の実施形態では、化合物が ISIS588540 と共役基とを含むか、またはそれらからなる。特定の実施形態では、ISIS588540 が以下の化学構造を有する：

【0212】

【化3】



【0213】

特定の実施形態では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 549 に示す配列を含むか、配列番号 549 に示す配列からなる核酸塩基配列を有し、前記修飾オリゴヌクレオチドは、

10 個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
3 個の連結されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメント、及び  
3 個の連結されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメント

を含み、前記ギャップセグメントは前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントの間に配置されており、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは cEt 糖を含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、かつ各シトシンは 5-メチルシトシンである。

【0214】

特定の態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 598 に示す配列を含むか、配列番号 598 に示す配列からなる核酸塩基配列を有し、前記修飾オリゴヌクレオチドは 10 個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、3 個の連結されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメント、及び 3 個の連結されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメントを含み、前記ギャップセグメントは前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントの間に配置されており、前記 5' ウイングセグメントは 5' 3' 方向に 2' - O - メトキシエチル糖、2' - O - メトキシエチル糖、及び c E t 糖を含み、前記 3' ウイングセグメントは 5' 3' 方向に c E t 糖、c E t 糖、及び 2' - O - メトキシエチル糖を含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、かつ各シトシンは 5 - メチルシトシンである。 10

【0215】

前述の実施形態のいずれにおいても、前記化合物またはオリゴヌクレオチドは、C F B をコードする核酸に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % 相補的であることができる。

【0216】

前述の実施形態のいずれにおいても、前記化合物またはオリゴヌクレオチドは一本鎖であることができる。

【0217】

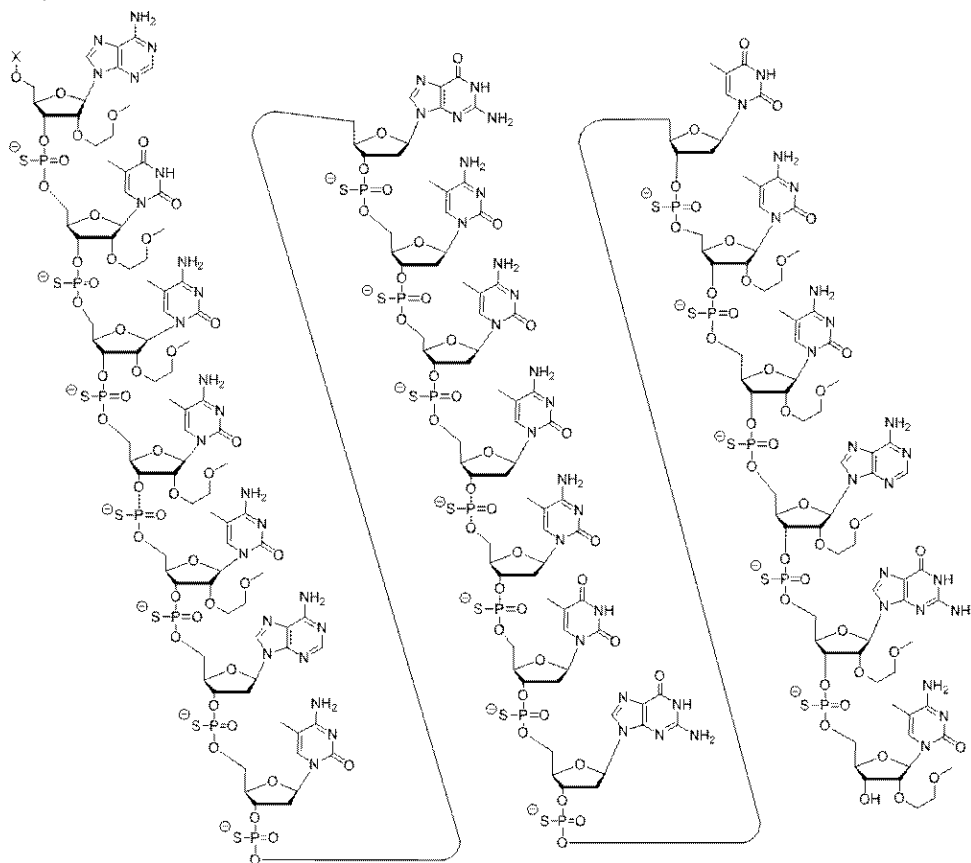
特定の実施形態では、前記共役基が前記修飾オリゴヌクレオチドの 5' 端で前記修飾オリゴヌクレオチドに連結される。特定の実施形態では、前記共役基は、前記修飾オリゴヌクレオチドの 3' 端で前記修飾オリゴヌクレオチドに連結される。特定の実施形態では、前記共役基が少なくとも 1 つの N - アセチルガラクトサミン ( G a l N A c )、少なくとも 2 つの N - アセチルガラクトサミン ( G a l N A c )、または少なくとも 3 つの N - アセチルガラクトサミン ( G a l N A c ) を含む。 20

【0218】

特定の実施形態では、以下の化学構造を有する化合物が、5' - X を伴う I S I S 5 8 8 5 4 0 を含むか、または 5' - X を伴う I S I S 5 8 8 5 4 0 からなり、ここで X は本明細書に記載する G a l N A c を含む共役基である：

【0219】 30

## 【化 4】



## 【 0 2 2 0 】

特定の実施形態では、化合物が、以下の化学構造によって表されるとおり、配列番号 4 4 0、5'-GalNAc、及び化学修飾を含むか、またはそれらからなる：

## 【 0 2 2 1 】

10

20

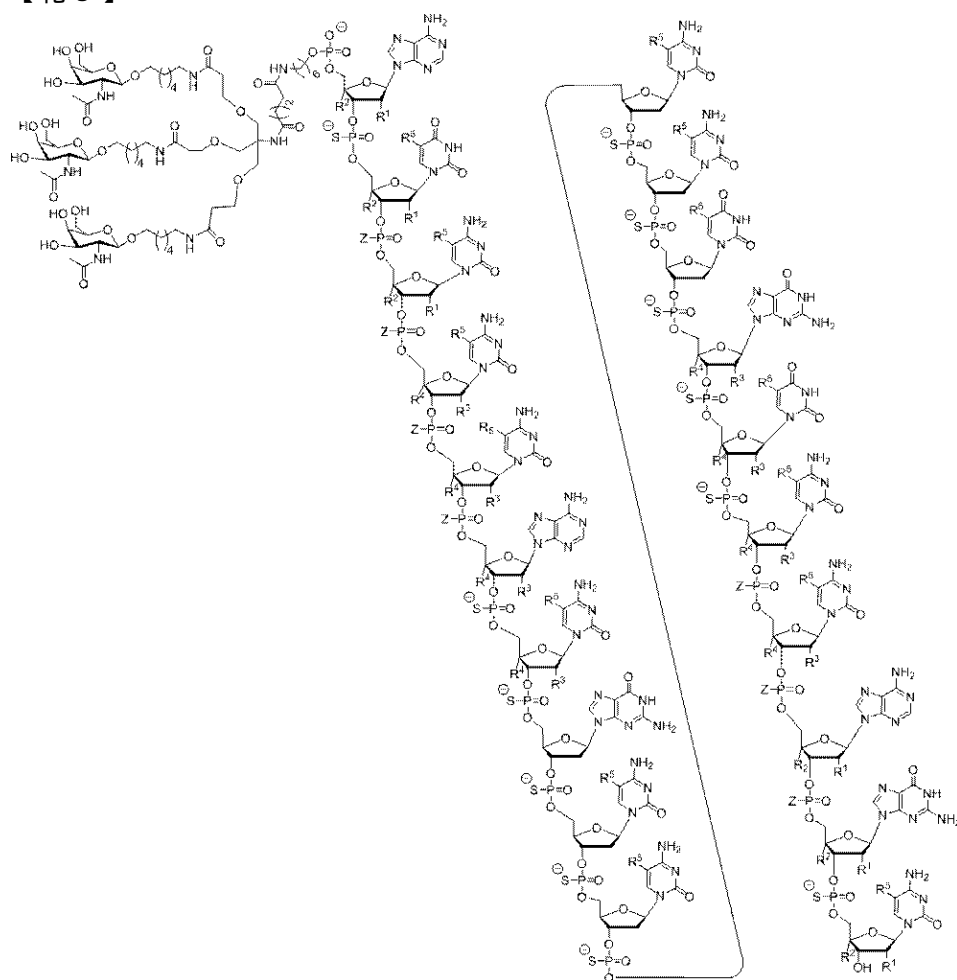
30

40

50



## 【化 5】



10

20

[ 式中、 $R^1$  は  $-OCH_2CH_2OCH_3$  (MOE) であり、かつ  $R^2$  が H であるか、または  $R^1$  と  $R^2$  とが全体として橋を形成し、その場合、 $R^1$  は  $-O-$  であり、 $R^2$  は  $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、または  $-CH_2CH_2-$  であって、 $R^1$  と  $R^2$  は、結果として生じる橋が  $-O-CH_2-$ 、 $-O-CH(CH_3)-$ 、及び  $-O-CH_2CH_2-$  から選択されることになるように直接つながれている。

30

また、同じ環上の  $R^3$  と  $R^4$  の各ペアについては、環ごとに独立して、 $R^3$  が H 及び  $-OCH_2CH_2OCH_3$  から選択され、かつ  $R^4$  が H であるか、または  $R^3$  と  $R^4$  とが全体として橋を形成し、その場合、 $R^3$  は  $-O-$ 、かつ  $R^4$  は  $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、または  $-CH_2CH_2-$  であって、 $R^3$  と  $R^4$  は、結果として生じる橋が  $-O-CH_2-$ 、 $-O-CH(CH_3)-$ 、及び  $-O-CH_2CH_2-$  から選択されることになるように直接つながれている；

また、 $R^5$  は H 及び  $-CH_3$  から選択され、  
また、 $Z$  は  $S-$  及び  $O-$  から選択される ]。

40

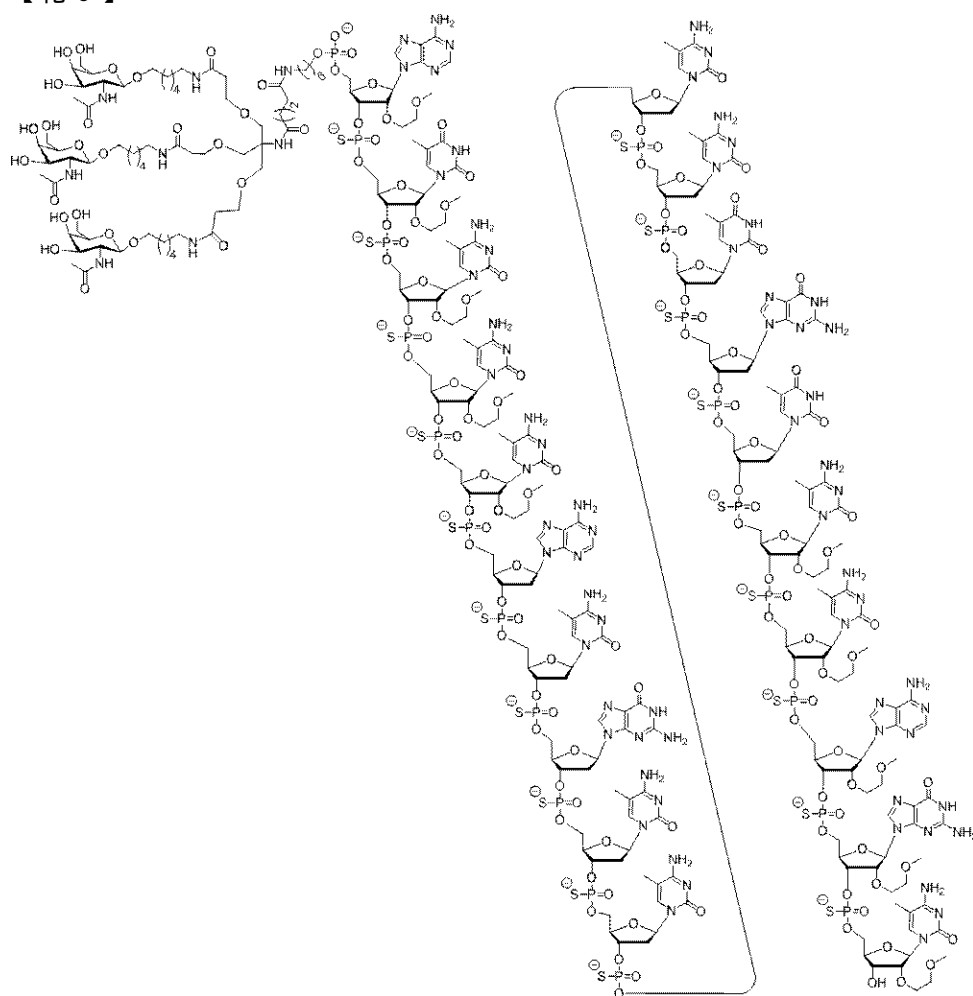
## 【 0 2 2 2】

特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 6 8 4 4 を含む。特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 6 8 4 4 からなる。特定の実施形態では、I S I S 6 9 6 8 4 4 が以下の化学構造を有する：

## 【 0 2 2 3】

50

## 【化 6】



10

20

## 【 0 2 2 4】

特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 6 8 4 5 を含む。特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 6 8 4 5 からなる。特定の実施形態では、I S I S 6 9 6 8 4 5 が以下の化学構造を有する：

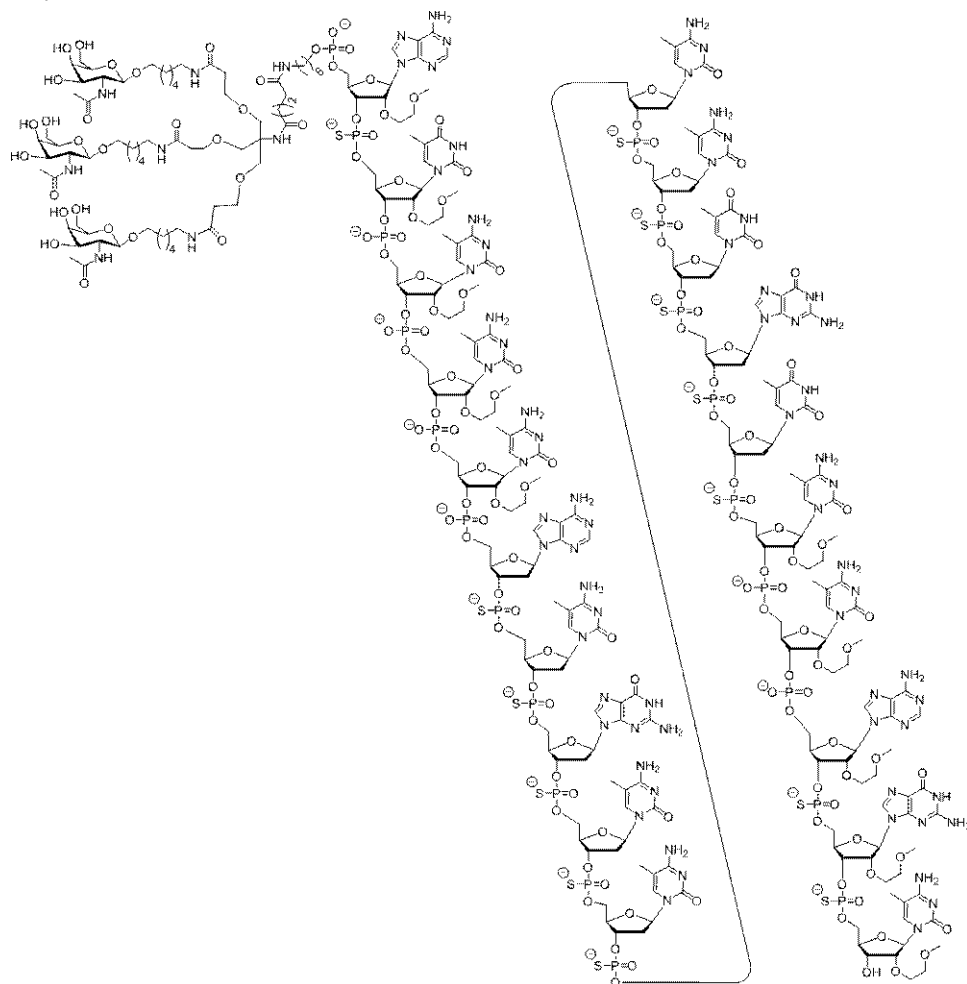
30

## 【 0 2 2 5】

40

50

## 【化 7】



10

20

## 【 0 2 2 6 】

特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 8 9 6 9 を含む。特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 8 9 6 9 からなる。特定の実施形態では、I S I S 6 9 8 9 6 9 が以下の化学構造を有する：

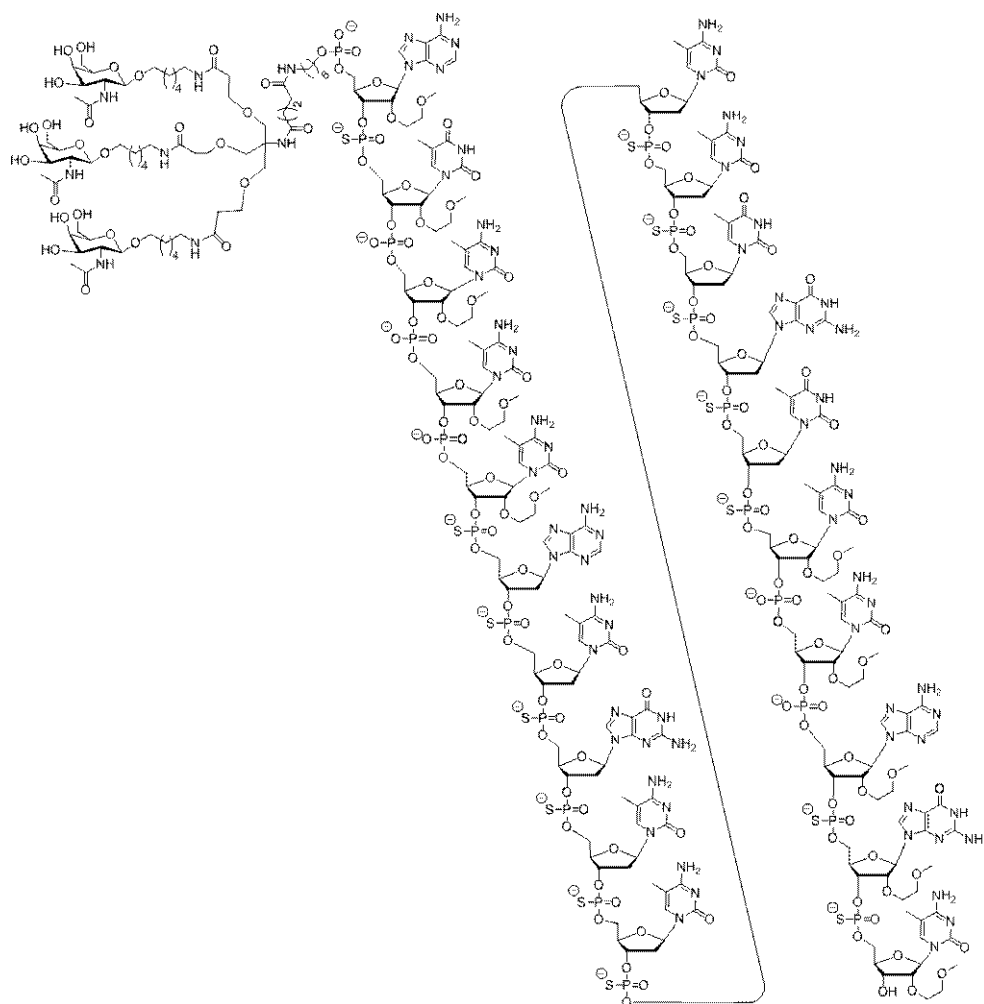
30

## 【 0 2 2 7 】

40

50

## 【化 8】



10

20

## 【 0 2 2 8】

特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 8 9 7 0 を含む。特定の実施形態では、化合物が I S I S 6 9 8 9 7 0 からなる。特定の実施形態では、I S I S 6 9 8 9 7 0 が以下の化学構造を有する：

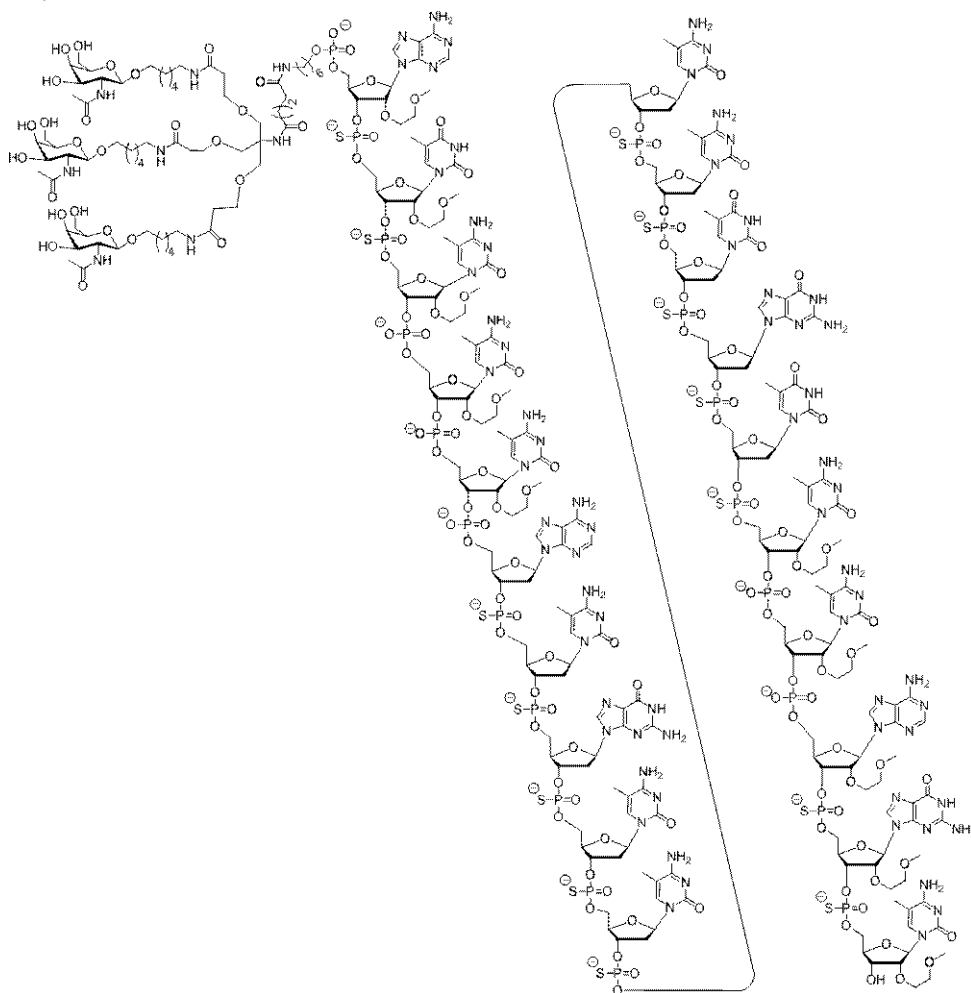
30

## 【 0 2 2 9】

40

50

## 【化 9】



10

20

## 【 0 2 3 0 】

特定の実施形態は、C F Bを標的とする修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩と共役基とを含む化合物またはそれらからなる化合物のいずれか、及び医薬上許容される担体もしくは希釈剤の少なくとも1つを含む組成物を提供する。

30

## 【 0 2 3 1 】

特定の実施形態では、本明細書に記載する化合物または組成物が、250 nM未満、200 nM未満、150 nM未満、100 nM未満、90 nM未満、80 nM未満、70 nM未満、65 nM未満、60 nM未満、55 nM未満、50 nM未満、45 nM未満、40 nM未満、35 nM未満、30 nM未満、25 nM未満、または20 nM未満のインビトロIC<sub>50</sub>の少なくとも1つを有することから、有効である。

## 【 0 2 3 2 】

特定の実施形態において、本明細書に記載する化合物または組成物は、食塩水で処置した動物と比較してA L T値またはA S T値の増加が4倍以下、3倍以下、または2倍以下であること、または肝臓重量、脾臓重量もしくは腎臓重量の増加が30%以下、20%以下、15%以下、12%以下、10%以下、5%以下、または2%以下であることのうちの少なくとも1つによって実証されるように、耐容性が高い。特定の実施形態において、本明細書に記載する化合物または組成物は、食塩水で処置した動物と比較してA L T値またはA S T値の増加がないことによって実証されるように、耐容性が高い。特定の実施形態において、本明細書に記載する化合物または組成物は、食塩水で処置した動物と比較して肝臓重量、脾臓重量または腎臓重量の増加がないことによって実証されるように、耐容性が高い。

40

## 【 0 2 3 3 】

特定の実施形態は、上述の実施形態のいずれかの化合物またはその塩と少なくとも1つの

50

医薬上許容される担体または希釈剤とを含む組成物を提供する。特定の態様では、前記組成物が、約 40 センチポアズ (cP) 未満、約 30 センチポアズ (cP) 未満、約 20 センチポアズ (cP) 未満、約 15 センチポアズ (cP) 未満、または約 10 センチポアズ (cP) 未満の粘度を有する。特定の態様では、上述した粘度のいずれかを有する前記組成物が、ここに提供する化合物を、約 100 mg/mL、約 125 mg/mL、約 150 mg/mL、約 175 mg/mL、約 200 mg/mL、約 225 mg/mL、約 250 mg/mL、約 275 mg/mL、または約 300 mg/mL の濃度で含む。特定の態様では、上述した粘度及び/または化合物濃度のいずれかを有する前記組成物が、室温または約 20、約 21、約 22、約 23、約 24、約 25、約 26、約 27、約 28、約 29、もしくは約 30 の温度を有する。

10

#### 【0234】

特定の実施形態において、対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善する方法は、本明細書に記載する化合物または組成物を前記対象に投与し、それによって前記疾患を処置し、防止し、または改善することを含む。特定の態様では、補体代替経路が正常より強く活性化されている。特定の実施形態では、対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6 ~ 808 のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する。特定の実施形態では、対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び 598 のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる。特定の実施形態では、対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善する方法が、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくは ISIS698970 を含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含む。

20

#### 【0235】

特定の実施形態において、対象における加齢黄斑変性 (AMD) などの黄斑変性を処置し、防止し、または改善する方法は、本明細書に記載する化合物または組成物を前記対象に投与し、よって AMD を処置し、防止し、または改善することを含む。特定の態様では、補体代替経路が正常より強く活性化されている。特定の態様では、前記 AMD が滲出型 AMD である。特定の態様では、前記 AMD が地図状萎縮などの乾性 AMD である。特定の実施形態では、対象における加齢黄斑変性 (AMD)、滲出型 AMD、乾性 AMD、または地図状萎縮などの黄斑変性を処置し、防止し、または改善する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6 ~ 808 のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する。特定の実施形態では、対象における加齢黄斑変性 (AMD)、滲出型 AMD、乾性 AMD、または地図状萎縮などの黄斑変性を処置し、防止し、または改善する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び 598 のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる。特定の実施形態では、対象における加齢黄斑変性 (AMD)、滲出型 AMD、乾性 AMD、または地図状萎縮などの黄斑変性を処置し、防止し、または改善する方法が、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくは ISIS698970 を含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含む。特定の態様では、前記化合物または組成物が、前記対象に非経口投与される。

30

40

50

## 【 0 2 3 6 】

特定の実施形態において、対象における補体代替経路の調節異常に関連する腎臓疾患を処置し、防止し、または改善する方法は、本明細書に記載する化合物または組成物を前記対象に投与し、よって前記腎臓疾患を処置し、防止し、または改善することを含む。特定の実施形態では、対象における補体代替経路の調節異常に関連する腎臓疾患を処置し、防止し、または改善する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6 ~ 808 のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する。特定の実施形態では、対象における補体代替経路の調節異常に関連する腎臓疾患を処置し、防止し、または改善する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び 598 のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる。特定の実施形態では、対象における補体代替経路の調節異常に関連する腎臓疾患を処置し、防止し、または改善する方法が、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくは ISIS698970 を含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含む。特定の態様では、補体代替経路が正常より強く活性化されている。特定の態様では、前記腎臓疾患が、ループス腎炎、全身性エリテマトーデス (SLE)、デンスデポジット病 (DDD)、C3 系球体腎炎 (C3GN)、CFHR5 ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)、またはそれらの任意の組み合わせである。特定の態様では、前記腎臓疾患が、系球体における C3 沈着などといった C3 沈着に関連する。特定の態様では、前記腎臓疾患が、正常値未満の循環 C3 レベル、例えば血清中または血漿中 C3 レベルに関連する。特定の態様では、前記化合物または組成物を投与することにより、C3 タンパク質レベルなどの眼 C3 レベルの蓄積が低減し、または阻害される。特定の態様では、前記化合物または組成物を投与することにより、眼 C3 沈着のレベルが低減し、または眼 C3 沈着の蓄積が阻害される。特定の態様では、前記化合物または組成物が前記対象に経口投与される。特定の態様では、前記化合物または組成物を投与することにより、腎臓における C3 レベル、例えば C3 タンパク質レベルの蓄積が低減し、または阻害される。特定の態様では、前記化合物または組成物を投与することにより、例えば系球体における C3 レベルなどの腎臓 C3 沈着のレベルが低減し、または腎臓 C3 沈着の蓄積が阻害される。特定の態様において、前記対象は、例えば対象の血中の補体レベルまたは膜侵襲複合体レベルを検出し、かつ / または補体代替経路の調節異常に関連する疾患に関連する補体因子の遺伝子突然変異に関する遺伝子検査を行うことによって、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するか、または前記疾患を有するリスクがあると特定される。

## 【 0 2 3 7 】

特定の実施形態において、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象における補体 B 因子 (CFB) の発現を阻害する方法は、本明細書に記載する化合物または組成物を前記対象に投与し、それによって前記対象における CFB の発現を阻害することを含む。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象における補体 B 因子 (CFB) の発現を阻害する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6 ~ 808 のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象における補体 B 因子 (CFB) の発現を阻害する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、

10

20

30

40

50

455、549、及び598のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する10～30個の連結されたヌクレオシドからなる。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象における補体B因子(CFB)の発現を阻害する方法が、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくはISIS698970を含むかまたはそれからなる化合物を前記対象に投与することを含む。特定の態様では、前記化合物または組成物を投与することにより、眼におけるCFBの発現が阻害される。特定の態様において、前記対象は、加齢黄斑変性(AMD)、例えば滲出型AMD及び乾性AMDを有するか、またはそれらを有するリスクがある。特定の態様では、乾性AMDが地図状萎縮でありうる。地図状萎縮は、網膜の変性を伴う進行した形態の乾性AMDとみなされる。特定の態様では、前記化合物または組成物を投与することにより、腎臓、例えば糸球体におけるCFBの発現が阻害される。特定の態様において、前記対象は、ループス腎炎、全身性エリテマトーデス(SLE)、デンスデポジット病(DDD)、C3糸球体腎炎(C3GN)、CFHR5ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)、またはそれらの任意の組み合わせを有するか、またはそれらを有するリスクがある。

#### 【0238】

特定の実施形態において、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の眼におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法は、本明細書に記載する化合物または組成物を前記対象に投与し、それによって前記対象の眼におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害することを含む。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の眼におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号6～808のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の眼におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び598のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する10～30個の連結されたヌクレオシドからなる。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の眼におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法が、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくはISIS698970を含むかまたはそれからなる化合物を前記対象に投与することを含む。特定の態様では、前記対象が、加齢黄斑変性(AMD)、例えば滲出型AMD及び乾性AMDを有するか、またはそれらを有するリスクがある。特定の態様では、乾性AMDが地図状萎縮でありうる。特定の態様では、前記化合物または組成物が前記対象に非経口投与される。

#### 【0239】

特定の実施形態において、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の腎臓におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法は、本明細書に記載する化合物または組成物を前記対象に投与し、それによって前記対象の腎臓におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害することを含む。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の腎臓におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号6～808のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾

10

20

30

40

50



患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の腎臓におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法が、修飾オリゴヌクレオチドと共役基を含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び598のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する10～30個の連結されたヌクレオシドからなる。特定の実施形態では、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の腎臓におけるC3沈着を低減しまたはC3沈着の蓄積を阻害する方法が、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくはISIS698970を含むかまたはそれらからなる化合物を前記対象に投与することを含む。特定の態様では、前記対象が、ループス腎炎、全身性エリテマトーデス(SLE)、デンスデポジット病(DDD)、C3系球体腎炎(C3GN)、CFHR5ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)、またはそれらの任意の組み合わせを有するか、またはそれらを有するリスクがある。特定の態様において、前記化合物または組成物が前記対象に非経口投与される。

#### 【0240】

特定の実施形態は、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置するための、本明細書に記載する化合物または組成物の使用に向けられる。特定の実施形態は、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置するための、修飾オリゴヌクレオチドと共役基を含むかまたはそれらからなる化合物の使用であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号6～808のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有するものに向けられる。特定の実施形態は、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置するための、修飾オリゴヌクレオチドと共役基を含むかまたはそれらからなる化合物の使用であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び598のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する10～30個の連結されたヌクレオシドからなるものに向けられる。特定の実施形態は、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置するための、ISIS696844、ISIS696845、ISIS698969、もしくはISIS698970を含むかまたはそれらからなる化合物の使用に向けられる。特定の態様では、補体代替経路が正常より強く活性化されている。特定の態様では、前記疾患が黄斑変性、例えば加齢黄斑変性(AMD)であり、これは滲出型AMDまたは乾性AMDでありうる。特定の態様では、乾性AMDが地図状萎縮でありうる。特定の態様では、前記疾患が、ループス腎炎、全身性エリテマトーデス(SLE)、デンスデポジット病(DDD)、C3系球体腎炎(C3GN)、CFHR5ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)、またはそれらの任意の組み合わせなどといった腎臓疾患である。特定の態様では、前記化合物または組成物が前記対象に非経口投与される。

#### 【0241】

特定の実施形態では、本明細書に記載する化合物または組成物が非経口投与される。例えば特定の実施形態では、前記化合物または組成物を、注射または注入によって投与することができる。非経口投与には、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、腹腔内投与、または頭蓋内投与、例えば髄腔内投与または脳室内投与が含まれる。

#### 【0242】

##### アンチセンス化合物

オリゴマー化合物には、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、アンチセンス化合物、アンチセンスオリゴヌクレオチド、及びsiRNAが含まれるが、これらに限定されない。オリゴマー化合物は、標的核酸に対して「アンチセンス」である(つまり、水素結合によって標的核酸にハイブリダイゼーションを起こす能力を有する)ことができる。

#### 【0243】

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、5' 3' 方向に記載した場合に、そのアン

10

20

30

40

50

チセンス化合物が標的とする標的核酸の標的セグメントの逆相補鎖を含む核酸塩基配列を有する。

#### 【 0 2 4 4 】

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 10 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 12 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 12 ~ 22 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 14 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 14 ~ 20 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 15 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 15 ~ 20 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 16 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 16 ~ 20 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 17 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 17 ~ 20 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 18 ~ 30 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 18 ~ 21 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 18 ~ 20 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 20 ~ 30 サブユニット長である。言い換えると、そのようなアンチセンス化合物は、それぞれ 12 ~ 30 個の連結されたサブユニット、14 ~ 30 個の連結されたサブユニット、14 ~ 20 個のサブユニット、15 ~ 30 個のサブユニット、15 ~ 20 個のサブユニット、16 ~ 30 個のサブユニット、16 ~ 20 個のサブユニット、17 ~ 30 個のサブユニット、17 ~ 20 個のサブユニット、18 ~ 30 個のサブユニット、18 ~ 20 個のサブユニット、18 ~ 21 個のサブユニット、20 ~ 30 個のサブユニット、または 12 ~ 22 個の連結されたサブユニットである。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 14 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 16 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 17 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 18 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 19 サブユニット長である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が 20 サブユニット長である。別の実施形態では、アンチセンス化合物が、8 ~ 80、12 ~ 50、13 ~ 30、13 ~ 50、14 ~ 30、14 ~ 50、15 ~ 30、15 ~ 50、16 ~ 30、16 ~ 50、17 ~ 30、17 ~ 50、18 ~ 22、18 ~ 24、18 ~ 30、18 ~ 50、19 ~ 22、19 ~ 30、19 ~ 50、または 20 ~ 30 個の連結されたサブユニットである。特定のそのような実施形態では、アンチセンス化合物が、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、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、または 80 個の連結されたサブユニットの長さ、または上記の値のいずれか 2 つによって画定される範囲である。いくつかの実施形態では、前記アンチセンス化合物がアンチセンスオリゴヌクレオチドであり、前記連結されたサブユニットがヌクレオチドである。

#### 【 0 2 4 5 】

特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドが短縮または切断されていてもよい。例えば、単一のサブユニットを 5' 端から欠失させるか (5' 切断)、あるいは 3' 端から欠失させること (3' 切断) ができる。CFB 核酸を標的とする短縮型または切断型アンチセンス化合物は、アンチセンス化合物の 5' 端から 2 つのサブユニットが欠失しているか、あるいは 3' 端から 2 つのサブユニットが欠失していてもよい。あるいは、欠失したヌクレオチドは、アンチセンス化合物全体に分散していてもよい (例えば 1 つのヌクレオチドが 5' 端から欠失し 1 つのヌクレオチドが 3' 端から欠失しているアンチセンス化合物)。

#### 【 0 2 4 6 】

10

20

30

40

50

延長されたアンチセンス化合物中に単一の追加サブユニットが存在する場合、前記追加サブユニットはアンチセンス化合物の5'端にあっても、3'端にあってもよい。2つ以上のサブユニットが存在する場合、追加されたサブユニットは互いに隣り合っているか(5'付加)、あるいは3'端に付加されている(3'付加)アンチセンス化合物)。あるいは、付加されたサブユニットは、アンチセンス化合物全体に分散しているか(例えば1つのサブユニットが5'端に付加され、1つのサブユニットが3'端に付加されているアンチセンス化合物)。

#### 【0247】

活性を排除することなく、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのアンチセンス化合物の長さを増加しもしくは減少させ、かつ/またはミスマッチ塩基を導入することができる。例えばWoolfら(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7305-7309, 1992)では、13~25核酸塩基長の一連のアンチセンスオリゴヌクレオチドが、標的RNAの切断を誘導するその能力について、卵母細胞注入モデルで試験された。アンチセンスオリゴヌクレオチドの末端近くに8個または11個のミスマッチ塩基を含む25核酸塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ミスマッチを含まないアンチセンスオリゴヌクレオチドほどではなかったものの、標的mRNAの特異的切断を指示することができた。また、標的的特異的切断が、13核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチド(1つまたは3つのミスマッチを持つものを含む)を使って達成された。

#### 【0248】

Gautschiら(J. Natl. Cancer Inst. 93: 463-471, March 2001)は、bcl-2 mRNAに対して100%の相補性を有し、かつbcl-xL mRNAに対して3つのミスマッチを有するオリゴヌクレオチドが、インビトロ及びインビボでbcl-2とbcl-xLの発現をどちらも低減できることを実証した。さらにまた、このオリゴヌクレオチドはインビボで強力な抗腫瘍活性も示した。

#### 【0249】

MaherとDolnick(Nuc. Acid. Res. 16: 3341-3358, 1988)は、一連のタンデム14核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチド、ならびにそれぞれ2つまたは3つの前記タンデムアンチオリゴヌクレオチドの配列で構成される28核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチド及び42核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチドを、ヒトDHFRの翻訳を停止させるその能力について、ウサギ網状赤血球アッセイで試験した。3つの14核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチドのそれぞれは単独で、28核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチドまたは42核酸塩基アンチセンスオリゴヌクレオチドよりもレベルは低かったものの、翻訳を阻害することができた。

#### 【0250】

特定のアンチセンス化合物モチーフ及び機序

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、強化された阻害活性、標的核酸に対する増加した結合アフィニティ、またはインビボヌクレアーゼによる分解に対する耐性などといった性質が前記アンチセンス化合物に付与されるようなパターンまたはモチーフで配置された化学修飾サブユニットを有する。

#### 【0251】

キメラアンチセンス化合物は、典型的には、ヌクレアーゼ分解に対する増加した耐性、増加した細胞取り込み、標的核酸に対する増加した結合アフィニティ、及び/または増加した阻害活性が付与されるように修飾された少なくとも1つの領域を含有する。キメラアンチセンス化合物の第2の領域は、例えばRNA:DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼRNase Hの基質として役立つなどといった、もう一つの望ましい性質を付与する。

#### 【0252】

アンチセンス活性は、アンチセンス化合物(例えばオリゴヌクレオチド)と標的核酸とのハイブリダイゼーションが関与し、そのハイブリダイゼーションが最終的に生物学的活

10

20

30

40

50

性をもたらす機序であれば、どの機序に起因するものであってもよい。特定の実施形態では、標的核酸の量及び／または活性が調節される。特定の実施形態では、標的核酸の量及び／または活性が低減する。特定の実施形態では、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションが、最終的に、標的核酸分解をもたらす。特定の実施形態では、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションが、標的核酸分解をもたらさない。特定のそのような実施形態では、標的核酸とハイブリダイズしたアンチセンス化合物の存在（占有）が、アンチセンス活性の調節をもたらす。特定の実施形態では、ある特定の化学モチーフまたは化学修飾のパターンを有するアンチセンス化合物が、1つ以上の機序を活用するのに、特に適している。特定の実施形態では、2つ以上の機序によって、かつ／またはまだ解明されていない機序によって、アンチセンス化合物が機能する。したがって、本明細書に記載するアンチセンス化合物は、ある特定の機序に限定されるものではない。

10

#### 【0253】

アンチセンス機序には、RNase Hによるアンチセンス；RNAi機序（これはRISC経路を利用するもので、siRNA、ssRNA及びマイクロRNA機序がこれに含まれるが、これらに限定されない）；及び占有に基づく機序などがあるが、これらに限定されない。特定のアンチセンス化合物は、2つ以上のそのような機序によって、かつ／またはさらに他の機序によって、作用しうる。

#### 【0254】

RNase Hによるアンチセンス

20

特定の実施形態では、アンチセンス活性が、少なくとも部分的には、RNase Hによる標的RNAの分解に起因する。RNase Hは、RNA：DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼである。「DNA様」の一本鎖アンチセンス化合物は哺乳動物細胞においてRNase H活性を引き出すことが、当技術分野では知られている。したがって、DNAヌクレオシドまたはDNA様ヌクレオシドの少なくとも一部分を含むアンチセンス化合物は、RNase Hを活性化して、標的核酸の切断をもたらす。特定の実施形態では、RNase Hを利用するアンチセンス化合物が、1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。特定の実施形態では、そのようなアンチセンス化合物が、1～8個の修飾ヌクレオシドのブロックを少なくとも1つは含む。特定のそのような実施形態では、前記修飾ヌクレオシドがRNase H活性を支持しない。特定の実施形態では、そのようなアンチセンス化合物が、本明細書に記載するギャップマーである。特定のそのような実施形態では、前記ギャップマーのギャップがDNAヌクレオシドを含む。特定のそのような実施形態では、前記ギャップマーのギャップがDNA様ヌクレオシドを含む。特定のそのような実施形態では、前記ギャップマーのギャップがDNAヌクレオシドとDNA様ヌクレオシドを含む。

30

#### 【0255】

ギャップマーモチーフを有する特定のアンチセンス化合物は、キメラアンチセンス化合物とみなされる。ギャップマーでは、RNase H切断を支持する複数のヌクレオチドを有する内側領域が、内側領域のヌクレオシドとは化学的に異なる複数のヌクレオチドを有する外側領域の間に配置されている。ギャップマーモチーフを有するアンチセンスオリゴヌクレオチドの場合、ギャップセグメントは一般にエンドヌクレアーゼ切断の基質として役立ち、一方、ウイングセグメントは修飾ヌクレオシドを含む。特定の実施形態では、ギャップマーの領域が、個々の異なる領域を構成する糖部分のタイプによって区別される。ギャップマーの領域を区別するために使用される糖部分のタイプとして、いくつかの実施形態では、 $2'$ -D-リボヌクレオシド、 $2'$ -D-デオキシリボヌクレオシド、 $2'$ -修飾ヌクレオシド（そのような $2'$ -修飾ヌクレオシドとして、例えば $2'$ -MOEや $2'$ -O-CH<sub>3</sub>などを挙げることができる）、及び二環式糖修飾ヌクレオシド（そのような二環式糖修飾ヌクレオシドとして拘束エチルを有するものを挙げることができる）が挙げられる。特定の実施形態では、ウイング中のヌクレオシドがいくつかの修飾糖部分、例えば $2'$ -MOEや、拘束エチルまたはLNAなどの二環式糖部分を含む。特定の実施形態では

40

50

、ウイングがいくつかの修飾糖部分と無修飾糖部分を含む。特定の実施形態では、ウイングが、2' - MOEヌクレオシド、拘束エチルヌクレオシドやLNAヌクレオシドなどの二環式糖部分、及び2' - デオキシヌクレオシドのさまざまな組み合わせを含みうる。

#### 【0256】

異なる領域は、それぞれ一様な糖部分を含むか、異なった糖部分を含むか、または交互に並んだ糖部分を含みうる。ウイング - ギャップ - ウイングモチーフは、しばしば「X - Y - Z」と記載されるが、この場合、「X」は5' - ウイングの長さを表し、「Y」はギャップの長さを表し、「Z」は3' - ウイングの長さを表す。「X」と「Z」は、一様な糖部分を含むか、異なった糖部分を含むか、または交互に並んだ糖部分を含みうる。特定の実施形態では、「X」と「Y」が、1つ以上の2' - デオキシヌクレオシドを含みうる。「Y」は2' - デオキシヌクレオシドを含みうる。本明細書において、「X - Y - Z」と記述されるギャップマーは、ギャップが5' - ウイング及び3' - ウイングのそれぞれと直接隣り合っ

10

て配置されるような構成を有する。したがって、5' - ウイングとギャップの間にも、ギャップと3' - ウイングの間にも、介在ヌクレオチドは存在しない。本明細書に記載するアンチセンス化合物はいずれもギャップマーモチーフを有することができる。特定の実施形態では、「X」と「Z」が同じであり、別の実施形態では、それらが異なる。特定の実施形態では、「Y」が8 ~ 15ヌクレオシドである。X、Y、またはZは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、もしくは30ヌクレオシドまたはそれ以上のいずれであることもできる。

20

#### 【0257】

特定の実施形態において、CFB核酸を標的とするアンチセンス化合物は、ギャップが6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、または16個の連結されたヌクレオシドからなるギャップマーモチーフを有する。

#### 【0258】

特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドが、以下の式Aによって記述される糖モチーフを有する：(J)<sub>m</sub> - (B)<sub>n</sub> - (J)<sub>p</sub> - (B)<sub>r</sub> - (A)<sub>t</sub> - (D)<sub>g</sub> - (A)<sub>v</sub> - (B)<sub>w</sub> - (J)<sub>x</sub> - (B)<sub>y</sub> - (J)<sub>z</sub>

式中、

各Aは独立して2'置換ヌクレオシドであり、

各Bは独立して二環式ヌクレオシドであり、

30

各Jは独立して2' - 置換ヌクレオシドまたは2' - デオキシヌクレオシドであり、

各Dは2' - デオキシヌクレオシドであり、

mは0 ~ 4であり、nは0 ~ 2であり、pは0 ~ 2であり、rは0 ~ 2であり、tは0 ~ 2であり、vは0 ~ 2であり、wは0 ~ 4であり、xは0 ~ 2であり、yは0 ~ 2であり、zは0 ~ 4であり、gは6 ~ 14である；

ただし、

m、n、及びrのうちの少なくとも1つは0ではなく、

w及びyのうちの少なくとも1つは0ではなく、

m、n、p、r、及びtの和は2 ~ 5であり、かつ

v、w、x、y、及びzの和は2 ~ 5であるものとする。

40

#### 【0259】

RNAi化合物

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が干渉RNA化合物(RNAi)であり、これには、二本鎖RNA化合物(短鎖干渉RNAまたはsiRNAともいう)と一本鎖RNAi化合物(すなわちssRNA)が含まれる。そのような化合物は、少なくとも部分的には、RISC経路によって作動して、標的核酸を分解しかつ/または隔離する(したがってマイクロRNA/マイクロRNA模倣化合物を含む)。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、それらをそのような機序に特に適したものに修飾を含む。

#### 【0260】

i. ssRNA化合物

50

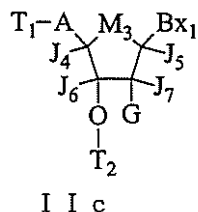
特定の実施形態において、アンチセンス化合物（一本鎖RNA i 化合物（ssRNA））としての使用に特に適したものを含む）は、修飾5'末端を含む。特定のそのような実施形態では、前記5'末端が修飾ホスフェート部分を含む。特定の実施形態では、そのような修飾ホスフェートが安定化されている（例えば無修飾5'-ホスフェートと比較して分解/切断に対して耐性である）。特定の実施形態では、そのような5'末端ヌクレオシドが5'-リン部分を安定化する。当技術分野では、いくつかの修飾5'末端ヌクレオシドを、例えばWO/2011/139702などに見いだすことができる。

【0261】

特定の実施形態では、ssRNA化合物の5'-ヌクレオシドが式IIcを有する：

【0262】

【化10】



式中、

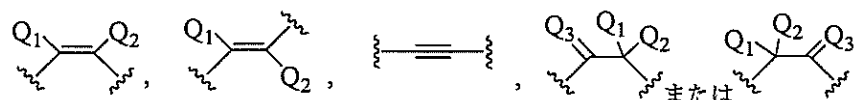
T<sub>1</sub>は、保護されていてもよいリン部分であり、

T<sub>2</sub>は、式IIcの化合物をオリゴマー化合物に連結するヌクレオシド間連結基であり、

Aは式：

【0263】

【化11】



の一つを有し；

Q<sub>1</sub>及びQ<sub>2</sub>は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルまたはN(R<sub>3</sub>)(R<sub>4</sub>)であり、

Q<sub>3</sub>は、O、S、N(R<sub>5</sub>)またはC(R<sub>6</sub>)(R<sub>7</sub>)であり、

各R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>及びR<sub>7</sub>は、独立して、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルまたはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシであり、

M<sub>3</sub>は、O、S、NR<sub>14</sub>、C(R<sub>15</sub>)(R<sub>16</sub>)、C(R<sub>15</sub>)(R<sub>16</sub>)C(R<sub>17</sub>)(R<sub>18</sub>)、C(R<sub>15</sub>)=C(R<sub>17</sub>)、OC(R<sub>15</sub>)(R<sub>16</sub>)またはOC(R<sub>15</sub>)(Bx<sub>2</sub>)であり、

R<sub>14</sub>は、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルまたは置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルであり、

R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>及びR<sub>18</sub>は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルまたは置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルであり、

Bx<sub>1</sub>は複素環式塩基部分であるか；または

Bx<sub>2</sub>が存在する場合には、Bx<sub>2</sub>が複素環式塩基部分であり、かつBx<sub>1</sub>がH、ハロゲン、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アル

10

20

30

40

50

キニルまたは置換  $C_2 - C_6$  アルキニルであり、

$J_4$ 、 $J_5$ 、 $J_6$  及び  $J_7$  は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、 $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルコキシ、置換  $C_1 - C_6$  アルコキシ、 $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニルまたは置換  $C_2 - C_6$  アルキニルであるか；または

$J_4$  が、 $J_5$  または  $J_7$  の一方と共に、O、S、 $NR_{19}$ 、 $C(R_{20})(R_{21})$ 、 $C(R_{20}) = C(R_{21})$ 、 $C[=C(R_{20})(R_{21})]$  及び  $C(=O)$  から選択される 1 ~ 3 個の連結されたピラジカル基を含む橋を形成し、かつ  $J_5$ 、 $J_6$  及び  $J_7$  の残り 2 つが、それぞれ独立して、H、ハロゲン、 $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルコキシ、置換  $C_1 - C_6$  アルコキシ、 $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニルまたは置換  $C_2 - C_6$  アルキニルであり、各  $R_{19}$ 、 $R_{20}$  及び  $R_{21}$  は、独立して、H、 $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルコキシ、置換  $C_1 - C_6$  アルコキシ、 $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニルまたは置換  $C_2 - C_6$  アルキニルであり、G は、H、OH、ハロゲンまたは  $O - [C(R_8)(R_9)]_n - [(C=O)_m - X_1]_j - Z$  であり、

各  $R_8$  及び  $R_9$  は、独立して、H、ハロゲン、 $C_1 - C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 - C_6$  アルキルであり、

$X_1$  は、O、S または  $N(E_1)$  であり、

Z は、H、ハロゲン、 $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニル、置換  $C_2 - C_6$  アルキニルまたは  $N(E_2)(E_3)$  であり、

$E_1$ 、 $E_2$  及び  $E_3$  は、それぞれ独立して、H、 $C_1 - C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 - C_6$  アルキルであり、

n は、1 ~ 約 6 であり、

m は、0 または 1 であり、

j は、0 または 1 であり、

各置換基は、ハロゲン、 $OJ_1$ 、 $N(J_1)(J_2)$ 、 $=NJ_1$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $CN$ 、 $OC(=X_2)J_1$ 、 $OC(=X_2)N(J_1)(J_2)$  及び  $C(=X_2)N(J_1)(J_2)$  から独立して選択される 1 つ以上の置換されていてもよい置換基を含み、

$X_2$  は、O、S または  $NJ_3$  であり、

各  $J_1$ 、 $J_2$  及び  $J_3$  は、独立して、H または  $C_1 - C_6$  アルキルであり、

j が 1 である場合、Z はハロゲンでも  $N(E_2)(E_3)$  でもなく、かつ

前記オリゴマー化合物は 8 ~ 40 個のモノマー型サブユニットを含み、標的核酸の少なくとも一部分にハイブリダイズ可能である。

#### 【0264】

特定の実施形態では、 $M_3$  が、O、 $CH=CH$ 、 $OCH_2$  または  $OC(H)(B \times 2)$  である。特定の実施形態では、 $M_3$  が O である。

#### 【0265】

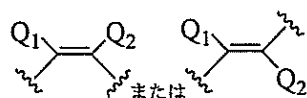
特定の実施形態では、 $J_4$ 、 $J_5$ 、 $J_6$  及び  $J_7$  がそれぞれ H である。特定の実施形態では、 $J_4$  が、 $J_5$  または  $J_7$  の一方と共に橋を形成する。

#### 【0266】

特定の実施形態では、A が、式：

#### 【0267】

#### 【化12】



の一方を有し、

10

20

30

40

50

式中、

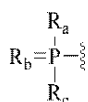
Q<sub>1</sub> 及び Q<sub>2</sub> は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、置換 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシまたは置換 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシである。特定の実施形態では、Q<sub>1</sub> 及び Q<sub>2</sub> が、それぞれ H である。特定の実施形態では、Q<sub>1</sub> 及び Q<sub>2</sub> が、それぞれ独立して、H またはハロゲンである。特定の実施形態では、Q<sub>1</sub> 及び Q<sub>2</sub> が H であり、Q<sub>1</sub> 及び Q<sub>2</sub> の他方が F、CH<sub>3</sub> または OCH<sub>3</sub> である。

【0268】

特定の実施形態では、T<sub>1</sub> が式：

【0269】

【化13】



10

を有し、

式中、

R<sub>a</sub> 及び R<sub>c</sub> は、それぞれ独立して、保護ヒドロキシル、保護チオール、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、置換 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシ、置換 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシ、保護アミノまたは置換アミノであり、かつ

R<sub>b</sub> は、O または S である。特定の実施形態では、R<sub>b</sub> が O であり、R<sub>a</sub> 及び R<sub>c</sub> が、それぞれ独立して、OCH<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> または CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> である。

20

【0270】

特定の実施形態では、G が、ハロゲン、OCH<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>F、OCHF<sub>2</sub>、OCF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>F、OCH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-SCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCF<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N(R<sub>10</sub>)(R<sub>11</sub>)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-ON(R<sub>10</sub>)(R<sub>11</sub>)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>10</sub>)(R<sub>11</sub>)、OCH<sub>2</sub>C(=O)-N(R<sub>10</sub>)(R<sub>11</sub>)、OCH<sub>2</sub>C(=O)-N(R<sub>12</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>10</sub>)(R<sub>11</sub>) または O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>12</sub>)-C(=NR<sub>13</sub>)[N(R<sub>10</sub>)(R<sub>11</sub>)] であり、式中、R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>、R<sub>12</sub> 及び R<sub>13</sub> は、それぞれ独立して、H または C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルである。特定の実施形態では、G が、ハロゲン、OCH<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、OCH<sub>2</sub>C(=O)-N(H)CH<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>C(=O)-N(H)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> または OCH<sub>2</sub>-N(H)-C(=NH)NH<sub>2</sub> である。特定の実施形態では、G が、F、OCH<sub>3</sub> または O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub> である。特定の実施形態では、G が O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub> である。

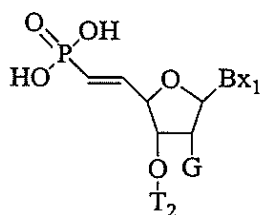
30

【0271】

特定の実施形態では、前記 5' 末端ヌクレオシドが式 I I e：

【0272】

【化14】



I I e

40

50



を有する。

【 0 2 7 3 】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物（ $s s R N A$ に特に適したものを含む）は、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って、所定のパターンまたは糖修飾モチーフで配置された、1タイプ以上の修飾糖部分及び／または天然に存在する糖部分を含む。そのようなモチーフは、本明細書で論じる糖修飾及び／または他の既知の糖修飾をどれでも含みうる。

【 0 2 7 4 】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、一様な糖修飾を有する領域を含むか、または一様な糖修飾を有する領域からなる。特定のそのような実施形態では、前記領域の各ヌクレオシドが、同じ $R N A$ 様糖修飾を含む。特定の実施形態では、前記領域の各ヌクレオシドが $2' - F$ ヌクレオシドである。特定の実施形態では、前記領域の各ヌクレオシドが $2' - O M e$ ヌクレオシドである。特定の実施形態では、前記領域の各ヌクレオシドが $2' - M O E$ ヌクレオシドである。特定の実施形態では、前記領域の各ヌクレオシドが $c E t$ ヌクレオシドである。特定の実施形態では、前記領域の各ヌクレオシドが $L N A$ ヌクレオシドである。特定の実施形態では、前記一様な領域が、前記オリゴヌクレオチドの全部または本質的に全部を構成する。特定の実施形態では、前記領域が1～4個の末端ヌクレオシドを除くオリゴヌクレオチド全体を構成する。

【 0 2 7 5 】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、糖修飾が交互に並んだ1つ以上の領域を含み、前記ヌクレオチドは、第1タイプの糖修飾を有するヌクレオチドと、第2タイプの糖修飾を有するヌクレオチドとの間で交互する。特定の実施形態では、両タイプのヌクレオチドが $R N A$ 様ヌクレオチドである。特定の実施形態では、交互に並ぶヌクレオチドが、 $2' - O M e$ 、 $2' - F$ 、 $2' - M O E$ 、 $L N A$ 、及び $c E t$ から選択される。特定の実施形態では、交互修飾が、 $2' - F$ 及び $2' - O M e$ である。そのような領域は連続していてもよいし、異なる修飾がなされたヌクレオチドまたは共役ヌクレオチドによって中断されていてもよい。

【 0 2 7 6 】

特定の実施形態では、交互修飾の交互領域が、それぞれ単一のヌクレオチドからなる（すなわち、パターンは $(A B) \times A y$ であり、ここで $A$ は第1タイプの糖修飾を有するヌクレオチドであり、 $B$ は第2タイプの糖修飾を有するヌクレオチドである。また、 $x$ は1～20であり、 $y$ は0または1である）。特定の実施形態では、交互モチーフで交互に並ぶ1つ以上の領域が、あるタイプのヌクレオチドを2つ以上含む。例えばオリゴヌクレオチドは、以下のヌクレオチドモチーフのいずれかの領域を1つ以上含みうる：

$A A B B A A$ 、

$A B B A B B$ 、

$A A B A A B$ 、

$A B B A B A A B B$ 、

$A B A B A A$ 、

$A A B A B A B$ 、

$A B A B A A$ 、

$A B B A A B B A B A B A A$ 、

$B A B B A A B B A B A B A A$ 、または

$A B A B B A A B B A B A B A A$

[ 式中、 $A$ は第1タイプのヌクレオチドであり、 $B$ は第2タイプのヌクレオチドである ]

。特定の実施形態では、 $A$ 及び $B$ は、それぞれ $2' - F$ 、 $2' - O M e$ 、 $B N A$ 、及び $M O E$ から選択される。

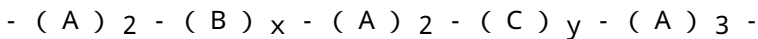
【 0 2 7 7 】

特定の実施形態では、そのような交互モチーフを有するオリゴヌクレオチドが、修飾 $5'$ 末端ヌクレオチド、例えば式  $I I c$  または式  $I I e$  に示すものも含む。

## 【 0 2 7 8 】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、2 - 2 - 3 モチーフを有する領域を含む。

そのような領域は、以下のモチーフを含む：



式中、Aは第1タイプの修飾ヌクレオシドであり、

B及びCは、Aとは異なる修飾がなされたヌクレオシドであるが、BとCとは互いに同じ修飾を有しても異なる修飾を有してもよく、

x及びyは1～15である。

## 【 0 2 7 9 】

特定の実施形態では、Aが2' - OMe修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態では、B及びCがどちらも2' - F修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態では、Aが2' - OMe修飾ヌクレオシドであり、かつBとCがどちらも2' - F修飾ヌクレオシドである。

## 【 0 2 8 0 】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオシドが、以下の糖モチーフを有する：



式中、

Qは、安定化されたホスフェート部分を含むヌクレオシドであり（特定の実施形態では、Qが、式IIcまたは式IIEを有するヌクレオシドである）、

Aは、第1タイプの修飾ヌクレオシドであり、

Bは、第2タイプの修飾ヌクレオシドであり、

Dは、Dと隣り合うヌクレオシドとは異なる修飾を含む修飾ヌクレオシドであり（したがって、もしyが0であれば、Dには、Bとは異なる修飾がなされていなければならない、yが1であれば、Dには、Aとは異なる修飾がなされていなくてはならない。特定の実施形態では、Dが、AともBとも異なる）、

Xは5～15であり、

Yは0または1であり、

Zは0～4である。

## 【 0 2 8 1 】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオシドが次の糖モチーフを有する：



式中、

Qは、安定化されたホスフェート部分を含むヌクレオシドであり（特定の実施形態では、Qが式IIcまたは式IIEを有するヌクレオシドである）、

Aは、第1タイプの修飾ヌクレオシドであり、

Dは、Aとは異なる修飾を含む修飾ヌクレオシドであり、

Xは11～30であり、

Zは0～4である。

## 【 0 2 8 2 】

特定の実施形態では、上記モチーフ中のA、B、C、及びDが、2' - OMe、2' - F、2' - MOE、LNA、及びcEtから選択される。特定の実施形態では、Dが末端ヌクレオシドを表す。特定の実施形態では、そのような末端ヌクレオシドが、標的核酸にハイブリダイズするようには設計されていない（ただし偶然ハイブリダイズするものは多少あるかもしれない）。特定の実施形態では、各Dヌクレオシドの核酸塩基が、標的核酸の対応する位置にある核酸塩基の実体には関わりなく、アデニンである。特定の実施形態では、各Dヌクレオシドの核酸塩基がチミンである。

## 【 0 2 8 3 】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物（ssRNAとしての使用に特に適したものを含む）は、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って、所定のパターンまたは修飾ヌクレオシド間連結部モチーフで配置された修飾ヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、交互ヌクレオシド間連結部モチーフを有する領域を

10

20

30

40

50

含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、一様な修飾ヌクレオシド間連結部の領域を含む。特定のそのような実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部によって一様に連結された領域を含む。特定の実施形態では、前記オリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部によって一様に連結されている。特定の実施形態では、前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部が、ホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択される。特定の実施形態では、前記オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部がホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択され、かつ少なくとも1つのヌクレオシド間連結部がホスホロチオエートである。

#### 【0284】

特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも6つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも8つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも10個のホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも6つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも8つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも10個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定の実施形態において、前記オリゴヌクレオチドは、少なくとも12個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定のそのような実施形態では、少なくとも1つのそのようなブロックが、前記オリゴヌクレオチドの3'端に位置する。特定のそのような実施形態では、少なくとも1つのそのようなブロックが、前記オリゴヌクレオチドの3'端から3ヌクレオシド以内に位置する。

#### 【0285】

本明細書に記載するさまざまな糖モチーフのいずれかを有するオリゴヌクレオチドは、任意の連結部モチーフを有しうる。例えばオリゴヌクレオチド（例えば上述のものが挙げられるが、それらに限定されない）は、以下の非限定的な表から選択される連結部モチーフを有しうる。

#### 【0286】

【表1】

| 最も5'側の連結部 | 中央領域    | 3'領域 |
|-----------|---------|------|
| PS        | 交互PO/PS | 6PS  |
| PS        | 交互PO/PS | 7PS  |
| PS        | 交互PO/PS | 8PS  |

#### 【0287】

##### i i . s i R N A 化合物

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が二本鎖RNA i 化合物（s i R N A）である。そのような実施形態では、一方の鎖または両方の鎖が、s s R N A について上述した任意の修飾モチーフを含みうる。特定の実施形態において、s s R N A 化合物は無修飾RNAでありうる。特定の実施形態において、s i R N A 化合物は無修飾RNAヌクレオシドと修飾ヌクレオシド間連結部とを含みうる。

#### 【0288】

いくつかの実施形態は、二本鎖組成物であって、各鎖が1つ以上の修飾ヌクレオシドまたは無修飾ヌクレオシドの場所によって定義されるモチーフを含む、前記二本鎖組成物に関する。特定の実施形態では、完全にハイブリダイズするかまたは少なくとも部分的にハイ

ブリダイズして二重鎖領域を形成する第1オリゴマー化合物と第2オリゴマー化合物とを含む組成物であって、核酸標的に相補的で核酸標的にハイブリダイズする領域をさらに含む、前記組成物が提供される。そのような組成物が、核酸標的に対する完全な相補性または部分的相補性を有するアンチセンス鎖である第1オリゴマー化合物と、第1オリゴマー化合物に対して相補的な1つ以上の領域を有し第1オリゴマー化合物と共に少なくとも1つの二重鎖領域を形成する第2オリゴマー化合物とを含むことは、適切である。

【0289】

いくつかの実施形態の組成物は、核酸標的にハイブリダイズしてその正常な機能を失わせることにより、遺伝子発現を調節する。いくつかの実施形態では、標的核酸がCFBである。特定の実施形態では、標的としたCFBの分解が、本発明の組成物によって形成される活性化RISC複合体によって助長される。

10

【0290】

いくつかの実施形態は、二本鎖組成物であって、一方の鎖が、例えばRISC（または切断）複合体への反対鎖の優先ローディングに影響を及ぼすのに役立つ、前記二本鎖組成物に向けられる。これらの組成物は、選ばれた核酸分子を標的にし、1つ以上の遺伝子の発現を調節するのに有用である。いくつかの実施形態では、本発明の組成物が、標的RNAの一部にハイブリダイズすることで、前記標的RNAの正常な機能を失わせる。

【0291】

特定の実施形態は、二本鎖組成物であって、両方の鎖がヘミマー（hemimer）モチーフ、完全修飾モチーフ、位置修飾モチーフまたは交互モチーフを含む、前記二本鎖組成物に向けられる。本発明の組成物の各鎖は、例えばsiRNA経路において、ある特定の役割を果たすように、修飾することができる。各鎖に異なるモチーフを使用するか、各鎖に異なる化学修飾を持つ同じモチーフを使用することにより、アンチセンス鎖をRISC複合体に誘導すると同時に、センス鎖の組込みを阻害することができる。このモデルでは、各鎖を、その特定の役割が強化されるように、独立して修飾することができる。アンチセンス鎖は、RISCの一領域におけるその役割を強化するために、5'端を修飾することができ、一方、3'端には、RISCの異なる領域におけるその役割を強化するために、異なる修飾を加えることができる。

20

【0292】

二本鎖オリゴヌクレオチド分子は、自己相補的なセンス領域とアンチセンス領域とを含み、前記アンチセンス領域は、標的核酸分子またはその一部分のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、前記センス領域は標的核酸配列またはその一部分に対応するヌクレオチド配列を有する、二本鎖ポリヌクレオチド分子であることができる。二本鎖オリゴヌクレオチド分子は、一方の鎖がセンス鎖であり、他方がアンチセンス鎖である、2つの別個のオリゴヌクレオチドから組み立てることができる、前記アンチセンス鎖及びセンス鎖は自己相補的である（すなわち各鎖は、他方の鎖のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列であって、例えばアンチセンス鎖とセンス鎖は二重鎖構造または二本鎖構造を形成し、例えば前記二本鎖領域は約15～約30、例えば約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30塩基対である。また、アンチセンス鎖は標的核酸分子またはその一部分のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、センス鎖は標的核酸配列またはその一部分に対応するヌクレオチド配列を含む（例えば、二本鎖オリゴヌクレオチド分子のうちの約15～約25ヌクレオチドまたはそれ以上が、標的核酸またはその一部分に相補的である）。あるいは、前記二本鎖オリゴヌクレオチドは単一のオリゴヌクレオチドから組み立てられ、この場合、siRNAの自己相補的なセンス領域及びアンチセンス領域は、核酸系リンカーまたは非核酸系リンカーを利用して連結されている。

30

40

【0293】

前記二本鎖オリゴヌクレオチドは、二重鎖、非対称二重鎖、ヘアピンまたは非対称ヘアピン二次構造を持ち、自己相補的なセンス領域とアンチセンス領域とを有する、ポリヌクレオチドであって、前記アンチセンス領域が、別個の標的核酸分子またはその一部分のヌクレ

50

オチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、前記センス領域が前記標的核酸配列またはその一部分に対応するヌクレオチド配列を有するものであることができる。前記二本鎖オリゴヌクレオチドは、2つ以上のループ構造と、自己相補的なセンス領域及びアンチセンス領域を含むステムとを有する環状一本鎖ポリヌクレオチドであって、前記アンチセンス領域は標的核酸分子またはその一部分のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、かつ前記センス領域は前記標的核酸配列またはその一部分に対応するヌクレオチド配列を有するものであることができ、前記環状ポリヌクレオチドは、インビボまたはインビトロでプロセッシングを受けて、RNAiを媒介する能力を有する活性なsiRNA分子を生成させることができる。

【0294】

10

特定の実施形態では、前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、別個のセンス配列またはセンス領域及びアンチセンス配列またはアンチセンス領域を含み、前記センス領域とアンチセンス領域は、当技術分野に知られているヌクレオチド連結分子または非ヌクレオチド連結分子によって共有結合的に連結されているか、あるいはイオン相互作用、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性相互作用、及び/またはスタッキング相互作用によって非共有結合的に連結されている。特定の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドが、標的遺伝子のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含む。もう一つの実施形態では、前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、標的遺伝子のヌクレオチド配列と、前記標的遺伝子の発現阻害を引き起こすような形で相互作用する。

【0295】

20

本明細書にいう二本鎖オリゴヌクレオチドは、RNAだけを含有する分子に限定される必要はなく、さらに化学修飾ヌクレオチド及び非ヌクレオチドも包含する。特定の実施形態において、短鎖干渉核酸分子は2'-ヒドロキシ(2'-OH)含有ヌクレオチドを欠く。特定の実施形態において、短鎖干渉核酸は、場合によっては、リボヌクレオチド(例えば2'-OH基を有するヌクレオチド)を一切含まない。しかし、RNAiを支持するために分子内にリボヌクレオチドの存在を必要としないそのような二本鎖オリゴヌクレオチドには、2'-OH基を持つ1つまたは複数のヌクレオチドを含有する1つまたは複数のリンカーを取り付けておくか、2'-OH基を持つ1つまたは複数のヌクレオチドを含有する他の基、部分、または鎖を取り付けまたは会合させておくことができる。場合により、二本鎖オリゴヌクレオチドは、ヌクレオチド位置の約5、10、20、30、40、または50%に、リボヌクレオチドを含むことができる。本明細書において使用する用語siRNAは、配列特異的RNAiを媒介する能力を有する核酸分子を記載するために使用される他の用語、例えば短鎖干渉RNA(sRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、マイクロRNA(miRNA)、低分子ヘアピンRNA(shRNA)、短鎖干渉オリゴヌクレオチド、短鎖干渉核酸、短鎖干渉修飾オリゴヌクレオチド、化学修飾siRNA、転写後遺伝子サイレンシングRNA(ptgsRNA)その他と等価であるものとする。加えて、本明細書において使用する用語RNAiは、配列特異的RNA干渉を記述するために使用される他の用語、例えば転写後遺伝子サイレンシング、翻訳阻害、またはエピジェネティクスなどと等価であるものとする。例えば、二本鎖オリゴヌクレオチドは、転写後レベルと転写前レベルのどちらでも、遺伝子をエピジェネティックにサイレンシングするために使用することができる。非限定的な一例において、本発明のsiRNA分子に

30

40

よる遺伝子発現のエピジェネティックな調整は、遺伝子発現を改変するためのクロマチン構造またはメチル化パターンのsiRNA媒介修飾に起因しうる(例えばVerdel et al., 2004, Science, 303, 672-676; Pal-Bhadra et al., 2004, Science, 303, 669-672; Allshire, 2002, Science, 297, 1818-1819; Volpe et al., 2002, Science, 297, 1833-1837; Jenuwein, 2002, Science, 297, 2215-2218; 及びHall et al., 2002, Science, 297, 2232-2237を参照されたい)。

【0296】

50

ここに提供するいくつかの実施形態の化合物及び組成物は、例えば自己相補的配列を持つ一本のRNA鎖が二本鎖コンフォメーションをとる能力を持つ「ヘアピン」またはステム-ループ二本鎖RNAエフェクター分子や、2本の別個のRNA鎖を含む二重鎖dsRNAエフェクター分子などといったdsRNA媒介遺伝子サイレンシング機序またはRNAi機序によって、CFBを標的にすることができると考えられる。さまざまな実施形態において、dsRNAはもっぱらリボヌクレオチドからなるか、またはリボヌクレオチドとデオキシリボヌクレオチドの混合物からなる（例えば2000年4月19日に出願されたWO00/63364または1999年4月21日に出願された米国出願第60/130,377号などに開示されているRNA/DNAハイブリッド）。dsRNAまたはdsRNAエフェクター分子は、前記分子のセグメントが前記分子のもう一つのセグメントにあるヌクレオチドと塩基対を形成するように自己相補性領域を持つ単一の分子でありうる。さまざまな実施形態において、単一の分子からなるdsRNAは、もっぱらリボヌクレオチドからなるか、またはデオキシリボヌクレオチドの領域に相補的なリボヌクレオチドの領域を含む。あるいは、dsRNAは、互いに相補性領域を有する2つの異なる鎖を含みうる。

#### 【0297】

さまざまな実施形態では、両方の鎖がもっぱらリボヌクレオチドからなるか、一方の鎖がもっぱらリボヌクレオチドからなり、かつ一方の鎖がもっぱらデオキシリボヌクレオチドからなるか、または一方もしくは両方の鎖がリボヌクレオチドとデオキシリボヌクレオチドの混合物を含有する。特定の実施形態では、相補性領域が、互いに、及び標的核酸配列に対して、少なくとも70、80、90、95、98、または100%相補的である。特定の実施形態では、二本鎖コンフォメーションで存在するdsRNAの領域が、少なくとも19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、50、75、100、200、500、1000、2000または5000ヌクレオチドを含むか、dsRNAに表現されているcDNAまたは他の標的核酸配列中のヌクレオチドのすべてを含む。いくつかの実施形態では、dsRNAが、一本鎖端などの一本鎖領域を一切含有しないか、またはdsRNAがヘアピンである。別の実施形態では、dsRNAが1つ以上の一本鎖領域またはオーバーハングを有する。特定の実施形態では、RNA/DNAハイブリッドが、アンチセンス鎖またはアンチセンス領域である（例えば標的核酸に対して少なくとも70、80、90、95、98、または100%の相補性を有する）DNA鎖またはDNA領域と、センス鎖またはセンス領域である（例えば標的核酸に対して少なくとも70、80、90、95、98、または100%の同一性を有する）RNA鎖またはRNA領域とを含むか、またはその逆である。

#### 【0298】

さまざまな実施形態では、前記RNA/DNAハイブリッドが、酵素法または化学合成法、例えば本明細書に記載するもの、または2000年4月19日に出願されたWO00/63364または1999年4月21日に出願された米国出願第60/130,377号に記載されているものを使って、インビトロで作製される。別の実施形態では、インビトロで合成されたDNA鎖が、細胞への前記DNA鎖の形質転換に先だって、またはその後、またはそれと並行して、インビボまたはインビトロで作製されたRNA鎖と複合体を形成する。さらに別の実施形態では、dsRNAが、センス領域とアンチセンス領域とを含有する単一の環状核酸であるか、またはdsRNAが、環状核酸と第二の環状核酸または線状核酸とを含む（例えば2000年4月19日に出願されたWO00/63364または1999年4月21日に出願された米国出願第60/130,377号を参照されたい）。例示的環状核酸として、ヌクレオチドの遊離5'ホスホリル基がもう一つのヌクレオチドの2'ヒドロキシル基に輪を描いて元に戻るように連結された状態になる、投げ縄（lariat）構造が挙げられる。

#### 【0299】

別の実施形態では、dsRNAが、糖の2'位にハロゲン（フッ素基など）を含有するか、アルコキシ基（メトキシ基など）を含有する修飾ヌクレオチドを1つ以上含有する。この

ハロゲンまたはアルコキシ基は、対応する 2' 位が水素またはヒドロキシル基を含有する対応する dsRNA と比較して、dsRNA のインビトロまたはインビボでの半減期を増加させる。さらに別の実施形態では、dsRNA が、隣接するヌクレオチド間に天然に存在するホスホジエステル連結部以外の連結部を 1 つ以上含む。そのような連結部の例として、ホスホルアミド、ホスホロチオエート、及びホスホロジチオエート連結部が挙げられる。dsRNA は、米国特許第 6,673,661 号に教示されているような化学修飾核酸分子であってもよい。別の実施形態では、dsRNA が、例えば 2000 年 4 月 19 日に出願された WO 00/63364 または 1999 年 4 月 21 日に公開された米国出願第 60/130,377 号に開示されているように、1 本または 2 本のキャップ鎖を含有する。

#### 【0300】

別の実施形態では、dsRNA が、WO 00/63364 に開示されている少なくとも部分的な dsRNA 分子のいずれかであることも、米国仮特許出願第 60/399,998 号及び米国仮特許出願第 60/419,532 号ならびに PCT/US2003/033466 に記載の dsRNA 分子のいずれかであることもでき、これらの文献の教示内容は、参照により本明細書に組み込まれる。dsRNA はいずれも、本明細書に記載する方法を使って、または標準的方法、例えば WO 00/63364 に記載の方法を使って、インビトロまたはインビボで発現させることができる。

#### 【0301】

占有

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、RNAse H による標的核酸の切断をもたらすとも、RISC 経路による切断または隔離をもたらすとも予想されない。特定のそのような実施形態では、アンチセンス活性が占有に起因する。この場合は、ハイブリダイズしたアンチセンス化合物の存在が、標的核酸の活性を妨害する。特定のそのような実施形態では、アンチセンス化合物が、一様に修飾されていてもよいし、修飾物が混在し、かつ/または修飾ヌクレオチドと無修飾ヌクレオチドとが混在していてもよい。

#### 【0302】

標的核酸、標的領域及びヌクレオチド配列

補体 B 因子 (CFB) をコードするヌクレオチド配列には、次に挙げるものがあるが、これらに限定されない: GENBANK アクセッション番号 NM\_001710.5 (本明細書には配列番号 1 として組み込まれる)、ヌクレオチド 31852000~31861000 が切り出された GENBANK アクセッション番号 NT\_007592.15 (本明細書には配列番号 2 として組み込まれる)、ヌクレオチド 536000~545000 が切り出された GENBANK アクセッション番号 NW\_001116486.1 (本明細書には配列番号 3 として組み込まれる)、GENBANK アクセッション番号 XM\_001113553.2 (本明細書には配列番号 4 として組み込まれる)、または GENBANK アクセッション番号 NM\_008198.2 (本明細書には配列番号 5 として組み込まれる)。

#### 【0303】

ハイブリダイゼーション

いくつかの実施形態では、本明細書に開示するアンチセンス化合物と CFB 核酸との間でハイブリダイゼーションが起こる。最もよくあるハイブリダイゼーションの機序は、核酸分子の相補的核酸塩基間での水素結合形成 (例えばワトソン-クリック型、フーグステイーン型または逆フーグステイーン型水素結合形成) を必要とする。

#### 【0304】

ハイブリダイゼーションは、さまざまな条件下で起こりうる。ストリンジェントな条件は配列依存的であり、ハイブリダイズさせようとする核酸分子の性質及び組成によって決まる。

#### 【0305】

ある配列が標的核酸に特異的にハイブリダイズすることができるかどうかを決定する方法は、当技術分野では周知である。特定の実施形態において、ここに提供するアンチセンス

10

20

30

40

50

化合物は、C F B 核酸と特異的にハイブリダイズすることができる。

#### 【 0 3 0 6 】

##### 相補性

アンチセンス化合物の十分な数の核酸塩基が、所望の効果（例えばC F B 核酸などの標的核酸のアンチセンス阻害）が生じるような形で、標的核酸の対応する核酸塩基と水素結合することができるのであれば、そのアンチセンス化合物と標的核酸とは互いに相補的である。

#### 【 0 3 0 7 】

アンチセンス化合物が依然として標的核酸に特異的にハイブリダイズできるのであれば、アンチセンス化合物とC F B 核酸の間の非相補的核酸塩基は許容されうる。さらにまた、アンチセンス化合物は、介在セグメントまたは隣接セグメントがハイブリダイゼーション事象に関与しないような形で、C F B 核酸の1つ以上のセグメントにハイブリダイズしてもよい（例えばループ構造、ミスマッチ、またはヘアピン構造）。

#### 【 0 3 0 8 】

特定の実施形態において、ここに提供するアンチセンス化合物またはその指定部分は、C F B 核酸、その標的領域、標的セグメント、または指定部分に対して、70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%相同であるか、または少なくとも70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%相同である。標的核酸に対するアンチセンス化合物の相補性パーセントは、常法を使って決定することができる。

#### 【 0 3 0 9 】

例えば、アンチセンス化合物の20核酸塩基中18核酸塩基が標的領域に相補的であり、それゆえに特異的にハイブリダイズするであろうアンチセンス化合物は、90パーセントの相補性に相当するであろう。この例では、残りの非相補的核酸塩基は一かたまりになって存在してもよいし、相補的核酸塩基の間に点在していてもよく、互いに連続している必要も、相補的核酸塩基と連続している必要もない。したがって、標的核酸と完全に相補的な2つの領域に挟まれた4つの非相補的核酸塩基を有する18核酸塩基長のアンチセンス化合物は、標的核酸に対して77.8%の総相補性を有し、したがって本発明の範囲に包含されるであろう。標的核酸の一領域に対するアンチセンス化合物の相補性パーセントは、当技術分野において知られているBLASTプログラム(basic local alignment search tool)及びPowerBLASTプログラム(Altshul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403 410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649 656)を使って、ルーチンに決定することができる。相同性パーセント、配列同一性パーセントまたは配列相補性パーセントは、例えばSmithとWatermanのアルゴリズム(Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482 489)を使用するGapプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, ウィスコンシン州マディソン、ユニバーシティ・リサーチ・パーク)により、デフォルト設定を使って決定することができる。

#### 【 0 3 1 0 】

特定の実施形態では、ここに提供するアンチセンス化合物またはその指定部分が、標的核酸またはその指定部分に完全に相補的（すなわち100%相補的）である。例えばアンチセンス化合物は、C F B 核酸、またはその標的領域、または標的セグメントもしくは標的配列に完全に相補的でありうる。本明細書にいう「完全に相補的」とは、アンチセンス化合物の各核酸塩基が、標的核酸の対応する核酸塩基と正確に塩基対合する能力を有することを意味する。例えば20核酸塩基アンチセンス化合物は、そのアンチセンス化合物に完全に相補的な対応する20核酸塩基部分が標的核酸中に存在するのであれば、400核酸



塩基長の標的配列に対して完全に相補的である。第 1 及び / または第 2 核酸の指定部分に関して完全に相補的という表現を使用することもできる。例えば 30 核酸塩基アンチセンス化合物の 20 核酸塩基部分は、400 核酸塩基長の標的配列に対して「完全に相補的」であることができる。30 核酸塩基オリゴヌクレオチドの 20 核酸塩基部分は、標的配列が対応する 20 核酸塩基部分（その各核酸塩基がアンチセンス化合物の前記 20 核酸塩基部分に相補的であるもの）を有するのであれば、標的配列に対して完全に相補的である。同時に、前記 30 核酸塩基アンチセンス化合物全体は、前記アンチセンス化合物の残りの 10 核酸塩基も標的配列に相補的であるかどうかによって依存して、標的配列に対して完全に相補的である場合も、そうでない場合もある。

【0311】

非相補的核酸塩基の場所はアンチセンス化合物の 5' 端または 3' 端であることができる。あるいは、1 つまたは複数の非相補的核酸塩基が、アンチセンス化合物の内部位置にあってもよい。2 つ以上の非相補的核酸塩基が存在する場合、それらは連続して（すなわち連結されて）いてもよいし、不連続であってもよい。一実施形態では、非相補的核酸塩基が、ギャップマーアンチセンスオリゴヌクレオチドのウイングセグメント中にある。

【0312】

特定の実施形態において、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 核酸塩基長のアンチセンス化合物または 11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 核酸塩基長までのアンチセンス化合物が、CFB 核酸またはその指定部分などの標的核酸との比較で含む非相補的核酸塩基は、4 つ以下、3 つ以下、2 つ以下、または 1 つ以下である。

【0313】

特定の実施形態において、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 核酸塩基長のアンチセンス化合物または 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 核酸塩基長までのアンチセンス化合物が、CFB 核酸またはその指定部分などの標的核酸との比較で含む非相補的核酸塩基は、6 つ以下、5 つ以下、4 つ以下、3 つ以下、2 つ以下、または 1 つ以下である。

【0314】

ここに提供するアンチセンス化合物には、標的核酸の一部に相補的なものも含まれる。ここでいう「一部分」とは、標的核酸の一領域または一セグメント内の所定の数の連続する（すなわち連結された）核酸塩基を指す。「一部分」は、アンチセンス化合物の、所定の数の連続する核酸塩基も意味する。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 8 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 9 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 10 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 11 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 12 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 13 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 14 核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、ある標的セグメントの少なくとも 15 核酸塩基部分に相補的である。ある標的セグメントの少なくとも 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 核酸塩基部分もしくはそれ以上の核酸塩基部分、またはこれらの値のうちの任意の 2 つによって画定される範囲に相補的な、アンチセンス化合物も考えられる。

【0315】

同一性

ここに提供するアンチセンス化合物は、ある特定ヌクレオチド配列、配列番号、もしくは

10

20

30

40

50

具体的 I s i s 番号によって表される化合物、またはその一部分に対して、所定の同一性パーセントも有しうる。本明細書にいうアンチセンス化合物は、それが同じ核酸塩基対合能を有するのであれば、本明細書に開示する配列と同一である。例えば、ウラシルとチミジンはどちらもアデニンと対合するので、開示した DNA 配列中のチミジンの代わりにウラシルを含有する RNA は、前記 DNA 配列と同一であるとみなされるであろう。本明細書に記載するアンチセンス化合物の短縮型及び延長型、ならびにここに提供するアンチセンス化合物と比較して非同一塩基を有する化合物も考えられる。非同一塩基は互いに隣り合っているとしてもよいし、アンチセンス化合物全体に散在しているとしてもよい。アンチセンス化合物のパーセント同一性は、比較対象である配列との比較で同一塩基対合を有する塩基の数に従って計算される。

10

**【0316】**

特定の実施形態では、アンチセンス化合物またはその一部分が、本明細書に開示するアンチセンス化合物、配列番号、またはその一部分の 1 つ以上と、少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% 同一である。

**【0317】**

特定の実施形態では、アンチセンス化合物の一部分を、標的核酸のうちの長さが等しい部分と比較する。特定の実施形態では、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または 25 核酸塩基部分を、標的核酸のうちの長さが等しい部分と比較する。

20

**【0318】**

特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドの一部を、標的核酸のうちの長さが等しい部分と比較する。特定の実施形態では、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または 25 核酸塩基部分を、標的核酸のうちの長さが等しい部分と比較する。

**【0319】****修飾**

ヌクレオシドは塩基 - 糖の組み合わせである。ヌクレオシドの核酸塩基（塩基ともいう）部分は、通常、複素環式塩基部分である。ヌクレオチドは、ヌクレオシドの糖部分に共有結合で連結されたリン酸基をさらに含むヌクレオシドである。ペントフラノシル糖を含むヌクレオシドの場合は、リン酸基を、糖の 2'、3' または 5' ヒドロキシル部分に連結することができる。オリゴヌクレオチドは、互いに隣り合うヌクレオシドを共有結合で連結して、線状ポリマー状のオリゴヌクレオチドを形成させることによって形成される。オリゴヌクレオチド構造内では、リン酸基は、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間連結部を形成していると、一般に言われる。

30

**【0320】**

アンチセンス化合物の修飾には、ヌクレオシド間連結部、糖部分、または核酸塩基の置換または改変が包含される。修飾アンチセンス化合物は、例えば強化された細胞取り込み、核酸標的に対する強化されたアフィニティ、ヌクレアーゼの存在下での増加した安定性、増加した阻害活性などといった望ましい性質ゆえに、ネイティブ型より好ましいことが多い。

40

**【0321】**

化学修飾ヌクレオシドは、短縮型または切断型アンチオリゴヌクレオチドの、その標的核酸に対する結合アフィニティを増加させるために使用することもできる。結果として、そのような化学修飾ヌクレオシドを有する短いアンチセンス化合物で、匹敵する結果を得ることができる場合が多い。

**【0322】****修飾ヌクレオシド間連結部**

RNA 及び DNA の天然に存在するヌクレオシド間連結部は、3' - 5' ホスホジエステル連結部である。1 つ以上の修飾（すなわち天然に存在しない）ヌクレオシド間連結部を有

50

するアンチセンス化合物は、例えば強化された細胞取り込み、核酸標的に対する強化されたアフィニティ、及びヌクレアーゼの存在下での増加した安定性などといった望ましい性質ゆえに、天然に存在するヌクレオシド間連結部を有するアンチセンス化合物よりも選択されることが多い。

【0323】

修飾ヌクレオシド間連結部を有するオリゴヌクレオチドには、リン原子が保たれているヌクレオシド間連結部と、リン原子を有さないヌクレオシド間連結部とが含まれる。代表的なリン含有ヌクレオシド間連結部には、ホスホジエステル、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホラミデート、及びホスホロチオエートが含まれるが、これらに限定されない。リン含有連結部及び非リン含有連結部を調製する方法は、よく知られている。

10

【0324】

特定の実施形態では、C F B 核酸を標的とするアンチセンス化合物が、1つ以上の修飾ヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシド間連結部がホスホロチオエート連結部である。特定の実施形態では、アンチセンス化合物の各ヌクレオシド間連結部がホスホロチオエートヌクレオシド間連結部である。

【0325】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、前記オリゴヌクレオチドまたはその一領域に沿って、所定のパターンまたは修飾ヌクレオシド間連結部モチーフで配置された修飾ヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態では、ヌクレオシド間連結部が、ギャップモチーフ ( g a p p e d m o t i f ) で配置される。そのような実施形態では、2つのウイング領域のそれぞれにあるヌクレオシド間連結部が、ギャップ領域中のヌクレオシド間連結部とは異なる。特定の実施形態では、ウイング中のヌクレオシド間連結部はホスホジエステルであり、ギャップ中のヌクレオシド間連結部はホスホロチオエートである。ヌクレオシドモチーフは独立して選択されるので、ギャップヌクレオシド間連結部モチーフを有するオリゴヌクレオチドは、ギャップヌクレオシドモチーフを有しても有さなくてもよく、ギャップヌクレオシドモチーフを有する場合、ウイング長とギャップ長は同じであっても同じでなくてもよい。

20

【0326】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、交互ヌクレオシド間連結部モチーフを有する領域を含む。特定の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドが、一様に修飾されたヌクレオシド間連結部の一領域を含む。特定のそのような実施形態では、オリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部によって一様に連結された領域を含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエートによって一様に連結されている。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部が、ホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択される。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部がホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択され、少なくとも1つのヌクレオシド間連結部がホスホロチオエートである。

30

【0327】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、少なくとも6つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが少なくとも8つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが少なくとも10個のホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが少なくとも6つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが少なくとも8つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが少なくとも10個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが少なくとも12個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のブロックを少なくとも1つは含む。特定のそのような実施形態では、少なくとも1つの上述のブロックが、オリゴヌクレオチドの3'端に位置する。

40

50

特定のそのような実施形態では、少なくとも1つの上述のブロックがオリゴヌクレオチドの3'端から3ヌクレオシド以内に位置する。

#### 【0328】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、1つ以上のメチルホスホネート連結部を含む。特定の実施形態では、ギャップマーヌクレオシドモチーフを有するオリゴヌクレオチドが、1つまたは2つのメチルホスホネート連結部を除くすべてがホスホロチオエート連結部である連結部モチーフを含む。特定の実施形態では、1つのメチルホスホネート連結部が、ギャップマーヌクレオシドモチーフを有するオリゴヌクレオチドの中央のギャップ中にある。

#### 【0329】

特定の実施形態では、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部とホスホジエステルヌクレオシド間連結部の数を、ヌクレアーゼ耐性が維持されるように定めることが望ましい。特定の実施形態では、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部の数と位置及びホスホジエステルヌクレオシド間連結部の数と位置を、ヌクレアーゼ耐性が維持されるように定めることが望ましい。特定の実施形態では、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を減少させ、かつホスホジエステルヌクレオシド間連結部の数を増加させることができる。特定の実施形態では、ヌクレアーゼ耐性を維持したまま、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部の数を減少させ、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部を増加させることができる。特定の実施形態では、ヌクレアーゼ耐性を保ったまま、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部の数を減少させることが望ましい。特定の実施形態では、ヌクレアーゼ活性を保ったまま、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部の数を増加させることが望ましい。

#### 【0330】

##### 修飾糖部分

アンチセンス化合物は、場合によっては、糖基が修飾されているヌクレオシドを1つ以上含有しうる。そのような糖修飾ヌクレオシドは、強化されたヌクレアーゼ安定性、増加した結合アフィニティ、または他の何らかの有益な生物学的性質を、アンチセンス化合物に付与しうる。特定の実施形態では、ヌクレオシドが化学修飾リボフラノース環部分を含む。化学修飾リボフラノース環の例には、置換基の付加(5'置換基、2'置換基、非ジェミナル環原子の架橋による二環式核酸(BNA)の形成、S、N(R)、またはC(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>)(R、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は、それぞれ独立して、H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルキルまたは保護基である)によるリボシル環酸素原子の置き換え、及びそれらの組み合わせなどがあるが、これらに限定されない。化学修飾糖の例としては、2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド(開示されている他の5', 2'-ビス置換ヌクレオシドについては、PCT国際出願WO2008/101157(公開日2008年8月21日)を参照されたい)、またはSによるリボシル環酸素原子の置き換えと2'位におけるさらなる置換(米国特許出願公開US2005-0130923(公開日2005年6月16日)参照)、あるいはBNAの5'-置換(PCT国際出願WO2007/134181(公開日2007年11月22日)参照、この場合はLNAが例えば5'-メチル基または5'-ビニル基で置換されている)などがある。

#### 【0331】

修飾糖部分を有するヌクレオシドの例には、5'-ビニル、5'-メチル(RまたはS)、4'-S、2'-F、2'-OCH<sub>2</sub>H<sub>2</sub>2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F及び2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>置換基を含むヌクレオシドがあるが、これらに限定されない。2'位の置換基は、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>アルキル、OCF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>F、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)、O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)、及びO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>1</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択することもできる(ここで、各R<sub>1</sub>、R<sub>m</sub>及びR<sub>n</sub>は、独立して、Hまたは置換もしくは無置換C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>アルキルである)。

10

20

30

40

50

## 【0332】

本明細書にいう「二環式ヌクレオシド」とは、二環式糖部分を含む修飾ヌクレオシドを指す。二環式ヌクレオシドの例には、4'リボシル環原子と2'リボシル環原子の間に橋を含むヌクレオシドなどがあるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、ここに提供するアンチセンス化合物が、4'2'橋を含む二環式ヌクレオシドを1つ以上含む。そのような4'2'架橋二環式ヌクレオシドの例として、次式の一つが挙げられるが、これらに限定されない：4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2'(LNA)、4'-(CH)-S-2'、4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'(ENA)、4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'(拘束エチルまたはcEtともいう)及び4'-C-H(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2'(及びその類似体、2008年6月15日発行の米国特許第7,399,845号参照)、4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2'(及びその類似体、国際出願公開WO2009/006478(公開日2009年1月8日)参照)；4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2'(及びその類似体、国際出願公開WO/2008/150729(公開日2008年12月11日)参照)、4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2'(米国特許出願公開US2004-0171570(公開日2004年9月2日)参照)、4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2'(式中、Rは、H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルキル、または保護基である)(2008年7月23日発行の米国特許7,427,672号参照)、4'-CH<sub>2</sub>-C-(H)(CH<sub>3</sub>)-2'(Zhou et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134参照)、及び4'-CH<sub>2</sub>-C-(=CH<sub>2</sub>)-2'(及びその類似体、国際出願公開WO 2008/154401(公開日2008年12月8日)参照)。

## 【0333】

公表された文献には二環式ヌクレオシドに関する他の報告文も見いだすことができる(例えば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; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26)8362-8379; Elayadi et al., Curr. Opinion Invest. 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; 米国特許第6,268,490号; 同第6,525,191号; 同第6,670,461号; 同第6,770,748号; 同第6,794,499号; 同第7,034,133号; 同第7,053,207号; 同第7,399,845号; 同第7,547,684号; 同第8,530,640号; 及び同第7,696,345号; 米国特許出願公開番号US2008-0039618; 同US2009-0012281; 米国特許出願第61/026,995号及び同第61/097,787号; PCT国際出願公開WO2009/067647; 同WO2011/017521; 同WO2010/036698; 同WO1999/014226; 同WO2004/106356; 同WO2005/021570; 同WO2007/134181; 同WO2008/150729; 同WO2008/154401; 及び同WO2009/006478参照。前述の二環式ヌクレオシドのそれぞれは、例えば-L-リボフラノースと-D-リボフラノースなど、1つ以上の立体化学的糖配置を有するものを調製することができる(1999年3月25日にWO99/14226として公開されたPCT国際出願PCT/DK98/00393を参照されたい)。

## 【0334】

特定の実施形態では、限定するわけではないが、BNAヌクレオシドの二環式糖部分として、ペントフラノシル糖部分の4'位と2'位の間に少なくとも1つの橋を有する化合物が

挙げられ、その橋は、独立して、 $- [C(R_a)(R_b)]_n -$ 、 $- C(R_a) = C(R_b) -$ 、 $- C(R_a) = N -$ 、 $- C(=O) -$ 、 $- C(=NR_a) -$ 、 $- C(=S) -$ 、 $- O -$ 、 $- Si(R_a)_2 -$ 、 $- S(=O)_x -$ 、及び  $- N(R_a) -$  から独立して選択される1つの基または2～4つの連結された基を含み、  
式中、

x は、0、1、または2であり、

n は、1、2、3、または4であり、

各  $R_a$  及び  $R_b$  は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1 - C_{12}$  アルキル、置換  $C_1 - C_{12}$  アルキル、 $C_2 - C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2 - C_{12}$  アルケニル、 $C_2 - C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2 - C_{12}$  アルキニル、 $C_5 - C_{20}$  アリール、置換  $C_5 - C_{20}$  アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $C_5 - C_7$  脂環式ラジカル、置換  $C_5 - C_7$  脂環式ラジカル、ハロゲン、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $COOJ_1$ 、アシル( $C(=O) - H$ )、置換アシル、 $CN$ 、スルホニル( $S(=O)_2 - J_1$ )、またはスルホキシル( $S(=O) - J_1$ )であり、かつ

各  $J_1$  及び  $J_2$  は、独立して、H、 $C_1 - C_{12}$  アルキル、置換  $C_1 - C_{12}$  アルキル、 $C_2 - C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2 - C_{12}$  アルケニル、 $C_2 - C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2 - C_{12}$  アルキニル、 $C_5 - C_{20}$  アリール、置換  $C_5 - C_{20}$  アリール、アシル( $C(=O) - H$ )、置換アシル、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、 $C_1 - C_{12}$  アミノアルキル、置換  $C_1 - C_{12}$  アミノアルキルまたは保護基である。

#### 【0335】

特定の実施形態では、二環式糖部分の橋が  $- [C(R_a)(R_b)]_n -$ 、 $- [C(R_a)(R_b)]_n - O -$ 、 $- C(R_aR_b) - N(R) - O -$  または  $- C(R_aR_b) - O - N(R) -$  である。特定の実施形態では、前記橋が、 $4' - CH_2 - 2'$ 、 $4' - (CH_2)_2 - 2'$ 、 $4' - (CH_2)_3 - 2'$ 、 $4' - CH_2 - O - 2'$ 、 $4' - (CH_2)_2 - O - 2'$ 、 $4' - CH_2 - O - N(R) - 2'$  及び  $4' - CH_2 - N(R) - O - 2'$  であり、式中、各 R は、独立して、H、保護基または  $C_1 - C_{12}$  アルキルである。

#### 【0336】

特定の実施形態では、二環式ヌクレオシドが、さらに異性立体配置によって定義される。例えば、 $4' - 2'$  メチレン - オキシ橋を含むヌクレオシドは、 $- L$  立体配置または  $- D$  立体配置をとりうる。 $- L$  - メチレンオキシ( $4' - CH_2 - O - 2'$ ) BNA は、以前に、アンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれており、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドはアンチセンス活性を示した(Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365 - 6372)。

#### 【0337】

特定の実施形態では、二環式ヌクレオシドとして、以下に図示する(A)  $- L$  - メチレンオキシ( $4' - CH_2 - O - 2'$ ) BNA、(B)  $- D$  - メチレンオキシ( $4' - CH_2 - O - 2'$ ) BNA、(C) エチレンオキシ( $4' - (CH_2)_2 - O - 2'$ ) BNA、(D) アミノオキシ( $4' - CH_2 - O - N(R) - 2'$ ) BNA、(E) オキシアミノ( $4' - CH_2 - N(R) - O - 2'$ ) BNA、及び(F) メチル(メチレンオキシ)( $4' - CH(CH_3) - O - 2'$ ) BNA、(G) メチレン - チオ( $4' - CH_2 - S - 2'$ ) BNA、(H) メチレン - アミノ( $4' - CH_2 - N(R) - 2'$ ) BNA、(I) メチル炭素環式( $4' - CH_2 - CH(CH_3) - 2'$ ) BNA、(J) プロピレン炭素環式( $4' - (CH_2)_3 - 2'$ ) BNA、及び(K) ビニル BNA が挙げられるが、これらに限定されない：

#### 【0338】

10

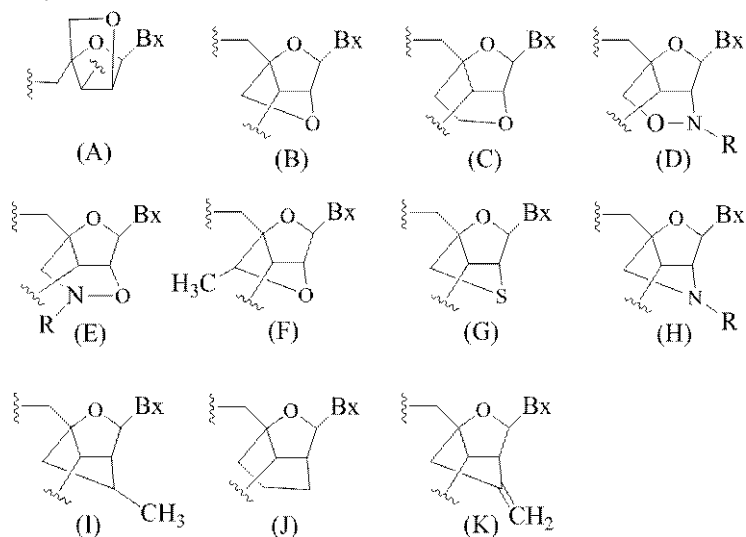
20

30

40

50

## 【化 1 5】



10

式中、B xは塩基部分であり、かつRは、独立して、H、保護基、C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub>アルキルまたはC<sub>1</sub> - C<sub>12</sub>アルコキシである。

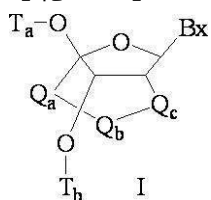
## 【0339】

特定の実施形態では、式 I :

20

## 【0340】

## 【化 1 6】



[ 式中、

B xは、複素環式塩基部分であり、

30

- Q a - Q b - Q c - は、- CH<sub>2</sub> - N ( R c ) - CH<sub>2</sub> - 、- C ( = O ) - N ( R c ) - CH<sub>2</sub> - 、- CH<sub>2</sub> - O - N ( R c ) - 、- CH<sub>2</sub> - N ( R c ) - O - または - N ( R c ) - O - CH<sub>2</sub> であり、

R cは、C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub>アルキルまたはアミノ保護基であり、かつ

T a及びT bは、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、共役基、反応性リン基、リン部分または支持媒体への共有結合による取り付けである ]

を有する二環式ヌクレオシドが提供される。

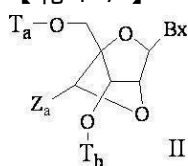
## 【0341】

特定の実施形態では、式 II :

## 【0342】

40

## 【化 1 7】



[ 式中、

B xは、複素環式塩基部分であり、

T a及びT bは、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、共役基、反応性リン基、リン部分または支持媒体への共有結合による取り付けであり、

50

$Z_a$  は、 $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルキニル、アシル、置換アシル、置換アミド、チオールまたは置換チオである ]  
を有する二環式ヌクレオシドが提供される。

【 0 3 4 3 】

一実施形態では、前記置換基のそれぞれが、独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、 $OJ_c$ 、 $NJ_cJ_d$ 、 $SJ_c$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_c$ 、及び  $NJ_eC(=X)NJ_cJ_d$  から独立して選択される置換基で一置換または多置換されており、式中、各  $J_c$ 、 $J_d$  及び  $J_e$  は、独立して、 $H$ 、 $C_1 - C_6$  アルキル、または置換  $C_1 - C_6$  アルキルであり、かつ  $X$  は、 $O$  または  $NJ_c$  である。

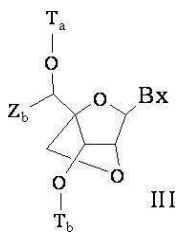
10

【 0 3 4 4 】

特定の実施形態では、式 III :

【 0 3 4 5 】

【 化 1 8 】



20

[ 式中、

$B_x$  は、複素環式塩基部分であり、

$T_a$  及び  $T_b$  は、それぞれ独立して、 $H$ 、ヒドロキシル保護基、共役基、反応性リン基、リン部分または支持媒体への共有結合による取り付けであり、

$Z_b$  は、 $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルキニルまたは置換アシル ( $C(=O)-$ ) である ]

を有する二環式ヌクレオシドが提供される。

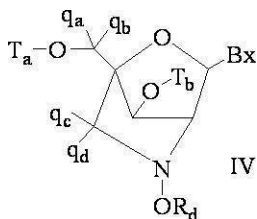
【 0 3 4 6 】

30

特定の実施形態では、式 IV :

【 0 3 4 7 】

【 化 1 9 】



40

[ 式中、

$B_x$  は、複素環式塩基部分であり、

$T_a$  及び  $T_b$  は、それぞれ独立して、 $H$ 、ヒドロキシル保護基、共役基、反応性リン基、リン部分または支持媒体への共有結合による取り付けであり、

$R_d$  は、 $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニルまたは置換  $C_2 - C_6$  アルキニルであり、

各  $q_a$ 、 $q_b$ 、 $q_c$  及び  $q_d$  は、独立して、 $H$ 、ハロゲン、 $C_1 - C_6$  アルキル、置換  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_2 - C_6$  アルケニル、置換  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $C_2 - C_6$  アルキニルまたは置換  $C_2 - C_6$  アルキニル、 $C_1 - C_6$  アルコキシル、置換  $C_1 - C_6$  アルコキシル、アシル、置換アシル、 $C_1 - C_6$  アミノアルキルまたは置換  $C_1 - C_6$  アミノ

50



アルキルである]

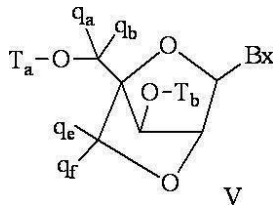
を有する二環式ヌクレオシドが提供される。

【0348】

特定の実施形態では、式V：

【0349】

【化20】



10

[ 式中、

Bxは、複素環式塩基部分であり、

Ta及びTbは、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、共役基、反応性リン基、リン部分または支持媒体への共有結合による取り付けであり、

qa、qb、qc及びqdは、それぞれ独立して、水素、ハロゲン、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルキル、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>アルケニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>アルキニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>アルキニル、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルコキシ、置換C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルコキシ、OJ<sub>j</sub>、SJ<sub>j</sub>、SOJ<sub>j</sub>、SO<sub>2</sub>J<sub>j</sub>、NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N<sub>3</sub>、CN、C(=O)OJ<sub>j</sub>、C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、C(=O)J<sub>j</sub>、O-C(=O)-NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N(H)C(=NH)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N(H)C(=O)-NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>またはN(H)C(=S)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>であるか、または

20

qc及びqdが全体として=C(qg)(qh)であり、

qg及びqhは、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルキルまたは置換C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>アルキルである]

を有する二環式ヌクレオシドが提供される。

【0350】

メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA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は、それらのオリゴマー化及び核酸認識特性と共に、既に記述されている(Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630)。BNAとその調製はWO98/39352及びWO99/14226にも記述されている。

30

【0351】

メチレンオキシ(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA及び2'-チオ-BNAの類似体も既に調製されている(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のオリゴデオキシリボヌクレオチド二重鎖を構成するロクトヌクレオチド類似体の調製も既に記述されている(Wengel et al., WO99/14226)。さらにまた、コンフォメーションが制限された新規高アフィニティオリゴヌクレオチド類似体である2

40

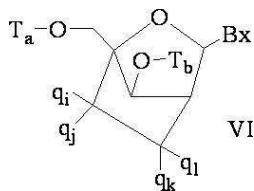
'-アミノ-BNAの合成も、当技術分野では既に記述されている(Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039)。加えて、2'-アミノ-及び2'-メチルアミノ-BNAも調製されており、相補的なRNA鎖及び相補的DNA鎖とのそれらの二重鎖の熱安定性が、以前に報告されている。

【0352】

特定の実施形態では、式VI：

【0353】

## 【化 2 1】



[ 式中、

B x は、複素環式塩基部分であり、

T a 及び T b は、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、共役基、反応性リン基、  
リン部分または支持媒体への共有結合による取り付けであり、

各 q i、q j、q k 及び q l は、独立して、H、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub> アルキル、置換  
C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub> アルキル、C<sub>2</sub> - C<sub>12</sub> アルケニル、置換 C<sub>2</sub> - C<sub>12</sub> アルケニル、C<sub>2</sub> -  
C<sub>12</sub> アルキニル、置換 C<sub>2</sub> - C<sub>12</sub> アルキニル、C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub> アルコキシル、置換 C<sub>1</sub> -  
C<sub>12</sub> アルコキシル、O J j、S J j、S O J j、S O<sub>2</sub> J j、N J j J k、N<sub>3</sub>、C  
N、C(=O) O J j、C(=O) N J j J k、C(=O) J j、O - C(=O) - N J  
j J k、N(H) C(=NH) N J j J k、N(H) C(=O) - N J j J k または N(  
H) C(=S) N J j J k であり、かつ

q i と q j または q l と q k は、全体として、= C ( q g ) ( q h ) であり、式中、q g  
及び q h は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub> アルキルまたは置換 C<sub>1</sub> -  
C<sub>12</sub> アルキルである ]

を有する二環式ヌクレオシドが提供される。

## 【 0 3 5 4】

4' - ( C H<sub>2</sub> )<sub>3</sub> - 2' 橋を有する炭素環式二環式ヌクレオシド及びアルケニル類似体橋  
4' - C H = C H - C H<sub>2</sub> - 2' は既に記述されている ( F r e i e r e t a l . , N u  
c l e i c A c i d s R e s e a r c h , 1 9 9 7 , 2 5 ( 2 2 ) , 4 4 2 9 - 4 4 4  
3 及び A l b a e k e t a l . , J . O r g . C h e m . , 2 0 0 6 , 7 1 , 7 7 3 1  
- 7 7 4 0 ) 。炭素環式二環式ヌクレオシドの合成及び調製も、それらのオリゴマー化及  
び生化学的研究と共に記述されている ( S r i v a s t a v a e t a l . , J . A m .  
C h e m . S o c . , 2 0 0 7 , 1 2 9 ( 2 6 ) , 8 3 6 2 - 8 3 7 9 ) 。

## 【 0 3 5 5】

本明細書にいう「4' - 2' 二環式ヌクレオシド」または「4' 2' 二環式ヌクレオシド」と  
は、フラノース環の2つの炭素原子をつなぐ橋を含むフラノース環を含み、前記橋が糖環  
の2' 炭素原子と4' 炭素原子をつなぐ、二環式ヌクレオシドを指す。

## 【 0 3 5 6】

本明細書にいう「単環式ヌクレオシド」とは、二環式糖部分ではない修飾糖部分を含むヌ  
クレオシドである。特定の実施形態では、ヌクレオシドの糖部分または糖部分類似体が、  
どの位置で修飾または置換されていてもよい。

## 【 0 3 5 7】

本明細書にいう「2' - 修飾糖」とは、2' 位が修飾されたフラノシル糖を意味する。特定  
の実施形態では、そのような修飾が、ハライド、例えば限定するわけではないが、置換及  
び無置換アルコキシ、置換及び無置換チオアルキル、置換及び無置換アミノアルキル  
、置換及び無置換アルキル、置換及び無置換アリル、及び置換及び無置換アルキニルから  
選択される置換基を含む。特定の実施形態では、2' 修飾が、限定するわけではないが、O  
[ ( C H<sub>2</sub> )<sub>n</sub> O ]<sub>m</sub> C H<sub>3</sub>、O ( C H<sub>2</sub> )<sub>n</sub> N H<sub>2</sub>、O ( C H<sub>2</sub> )<sub>n</sub> C H<sub>3</sub>、O ( C H  
2 )<sub>n</sub> F、O ( C H<sub>2</sub> )<sub>n</sub> O N H<sub>2</sub>、O C H<sub>2</sub> C ( = O ) N ( H ) C H<sub>3</sub>、及び O ( C H  
2 )<sub>n</sub> O N [ ( C H<sub>2</sub> )<sub>n</sub> C H<sub>3</sub> ]<sub>2</sub> などといった置換基 ( 式中、n 及び m は 1 ~ 約 1 0  
である ) から選択される。他の 2' - 置換基は、C<sub>1</sub> - C<sub>12</sub> アルキル、置換アルキル、ア  
ルケニル、アルキニル、アルカリール、アラルキル、O - アルカリールまたは O - アラル  
キル、S H、S C H<sub>3</sub>、O C N、C l、B r、C N、F、C F<sub>3</sub>、O C F<sub>3</sub>、S O C H<sub>3</sub>

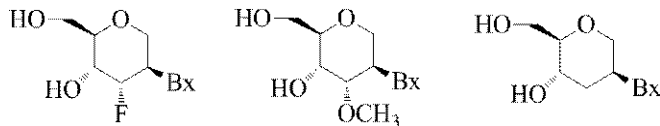
、 $\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $\text{ONO}_2$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{N}_3$ 、 $\text{NH}_2$ 、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリ-アルキルアミノ、置換シリル、RNA切断基、レポーター基、インターカレーター、アンチセンス化合物の薬物動態特性を改良するための基または薬力学的性質を改良するための基、及び類似する性質を有する他の置換基から選択することもできる。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドが2'-MOE側鎖を含む(Baker et al., J. Biol. Chem., 1997, 272, 11944-12000)。そのような2'-MOE置換は、無修飾ヌクレオシド及び他の修飾ヌクレオシド、例えば2'-O-メチル、O-プロピル、及びO-アミノプロピルと比較して、改良された結合アフィニティを有すると記述されている。2'-MOE置換基を有するオリゴヌクレオチドは、インビボ用途に有望な特徴を持つ遺伝子発現のアンチセンス阻害剤であることも示されている(Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637; 及び Altmann et al., Nucleosides Nucleotides, 1997, 16, 917-926)。

#### 【0358】

本明細書にいう「修飾テトラヒドロピランヌクレオシド」または「修飾THPヌクレオシド」とは、通常のヌクレオシド中のペントフラノシル残基の代わりに六員テトラヒドロピラン「糖」(糖代用物)が使用されているヌクレオシドを意味する。修飾THPヌクレオシドには、当技術分野においてヘキシトール核酸(HNA)、アニトール(anitol)核酸(ANA)、マニトール(manitol)核酸(MNA)(Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854)またはフルオロHNA(F-HNA)と呼ばれ、以下に図解するようにテトラヒドロピラン環系を有するものが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0359】

#### 【化22】

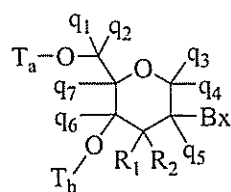


#### 【0360】

特定の実施形態では、式VII:

#### 【0361】

#### 【化23】



VII

を有する糖代用物が選択され、  
 式中、前記少なくとも1つの式VIIのテトラヒドロピランヌクレオシド類似体のそれぞれについて、独立して、  
 Bxは、複素環式塩基部分であり、  
 Ta及びTbは、それぞれ独立して、テトラヒドロピランヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に連結するヌクレオシド間連結基であるか、またはTa及びTbのうちの一方がテトラヒドロピランヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に連結するヌクレオシド間連結基であり、Ta及びTbのうちの他方がH、ヒドロキシル保護基、連結された共役基または5'もしくは3'末端基であり、

q<sub>1</sub>、q<sub>2</sub>、q<sub>3</sub>、q<sub>4</sub>、q<sub>5</sub>、q<sub>6</sub>及びq<sub>7</sub>は、それぞれ独立して、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、置換C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルまたは置換C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニルであり、かつR<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>のそれぞれは、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、置換または無置換アルコキシ、N<sub>1</sub>J<sub>2</sub>、S<sub>1</sub>J<sub>1</sub>、N<sub>3</sub>、OC(=X)J<sub>1</sub>、OC(=X)N<sub>1</sub>J<sub>1</sub>J<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>C(=X)N<sub>1</sub>J<sub>1</sub>J<sub>2</sub>及びCNであり、XはO、SまたはN<sub>1</sub>であり、かつ各J<sub>1</sub>、J<sub>2</sub>及びJ<sub>3</sub>は、独立して、HまたはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルである。

#### 【0362】

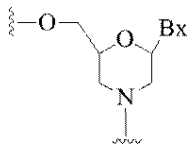
特定の実施形態では、q<sub>1</sub>、q<sub>2</sub>、q<sub>3</sub>、q<sub>4</sub>、q<sub>5</sub>、q<sub>6</sub>及びq<sub>7</sub>がそれぞれHである、式VIIの修飾THPヌクレオシドが提供される。特定の実施形態では、q<sub>1</sub>、q<sub>2</sub>、q<sub>3</sub>、q<sub>4</sub>、q<sub>5</sub>、q<sub>6</sub>及びq<sub>7</sub>のうちの少なくとも1つがH以外である。特定の実施形態では、q<sub>1</sub>、q<sub>2</sub>、q<sub>3</sub>、q<sub>4</sub>、q<sub>5</sub>、q<sub>6</sub>及びq<sub>7</sub>のうちの少なくとも1つがメチルである。特定の実施形態では、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>のうちの一方がフルオロである、式VIIのTHPヌクレオシドが提供される。特定の実施形態では、R<sub>1</sub>がフルオロ、かつR<sub>2</sub>がHであり、R<sub>1</sub>がメトキシ、かつR<sub>2</sub>がHであり、そしてR<sub>1</sub>がメトキシエトキシ、かつR<sub>2</sub>がHである。

#### 【0363】

特定の実施形態では、糖代用物が、6つ以上の原子及び2つ以上のヘテロ原子を有する環を含む。例えばモルホリノ糖部分を含むヌクレオシド、及びオリゴマー化合物におけるこれらの使用が、報告されている（例えばBraasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510; 及び米国特許第5,698,685号; 同第5,166,315号; 同第5,185,444号; 及び同第5,034,506号を参照されたい）。本明細書において使用する用語「モルホリノ」とは、以下の式を有する糖代用物を意味する：

#### 【0364】

#### 【化24】



。特定の実施形態では、例えば上記モルホリノ構造にさまざまな置換基を付加するか、上記モルホリノ構造のさまざまな置換基を改変することによって、モルホリノが修飾されていてもよい。そのような糖代用物を本明細書では「修飾モルホリノ」という。

#### 【0365】

修飾の組み合わせ、例えば限定するわけではないが、2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド（開示されている他の5', 2'-ビス置換ヌクレオシドについてはPCT国際出願第WO2008/101157号（公開日2008年8月21日）参照）、及びSによるリボシル環酸素原子の置き換えと2'位におけるさらなる置換（米国特許出願公開US2005-0130923（公開日2005年6月16日）参照）、あるいは二環式核酸の5'-置換（PCT国際出願WO2007/134181（公開日2007年11月22日）参照、この場合は4'-CH<sub>2</sub>-O-2'二環式ヌクレオシドの5'位が5'-メチル基または5'-ビニル基でさらに置換されている）なども提供される。炭素環式二環式ヌクレオシドの合成及び調製も、それらのオリゴマー化及び生化学的試験と共に記載されている（例えば、Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26), 8362-8379を参照のこと）。

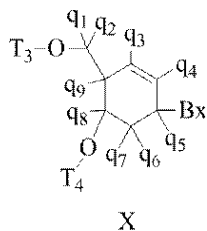
#### 【0366】

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、天然に存在するヌクレオシド中のペントフラノシル残基の代わりに六員シクロヘキセニルを有するヌクレオシドである修飾シクロヘキセニルヌクレオシドを1つ以上含む。修飾シクロヘキセニルヌクレオシドとして、当技

術分野に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない(例えば同一譲受人によるPCT出願公開WO2010/036696(公開日2010年4月10日)、Robeyns et al., J. Am. Chem. Soc., 2008, 130(6), 1979-1984; Horvath et al., Tetrahedron Letters, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(30), 9340-9348; Gu et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts et al., Nucleic Acids Research, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns et al., Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2005, F61(6), 585-586; Gu et al., Tetrahedron, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu et al., Oligonucleotides, 2003, 13(6), 479-489; Wang et al., J. Org. Chem., 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al., Nucleic Acids Research, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang et al., J. Org. Chem., 2001, 66, 8478-82; Wang et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang et al., J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 8595-8602; PCT出願公開WO06/047842; 及びPCT出願公開WO01/049687を参照されたい; また、各文献の本文は、参照によりそのまま本明細書に組み込まれる)。特定の修飾シクロヘキセニルヌクレオシドは、式Xを有する。

【0367】

【化25】



式中、前記少なくとも1つの式Xのシクロヘキセニルヌクレオシド類似体のそれぞれについて、独立して、

Bxは、複素環式塩基部分であり、

T3及びT4は、それぞれ独立して、シクロヘキセニルヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に連結するヌクレオシド間連結基であるか、またはT3及びT4のうち的一方がテトラヒドロピランヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に連結するヌクレオシド間連結基であり、かつT3及びT4のうち他方がH、ヒドロキシル保護基、連結された共役基、または5'末端基もしくは3'末端基であり、かつ

q1、q2、q3、q4、q5、q6、q7、q8及びq9は、それぞれ独立して、H、C1-C6アルキル、置換C1-C6アルキル、C2-C6アルケニル、置換C2-C6アルケニル、C2-C6アルキニル、置換C2-C6アルキニルまたは他の糖置換基である。

【0368】

本明細書にいう「2'-修飾」または「2'-置換」は、2'位にHまたはOH以外の置換基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。2'-修飾ヌクレオシドには、糖環の2つの炭素原子をつなぐ橋が糖環の2'炭素ともう一つの炭素とをつないでいる二環式ヌクレオシド; 及び非架橋2'置換基、例えばアリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C1-C10

アルキル、 $-OCF_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-CH_3$ 、 $2'-O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O-(CH_2)_2-O-N(R_m)(R_n)$ 、または $O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)$  [式中、各 $R_m$ 及び $R_n$ は、独立して、Hまたは置換または無置換 $C_{1-C_{10}}$ アルキルである]を有するヌクレオシドなどがあるが、これらに限定されない。2'-修飾ヌクレオシドは、例えば糖の他の位置及び/または核酸塩基に、他の修飾をさらに含んでもよい。

#### 【0369】

本明細書にいう「2'-F」とは、糖環の2'位にフルオロ基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。

#### 【0370】

本明細書にいう「2'-OMe」または「2'-OCH<sub>3</sub>」または「2'-O-メチル」とは、それぞれ、糖環の2'位に $-OCH_3$ 基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。

#### 【0371】

本明細書にいう「MOE」または「2'-MOE」または「2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>」または「2'-O-メトキシエチル」とは、それぞれ、糖環の2'位に $-OCH_2CH_2OCH_3$ 基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。

#### 【0372】

本明細書にいう「オリゴヌクレオチド」とは、複数の連結されたヌクレオシドを含む化合物を指す。特定の実施形態では、前記複数のヌクレオシドのうちの1つ以上が修飾されている。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドが、1つ以上のリボヌクレオシド(RNA)及び/またはデオキシリボヌクレオシド(DNA)を含む。

#### 【0373】

アンチセンス化合物に組み込むためのヌクレオシドの修飾に使用することができるピシク口糖代用環系及びトリシク口糖代用環系は、当技術分野では、他にも多数知られている(例えば総説Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854を参照されたい)。そのような環系には、活性を強化するために、さまざまな追加の置換を行うことができる。

#### 【0374】

修飾糖の調製方法は当業者にはよく知られている。そのような修飾糖の調製を教示する代表的米国特許の一部には、例えば限定するわけではないが、U.S. 4,981,957; U.S. 5,118,800; U.S. 5,319,080; U.S. 5,359,044; U.S. 5,393,878; U.S. 5,446,137; U.S. 5,466,786; U.S. 5,514,785; U.S. 5,519,134; U.S. 5,567,811; U.S. 5,576,427; U.S. 5,591,722; U.S. 5,597,909; U.S. 5,610,300; U.S. 5,627,053; U.S. 5,639,873; U.S. 5,646,265; U.S. 5,670,633; U.S. 5,700,920; U.S. 5,792,847及びU.S. 6,600,032ならびに2005年12月22日にWO2005/121371として公開された国際出願PCT/US-2005/019219(出願日2005年6月2日)などがあり、これらはそれぞれ参照により本明細書にそのまま組み込まれる。

#### 【0375】

修飾糖部分を有するヌクレオチドにおいて、核酸塩基部分(天然、修飾またはそれらの組み合わせ)は、適当な核酸標的とのハイブリダイゼーションのために維持される。

#### 【0376】

特定の実施形態では、アンチセンス化合物が、修飾糖部分を有する1つ以上のヌクレオシドを含む。特定の実施形態では、修飾糖部分が2'-MOEである。特定の実施形態では、2'-MOE修飾ヌクレオシドがギャップマーモチーフで配置される。特定の実施形態では、修飾糖部分が、(4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2')架橋基を有する二環式ヌクレオシドである。特定の実施形態では、前記(4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2')修飾ヌクレオシドが、ギャップマーモチーフのウイング全体にわたって配置される。

## 【0377】

## 修飾核酸塩基

核酸塩基（または塩基）の修飾または置換は、天然に存在する無修飾核酸塩基または合成無修飾核酸塩基とは構造上識別できるが、機能的には天然に存在する無修飾核酸塩基または合成無修飾核酸塩基と交換可能である。天然核酸塩基と修飾核酸塩基はどちらも水素結合に参加する能力を有する。そのような核酸塩基修飾は、ヌクレアーゼ安定性、結合アフィニティまたは他の何らかの有益な生物学的性質をアンチセンス化合物に付与することができる。修飾核酸塩基には、例えば5 - メチルシトシン（5 - me - C）などの合成及び天然核酸塩基が含まれる。5 - メチルシトシン置換などの特定の核酸塩基置換は、標的核酸に対するアンチセンス化合物の結合アフィニティを増加させるのに特に有用である。例えば5 - メチルシトシン置換は、核酸二重鎖安定性を0.6 ~ 1.2 増加させることが示されている（Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. 及び Lebleu, B. 編「Antisense Research and Applications」CRC Press, ボカトン, 1993, pp. 276 - 278）。

10

## 【0378】

他の修飾核酸塩基として、5 - ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2 - アミノアデニン、アデニン及びグアニンの6 - メチル誘導体及び他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの2 - プロピル誘導体及び他のアルキル誘導体、2 - チオウラシル、2 - チオチミン及び2 - チオシトシン、5 - ハロウラシル及びシトシン、5 - プロピニル（- CoC - CH<sub>3</sub>）ウラシル及びシトシンならびにピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、6 - アゾウラシル、シトシン及びチミン、5 - ウラシル（シュドウラシル）、4 - チオウラシル、8 - ハロ、8 - アミノ、8 - チオール、8 - チオアルキル、8 - ヒドロキシルならびに他の8 - 置換アデニン及びグアニン、5 - ハロ、特に5 - プロモ、5 - トリフルオロメチルならびに他の5 - 置換ウラシル及びシトシン、7 - メチルグアニン及び7 - メチルアデニン、2 - F - アデニン、2 - アミノ - アデニン、8 - アザグアニン及び8 - アザアデニン、7 - デアザグアニン及び7 - デアザアデニンならびに3 - デアザグアニン及び3 - デアザアデニンが挙げられる。

20

## 【0379】

複素環式塩基部分として、プリン塩基またはピリミジン塩基が他の複素環、例えば7 - デアザ - アデニン、7 - デアザグアニン、2 - アミノピリジン及び2 - ピリドンで置き換えられているものも挙げることができる。アンチセンス化合物の結合アフィニティを増加させるのにとりわけ有用な核酸塩基として、5 - 置換ピリミジン、6 - アザピリミジンならびにN - 2、N - 6 及びO - 6 置換プリン、例えば2 - アミノプロピルアデニン、5 - プロピニルウラシル及び5 - プロピニルシトシンが挙げられる。

30

## 【0380】

特定の実施形態では、CFB核酸を標的とするアンチセンス化合物が、1つ以上の修飾核酸塩基を含む。特定の実施形態では、CFB核酸を標的とする短縮型またはギャップ拡張型アンチセンスオリゴヌクレオチドが1つ以上の修飾核酸塩基を含む。特定の実施形態では、修飾核酸塩基が5 - メチルシトシンである。特定の実施形態では、各シトシンが5 - メチルシトシンである。

40

## 【0381】

## 共役アンチセンス化合物

特定の実施形態において、本開示は、共役アンチセンス化合物を提供する。特定の実施形態において、本開示は、核酸転写産物に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む共役アンチセンス化合物を提供する。特定の実施形態において、本開示は、細胞を、核酸転写産物に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む共役アンチセンス化合物と接触させることを含む方法を提供する。特定の実施形態において、本開示は、細胞を、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む共役アンチセンス化合物と接触させること、及び細胞内の核酸転写産物の量または活性を低減させることを含む方法を提供する。

## 【0382】

50

アジアロ糖タンパク質受容体 (ASGP-R) は以前に記載されている。例えば Park et al., PNAS vol. 102, No. 47, pp. 17125-17129 (2005) を参照されたい。これらの受容体は、肝臓細胞、特に肝細胞上で発現する。さらに、3つのN-アセチルガラクトサミン (GalNAc) リガンドのクラスターを含む化合物は、ASGP-R に結合して細胞内への当該化合物の取り込みをもたらす能力を有することが示されている。例えば Khorev et al., Bioorganic and Medicinal Chemistry, 16, 9, pp. 5216-5231 (May 2008) を参照されたい。したがって、そのようなGalNAcクラスターを含む共役体が、肝臓細胞、具体的には肝細胞への特定化合物の取り込みを促進するために使用されている。例えば、特定のGalNAc含有共役体は、インビボで肝臓細胞における二重鎖 siRNA 化合物の活性を増加させることが示されている。これらの例では、GalNAc含有共役体は、典型的には、siRNA 位二重鎖のセンス鎖に取り付けられる。センス鎖はアンチセンス鎖が最終的に標的核酸とハイブリダイズする前に処分されてしまうため、共役体が活性を妨害する懸念はほとんどない。典型的には、共役体は、siRNA のセンス鎖の3'端に取り付けられる。例えば米国特許第8,106,022号を参照されたい。本明細書に記載する特定の共役基は、今までに記載された共役基よりも活性が高く、かつ/または合成が容易である。

#### 【0383】

本発明の特定の実施形態において、共役体は、一本鎖アンチセンス化合物、例えば限定するわけではないが、RNAse Hベースのアンチセンス化合物や、プレmRNA 標的核酸のスプライシングを改変するアンチセンス化合物に、取り付けられる。そのような実施形態では、共役体は、利益(細胞内への取り込みの改良)をもたらすのに十分な時間、アンチセンス化合物に取り付けられた状態にあるべきだが、その後は、切断されるか、または他の何らかの形で、活性に必要な後続ステップ、例えば標的核酸へのハイブリダイゼーション及びRNAse Hまたはスプライシングもしくはスプライシング調節に関連する酵素との相互作用などを妨害しないようにすべきである。この性質のバランスは、共役体を単にセンス鎖に取り付けるだけでよい siRNA 化合物の場合よりも、一本鎖アンチセンス化合物の場合に、より一層重要である。本明細書には、共役体を欠く同じアンチセンス化合物と比較して、インビボで肝臓細胞における力価が改良されている共役一本鎖アンチセンス化合物を開示する。これらの化合物に要求される性質のバランスを考えると、そのような力価の改良は驚くべきことである。

#### 【0384】

特定の実施形態において、本明細書における共役基は、切断可能部分を含む。機序に束縛されることは望まないが、上述のように、共役体を取り込みの強化をもたらすのに十分な時間、化合物上に残っているべきであることは必然だが、その後は、共役体の何らかの部分、理想的には共役体の全部が切断されて、親化合物(例えばアンチセンス化合物)をその最も活性な形態で放出することが望ましい。特定の実施形態では、切断可能部分が切断可能なヌクレオシドである。そのような実施形態では、共役体の残りの部分(クラスター)を、1つ以上の切断可能な結合、例えばホスホジエステル連結部のものによって、ヌクレオシドを介してアンチセンスオリゴヌクレオチドに取り付けることにより、細胞中の内在性ヌクレアーゼを利用する。特定の実施形態では、クラスターがホスホジエステル連結部を介して切断可能なヌクレオシドに結合される。特定の実施形態では、切断可能なヌクレオシドが、ホスホジエステル連結部によってアンチセンスオリゴヌクレオチド(アンチセンス化合物)に取り付けられる。特定の実施形態では、共役基が、2つまたは3つの切断可能なヌクレオシドを含みうる。そのような実施形態では、上述の切断可能なヌクレオシドが、切断可能な結合(ホスホジエステル連結部のもの)によって、互いに、アンチセンス化合物に、かつ/またはクラスターに連結される。本明細書における特定の共役体は、切断可能なヌクレオシドを含まず、代わりに切断可能な結合を含む。オリゴヌクレオチドからの共役体の十分な切離は、細胞内で切断を受けやすい少なくとも1つの結合(切断可能な結合)によってもたらされることを示す。

10

20

30

40

50



## 【 0 3 8 5 】

特定の実施形態では、共役アンチセンス化合物がプロドラッグである。そのようなプロドラッグは、動物に投与され、最終的には、より活性な形態に代謝される。例えば共役アンチセンス化合物は切断されることで、共役体の全部または一部を除去し、共役体の全部または一部を欠く活性な（またはより活性な）形態のアンチセンス化合物をもたらす。

## 【 0 3 8 6 】

特定の実施形態では、共役体がオリゴヌクレオチドの 5' 端に取り付けられる。特定のそのような 5' 共役体は、同様の共役基が 3' 端に取り付けられている対応物よりも効率よく切断される。特定の実施形態では、活性の改良が切断の改良と関連しうる。特定の実施形態では、5' 端に共役体を含むオリゴヌクレオチドの有効性が、3' 端に共役体を含むオリゴヌクレオチドの有効性よりも高い（例えば実施例 56、81、83、及び 84 を参照のこと）。さらに、5' への取り付けの方が、簡単なオリゴヌクレオチド合成が可能である。オリゴヌクレオチドは、典型的には、3' → 5' 方向に固体支持体上で合成される。3' 共役オリゴヌクレオチドを作製するには、典型的には、事前に共役基を結合しておいた 3' ヌクレオシドを固体支持体に取り付けてから、オリゴヌクレオチドを通常どおりに構築する。しかし、その共役ヌクレオシドを固体支持体に取り付ける操作は、合成を複雑にする。さらに、このアプローチを使用した場合、共役体は、オリゴヌクレオチドの合成の間ずっと存在することになり、後続のステップ中に分解されてしまうか、使用できる反応と試薬の種類を制限することになりうる。5' 共役オリゴヌクレオチドについて本明細書に記載する構造及び技法を用いることにより、標準的な自動化された技法を使ってオリゴヌクレオチドを合成し、最後（最も 5' 側）のヌクレオシドと共に共役体を導入するか、またはオリゴヌクレオチドを固体支持体から切り離してから共役体を導入することができる。

## 【 0 3 8 7 】

当分野の技術水準及び本開示を考慮すれば、当業者は、本明細書の共役体及び共役オリゴヌクレオチドをどれでも容易に作製することができる。さらに、本明細書に開示する特定のそのような共役体及び共役オリゴヌクレオチドの合成は、これまでに開示されていた共役体の合成よりも容易であり、かつ／または必要とするステップ数が少なく、それゆえに安価に行うことができるので、それらは製造上の利点になる。例えば、特定の共役基の合成は、これまでに記載された共役基と比較して、より少ない合成ステップからなり、収率の増加をもたらす。実施例 46 の G a l N A c 3 - 10 及び実施例 48 の G a l N A c 3 - 7 などの共役基は、既述の共役体、例えば、より多くの化学中間体の組み立てを必要とする U . S . 8 , 1 0 6 , 0 2 2 または U . S . 7 , 2 6 2 , 1 7 7 に記載されているものよりも、はるかに簡単である。したがって、本明細書に記載するこれらの共役体及び他の共役体には、一本鎖オリゴヌクレオチドや二本鎖オリゴヌクレオチド（例えば s i R N A ）のどちらかの鎖などといった任意のオリゴヌクレオチドと一緒に使用する際に、既述の化合物に優る利点がある。

## 【 0 3 8 8 】

同様に、G a l N A c リガンドを 1 つまたは 2 つしか持たない共役基も、本明細書に開示する。ここに示すように、そのような共役基は、アンチセンス化合物の活性を改良する。そのような化合物は、3 つの G a l N A c リガンドを含む共役体よりも、調製がはるかに容易である。1 つまたは 2 つの G a l N A c リガンドを含む共役基は、一本鎖オリゴヌクレオチドや二本鎖オリゴヌクレオチド（例えば s i R N A ）のどちらかの鎖などといった任意のアンチセンス化合物に取り付けることができる。

## 【 0 3 8 9 】

特定の実施形態では、本明細書の共役体が、耐容性の特定尺度を、実質的に変化させない。例えば、共役アンチセンス化合物の免疫原性は非共役親化合物より高くないことを、本明細書において示す。力価が改良されるので、耐容性が同じままである実施形態は（あるいは実際には力価の増加分と比較して耐容性が少しだけ悪化したとしても）、治療に関して改良された性質を有する。

## 【 0 3 9 0 】

特定の実施形態では、共役により、共役がなければ結果があまり思わしくないような方法で、アンチセンス化合物を改変することが可能になる。例えば、特定の実施形態では、全ホスホロチオエートアンチセンス化合物の1つ以上のホスホロチオエート連結部を、ホスホジエステル連結基で置き換えることにより、一部の耐容性尺度の改良が起こる。例えば、特定の事例では、1つ以上のホスホジエステルを有するそのようなアンチセンス化合物は、各連結部がホスホロチオエートである同じ化合物よりも、免疫原性が低い。しかし、特定の事例では、実施例26に示すように、1つ以上のホスホロチオエート連結部をホスホジエステル連結部で置き換えると、細胞取り込みの低減及び/または力価の損失も起こる。特定の実施形態において、本明細書に記載する共役アンチセンス化合物は、共役全ホスホロチオエート対応物と比較して、取り込み及び力価をほとんどまたは全く失うことなく、そのような連結部の改変を許容する。事実、特定の実施形態では、例えば実施例44、57、59、及び86では、共役体と少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部とを含むオリゴヌクレオチドが、同様に同じ共役体を含む全ホスホロチオエート対応物と比較した場合でさえ、実際に、インビボで力価の増加を呈する。さらに、共役が取り込み/力価の実質的な増加をもたらすので、その実質的な増加分が少し失われても、耐容性の改良を達成するという目的には、許容できる。したがって、特定の実施形態では、共役アンチセンス化合物が、少なくとも1つのホスホジエステル連結部を含む。

#### 【0391】

特定の実施形態では、本明細書におけるアンチセンス化合物の共役が、肝細胞における送達、取り込み、及び活性の増加をもたらす。したがって、より多くの化合物が肝臓組織に送達される。しかし、特定の実施形態では、そのような送達の増加だけでは、活性の増加全体を説明できない。特定のそのような実施形態では、より多くの化合物が肝細胞に進入する。特定の実施形態では、そのような肝細胞取り込みの増加でも、活性の増加全体を説明することができない。そのような実施形態では、共役化合物の生産的取り込みが増加する。例えば、実施例102に示すように、GalNAc含有共役体の特定実施形態は、非実質細胞との対比で肝細胞におけるアンチセンスオリゴヌクレオチドの濃縮を増加させる。この濃縮は、肝細胞中で発現する遺伝子を標的とするオリゴヌクレオチドにとって有益である。

#### 【0392】

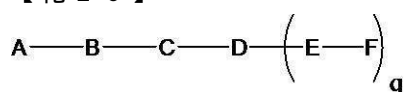
特定の実施形態では、本明細書における共役アンチセンス化合物が、腎臓曝露の低減をもたらす。例えば、実施例20に示すように、GalNAc含有共役体の特定実施形態を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドの濃度は、腎臓では、GalNAc含有共役体を欠くアンチセンスオリゴヌクレオチドの濃度より低い。これは、いくつかの有益な治療的意味を有する。腎臓における活性が求められていない治療的適応の場合、腎臓への曝露には、腎毒性のリスクがあり、それに見合う利益がない。さらに、腎臓における高濃度は、典型的には、尿への化合物の損失をもたらす、その結果、クリアランスが速くなる。したがって、標的が腎臓でない場合、腎臓内での蓄積は望ましくない。

#### 【0393】

特定の実施形態において、本開示は、式：

#### 【0394】

#### 【化26】



[式中、

Aは、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

Bは、切断可能部分であり、

Cは、共役リンカーであり、

Dは、分岐基であり、

各Eは、テザーであり、

10

20

30

40

50

各 F は、リガンドであり、かつ

q は、1 ～ 5 の整数である ]

によって表される共役アンチセンス化合物を提供する。

【 0 3 9 5 】

本明細書における上記の図及び同様の図において、分岐基「D」は、「q」で示される数の ( E - F ) 基に対応するのに必要な数だけ分岐している。したがって、q = 1 の場合、前記の式は、

【 0 3 9 6 】

【 化 2 7 】

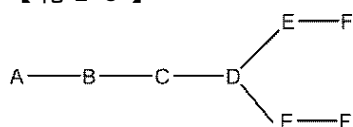


10

であり、q = 2 の場合、前記の式は、

【 0 3 9 7 】

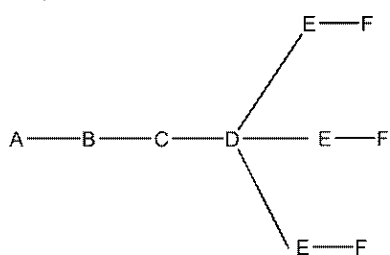
【 化 2 8 】



であり、q = 3 の場合、前記の式は

【 0 3 9 8 】

【 化 2 9 】

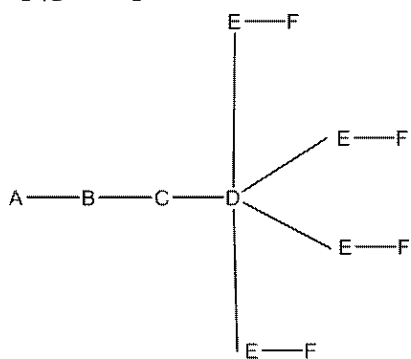


20

であり、q = 4 の場合、前記の式は

【 0 3 9 9 】

【 化 3 0 】



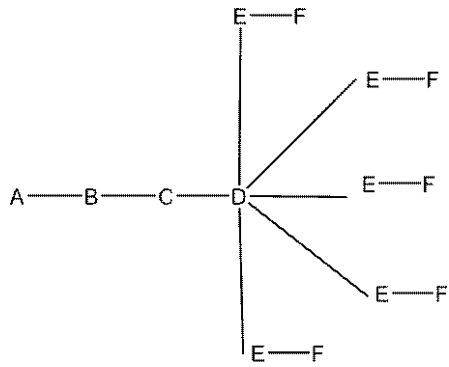
30

であり、q = 5 の場合、前記の式は

【 0 4 0 0 】

40

## 【化 3 1】



10

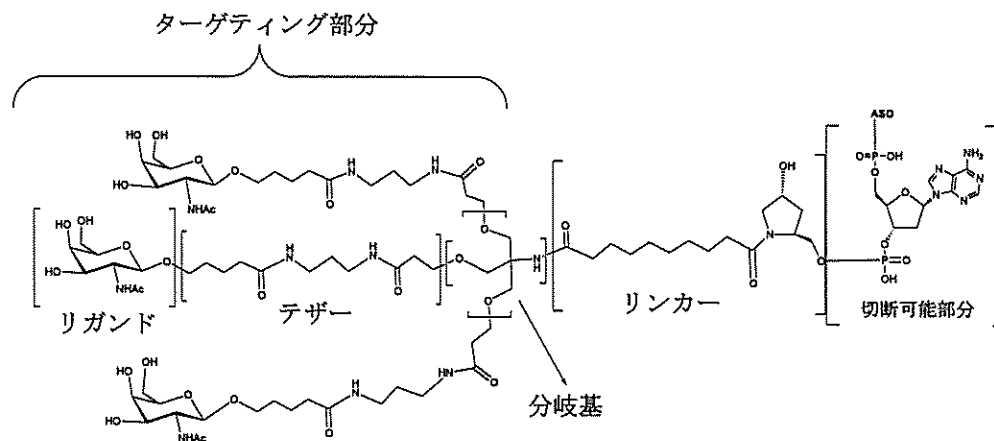
である。

## 【 0 4 0 1】

特定の実施形態では、次の構造を有する共役アンチセンス化合物が提供される。

## 【 0 4 0 2】

## 【化 3 2】



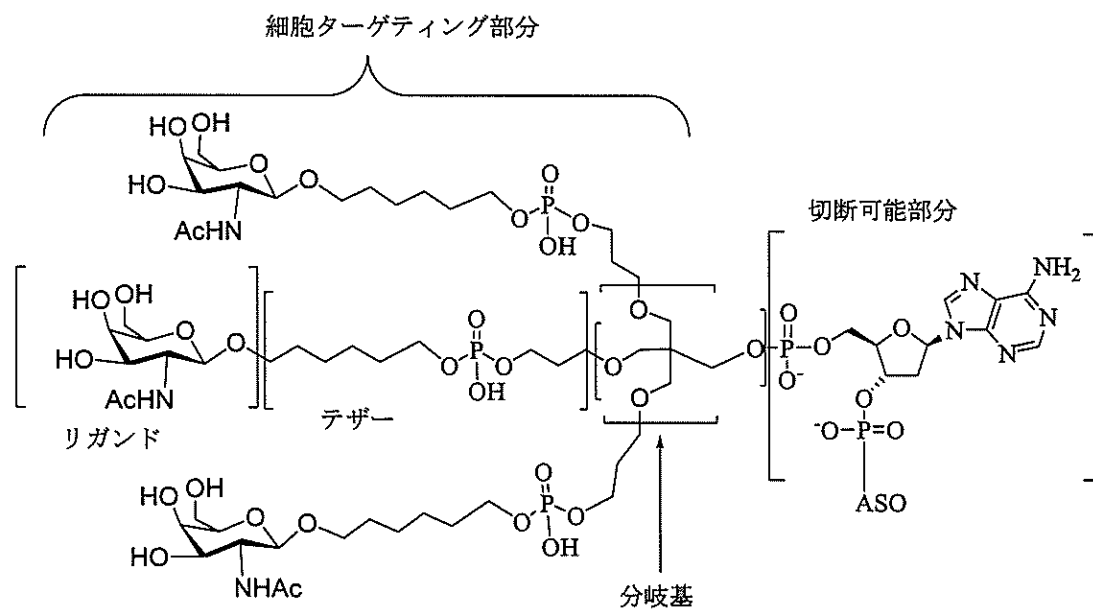
20

## 【 0 4 0 3】

特定の実施形態では、次の構造を有する共役アンチセンス化合物が提供される。

## 【 0 4 0 4】

## 【化 3 3】



40

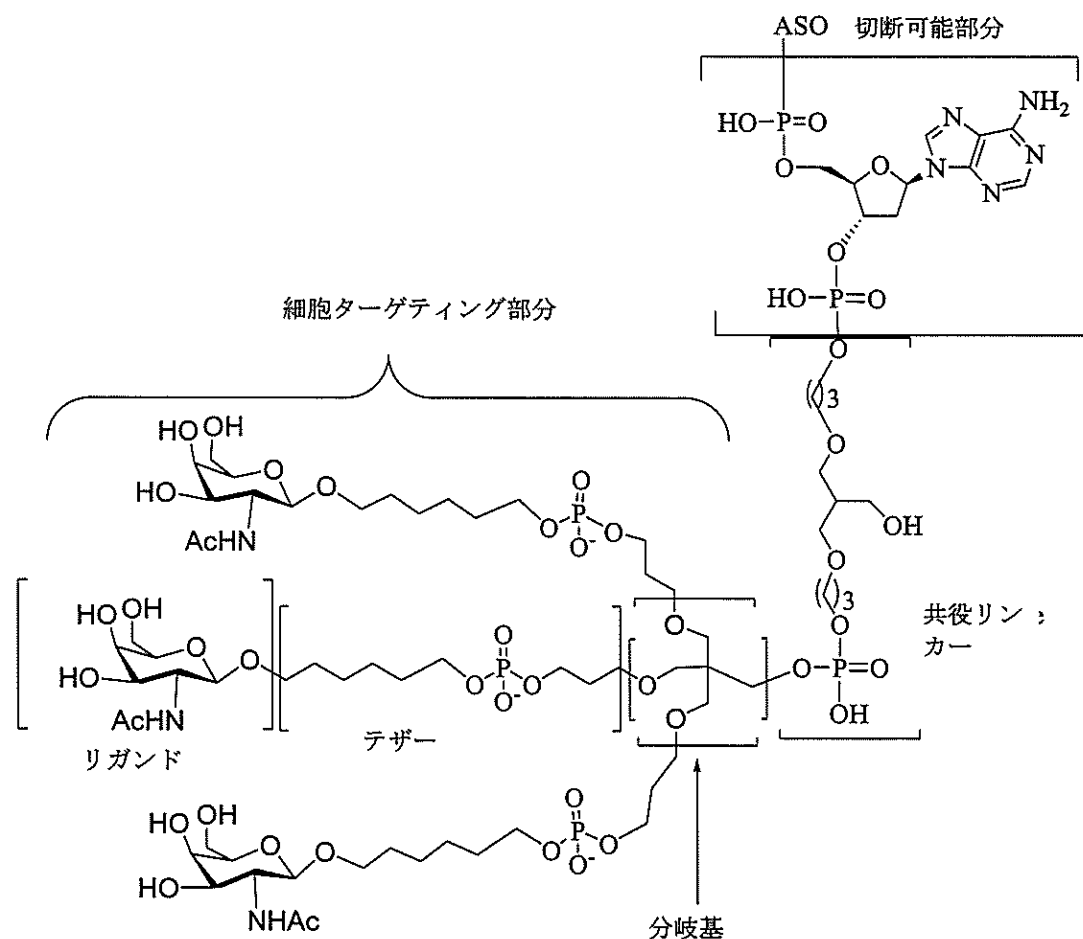
50

【 0 4 0 5 】

特定の実施形態では、次の構造を有する共役アンチセンス化合物が提供される。

【 0 4 0 6 】

【 化 3 4 】



【 0 4 0 7 】

特定の実施形態では、次の構造を有する共役アンチセンス化合物が提供される。

【 0 4 0 8 】

10

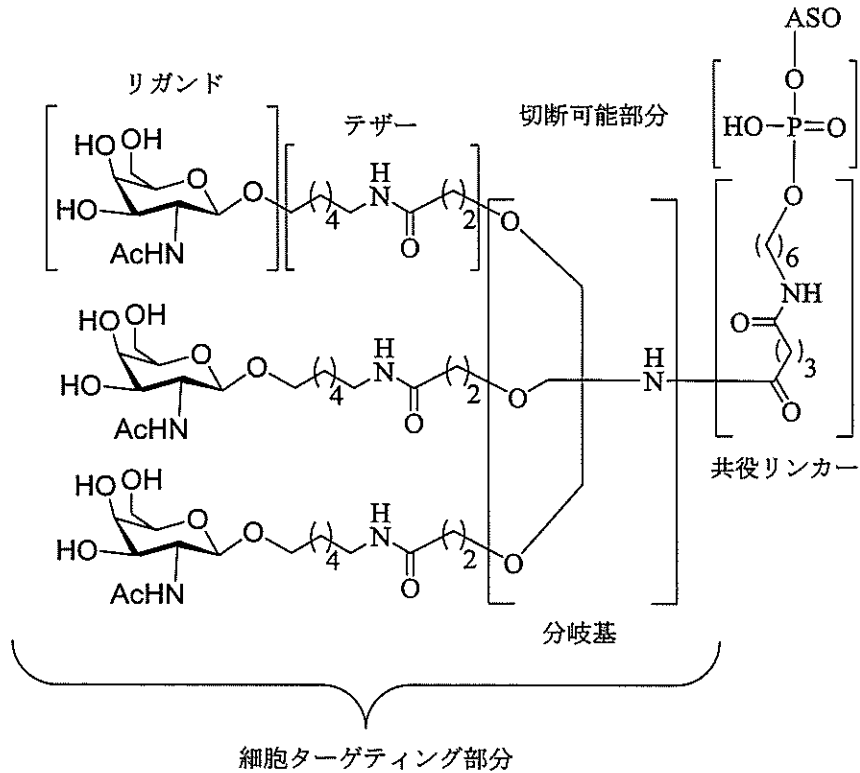
20

30

40

50

## 【化 3 5】



10

20

## 【 0 4 0 9 】

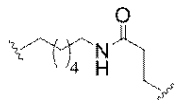
本開示は、非限定的な以下の番号付き実施形態を提供する。

## 【 0 4 1 0 】

実施形態 1 . テザーが、

## 【 0 4 1 1 】

## 【化 3 6】

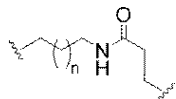


30

または

## 【 0 4 1 2 】

## 【化 3 7】



40

[ 式中、各 n は、独立して、0、1、2、3、4、5、6、または 7 である ]

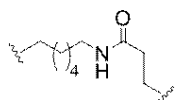
から選択される構造を有する、実施形態 1 1 7 9 ~ 1 1 8 2 のいずれかの共役アンチセンス化合物。

## 【 0 4 1 3 】

実施形態 2 . テザーが、構造：

## 【 0 4 1 4 】

## 【化 3 8】



50

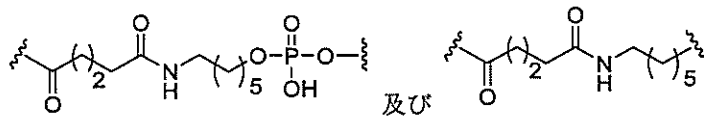
を有する、実施形態 1 1 7 9 ~ 1 1 8 2 のいずれかの共役アンチセンス化合物。

【 0 4 1 5 】

実施形態 3 . リンカーが

【 0 4 1 6 】

【 化 3 9 】



10

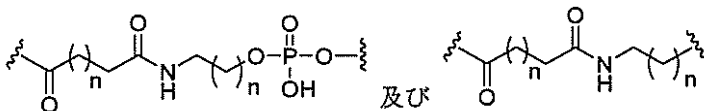
から選択される構造を有する、実施形態 1 1 7 9 ~ 1 1 8 2 または 1 6 8 8 ~ 1 6 8 9 のいずれかの共役アンチセンス化合物。

【 0 4 1 7 】

実施形態 4 . リンカーが

【 0 4 1 8 】

【 化 4 0 】



20

[ 式中、各 n は、独立して、0、1、2、3、4、5、6、または 7 である ]

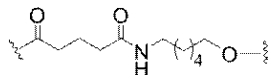
から選択される構造を有する、実施形態 1 1 7 9 ~ 1 1 8 2 または 1 6 8 8 ~ 1 6 8 9 のいずれかの共役アンチセンス化合物。

【 0 4 1 9 】

実施例 5 . リンカーが構造 :

【 0 4 2 0 】

【 化 4 1 】



30

を有する、実施形態 1 1 7 9 ~ 1 1 8 2 または 1 6 8 8 ~ 1 6 8 9 のいずれかの共役アンチセンス化合物。

【 0 4 2 1 】

ある特定変数を 2 つ以上 (例えば 2 つ以上の「m」または 2 つ以上の「n」を) 有する実施形態では、別段の表示がある場合を除き、そのような特定変数のそれぞれは、独立して選択される。したがって、2 つ以上の n を有する構造の場合、各 n は独立して選択されるため、それらは互いに同一である場合も、同一でない場合もありうる。

【 0 4 2 2 】

i . 特定の切断可能部分

特定の実施形態において、切断可能部分は、切断可能な結合である。特定の実施形態において、切断可能部分は、切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、共役基は、切断可能部分を含む。特定のそのような実施形態において、切断可能部分は、アンチセンスオリゴヌクレオチドに結合する。特定のそのような実施形態において、切断可能部分は、細胞ターゲティング部分に直接結合する。特定のそのような実施形態において、切断可能部分は、共役リンカーに結合する。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスフェートまたはホスホジエステルを含む。特定の実施形態において、切断可能部分は、切断可能なヌクレオシドまたはヌクレオシド類似体である。特定の実施形態において、ヌクレオシドまたはヌクレオシド類似体は、プリン、置換プリン、ピリミジン、または置換ピリミジンから選択される場合によっては保護された複素環式塩基を含む。特定の実施形態において、切断可能部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4 - N - ベンゾイルシトシン、5

40

50

- メチルシトシン、4 - N - ベンゾイル - 5 - メチルシトシン、アデニン、6 - N - ベンゾイルアデニン、グアニン、及び 2 - N - イソブチリルグアニンから選択される、場合によっては保護された複素環式塩基を含むヌクレオシドである。特定の実施形態では、切断可能部分が、ホスホジエステル連結部によってアンチセンスオリゴヌクレオチドの 3' 位に取り付けられ、かつホスホジエステルまたはホスホロチオエート連結部によってリンカーに取り付けられた 2' - デオキシヌクレオシドである。特定の実施形態では、切断可能部分が、ホスホジエステル連結部によってアンチセンスオリゴヌクレオチドの 3' 位に取り付けられ、かつホスホジエステルまたはホスホロチオエート連結部によってリンカーに取り付けられた 2' - デオキシアデノシンである。特定の実施形態では、切断可能部分が、ホスホジエステル連結部によってアンチセンスオリゴヌクレオチドの 3' 位に取り付けられ、かつホスホジエステル連結部によってリンカーに取り付けられた 2' - デオキシアデノシンである。

10

#### 【0423】

特定の実施形態において、切断可能部分は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの 3' 位に取り付けられる。特定の実施形態において、切断可能部分は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの 5' 位に取り付けられる。特定の実施形態において、切断可能部分は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの 2' 位に取り付けられる。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル連結部によってアンチセンスオリゴヌクレオチドに取り付けられる。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル連結部またはホスホロチオエート連結部のいずれかによってリンカーに取り付けられる。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル連結部によってリンカーに取り付けられる。特定の実施形態において、共役基は、切断可能部分を含まない。

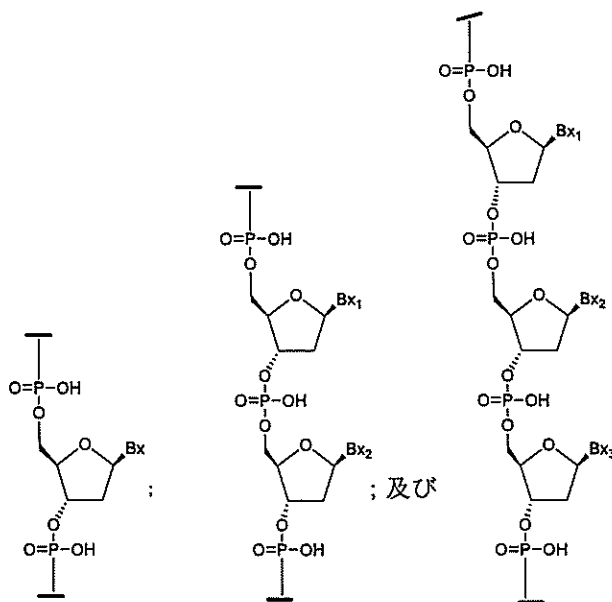
20

#### 【0424】

特定の実施形態において、切断可能部分は、複合体が動物に投与された後に、標的細胞によって内部に取り込まれて初めて切断される。細胞内で切断可能部分が切断され、それによって活性アンチセンスオリゴヌクレオチドが放出される。理論に束縛されることは望まないが、切断可能部分は細胞内で 1 つ以上のヌクレアーゼによって切断されると考えられる。特定の実施形態では、1 つ以上のヌクレアーゼが切断可能部分とリンカーとの間のホスホジエステル連結部を切断する。特定の実施形態において、切断可能部分は、以下

#### 【0425】

#### 【化 4 2】



40

のなかから選択される構造を有し、

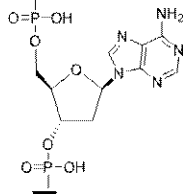
50



式中、 $B \times$ 、 $B \times 1$ 、 $B \times 2$ 、及び $B \times 3$ のそれぞれは、独立して複素環式塩基部分である。特定の実施形態において、切断可能部分は以下のなかから選択される構造を有する。

【0426】

【化43】



【0427】

i i . 特定のリンカー

特定の実施形態において、共役基は、リンカーを含む。特定のそのような実施形態において、リンカーは、切断可能部分に共有結合される。特定のそのような実施形態において、リンカーは、アンチセンスオリゴヌクレオチドに共有結合される。特定の実施形態において、リンカーは、細胞ターゲティング部分に共有結合される。特定の実施形態において、リンカーは、固体支持体への共有結合をさらに含む。特定の実施形態において、リンカーは、タンパク質結合部分への共有結合をさらに含む。特定の実施形態において、リンカーは、固体支持体への共有結合をさらに含み、タンパク質結合部分への共有結合もさらに含む。特定の実施形態において、リンカーは、係留される ( tethered ) リガンドを取り付けるための位置を複数含んでいる。特定の実施形態において、リンカーは、係留されるリガンドを取り付けるための位置を複数含み、分岐基には取り付けられない。特定の実施形態において、リンカーは、1つ以上の切断可能な結合をさらに含む。特定の実施形態において、共役基は、リンカーを含まない。

【0428】

特定の実施形態において、リンカーは、アルキル、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル ( - S - )、及びヒドロキシルアミノ ( - O - N ( H ) - ) 基から選択される基を含む線状基を少なくとも1つは含む。特定の実施形態において、前記線状基は、アルキル、アミド、及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、前記線状基は、アルキル及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、前記線状基は、少なくとも1つのリン連結基を含む。特定の実施形態において、前記線状基は、少なくとも1つのホスホジエステル基を含む。特定の実施形態において、前記線状基は、少なくとも1つの中性連結基を含む。特定の実施形態において、前記線状基は、細胞ターゲティング部分及び切断可能部分に共有結合される。特定の実施形態において、前記線状基は、細胞ターゲティング部分及びアンチセンスオリゴヌクレオチドに共有結合される。特定の実施形態において、前記線状基は、細胞ターゲティング部分、切断可能部分、及び固体支持体に共有結合される。特定の実施形態において、前記線状基は、細胞ターゲティング部分、切断可能部分、固体支持体、及びタンパク質結合部分に共有結合される。特定の実施形態において、前記線状基は、1つ以上の切断可能な結合を含む。

【0429】

特定の実施形態において、リンカーは、足場基に共有結合された線状基を含む。特定の実施形態において、前記足場は、アルキル、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、及びヒドロキシルアミノ基から選択される基を含む分岐状脂肪族基を含む。特定の実施形態において、前記足場は、アルキル、アミド、及びエーテル基から選択される基を含む分岐状脂肪族基を含む。特定の実施形態において、前記足場は、少なくとも1つの単環式または多環式環系を含む。特定の実施形態において、前記足場は、少なくとも2つの単環式または多環式環系を含む。特定の実施形態では、線状基が足場基に共有結合され、足場基は切断可能部分及びリンカーに共有結合される。特定の実施形態では、線状基が足場基に共有結合され、足場基は、切断可能部分、リンカー、及び

10

20

30

40

50

固体支持体に共有結合される。特定の実施形態では、線状基が足場基に共有結合され、足場基は、切断可能部分、リンカー、及びタンパク質結合部分に共有結合される。特定の実施形態では、線状基が足場基に共有結合され、足場基は、切断可能部分、リンカー、タンパク質結合部分、及び固体支持体に共有結合される。特定の実施形態において、前記足場基は1つ以上の切断可能な結合を含む。

【0430】

特定の実施形態において、リンカーは、タンパク質結合部分を含む。特定の実施形態において、タンパク質結合部分は脂質、例えば限定するわけではないが、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、1-ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、1,3-ビス-O(ヘキサデシル)グリセロール、グラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、1,3-プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、O3-(オレオイル)リトコール酸、O3-(オレオイル)コレン酸、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジン)、ビタミン(例えば葉酸塩、ビタミンA、ビタミンE、ピオチン、ピリドキサル)、ペプチド、炭水化物(例えば単糖、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖、多糖)、エンドソーム溶解成分、ステロイド(例えばウバオール、ヘシゲニン、ジオスゲニン)、テルペン(例えばトリテルペン、例えば、サルササポゲニン、フリーデリン、エピフリーデラノール誘導体化リトコール酸)、またはカチオン性脂質を含むが、これらに限定されない。特定の実施形態において、タンパク質結合部分は、C16~C22長鎖飽和もしくは不飽和脂肪酸、コレステロール、コール酸、ビタミンE、アダマンタン、または1-ペンタフルオロプロピルである。

【0431】

特定の実施形態において、リンカーは、以下のなかから選択される構造を有し、

【0432】

10

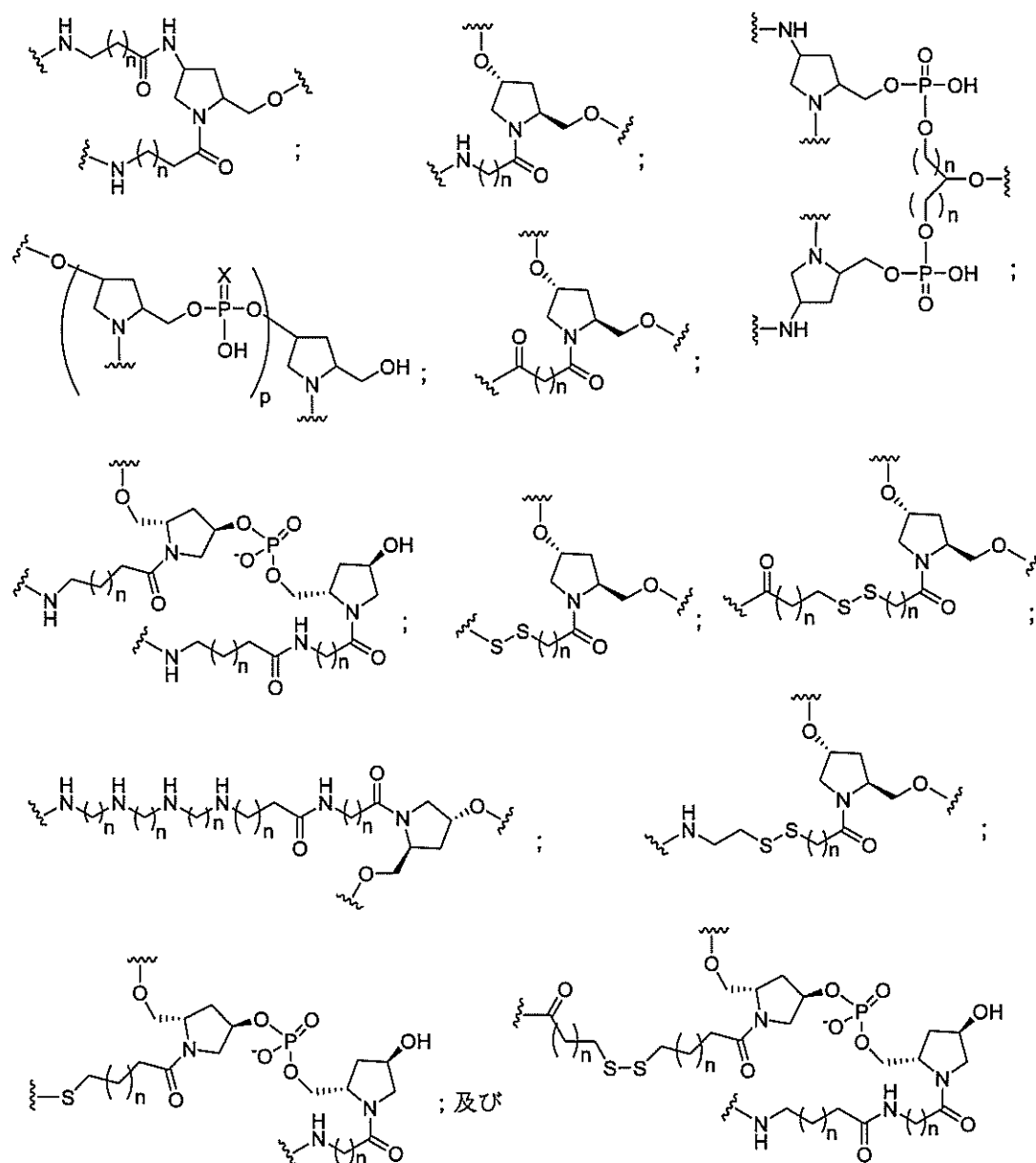
20

30

40

50

## 【化 4 4】



式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 であり、 $p$  は、1 ~ 6 である。

## 【0 4 3 3】

特定の実施形態において、リンカーは、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【0 4 3 4】

10

20

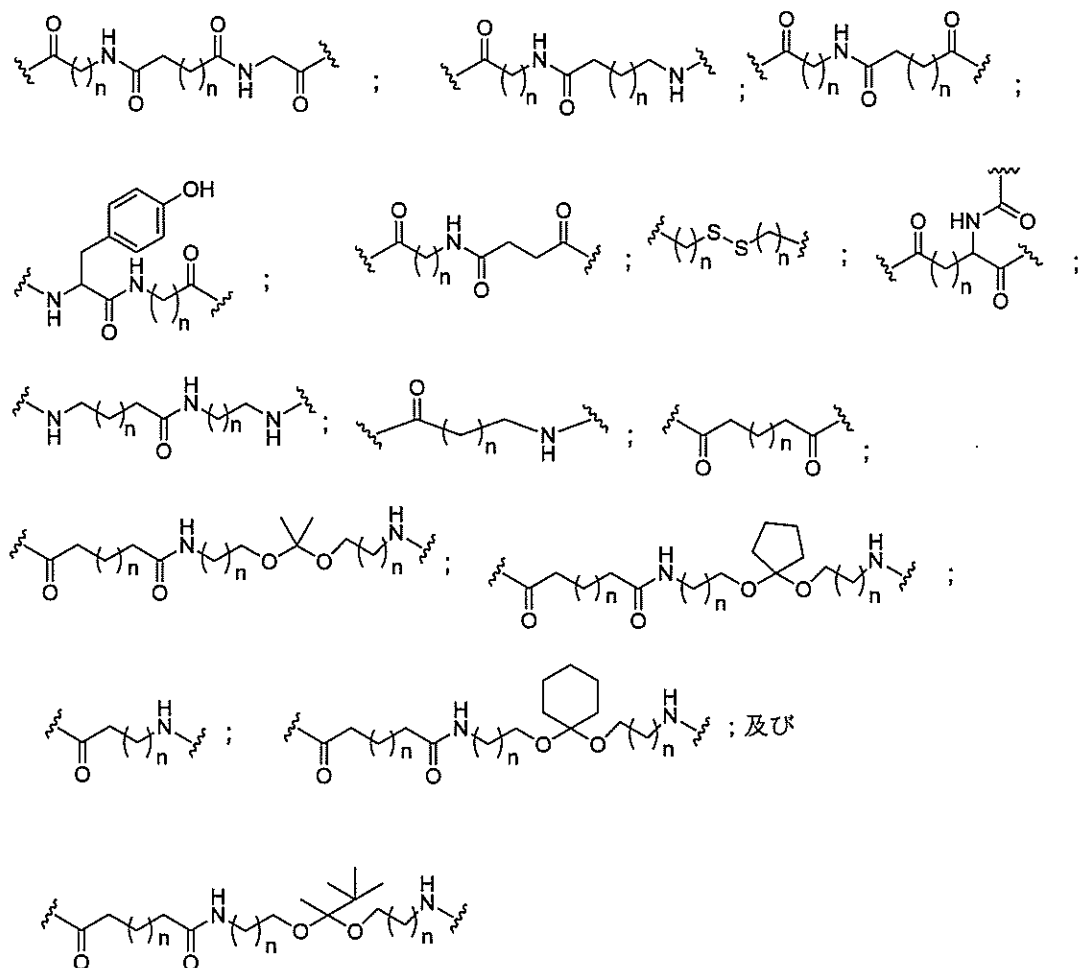
30

40

50



## 【化 4 6】



10

20

式中、 $n$ は、1～20である。

## 【0437】

特定の実施形態において、リンカーは、以下のなかから選択される構造を有し、

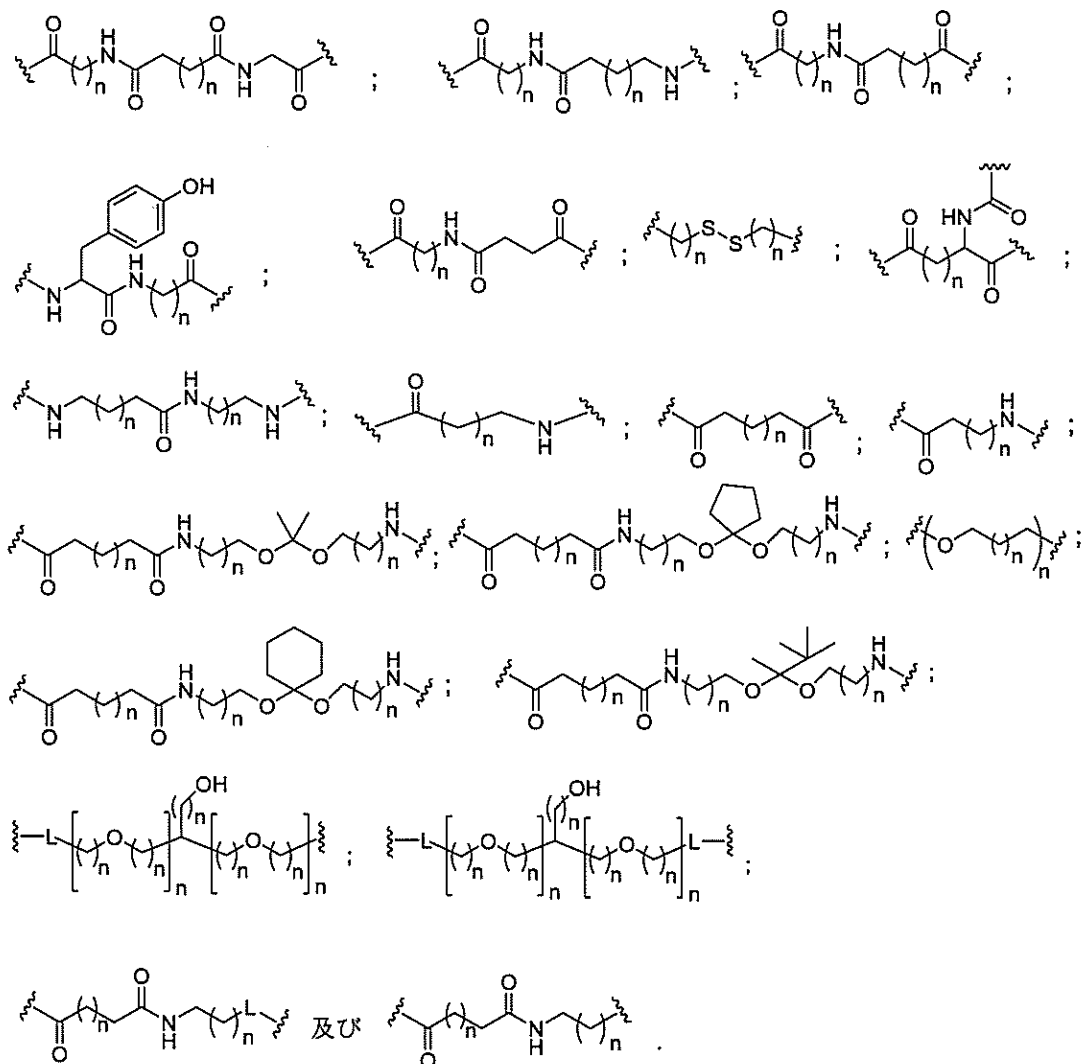
## 【0438】

30

40

50

## 【化 4 7】



10

20

30

式中、各  $L$  は、独立して、リン連結基または中性連結基であり、  
各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 である。

## 【0439】

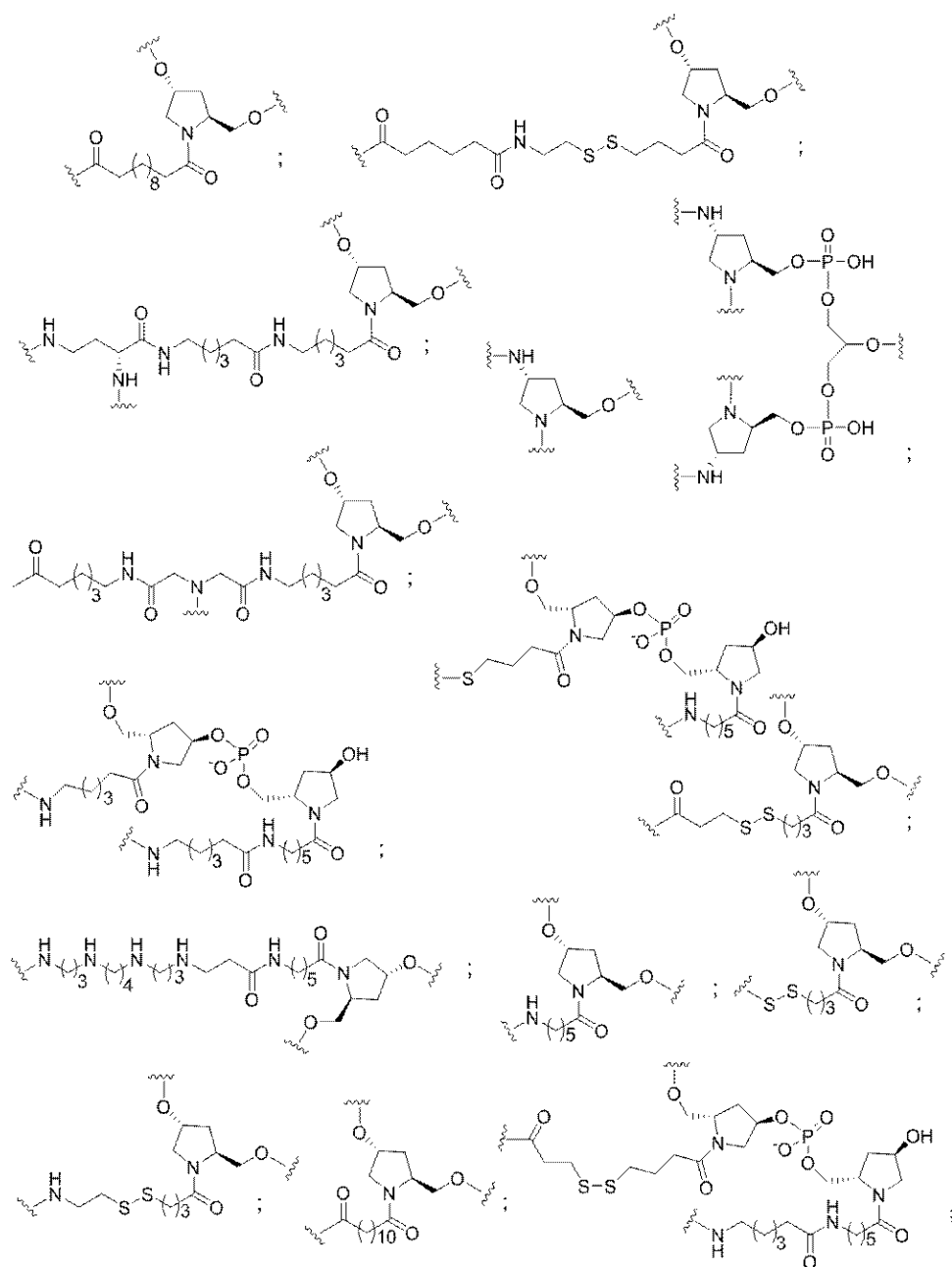
特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【0440】

40

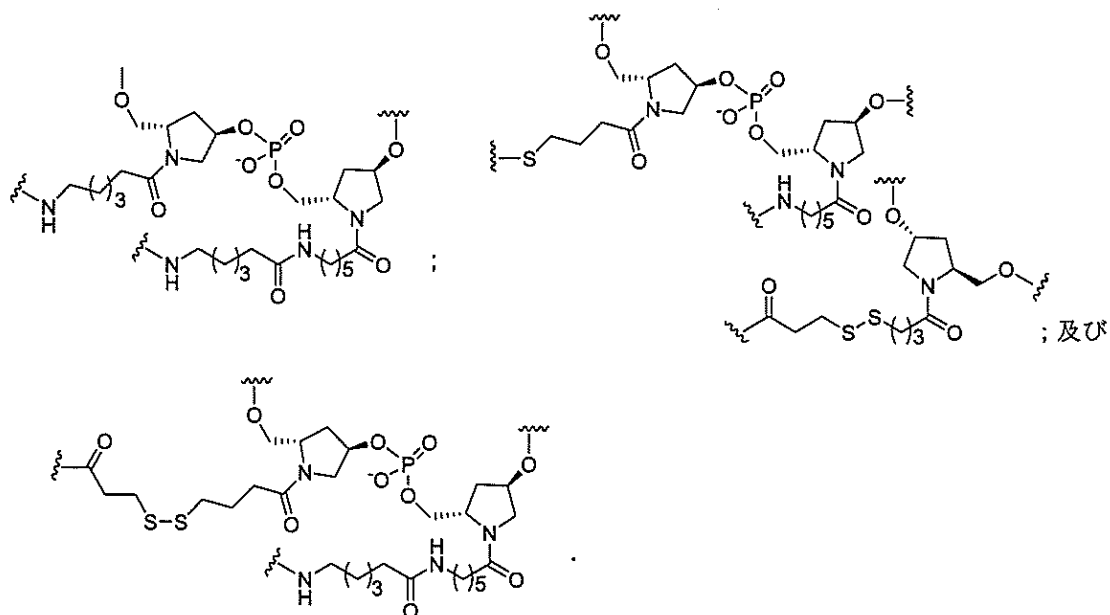
50

【化 4 8】



【 0 4 4 1】

## 【化 4 9】



10

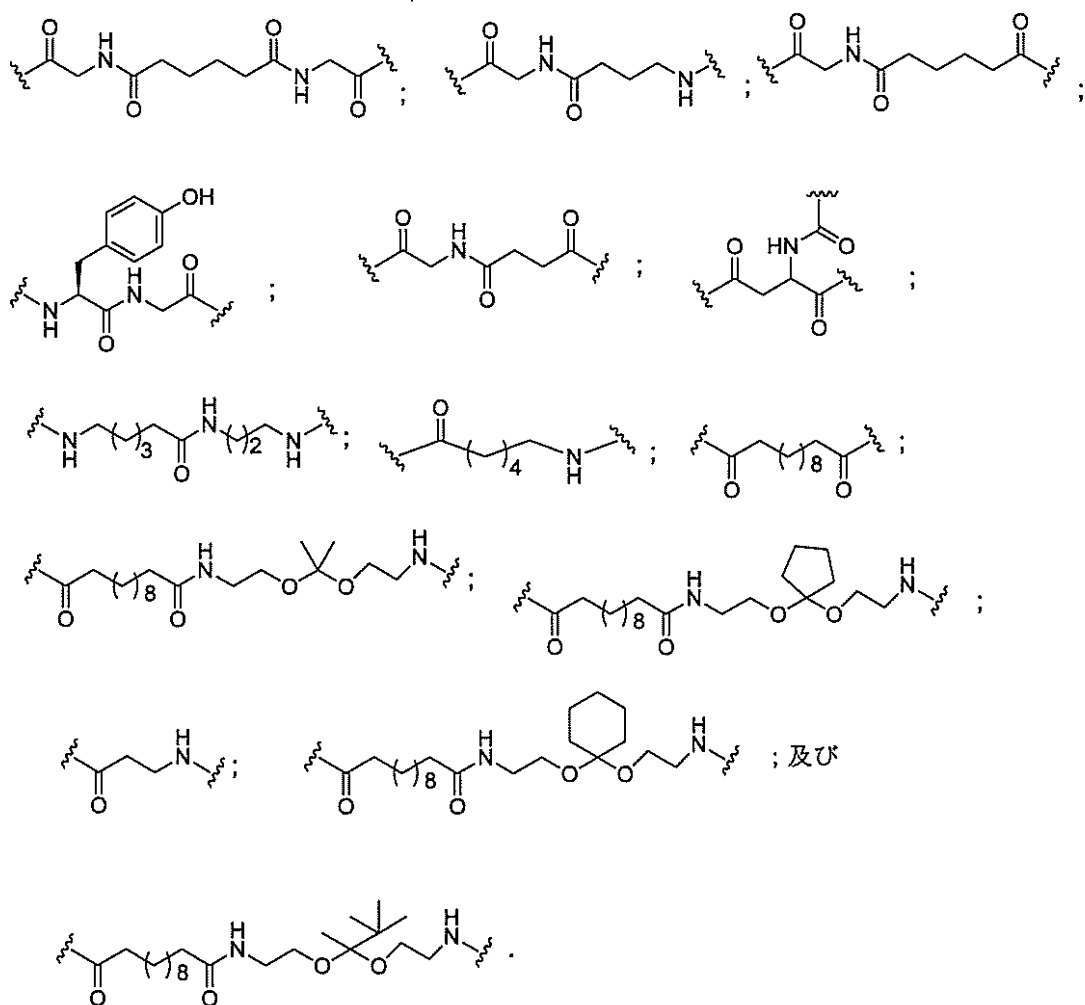
## 【 0 4 4 2】

特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

20

## 【 0 4 4 3】

## 【化 5 0】



30

40

50

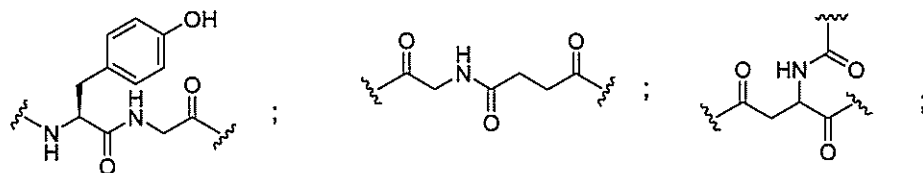
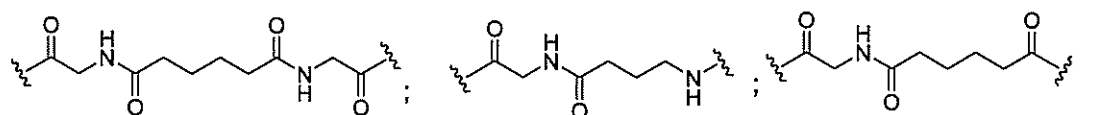


【 0 4 4 4 】

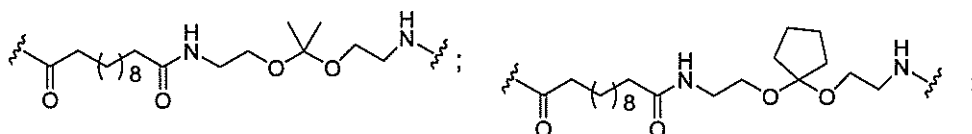
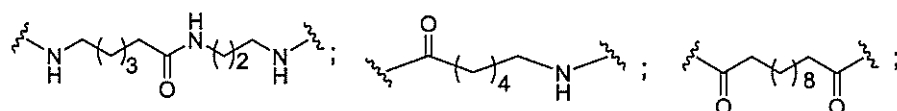
特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

【 0 4 4 5 】

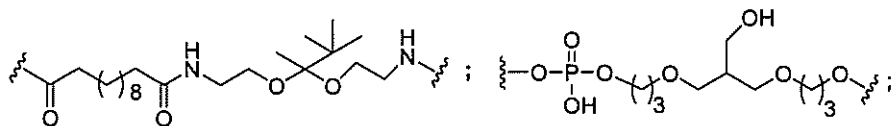
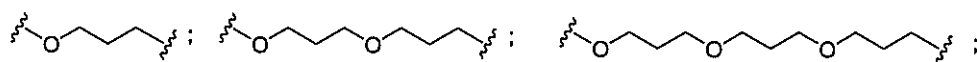
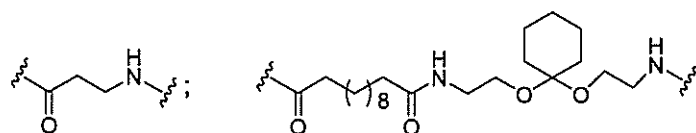
【 化 5 1 】



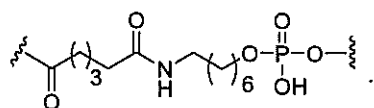
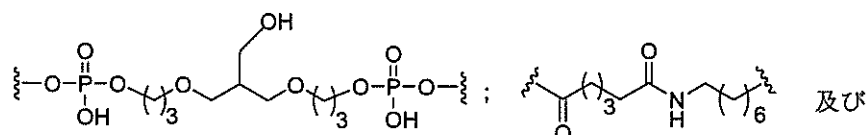
10



20



30



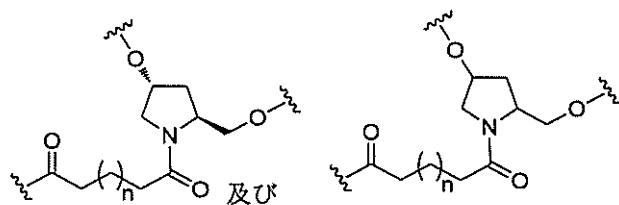
40

【 0 4 4 6 】

特定の実施形態において、リンカーは、以下のなかから選択される構造を有し、

【 0 4 4 7 】

## 【化 5 2】



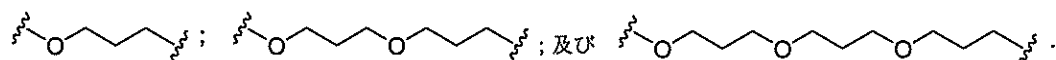
式中、 $n$  は、1 ~ 20 である。

## 【0448】

特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【0449】

## 【化 5 3】

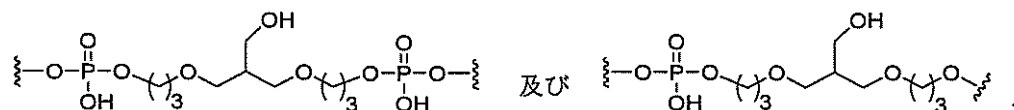


## 【0450】

特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【0451】

## 【化 5 4】

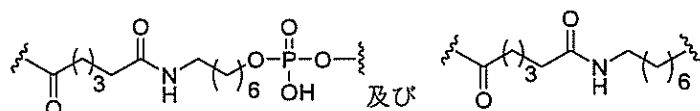


## 【0452】

特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【0453】

## 【化 5 5】

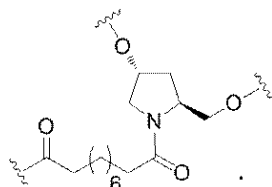


## 【0454】

特定の実施形態において、共役リンカーは以下の構造を有する。

## 【0455】

## 【化 5 6】

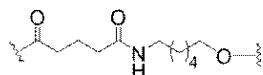


## 【0456】

特定の実施形態において、共役リンカーは以下の構造を有する。

## 【0457】

## 【化 5 7】



## 【0458】

10

20

30

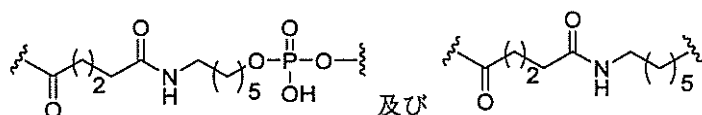
40

50

特定の実施形態において、リンカーは以下のなかから選択される構造を有する。

【0459】

【化58】

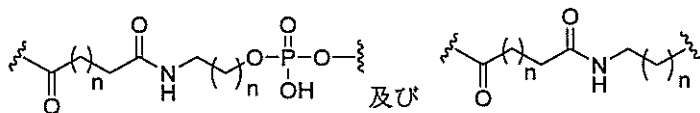


【0460】

特定の実施形態において、リンカーは、以下のなかから選択される構造を有し、

【0461】

【化59】



式中、各 n は、独立して、0、1、2、3、4、5、6、または7である。

【0462】

i i i . 特定の細胞ターゲティング部分

特定の実施形態において、共役基は、細胞ターゲティング部分を含む。特定のそのような細胞ターゲティング部分は、アンチセンス化合物の細胞取り込みを増加させる。特定の実施形態において、細胞ターゲティング部分は、分岐基、1つ以上のテザー、及び1つ以上のリガンドを含む。特定の実施形態において、細胞ターゲティング部分は、分岐基、1つ以上のテザー、1つ以上のリガンド、及び1つ以上の切断可能な結合を含む。

1 . 特定の分岐基

【0463】

特定の実施形態において、共役基は、分岐基及び少なくとも2つのテザーリガンドを含むターゲティング部分を含む。特定の実施形態において、分岐基は、共役リンカーを結合する。特定の実施形態において、分岐基は、切断可能部分を結合する。特定の実施形態において、分岐基は、アンチセンスオリゴヌクレオチドを結合する。特定の実施形態において、分岐基は、リンカー及びテザーリガンドのそれぞれに共有結合される。特定の実施形態において、分岐基は、アルキル、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル及びヒドロキシルアミノ基から選択される基を含む分岐状脂肪族基を含む。特定の実施形態において、分岐基は、アルキル、アミド、及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、分岐基は、アルキル及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、分岐基は、単環式または多環式環系を含む。特定の実施形態において、分岐基は、1つ以上の切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、共役基は、分岐基を含まない。

【0464】

特定の実施形態において、分岐基は、以下のなかから選択される構造を有し、

【0465】

10

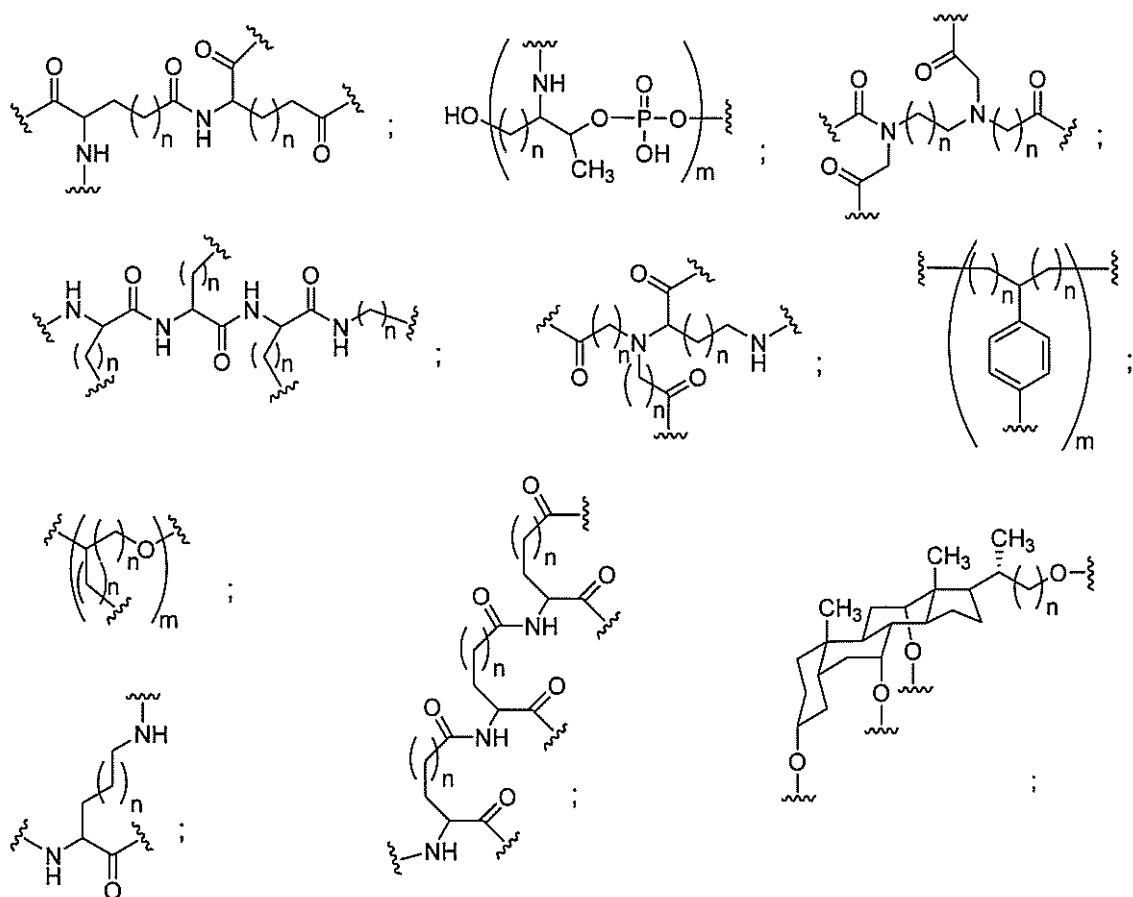
20

30

40

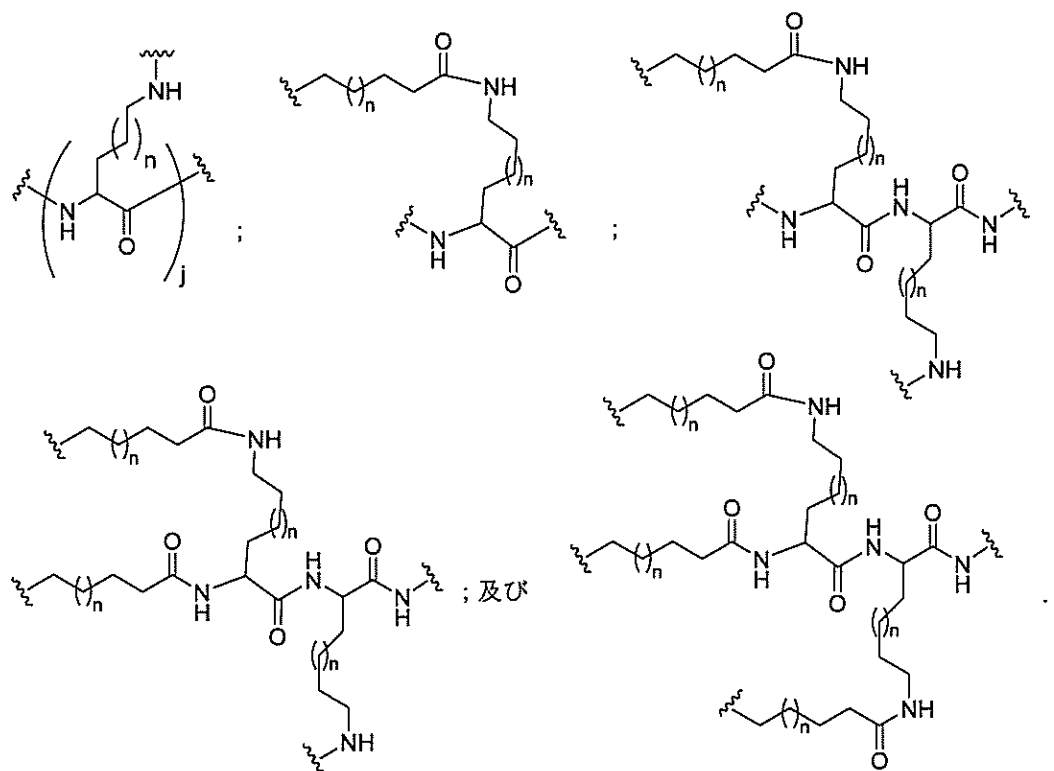
50

## 【化 6 0】



## 【 0 4 6 6】

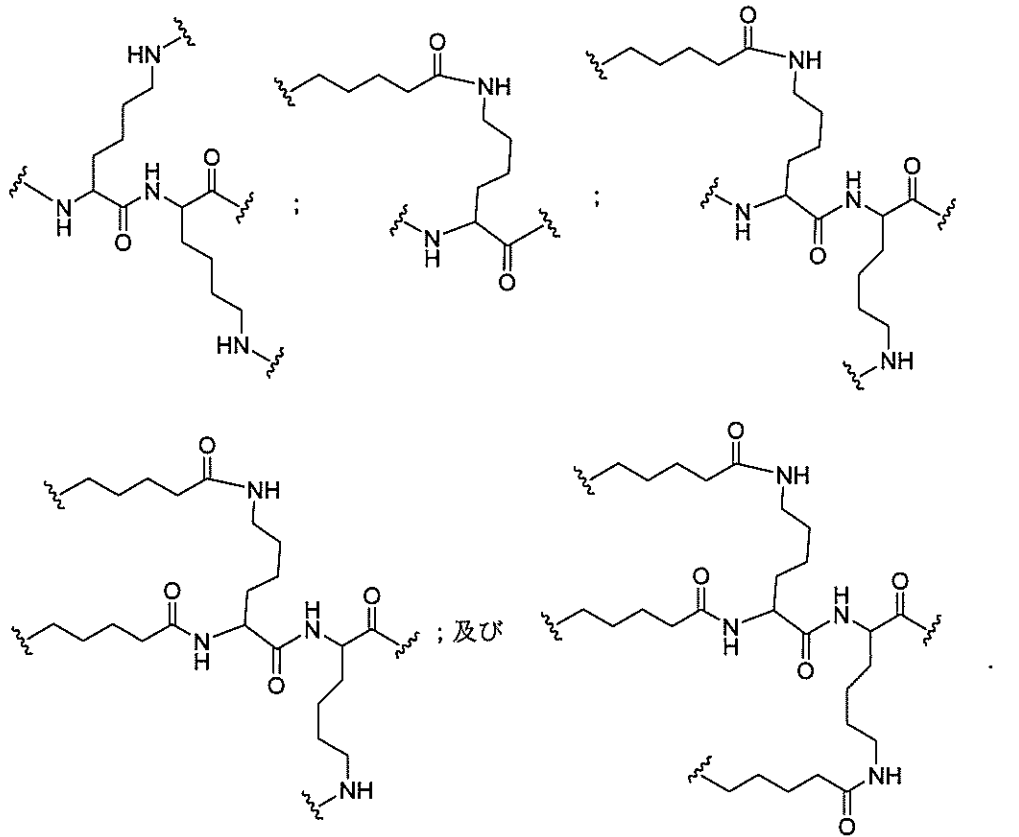
## 【化 6 1】



式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 であり、



## 【化 6 4】



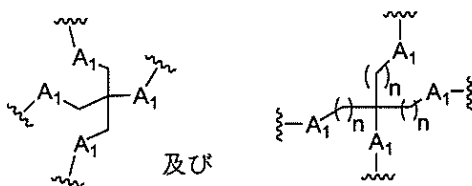
10

## 【 0 4 7 2】

特定の実施形態において、分岐基は、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【 0 4 7 3】

## 【化 6 5】



30

式中、各  $A_1$  は、独立して、O、S、C=O、またはNHであり、

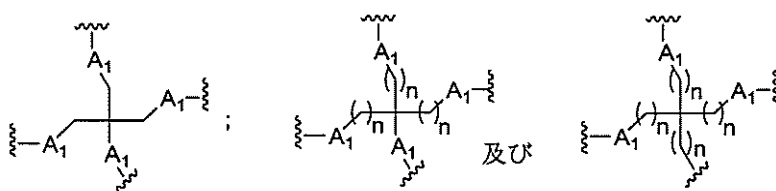
各  $n$  は、独立して、1 ~ 20である。

## 【 0 4 7 4】

特定の実施形態において、分岐基は、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【 0 4 7 5】

## 【化 6 6】



40

式中、各  $A_1$  は、独立して、O、S、C=O、またはNHであり、

各  $n$  は、独立して、1 ~ 20である。

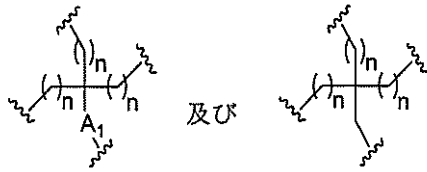
## 【 0 4 7 6】

50

特定の実施形態において、分岐基は、以下のなかから選択される構造を有し、

【 0 4 7 7 】

【 化 6 7 】



式中、 $A_1$  は、O、S、C=O、またはNHであり、  
各nは、独立して、1～20である。

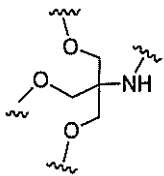
10

【 0 4 7 8 】

特定の実施形態において、分岐基は以下のなかから選択される構造を有する。

【 0 4 7 9 】

【 化 6 8 】



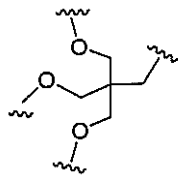
20

【 0 4 8 0 】

特定の実施形態において、分岐基は以下のなかから選択される構造を有する。

【 0 4 8 1 】

【 化 6 9 】



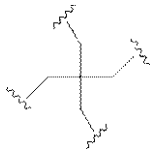
30

【 0 4 8 2 】

特定の実施形態において、分岐基は以下のなかから選択される構造を有する。

【 0 4 8 3 】

【 化 7 0 】



40

## 2. 特定のテザー

【 0 4 8 4 】

特定の実施形態において、共役基は、分岐基に共有結合される1つ以上のテザーを含む。  
特定の実施形態において、共役基は、連結基に共有結合される1つ以上のテザーを含む。  
特定の実施形態において、各テザーは、アルキル、エーテル、チオエーテル、ジスルフィド、アミド、及びポリエチレングリコール基から選択される1つ以上の基を任意の組み合わせで含む線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、アルキル、置換アルキル、エーテル、チオエーテル、ジスルフィド、アミド、ホスホジエステル及びポリエチレングリコール基から選択される1つ以上の基を任意の組み合わせで含む線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、アルキル、エーテル、及びアミド基が

50

ら選択される１つ以上の基を任意の組み合わせで含む線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、アルキル、置換アルキル、ホスホジエステル、エーテル、及びアミド基から選択される１つ以上の基を任意の組み合わせで含む線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、アルキル及びホスホジエステルから選択される１つ以上の基を任意の組み合わせで含む線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、少なくとも１つのリン連結基または中性連結基を含む。

【０４８５】

特定の実施形態において、テザーは、１つ以上の切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、テザーは、アミド基またはエーテル基のいずれかを介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、テザーは、ホスホジエステル基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、テザーは、リン連結基または中性連結基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、テザーは、エーテル基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、テザーは、アミド基またはエーテル基のいずれかを介してリガンドに結合される。特定の実施形態において、テザーは、エーテル基を介してリガンドに結合される。特定の実施形態において、テザーは、アミド基またはエーテル基のいずれかを介してリガンドに結合される。特定の実施形態において、テザーは、エーテル基を介してリガンドに結合される。

【０４８６】

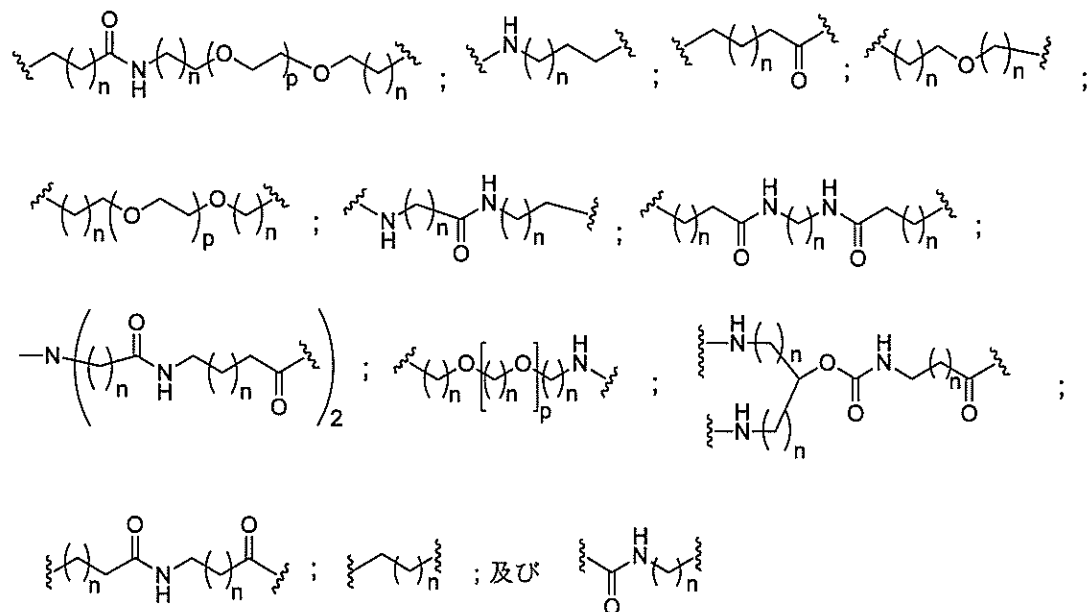
特定の実施形態において、各テザーは、リガンドと分岐基との間に約８～約２０原子の鎖長を含む。特定の実施形態において、各テザー基は、リガンドと分岐基との間に約１０～約１８原子の鎖長を含む。特定の実施形態において、各テザー基は、約１３原子の鎖長を含む。

【０４８７】

特定の実施形態において、テザーは、以下のなかから選択される構造を有し、

【０４８８】

【化７１】



各  $n$  は、独立して、１～２０であり、

各  $p$  は、１～約６である。

【０４８９】

特定の実施形態において、テザーは以下のなかから選択される構造を有する。

【０４９０】

10

20

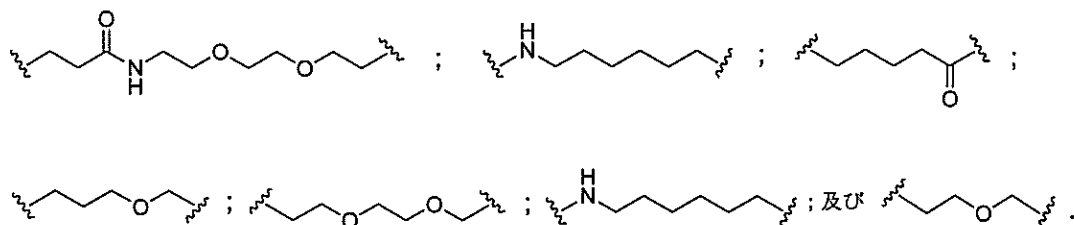
30

40

50



## 【化 7 2】

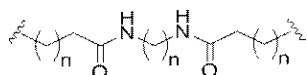


## 【 0 4 9 1】

特定の実施形態において、テザーは、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【 0 4 9 2】

## 【化 7 3】



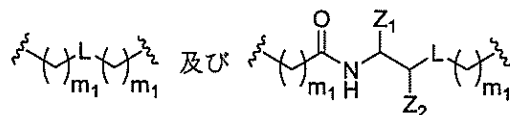
式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 である。

## 【 0 4 9 3】

特定の実施形態において、テザーは、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【 0 4 9 4】

## 【化 7 4】



式中、 $L$  は、リン連結基または中性連結基のいずれかであり、

$Z_1$  は、 $C(=O)O-R_2$  であり、

$Z_2$  は、 $H$ 、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、または置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、

$R_2$  は、 $H$ 、 $C_1 \sim C_6$  アルキルまたは置換  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、

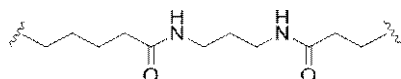
各  $m_1$  は、独立して、0 ~ 20 であり、各テザーにつき少なくとも1つの  $m_1$  は0より大きい。

## 【 0 4 9 5】

特定の実施形態において、テザーは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【 0 4 9 6】

## 【化 7 5】

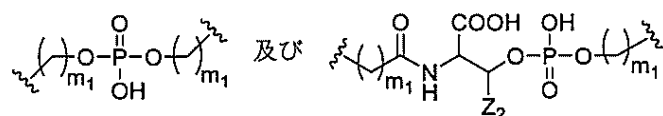


## 【 0 4 9 7】

特定の実施形態において、テザーは、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【 0 4 9 8】

## 【化 7 6】



式中、 $Z_2$  は、 $H$  または  $CH_3$  であり、

各  $m_1$  は、独立して、0 ~ 20 であり、各テザーにつき少なくとも1つの  $m_1$  は0より大きい

10

20

30

40

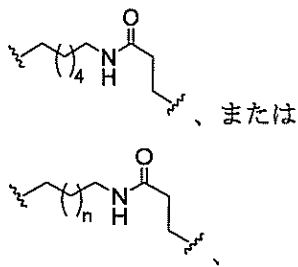
50

## 【 0 4 9 9 】

特定の実施形態において、テザーは、以下のなかから選択される構造を有し、

## 【 0 5 0 0 】

## 【 化 7 7 】



10

式中、各  $n$  は、独立して、0、1、2、3、4、5、6、または7である。

## 【 0 5 0 1 】

特定の実施形態において、テザーは、リン連結基を含む。特定の実施形態において、テザーは、いかなるアミド結合も含まない。特定の実施形態において、テザーは、リン連結基を含み、いかなるアミド結合も含まない。

## 3. 特定のリガンド

## 【 0 5 0 2 】

特定の実施形態において、本開示は、各リガンドがテザーに共有結合されるリガンドを提供する。特定の実施形態において、各リガンドは、標的細胞において少なくとも1種類の受容体に対する親和性を有するように選択される。特定の実施形態において、哺乳類肝臓細胞の表面において少なくとも1種類の受容体に対する親和性を有するリガンドが選択される。特定の実施形態において、肝アジア糖タンパク質受容体 (ASGP-R) に対する親和性を有するリガンドが選択される。特定の実施形態において、各リガンドは、炭水化物である。特定の実施形態において、各リガンドは、ガラクトース、N-アセチルガラクトースアミン、マンノース、グルコース、グルコサミン、及びフコースから独立して選択される。特定の実施形態において、各リガンドは、N-アセチルガラクトースアミン (GalNAc) である。特定の実施形態において、ターゲティング部分は2~6個のリガンドを含む。特定の実施形態において、ターゲティング部分は3個のリガンドを含む。特定の実施形態において、ターゲティング部分は3個のN-アセチルガラクトサミンリガンドを含む。

20

30

## 【 0 5 0 3 】

特定の実施形態において、リガンドは、炭水化物、炭水化物誘導体、修飾炭水化物、多価炭水化物クラスター、多糖、修飾多糖、または多糖誘導体である。特定の実施形態において、リガンドは、アミノ糖またはチオ糖である。例えばアミノ糖は、当技術分野で知られている多くの化合物、例えばグルコサミン、シアル酸、D-ガラクトサミン、N-アセチルガラクトサミン、2-アセトアミド-2-デオキシ-D-ガラクトピラノース (GalNAc)、2-アミノ-3-O-[(R)-1-カルボキシエチル]-2-デオキシ-D-グルコピラノース (ムラミン酸)、2-デオキシ-2-メチルアミノ-L-グルコピラノース、4,6-ジデオキシ-4-ホルムアミド-2,3-ジ-O-メチル-D-マンノピラノース、2-デオキシ-2-スルホアミノ-D-グルコピラノース、及びN-スルホ-D-グルコサミン、及びN-グリコロイル-N-ノイラミン酸から選択されうる。例えば、チオ糖は、5-チオ-D-グルコピラノース、メチル2,3,4-トリ-O-アセチル-1-チオ-6-O-トリチル-D-グルコピラノシド、4-チオ-D-ガラクトピラノース、及びエチル3,4,6,7-テトラ-O-アセチル-2-デオキシ-1,5-ジチオ-D-グルコ-ヘプトピラノシドからなる群から選択されうる。

40

## 【 0 5 0 4 】

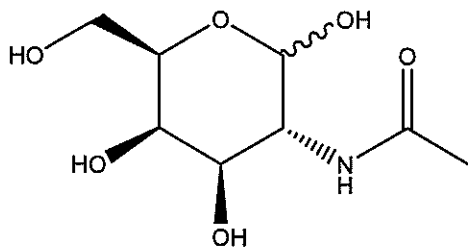
特定の実施形態において、「GalNAc」または「Gal-NAc」は、文献内で一般

50

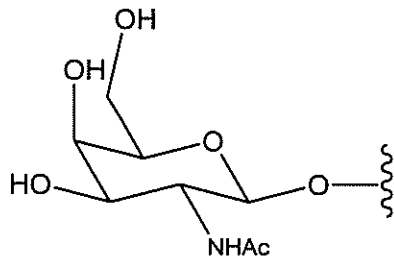
に N - アセチルガラクトサミンと称される 2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースを指す。特定の実施形態において、「N - アセチルガラクトサミン」は、2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースを指す。特定の実施形態において、「GalNac」または「Gal - NAc」は、2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースを指す。特定の実施形態において、「GalNac」または「Gal - NAc」は、型：2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースと 型：2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースの両方を含む、2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースを指す。特定の実施形態において、型：2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースと 型：2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースはどちらも可換的に使用されうる。したがって一方の型が図示される構造において、これらの構造は、他方の型も同様に含むものとする。例えば 型：2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースの構造が示される場合、この構造は他方の型も同様に含むものとする。特定の好ましい実施形態では、型：2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノースが好ましい実施形態である。

【 0 5 0 5 】

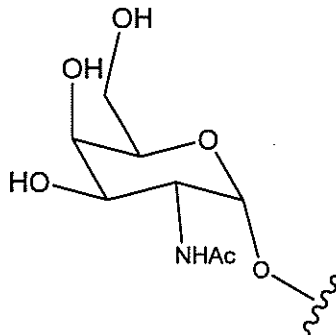
【 化 7 8 】



2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ - D - ガラクトピラノース



2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ -  $\beta$  - D - ガラクトピラノース



2 - ( アセチルアミノ ) - 2 - デオキシ -  $\alpha$  - D - ガラクトピラノース

【 0 5 0 6 】

特定の実施形態において、1つ以上のリガンドは、以下のなかから選択される構造を有し、

【 0 5 0 7 】

10

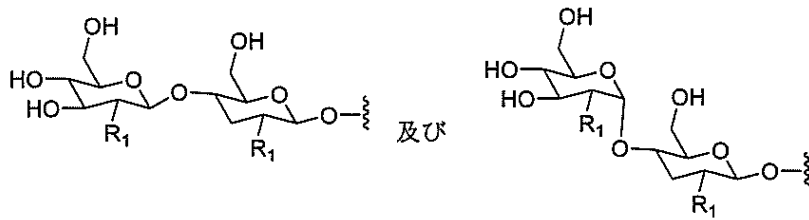
20

30

40

50

## 【化 7 9】



式中、各  $R_1$  は、 $OH$  及び  $NHCOOH$  から選択される。

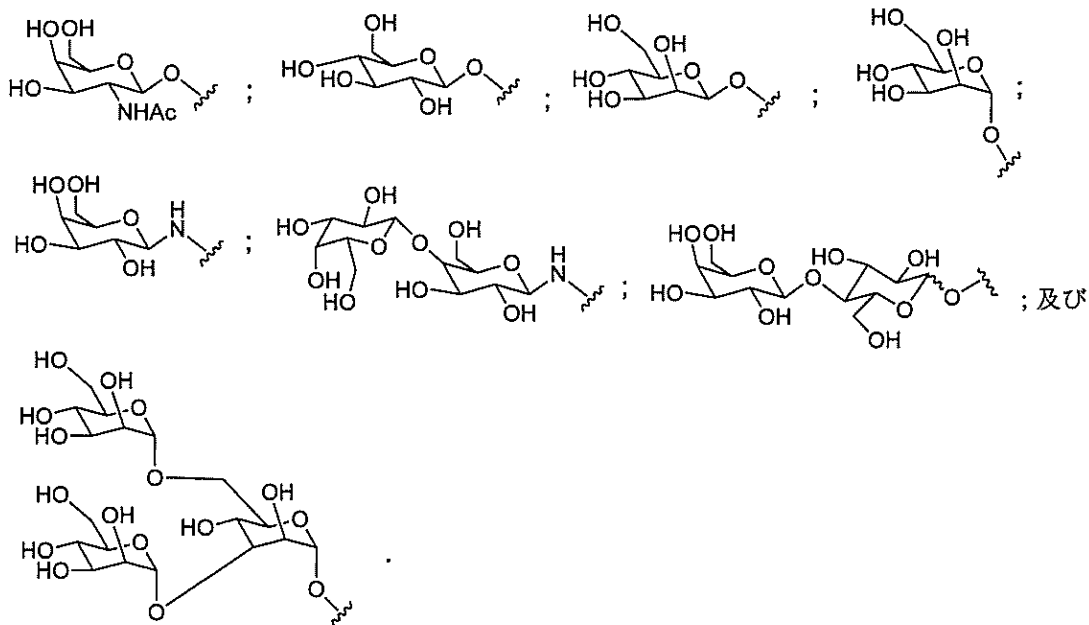
## 【 0 5 0 8】

10

特定の実施形態において、1つ以上のリガンドは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【 0 5 0 9】

## 【化 8 0】



20

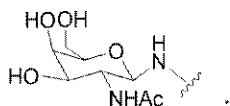
30

## 【 0 5 1 0】

特定の実施形態において、1つ以上のリガンドは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【 0 5 1 1】

## 【化 8 1】



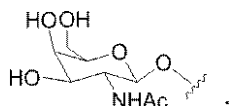
## 【 0 5 1 2】

40

特定の実施形態において、1つ以上のリガンドは以下のなかから選択される構造を有する。

## 【 0 5 1 3】

## 【化 8 2】



i . 特定の共役体

## 【 0 5 1 4】

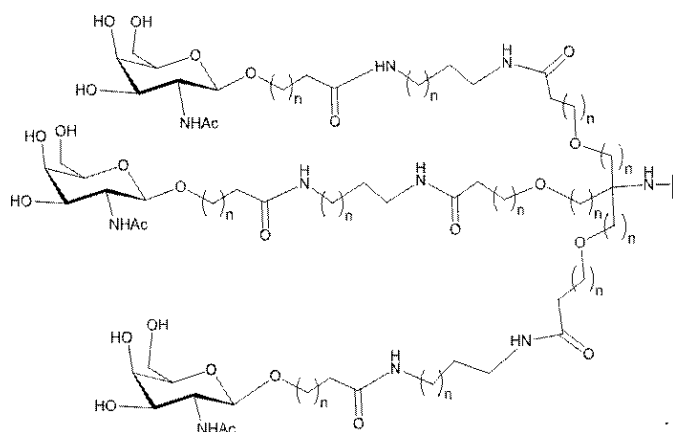
特定の実施形態において、共役基は、上述の構造的特徴を含む。特定のそのような実施形

50

態において、共役基は以下の構造を有し、

【 0 5 1 5 】

【 化 8 3 】



10

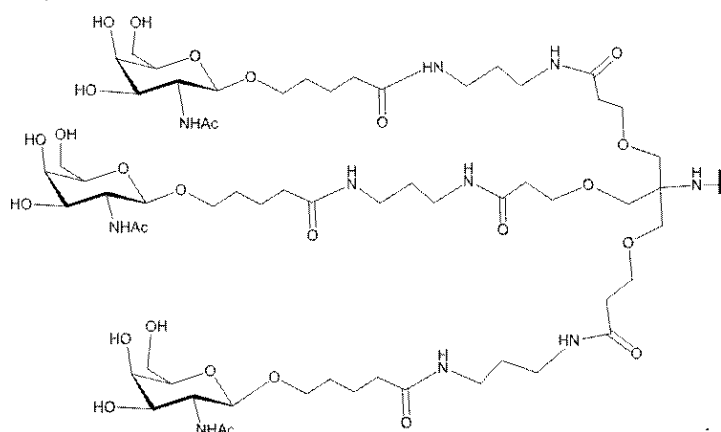
式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 である。

【 0 5 1 6 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 1 7 】

【 化 8 4 】



20

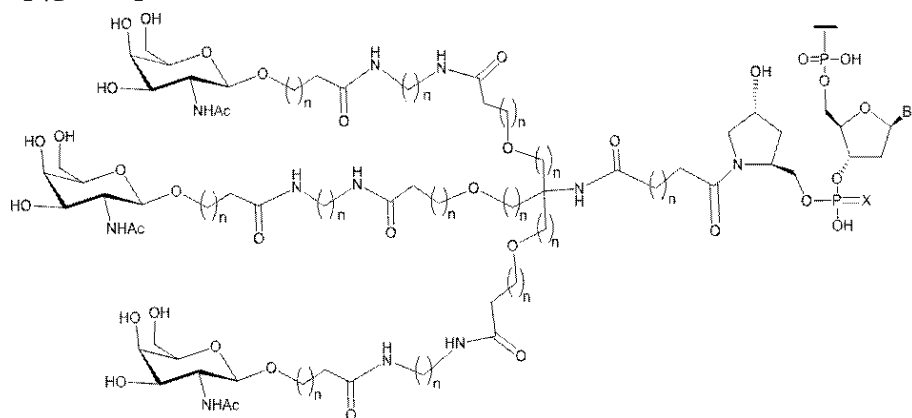
30

【 0 5 1 8 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有し、

【 0 5 1 9 】

【 化 8 5 】



40

式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 であり、

Z は、H または結合固体支持体であり、

50

Q は、アンチセンス化合物であり、

X は、O または S であり、

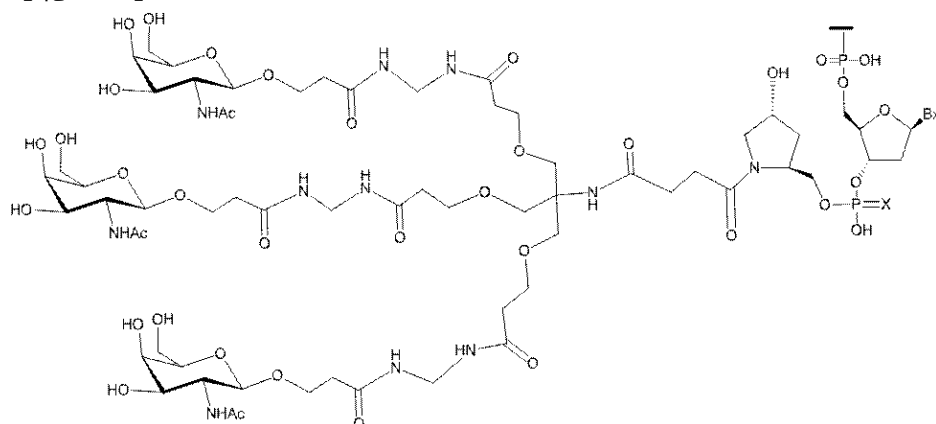
B x は、複素環式塩基部分である。

【 0 5 2 0 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 2 1 】

【 化 8 6 】



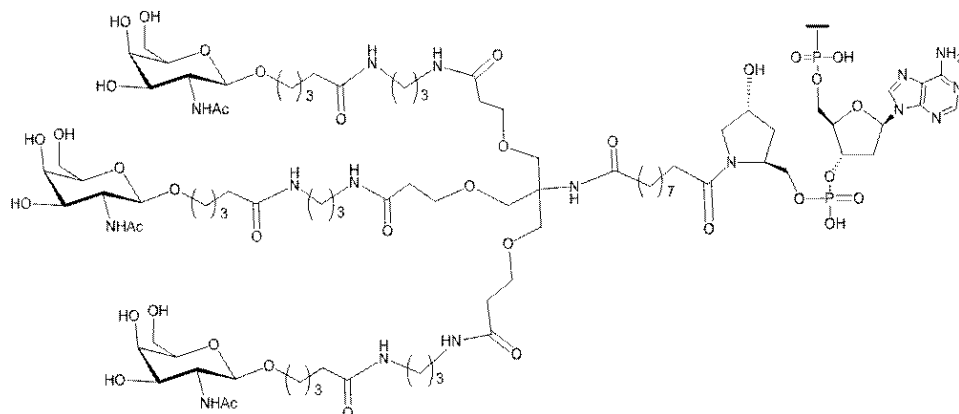
10

【 0 5 2 2 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 2 3 】

【 化 8 7 】



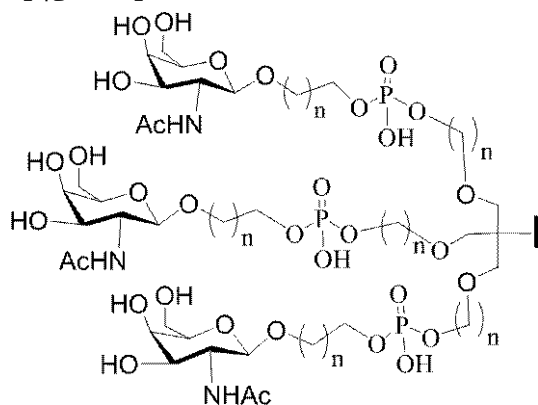
30

【 0 5 2 4 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 2 5 】

【 化 8 8 】



40

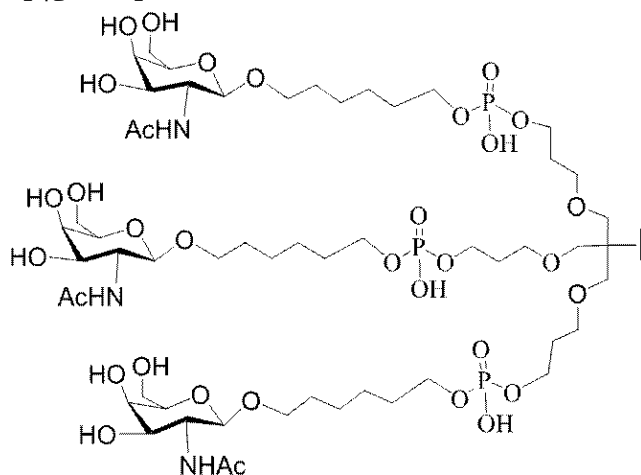
50

【 0 5 2 6 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 2 7 】

【 化 8 9 】



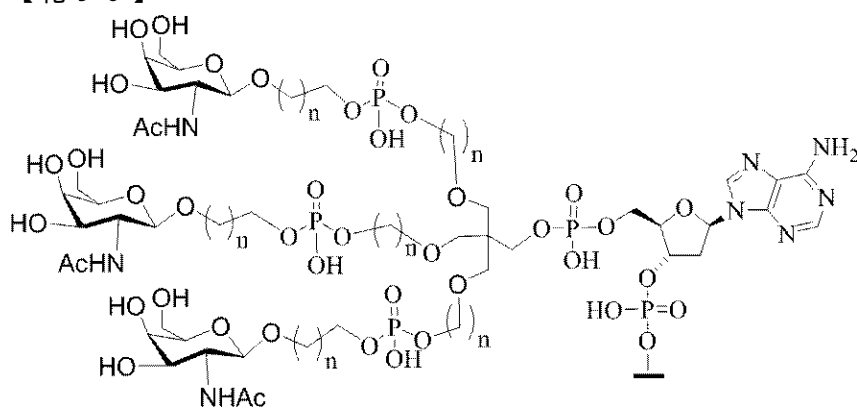
10

【 0 5 2 8 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 2 9 】

【 化 9 0 】



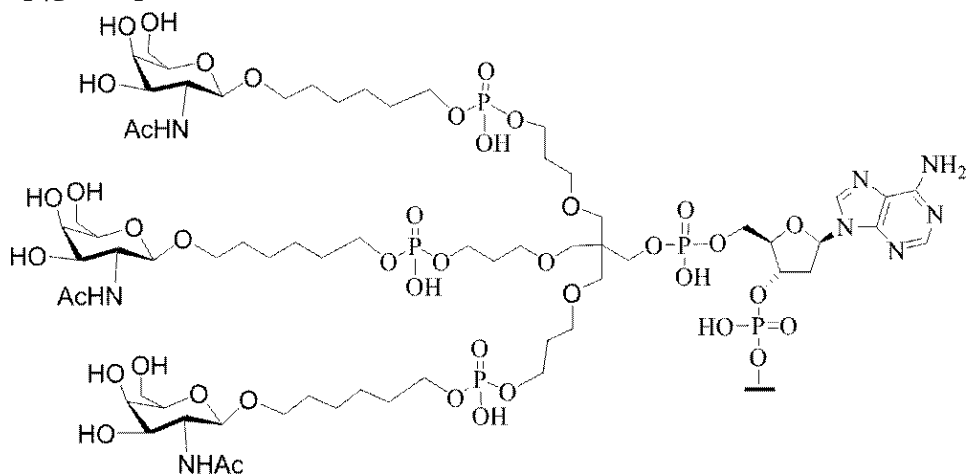
30

【 0 5 3 0 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 3 1 】

【 化 9 1 】



40

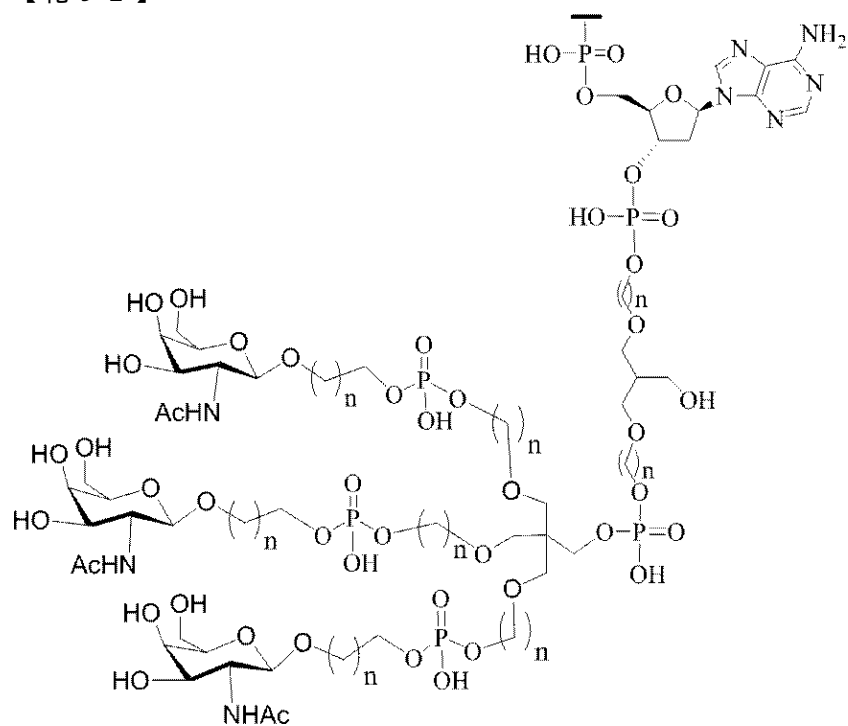
【 0 5 3 2 】

50

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 3 3 】

【 化 9 2 】



10

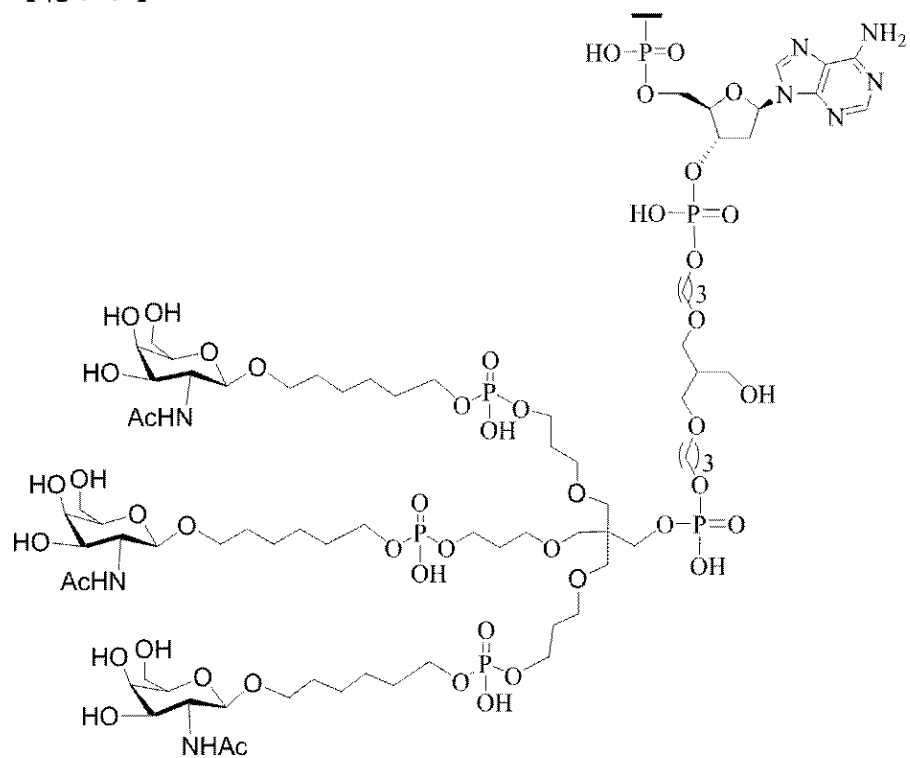
20

【 0 5 3 4 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 3 5 】

【 化 9 3 】



30

40

【 0 5 3 6 】

特定の実施形態において、共役体はピロリジンを含まない。

【 0 5 3 7 】

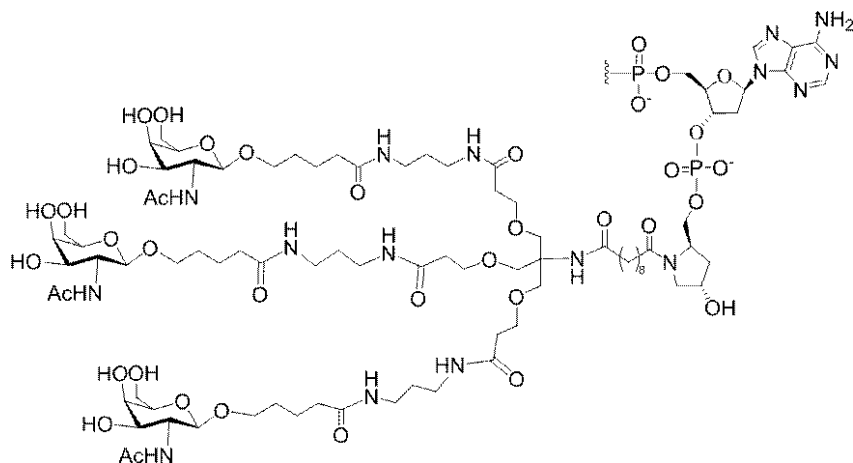
特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

50



【 0 5 3 8 】

【 化 9 4 】



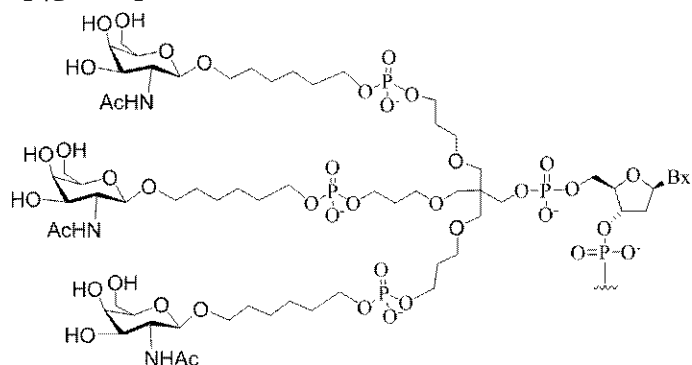
10

【 0 5 3 9 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 4 0 】

【 化 9 5 】



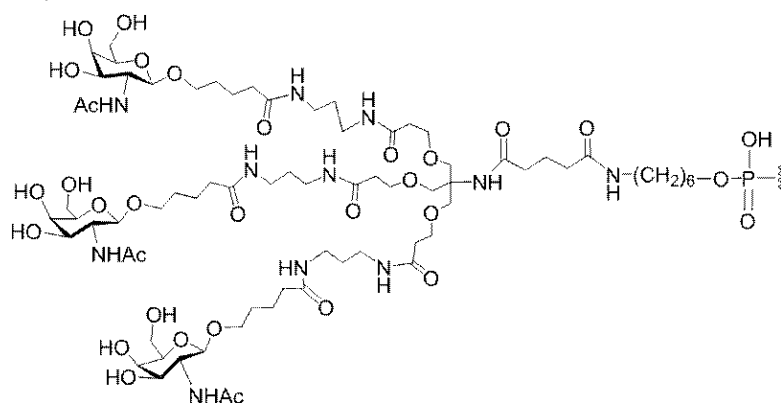
20

【 0 5 4 1 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 4 2 】

【 化 9 6 】



40

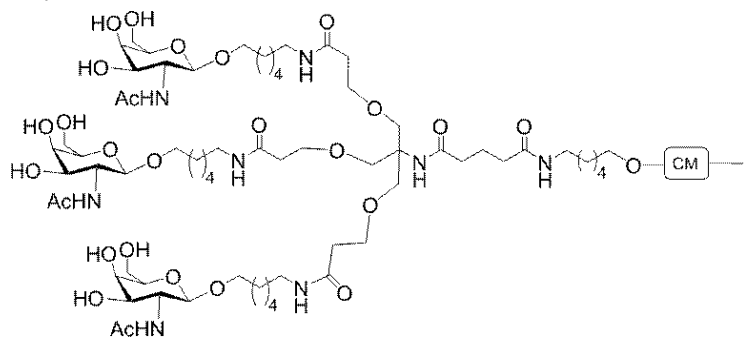
【 0 5 4 3 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

【 0 5 4 4 】

50

## 【化 9 7】



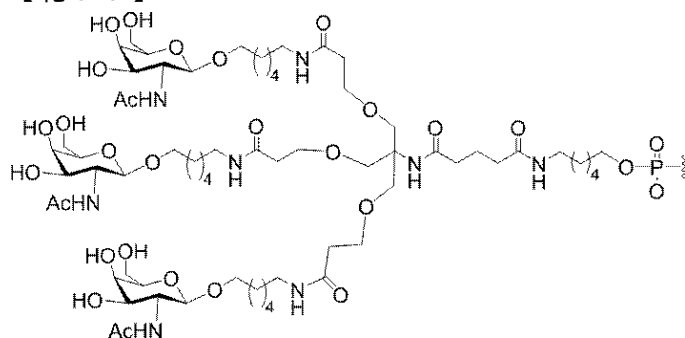
10

## 【 0 5 4 5】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 4 6】

## 【化 9 8】



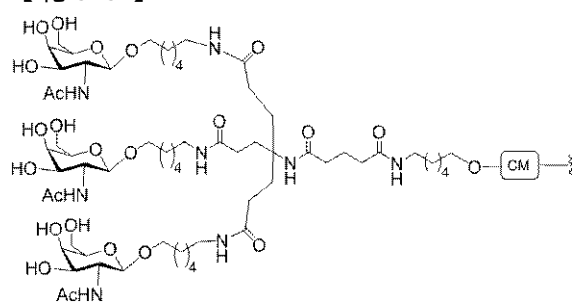
20

## 【 0 5 4 7】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 4 8】

## 【化 9 9】



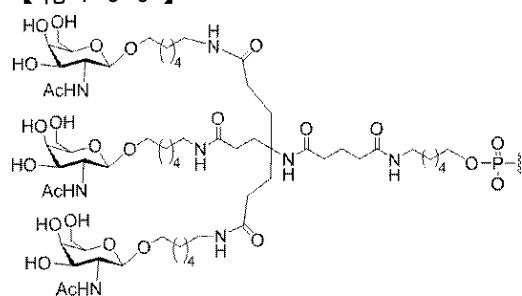
30

## 【 0 5 4 9】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 5 0】

## 【化 1 0 0】



40

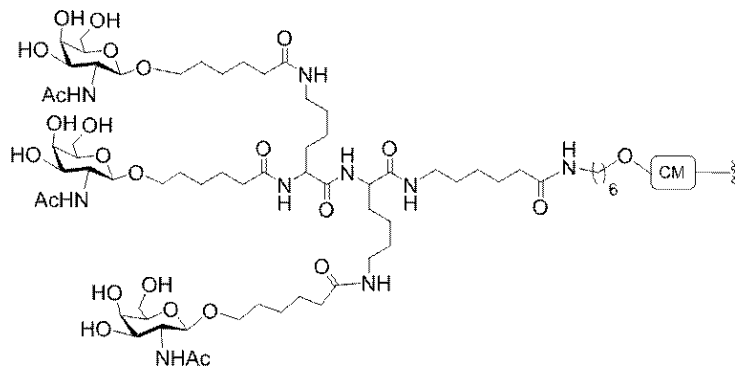
50

## 【 0 5 5 1 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 5 2 】

## 【 化 1 0 1 】



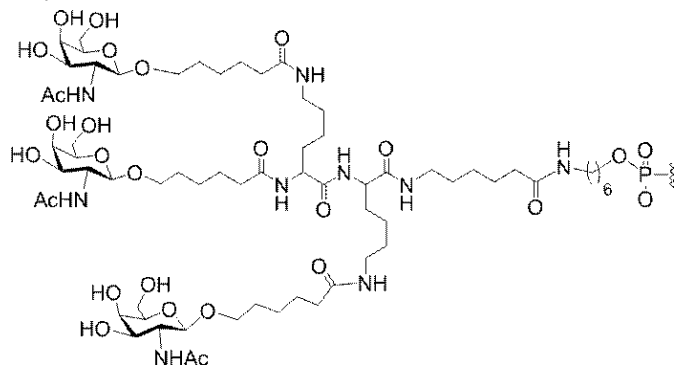
10

## 【 0 5 5 3 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 5 4 】

## 【 化 1 0 2 】



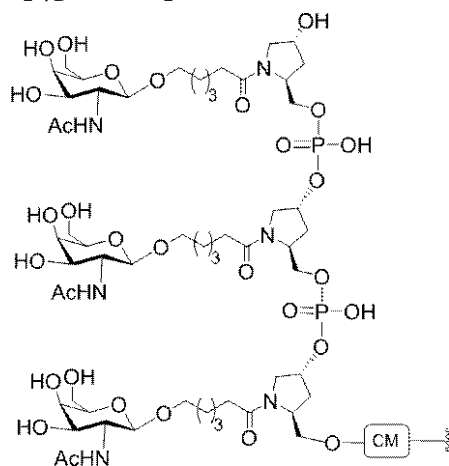
20

## 【 0 5 5 5 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 5 6 】

## 【 化 1 0 3 】



40

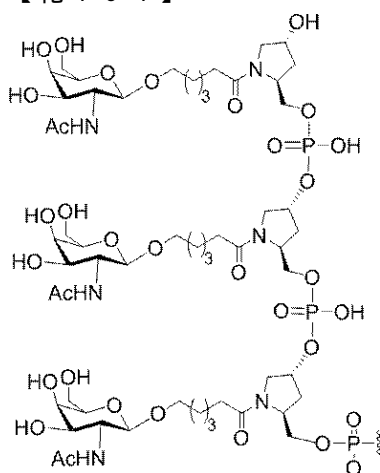
## 【 0 5 5 7 】

特定のそのような実施形態において、共役基は以下の構造を有する。

## 【 0 5 5 8 】

50

## 【化 1 0 4】



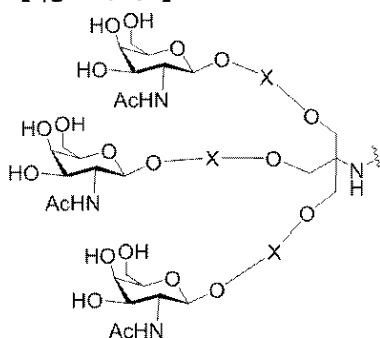
10

## 【 0 5 5 9】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【 0 5 6 0】

## 【化 1 0 5】



20

式中、Xは、6～11個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーである。

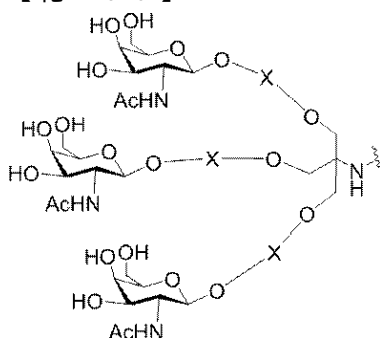
30

## 【 0 5 6 1】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【 0 5 6 2】

## 【化 1 0 6】



40

式中、Xは、10個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーである。

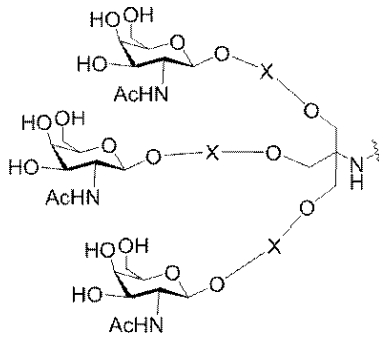
## 【 0 5 6 3】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【 0 5 6 4】

50

## 【化 1 0 7】



10

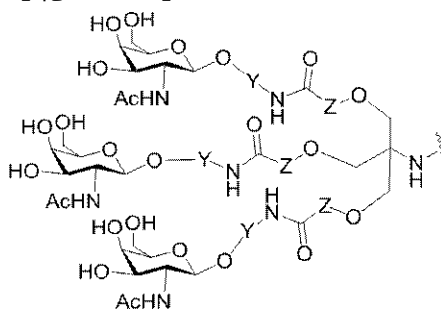
式中、Xは、4～11個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーであり、前記テザーは、厳密に1個のアミド結合を含む。

## 【0 5 6 5】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【0 5 6 6】

## 【化 1 0 8】



20

式中、Y及びZは、C<sub>1</sub>～C<sub>12</sub>置換もしくは無置換アルキル、アルケニル、もしくはアルキニル基、またはエーテル、ケトン、アミド、エステル、カルバメート、アミン、ピペリジン、ホスフェート、ホスホジエステル、ホスホロチオエート、トリアゾール、ピロリジン、ジスルフィド、もしくはチオエーテルを含む基から独立して選択される。

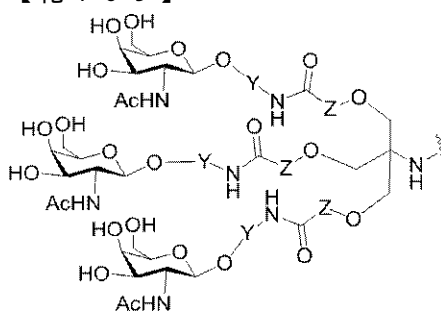
30

## 【0 5 6 7】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【0 5 6 8】

## 【化 1 0 9】



40

式中、Y及びZは、C<sub>1</sub>～C<sub>12</sub>置換もしくは無置換アルキル基、または厳密に1個のエーテルもしくは厳密に2個のエーテル、アミド、アミン、ピペリジン、ホスフェート、ホスホジエステル、またはホスホロチオエートを含む基から独立して選択される。

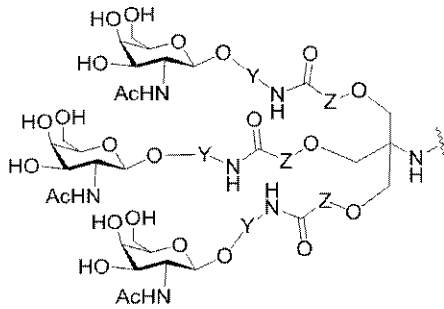
## 【0 5 6 9】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

50

【 0 5 7 0 】

【 化 1 1 0 】



10

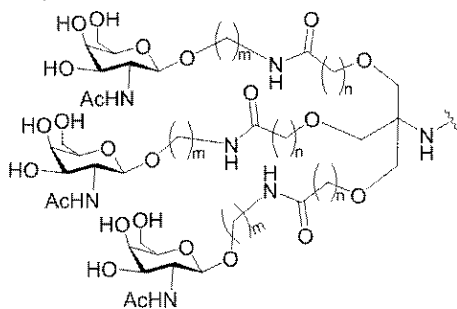
式中、Y 及び Z は、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換または無置換アルキル基から独立して選択される。

【 0 5 7 1 】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 7 2 】

【 化 1 1 1 】



20

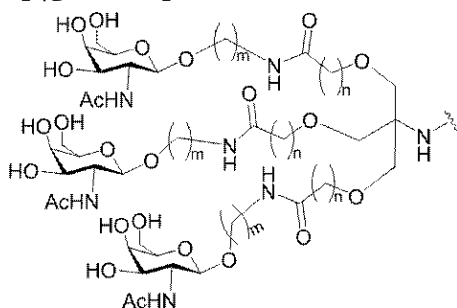
式中、m 及び n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、及び 12 から独立して選択される。

【 0 5 7 3 】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 7 4 】

【 化 1 1 2 】



40

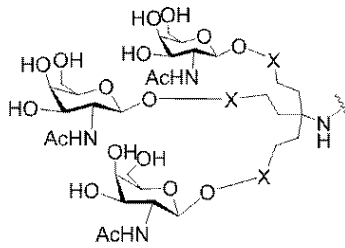
式中、m は、4、5、6、7、または 8 であり、n は、1、2、3、または 4 である。

【 0 5 7 5 】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 7 6 】

## 【化 1 1 3】



式中、X は、4 ～ 13 個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーであり、X は、エーテル基を含まない。

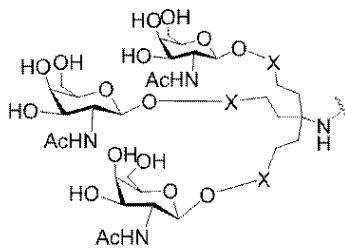
10

## 【 0 5 7 7】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【 0 5 7 8】

## 【化 1 1 4】



20

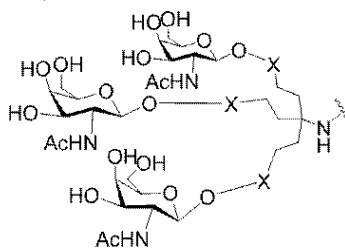
式中、X は、8 個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーであり、X は、エーテル基を含まない。

## 【 0 5 7 9】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【 0 5 8 0】

## 【化 1 1 5】



30

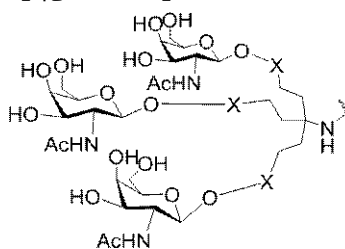
式中、X は、4 ～ 13 個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーであり、前記テザーは、厳密に 1 個のアミド結合を含み、X はエーテル基を含まない。

## 【 0 5 8 1】

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

## 【 0 5 8 2】

## 【化 1 1 6】



40

式中、X は、4 ～ 13 個の連続して結合された原子の置換テザーまたは無置換テザーであり、前記テザーは、アミド結合及び置換または無置換 C<sub>2</sub> ～ C<sub>11</sub> アルキル基からなる。

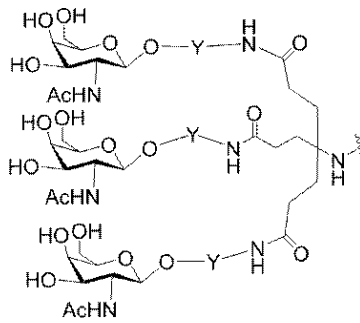
## 【 0 5 8 3】

50

特定の実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 8 4 】

【 化 1 1 7 】



10

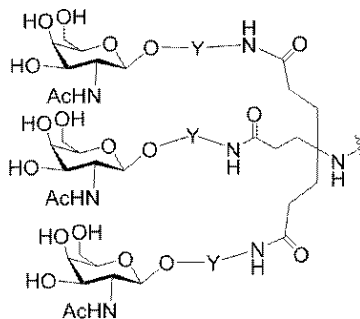
式中、Yは、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換もしくは無置換アルキル、アルケニル、もしくはアルキニル基、またはエーテル、ケトン、アミド、エステル、カルバメート、アミン、ピペリジン、ホスフェート、ホスホジエステル、ホスホロチオエート、トリアゾール、ピロリジン、ジスルフィド、もしくはチオエーテルを含む基から選択される。

【 0 5 8 5 】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 8 6 】

【 化 1 1 8 】



20

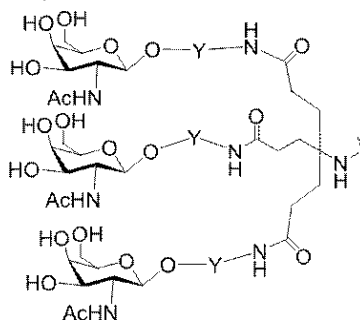
式中、Yは、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換もしくは無置換アルキル基、またはエーテル、アミン、ピペリジン、ホスフェート、ホスホジエステル、もしくはホスホロチオエートを含む基から選択される。

【 0 5 8 7 】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 8 8 】

【 化 1 1 9 】



40

式中、Yは、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換または無置換アルキル基から選択される。

【 0 5 8 9 】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有

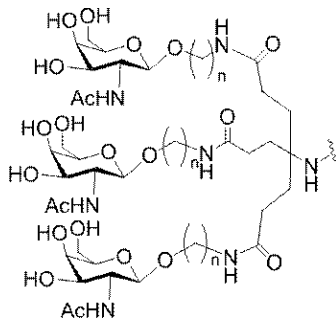
50



し、

【 0 5 9 0 】

【 化 1 2 0 】



10

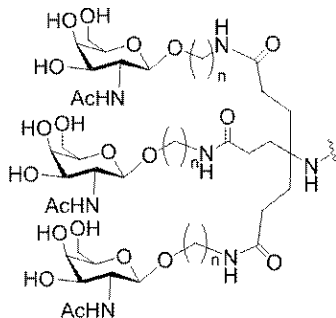
式中、 $n$ は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12である。

【 0 5 9 1 】

特定のそのような実施形態において、共役基の細胞ターゲティング部分は以下の構造を有し、

【 0 5 9 2 】

【 化 1 2 1 】



20

式中、 $n$ は、4、5、6、7、または8である。

【 0 5 9 3 】

特定の実施形態では、共役体はピロリジンを含まない。

30

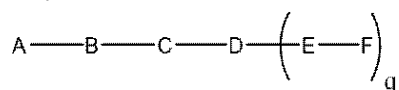
a 特定の共役アンチセンス化合物

【 0 5 9 4 】

特定の実施形態において、共役体は、ヌクレオシドの2'、3'、または5'位でアンチセンスオリゴヌクレオチドのヌクレオシドに結合される。特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下の構造を有し、

【 0 5 9 5 】

【 化 1 2 2 】



40

式中、

Aは、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

Bは、切断可能部分であり、

Cは、共役リンカーであり、

Dは、分岐基であり、

各Eは、テザーであり、

各Fは、リガンドであり、

$q$ は、1～5の整数である。

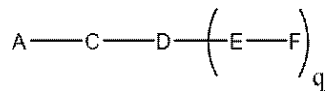
【 0 5 9 6 】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下の構造を有し、

50

【 0 5 9 7 】

【 化 1 2 3 】



式中、

A は、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

C は、共役リンカーであり、

D は、分岐基であり、

各 E は、テザーであり、

各 F は、リガンドであり、

q は、1 ～ 5 の整数である。

【 0 5 9 8 】

特定のそのような実施形態において、共役リンカーは、少なくとも 1 つの切断可能な結合を含む。

【 0 5 9 9 】

特定のそのような実施形態において、分岐基は、少なくとも 1 つの切断可能な結合を含む。

【 0 6 0 0 】

特定の実施形態において、各テザーは、少なくとも 1 つの切断可能な結合を含む。

【 0 6 0 1 】

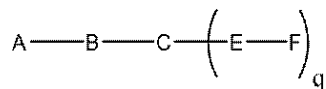
特定の実施形態において、共役体は、ヌクレオシドの 2'、3'、または 5' 位でアンチセンスオリゴヌクレオチドのヌクレオシドに結合される。

【 0 6 0 2 】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下の構造を有し、

【 0 6 0 3 】

【 化 1 2 4 】



式中、

A は、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

B は、切断可能部分であり、

C は、共役リンカーであり、

各 E は、テザーであり、

各 F は、リガンドであり、かつ

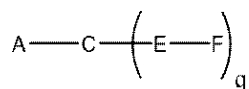
q は、1 ～ 5 の整数である。

【 0 6 0 4 】

特定の実施形態において、共役体は、ヌクレオシドの 2'、3'、または 5' 位でアンチセンスオリゴヌクレオチドのヌクレオシドに結合される。特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下の構造を有し、

【 0 6 0 5 】

【 化 1 2 5 】



式中、

A は、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

C は、共役リンカーであり、

各 E は、テザーであり、

各 F は、リガンドであり、かつ

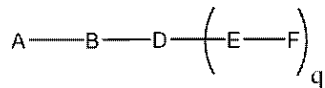
q は、1 ~ 5 の整数である。

【0606】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下の構造を有し、

【0607】

【化126】



式中、

A は、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

B は、切断可能部分であり、

D は、分岐基であり、

各 E は、テザーであり、

各 F は、リガンドであり、かつ

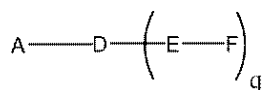
q は、1 ~ 5 の整数である。

【0608】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下の構造を有し、

【0609】

【化127】



式中、

A は、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、

D は、分岐基であり、

各 E は、テザーであり、

各 F は、リガンドであり、かつ

q は、1 ~ 5 の整数である。

【0610】

特定のそのような実施形態において、共役リンカーは、少なくとも1つの切断可能な結合を含む。

【0611】

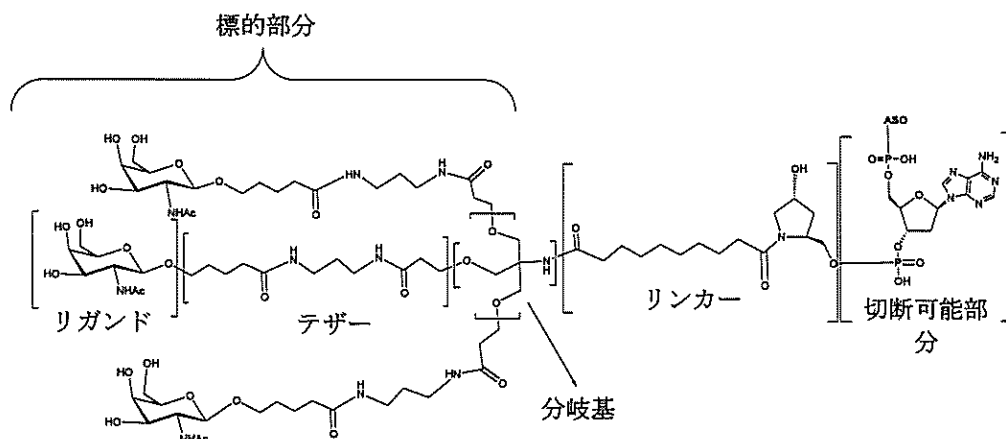
特定の実施形態において、各テザーは、少なくとも1つの切断可能な結合を含む。

【0612】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下のなかから選択される構造を有する。

【0613】

【化128】



10

20

30

40

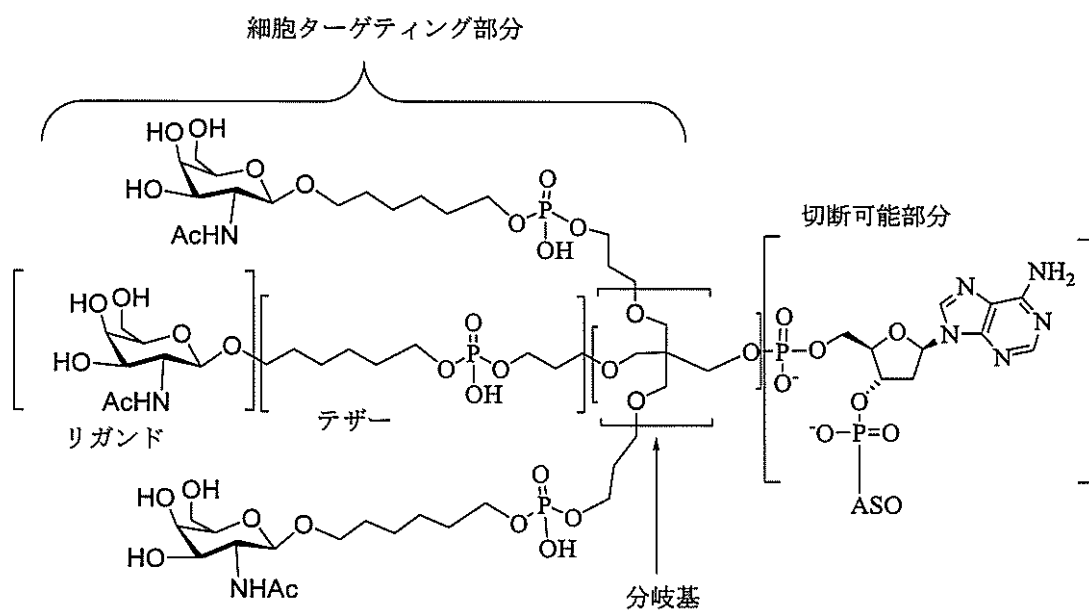
50

【 0 6 1 4 】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下のなかから選択される構造を有する。

【 0 6 1 5 】

【 化 1 2 9 】



10

20

【 0 6 1 6 】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は以下のなかから選択される構造を有する。

【 0 6 1 7 】

30

40

50



logglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes」Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011) 19:2494-2500、RENSSEN et al.「Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in Vitro and in Vivo」J. Biol. Chem. (2001) 276 (40):37577-37584、RENSSEN et al.「Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor」J. Med. Chem. (2004) 47:5798-5808、SLIEDREGT et al.「Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor」J. Med. Chem. (1999) 42:609-618、及びValentijn et al.「Solid-phase synthesis of lysine-based Cluster galactosides with high affinity for the Asialoglycoprotein Receptor」Tetrahedron, 1997, 53(2), 759-770が含まれるが、これらに限定されず、これらの文献のそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

#### 【0620】

特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は、RNase Hベースのオリゴヌクレオチド（ギャップマーなど）またはスプライス調節オリゴヌクレオチド（完全修飾オリゴヌクレオチドなど）、及び少なくとも1つ、2つ、または3つのGalNAc基を含む任意の共役基を含む。特定の実施形態において、共役アンチセンス化合物は、以下の参考文献：Lee, Carbohydr Res, 1978, 67, 509-514、Connolly et al., J Biol Chem, 1982, 257, 939-945、Pavia et al., Int J Pep Protein Res, 1983, 22, 539-548、Lee et al., Biochem, 1984, 23, 4255-4261、Lee et al., Glycoconjugate J, 1987, 4, 317-328、Toyokuni et al., Tetrahedron Lett, 1990, 31, 2673-2676、Biessen et al., J Med Chem, 1995, 38, 1538-1546、Valentijn et al., Tetrahedron, 1997, 53, 759-770、Kim et al., Tetrahedron Lett, 1997, 38, 3487-3490、Lee et al., Bioconjug Chem, 1997, 8, 762-765、Kato et al., Glycobiol, 2001, 11, 821-829、Rensen et al., J Biol Chem, 2001, 276, 37577-37584、Lee et al., Methods Enzymol, 2003, 362, 38-43、Westrlind et al., Glycoconj J, 2004, 21, 227-241、Lee et al., Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(19), 5132-5135、Maierhofer et al., Bioorg Med Chem, 2007, 15, 7661-7676、Khorev et al., Bioorg Med Chem, 2008, 16, 5216-5231、Lee et al., Bioorg Med Chem, 2011, 19, 2494-2500、Kornilova et al., Analyt Biochem, 2012, 425, 43-46、Pujol et al., Angew Chemie Int Ed Engl, 2012, 51, 7445-7448、Biessen et al., J Med Chem, 19

10

20

30

40

50

95, 38, 1846 - 1852  
、Slidregt et al., J Med Chem, 1999, 42, 609 -  
618、Rensen et al., J Med Chem, 2004, 47, 5798  
- 5808、Rensen et al., Arterioscler Thromb V  
asc Biol, 2006, 26, 169 - 175、van Rossenberg e  
t al., Gene Ther, 2004, 11, 457 - 464、Sato  
et al., J Am Chem Soc, 2004, 126, 14013 - 14022  
、Lee et al., J Org Chem, 2012, 77, 7564 - 7571、  
Biessen et al., FASEB J, 2000, 14, 1784 - 1792、  
Rajur et al., Bioconjug Chem, 1997, 8, 935 - 94  
0、Duff et al., Methods Enzymol, 2000, 313, 29  
7 - 321、Maier et al., Bioconjug Chem, 2003, 14  
, 18 - 29、Jayaprakash et al., Org Lett, 2010, 1  
2, 5410 - 5413、Manoharan, Antisense Nucleic A  
cid Drug Dev, 2002, 12, 103 - 128、Merwin et al  
. , Bioconjug Chem, 1994, 5, 612 - 620、Tomiya et  
al., Bioorg Med Chem, 2013, 21, 5275 - 5281、国際出  
願WO1998/013381; WO2011/038356; WO1997/0460  
98; WO2008/098788; WO2004/101619; WO2012/03  
7254; WO2011/120053; WO2011/100131; WO2011/  
163121; WO2012/177947; WO2013/033230; WO201  
3/075035; WO2012/083185; WO2012/083046; WO2  
009/082607; WO2009/134487; WO2010/144740; W  
O2010/148013; WO1997/020563; WO2010/088537  
; WO2002/043771; WO2010/129709; WO2012/0681  
87; WO2009/126933; WO2004/024757; WO2010/05  
4406; WO2012/089352; WO2012/089602; WO2013/  
166121; WO2013/165816; 米国特許4, 751, 219; 8, 552  
, 163; 6, 908, 903; 7, 262, 177; 5, 994, 517; 6, 300  
, 319; 8, 106, 022; 7, 491, 805; 7, 491, 805; 7, 582  
, 744; 8, 137, 695; 6, 383, 812; 6, 525, 031; 6, 660  
, 720; 7, 723, 509; 8, 541, 548; 8, 344, 125; 8, 313  
, 772; 8, 349, 308; 8, 450, 467; 8, 501, 930; 8, 158  
, 601; 7, 262, 177; 6, 906, 182; 6, 620, 916; 8, 435  
, 491; 8, 404, 862; 7, 851, 615; 米国特許出願公開US2011/  
0097264; US2011/0097265; US2013/0004427; US  
2005/0164235; US2006/0148740; US2008/02810  
44; US2010/0240730; US2003/0119724; US2006/  
0183886; US2008/0206869; US2011/0269814; US  
2009/0286973; US2011/0207799; US2012/01360  
42; US2012/0165393; US2008/0281041; US2009/  
0203135; US2012/0035115; US2012/0095075; US  
2012/0101148; US2012/0128760; US2012/01575  
09; US2012/0230938; US2013/0109817; US2013/  
0121954; US2013/0178512; US2013/0236968; US  
2011/0123520; US2003/0077829; US2008/01088  
01; 及びUS2009/0203132のうちのいずれかにおいて見いだされる任意の  
共役基を含み、これらの文献のそれぞれは参照によりその全体が組み込まれる。  
【0621】

アンチセンスオリゴヌクレオチドのインビトロ試験

10

20

30

40

50

本明細書には、細胞をアンチセンスオリゴヌクレオチドで処置するための方法を記載する。この方法には、他のアンチセンス化合物による処置のために、適宜変更を加えることができる。

【0622】

細胞は、細胞が培養中で約60～80%コンフルエントに達した時に、アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理することができる。

【0623】

培養細胞にアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入するためによく使用される試薬の一つに、カチオン性脂質トランスフェクション試薬LIPOFECTIN (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) がある。アンチセンスオリゴヌクレオチドをOPTI-MEM1 (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) 中でLIPOFECTINと混合することで、所望の最終アンチセンスオリゴヌクレオチド濃度と、100nMアンチセンスオリゴヌクレオチドあたり2～12μg/mLの範囲に及びうるLIPOFECTIN濃度にする。

10

【0624】

培養細胞にアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入するために使用されるもう一つの試薬は、LIPOFECTAMINE (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) である。アンチセンスオリゴヌクレオチドをOPTI-MEM1還元血清培地 (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) 中でLIPOFECTAMINEと混合することで、所望のアンチセンスオリゴヌクレオチド濃度と、100nMアンチセンスオリゴヌクレオチドあたり2～12μg/mLの範囲に及びうるLIPOFECTAMINE濃度にする。

20

【0625】

培養細胞にアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入するために使用されるもう一つの技法に、エレクトロポレーションがある。

【0626】

培養細胞にアンチセンスオリゴヌクレオチドを導入するために使用されるさらにもう一つの技法に、細胞によるオリゴヌクレオチド自由取り込みがある。

【0627】

細胞は、常法により、アンチセンスオリゴヌクレオチドで処理される。細胞はアンチセンスオリゴヌクレオチド処理の16～24時間後に収集することができ、その時点で、標的核酸のRNAレベルまたはタンパク質レベルが、当技術分野に知られておりかつ本明細書に記載する方法によって測定される。一般に、複数の複製試料で処理を行う場合は、複製試料処理の平均としてデータを表す。

30

【0628】

使用するアンチセンスオリゴヌクレオチドの濃度は、細胞株ごとに異なる。ある特定細胞株に関して最適なアンチセンスオリゴヌクレオチド濃度を決定するための方法は、当技術分野では周知である。LIPOFECTAMINEによるトランスフェクションの場合、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、典型的には、1nM～300nMの範囲の濃度で使用する。

40

エレクトロポレーションによるトランスフェクションの場合は、それより高い625nMから20,000nMまでの範囲の濃度で、アンチセンスオリゴヌクレオチドが使用される。

【0629】

RNA単離

RNA分析は、全細胞RNAまたはポリ(A)+mRNAに関して行うことができる。RNA単離の方法は当技術分野ではよく知られている。RNAは当技術分野において周知の方法を使って、例えばTRIzol試薬 (Invitrogen, カリフォルニア州カールズバッド) を製造者が推奨するプロトコルに従って使用することによって、調製される。

【0630】

50



## 特定の適応

ここに提供する特定の実施形態は、対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を、C F Bを標的とするアンチセンス化合物などのC F B特異的阻害剤の投与によって処置し、防止し、または改善する方法に関する。

### 【0631】

ここに提供する方法で処置し、防止し、かつ/または改善することが可能な、補体代替経路の調節異常に関連する腎疾患の例として、C 3系球体症、非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S )、デンスデポジット病 ( D D D ; I I 型 M P G N または C 3 N e p h と呼ばれている)、及びC F H R 5ネフロパシーが挙げられる。

### 【0632】

ここに提供する方法で処置し、防止し、かつ/または改善することが可能な、補体代替経路の調節異常に関連する他の腎疾患には、I g Aネフロパシー；メサングウム毛細管性（膜性増殖性）系球体腎炎（M P G N）；ループス腎炎及び全身性エリテマトーデス（S L E）を含む自己免疫障害；感染誘発性系球体腎炎（感染後系球体腎炎とも呼ばれている）；及び腎虚血再灌流傷害、例えば移植後腎虚血再灌流傷害がある。

### 【0633】

ここに提供する方法で処置しかつ/または防止することが可能な、補体代替経路の調節異常に関連する非腎臓障害の例として、黄斑変性、例えば加齢黄斑変性（A M D）（滲出型A M D及び地図状萎縮などの乾性A M Dを含む）；視神経脊髄炎；角膜疾患、例えば角膜炎；自己免疫性ぶどう膜炎；及び糖尿病性網膜症などの眼疾患が挙げられる。眼疾患には補体系が関与すると報告されている。J h a P , e t a l . , M o l I m m u n o l ( 2 0 0 7 ) 4 4 ( 1 6 ) : 3 9 0 1 - 3 9 0 8。ここに提供する方法で処置しかつ/または防止することが可能な、補体代替経路の調節異常に関連する非腎臓障害の他の例には、A N C A 関連血管炎、抗リン脂質症候群（抗リン脂質抗体症候群（A P S）とも呼ばれている）、喘息、関節リウマチ、重症筋無力症、及び多発性硬化症がある。

### 【0634】

ここに提供する特定の実施形態は、対象における補体代替経路の調節異常に関連する腎疾患を、C F Bを標的とするアンチセンス化合物などのC F B特異的阻害剤の投与によって、処置し、防止し、または改善する方法に関する。特定の態様では、腎疾患がループス腎炎、全身性エリテマトーデス（S L E）、デンスデポジット病（D D D）、C 3系球体腎炎（C 3 G N）、C F H R 5ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群（a H U S）、またはそれらの任意の組み合わせである。

### 【0635】

ここに提供する特定の実施形態は、対象における加齢黄斑変性（A M D）などの黄斑変性を、C F Bを標的とするアンチセンス化合物などのC F B特異的阻害剤の投与によって処置し、防止し、または改善する方法に関する。特定の態様では、A M Dが滲出型A M Dまたは乾性A M Dである。特定の態様では、乾性A M Dが地図状萎縮でありうる。補体代替経路の調節異常とA M Dとの関連は研究によって実証されている。補体成分は、A M D患者の黄斑に蓄積する細胞外物質である眼ドルーゼの一般的構成要素である。さらにまた、C F H及びC F B変異体は、北欧及び北米におけるA M D症例の75%近くを占めると報告されている。特殊なC F B多型がA M Dからの防御を付与することも見いだされている。P a t e l , N . e t a l . , E y e ( 2 0 0 8 ) 2 2 ( 6 ) : 7 6 8 - 7 6。加えて、C F Bホモ接合ヌルマウスは補体経路活性が低く、レーザー光凝固後に小さな眼病変及び脈絡膜血管新生（C N V）を呈する。R o h r e r , B . e t a l . , I n v e s t O p h t h a l m o l V i s S c i . ( 2 0 0 9 ) 5 0 ( 7 ) : 3 0 5 6 - 6 4。さらにまた、C F B s i R N A処置は、レーザー誘発性C N Vからマウスを防御する。B o r a , N S e t a l . , J I m m u n o l . ( 2 0 0 6 ) 1 7 7 ( 3 ) : 1 8 7 2 - 8。腎臓と眼が共通の発生経路及び構造上の特徴（基底膜コラーゲンI Vプロモーター組成及び血管分布を含む）を有することも研究によって示されている。S a v i g e e t a l . , J A m S o c N e p h r o l . ( 2 0 1 1 ) 2 2 ( 8 ) :

10

20

30

40

50

1403-15。腎臓疾患と眼疾患に補体経路が関与することの証拠がある。例えば、遺伝性補体調節タンパク質欠損は、非典型溶血性尿毒症症候群及びAMDに対する素因の原因になる。Richards A et al., Adv Immunol. (2007) 96:141-77。加えて、慢性腎臓疾患はAMDに関連付けられている。Nitschh, D. et al., Ophthalmic Epidemiol. (2009) 16(3):181-6; Choi, J. et al., Ophthalmic Epidemiol. (2011) 18(6):259-63。補体代替経路の調節異常に関連する腎臓疾患であるデンスデポジット病(DDD)は、急性腎炎症候群と眼ドルーゼを特徴とする。Cruz and Smith, GeneReviews (2007) Jul 20。さらに、補体代替経路の構成要素の遺伝子欠失を保有するマウスでは、腎疾患表現型と眼疾患表現型が共存する。CFHホモ接合ヌルマウスはDDDを発症し、網膜異常及び視覚機能障害を呈すると報告されている。Pickering et al., Nat Genet. (2002) 31(4):424-8。補体代替経路の調節異常に関連する腎疾患のマウスモデルは、AMDのモデルとしても受け入れられている。Pennesi ME et al., Mol Aspects Med (2012) 33:487-509。例えばCFHヌルマウスはDDDなどの腎疾患とAMDのモデルとして受け入れられている。さらにまた、AMDが補体因子の全身性供給源に関連することも報告されており、これらの補体因子が眼に局所的に蓄積することで代替経路補体活性化を駆動する。Loy et al., Invest Ophthalmol Vis Sci. (2012) 53(10):6628-37。

10

20

#### 【実施例】

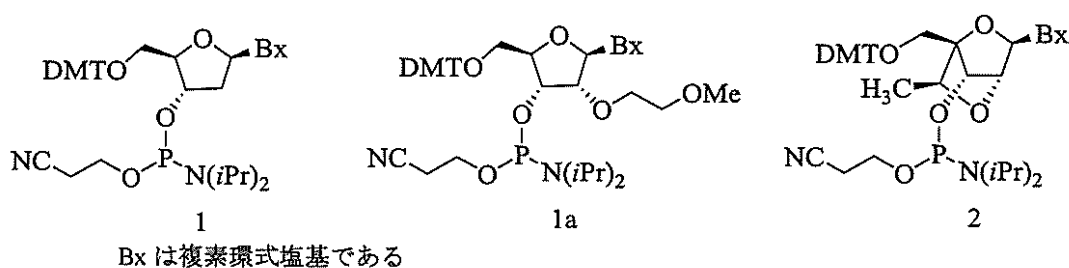
#### 【0636】

以下の実施例は、本開示の特定の実施形態を例証するものであり、限定するものではない。さらに、具体的実施形態を記載する場合、本発明者らは、それらの具体的実施形態の一般的な応用を企図している。例えば、ある特定モチーフを有するオリゴヌクレオチドの開示は、そのモチーフまたは同様のモチーフを有する他のオリゴヌクレオチドの合理的裏付けになる。同様に、例えば、ある特定高親和性修飾がある特定位置に見られる場合は、別段の表示がある場合を除き、同じ位置での他の高親和性修飾も好適であるとみなされる。実施例1：ホスホラミダイト(化合物1、1a、及び2)の調製のための一般的方法

#### 【0637】

30

#### 【化131】



#### 【0638】

40

化合物1、1a、及び2を、本明細書に記載する当技術分野で周知の手順どおりに調製した(Seth et al., Bioorg. Med. Chem., 2011, 21(4), 1122-1125, J. Org. Chem., 2010, 75(5), 1569-1581, Nucleic Acids Symposium Series, 2008, 52(1), 553-554)、ならびに公開されたPCT国際出願(国際公開第WO2011/115818号、同第WO2010/077578号、同第WO2010/036698号、同第WO2009/143369号、同第WO2009/006478、及び同第WO2007/090071号)、ならびに米国特許第7,569,686号も参照のこと)。

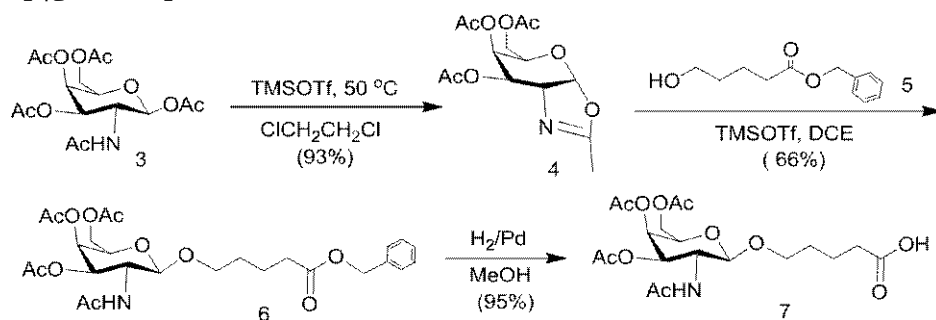
#### 【0639】

50

## 実施例 2：化合物 7 の調製

【 0 6 4 0 】

【 化 1 3 2 】



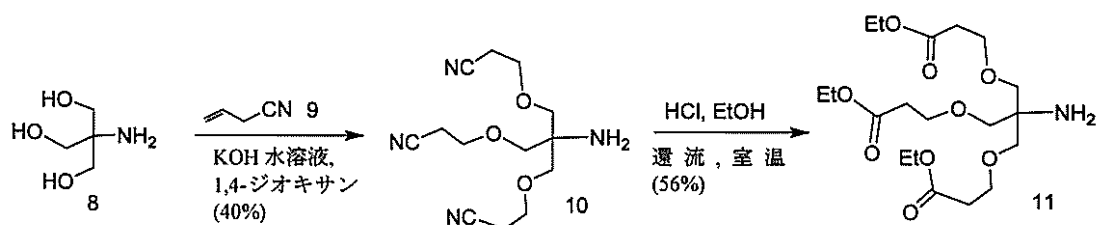
10

化合物 3 ( 2 - アセトアミド - 1 , 3 , 4 , 6 - テトラ - O - アセチル - 2 - デオキシ - D ガラクチピラノースまたはガラクトサミンペンタアセテート ) は、市販のものである。化合物 5 を公開された手順 ( Weber et al . , J . Med . Chem . , 1991 , 34 , 2692 ) に従って調製した。

## 実施例 3：化合物 11 の調製

【 0 6 4 1 】

【 化 1 3 3 】



20

【 0 6 4 2 】

化合物 8 及び 9 は、市販のものである。

## 実施例 4：化合物 18 の調製

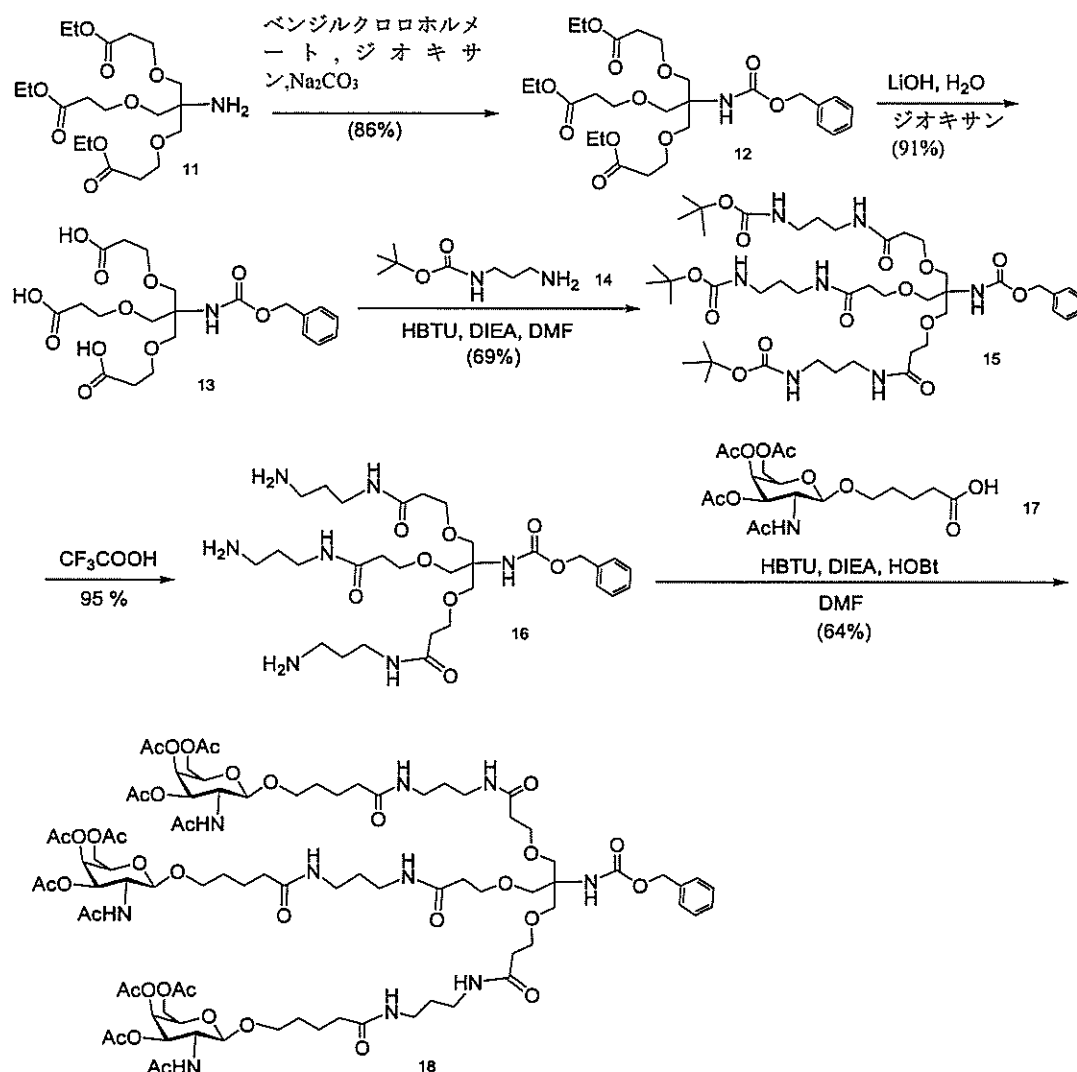
【 0 6 4 3 】

30

40

50

## 【化 1 3 4】



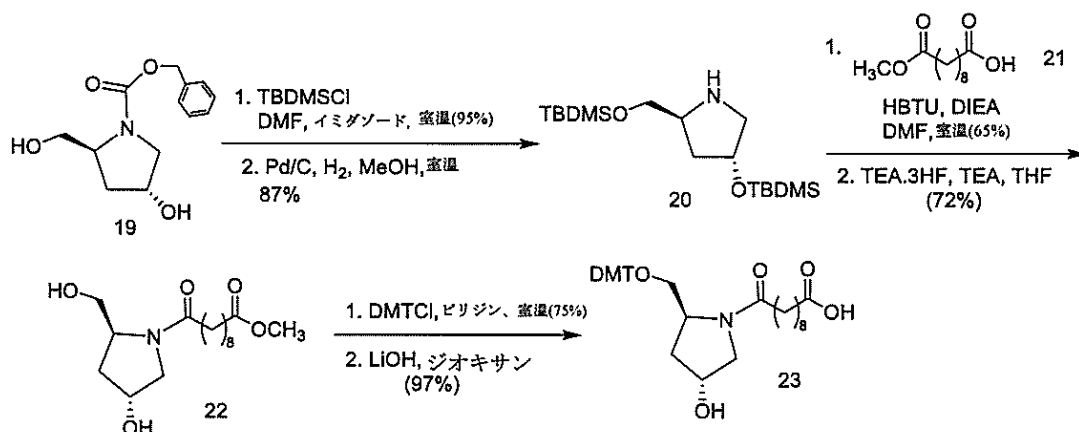
## 【 0 6 4 4】

化合物 11 を実施例 3 に例証される手順どおりに調製した。化合物 14 は、市販のものである。化合物 17 を、Rensen et al. (J. Med. Chem., 2004, 47, 5798 - 5808) によって報告された同様の手順を用いて調製した。

実施例 5：化合物 23 の調製

## 【 0 6 4 5】

## 【化 1 3 5】



10

20

30

40

50

### 実施例 6：化合物 24 の調製

【化 1 3 6】



### 実施例 7：化合物 25 の調製

【化 1 3 7】



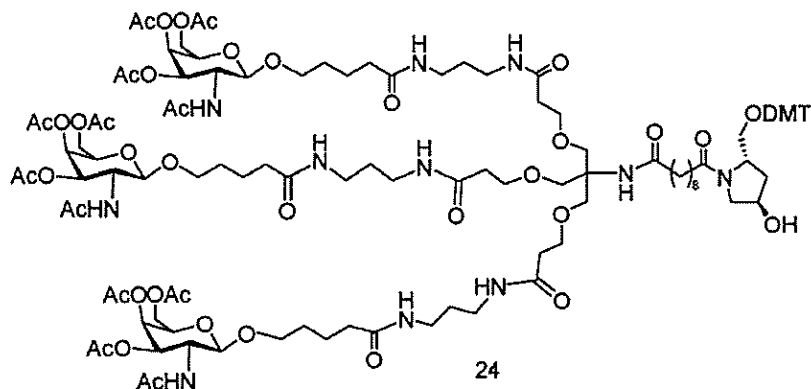
50

化合物 24 を実施例 6 に例証される手順どおりに調製した。

実施例 8：化合物 26 の調製

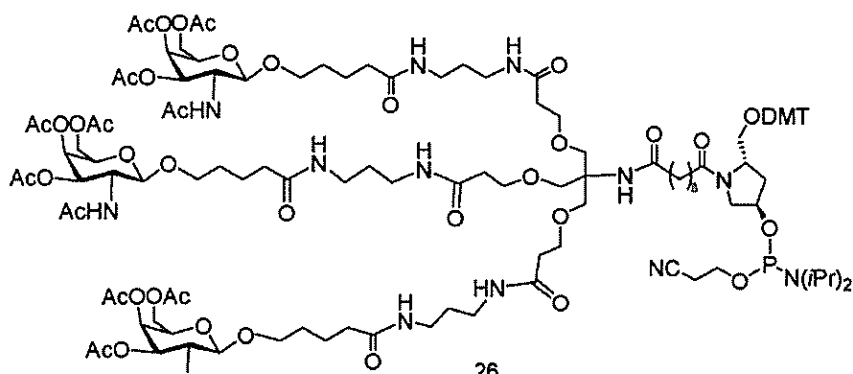
【 0 6 5 1 】

【 化 1 3 8 】



ホスフィチル化

10



20

【 0 6 5 2 】

化合物 24 を実施例 6 に例証される手順どおりに調製する。

実施例 9：3' 末端に Ga1NAc3-1 を含む共役 ASO (化合物 29) の一般的調製

30

【 0 6 5 3 】

40

50

10



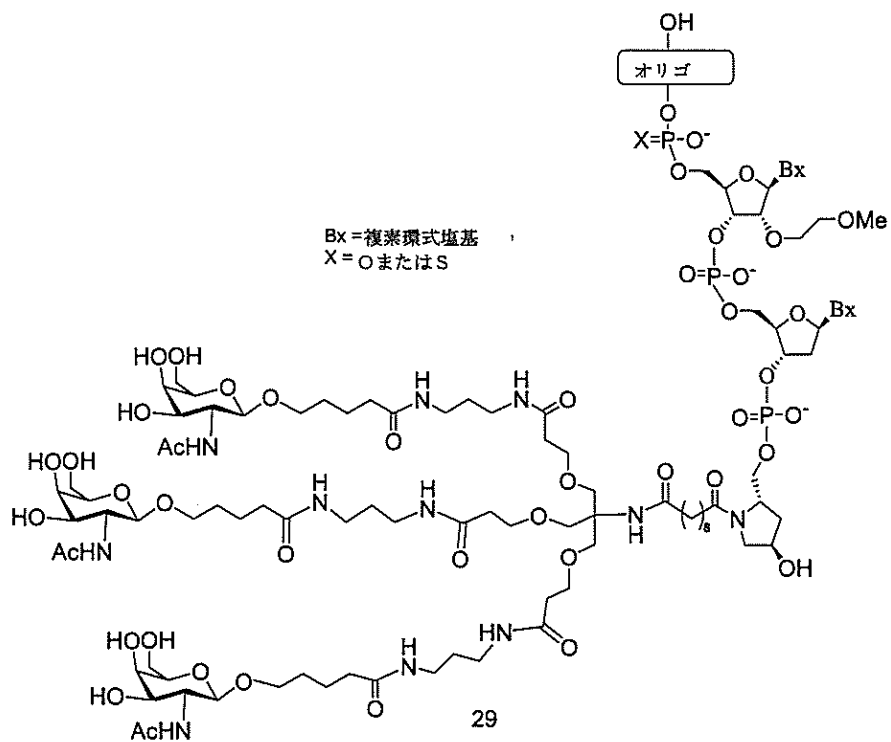
30

40

【 0 6 5 4 】

50

【化 1 4 0】

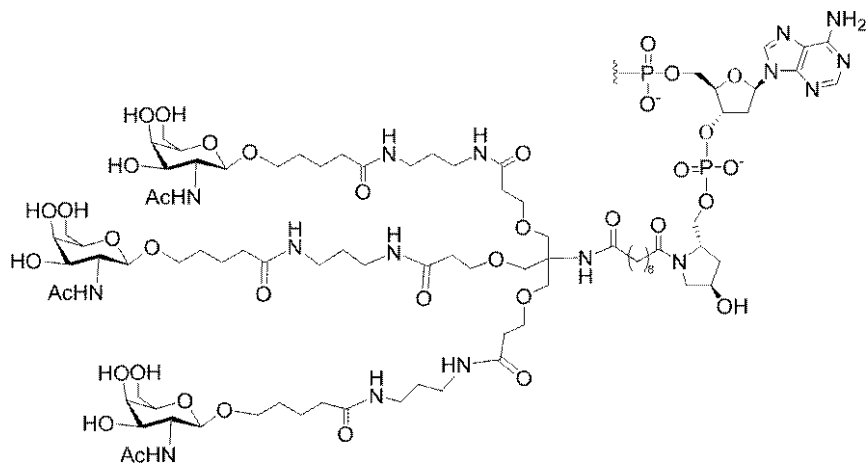


【 0 6 5 5】

保護された GalNAc<sub>3</sub> - 1 は以下の構造を有する。

【 0 6 5 6】

【化 1 4 1】



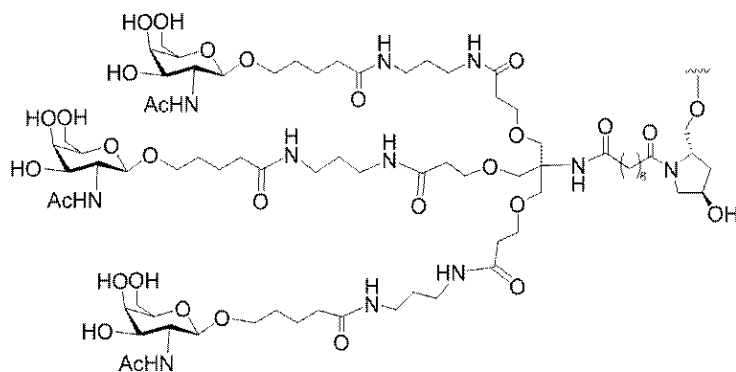
【 0 6 5 7】

共役基 GalNAc<sub>3</sub> - 1 (GalNAc<sub>3</sub> - 1<sub>a</sub>) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。GalNAc<sub>3</sub> - 1<sub>a</sub> は、以下の式を有する。

【 0 6 5 8】



## 【化 1 4 2】



10

## 【 0 6 5 9】

固体支持体に結合された保護GalNAc<sub>3</sub>-1（化合物25）を実施例7に例証される手順どおりに調製した。3'末端にGalNAc<sub>3</sub>-1を含むオリゴマー化合物29を、自動DNA/RNA合成における標準的手順を用いて調製した（Dupouy et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 3623-3627を参照のこと）。ホスホラミダイト構築ブロック（化合物1及び1a）を実施例1に例証される手順どおりに調製した。他のホスホラミダイト構築ブロックを用いて既定の配列及び組成を有するオリゴマー化合物を調製することができるため、例証されるホスホラミダイトは、代表的なものであり、限定する意図はない。固体支持体に添加されるホスホラミダイトの順序及び量を調整して、本明細書に記載するギャプトオリゴマー化合物を調製することができる。そのようなギャプトオリゴマー化合物は、任意の所与の標的によって指示される既定の組成及び塩基配列を有しうる。

20

実施例10：5'末端にGalNAc<sub>3</sub>-1を含む共役ASO（化合物34）の一般的調製

## 【 0 6 6 0】

30

40

50

## 40

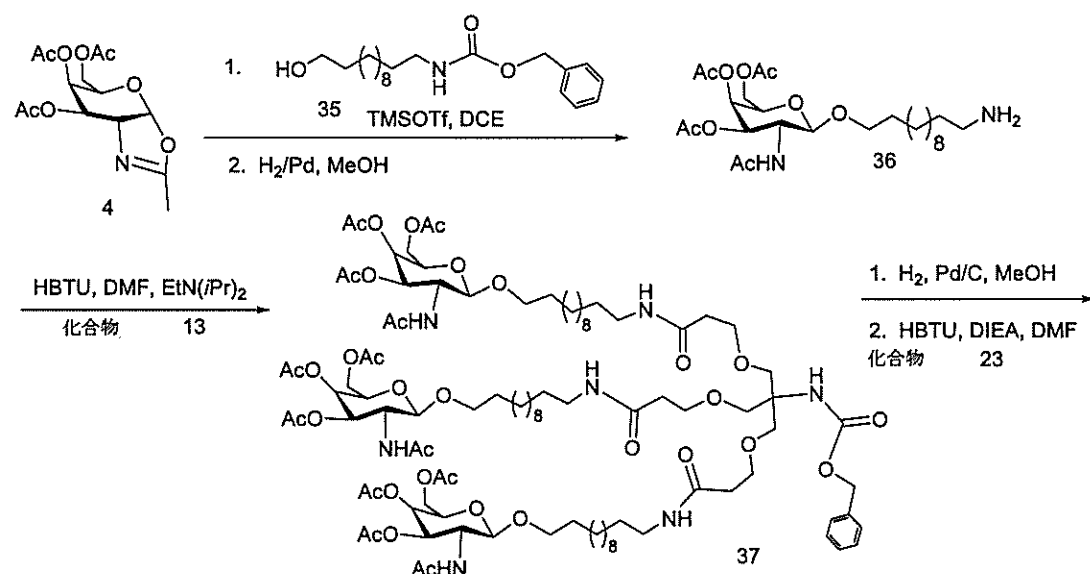
## 50

記載するギャプトオリゴマー化合物を調製することができる。そのようなギャプトオリゴマー化合物は、任意の所与の標的によって決まる既定の組成及び塩基配列を有する。

実施例 11：化合物 39 の調製

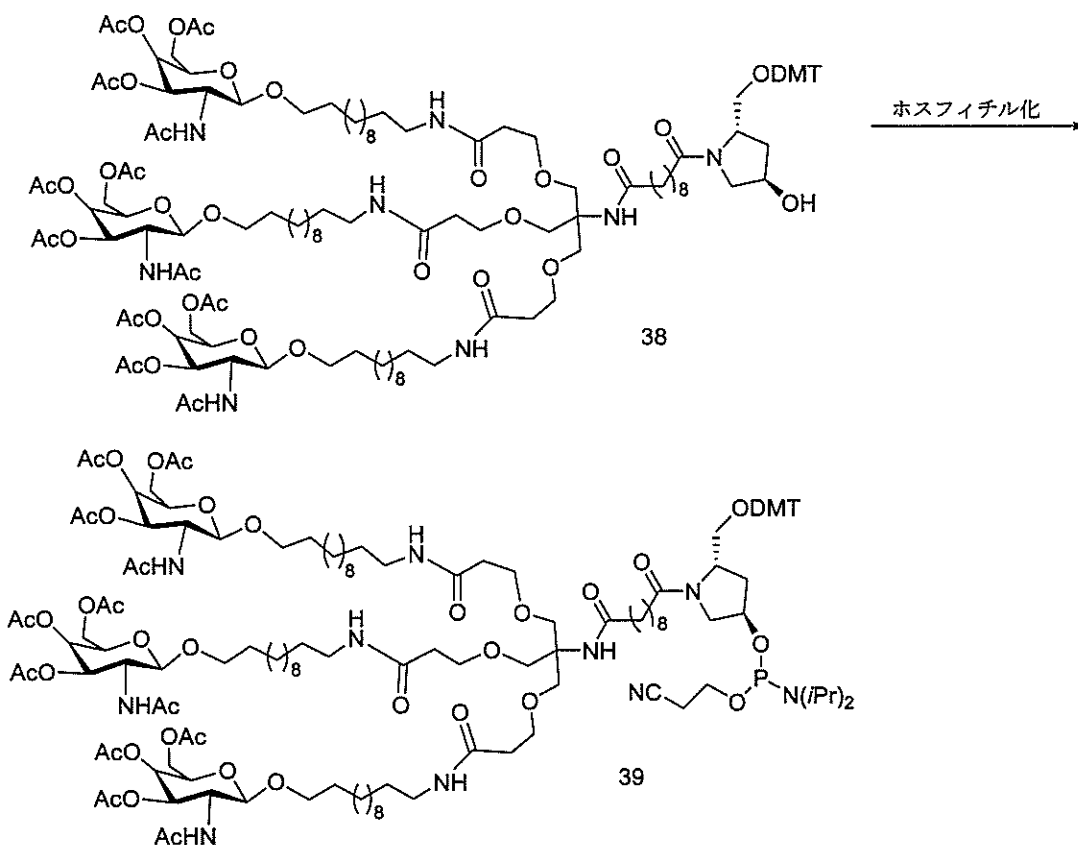
【 0 6 6 2 】

【 化 1 4 4 】



【 0 6 6 3 】

【 化 1 4 5 】



【 0 6 6 4 】

化合物 4、13、及び 23 を実施例 2、4、及び 5 に例証される手順どおりに調製した。

化合物 35 を Rouchaud et al., Eur. J. Org. Chem., 201

10

20

30

40

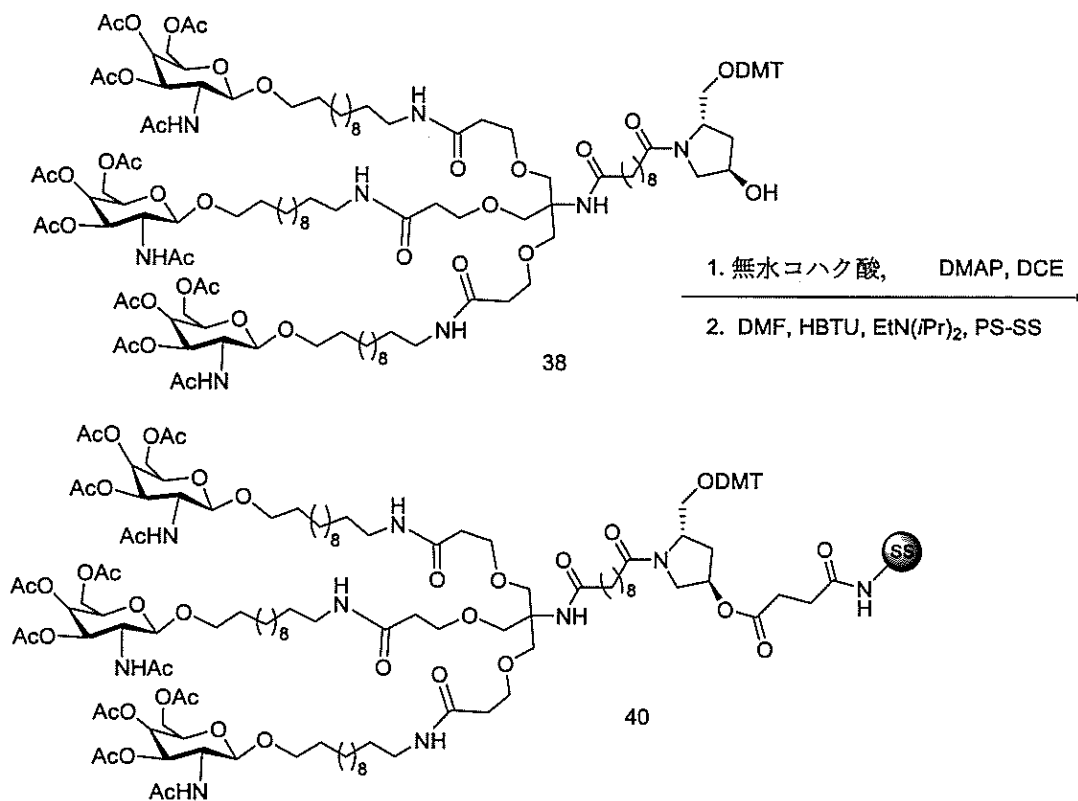
50

1, 12, 2346 - 2353 に公開された同様の手順を用いて調製する。

実施例 12：化合物 40 の調製

【0665】

【化146】



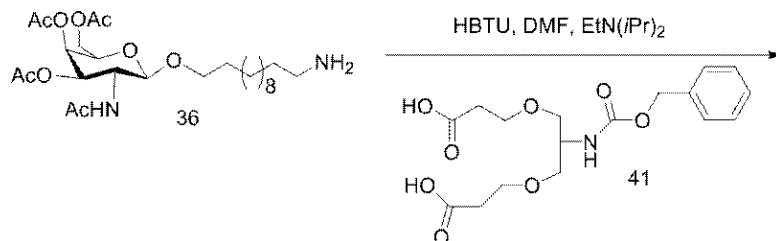
【0666】

化合物 38 を実施例 11 に例証される手順どおりに調製する。

実施例 13：化合物 44 の調製

【0667】

【化147】



【0668】

10

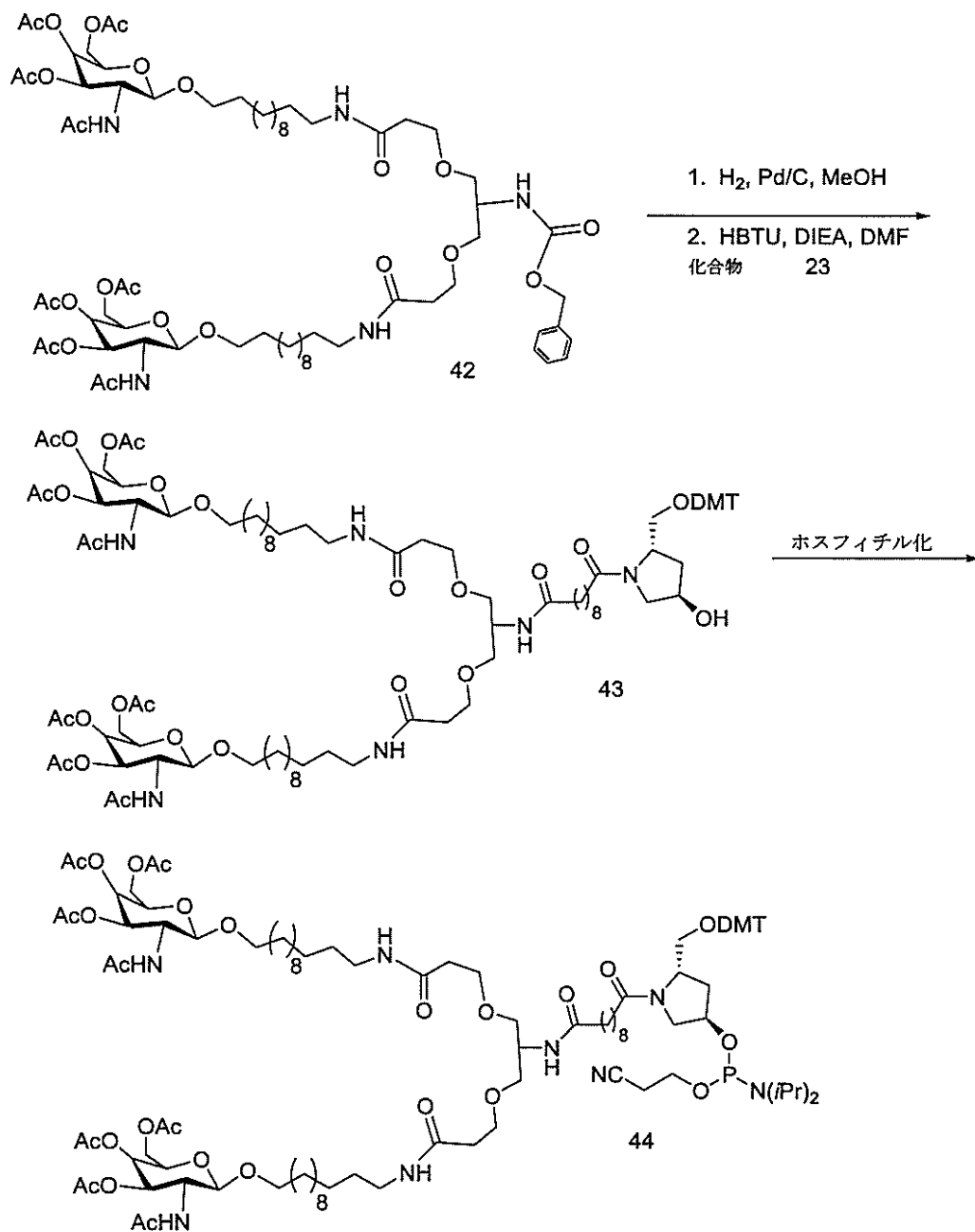
20

30

40

50

## 【化 1 4 8】



10

20

30

## 【 0 6 6 9】

化合物 2 3 及び 3 6 を実施例 5 及び 1 1 に例証される手順どおりに調製する。化合物 4 1 を、国際公開第 WO 2 0 0 9 0 8 2 6 0 7 号に公開された同様の手順を用いて調製する。

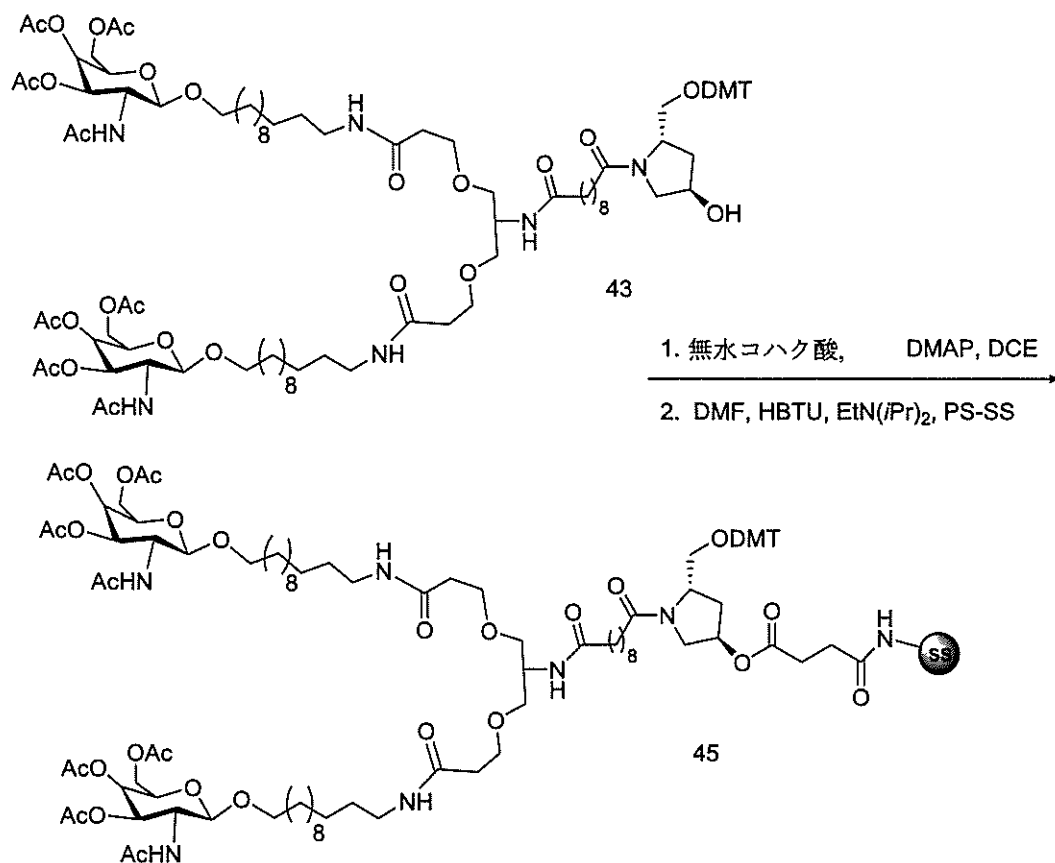
実施例 1 4：化合物 4 5 の調製

## 【 0 6 7 0】

40

50

## 【化 1 4 9】



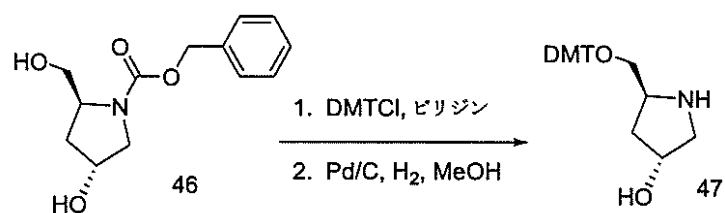
## 【 0 6 7 1】

化合物 4 3 を実施例 1 3 に例証される手順どおりに調製する。

実施例 1 5 : 化合物 4 7 の調製

## 【 0 6 7 2】

## 【化 1 5 0】



## 【 0 6 7 3】

化合物 4 6 は、市販のものである。

実施例 1 6 : 化合物 5 3 の調製

## 【 0 6 7 4】

10

20

30

40

50

COCC(=O)CCCCCCCCN (48) + CC(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (49)  $\xrightarrow{\text{HBTU, EtN}(\text{iPr})_2, \text{DMF}}$  COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (50)

1. TFA  
 2. HBTU, EtN(iPr)<sub>2</sub>, DMF

COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (49) + COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (50)  $\xrightarrow{\text{1. LiOH, MeOH; 2. HBTU, EtN}(\text{iPr})_2, \text{DMF}}$  COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (51)

1. H<sub>2</sub>, Pd/C  
 2. HBTU, EtN(iPr)<sub>2</sub>, DMF

COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (51) + COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (49)  $\xrightarrow{\text{1. H}_2, \text{Pd/C; 2. HBTU, EtN}(\text{iPr})_2, \text{DMF}}$  COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (52)

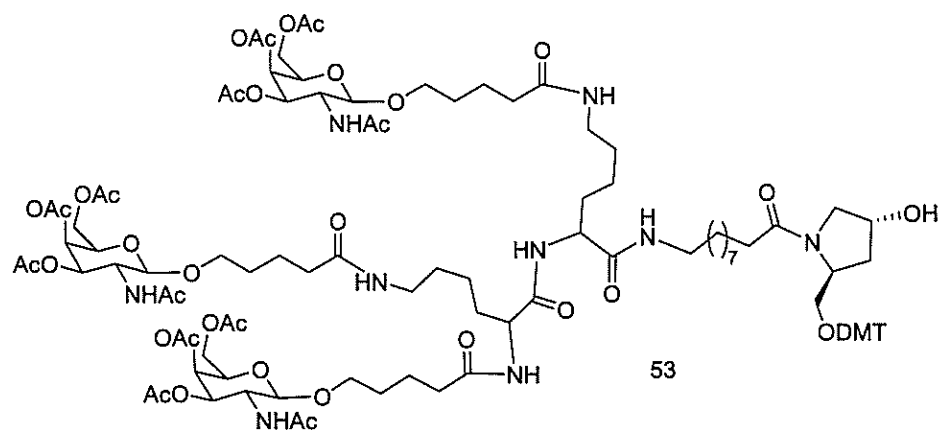
1. H<sub>2</sub>, Pd/C  
 2. HBTU, EtN(iPr)<sub>2</sub>, DMF

COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (52) + COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (49)  $\xrightarrow{\text{1. H}_2, \text{Pd/C; 2. HBTU, EtN}(\text{iPr})_2, \text{DMF}}$  COCC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)CCCCNC(=O)C(C)(C)OC(=O)O (53)

化合物 48 及び 49 は、市販のものである。化合物 17 及び 47 を実施例 4 及び 15 に例証される手順どおりに調製する。

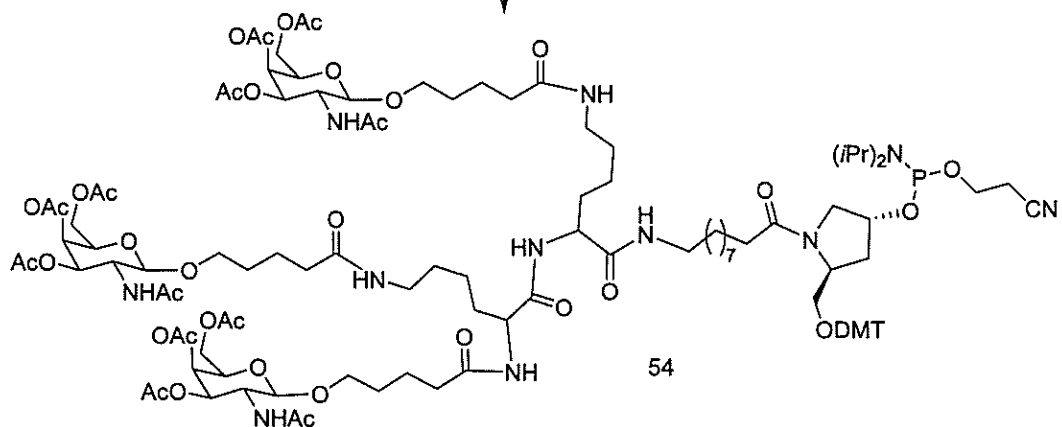
【 0 6 7 6 】

【化 1 5 2】



10

ホスフィチル化



20

【 0 6 7 7 】

化合物 5 3 を実施例 1 6 に例証される手順どおりに調製する。

30

実施例 1 8 : 化合物 5 5 の調製

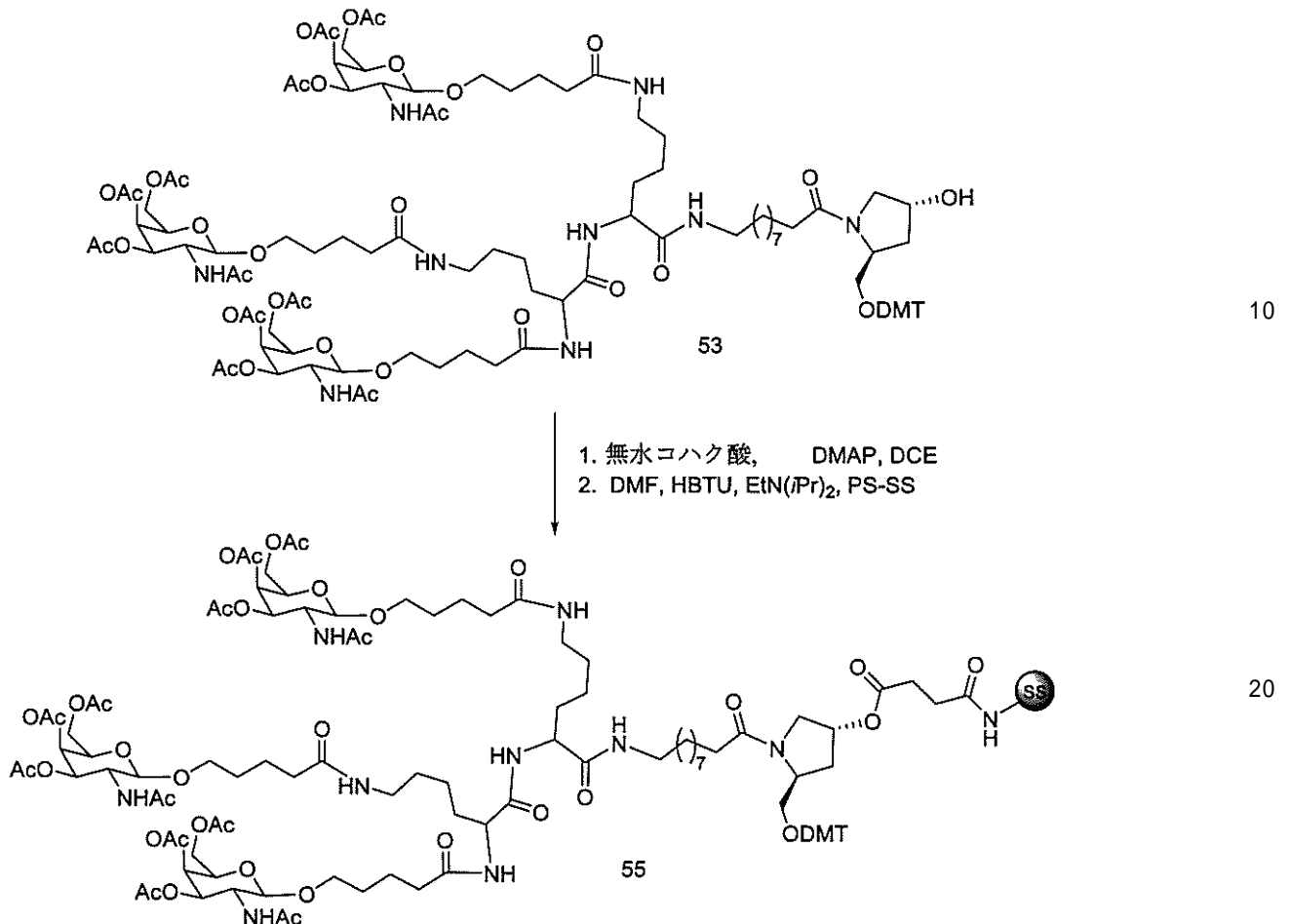
【 0 6 7 8 】

40

50



## 【化 1 5 3】



## 【 0 6 7 9】

化合物 53 を実施例 16 に例証される手順どおりに調製する。

実施例 19：固相技法による 3' 位に GalNAc<sub>3</sub>-1 を含む共役 ASO の調製のための一般的な方法 (ISIS 647535、647536、及び 651900 の調製)

## 【 0 6 8 0】

別段の明示がある場合を除き、オリゴマー化合物の合成に用いるすべての試薬及び溶液を商業的供給源から購入する。標準のホスホラミダイト構築ブロック及び固体支持体を、例えば、T、A、G、及び mC 残基を含む、ヌクレオシド残基の組み込みのために用いる。無水アセトニトリル中のホスホラミダイトの 0.1 M 溶液を b-D-2'-デオキシリボヌクレオシド及び 2'-MOE に用いた。

## 【 0 6 8 1】

カラムに充填した GalNAc<sub>3</sub>-1 負荷 VIMAD 固体支持体 (110 μmol/g、Guzaev et al., 2003) でのホスホラミダイトカップリング法により、ASO 合成を、ABI 394 合成装置 (1~2 μmol の規模) または GE Healthcare Bioscience AeKTA オリゴパイロット合成装置 (40~200 μmol の規模) で実行した。このカップリングステップでは、固体支持体の負荷量に対して 4 倍量のホスホラミダイトを送達し、ホスホラミダイト縮合を 10 分間行った。他のすべてのステップは、製造業者から提供された標準のプロトコルに従った。トルエン中の 6% ジクロロ酢酸溶液を用いて、ヌクレオチドの 5'-ヒドロキシル基からジメチルトリチル (DMT) 基を除去した。カップリングステップ中、無水 CH<sub>3</sub>CN 中の 4,5-ジシアノイミダゾール (0.7 M) を活性化剤として用いた。ホスホロチオエート連結部を、3 分間の接触時間で、1:1 のピリジン/CH<sub>3</sub>CN 中のキサンタンヒドリドの 0.1 M 溶液による硫化によって導入した。6% の水を含む CH<sub>3</sub>CN 中の 20% の tert-

ブチルヒドロペルオキシドの溶液を酸化剤として用いて、12分間の接触時間で、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部を得た。

【0682】

所望の配列が構築された後、シアノエチルホスフェート保護基を、45分間の接触時間で、トリエチルアミンとアセトニトリルの1:1(v/v)の混合物を用いて脱保護した。固体支持体に結合されたASOをアンモニア水(28~30重量%)中に懸濁し、55で6時間加熱した。

【0683】

その後、非結合型ASOを濾過し、アンモニアを沸去した。残渣を強アニオン交換カラムでの高圧液体クロマトグラフィーによって精製した(GE Healthcare Bioscience, Source 30Q、30 $\mu$ m、2.54 $\times$ 8cm、A=30%CH<sub>3</sub>CN水溶液中100mM酢酸アンモニウム、B=A中1.5M NaBr、60分後0~40%のB、流量14mL/分-1、 $\lambda$ =260nm)。残渣を逆相カラムでのHPLCにより脱塩して、固体支持体への初期負荷量に基づいて15~30%の単離収率で所望のASOを得た。ASOを、Agilent 1100 MSDシステムを用いたイオン対HPLC/MS分析によって特徴付けた。

【0684】

当技術分野で周知の標準のオリゴヌクレオチド合成手順を用いて共役体を含まないアンチセンスオリゴヌクレオチドを合成した。

【0685】

これらの方法を用いて、ApoC IIIを標的とする3個の別個のアンチセンス化合物を調製した。以下の表17に要約されるように、ApoC IIIを標的とする3個のアンチセンス化合物のそれぞれは、同一の核酸塩基配列を有し、ISIS 304801は、すべてがホスホロチオエート連結部である5'-10'-5MOEギャップマーであり、ISIS 647535は、GalNAc<sub>3</sub>-1をその3'末端で共役させたことを除いて、ISIS 304801と同一であり、ISIS 647536は、その化合物の特定のヌクレオシド間連結部がホスホジエステル連結部であることを除いて、ISIS 647535と同一であった。表17にさらに要約されるように、SRB-1を標的とする2つの別個のアンチセンス化合物を合成した。ISIS 440762は、すべてがホスホロチオエートヌクレオシド間連結部である2'-10'-2'cEtギャップマーであり、ISIS 651900は、その3'末端にGalNAc<sub>3</sub>-1を含めたことを除いて、ISIS 440762と同一であった。

【0686】

10

20

30

40

50

## 【表 2】

表 17

ApoC III及びSRB-1を標的とする修飾ASO

| ASO         | 配列(5'から 3')   | 標的       | 計算された質量 | 観察された質量 | 配列番号 |
|-------------|---|----------|---------|---------|------|
| ISIS 304801 | A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>e</sub>   | ApoC III | 7165.4  | 7164.4  | 821  |
| ISIS 647535 | A <sub>cs</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | ApoC III | 9239.5  | 9237.8  | 822  |
| ISIS 647536 | A <sub>cs</sub> G <sub>co</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> A <sub>cs</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | ApoC III | 9142.9  | 9140.8  | 822  |
| ISIS 440762 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>  | SRB-1    | 4647.0  | 4646.4  | 823  |
| ISIS 651900 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ko</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>  | SRB-1    | 6721.1  | 6719.4  | 824  |

10

20

## 【0687】

下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「k」は、6'-(S)-CH<sub>3</sub>二環式ヌクレオシド(例えば、cet)を示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示し、「o'」は、-O-P(=O)(OH)-を示す。上付き文字「m」は、5-メチルシトシンを示す。「GalNAc<sub>3</sub>-1」は、先の実施例9に示された構造を有する共役基を示す。GalNAc<sub>3</sub>-1が、ASOを共役体の残りの部分に連結させる切断可能なアデノシンを含み、「GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>」と指定されることに留意されたい。上述の表ではこの命名法を用いて、共役体の一部であるアデノシンを含む全核酸塩基配列を示す。したがって、上述の表において、「Ado」を省略して「GalNAc<sub>3</sub>-1」で終了する配列を列記することもできる。下付き文字「a」を用いて切断可能なヌクレオシドまたは切断可能部分を欠く共役基の部分を示すこの慣例をこれらの実施形態の全体を通して用いる。切断可能部分を欠く共役基のこの部分は、本明細書において「クラスター」または「共役クラスター」または「GalNAc<sub>3</sub>クラスター」と称される。特定の事例において、これは、そのクラスター及びその切断可能部分を別々に提供することによって共役基を説明するのに好都合である。

30

実施例20: huApoC IIIトランスジェニックマウスにおけるヒトApoC IIIの用量依存的アンチセンス阻害

40

## 【0688】

それぞれヒトApoC IIIを標的とし、かつ上に記載されるISIS 304801及びISIS 647535を別々に試験し、用量依存的試験において、ヒトApoC IIIトランスジェニックマウスにおけるヒトApoC IIIを阻害するそれらの能力について評価した。

処理

## 【0689】

ヒトApoC IIIトランスジェニックマウスを12時間の明暗周期で維持し、Teklad実験食餌を不断給餌した。実験開始前に動物を研究施設で少なくとも7日間順化させ

50

た。A S OをP B S中に調製し、0.2ミクロンのフィルターを通して濾過して滅菌した。注入のためにA S Oを0.9% P B S中に溶解した。

【0690】

ヒトA p o C I I Iトランスジェニックマウスに、I S I S 304801もしくは647535を、0.08、0.25、0.75、2.25、もしくは6.75  $\mu\text{mol/kg}$ で、または対照としてP B Sを、週1回2週間、腹腔内に注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終用量の投与から48時間後に血液を各マウスから採取し、マウスを殺し、組織を収集した。

A p o C I I I m R N A分析

【0691】

標準のプロトコルに従ってリアルタイムPCR及びR I B O G R E E N (登録商標) R N A定量化試薬 (M o l e c u l a r P r o b e s , I n c . E u g e n e , O R ) を用いてマウスの肝臓におけるA p o C I I I m R N Aレベルを決定した。P B S処理対照に対して標準化する前に (R i b o g r e e nを用いて) A p o C I I I m R N Aレベルを全R N Aとの比較で相対的に決定した。以下の結果は、P B S処理対照に対して標準化された各処理群のA p o C I I I m R N Aレベルの平均パーセントとして提示され、「% P B S」で表示される。各A S Oの半数効果濃度 (E D 5 0 ) も以下の表18に示される。

【0692】

例証されるように、P B S対照と比較して、両方のアンチセンス化合物がA p o C I I I R N Aを減少させた。さらに、G a l N A c 3 - 1に共役されるアンチセンス化合物 (I S I S 647535) は、G a l N A c 3 - 1共役体を欠くアンチセンス化合物 (I S I S 304801) よりもはるかに強力であった。

【0693】

【表3】

表18

ヒトA p o C I I IトランスジェニックマウスにおけるA p o C I I I m R N AレベルへのA S O処理の影響

| ASO            | 用量 ( $\mu\text{mol/kg}$ ) | %PBS | ED <sub>50</sub> ( $\mu\text{mol/kg}$ ) | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|----------------|---------------------------|------|---|------------------------|---------------|------|
| PBS            | 0                         | 100  | --                                      | -                      | --            |      |
| ISIS<br>304801 | 0.08                      | 95   | 0.77                                    | なし                     | PS/20         | 821  |
|                | 0.75                      | 42   |   |                        |               |      |
|                | 2.25                      | 32   |   |                        |               |      |
|                | 6.75                      | 19   |   |                        |               |      |
| ISIS<br>647535 | 0.08                      | 50   | 0.074                                   | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |
|                | 0.75                      | 15   |   |                        |               |      |
|                | 2.25                      | 17   |   |                        |               |      |
|                | 6.75                      | 8    |   |                        |               |      |

A p o C I I Iタンパク質分析 (比濁アッセイ)

【0694】

2013年3月29日の出版前にオンラインで公開されたG r a h a m e t a l (C i r c u l a t i o n R e s e a r c h) によって報告された手順を用いて、血漿A p o C I I Iタンパク質分析を行った。

【0695】

マウスから単離した約100  $\mu\text{L}$ の血漿を、希釈することなく、O l y m p u s臨床分析器及び市販の比濁A p o C I I Iアッセイ (K a m i y a、カタログ番号K A I - 0 0

6、Kamiya Biomedical, Seattle, WA)を用いて分析した。  
アッセイプロトコルを供給業者が説明するとおりに実行した。

【0696】

以下の表19に示されるように、PBS対照と比較して、両方のアンチセンス化合物がApoC IIIタンパク質を減少させた。さらに、GalNAc<sub>3</sub>-1に共役されるアンチセンス化合物(ISIS 647535)は、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体を欠くアンチセンス化合物(ISIS 304801)よりもはるかに強力であった。

【0697】

【表4】

表19

ヒトApoC IIIトランスジェニックマウスにおけるApoC III血漿タンパク質レベルへのASO処理の影響

| ASO         | 用量 (μmol/kg) | %PBS | ED <sub>50</sub> (μmol/kg) | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|-------------|--------------|------|----------------------------|------------------------|---------------|------|
| PBS         | 0            | 100  | --                         | --                     | --            |      |
| ISIS 304801 | 0.08         | 86   | 0.73                       | なし                     | PS/20         | 821  |
|             | 0.75         | 51   |                            |                        |               |      |
|             | 2.25         | 23   |                            |                        |               |      |
|             | 6.75         | 13   |                            |                        |               |      |
| ISIS 647535 | 0.08         | 72   | 0.19                       | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |
|             | 0.75         | 14   |                            |                        |               |      |
|             | 2.25         | 12   |                            |                        |               |      |
|             | 6.75         | 11   |                            |                        |               |      |

【0698】

血漿トリグリセリド及びコレステロールを、Bligh and Dyerの方法(Bligh, E. G. and Dyer, W. J. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917, 1959)(Bligh, E. and Dyer, W. Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911-917, 1959)(Bligh, E. and Dyer, W. Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911-917, 1959)を用いて抽出し、Beckmann Coulter臨床分析器及び市販の試薬を用いて測定した。

【0699】

トリグリセリドレベルを、PBSを注入したマウスとの比較で相対的に測定し、「%PBS」で表示する。結果が表20に提示される。例証されるように、両方のアンチセンス化合物がトリグリセリドレベルを低下させた。さらに、GalNAc<sub>3</sub>-1に共役されるアンチセンス化合物(ISIS 647535)は、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体を欠くアンチセンス化合物(ISIS 304801)よりも実質的にはるかに強力であった。

【0700】

10

20

30

40

50

## 【表 5】

表 2 0

トランスジェニックマウスにおけるトリグリセリドレベルへのASO処理の影響

| ASO         | 用量 ( $\mu$ mol/kg) | %PBS | ED <sub>50</sub> ( $\mu$ mol/kg) | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|-------------|--------------------|------|----------------------------------|------------------------|---------------|------|
| PBS         | 0                  | 100  | --                               | --                     | --            |      |
| ISIS 304801 | 0.08               | 87   | 0.63                             | なし                     | PS/20         | 821  |
|             | 0.75               | 46   |                                  |                        |               |      |
|             | 2.25               | 21   |                                  |                        |               |      |
|             | 6.75               | 12   |                                  |                        |               |      |
| ISIS 647535 | 0.08               | 65   | 0.13                             | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |
|             | 0.75               | 9    |                                  |                        |               |      |
|             | 2.25               | 8    |                                  |                        |               |      |
|             | 6.75               | 9    |                                  |                        |               |      |

10

## 【 0 7 0 1】

血漿試料をHPLCによって分析して、総コレステロールの量及びコレステロールの異なる画分(HDL及びLDL)の量を決定した。結果が表21及び22に提示される。例証されるように、両方のアンチセンス化合物が総コレステロールレベルを低下させ、LDLを低下させ、HDLを上昇させた。さらに、GalNAc<sub>3</sub>-1に共役されるアンチセンス化合物(ISIS 647535)は、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体を欠くアンチセンス化合物(ISIS 304801)よりも実質的にはるかに強力であった。HDLレベルの増加及びLDLレベルの減少は、ApoC IIIのアンチセンス阻害の心臓血管の有益な影響である。

20

## 【 0 7 0 2】

## 【表 6】

表 2 1

トランスジェニックマウスにおける総コレステロールレベルへのASO処理の影響

| ASO         | 用量 ( $\mu$ mol/kg) | 総コレステロール (mg/dL) | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|-------------|--------------------|------------------|------------------------|---------------|------|
| PBS         | 0                  | 257              | --                     | --            |      |
| ISIS 304801 | 0.08               | 226              | なし                     | PS/20         | 821  |
|             | 0.75               | 164              |                        |               |      |
|             | 2.25               | 110              |                        |               |      |
|             | 6.75               | 82               |                        |               |      |
| ISIS 647535 | 0.08               | 230              | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |
|             | 0.75               | 82               |                        |               |      |
|             | 2.25               | 86               |                        |               |      |
|             | 6.75               | 99               |                        |               |      |

30

40

## 【 0 7 0 3】

50

## 【表 7】

表 2 2

トランスジェニックマウスにおけるHDL及びLDLコレステロールレベルへのASO処理の影響

| ASO         | 用量 ( $\mu$ mol/kg) | HDL (mg/dL) | LDL (mg/dL) | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|-------------|--------------------|-------------|-------------|------------------------|---------------|------|
| PBS         | 0                  | 17          | 28          | --                     | --            |      |
| ISIS 304801 | 0.08               | 17          | 23          | なし                     | PS/20         | 821  |
|             | 0.75               | 27          | 12          |                        |               |      |
|             | 2.25               | 50          | 4           |                        |               |      |
|             | 6.75               | 45          | 2           |                        |               |      |
| ISIS 647535 | 0.08               | 21          | 21          | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |
|             | 0.75               | 44          | 2           |                        |               |      |
|             | 2.25               | 50          | 2           |                        |               |      |
|             | 6.75               | 58          | 2           |                        |               |      |

10

## 薬物動態分析 (PK)

20

## 【0704】

ASOのPKも評価した。肝臓及び腎臓試料を切り刻み、標準のプロトコルを用いて抽出した。試料をIP-HPLC-MSを利用するMSD1で分析した。全長ISIS 304801及び647535の組織レベル ( $\mu$ g/g) を測定し、結果が表23に提供される。例証されるように、総全長アンチセンス化合物の肝臓濃度は、これら2つのアンチセンス化合物と同様であった。したがって、GalNAc<sub>3</sub>-1共役アンチセンス化合物が肝臓でより活性であるが(上のRNA及びタンパク質データによって実証されるように)、肝臓内で著しく高い濃度では存在しない。実際には、計算されたEC<sub>50</sub>(表23に提供される)は、共役化合物の力価の観察された増加が蓄積の増加に完全に起因するわけではないことを裏付ける。この結果は、共役体が、肝臓蓄積単独以外の機構によって、おそらくアンチセンス化合物の細胞への生産的な取り込みを改善することによって、力価を改善したことを示唆する。

30

## 【0705】

結果は、腎臓におけるGalNAc<sub>3</sub>-1共役アンチセンス化合物の濃度が、GalNAc共役体を欠くアンチセンス化合物の濃度よりも低いことも示す。これは、いくつかの有益な治療的意味を有する。腎臓における活性が要求されない治療的指標において、腎臓への曝露は、腎毒性の危険性を有し、それに見合う利益がない。さらに、腎臓における高濃度は、典型的には、尿への化合物の損失をもたらし、より迅速なクリアランスをもたらす。したがって、非腎臓標的の場合、腎臓蓄積は望ましくない。これらのデータは、GalNAc<sub>3</sub>-1共役が腎臓蓄積を減少させることを示唆する。

40

## 【0706】

50

## 【表 8】

表 2 3

トランスジェニックマウスにおけるASO処理のPK分析

| ASO         | 用量 ( $\mu$ mol/kg) | 肝臓 ( $\mu$ g/g) | 腎臓 ( $\mu$ g/g) | 肝臓EC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/g) | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|-------------|--------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|------------------------|---------------|------|
| ISIS 304801 | 0.1                | 5.2             | 2.1             | 53                              | なし                     | PS/20         | 821  |
|             | 0.8                | 62.8            | 119.6           |                                 |                        |               |      |
|             | 2.3                | 142.3           | 191.5           |                                 |                        |               |      |
|             | 6.8                | 202.3           | 337.7           |                                 |                        |               |      |
| ISIS 647535 | 0.1                | 3.8             | 0.7             | 3.8                             | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |

10

## 【 0 7 0 7 】

ISIS 647535の代謝物も特定し、それらの質量を高分解能質量分析によって確認した。観察された代謝物の切断部位及び構造が以下に示される。標準的手順を用いて全長ASOの相対%を計算し、結果が表23に提示される。ISIS 647535の主な代謝物は、全共役体を欠く全長ASO（すなわち、ISIS 304801）であり、これは、以下に示される切断部位Aでの切断に由来する。さらに、他の切断部位に由来するさらなる代謝物も観察された。これらの結果は、細胞内の酵素によって切断されうるか、またはサイトゾルの還元環境下で切断されうるか、またはエンドソーム及びリソソーム内の酸性pHに対して不安定な、GalNAc<sub>3</sub>-1糖とASOとの間のエステル、ペプチド、ジスルフィド、ホスホラミデート、またはアシルヒドラゾンなどの他の切断可能な結合の導入も有用でありうることを示唆する。

20

## 【 0 7 0 8 】

## 【表 9】

30

表 2 3 a

ISIS 647535の観察された全長代謝物

| 代謝物 | ASO                                       | 切断部位 | 相対%  |
|-----|---|------|------|
| 1   | ISIS 304801                               | A    | 36.1 |
| 2   | ISIS 304801+dA                            | B    | 10.5 |
| 3   | ISIS 647535-[3 GalNAc]                    | C    | 16.1 |
| 4   | ISIS 647535-[3 GalNAc+1 5-ヒドロキシ-ペンタン酸テザー] | D    | 17.6 |
| 5   | ISIS 647535-[2 GalNAc+2 5-ヒドロキシ-ペンタン酸テザー] | D    | 9.9  |
| 6   | ISIS 647535-[3 GalNAc+3 5-ヒドロキシ-ペンタン酸テザー] | D    | 9.8  |

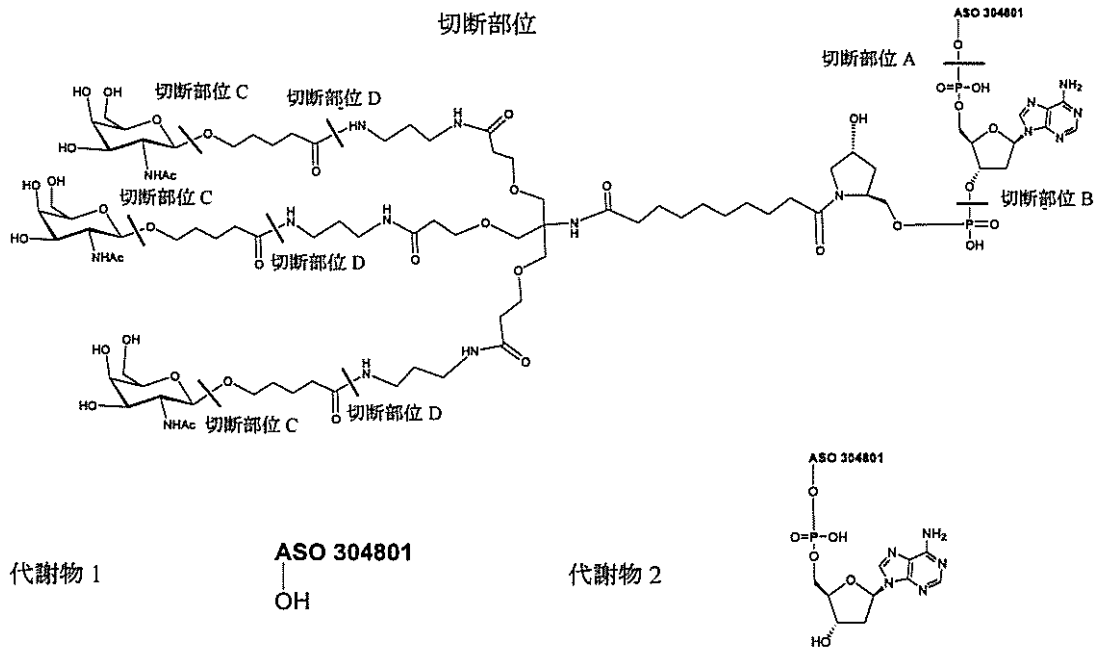
40

## 【 0 7 0 9 】

50



【化 1 5 4】



10

【 0 7 1 0】

20

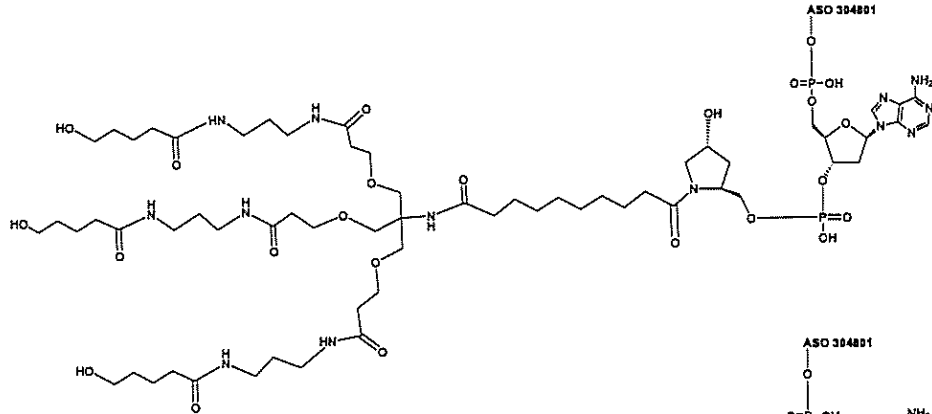
30

40

50

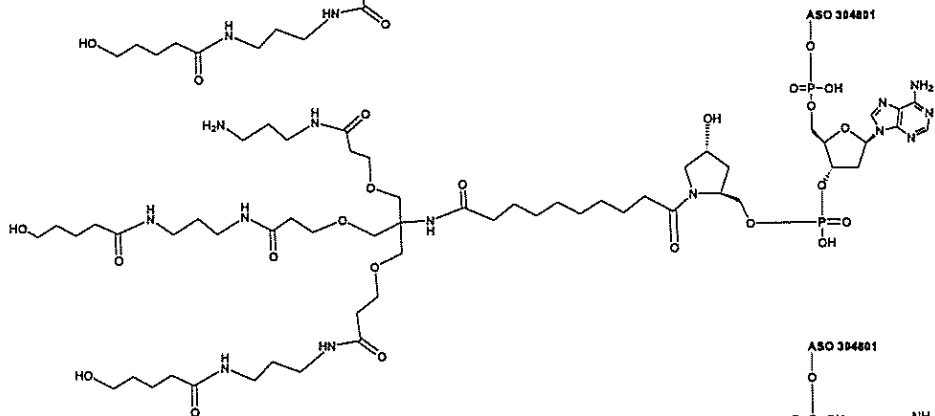
## 【化 1 5 5】

代謝物 3



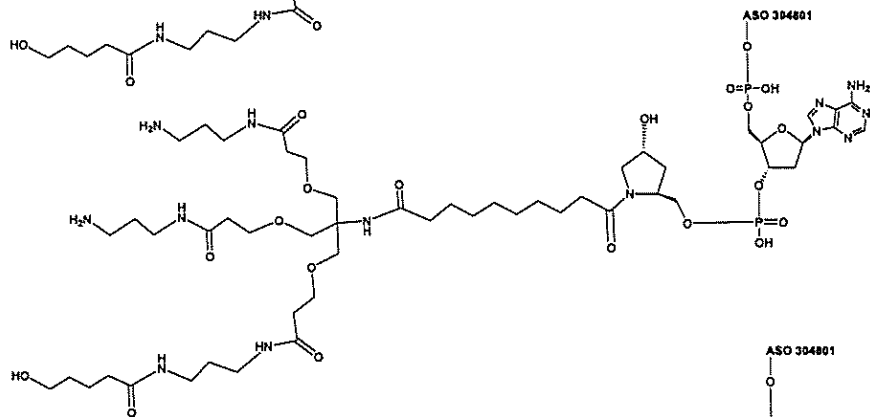
10

代謝物 4



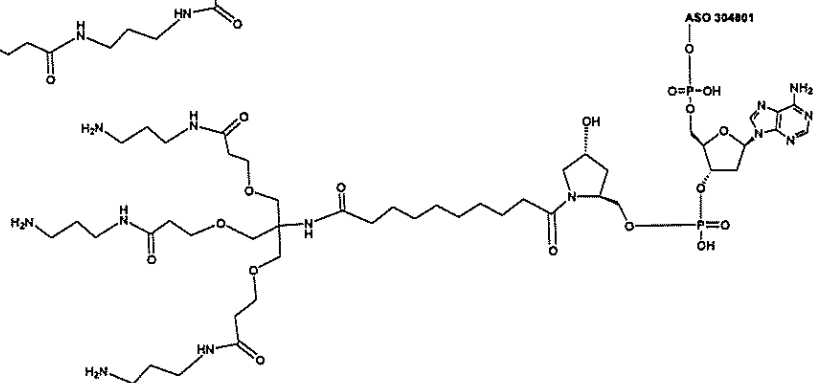
20

代謝物 5



30

代謝物 6



実施例 21：単回投与試験におけるヒト ApoC III トランスジェニックマウスにおけるヒト ApoC III のアンチセンス阻害

40

## 【0711】

それぞれヒト ApoC III を標的とし、かつ表 17 に記載される ISIS 304801、647535、及び 647536 を、単回投与試験において、ヒト ApoC III トランスジェニックマウスにおけるヒト ApoC III を阻害するそれらの能力についてさらに評価した。

処理

## 【0712】

ヒト ApoC III トランスジェニックマウスを 12 時間の明暗周期に維持し、Teklad 実験食餌を不断給餌した。実験開始前に動物を研究施設で少なくとも 7 日間順化させた。ASO を PBS 中に調製し、0.2 ミクロンのフィルターを通して濾過滅菌した。注

50

入のために A S O を 0 . 9 % P B S 中に溶解した。

【 0 7 1 3 】

ヒト A p o C I I I トランスジェニックマウスに、 I S I S 3 0 4 8 0 1、6 4 7 5 3 5、もしくは 6 4 7 5 3 6 ( 上述のもの )、または P B S 処理対照を、以下に示される投与量で 1 回、腹腔内注入した。処理群は、3 匹の動物からなり、対照群は、4 匹の動物からなった。治療前及び最終用量後に血液を各マウスから採取し、血漿試料を分析した。最終投与の 7 2 時間後にマウスを 殺した。

【 0 7 1 4 】

試料を収集し、分析して、肝臓における A p o C I I I m R N A 及びタンパク質レベル、血漿トリグリセリド、ならびに H D L 及び L D L 画分を含むコレステロールを決定し、上述 ( 実施例 2 0 ) のように評価した。これらの分析からのデータは、以下の表 2 4 ~ 2 8 に提示される。血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ ( A L T )、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ( A S T ) を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。A L T 及び A S T レベルは、アンチセンス化合物がすべての投与量で良好な耐性であったことを示した。

【 0 7 1 5 】

これらの結果は、G a l N A c<sub>3</sub> - 1 共役体を欠くアンチセンス化合物 ( I S I S 3 0 4 8 0 1 ) と比較して、3 ' 末端に G a l N A c<sub>3</sub> - 1 共役体を含むアンチセンス化合物 ( I S I S 6 4 7 5 3 5 及び 6 4 7 5 3 6 ) の力価の改善を示す。さらに、G a l N A c<sub>3</sub> - 1 共役体及びいくつかのホスホジエステル連結部を含む I S I S 6 4 7 5 3 6 は、同一の共役体を含む I S I S 6 4 7 5 3 5 と同程度に強力であり、A S O 内のすべてのヌクレオシド間連結部は、ホスホロチオエート連結部である。

【 0 7 1 6 】

【表 1 0 】

表 2 4

ヒト A p o C I I I トランスジェニックマウスにおける A p o C I I I m R N A レベルへの A S O 処理の影響

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | %PBS | ED <sub>50</sub><br>(mg/kg) | 3'共役体                  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配 列 番<br>号 |
|----------------|----------------|------|-----------------------------|------------------------|-------------------|------------|
| PBS            | 0              | 99   | --                          | -                      | --                |            |
| ISIS<br>304801 | 1              | 104  | 13.2                        | なし                     | PS/20             | 821        |
|                | 3              | 92   |                             |                        |                   |            |
|                | 10             | 71   |                             |                        |                   |            |
|                | 30             | 40   |                             |                        |                   |            |
| ISIS<br>647535 | 0.3            | 98   | 1.9                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20             | 822        |
|                | 1              | 70   |                             |                        |                   |            |
|                | 3              | 33   |                             |                        |                   |            |
|                | 10             | 20   |                             |                        |                   |            |
| ISIS<br>647536 | 0.3            | 103  | 1.7                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/PO/20          | 822        |
|                | 1              | 60   |                             |                        |                   |            |
|                | 3              | 31   |                             |                        |                   |            |
|                | 10             | 21   |                             |                        |                   |            |

【 0 7 1 7 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 1】

表 2 5

ヒトApoC IIIトランスジェニックマウスにおけるApoC III血漿タンパク質レベルへのASO処理の影響

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | %PBS | ED <sub>50</sub><br>(mg/kg) | 3'共役体                  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配列番号 |
|----------------|----------------|------|-----------------------------|------------------------|-------------------|------|
| PBS            | 0              | 99   | --                          | --                     | --                |      |
| ISIS<br>304801 | 1              | 104  | 23.2                        | なし                     | PS/20             | 821  |
|                | 3              | 92   |                             |                        |                   |      |
|                | 10             | 71   |                             |                        |                   |      |
|                | 30             | 40   |                             |                        |                   |      |
| ISIS<br>647535 | 0.3            | 98   | 2.1                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20             | 822  |
|                | 1              | 70   |                             |                        |                   |      |
|                | 3              | 33   |                             |                        |                   |      |
|                | 10             | 20   |                             |                        |                   |      |
| ISIS<br>647536 | 0.3            | 103  | 1.8                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/PO/20          | 822  |
|                | 1              | 60   |                             |                        |                   |      |
|                | 3              | 31   |                             |                        |                   |      |
|                | 10             | 21   |                             |                        |                   |      |

10

20

## 【 0 7 1 8 】

## 【表 1 2】

表 2 6

トランスジェニックマウスにおけるトリグリセリドレベルへのASO処理の影響

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | %PBS | ED <sub>50</sub><br>(mg/kg) | 3'共役体                  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配列番号 |
|----------------|----------------|------|-----------------------------|------------------------|-------------------|------|
| PBS            | 0              | 98   | --                          | --                     | --                |      |
| ISIS<br>304801 | 1              | 80   | 29.1                        | なし                     | PS/20             | 821  |
|                | 3              | 92   |                             |                        |                   |      |
|                | 10             | 70   |                             |                        |                   |      |
|                | 30             | 47   |                             |                        |                   |      |
| ISIS<br>647535 | 0.3            | 100  | 2.2                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20             | 822  |
|                | 1              | 70   |                             |                        |                   |      |
|                | 3              | 34   |                             |                        |                   |      |
|                | 10             | 23   |                             |                        |                   |      |
| ISIS<br>647536 | 0.3            | 95   | 1.9                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/PO/20          | 822  |
|                | 1              | 66   |                             |                        |                   |      |
|                | 3              | 31   |                             |                        |                   |      |
|                | 10             | 23   |                             |                        |                   |      |

30

40

## 【 0 7 1 9 】

50

## 【表 1 3】

表 2 7

トランスジェニックマウスにおける総コレステロールレベルへのASO処理の影響

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | %PBS | 3'共役体                  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配列番号 |
|----------------|----------------|------|------------------------|-------------------|------|
| PBS            | 0              | 96   | --                     | --                |      |
| ISIS<br>304801 | 1              | 104  | なし                     | PS/20             | 821  |
|                | 3              | 96   |                        |                   |      |
|                | 10             | 86   |                        |                   |      |
|                | 30             | 72   |                        |                   |      |
| ISIS<br>647535 | 0.3            | 93   | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20             | 822  |
|                | 1              | 85   |                        |                   |      |
|                | 3              | 61   |                        |                   |      |
|                | 10             | 53   |                        |                   |      |
| ISIS<br>647536 | 0.3            | 115  | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/PO/20          | 822  |
|                | 1              | 79   |                        |                   |      |
|                | 3              | 51   |                        |                   |      |
|                | 10             | 54   |                        |                   |      |

10

20

## 【0 7 2 0】

## 【表 1 4】

表 2 8

トランスジェニックマウスにおけるHDL及びLDLコレステロールレベルへのASO処理の影響

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | HDL<br>%PBS | LDL<br>%PBS | 3'共役体                  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配列番号 |
|----------------|----------------|-------------|-------------|------------------------|-------------------|------|
| PBS            | 0              | 131         | 90          | --                     | --                |      |
| ISIS<br>304801 | 1              | 130         | 72          | なし                     | PS/20             | 821  |
|                | 3              | 186         | 79          |                        |                   |      |
|                | 10             | 226         | 63          |                        |                   |      |
|                | 30             | 240         | 46          |                        |                   |      |
| ISIS<br>647535 | 0.3            | 98          | 86          | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20             | 822  |
|                | 1              | 214         | 67          |                        |                   |      |
|                | 3              | 212         | 39          |                        |                   |      |
|                | 10             | 218         | 35          |                        |                   |      |
| ISIS<br>647536 | 0.3            | 143         | 89          | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/PO/20          | 822  |
|                | 1              | 187         | 56          |                        |                   |      |
|                | 3              | 213         | 33          |                        |                   |      |
|                | 10             | 221         | 34          |                        |                   |      |

30

40

## 【0 7 2 1】

これらの結果は、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体がアンチセンス化合物の力価を改善することを裏付ける。これらの結果は、GalNAc<sub>3</sub>-1共役アンチセンス化合物の同等の力価

50

も示し、これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドは、混成連結部（6個のホスホジエステル連結部を有するISIS 647536）及び同一のアンチセンス化合物の完全なホスホロチオエートバージョン（ISIS 647535）を有する。

#### 【0722】

ホスホロチオエート連結部は、アンチセンス化合物にいくつかの特性を提供する。例えば、これらは、ヌクレアーゼ消化に抵抗し、タンパク質に結合し、腎臓/尿ではなく肝臓における化合物の蓄積をもたらす。これらは、肝臓における徴候を治療する際に特に望ましい特性である。しかしながら、ホスホロチオエート連結部は、炎症性応答とも関連している。したがって、化合物におけるホスホロチオエート連結部の数を減少させることにより、炎症の危険性の減少が見込まれるが、肝臓中の化合物の濃度も低下させ、腎臓及び尿中の濃度を増加させ、ヌクレアーゼの存在下で安定性を低下させ、全体の力価を低下させる。これらの結果は、特定のホスホロチオエート連結部がホスホジエステル連結部に置換されたGalNAc<sub>3</sub>-1共役アンチセンス化合物が、肝臓における標的に対して、完全なホスホロチオエート連結部を有する対応物と同程度に強力であることを示す。そのような化合物は、より炎症誘発性が低いと見込まれる（PSの減少が炎症性効果の減少をもたらすことを示す実験を説明する実施例24を参照のこと）。

10

実施例22：生体内におけるSRB-1を標的とするGalNAc<sub>3</sub>-1共役修飾ASOの影響

#### 【0723】

それぞれSRB-1を標的とし、かつ表17に記載されるISIS 440762及び651900を、用量依存的試験において、Balb/cマウスにおけるSRB-1を阻害するそれらの能力について評価した。

20

処理

#### 【0724】

6週齢の雄Balb/cマウス（Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME）に、ISIS 440762、651900、またはPBS処理対照を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の48時間後にマウスを殺して、標準のプロトコルに従ってリアルタイムPCR及びRIBOGREEN（登録商標）RNA定量化試薬（Molecular Probes, Inc. Eugene, OR）を用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを決定した。PBS処理対照に対して標準化する前に（Ribogreenを用いて）SRB-1 mRNAレベルを全RNAとの比較で相対的に決定した。以下の結果は、PBS処理対照に対して標準化された各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示され、「%PBS」で表示される。

30

#### 【0725】

表29に例証されるように、両方のアンチセンス化合物がSRB-1 mRNAレベルを低下させた。さらに、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体（ISIS 651900）を含むアンチセンス化合物は、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体を欠くアンチセンス化合物（ISIS 440762）よりもはるかに強力であった。これらの結果は、異なる標的に相補的であり、かつ異なる化学修飾ヌクレオシドを有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて、GalNAc<sub>3</sub>-1共役体の力価利益が観察されることを実証し、この事例において、修飾ヌクレオシドは、拘束エチル糖部分（二環式糖部分）を含む。

40

#### 【0726】

## 【表 15】

表 29

Balb/cマウスにおけるSRB-1 mRNAレベルへのASO処理の影響

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | 肝臓<br>%PBS | ED <sub>50</sub><br>(mg/kg) | 3'共役体                  |  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配 列<br>番号 |
|----------------|----------------|------------|-----------------------------|------------------------|--|-------------------|-----------|
| PBS            | 0              | 100        |                             | -                      |  | --                |           |
| ISIS<br>440762 | 0.7            | 85         | 2.2                         | なし                     |  | PS/14             | 823       |
|                | 2              | 55         |                             |                        |  |                   |           |
|                | 7              | 12         |                             |                        |  |                   |           |
|                | 20             | 3          |                             |                        |  |                   |           |
| ISIS<br>651900 | 0.07           | 98         | 0.3                         | GalNAc <sub>3</sub> -1 |  | PS/14             | 824       |
|                | 0.2            | 63         |                             |                        |  |                   |           |
|                | 0.7            | 20         |                             |                        |  |                   |           |
|                | 2              | 6          |                             |                        |  |                   |           |
|                | 7              | 5          |                             |                        |  |                   |           |

## 実施例 23：ヒト末梢血単核細胞 (hPBMC) アッセイプロトコル

## 【0727】

BD Vacutainer CPTチューブ法を用いてhPBMCアッセイを実行した。US HealthWorks clinic (Faraday & El Camino Real, Carlsbad) においてインフォームドコンセントを得た志願ドナー由来の全血試料を得て、4~15個のBD Vacutainer CPT 8mLチューブ (VWRカタログ番号BD362753) 内に収集した。PBMCアッセイデータシートを用いて、各ドナーのCPTチューブ内の開始合計全血量の近似値を記録した。

## 【0728】

遠心分離の直前に、チューブを8~10回、穏やかに反転させることによって、血液試料を再度混合した。CPTチューブを、水平 (スイングアウト) ローター内で、室温 (18~25) で30分間、ブレーキオフで1500~1800RCFで遠心分離した (2700RPM、Beckman Allegra 6R)。細胞を (Ficollとポリマーゲル層との間の) バフィーコート界面から回収し、50mLの滅菌円錐チューブに移し、最大5個のCPTチューブ/50mLの円錐チューブ/ドナーをプールした。その後、細胞をPBS (Ca<sup>++</sup>、Mg<sup>++</sup>を含まない; GIBCO) で2回洗浄した。チューブを最大50mLまで満たし、数回反転させて混合した。その後、試料を、室温で15分間、330×gで遠心分離し (1215RPM、Beckman Allegra 6R)、ペレットを乱すことなくできるだけ多くの上澄みを吸引した。チューブを穏やかに回転させて細胞ペレットを取り除き、細胞をRPMI + 10% FBS + pen / strep (約1mL / 10mLの開始全血量) 中に再懸濁した。60μLの試料を、600μLのVersaLyse試薬 (Beckman Coulter、カタログ番号A09777) を有する試料バイアル (Beckman Coulter) にピペット注入し、10~15秒間穏やかにボルテックスした。試料を室温で10分間インキュベートし、計数前に再度混合した。PBMC細胞型を用いたViceLL XR細胞生存率分析器 (Beckman Coulter) で細胞懸濁液を計数した (1:11の希釈係数を他のパラメータと共に保存した)。生細胞/mL及び生存率を記録した。細胞懸濁液をRPMI + 10% FBS + pen / strep中で1×10<sup>7</sup>生PBMC/mLに希釈した。

## 【0729】

細胞を96ウェル組織培養プレート (Falcon Microtest) の50μL / ウェル中に5×10<sup>5</sup>でプレーティングした。RPMI + 10% FBS + pen / strep中で希釈した2倍濃度のオリゴ / 対照の50μL / ウェルを実験テンプレートに従

って添加した（合計 100  $\mu$ L / ウェル）。プレートを振盪器に設置し、約 1 分間混合させた。37、5% CO<sub>2</sub> で 24 時間インキュベートした後、プレートを 400  $\times$  g で 10 分間遠心分離し、その後、MSD サイトカインアッセイ（すなわち、ヒト IL - 6、IL - 10、IL - 8、及び MCP - 1）のために上澄みを除去した。

実施例 24：hPBMCAッセイにおける GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役 ASO の炎症誘発作用の評価

#### 【0730】

表 30 に列記されるアンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）を、実施例 23 に記載されるプロトコルを用いた hPBMCAッセイにおいて炎症誘発作用について評価した。ISIS 353512 は、このアッセイにおいて IL - 6 放出に関する高レスポンスとして知られる内部標準物である。hPBMCAを新鮮な志願ドナーから単離し、0、0.0128、0.064、0.32、1.6、8、40、及び 200  $\mu$ m 濃度の ASO で処理した。処理から 24 時間後、サイトカインレベルを測定した。

10

#### 【0731】

IL - 6 のレベルを一次読み出しとして用いた。標準的手順を用いて EC<sub>50</sub> 及び E<sub>max</sub> を計算した。結果が 2 つのドナー由来の E<sub>max</sub> / EC<sub>50</sub> の平均比率として表され、「E<sub>max</sub> / EC<sub>50</sub>」で表示される。より低い比率は、炎症誘発応答の相対的減少を示し、より高い比率は、炎症誘発応答の相対的増加を示す。

#### 【0732】

試験化合物に関して、炎症誘発性が最も低い化合物は、PS / PO 連結 ASO（ISIS 616468）であった。GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役 ASO（ISIS 647535）は、その非共役対応物（ISIS 304801）よりもわずかに炎症誘発性が低かった。これらの結果は、いくつかの PO 連結部の組み込みが炎症誘発反応を減少させ、GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体の添加が化合物の炎症誘発性を高めず、炎症誘発応答を減少させることを示す。したがって、混成 PS / PO 連結部及び GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体の両方を含むアンチセンス化合物が、完全 PS 連結アンチセンス化合物（GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体の有無にかかわらず）と比較して、より低い炎症誘発応答をもたらすことが予想されるであろう。これらの結果は、GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役アンチセンス化合物、特に減少した PS 含有量を有するものの炎症誘発性がより低いことを示す。

20

#### 【0733】

総合して、これらの結果は、GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役化合物、特に PS 含有量を減らしたものを、対応物である GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体を欠く完全 PS アンチセンス化合物よりも高い用量で投与することができることを示唆する。これらの化合物の半減期が実質的に異なることが予想されないため、そのようなより高い投与量は、結果として低頻度の投薬につながる。実際には、GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役化合物の方が力価が高く（実施例 20 ~ 22 を参照のこと）、再投薬は化合物の濃度が所望のレベル未満に低下した時に必要になるが、その所望のレベルは力価に基づくことから、そのような投与の頻度はさらに低くなるだろう。

30

#### 【0734】

40



## 【表 16】

表 30

修飾ASO

| ASO         | 配列(5'から3')  | 標的       | 配列番号 |
|-------------|---|----------|------|
| ISIS 104838 | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | TNF α    | 825  |
| ISIS 353512 | T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>   | CRP      | 826  |
| ISIS 304801 | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | ApoC III | 821  |
| ISIS 647535 | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | ApoC III | 822  |
| ISIS 616468 | A <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | ApoC III | 821  |

10

## 【0735】

下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「k」は、6'-(S)-CH<sub>3</sub>二環式ヌクレオシド(例えば、cet)を示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示し、「o'」は、-O-P(=O)(OH)-を示す。上付き文字「m」は、5-メチルシトシンを示す。「A<sub>do</sub>'-GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>」は、示されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドの3'末端に結合される、実施例9に示される構造GalNAc<sub>3</sub>-1を有する共役体を示す。

20

## 【0736】

## 【表 17】

表 31

hPBMCAッセイにおけるApoC IIIを標的とするASOの炎症誘発作用

30

| ASO                   | EC <sub>50</sub><br>(μM) | E <sub>max</sub><br>(μM) | E <sub>max</sub> /EC <sub>50</sub> | 3'共役体                  | ヌクレオシド間連結部/長さ | 配列番号 |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------------|------------------------|---------------|------|
| ISIS 353512(高レスポnder) | 0.01                     | 265.9                    | 26,590                             | なし                     | PS/20         | 826  |
| ISIS 304801           | 0.07                     | 106.55                   | 1,522                              | なし                     | PS/20         | 821  |
| ISIS 647535           | 0.12                     | 138                      | 1,150                              | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20         | 822  |
| ISIS 616468           | 0.32                     | 71.52                    | 224                                | なし                     | PS/PO/20      | 821  |

40

実施例25：生体外におけるヒトApoC IIIを標的とするGalNAc<sub>3</sub>-1共役修飾ASOの影響

## 【0737】

上述のISIS 304801及び647535を生体外で試験した。トランスジェニックマウス由来の25,000細胞/ウェルの密度の初代肝細胞を、0.03, 0.08、

50

0.24、0.74、2.22、6.67、及び20 µm濃度の修飾オリゴヌクレオチドで処理した。約16時間の処理期間後、RNAを細胞から単離し、mRNAレベルを定量的リアルタイムPCRで測定し、hApoC III mRNAレベルをRIBOGREENで測定された全RNA含有量に従って調整した。

【0738】

標準的方法を用いてIC<sub>50</sub>を計算し、結果が表32に提示される。例証されるように、対照ISIS 304801と比較して、同程度の力価がISIS 647535で処理した細胞において観察された。

【0739】

【表18】

表32

初代肝細胞におけるヒトApoC IIIを標的とする修飾ASO

| ASO            | IC <sub>50</sub> (µM) | 3'共役体                  | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配列番号 |
|----------------|-----------------------|------------------------|-------------------|------|
| ISIS<br>304801 | 0.44                  | なし                     | PS/20             | 821  |
| ISIS<br>647535 | 0.31                  | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS/20             | 822  |

【0740】

この実験において、生体内で観察されるGalNAc<sub>3</sub>-1共役の大きな力価利益は、生体外では観察されなかった。生体外での初代肝細胞におけるその後の自由取り込み実験は、GalNAc共役体を欠くオリゴヌクレオチドと比較して、さまざまなGalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドの力価の増加を示した(実施例60、82、及び92を参照のこと)。

実施例26：ApoC III ASO活性へのPO/PS連結部の影響

【0741】

ヒトApoC IIIトランスジェニックマウスに、ISIS 304801もしくはISIS 616468(両方ともに上述のもの)またはPBS処理対照を、25 mg/kgで週1回2週間、腹腔内注入した。処理群は、3匹の動物からなり、対照群は、4匹の動物からなった。治療前及び最終服用後に血液を各マウスから採取し、血漿試料を分析した。最終投与の72時間後にマウスを殺した。

【0742】

試料を収集し、分析して、上述のように肝臓におけるApoC IIIタンパク質レベルを決定した(実施例20)。これらの分析からのデータが以下の表33に提示される。

【0743】

これらの結果は、完全PS(ISIS 304801)と比較して、ウイングにPO/PSを有するアンチセンス化合物(ISIS 616468)の力価の減少を示す。

【0744】

10

20

30

40

50

## 【表 19】

表 33

ヒトApoC IIIトランスジェニックマウスにおけるApoC III  
Iタンパク質レベルへのASO処理の影響

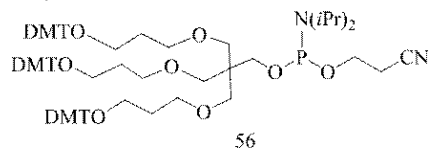
| ASO            | 用 量<br>(mg/kg)     | %PBS | 3'共役体 | ヌクレオシド<br>間連結部/長さ | 配 列 番<br>号 |
|----------------|--------------------|------|-------|-------------------|------------|
| PBS            | 0                  | 99   | -     | ---               |            |
| ISIS<br>304801 | 25mg/kg/ 週<br>を2週間 | 24   | なし    | 完全PS              | 821        |
| ISIS<br>616468 | 25mg/kg/ 週<br>を2週間 | 40   | なし    | 14 PS/6 PO        | 821        |

10

## 実施例 27：化合物 56

【0745】

【化156】



20

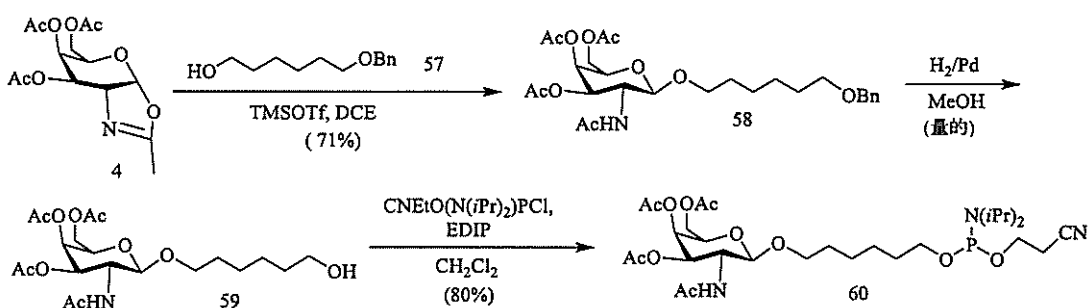
【0746】

化合物 56 は、Glen Research から市販されているか、または Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454 によって報告された公開された手順に従って調製することができる。

## 実施例 28：化合物 60 の調製

【0747】

【化157】



40

【0748】

化合物 4 を実施例 2 に例証される手順どおりに調製した。化合物 57 は、市販のものである。化合物 60 を構造分析で確認した。

【0749】

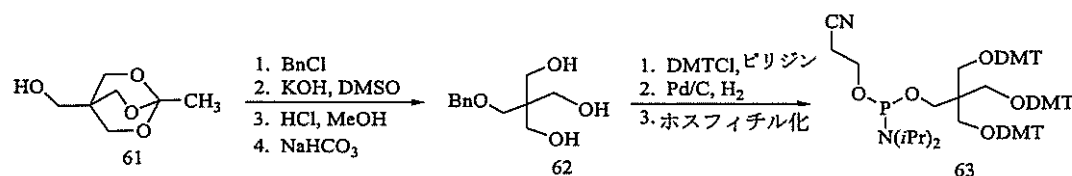
他の単保護された置換または無置換アルキルジオール、例えば限定するわけではないが、本明細書に提示されるものを用いて既定の組成を有するホスホラミダイトを調製することができるため、化合物 57 は、代表的なものであり、限定する意図はない。

## 実施例 29：化合物 63 の調製

【0750】

50

## 【化 1 5 8】



## 【 0 7 5 1】

化合物 61 及び 62 を、Tober et al., Eur. J. Org. Chem., 2013, 3, 566 - 577、及び Jiang et al., Tetrahedron, 2007, 63 (19), 3982 - 3988 によって報告された手順と同様の手順を用いて調製する。

10

## 【 0 7 5 2】

あるいは、化合物 63 を、Kim et al. の科学文献及び特許文献 (Synlett, 2003, 12, 1838 - 1840、及び Kim et al. の公開された PCT 国際出願第 WO 2004063208 号) に報告される手順と同様の手順を用いて調製する。

実施例 30 : 化合物 63 b の調製

## 【 0 7 5 3】

## 【化 1 5 9】



20

## 【 0 7 5 4】

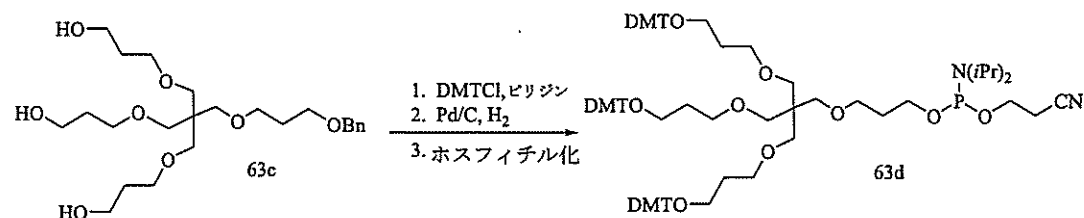
化合物 63 a を、Hanessian et al., Canadian Journal of Chemistry, 1996, 74 (9), 1731 - 1737 によって報告された手順と同様の手順を用いて調製する。

30

実施例 31 : 化合物 63 d の調製

## 【 0 7 5 5】

## 【化 1 6 0】



40

## 【 0 7 5 6】

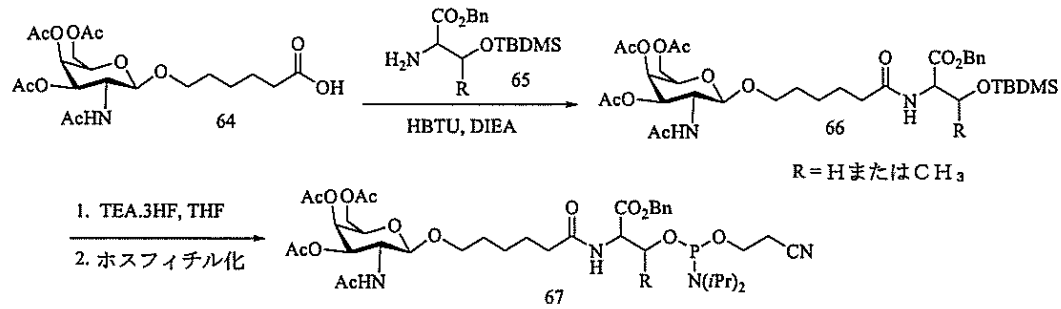
化合物 63 c を、Chen et al., Chinese Chemical Letters, 1998, 9 (5), 451 - 453 によって報告された手順と同様の手順を用いて調製する。

実施例 32 : 化合物 6 7 の調製

## 【 0 7 5 7】

50

## 【化 1 6 1】



10

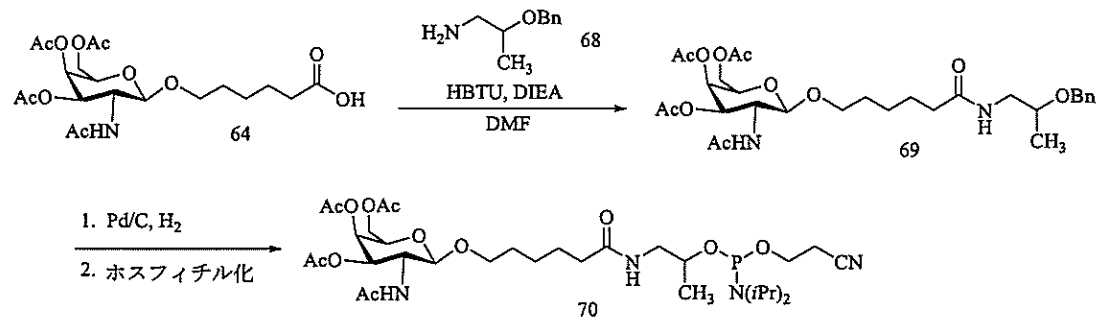
## 【 0 7 5 8】

実施例 2 に例証される手順どおりに化合物 6 4 を調製した。化合物 6 5 を、Or et al. の公開された PCT 国際出願第 WO 2 0 0 9 0 0 3 0 0 9 号によって報告された手順と同様の手順を用いて調製する。他の保護基、例えば限定するわけではないが、本明細書に提示されるものを用いることができるため、化合物 6 5 に用いた保護基は、代表的なものであり、限定する意図はない。

実施例 3 3 : 化合物 7 0 の調製

## 【 0 7 5 9】

## 【化 1 6 2】



20

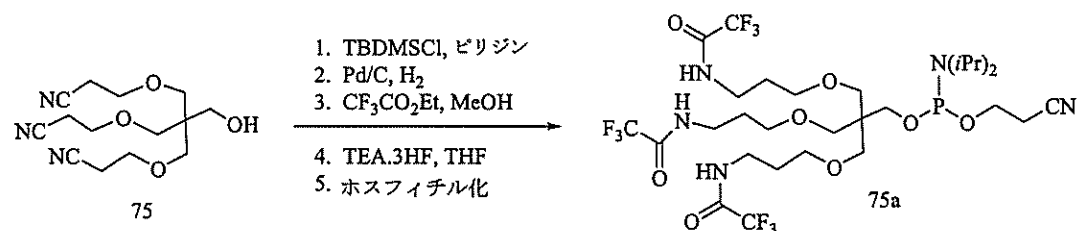
## 【 0 7 6 0】

実施例 2 に例証される手順どおりに化合物 6 4 を調製した。化合物 6 8 は、市販のものである。他の保護基、例えば限定するわけではないが、本明細書に提示されるものを用いることができるため、化合物 6 8 に用いた保護基は、代表的なものであり、限定する意図はない。

実施例 3 4 : 化合物 7 5 a の調製

## 【 0 7 6 1】

## 【化 1 6 3】



40

## 【 0 7 6 2】

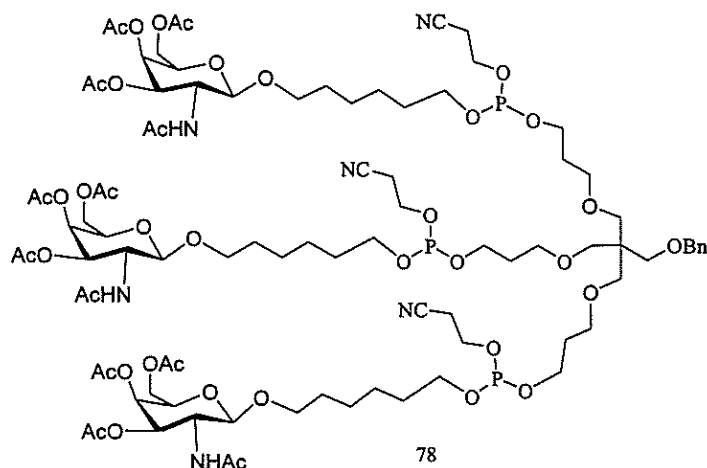
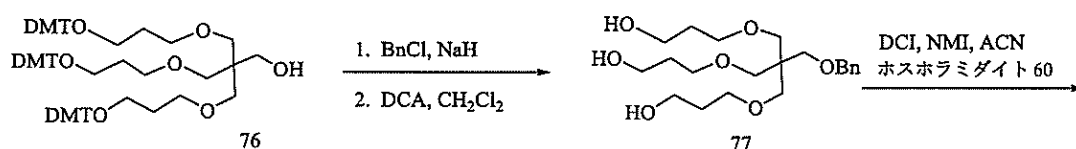
化合物 7 5 を Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4447 - 4454 によって報告された公開された手順に従って調製する。

実施例 3 5 : 化合物 7 9 の調製

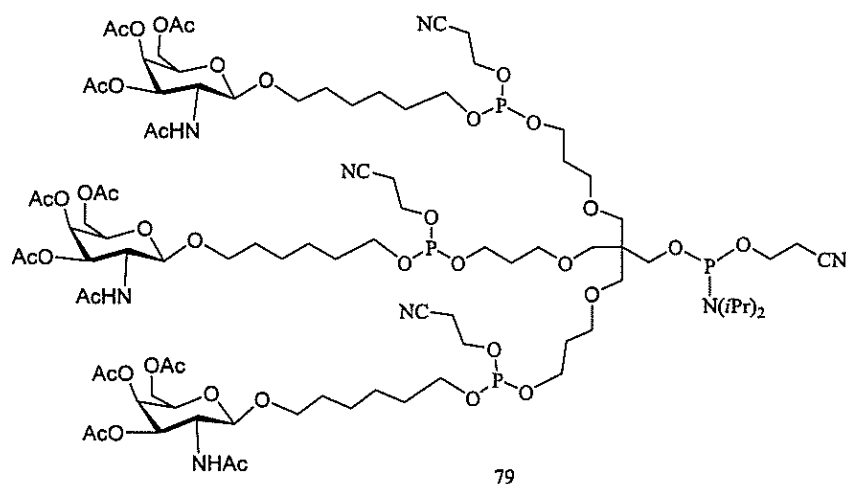
50

【 0 7 6 3 】

【 化 1 6 4 】

1. H<sub>2</sub>/Pd, MeOH

2. ホスフィチル化



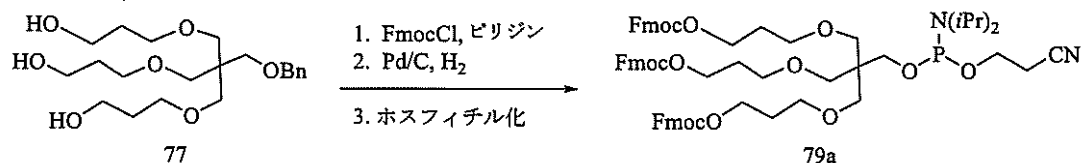
【 0 7 6 4 】

化合物 76 を Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4447 - 4454 によって報告された公開された手順に従って調製した。

実施例 36 : 化合物 79a の調製

【 0 7 6 5 】

【 化 1 6 5 】



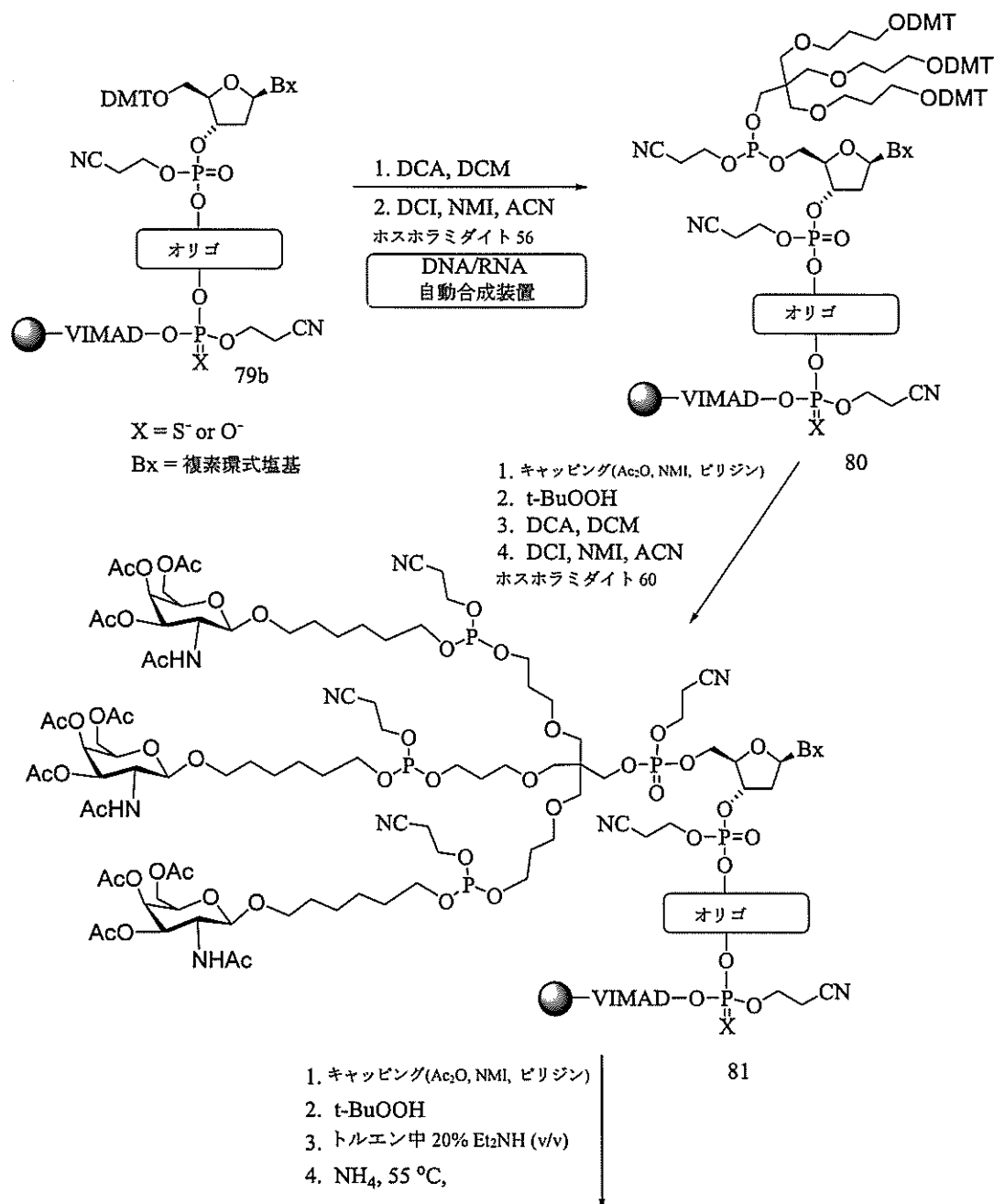
【 0 7 6 6 】

化合物 77 を実施例 35 に例証される手順どおりに調製する。

実施例 37 : 固体支持体による 5' 末端にホスホジエステル連結 GalNAc<sub>3</sub>-2 共役体を含む共役オリゴマー化合物 82 の調製のための一般的方法 (方法 I)

【 0 7 6 7 】

【 化 1 6 6 】



【 0 7 6 8 】

10

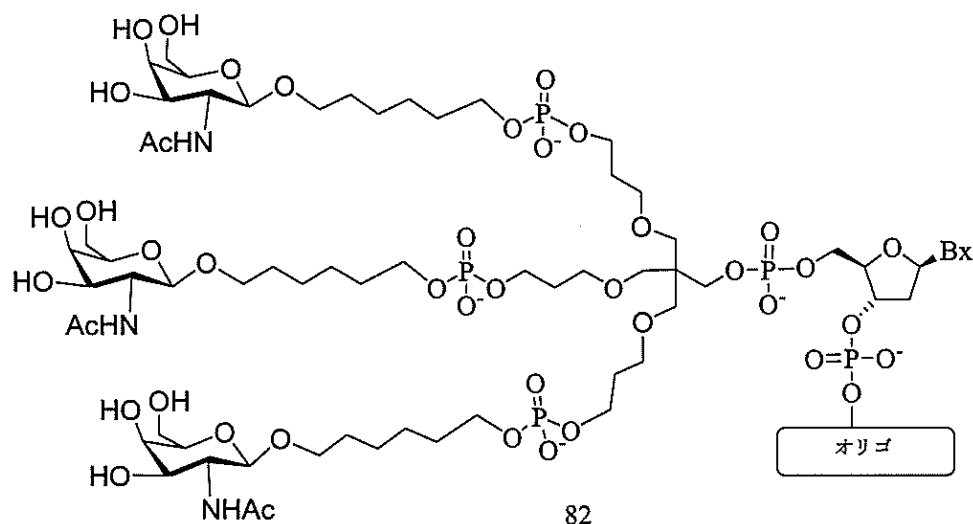
20

30

40

50

## 【化 1 6 7】



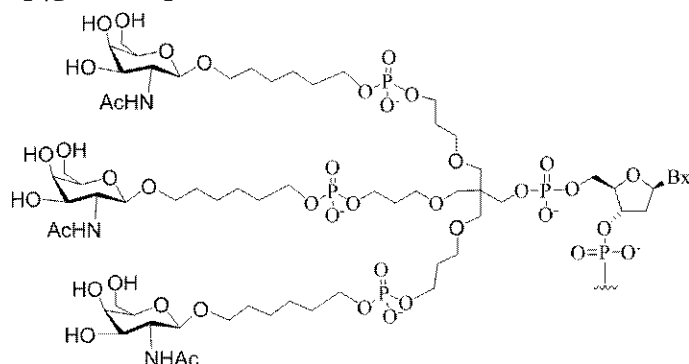
10

## 【 0 7 6 9】

G a l N A c 3 - 2 が、以下の構造を有する：

## 【 0 7 7 0】

## 【化 1 6 8】



20

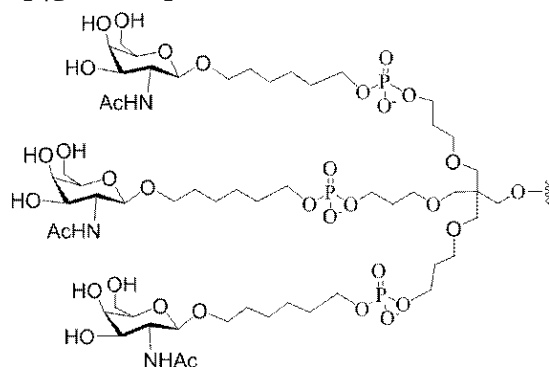
30

## 【 0 7 7 1】

共役基 G a l N A c 3 - 2 ( G a l N A c 3 - 2 a ) の G a l N A c 3 クラスター部分を任意の切断可能部分と合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。G a l N A c 3 - 2 a は、以下の式を有する：

## 【 0 7 7 2】

## 【化 1 6 9】



40

## 【 0 7 7 3】

V I M A D 結合オリゴマー化合物 7 9 b を、自動 DNA / RNA 合成における標準の手順を用いて調製した ( Dupouy et al . , Angew . Chem . Int . Ed . , 2 0 0 6 , 4 5 , 3 6 2 3 - 3 6 2 7 を参照のこと ) 。ホスホラミダイト化合物 5 6 及

50



実施例 38 : 5' 末端にホスホジエステル連結 G a l N A C<sub>3</sub> - 2 共役体を含むオリゴマー化合物 82 の調製のための代替方法 (方法 II)

10

20



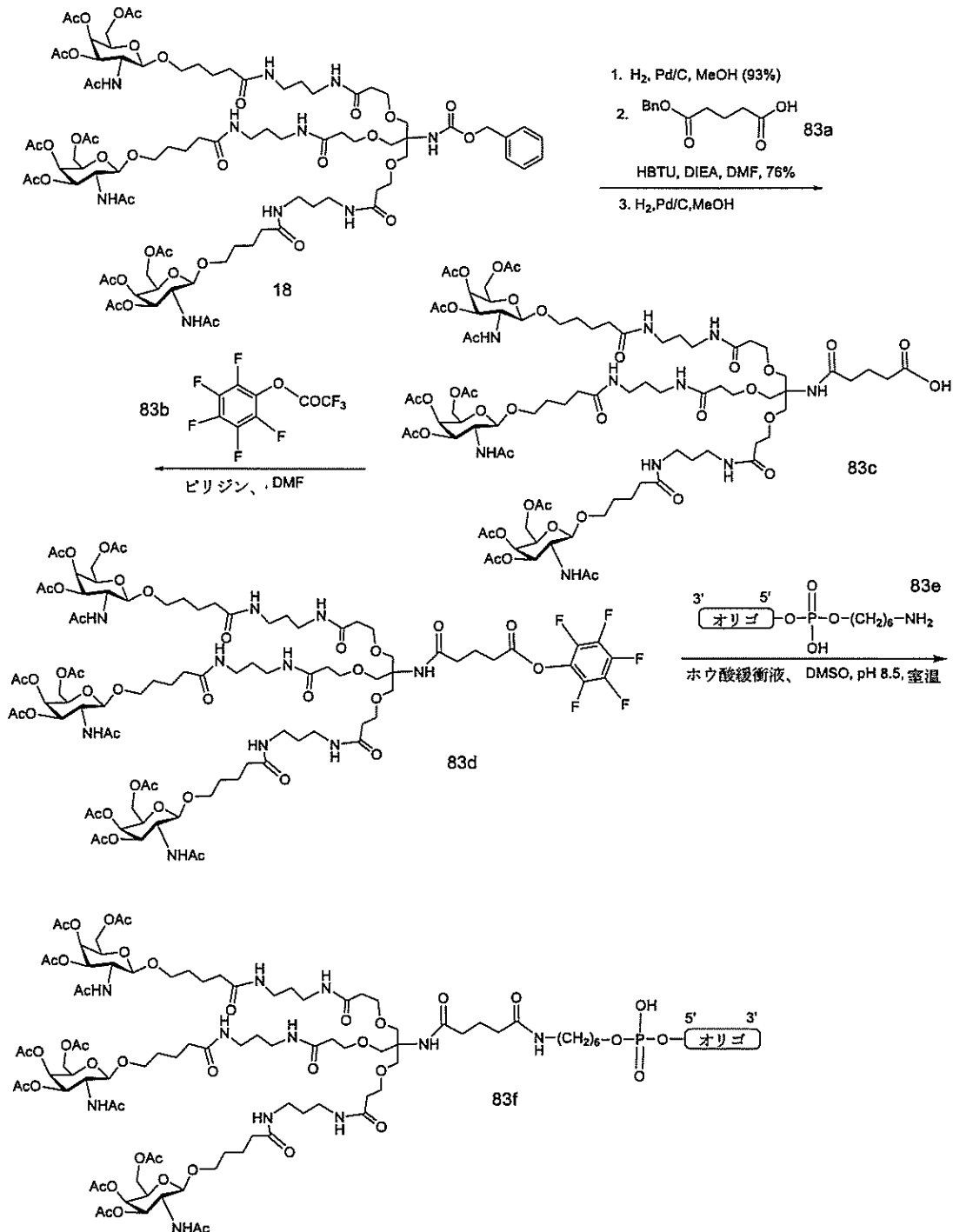
50

オリゴマー化合物への一段階導入を可能にする。他のホスホラミダイト構築ブロック、例えば限定するわけではないが、本明細書に提示されるものを用いて5'末端にホスホジエステル共役体を有するオリゴマー化合物を調製することができるため、例証されるホスホラミダイトは、代表的なものであり、限定する意図はない。固体支持体に添加されるホスホラミダイトの順序及び量を調整して、任意の既定の配列及び組成を有する本明細書に記載するオリゴマー化合物を調製することができる。

実施例39：固体支持体による5'末端にGalNAc<sub>3</sub>-3共役体(5'末端結合のためにGalNAc<sub>3</sub>-1修飾されたもの)を含むオリゴマー化合物83hの調製のための一般的方法

【0776】

【化171】



10

20

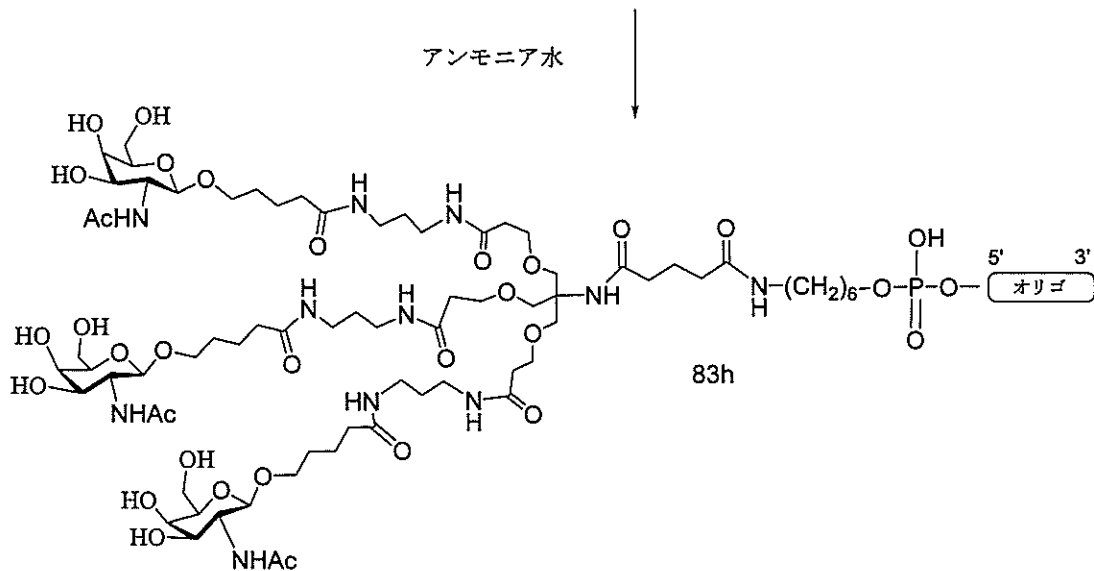
30

40

50

【 0 7 7 7 】

【 化 1 7 2 】



【 0 7 7 8 】

化合物 18 を実施例 4 に例証される手順どおりに調製した。化合物 8 3 a 及び 8 3 b は、市販のものである。ホスホジエステル連結ヘキシルアミンを含むオリゴマー化合物 8 3 e を標準のオリゴヌクレオチド合成手順を用いて調製した。保護されたオリゴマー化合物をアンモニア水で処理することにより、5' - G a l N A c<sub>3</sub> - 3 共役オリゴマー化合物 ( 8 3 h ) を提供した。

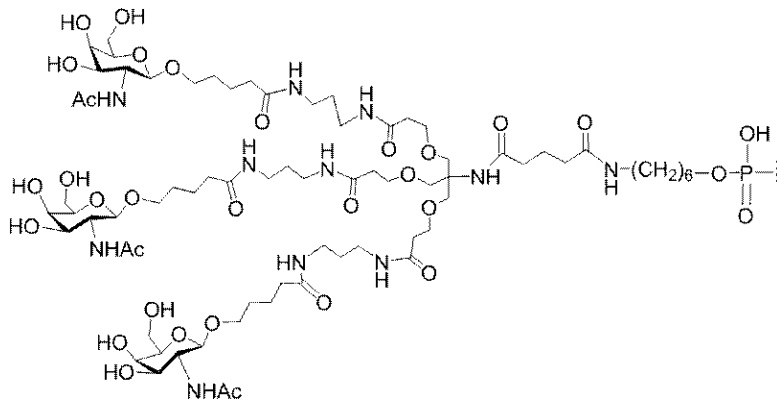
20

【 0 7 7 9 】

G a l N A c<sub>3</sub> - 3 が、以下の構造を有する：

【 0 7 8 0 】

【 化 1 7 3 】



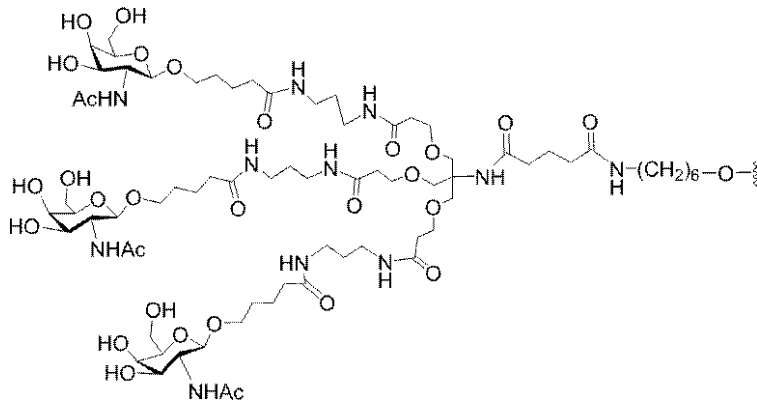
【 0 7 8 1 】

共役基 G a l N A c<sub>3</sub> - 3 ( G a l N A c<sub>3</sub> - 3 a ) の G a l N A c<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。G a l N A c<sub>3</sub> - 3 a は、以下の式を有する：

40

【 0 7 8 2 】

【化 1 7 4】



10

実施例 40：固体支持体による 3' 末端にホスホジエステル連結 GalNAc-4 共役体を含むオリゴマー化合物 89 の調製のための一般的方法

【 0 7 8 3】

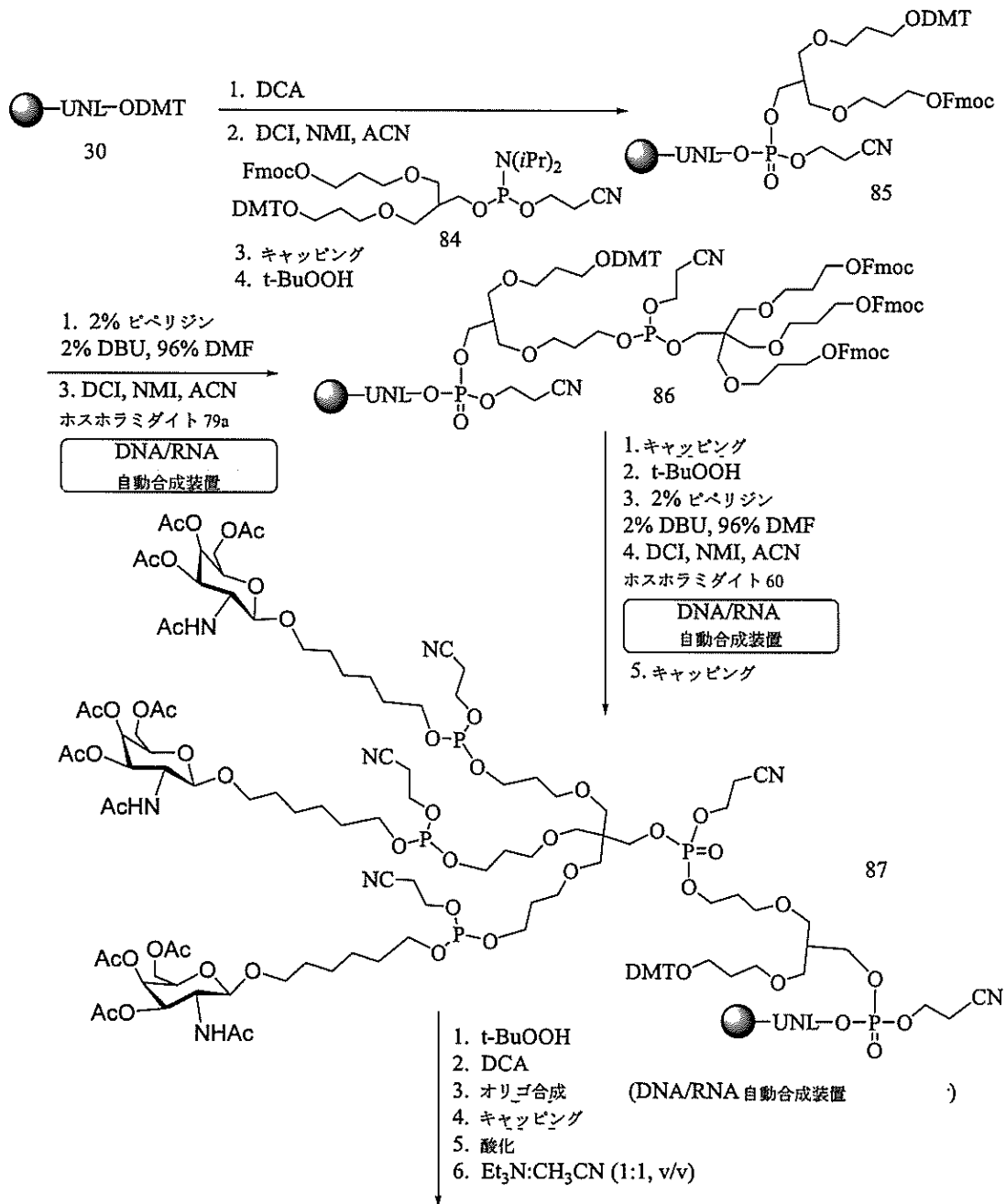
20

30

40

50

【化 1 7 5】



【 0 7 8 4 】

10

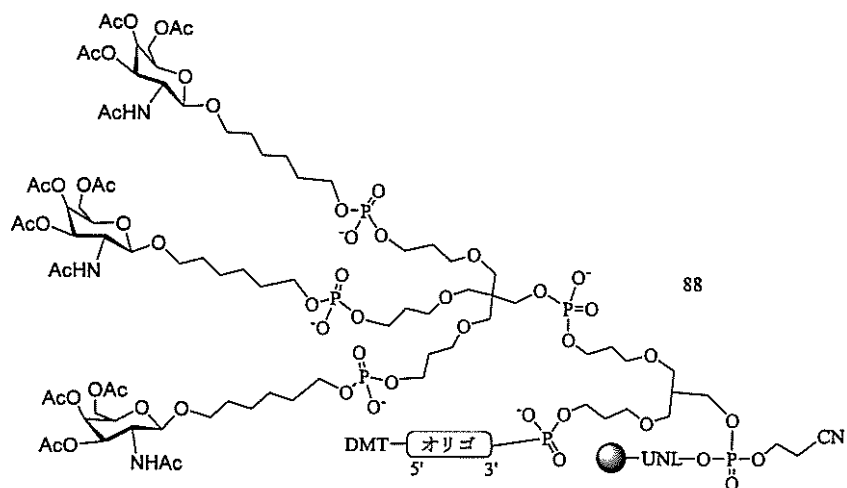
20

30

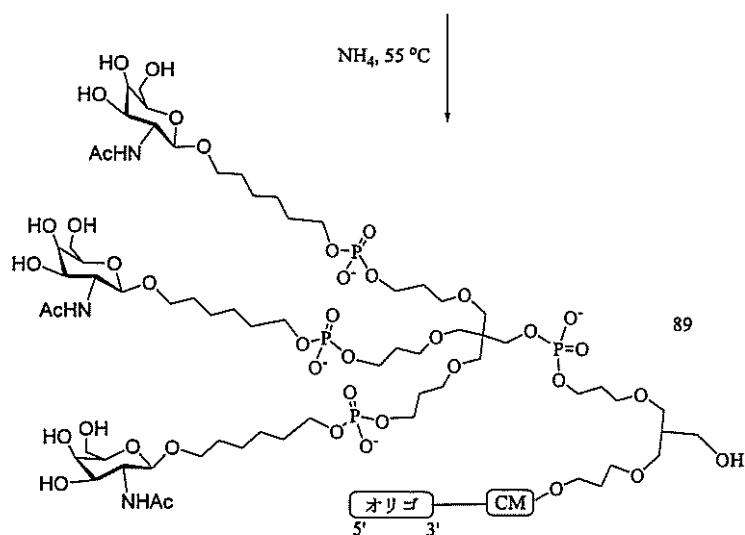
40

50

【化 1 7 6】



10



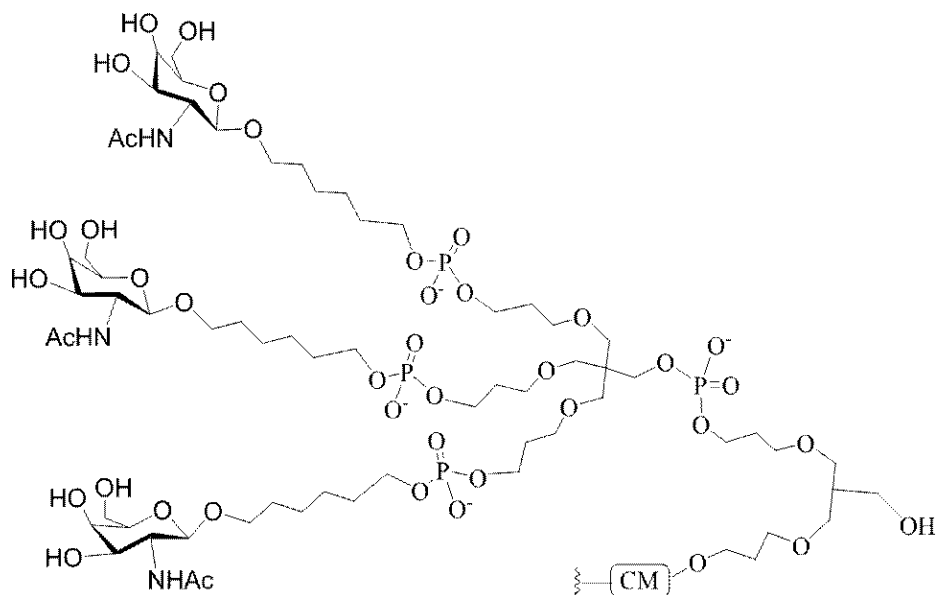
20

【 0 7 8 5】

GalNAc<sub>3</sub>-4が、以下の構造を有する：

【 0 7 8 6】

【化 1 7 7】



40

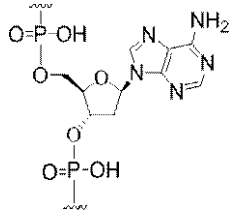
【 0 7 8 7】

50

式中、CMは、切断可能部分である。特定の実施形態において、切断可能部分は、以下のものである：

【0788】

【化178】



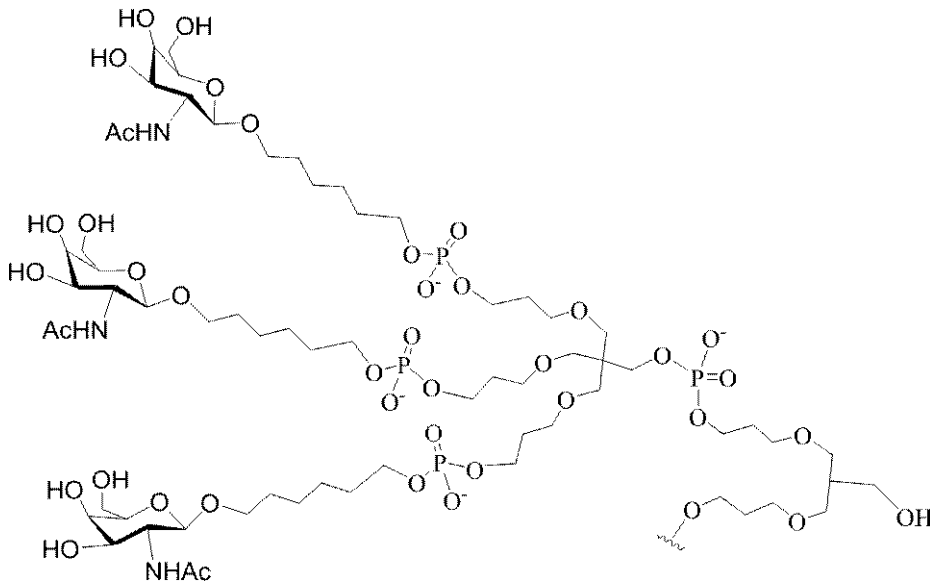
10

【0789】

共役基GalNAc<sub>3</sub>-4 (GalNAc<sub>3</sub>-4<sub>a</sub>)のGalNAc<sub>3</sub>クラスター部分を任意の切断可能部分と合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。GalNAc<sub>3</sub>-4<sub>a</sub>は、以下の式を有する：

【0790】

【化179】



20

30

【0791】

保護されたUnylinker機能化固体支持体化合物30は、市販のものである。化合物84を、文献に報告される手順と同様の手順を用いて調製する(Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454、Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1999, 27, 3035-3041、及びHornet et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25, 4842-4849を参照のこと)。

40

【0792】

ホスホラミダイト構築ブロック(化合物60及び79a)を実施例28及び36に例証される手順どおりに調製する。他のホスホラミダイト構築ブロックを用いて、既定の配列及び組成を有する3'末端にホスホジエステル連結共役体を有するオリゴマー化合物を調製することができるため、例証されるホスホラミダイトは、代表的なものであり、限定する意図はない。固体支持体に添加されるホスホラミダイトの順序及び量を調整して、任意の既定の配列及び組成を有する本明細書に記載するオリゴマー化合物を調製することができる。実施例41：固相技法による5'位にホスホジエステル連結GalNAc<sub>3</sub>-2(Bxがアデニンである実施例37を参照のこと)共役体を含むASOの調製のための一般的方法(ISIS 661134の調製)

50

## 【 0 7 9 3 】

別段の明示がある場合を除き、オリゴマー化合物の合成に用いるすべての試薬及び溶液を商業的供給源から購入する。標準のホスホラミダイト構築ブロック及び固体支持体を、例えば、T、A、G、及びmC残基を含む、ヌクレオシド残基の組み込みのために用いる。ホスホラミダイト化合物56及び60を用いて、5'末端のホスホジエステル連結GalNAc<sub>3</sub>-2共役体を合成した。無水アセトニトリル中のホスホラミダイトの0.1M溶液をb-D-2'-デオキシリボヌクレオシド及び2'-MOEに用いた。

## 【 0 7 9 4 】

カラムに充填されたVIMAD固体支持体(110 μmol/g、Guzaev et al., 2003)でのホスホラミダイトカップリング法により、ASO合成を、ABI 394合成装置(1~2 μmolの規模)またはGE Healthcare Bioscience AekTAオリゴパイロット合成装置(40~200 μmolの規模)で実行した。このカップリングステップについて、固体支持体の初期負荷量に対して4倍過剰のホスホラミダイトを送達し、ホスホラミダイトカップリングを10分間行った。すべての他のステップは、製造業者から提供された標準のプロトコルに従った。トルエン中の6%ジクロロ酢酸溶液を用いて、ヌクレオチドの5'-ヒドロキシル基からジメトキシトリチル(DMT)基を除去した。カップリングステップ中、無水CH<sub>3</sub>CN中の4,5-ジシアノイミダゾール(0.7M)を活性化剤として用いた。ホスホロチオエート連結部を、3分間の接触時間で、1:1のピリジン/CH<sub>3</sub>CN中のキサンタンヒドリドの0.1M溶液による硫化によって導入した。6%の水を含有するCH<sub>3</sub>CN中の20%のtert-ブチルヒドロペルオキシドの溶液を酸化剤として用いて、12分間の接触時間で、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部を提供した。

## 【 0 7 9 5 】

所望の配列が構築された後、シアノエチルホスフェート保護基を、45分間の接触時間で、トルエン中の20%ジエチルアミン(v/v)を用いて脱保護した。固体支持体に結合されたASOをアンモニア水(28~30重量%)中に懸濁し、55℃で6時間加熱した。

## 【 0 7 9 6 】

その後、非結合型ASOを濾過し、アンモニアを沸去した。残渣を強アニオン交換カラムでの高圧液体クロマトグラフィーによって精製した(GE Healthcare Bioscience, Source 30Q、30 μm、2.54×8 cm、A=30%CH<sub>3</sub>CN水溶液中100 mM酢酸アンモニウム、B=A中1.5M NaBr、60分後0~40%のB、流量14 mL/分、λ=260 nm)。残渣を逆相カラムでのHPLCにより脱塩して、固体支持体への初期負荷量に基づいて15~30%の単離収率で所望のASOを得た。ASOを、Agilent 1100 MSDシステムを用いたイオン対HPLC/MS分析によって特徴付けた。

## 【 0 7 9 7 】

## 【表 2 0】

表 3 4

SRB-1を標的とする5'位にホスホジエステル連結GalNAc<sub>3</sub>-2共役体を含むASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | 計算された質量 | 観察された質量 | 配列番号 |
|---------|---|---------|---------|------|
| 661134  | GalNAc <sub>3</sub> -2-a'-A <sub>do</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub> | 6482.2  | 6481.6  | 827  |

## 【 0 7 9 8 】

下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、b-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「k」は、6'-(S)-CH<sub>3</sub>二環式ヌクレオシド(例



例えば、c E t)を示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(P S)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(P O)を示し、「o'」は、- O - P(= O)(OH) -を示す。上付き文字「m」は、5 - メチルシトシンを示す。G a l N A c<sub>3</sub> - 2 aの構造が実施例 3 7 に示される。

実施例 4 2：固相技法による 5' 位に G a l N A c<sub>3</sub> - 3 共役体を含む A S O の調製のための一般的方法( I S I S 6 6 1 1 6 6 の調製)

【0 7 9 9】

I S I S 6 6 1 1 6 6 の合成を、実施例 3 9 及び 4 1 に例証される手順と同様の手順を用いて実行した。

【0 8 0 0】

I S I S 6 6 1 1 6 6 は、5' 位が G a l N A c<sub>3</sub> - 3 共役体を含む 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーである。A S O を、A g i l e n t 1 1 0 0 M S D システムを用いたイオン対 H P L C / M S 分析によって特徴付けた。

【0 8 0 1】

【表 2 1】

表 3 4 a

M a l a t - 1 を標的とする、ヘキシルアミノホスホジエステル連結部を介して 5' 位に G a l N A c<sub>3</sub> - 3 共役体を含む A S O

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | 共役体                       | 計算された質量 | 観察された質量 | 配列番号 |
|---------|---|---------------------------|---------|---------|------|
| 661166  | 5'-GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o'</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | 5'-GalNAc <sub>3</sub> -3 | 8992.16 | 8990.51 | 828  |

【0 8 0 2】

下付き文字「e」は、2' - M O E 修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(P S)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(P O)を示し、「o'」は、- O - P(= O)(OH) -を示す。上付き文字「m」は、5 - メチルシトシンを示す。「5' - G a l N A c<sub>3</sub> - 3 a」の構造が実施例 3 9 に示される。

実施例 4 3：生体内における S R B - 1 を標的とする 5' 末端でのホスホジエステル連結 G a l N A c<sub>3</sub> - 2 の用量依存的試験(B x がアデニンである実施例 3 7 及び 4 1 を参照のこと)

【0 8 0 3】

5' 末端にホスホジエステル連結 G a l N A c<sub>3</sub> - 2 共役体を含む I S I S 6 6 1 1 3 4 (実施例 4 1 を参照のこと)を、用量依存的試験においてマウスにおける S R B - 1 のアンチセンス阻害について試験した。非共役 I S I S 4 4 0 7 6 2 及び 6 5 1 9 0 0 (3' 末端に G a l N A c<sub>3</sub> - 1 共役体、実施例 9 を参照のこと)を比較のために試験に含め、先の表 1 7 に記載する。

処理

【0 8 0 4】

6 週齢の雄 B a l b / c マウス(J a c k s o n L a b o r a t o r y , B a r H a r b o r , M E)に、I S I S 4 4 0 7 6 2、6 5 1 9 0 0、6 6 1 1 3 4、または P B S 処理対照を、以下に示される投与量で 1 回、皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。最終投与の 7 2 時間後にマウスを殺して、リアルタイム P C R 及び R I B O G R E E N (登録商標) R N A 定量化試薬(M o l e c u l a r P r o b e s , I n c

10

20

30

40

50

．E u g e n e , O R ) を用いて、肝臓における S R B - 1 m R N A レベルを標準プロトコルに従って決定した。P B S 処理対照に対して標準化する前に ( R i b o g r e e n を用いて ) S R B - 1 m R N A レベルを全 R N A との比較で相対的に決定した。以下の結果は、P B S 処理対照に対して標準化された各処理群の S R B - 1 m R N A レベルの平均パーセントとして提示され、「% P B S」で表示される。前記方法と同様の方法を用いて E D 5 0 を測定し、以下に提示する。

#### 【 0 8 0 5 】

表 3 5 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で S R B - 1 m R N A レベルを低下させた。実際には、5' 末端にホスホジエステル連結 G a l N A c<sub>3</sub> - 2 共役体 ( I S I S 6 6 1 1 3 4 ) または 3' 末端に連結された G a l N A c<sub>3</sub> - 1 共役体 ( I S I S 6 5 1 9 0 0 ) を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド ( I S I S 4 4 0 7 6 2 ) と比較して、力価の大幅な改善を示した。さらに、5' 末端にホスホジエステル連結 G a l N A c<sub>3</sub> - 2 共役体を含む I S I S 6 6 1 1 3 4 は、3' 末端に G a l N A c<sub>3</sub> - 1 共役体を含む I S I S 6 5 1 9 0 0 と比較して、等効力であった。

#### 【 0 8 0 6 】

#### 【表 2 2】

表 3 5

S R B - 1 を標的とする、G a l N A c<sub>3</sub> - 1 または G a l N A c<sub>3</sub> - 2 を含有する A S O

| ISIS 番号 | 投与量 (mg/kg) | SRB-1 mRNA レベル(%PBS) | ED <sub>50</sub> (mg/kg) | 共役体                      | 配列番号 |
|---------|-------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|------|
| PBS     | 0           | 100                  | --                       | --                       |      |
| 440762  | 0.2         | 116                  | 2.58                     | 共役体なし                    | 823  |
|         | 0.7         | 91                   |                          |                          |      |
|         | 2           | 69                   |                          |                          |      |
|         | 7           | 22                   |                          |                          |      |
|         | 20          | 5                    |                          |                          |      |
| 651900  | 0.07        | 95                   | 0.26                     | 3'GalNAc <sub>3</sub> -1 | 824  |
|         | 0.2         | 77                   |                          |                          |      |
|         | 0.7         | 28                   |                          |                          |      |
|         | 2           | 11                   |                          |                          |      |
|         | 7           | 8                    |                          |                          |      |
| 661134  | 0.07        | 107                  | 0.25                     | 5'GalNAc <sub>3</sub> -2 | 827  |
|         | 0.2         | 86                   |                          |                          |      |
|         | 0.7         | 28                   |                          |                          |      |
|         | 2           | 10                   |                          |                          |      |
|         | 7           | 6                    |                          |                          |      |

#### 【 0 8 0 7 】

3' G a l N A c<sub>3</sub> - 1 及び 5' G a l N A c<sub>3</sub> - 2 の構造は、先の実施例 9 及び 3 7 に記載されている。

薬物動態分析 ( P K )

#### 【 0 8 0 8 】

高用量群 ( 7 m g / k g ) での A S O の P K を調べ、実施例 2 0 に例証される方法と同一の方法で評価した。肝臓試料を切り刻み、標準のプロトコルを用いて抽出した。 6 6 1 1

34 (5' GalNAc<sub>3</sub> - 2) 及び ISIS 651900 (3' GalNAc<sub>3</sub> - 1) の全長代謝物を特定し、これらの質量を高分解能質量分析によって確認した。結果は、5' 末端にホスホジエステル連結 GalNAc<sub>3</sub> - 2 共役体を含む ASO (ISIS 661134) に対して検出された主な代謝物が、ISIS 440762 であったことを示した (データ示されず)。検出可能なレベルでさらなる代謝物は観察されなかった。その対応物とは異なり、先の表 23a に報告された代謝物と同様のさらなる代謝物が、3' 末端に GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体を有する ASO (ISIS 651900) で観察された。これらの結果は、ホスホジエステル連結 GalNAc<sub>3</sub> - 1 または GalNAc<sub>3</sub> - 2 共役体を有することで、それらの力価を損なうことなく ASO の PK プロファイルを改善しうることを示唆する。

10

実施例 44: SRB - 1 を標的とする 3' 末端に GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体 (実施例 9 を参照のこと) を含む ASO のアンチセンス阻害への PO / PS 連結部の影響

#### 【0809】

それぞれ SRB - 1 を標的とする、3' 末端に GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体を含む ISIS 655861 及び 655862 を、単回投与試験においてマウスにおける SRB - 1 を阻害するそれらの能力について試験した。親非共役化合物 ISIS 353382 を比較のために試験に含めた。

#### 【0810】

ASO は 5 - 10 - 5 MOE ギャップマーであり、ギャップ領域は、10 個の 2' - デオキシリボヌクレオシドを含み、各ウイング領域は、5 個の 2' - MOE 修飾ヌクレオシドを含む。ASO を先の実施例 19 に例証される方法と同様の方法を用いて調製し、以下の表 36 に示す。

20

#### 【0811】

#### 【表 23】

表 36

SRB - 1 を標的とする 3' 末端に GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役体を含む修飾 ASO

| ISIS 番号    | 配列 (5' から 3')  | 化学的特徴                                 | 配列番号 |
|------------|--|---------------------------------------|------|
| 353382 (親) | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | 完全 PS、共役体なし                           | 829  |
| 655861     | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | 完全 PS、GalNAc <sub>3</sub> -1 共役体あり    | 830  |
| 655862     | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | 混成 PS/PO、GalNAc <sub>3</sub> -1 共役体あり | 830  |

30

40

#### 【0812】

下付き文字「e」は、2' - MOE 修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホリチオエートヌクレオシド間連結部 (PS) を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部 (PO) を示し、「o'」は、- O - P (= O) (OH) - を示す。上付き文字「m」は、5 - メチルシトシンを示す。「GalNAc<sub>3</sub> - 1」の構造が実施例 9 に示される。

処理

#### 【0813】

6 週齢の雄 Balb / c マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) に、ISIS 353382、655861、655862、または PB

50

S 処理対照を、以下に示される投与量で 1 回、皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。治療前及び最終服用後に血液を各マウスから採取し、血漿試料を分析した。最終投与の 72 時間後にマウスを殺して、リアルタイム PCR 及び RIBO GREEN (登録商標) RNA 定量化試薬 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) を用いて、肝臓における SRB-1 mRNA レベルを決定した。PBS 処理対照に対して標準化する前に (Ribogreen を用いて) SRB-1 mRNA レベルを全 RNA との比較で相対的に決定した。以下の結果は、PBS 処理対照に対して標準化された各処理群の SRB-1 mRNA レベルの平均パーセントとして提示され、「% PBS」で表示される。前記方法と同様の方法を用いて ED<sub>50</sub> を測定し、以下に報告する。

10

#### 【0814】

表 37 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、PBS 処理対照と比較して、用量依存的様式で SRB-1 mRNA レベルを低下させた。実際には、3' 末端に GalNAc<sub>3</sub>-1 共役体を含むアンチセンスオリゴヌクレオチド (ISIS 655861 及び 655862) は、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド (ISIS 353382) と比較して、力価の大幅な改善を示した。さらに、混成 PS/PO 連結部を有する ISIS 655862 は、完全 PS (ISIS 655861) と比較して、力価の改善を示した。

#### 【0815】

#### 【表 24】

20

表 37

SRB-1 を標的とする 3' 末端に GalNAc<sub>3</sub>-1 共役体を含む ASO のアンチセンス阻害への PO/PS 連結部の影響

| ISIS 番号    | 投与量 (mg/kg) | SRB-1 mRNA レベル (%PBS) | ED <sub>50</sub> (mg/kg) | 化学的特徴                                 | 配列番号 |
|------------|-------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------------------|------|
| PBS        | 0           | 100                   | --                       | --                                    |      |
| 353382 (親) | 3           | 76.65                 | 10.4                     | 完全 PS、共役体なし                           | 829  |
|            | 10          | 52.40                 |                          |                                       |      |
|            | 30          | 24.95                 |                          |                                       |      |
| 655861     | 0.5         | 81.22                 | 2.2                      | 完全 PS、GalNAc <sub>3</sub> -1 共役体あり    | 830  |
|            | 1.5         | 63.51                 |                          |                                       |      |
|            | 5           | 24.61                 |                          |                                       |      |
|            | 15          | 14.80                 |                          |                                       |      |
| 655862     | 0.5         | 69.57                 | 1.3                      | 混成 PS/PO、GalNAc <sub>3</sub> -1 共役体あり | 830  |
|            | 1.5         | 45.78                 |                          |                                       |      |
|            | 5           | 19.70                 |                          |                                       |      |
|            | 15          | 12.90                 |                          |                                       |      |

30

40

#### 【0816】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。臓器重量も評価した。結果は、PBS 対照と比較して、ASO で処理したマウスにおいて、トランスアミナーゼレベル (表 38) の増加も臓器重量 (データ示されず) の増加も観察されなかったことを示した。さらに、混成 PS/PO 連結部を有する ASO (ISIS 655862) は、完全 PS (ISIS 655861) と比較して、同様のトランスアミナーゼ

50

レベルを示した。

【 0 8 1 7 】

【 表 2 5 】

表 3 8

SRB-1 を標的とする 3'末端に GalNAc<sub>3</sub>-1 共役体を含む ASO のトランスアミナーゼレベルへの PO/PS 連結部の影響

| ISIS 番号       | 投 与 量<br>(mg/kg) | ALT<br>(U/L) | AST<br>(U/L) | 化学的特徴                                   | 配列番号 |
|---------------|------------------|--------------|--------------|---|------|
| PBS           | 0                | 28.5         | 65           | --                                      |      |
| 353382<br>(親) | 3                | 50.25        | 89           | 完全PS、共役体なし                              | 829  |
|               | 10               | 27.5         | 79.3         |   |      |
|               | 30               | 27.3         | 97           |   |      |
| 655861        | 0.5              | 28           | 55.7         | 完 全 PS 、<br>GalNAc <sub>3</sub> -1あり    | 830  |
|               | 1.5              | 30           | 78           |   |      |
|               | 5                | 29           | 63.5         |   |      |
|               | 15               | 28.8         | 67.8         |   |      |
| 655862        | 0.5              | 50           | 75.5         | 混 成 PS/PO 、<br>GalNAc <sub>3</sub> -1あり | 830  |
|               | 1.5              | 21.7         | 58.5         |   |      |
|               | 5                | 29.3         | 69           |   |      |
|               | 15               | 22           | 61           |   |      |

10

20

実施例 4 5 : PFP エステル ( 化合物 1 1 0 a ) の調製

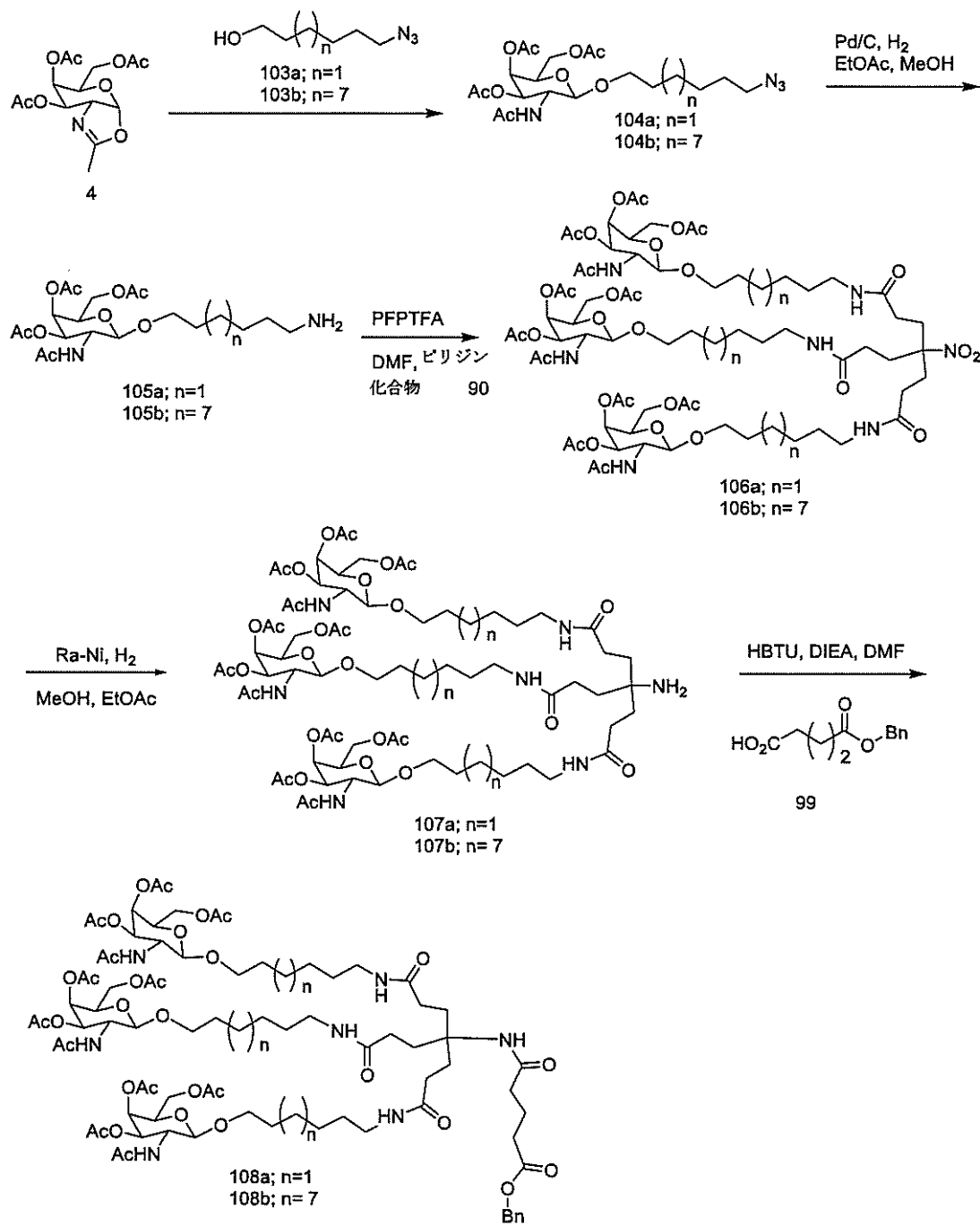
【 0 8 1 8 】

30

40

50

【化 1 8 0】



【 0 8 1 9】

10

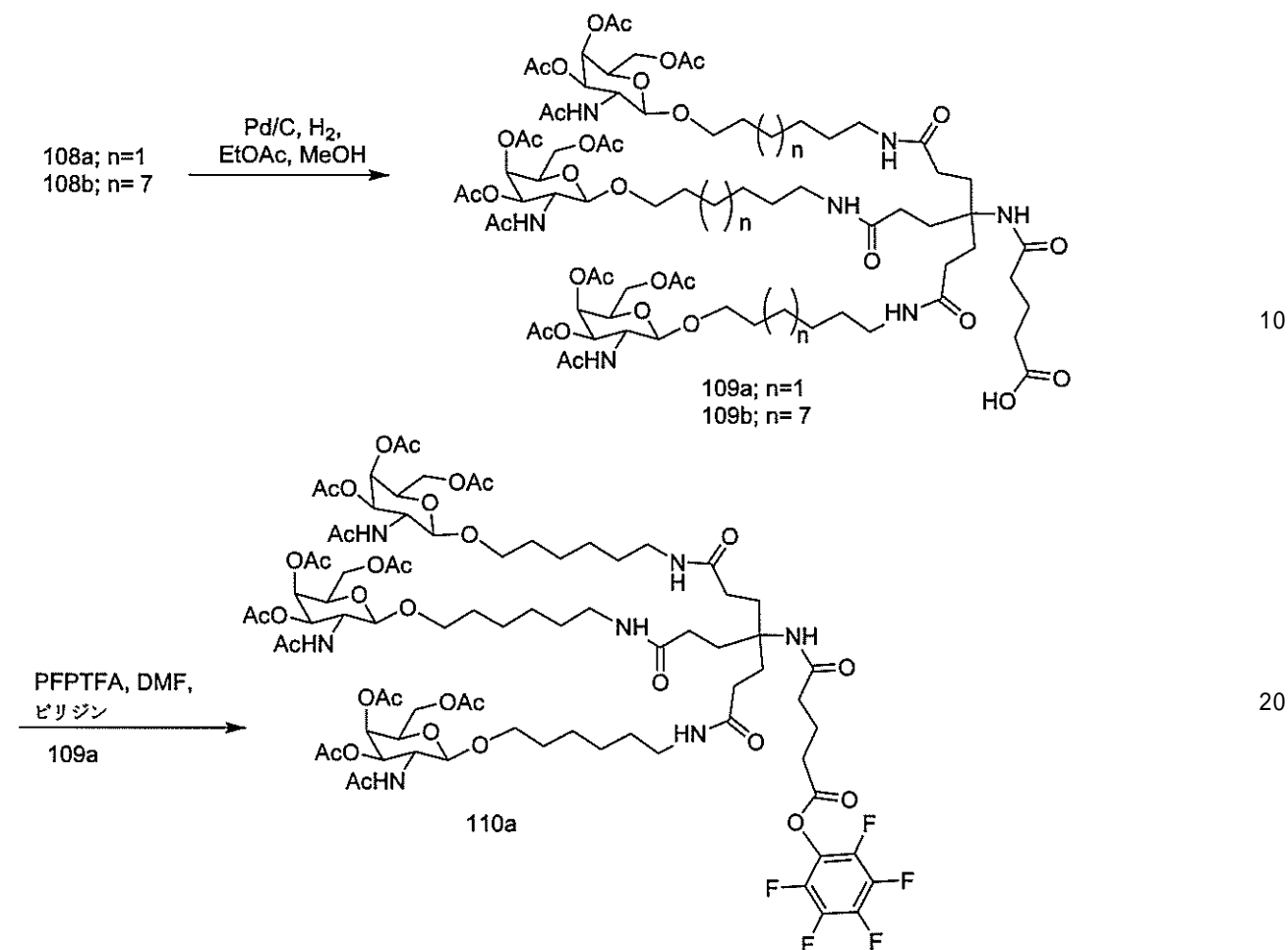
20

30

40

50

## 【化 1 8 1】



## 【0 8 2 0】

化合物 4 ( 9 . 5 g、2 8 . 8 m m o l e ) を化合物 1 0 3 a または 1 0 3 b ( 3 8 m m o l e ) で個別に処理し、ジクロロメタン ( 2 0 0 m L ) 中の T M S O T f ( 0 . 5 当量 ) 及びモレキュラーシーブで処理し、室温で 1 6 時間撹拌した。この時点で、セライトを通して有機層を濾過し、その後、重炭酸ナトリウム、水、及びブラインで洗浄した。その後、有機層を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で還元した。結果として生じた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー ( 2 % 1 0 % メタノール / ジクロロメタン ) によって精製して、8 0 % 超の収率で化合物 1 0 4 a 及び 1 0 4 b を得た。L C M S 及びプロトン N M R は、その構造と一致した。

## 【0 8 2 1】

化合物 1 0 4 a 及び 1 0 4 b を化合物 1 0 0 a ~ d ( 実施例 4 7 ) と同一の条件で処理して、9 0 % 超の収率で化合物 1 0 5 a 及び 1 0 5 b を得た。L C M S 及びプロトン N M R は、その構造と一致した。

## 【0 8 2 2】

化合物 1 0 5 a 及び 1 0 5 b を、化合物 9 0 1 a ~ d と同一の条件下、化合物 9 0 で個別に処理して、化合物 1 0 6 a ( 8 0 % ) 及び 1 0 6 b ( 2 0 % ) を得た。L C M S 及びプロトン N M R は、その構造と一致した。

## 【0 8 2 3】

化合物 1 0 6 a 及び 1 0 6 b を化合物 9 6 a ~ d ( 実施例 4 7 ) と同一の条件で処理して、1 0 7 a ( 6 0 % ) 及び 1 0 7 b ( 2 0 % ) を得た。L C M S 及びプロトン N M R は、その構造と一致した。

## 【0 8 2 4】

化合物 1 0 7 a 及び 1 0 7 b を化合物 9 7 a ~ d ( 実施例 4 7 ) と同一の条件で処理して

、40～60%の収率で化合物108a及び108bを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。

#### 【0825】

化合物108a(60%)及び108b(40%)を化合物100a～d(実施例47)と同一の条件で処理して、80%超の収率で化合物109a及び109bを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。

#### 【0826】

化合物109aを化合物101a～d(実施例47)と同一の条件で処理して、30～60%の収率で化合物110aを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。あるいは、化合物110bを化合物109bから開始して同様の方法で調製することができる。

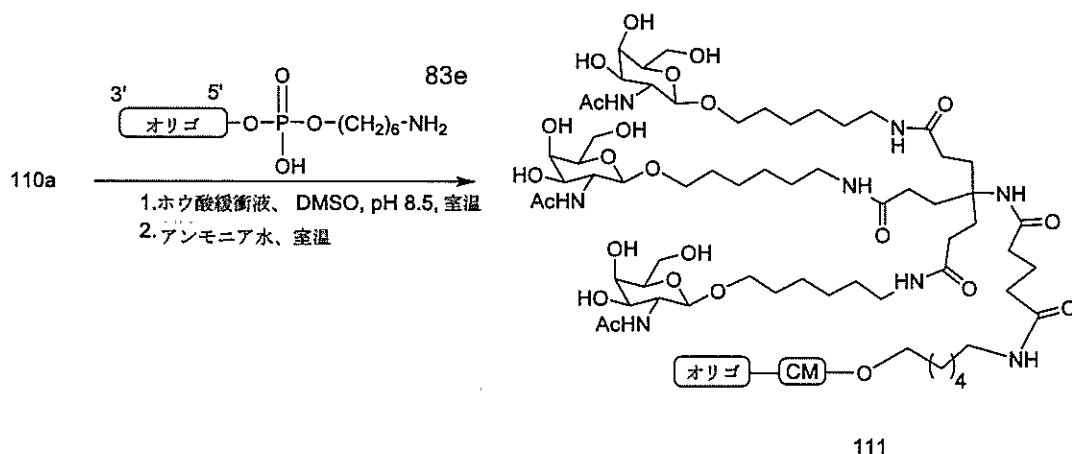
実施例46：PFPEステル(オリゴヌクレオチド111)との共役のための一般的手順；ISIS 666881(GalNAc<sub>3</sub>-10)の調製

#### 【0827】

標準の固相オリゴヌクレオチド手順を用いて5'-ヘキシルアミノ修飾オリゴヌクレオチドを合成し、精製した。5'-ヘキシルアミノ修飾オリゴヌクレオチドを0.1M四ホウ酸ナトリウム(pH8.5、200μL)中に溶解し、DMSO(50μL)中に溶解した3当量の選択されたPFPEステル化GalNAc<sub>3</sub>クラスターを添加した。ASO溶液への添加時にPFPEステルが沈殿した場合、すべてのPFPEステルが溶解した状態になるまでDMSOを添加した。室温で約16時間混合した後、反応が完了した。結果として生じた溶液を水で希釈して12mLにし、その後、質量カットオフが3000Daのスピンフィルター中、3000rpmで沈降させた。このプロセスを2回繰り返して、小分子不純物を除去した。その後、この溶液を凍結乾燥乾固させ、濃縮アンモニア水中に再溶解し、室温で2.5時間混合し、その後、真空内で濃縮して、アンモニアの大部分を除去した。共役オリゴヌクレオチドを精製し、RP-HPLCによって脱塩し、凍結乾燥させて、GalNAc<sub>3</sub>共役オリゴヌクレオチドを得た。

#### 【0828】

#### 【化182】



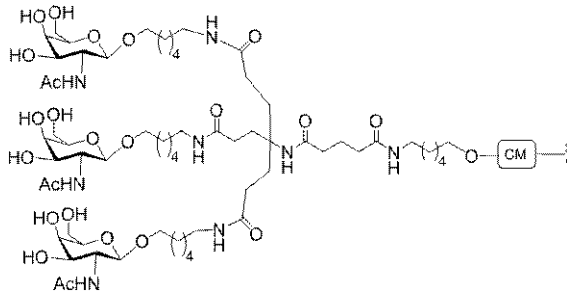
#### 【0829】

オリゴヌクレオチド111をGalNAc<sub>3</sub>-10と共役する。共役基GalNAc<sub>3</sub>-10(GalNAc<sub>3</sub>-10a)のGalNAc<sub>3</sub>クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、以下のGalNAc<sub>3</sub>-10で合成されたオリゴヌクレオチド(ISIS 666881)に示される-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-10(GalNAc<sub>3</sub>-10a-CM-)の構造は、以下に示される：

#### 【0830】



## 【化 1 8 3】



10

## 【 0 8 3 1】

この一般的手順に従って、ISIS 666881を調製した。標準の固相オリゴヌクレオチド手順を用いて5'-ヘキシルアミノ修飾オリゴヌクレオチド (ISIS 660254) を合成し、精製した。ISIS 660254 (40 mg、5.2 μmol) を0.1 M 四ホウ酸ナトリウム pH 8.5 (200 μL) 中に溶解し、DMSO (50 μL) 中に溶解した3当量のPFPEステル (化合物 110a) を添加した。ASO溶液への添加時にPFPEステルが沈殿した場合、PFPEステルを完全に溶解するためにさらなるDMSO (600 μL) が必要であった。室温で約16時間混合した後、反応が完了した。この溶液を水で希釈して全体積12 mLにし、質量カットオフが3000 Daのスピンフィルター中、3000 rpmで沈降させた。このプロセスを2回繰り返して、小分子不純物を除去した。この溶液を凍結乾燥乾固させ、濃縮アンモニア水中に再溶解し、室温で2.5時間混合し、その後、真空内で濃縮して、アンモニアの大部分を除去した。共役オリゴヌクレオチドを精製し、RP-HPLCによって脱塩し、凍結乾燥させて、90重量%の収率でISIS 666881 (42 mg、4.7 μmol) を得た。

20

## 【 0 8 3 2】

## 【表 2 6】

GalNAc<sub>3</sub>-10共役オリゴヌクレオチド

| ASO         | 配列(5'から3')  | 5'基                     | 配列番号 |
|-------------|---|-------------------------|------|
| ISIS 660254 | NH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -A <sub>do</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>c</sub> | ヘキシルアミン                 | 831  |
| ISIS 666881 | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>A-O</sub> -A <sub>do</sub> G <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>cs</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>c</sub>          | GalNAc <sub>3</sub> -10 | 831  |

30

## 【 0 8 3 3】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、<sup>m</sup>Cは、5-メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部 (PS) を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部 (PO) を示し、「o'」は、-O-P(=O)(OH)-を示す。共役基は、太字で表示されている。

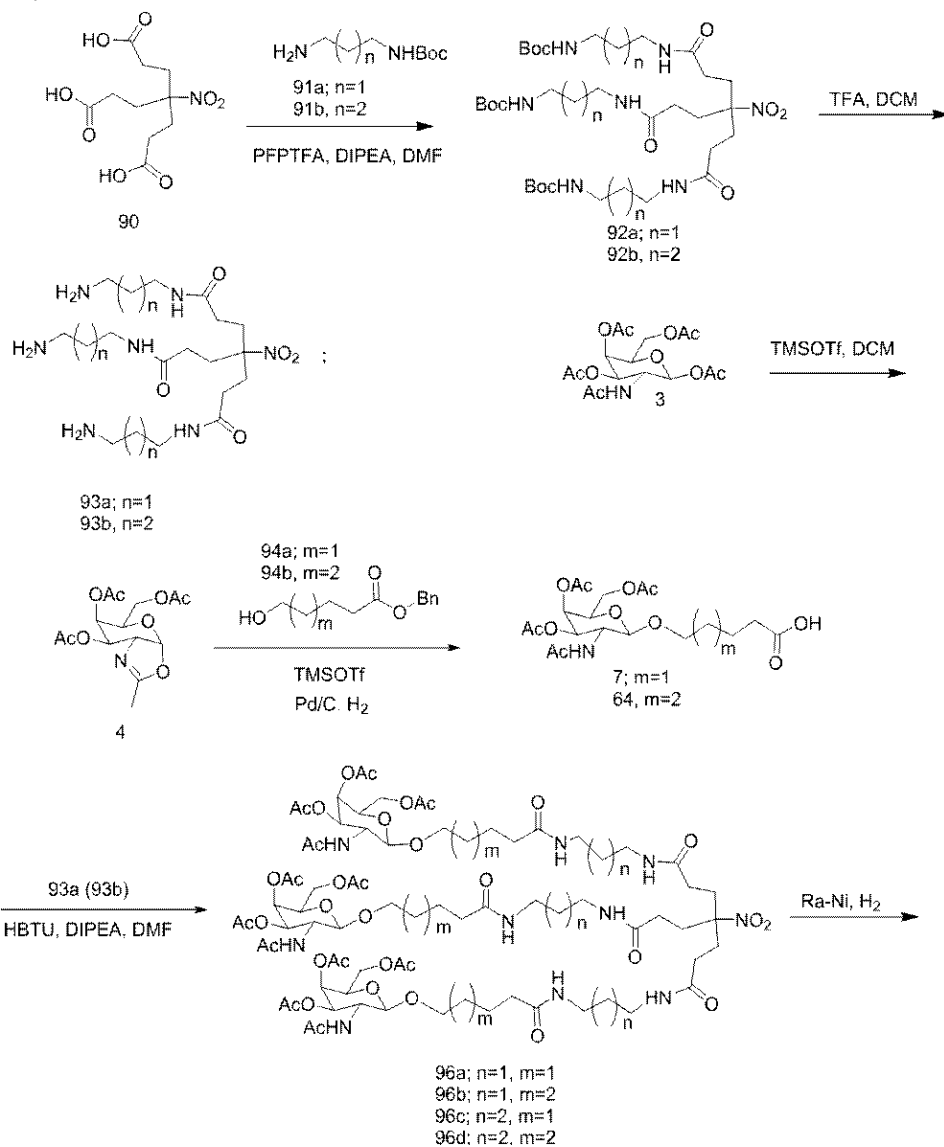
40

実施例 47: GalNAc<sub>3</sub>-8を含むオリゴヌクレオチド 102の調製

## 【 0 8 3 4】

50

## 【化 1 8 4】



## 【 0 8 3 5 】

10

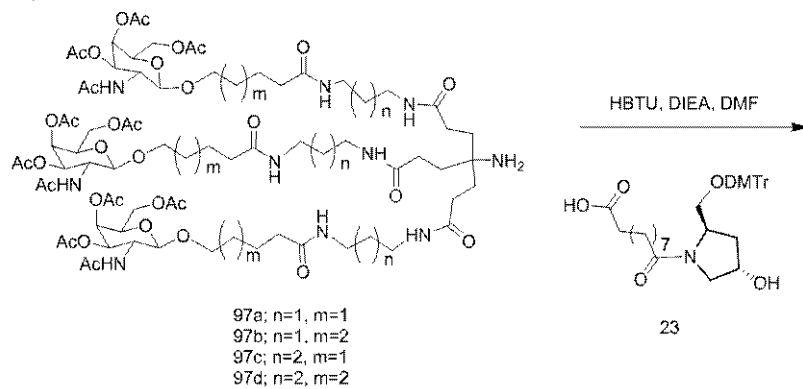
20

30

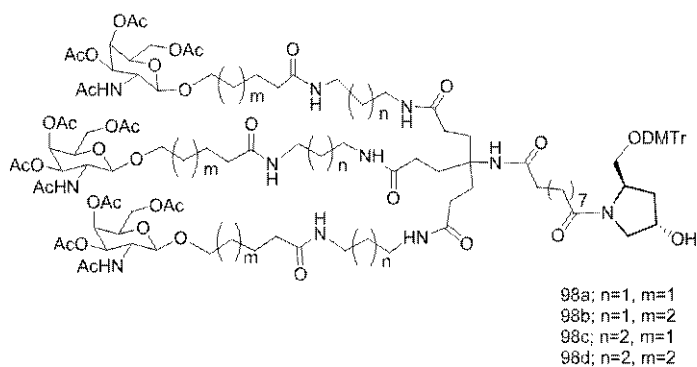
40

50

## 【化 1 8 5】



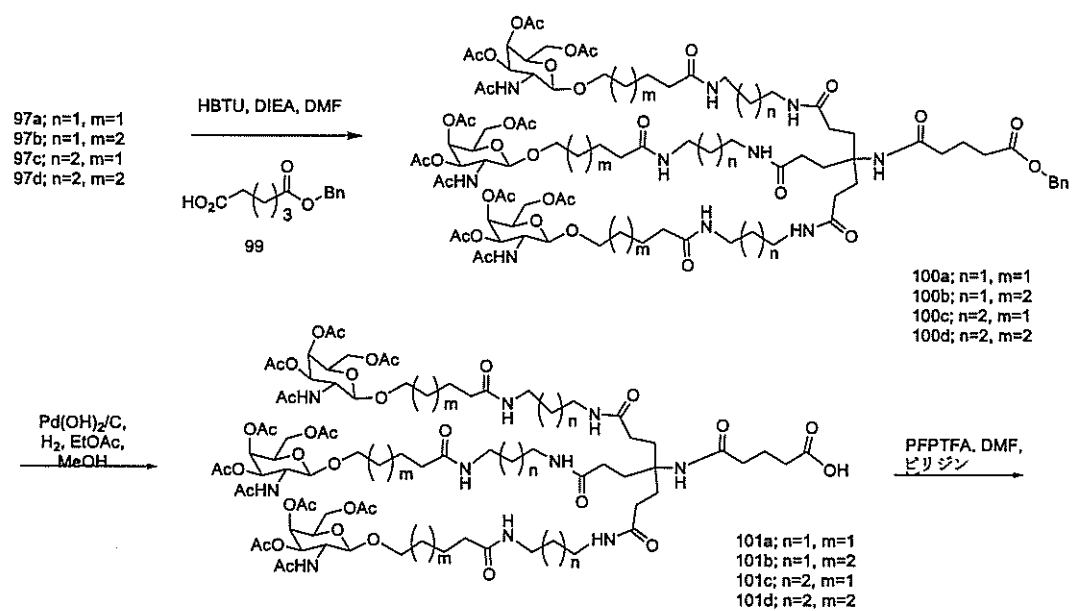
10



20

## 【 0 8 3 6】

## 【化 1 8 6】



30

40

50

## 【0837】

三酸90(4g、14.43mmol)をDMF(120mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(12.35mL、72mmol)中に溶解した。トリフルオロ酢酸ペンタフルオロフェニル(8.9mL、52mmol)をアルゴン下で滴加し、反応物を室温で30分間撹拌させた。Boc-ジアミン91aまたは91b(68.87mmol)をN,N-ジイソプロピルエチルアミン(12.35mL、72mmol)とともに添加し、反応物を室温で16時間撹拌させた。この時点で、DMFを減圧下で75%超、減量し、その後、混合物をジクロロメタン中に溶解した。有機層を重炭酸ナトリウム、水、及びブラインで洗浄した。その後、有機層を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で減量して、油状物とした。結果として生じた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー(2% 10%メタノール/ジクロロメタン)によって精製して、約80%の収率で化合物92a及び92bを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。

10

## 【0838】

化合物92aまたは92b(6.7mmol)を20mLのジクロロメタン及び20mLのトリフルオロ酢酸で、室温で16時間処理した。結果として生じた溶液を蒸発させ、その後、メタノール中に溶解し、DOWEX-OH樹脂で30分間処理した。結果として生じた溶液を濾過し、減圧下で減量して油状物とすることで、85~90%の収率の化合物93a及び93bを得た。

## 【0839】

20

化合物7または64(9.6mmol)をDMF(20mL)中のHBTU(3.7g、9.6mmol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(5mL)で15分間処理した。これに、化合物93aまたは93b(3mmol)のいずれかを添加し、室温で16時間撹拌させた。この時点で、DMFを減圧下で75%超、減量し、その後、混合物をジクロロメタン中に溶解した。有機層を重炭酸ナトリウム、水、及びブラインで洗浄した。その後、有機層を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で減量して、油状物とした。結果として生じた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー(5% 20%メタノール/ジクロロメタン)によって精製して、20~40%の収率で化合物96a~dを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。

## 【0840】

30

化合物96a~d(0.75mmol)をラネーニッケル上で3時間、エタノール(75mL)中で個別に水素化した。この時点で、セライトを通して触媒を濾去し、エタノールを減圧下で除去して、80~90%の収率で化合物97a~dを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。

## 【0841】

化合物23(0.32g、0.53mmol)をDMF(30mL)中のHBTU(0.2g、0.53mmol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.19mL、1.14mmol)で15分間処理した。これに、化合物97a~d(0.38mmol)を個別に添加し、室温で16時間撹拌させた。この時点で、DMFを減圧下で75%超、減量し、その後、混合物をジクロロメタン中に溶解した。有機層を重炭酸ナトリウム、水、及びブラインで洗浄した。その後、有機層を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で減量して、油状物とした。結果として生じた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー(2% 20%メタノール/ジクロロメタン)によって精製して、30~40%の収率で化合物98a~dを得た。LCMS及びプロトンNMRは、その構造と一致した。

40

## 【0842】

化合物99(0.17g、0.76mmol)をDMF(50mL)中のHBTU(0.29g、0.76mmol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.35mL、2.0mmol)で15分間処理した。これに、化合物97a~d(0.51mmol)を個別に添加し、室温で16時間撹拌させた。この時点で、DMFを減圧下で7

50

5 % 超、減量し、その後、混合物をジクロロメタン中に溶解した。有機層を重炭酸ナトリウム、水、及びブラインで洗浄した。その後、有機層を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で減量して、油状物とした。結果として生じた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー（5 % 20 % メタノール / ジクロロメタン）によって精製して、40 ~ 60 % の収率で化合物 100 a ~ d を得た。LCMS 及びプロトン NMR は、その構造と一致した。

【0843】

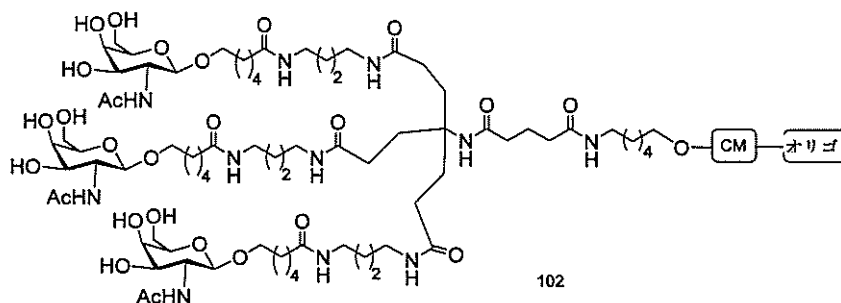
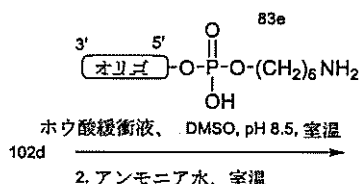
化合物 100 a ~ d (0.16 mmol) を、10 % Pd(OH)<sub>2</sub>/C 上で3時間、メタノール / 酢酸エチル (1 : 1、50 mL) 中で個別に水素化した。この時点で、セライトを通して触媒を濾去し、有機物を減圧下で除去して、80 ~ 90 % の収率で化合物 101 a ~ d を得た。LCMS 及びプロトン NMR は、その構造と一致した。

【0844】

化合物 101 a ~ d (0.15 mmol) を DMF (15 mL) 及びピリジン (0.016 mL、0.2 mmol) 中に個別に溶解した。トリフルオロ酢酸ペンタフルオロフェニル (0.034 mL、0.2 mmol) をアルゴン下で滴加し、反応物を室温で30分間撹拌させた。この時点で、DMF を減圧下で75 % 超、減量し、その後、混合物をジクロロメタン中に溶解した。有機層を重炭酸ナトリウム、水、及びブラインで洗浄した。その後、有機層を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で減量して、油状物とした。結果として生じた油状物をシリカゲルクロマトグラフィー（2 % 5 % メタノール / ジクロロメタン）によって精製して、約80 % の収率で化合物 102 a ~ d を得た。LCMS 及びプロトン NMR は、その構造と一致した。

【0845】

【化187】



【0846】

実施例 46 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-8 共役基を含むオリゴマー化合物 102 を調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-8 (GalNAc<sub>3</sub>-8 a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。好ましい一実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。

【0847】

GalNAc<sub>3</sub>-8 (GalNAc<sub>3</sub>-8 a - CM -) の構造は、以下に示される：

【0848】

10

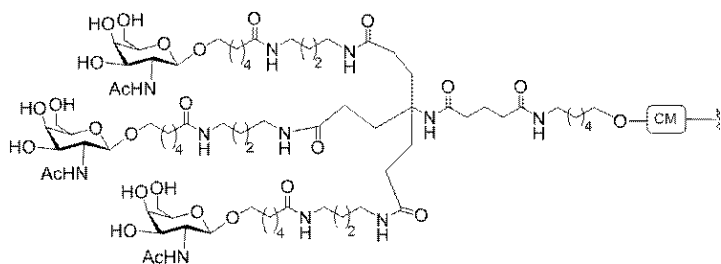
20

30

40

50

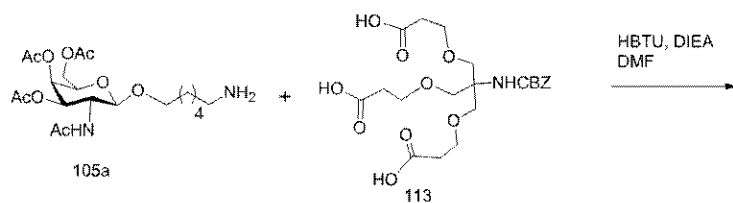
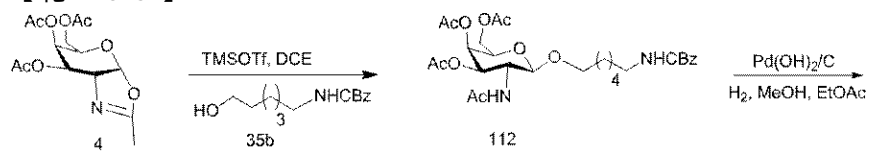
## 【化 1 8 8】

実施例 48 : GalNAc<sub>3</sub> - 7 を含むオリゴヌクレオチド 119 の調製

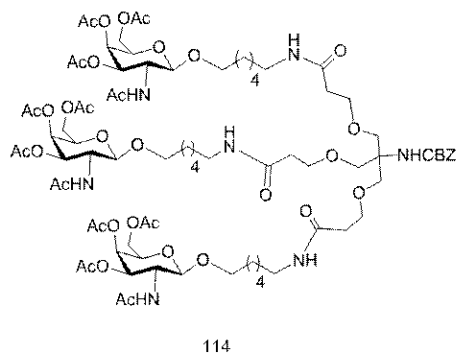
10

## 【 0 8 4 9】

## 【化 1 8 9】



20



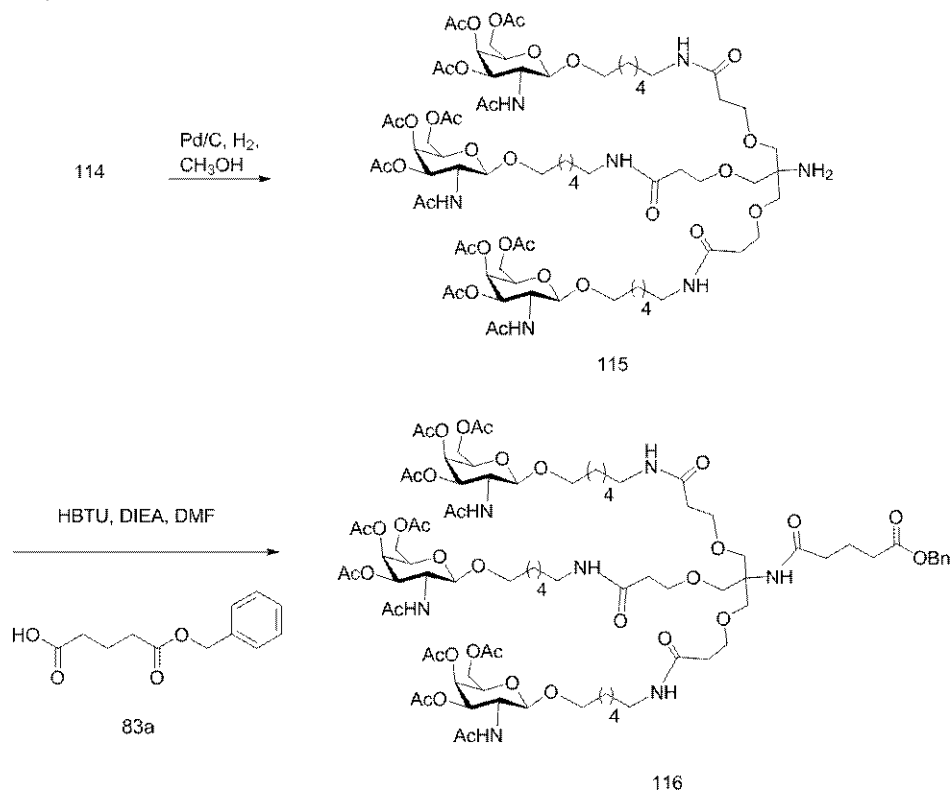
30

## 【 0 8 5 0】

40

50

## 【化 1 9 0】



10

20

## 【 0 8 5 1】

文献 ( J . M e d . C h e m . 2 0 0 4 , 4 7 , 5 7 9 8 - 5 8 0 8 ) に記載される手順に従って化合物 1 1 2 を合成した。

## 【 0 8 5 2】

化合物 1 1 2 ( 5 g 、 8 . 6 m m o l ) を 1 : 1 メタノール / 酢酸エチル ( 2 2 m L / 2 2 m L ) 中に溶解した。炭素 ( 0 . 5 g ) 上水酸化パラジウムを添加した。反応混合物を室温で 1 2 時間、水素下で撹拌した。セライトパッドを通して反応混合物を濾過し、そのパッドを 1 : 1 メタノール / 酢酸エチルで洗浄した。濾液と洗浄物を合わせ、濃縮乾固させて、化合物 1 0 5 a ( 定量的 ) を得た。この構造を、 L C M S によって確認した。

30

## 【 0 8 5 3】

化合物 1 1 3 ( 1 . 2 5 g 、 2 . 7 m m o l ) 、 H B T U ( 3 . 2 g 、 8 . 4 m m o l ) 、 及び D I E A ( 2 . 8 m L 、 1 6 . 2 m m o l ) を無水 D M F ( 1 7 m L ) 中に溶解し、反応混合物を室温で 5 分間撹拌した。これに、無水 D M F ( 2 0 m L ) 中の化合物 1 0 5 a ( 3 . 7 7 g 、 8 . 4 m m o l ) の溶液を添加した。反応物を室温で 6 時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去して、油状物を得た。残渣を C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> ( 1 0 0 m L ) 中に溶解し、飽和 N a H C O <sub>3</sub> 水溶液 ( 1 0 0 m L ) 及びブライン ( 1 0 0 m L ) で洗浄した。有機相を分離し、乾燥させ ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) 、濾過し、蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン中の 1 0 ~ 2 0 % M e O H で溶出して、化合物 1 1 4 ( 1 . 4 5 g 、 3 0 % ) を得た。この構造を、 L C M S 及び <sup>1</sup> H N M R 分析によって確認した。

40

## 【 0 8 5 4】

化合物 1 1 4 ( 1 . 4 3 g 、 0 . 8 m m o l ) を 1 : 1 メタノール / 酢酸エチル ( 4 m L / 4 m L ) 中に溶解した。パラジウム炭素 ( 湿性、 0 . 1 4 g ) を添加した。反応混合物を水素でフラッシュし、室温で 1 2 時間、水素下で撹拌した。セライトパッドを通して反応混合物を濾過した。このセライトパッドをメタノール / 酢酸エチル ( 1 : 1 ) で洗浄した。濾液と洗浄物を一つに合わせ、減圧下で蒸発させて、化合物 1 1 5 ( 定量的 ) を得た。この構造を、 L C M S 及び <sup>1</sup> H N M R 分析によって確認した。

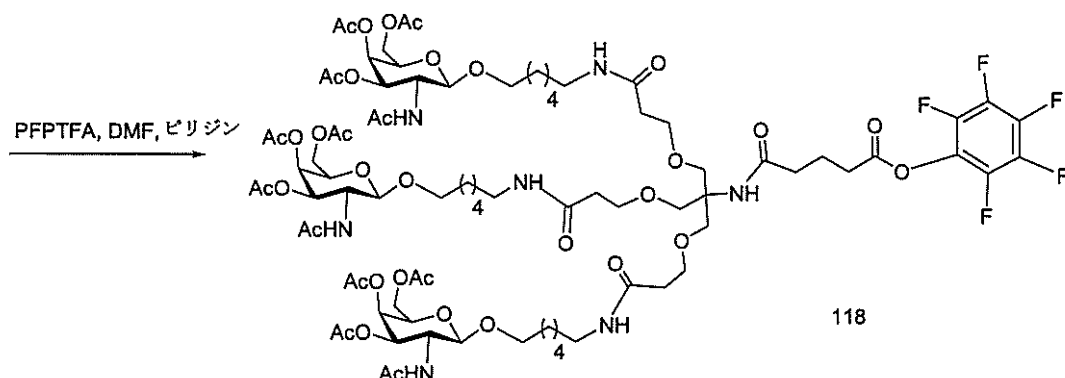
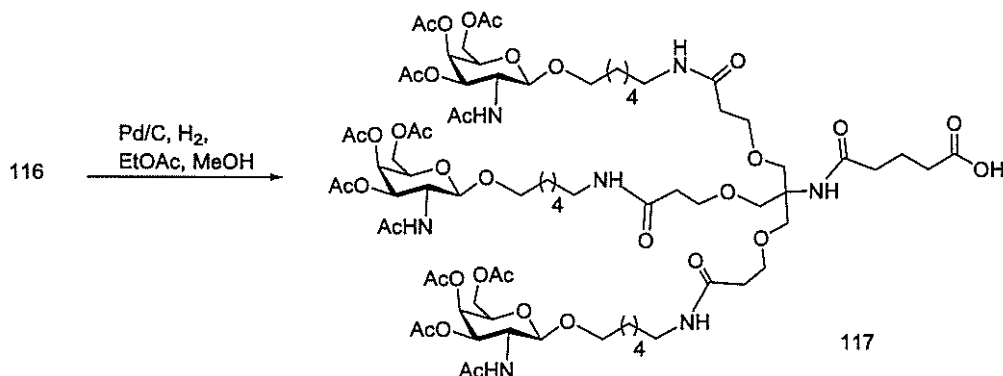
## 【 0 8 5 5】

50

化合物 83a (0.17 g、0.75 mmol)、HBTU (0.31 g、0.83 mmol)、及び DIEA (0.26 mL、1.5 mmol) を無水 DMF (5 mL) 中に溶解し、反応混合物を室温で 5 分間撹拌した。これに、無水 DMF 中の化合物 115 (1.22 g、0.75 mmol) の溶液を添加し、反応物を室温で 6 時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中に溶解した。有機層を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液及びブラインで洗浄し、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、濾過した。有機層を濃縮乾固させ、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン中の 3 ~ 15 % MeOH で溶出して、化合物 116 (0.84 g、61%) を得た。この構造を、LCMS 及び <sup>1</sup>H NMR 分析によって確認した。

【0856】

【化191】



【0857】

化合物 116 (0.74 g、0.4 mmol) を 1 : 1 メタノール / 酢酸エチル (5 mL / 5 mL) 中に溶解した。パラジウム炭素 (湿性、0.074 g) を添加した。反応混合物を水素でフラッシュし、室温で 12 時間、水素下で撹拌した。セライトパッドを通して反応混合物を濾過した。このセライトパッドをメタノール / 酢酸エチル (1 : 1) で洗浄した。濾液と洗浄物を一つに合わせ、減圧下で蒸発させて、化合物 117 (0.73 g、98%) を得た。この構造を、LCMS 及び <sup>1</sup>H NMR 分析によって確認した。

【0858】

化合物 117 (0.63 g、0.36 mmol) を無水 DMF (3 mL) 中に溶解した。この溶液に、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (70 μL、0.4 mmol) 及びトリフルオロ酢酸ペンタフルオロフェニル (72 μL、0.42 mmol) を添加した。反応混合物を室温で 12 時間撹拌し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液に注いだ。この混合物をジクロロメタンで抽出し、ブラインで洗浄し、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥させた。このジクロロメタン溶液を濃縮乾固させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、ジクロロメタン中の 5 ~ 10 % MeOH で溶出して、化合物 118 (0.51 g、79%) を得た。この構造を、LCMS と、<sup>1</sup>H ならびに <sup>19</sup>F NMR によって確認した。

【0859】

10

20

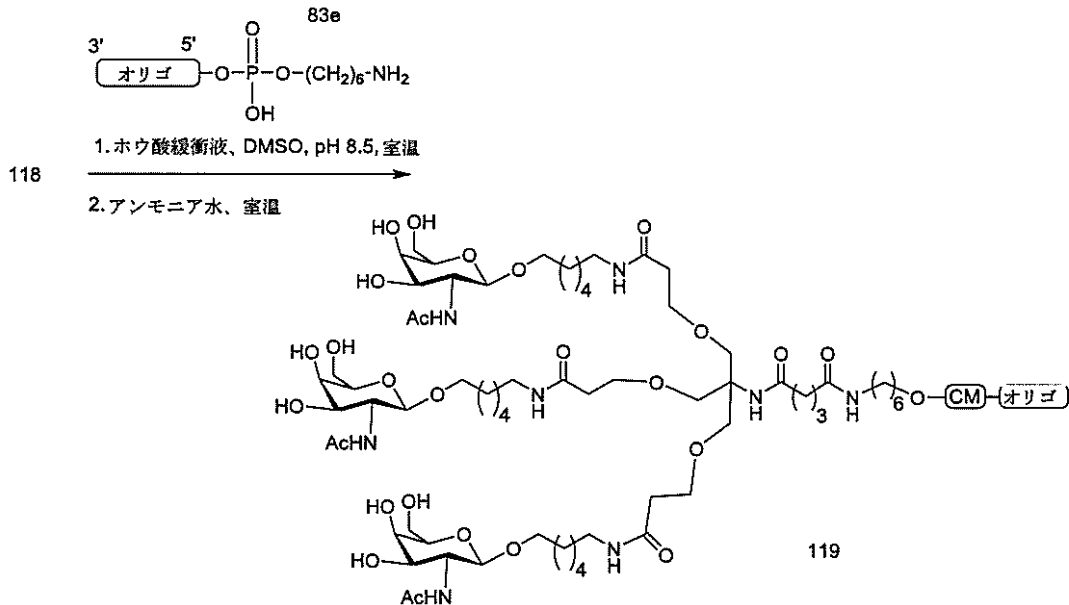
30

40

50



## 【化 1 9 2】



10

## 【 0 8 6 0】

実施例 46 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-7 共役基を含むオリゴマー化合物 119 を調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-7 (GalNAc<sub>3</sub>-7a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。

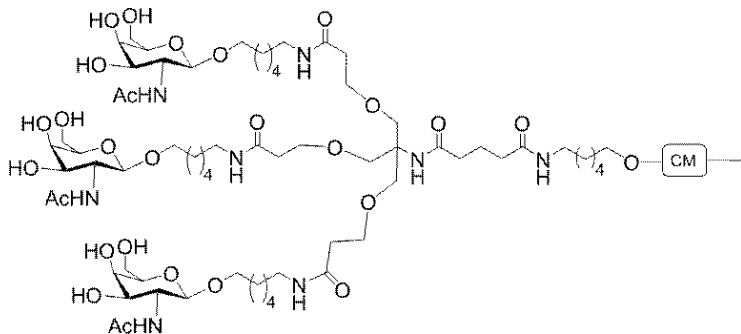
20

## 【 0 8 6 1】

GalNAc<sub>3</sub>-7 (GalNAc<sub>3</sub>-7a-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【 0 8 6 2】

## 【化 1 9 3】

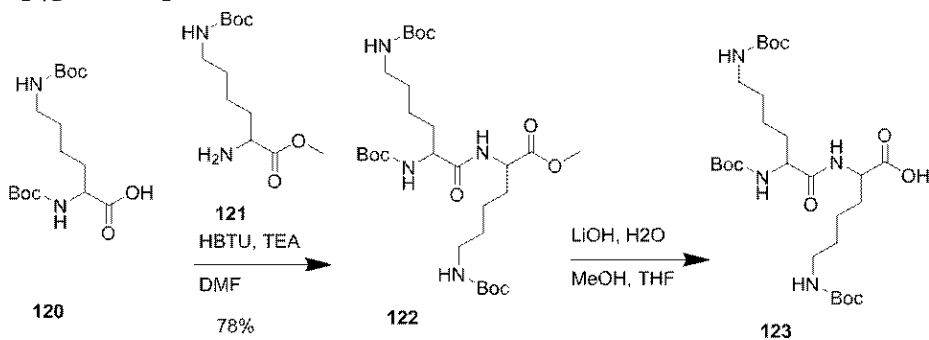


30

実施例 49：GalNAc<sub>3</sub>-5 を含むオリゴヌクレオチド 132 の調製

## 【 0 8 6 3】

## 【化 1 9 4】



40

50

## 【 0 8 6 4 】

化合物 1 2 0 ( 1 4 . 0 1 g、4 0 m m o l ) 及び H B T U ( 1 4 . 0 6 g、3 7 m m o l ) を無水 D M F ( 8 0 m L ) 中に溶解した。トリエチルアミン ( 1 1 . 2 m L、8 0 . 3 5 m m o l ) を添加し、5 分間撹拌した。反応混合物を氷浴中で冷却し、無水 D M F ( 2 0 m L ) 中の化合物 1 2 1 ( 1 0 g、m m o l ) の溶液を添加した。さらなるトリエチルアミン ( 4 . 5 m L、3 2 . 2 8 m m o l ) を添加し、反応混合物をアルゴン雰囲気下で 1 8 時間撹拌した。T L C ( 1 : 1 の酢酸エチル : ヘキサン ;  $R_f = 0 . 4 7$  ) によって反応を監視した。溶媒を減圧下で除去した。残渣を E t O A c ( 3 0 0 m L ) 中に取り込み、1 M N a H S O <sub>4</sub> ( 3 × 1 5 0 m L )、飽和 N a H C O <sub>3</sub> 水溶液 ( 3 × 1 5 0 m L )、及びブライン ( 2 × 1 0 0 m L ) で洗浄した。有機層を N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> で乾燥させた。乾燥剤を濾去し、有機層を回転蒸発によって濃縮した。粗混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、ヘキサン中の 3 5 ~ 5 0 % E t O A c を用いて溶出して、化合物 1 2 2 ( 1 5 . 5 0 g、7 8 . 1 3 % ) を得た。この構造を、L C M S 及び <sup>1</sup> H N M R 分析によって確認した。質量 ( m / z ) 5 8 9 . 3 [ M + H ] <sup>+</sup>。

10

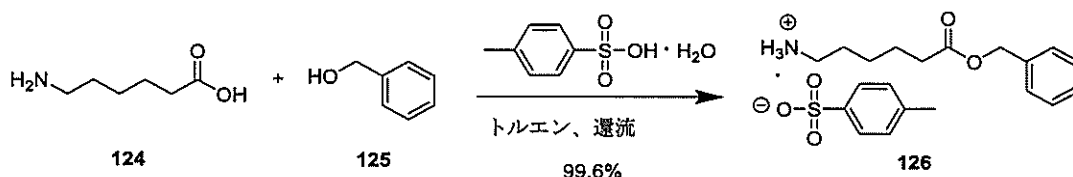
## 【 0 8 6 5 】

水 ( 2 0 m L ) 及び T H F ( 1 0 m L ) 中の L i O H ( 9 2 . 1 5 m m o l ) の溶液を、メタノール ( 1 5 m L ) 中に溶解した化合物 1 2 2 の冷溶液 ( 7 . 7 5 g、1 3 . 1 6 m m o l ) に添加した。反応混合物を室温で 4 5 分間撹拌し、T L C ( 1 : 1 の E t O A c : ヘキサン ) によって監視した。反応混合物を減圧下で濃縮して、半分の体積にした。残りの溶液を氷浴中で冷却して、濃縮 H C l を添加して中和した。反応混合物を希釈し、E t O A c ( 1 2 0 m L ) で抽出し、ブライン ( 1 0 0 m L ) で洗浄した。エマルジョンが生じたが、一晩静置すると濁りがなくなった。有機層を分離し、乾燥させ ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> )、濾過し、蒸発させて、化合物 1 2 3 ( 8 . 4 2 g ) を得た。質量が大きすぎる原因はおそらく残留塩である。L C M S は、この構造と一致した。この生成物をさらに精製することなく使用した。M . W . 計算値 : 5 7 4 . 3 6、M . W . 実測値 : 5 7 5 . 3 [ M + H ] <sup>+</sup>。

20

## 【 0 8 6 6 】

## 【 化 1 9 5 】



30

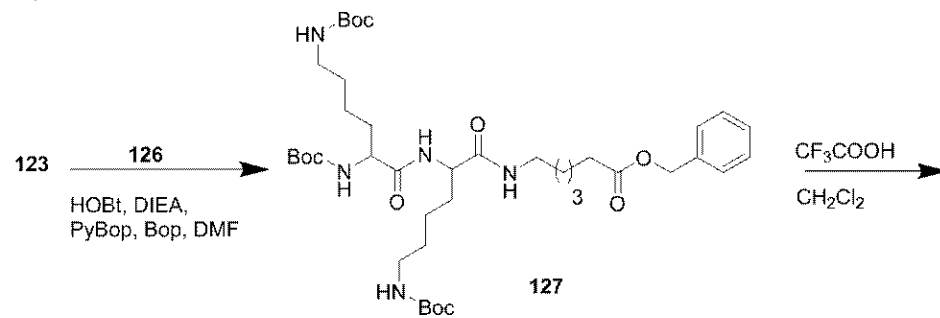
## 【 0 8 6 7 】

文献 ( J . A m . C h e m . S o c . 2 0 1 1 , 1 3 3 , 9 5 8 - 9 6 3 ) に記載される手順に従って化合物 1 2 6 を合成した。

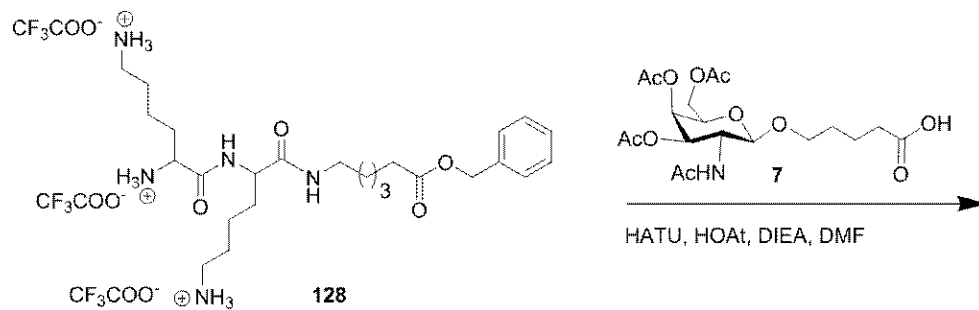
## 【 0 8 6 8 】

40

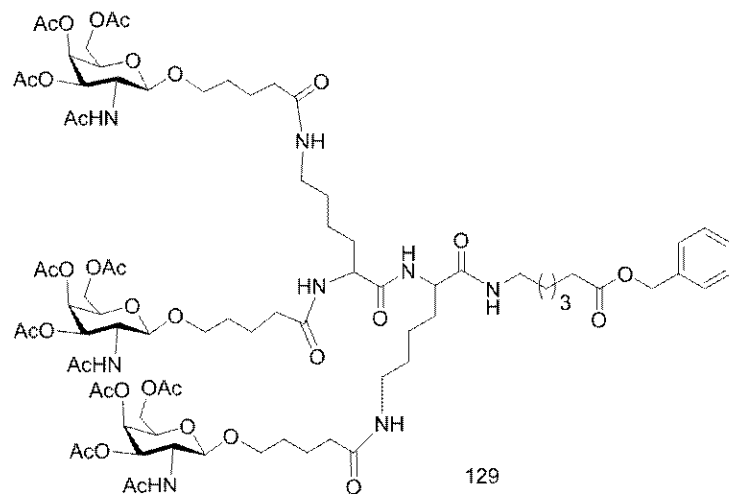
【化 1 9 6】



10



20



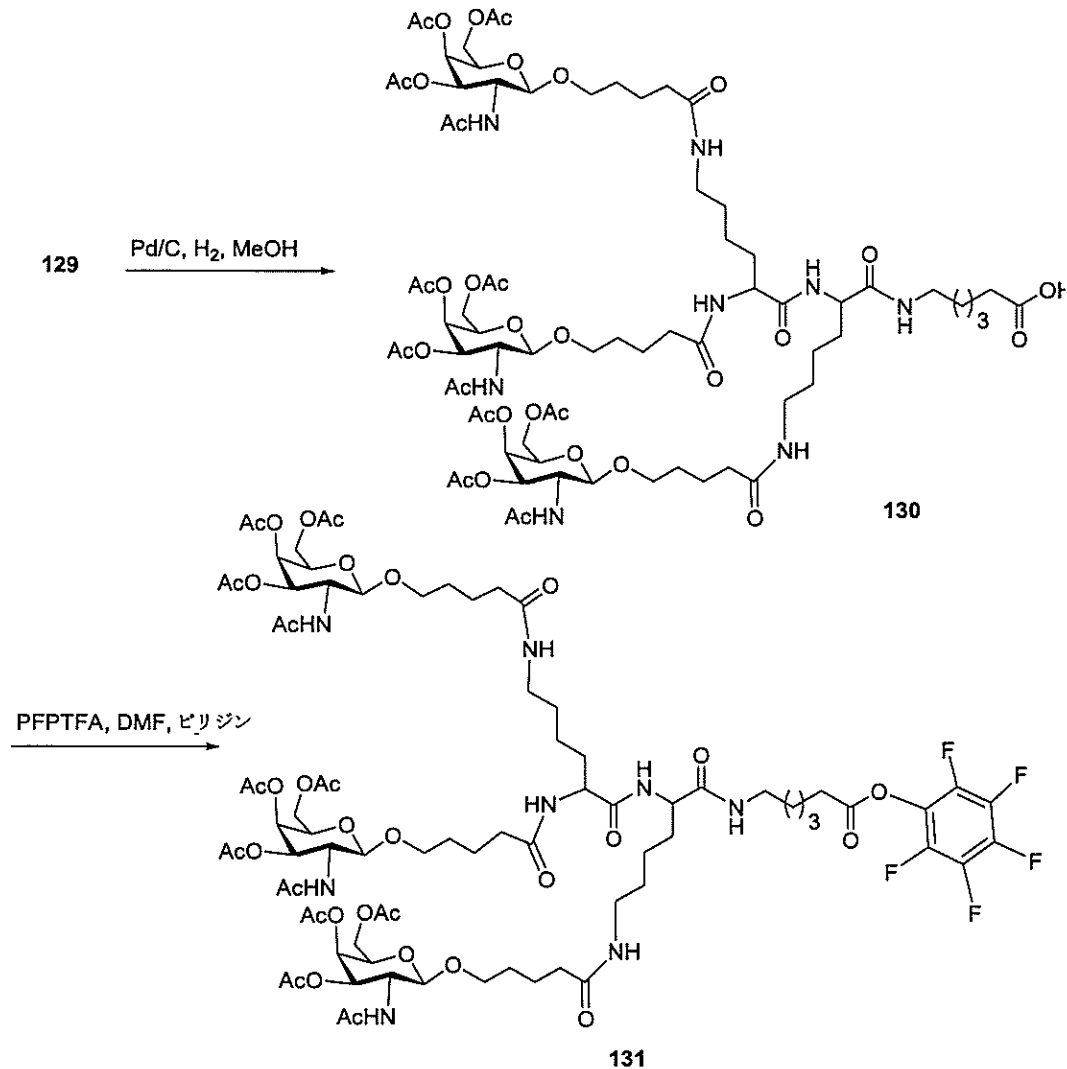
30

【 0 8 6 9 】

40

50

## 【化 1 9 7】



## 【 0 8 7 0】

化合物 123 (7.419 g、12.91 mmol)、HOBt (3.49 g、25.82 mmol)、及び化合物 126 (6.33 g、16.14 mmol) を DMF (40 mL) 中に溶解し、結果として生じた反応混合物を氷浴中で冷却した。これに、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (4.42 mL、25.82 mmol)、PyBop (8.7 g、16.7 mmol)、続いて、Bopカップリング試薬 (1.17 g、2.66 mmol) をアルゴン雰囲気下で添加した。氷浴を除去し、溶液を室温まで温めた。1時間後に反応が完了したことを、TLC (89:10:1のDCM:MeOH:AA) によって決定した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残渣をEtOAc (200 mL) 中に溶解し、1 M NaHSO<sub>4</sub> (3 × 100 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (3 × 100 mL)、及びブライン (2 × 100 mL) で洗浄した。有機相を分離し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濾過し、濃縮した。残渣を50%ヘキサン/EtOAc:100%EtOAcの勾配でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、白色の泡状物として化合物 127 (9.4 g) を得た。LCMS及び<sup>1</sup>H NMRは、その構造と一致した。質量 (m/z) 778.4 [M+H]<sup>+</sup>。

## 【 0 8 7 1】

トリフルオロ酢酸 (12 mL) をジクロロメタン (12 mL) 中の化合物 127 (1.57 g、2.02 mmol) の溶液に添加し、室温で1時間撹拌した。反応混合物を減圧下でトルエン (30 mL) と共蒸発乾固させた。得られた残渣をアセトニトリル (30 mL) 及びトルエン (40 mL) と2回共蒸発させて、トリフルオロ酢酸塩として化合物 12

8 ( 1 . 6 7 g ) を得て、さらに精製することなく次のステップで使用した。LCMS 及び  $^1\text{H}$  NMR は、その構造と一致した。質量 ( $m/z$ ) 478 . 2 [  $\text{M} + \text{H}$  ]  $^+$ 。

【 0 8 7 2 】

丸底フラスコ内で、化合物 7 ( 0 . 4 3 g 、 0 . 9 6 3 mmol )、HATU ( 0 . 3 5 g 、 0 . 9 1 mmol )、及び HOAt ( 0 . 0 3 5 g 、 0 . 2 6 mmol ) を一つに合わせ、減圧下、 $\text{P}_2\text{O}_5$  上で 4 時間乾燥させ、その後、無水 DMF ( 1 mL ) 中に溶解し、5 分間撹拌した。これに無水 DMF ( 0 . 2 mL ) 及び N , N - ジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 2 mL ) 中の化合物 128 ( 0 . 2 0 g 、 0 . 2 6 mmol ) の溶液を添加した。反応混合物をアルゴン雰囲気下、室温で撹拌した。30 分間後に反応が完了したことを、LCMS 及び TLC ( 7 % MeOH / DCM ) によって決定した。反応混合物を減圧下で濃縮した。残渣を DCM ( 30 mL ) 中に溶解し、1 M  $\text{NaHSO}_4$  (  $3 \times 20$  mL )、飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (  $3 \times 20$  mL )、及びブライン (  $3 \times 20$  mL ) で洗浄した。有機相を分離し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  上で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣をジクロロメタン中の 5 ~ 15 % MeOH を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物 129 ( 96 . 6 mg ) を得た。LCMS 及び  $^1\text{H}$  NMR は、この構造と一致する。質量 ( $m/z$ ) 883 . 4 [  $\text{M} + 2\text{H}$  ]  $^+$ 。

【 0 8 7 3 】

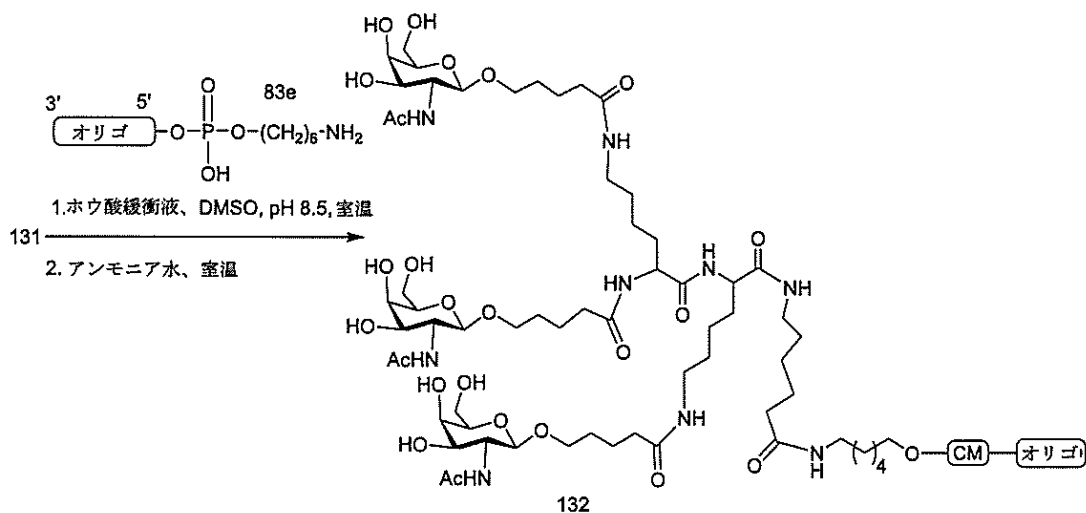
20 mL のシンチレーションバイアル内で化合物 129 ( 0 . 0 9 g 、 0 . 0 5 1 mmol ) をメタノール ( 5 mL ) 中に溶解した。これに、少量の 10 % Pd / C ( 0 . 0 1 5 mg ) を添加し、反応容器を  $\text{H}_2$  ガスでフラッシュした。反応混合物を室温で 18 時間、 $\text{H}_2$  雰囲気下で撹拌した。セライトパッドを通して反応混合物を濾過し、このセライトパッドをメタノールで洗浄した。濾液洗浄物を一つにプールし、減圧下で濃縮して、化合物 130 ( 0 . 0 8 g ) を得た。LCMS 及び  $^1\text{H}$  NMR は、その構造と一致した。この生成物をさらに精製することなく使用した。質量 ( $m/z$ ) 838 . 3 [  $\text{M} + 2\text{H}$  ]  $^+$ 。

【 0 8 7 4 】

10 mL の先の尖った丸底フラスコに、化合物 130 ( 75 . 8 mg 、 0 . 0 4 6 mmol )、0 . 3 7 M ピリジン / DMF ( 200  $\mu\text{L}$  )、及び撹拌子を添加した。この溶液に、0 . 7 M トリフルオロ酢酸ペンタフルオロフェニル / DMF ( 100  $\mu\text{L}$  ) を撹拌しながら滴加した。1 時間後に反応が完了したことを、LCMS によって決定した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を  $\text{CHCl}_3$  ( 約 10 mL ) 中に溶解した。有機層を  $\text{NaHSO}_4$  ( 1 M 、 10 mL )、飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 ( 10 mL )、及びブライン ( 10 mL ) にそれぞれ 3 回分配した。有機相を分離し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  上で乾燥させ、濾過し、濃縮して、化合物 131 ( 77 . 7 mg ) を得た。LCMS は、この構造と一致した。さらに精製することなく使用した。質量 ( $m/z$ ) 921 . 3 [  $\text{M} + 2\text{H}$  ]  $^+$ 。

【 0 8 7 5 】

【 化 1 9 8 】



## 【 0 8 7 6 】

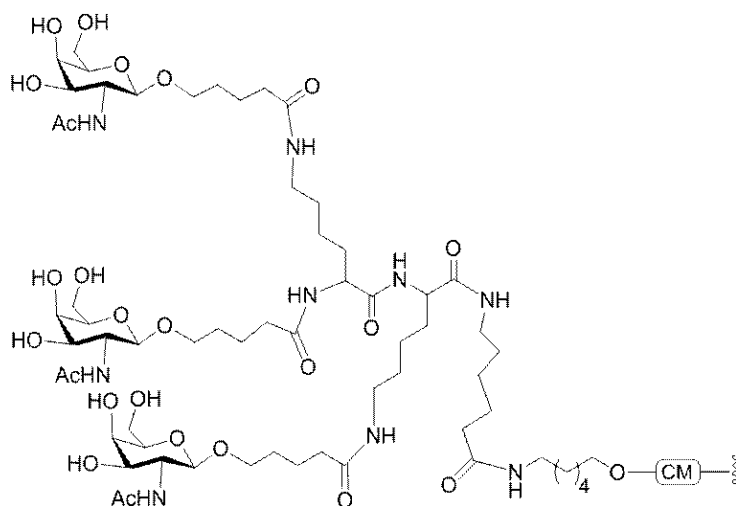
実施例 4 6 に例証される一般的手順を用いて、G a l N A c 3 - 5 共役基を含むオリゴマー化合物 1 3 2 を調製した。共役基 G a l N A c 3 - 5 ( G a l N A c 3 - 5 a ) の G a l N A c 3 クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、 $-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-$  である。

## 【 0 8 7 7 】

G a l N A c 3 - 5 ( G a l N A c 3 - 5 a - C M - ) の構造は、以下に示される：

## 【 0 8 7 8 】

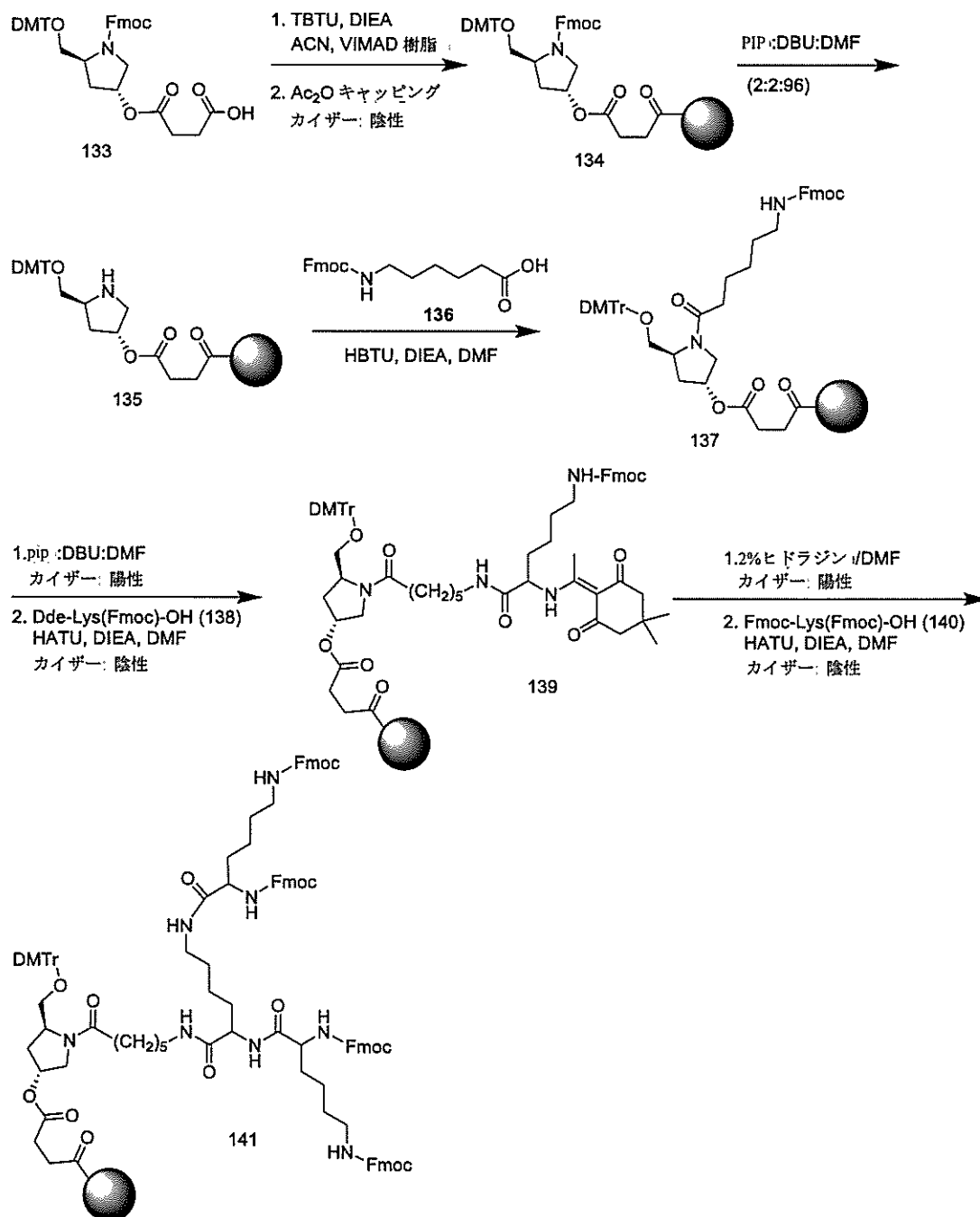
## 【 化 1 9 9 】



実施例 5 0 : G a l N A c 4 - 1 1 を含むオリゴヌクレオチド 1 4 4 の調製

## 【 0 8 7 9 】

【化 2 0 0】



【 0 8 8 0】

10

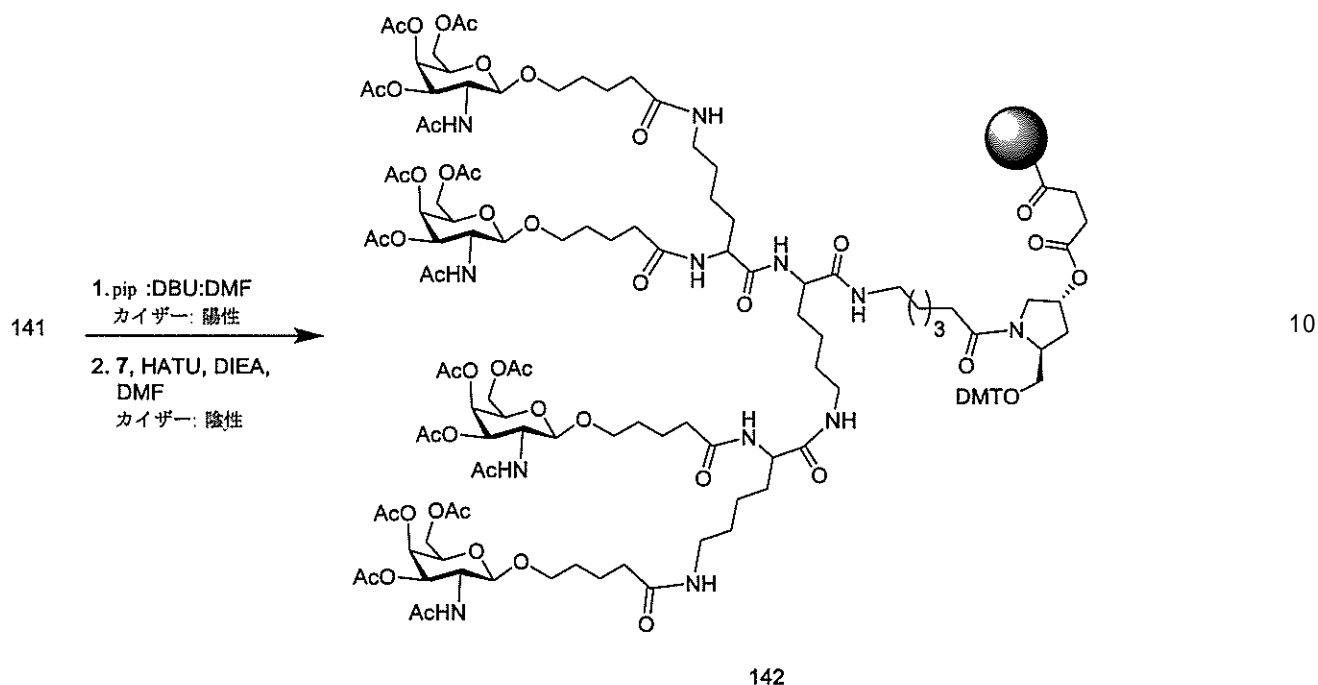
20

30

40

50

## 【化 2 0 1】



## 【 0 8 8 1】

化合物 1 3 4 の合成。Merri field フラスコに、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジクロロメタン、及びアセトニトリルで洗浄したアミノメチル V I M A D 樹脂 ( 2 . 5 g 、 4 5 0 μ m o l / g ) を添加した。この樹脂は、アセトニトリル ( 4 m L ) 中で膨潤した。2 0 ( 1 . 0 m m o l 、 0 . 7 4 7 g ) 、T B T U ( 1 . 0 m m o l 、 0 . 3 2 1 g ) 、アセトニトリル ( 5 m L ) 、及び D I E A ( 3 . 0 m m o l 、 0 . 5 m L ) を添加して、化合物 1 3 3 を 1 0 0 m L の丸底フラスコ内で事前に活性化した。この溶液を 5 分間攪拌させ、その後、振盪しながら Merri field フラスコに添加した。懸濁液を 3 時間振盪させた。反応混合物を排出し、樹脂をアセトニトリル、DMF、及び D C M で洗浄した。D C M 中 5 0 0 n m ( 消光係数 = 7 6 0 0 0 ) で D M T カチオンの吸光度を測定することにより新たな樹脂負荷量を定量化し、2 3 8 μ m o l / g であると決定した。無水酢酸溶液中で 1 0 分間 3 回懸濁することにより、この樹脂をキャップした。

## 【 0 8 8 2】

反復 F m o c ベース固相ペプチド合成法を用いて、固体支持体に結合された化合物 1 4 1 を合成した。少量の固体支持体を回収し、アンモニア水 ( 2 8 ~ 3 0 重量% ) 中に 6 時間懸濁した。切断された化合物を L C - M S によって分析した。観察された質量は、その構造と一致した。質量 ( m / z ) 1 0 6 3 . 8 [ M + 2 H ] <sup>+</sup>。

## 【 0 8 8 3】

固相ペプチド合成法を用いて、固体支持体に結合された化合物 1 4 2 を合成した。

## 【 0 8 8 4】

10

20

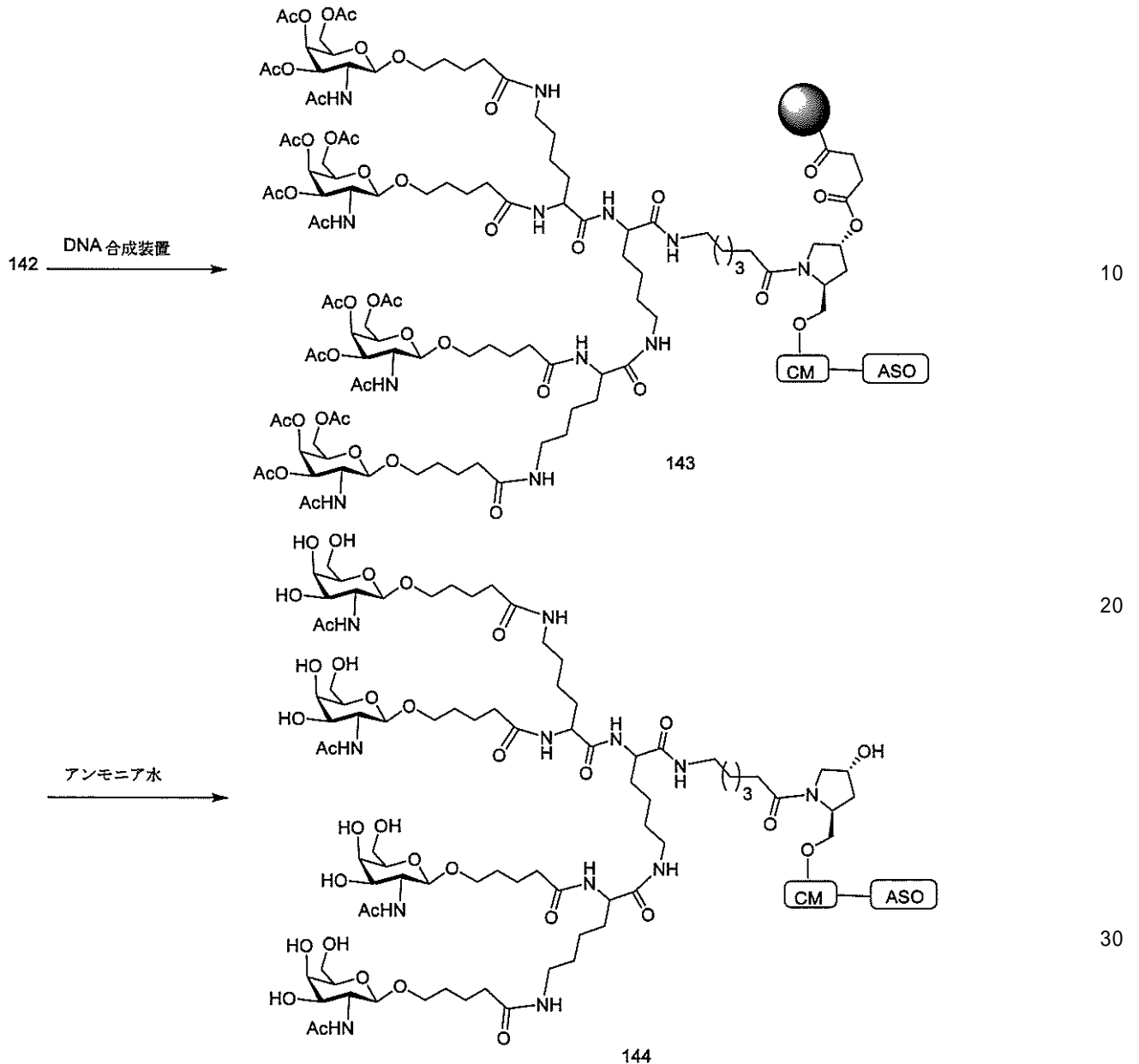
30

40

50



## 【化 2 0 2】



## 【 0 8 8 5】

DNA 合成装置において標準の固相合成を用いて、固体支持体に結合された化合物 1 4 3 を合成した。

## 【 0 8 8 6】

固体支持体に結合された化合物 1 4 3 をアンモニア水（28 - 30 重量％）中に懸濁し、55 で 16 時間加熱した。溶液を冷却し、固体支持体を濾過した。濾液を濃縮し、残渣を水中に溶解し、強アニオン交換カラム上で HPLC によって精製した。全長化合物 1 4 4 を含有する画分を一つにプールし、脱塩した。結果として生じた GalNAc<sub>4</sub>-1 1 共役オリゴマー化合物を LC-MS によって分析し、観察された質量は、その構造と一致した。

## 【 0 8 8 7】

共役基 GalNAc<sub>4</sub>-1 1 (GalNAc<sub>4</sub>-1 1 a) の GalNAc<sub>4</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。

10

20

30

40

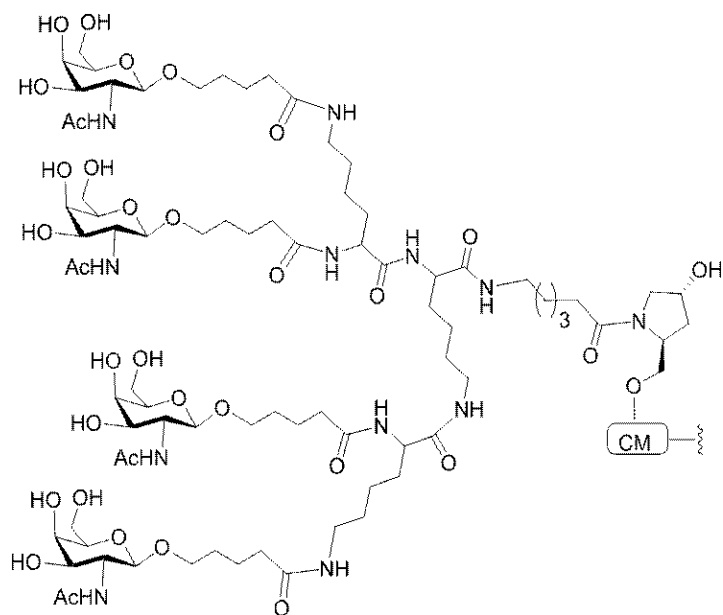
50

【 0 8 8 8 】

GalNAc<sub>4</sub>-11 (GalNAc<sub>4</sub>-11a-CM) の構造は、以下に示される：

【 0 8 8 9 】

【 化 2 0 3 】



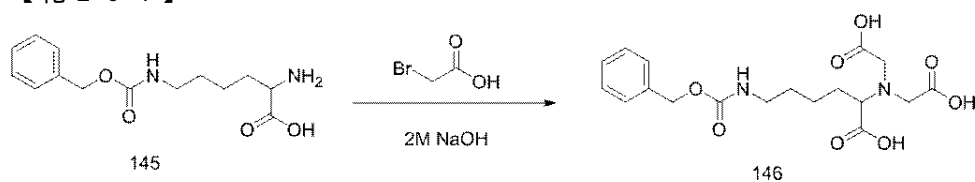
10

20

実施例 51：GalNAc<sub>3</sub>-6を含むオリゴヌクレオチド 155 の調製

【 0 8 9 0 】

【 化 2 0 4 】



【 0 8 9 1 】

文献 (Analytical Biochemistry 1995, 229, 54-60) に記載されるように、化合物 146 を合成した。

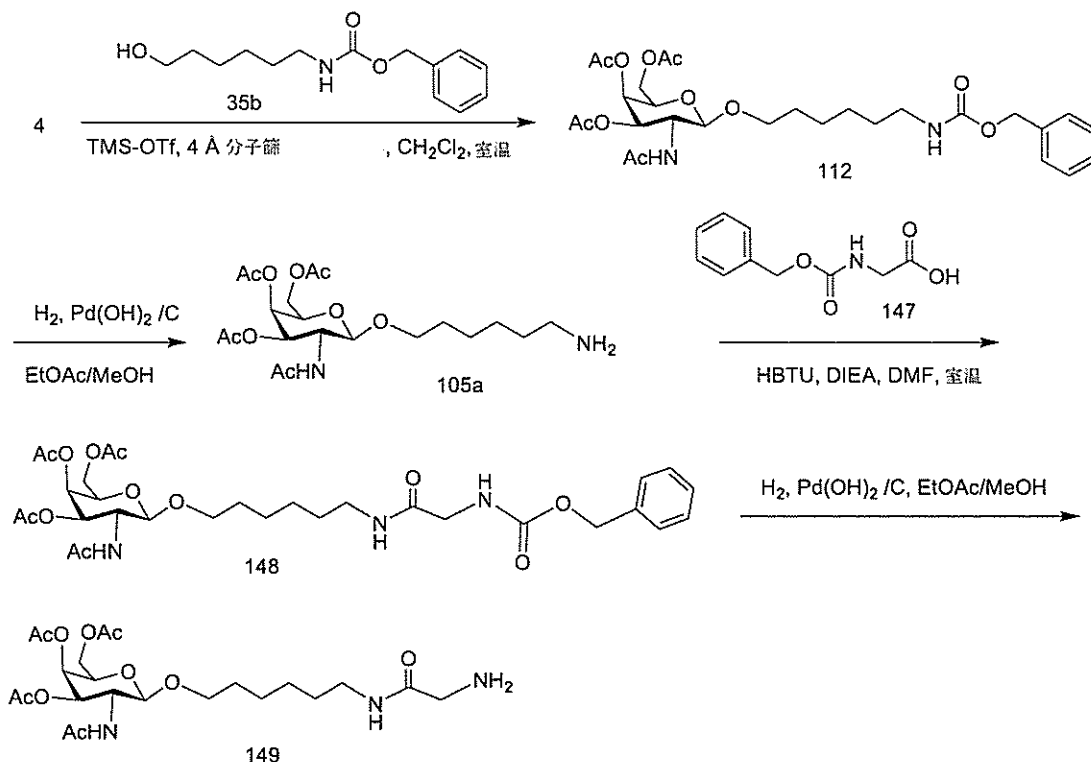
【 0 8 9 2 】

30

40

50

## 【化 2 0 5】



10

20

## 【 0 8 9 3】

化合物 4 (15 g、45.55 mmol) 及び化合物 35b (14.3 g、57 mmol) を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) 中に溶解した。活性化モレキュラーシーブ (4 g、粉末) を添加し、反応物を窒素雰囲気下で 30 分間撹拌させた。TMS-OTf を添加し (4.1 mL、22.77 mmol)、反応物を室温で一晩撹拌させた。完了した時点で、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (500 mL) 及び粉碎した氷 (約 150 g) を注いで反応物を反応停止処理した。有機層を分離し、ブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮してオレンジ色の油状物を得た。粗物質をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中の 2 ~ 10 % MeOH で溶出して、化合物 112 (16.53 g、63 %) を得た。LCMS 及び <sup>1</sup>H NMR は、予想した化合物と一致した。

30

## 【 0 8 9 4】

化合物 112 (4.27 g、7.35 mmol) を 1 : 1 の MeOH / EtOAc (40 mL) 中に溶解した。この溶液を通してアルゴン流を 15 分間バブリングして反応混合物をパージした。パールマン触媒 (炭素上の水酸化パラジウム、400 mg) を添加し、この溶液を通して水素ガスを 30 分間バブリングした。完了した時点で (TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中の 10 % MeOH) 及び LCMS)、セライトパッドを通して触媒を濾去した。濾液を回転蒸発によって濃縮し、高真空下で短時間乾燥させて、化合物 105a (3.28 g) を得た。LCMS 及び <sup>1</sup>H NMR は、所望の生成物と一致した。

40

## 【 0 8 9 5】

化合物 147 (2.31 g、11 mmol) を無水 DMF (100 mL) 中に溶解した。N, N - ジイソプロピルエチルアミン (DIEA、3.9 mL、22 mmol)、続いて、HBTU (4 g、10.5 mmol) を添加した。反応混合物を窒素下で約 15 分間撹拌させた。これに、乾燥 DMF 中の化合物 105a (3.3 g、7.4 mmol) の溶液を添加し、窒素雰囲気下で 2 時間撹拌した。反応物を EtOAc で希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液及びブラインで洗浄した。有機相を分離し、乾燥させ (MgSO<sub>4</sub>)、濾過し、濃縮してオレンジ色のシロップ状物を得た。粗物質をカラムクロマトグラフィー (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中の 2 ~ 5 % MeOH) によって精製して、化合物 148 (3.44 g、73 %

50

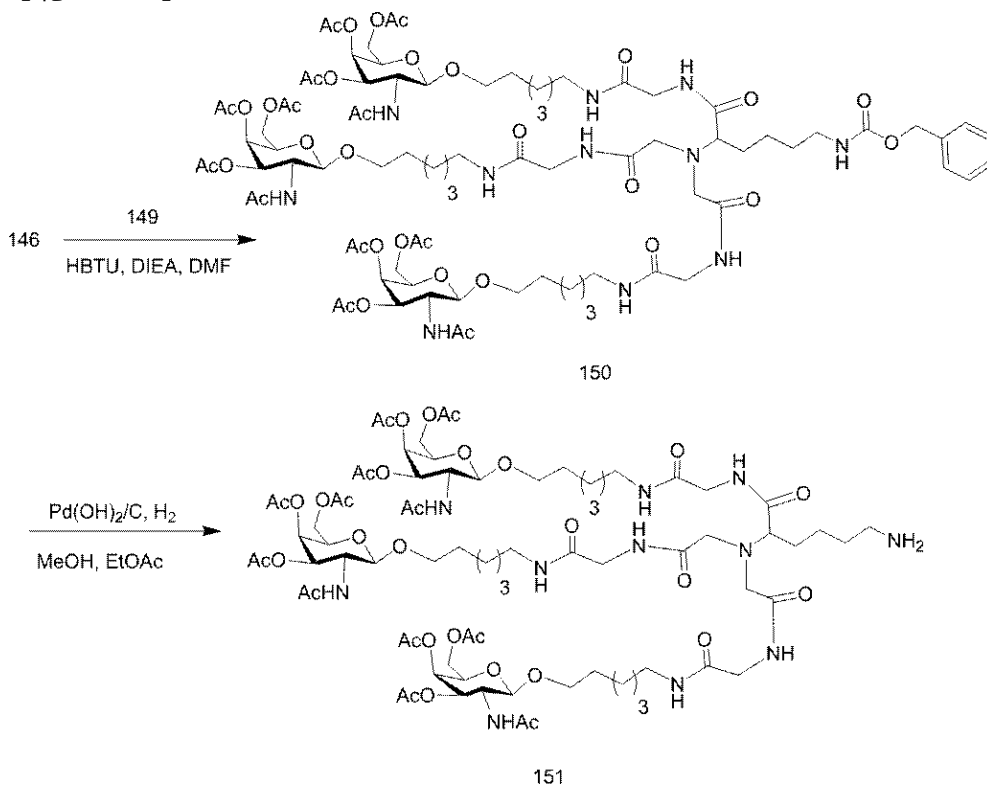
を得た。LCMS及び $^1\text{H}$  NMRは、予想した生成物と一致した。

【0896】

化合物148 (3.3 g、5.2 mmol) を1:1のMeOH/EtOAc (75 mL) 中に溶解した。この溶液を通してアルゴン流を15分間バブリングして反応混合物をパージした。パールマン触媒 (炭素上の水酸化パラジウム) を添加した (350 mg)。この溶液を通して水素ガスを30分間バブリングした。完了した時点で (TLC (DCM中の10% MeOH) 及びLCMS)、セライトパッドを通して触媒を濾去した。濾液を回転蒸発によって濃縮し、高真空下で短時間乾燥させて、化合物149 (2.6 g) を得た。LCMSは、所望の生成物と一致した。残渣を乾燥DMF (10 mL) 中に溶解し、次のステップで即座に使用した。

【0897】

【化206】



【0898】

化合物146 (0.68 g、1.73 mmol) を乾燥DMF (20 mL) 中に溶解した。これに、DIEA (450  $\mu\text{L}$ 、2.6 mmol、1.5当量) 及びHBTU (1.96 g、0.52 mmol) を添加した。反応混合物を室温で15分間、窒素下で撹拌させた。無水DMF (10 mL) 中の化合物149 (2.6 g) の溶液を添加した。DIEAを添加することにより (必要に応じて)、反応物のpHをpH = 9 ~ 10に調整した。反応物を室温で2時間、窒素下で撹拌させた。完了した時点で、反応物をEtOAc (100 mL) で希釈し、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液で洗浄し、続いて、ブラインで洗浄した。有機相を分離し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の2 ~ 10% MeOHで溶出して、化合物150 (0.62 g、20%) を得た。LCMS及び $^1\text{H}$  NMRは、所望の生成物と一致した。

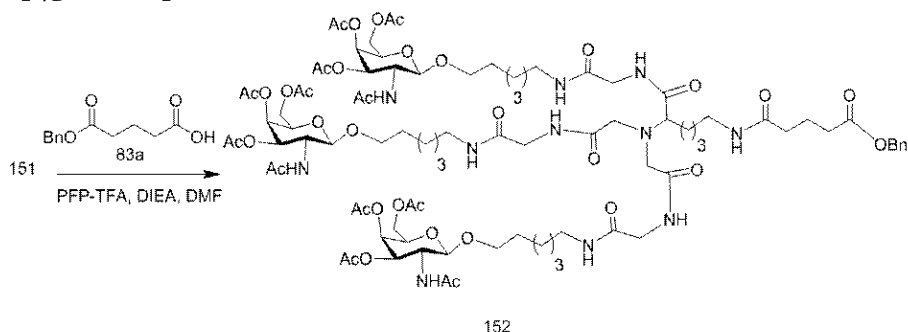
【0899】

化合物150 (0.62 g) を1:1のMeOH/EtOAc (5 L) 中に溶解した。この溶液を通してアルゴン流を15分間バブリングして反応混合物をパージした。パールマン触媒 (炭素上の水酸化パラジウム) を添加した (60 mg)。この溶液を通して水素ガスを30分間バブリングした。完了した時点で (TLC (DCM中の10% MeOH) 及

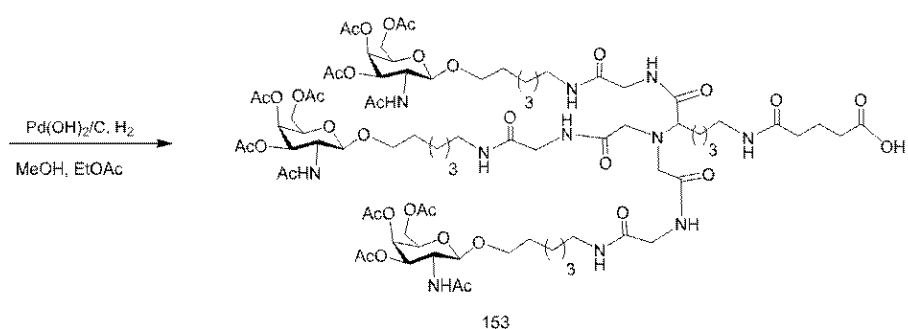
びLCMS)、触媒を濾去した(シリンジチップTeflonフィルター、 $0.45\mu\text{m}$ )。濾液を回転蒸発によって濃縮し、高真空下で短時間乾燥させて、化合物151( $0.57\text{g}$ )を得た。LCMSは、所望の生成物と一致した。この生成物を $4\text{mL}$ の乾燥DMF中に溶解し、次のステップで即座に使用した。

【0900】

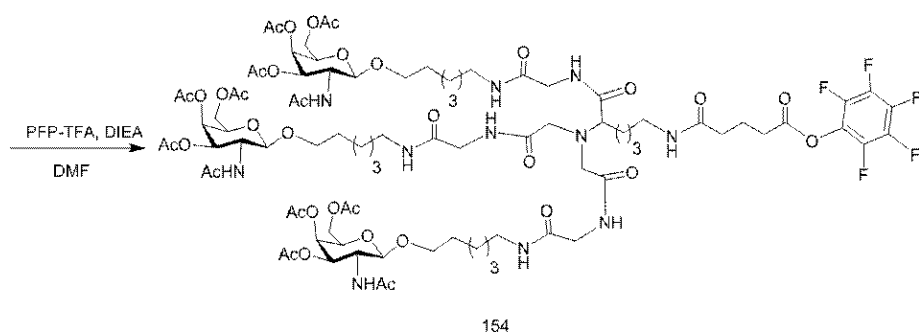
【化207】



10



20



30

【0901】

化合物83a( $0.11\text{g}$ 、 $0.33\text{mmol}$ )を無水DMF( $5\text{mL}$ )中に溶解し、N,N-ジイソプロピルエチルアミン( $75\mu\text{L}$ 、 $1\text{mmol}$ )及びPFP-TFA( $90\mu\text{L}$ 、 $0.76\text{mmol}$ )を添加した。接触時に反応混合物は赤紫色になり、その後30分間かけて徐々にオレンジ色になった。TLC及びLCMSによって反応の進行を監視した。完了した時点で(PFPエステルの形成)、化合物151( $0.57\text{g}$ 、 $0.33\text{mmol}$ )のDMF溶液を添加した。N,N-ジイソプロピルエチルアミンを添加することにより(必要に応じて)、反応物のpHを $\text{pH}=9\sim 10$ に調整した。反応混合物を窒素下で約30分間撹拌した。完了した時点で、溶媒の大部分を減圧下で除去した。残渣を $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ で希釈し、飽和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液で洗浄し、続いて、ブラインで洗浄した。有機相を分離し、 $\text{MgSO}_4$ 上で乾燥させ、濾過し、濃縮してオレンジ色のシロップ状物を得た。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中の $2\sim 10\%\text{MeOH}$ )によって精製して、化合物152( $0.35\text{g}$ 、 $55\%$ )を得た。LCMS及び $^1\text{H}$  NMRは、所望の生成物と一致した。

40

【0902】

化合物152( $0.35\text{g}$ 、 $0.182\text{mmol}$ )を1:1のMeOH/EtOAc( $10\text{mL}$ )中に溶解した。この溶液を通してアルゴン流を15分間バブリングして反応混合

50

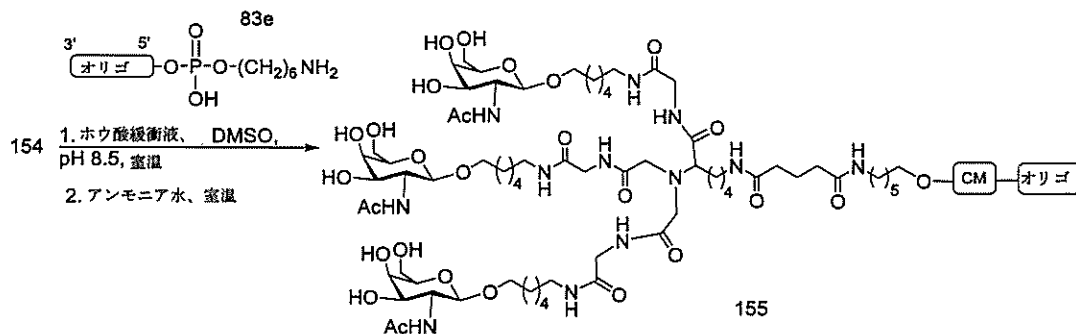
物をパージした。パールマン触媒（炭素上の水酸化パラジウム）を添加した（35 mg）。この溶液を通して水素ガスを30分間バブリングした。完了した時点で（TLC（DCM中の10% MeOH）及びLCMS）、触媒を濾去した（シリンジチップTeflonフィルター、0.45 μm）。濾液を回転蒸発によって濃縮し、高真空下で短時間乾燥させて、化合物153（0.33 g、定量的）を得た。LCMSは、所望の生成物と一致した。

#### 【0903】

化合物153（0.33 g、0.18 mmol）を窒素下で撹拌しながら無水DMF（5 mL）中に溶解した。これに、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（65 μL、0.37 mmol）及びPF<sub>5</sub>-TFA（35 μL、0.28 mmol）を添加した。反応混合物を窒素下で約30分間撹拌した。接触時に反応混合物は赤紫色になり、徐々にオレンジ色になった。さらにN,N-ジイソプロピルエチルアミンを添加することにより、反応混合物のpHをpH = 9 ~ 10で維持した。TLC及びLCMSによって反応の進行を監視した。完了した時点で、溶媒の大部分を減圧下で除去した。残渣をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>（50 mL）で希釈し、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液で洗浄し、その後、ブラインで洗浄した。有機層をMgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、濃縮してオレンジ色のシロップ状物を得た。残渣をカラムクロマトグラフィーによって精製し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の2 ~ 10% MeOHで溶出して、化合物154（0.29 g、79%）を得た。LCMS及び<sup>1</sup>H NMRは、所望の生成物と一致した。

#### 【0904】

#### 【化208】



#### 【0905】

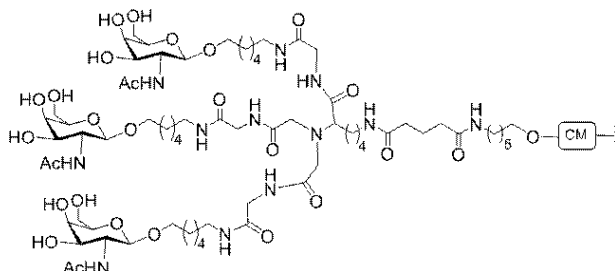
実施例46に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-6共役基を含むオリゴマー化合物155を調製した。共役基GalNAc<sub>3</sub>-6（GalNAc<sub>3</sub>-6a）のGalNAc<sub>3</sub>クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。

#### 【0906】

GalNAc<sub>3</sub>-6（GalNAc<sub>3</sub>-6a-CM-）の構造は、以下に示される：

#### 【0907】

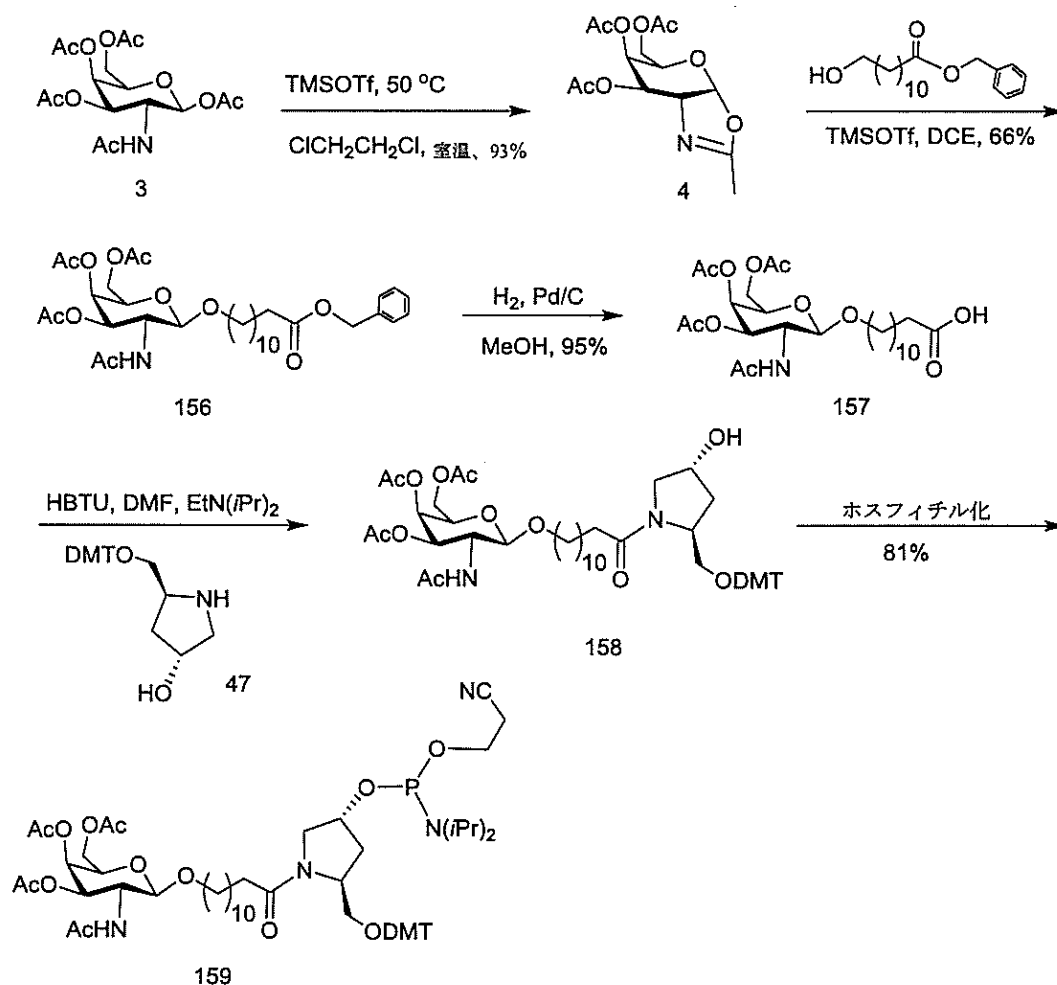
#### 【化209】



実施例52：GalNAc<sub>3</sub>-9を含むオリゴヌクレオチド160の調製

【 0 9 0 8 】

【 化 2 1 0 】



10

20

【 0 9 0 9 】

文献 ( J . Med . Chem . 2 0 0 4 , 4 7 , 5 7 9 8 - 5 8 0 8 ) に記載される手順に従って化合物 1 5 6 を合成した。

【 0 9 1 0 】

化合物 1 5 6 ( 1 8 . 6 0 g 、 2 9 . 2 8 m m o l ) をメタノール ( 2 0 0 m L ) 中に溶解した。パラジウム炭素 ( 6 . 1 5 g 、 1 0 重量 % 、 負荷量 ( 乾燥ベース ) 、マトリックス炭素粉末、湿式) を添加した。反応混合物を室温で 1 8 時間、水素下で撹拌した。セラライトパッドを通して反応混合物を濾過し、このセラライトパッドをメタノールで完全に洗浄した。合わせた濾液を洗浄し、濃縮乾固させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン中の 5 ~ 1 0 % メタノールで溶出して、化合物 1 5 7 ( 1 4 . 2 6 g 、 8 9 % ) を得た。質量 ( m / z ) 5 4 4 . 1 [ M - H ] <sup>-</sup>。

30

40

【 0 9 1 1 】

化合物 1 5 7 ( 5 g 、 9 . 1 7 m m o l ) を無水 D M F ( 3 0 m L ) 中に溶解した。H B T U ( 3 . 6 5 g 、 9 . 6 1 m m o l ) 及び N , N - ジイソプロピルエチルアミン ( 1 3 . 7 3 m L 、 7 8 . 8 1 m m o l ) を添加し、反応混合物を室温で 5 分間撹拌した。これに、化合物 4 7 ( 2 . 9 6 g 、 7 . 0 4 m m o l ) の溶液を添加した。反応物を室温で 8 時間撹拌した。反応混合物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 水溶液に注いだ。この混合物を酢酸エチルで抽出し、有機層をブラインで洗浄し、乾燥させ ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) 、濾過し、蒸発させた。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、ヘキサン中の 5 0 % 酢酸エチルで溶出して、化合物 1 5 8 ( 8 . 2 5 g 、 7 3 . 3 % ) を得た。この構造を、M S 及び <sup>1</sup> H N M R 分析によって確認した。

50

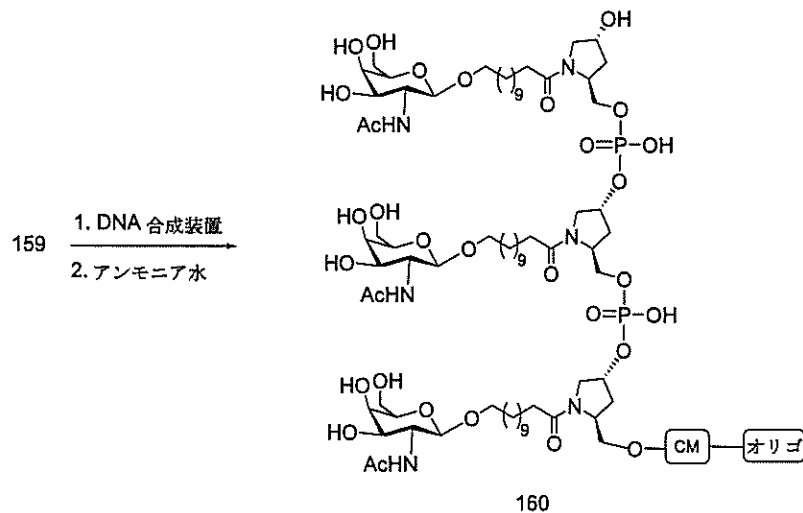
## 【 0 9 1 2 】

化合物 158 ( 7 . 2 g 、 7 . 6 1 m m o l ) を減圧下で  $P_2O_5$  上で乾燥させた。乾燥させた化合物を無水 DMF ( 5 0 m L ) 中に溶解した。これに、1 H - テトラゾール ( 0 . 4 3 g 、 6 . 0 9 m m o l ) 及び N - メチルイミダゾール ( 0 . 3 m L 、 3 . 8 1 m m o l ) 及び 2 - シアノエチル - N , N , N ' , N ' - テトライソプロピルホスホロジアミダイト ( 3 . 6 5 m L 、 1 1 . 5 0 m m o l ) を添加した。反応混合物をアルゴン雰囲気下で 4 時間撹拌した。反応混合物を酢酸エチル ( 2 0 0 m L ) で希釈した。反応混合物を飽和  $NaHCO_3$  及びブラインで洗浄した。有機相を分離し、乾燥させ (  $Na_2SO_4$  ) 、濾過し、蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、ヘキサン中の 5 0 ~ 9 0 % 酢酸エチルで溶出して、化合物 159 ( 7 . 8 2 g 、 8 0 . 5 % ) を得た。この構造を、LCMS 及び  $^{31}P$  NMR 分析によって確認した。

10

## 【 0 9 1 3 】

## 【 化 2 1 1 】



20

## 【 0 9 1 4 】

標準のオリゴヌクレオチド合成手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-9 共役基を含むオリゴマー化合物 160 を調製した。3 単位の化合物 159 を固体支持体に、続いてヌクレオチドホスホラミダイトにカップリングした。保護されたオリゴマー化合物をアンモニア水で処理して、化合物 160 を得た。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-9 ( GalNAc<sub>3</sub>-9 a ) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、- P ( = O ) ( OH ) - A d - P ( = O ) ( OH ) - である。GalNAc<sub>3</sub>-9 ( GalNAc<sub>3</sub>-9 a - CM ) の構造は、以下に示される：

30

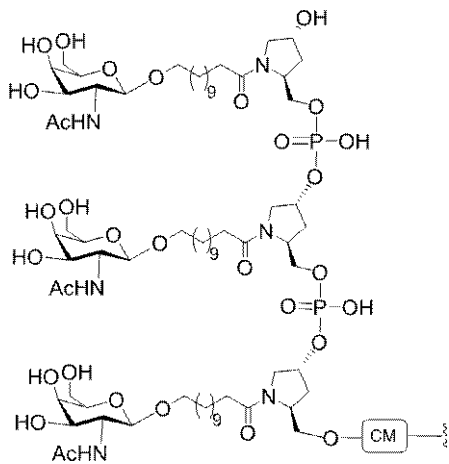
## 【 0 9 1 5 】

40

50



## 【化 2 1 2】

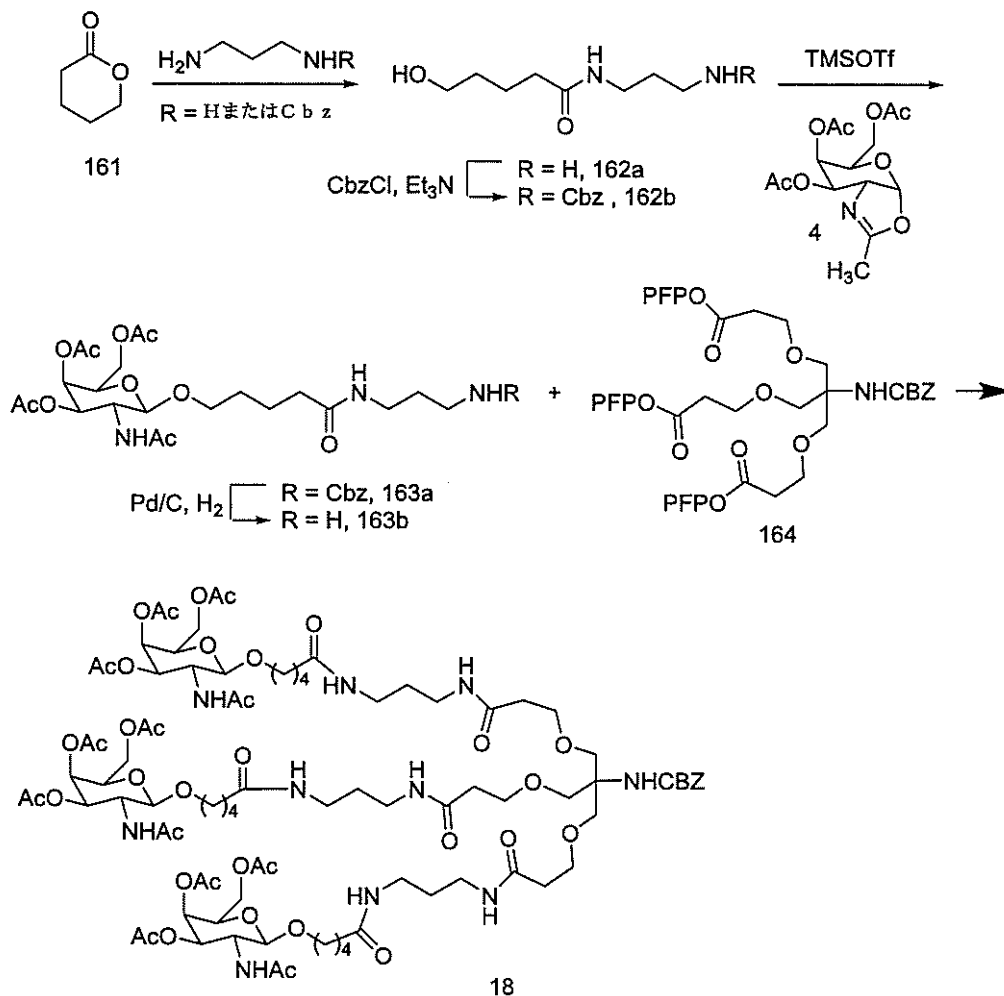


10

実施例 53：化合物 18 (GalNAc<sub>3</sub>-1a 及び GalNAc<sub>3</sub>-3a) の調製のための代替手順

## 【 0 9 1 6 】

## 【化 2 1 3】



20

30

40

## 【 0 9 1 7 】

ラクトン 161 をジアミノプロパン (3 ~ 5 当量) またはモノ Boc 保護ジアミノプロパン (1 当量) と反応させて、アルコール 162a または 162b を得た。非保護プロパングジアミンを上述の反応で用いた場合、過剰なジアミンを高真空下で蒸発させて除去し、CbzCl を用いて 162a 中の遊離アミノ基を保護して、カラムクロマトグラフィーによ

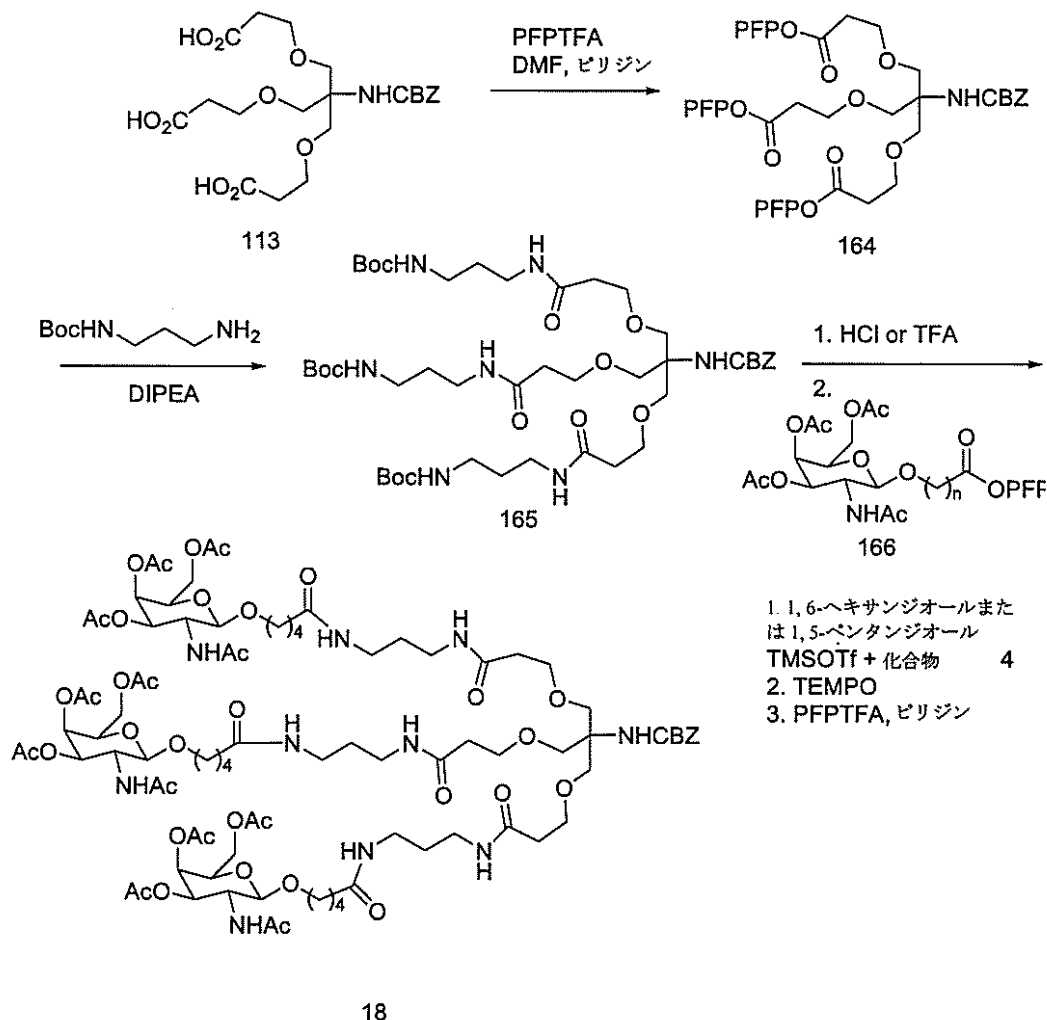
50

って精製した後に、白色の固体として 162b を得た。アルコール 162b を TMSOTf の存在下で化合物 4 とさらに反応させ 163a を得て、触媒水素化を用いて Cbz 基を除去することにより、これを 163b に変換した。ペンタフルオロフェニル (PFPP) エステル 164 を、三酸 113 (実施例 48 を参照のこと) を DMF (0.1 ~ 0.5 M) 中の PFPTFA (3.5 当量) 及びピリジン (3.5 当量) と接触させることによって調製した。トリエステル 164 をアミン 163b (3 ~ 4 当量) 及び DIPEA (3 ~ 4 当量) と直接反応させて、化合物 18 を得た。上述の方法は、中間体精製を大幅に促進し、実施例 4 に記載される手順を用いて形成される副生成物の形成を最小限に抑える。

実施例 54 : 化合物 18 (GalNAc3-1a 及び GalNAc3-3a) の調製のための代替手順

【0918】

【化214】



【0919】

先の実施例 53 に概説される手順を用いて酸 113 からトリ PFPP エステル 164 を調製し、モノ Boc 保護ジアミンと反応させて、本質的に定量的な収率で 165 を得た。Boc 基を塩酸またはトリフルオロ酢酸で除去して、トリアミンを得て、これを DIPEA などの好適な塩基の存在下で PFPP 活性化酸 166 と反応させて、化合物 18 を得た。

【0920】

DMF 中の PFPTFA (1 ~ 1.2 当量) 及びピリジン (1 ~ 1.2 当量) で処理することにより、PFPP 保護 GalNAc 酸 166 を対応する酸から調製した。次いで、アセトニトリル及び水中の TEMPO (0.2 当量) 及び BAI B を用いて酸化することにより、前駆酸を対応するアルコールから調製した。先の実施例 47 に記載される条件を用

いて1, 6 - ヘキサンジオール（または1, 5 - ペンタンジオールもしくは他のn値の他のジオール）（2～4当量）及びTMSOTfと反応させることにより、前駆アルコールを糖中間体4から調製した。

実施例55：生体内におけるSRB-1を標的とする3' - 共役基または5' - 共役基のいずれかを含むオリゴヌクレオチド（GalNAc<sub>3</sub>-1、3、8、及び9の比較）の用量依存的試験

#### 【0921】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおけるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。非共役ISIS 353382を標準物として含めた。さまざまなGalNAc<sub>3</sub>共役基のそれぞれは、ホスホジエステル連結2' - デオキシアデノシンヌクレオチド（切断可能部分）によってそれぞれのオリゴヌクレオチドの3'末端または5'末端のいずれかで結合された。

#### 【0922】

#### 【表27】

表39

SRB-1を標的とする修飾ASO

| ASO               | 配列(5'から3')  | モチーフ   | 共役体                    | 配列番号 |
|-------------------|---|--------|------------------------|------|
| ISIS<br>353382(親) | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>   | 5/10/5 | なし                     | 829  |
| ISIS<br>655861    | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>     | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -1 | 830  |
| ISIS<br>664078    | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -9 <sub>a</sub>     | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -9 | 830  |
| ISIS 661161       | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> -A <sub>do</sub><br>G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -3 | 831  |
| ISIS<br>665001    | GalNAc <sub>3</sub> -8 <sub>a-o</sub> -A <sub>do</sub><br>G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -8 | 831  |

#### 【0923】

大文字は、各ヌクレオチドの核酸塩基を示し、<sup>m</sup>Cは、5 - メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2' - MOE修飾ヌクレオチドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオチドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオチド間連結部（PS）を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオチド間連結部（PO）を示し、「o'」は、- O - P（= O）（OH）- を示す。共役基は、太字で表示されている。

#### 【0924】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示される。GalNAc<sub>3</sub>-9の構造は、先の実施例52に示される。GalNAc<sub>3</sub>-3の構造は、先の実施例39に示される。GalNAc<sub>3</sub>-8の構造は、先の実施例47に示される。

処理

#### 【0925】

6週齢の雄Balb/cマウス（Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME）に、ISIS 353382、655861、664078、661161、665001、または生理食塩水を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。

各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアル

タイムPCR及びRIBOGREEN（登録商標）RNA定量化試薬（Molecular Probes, Inc. Eugene, OR）を用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを標準プロトコルに従って決定した。以下の結果は、生理食塩水（対照）に対して標準化された各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。

【0926】

表40に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でSRB-1 mRNAレベルを低下させた。実際には、3'末端にホスホジエステル連結GalNAc<sub>3</sub>-1及びGalNAc<sub>3</sub>-9共役体（ISIS 655861及びISIS 664078）ならびに5'末端に連結されたGalNAc<sub>3</sub>-3及びGalNAc<sub>3</sub>-8共役体（ISIS 661161及びISIS 665001）を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド（ISIS 353382）と比較して、力価の大幅な改善を示した。さらに、3'末端にGalNAc<sub>3</sub>-9共役体を含むISIS 664078は、3'末端にGalNAc<sub>3</sub>-1共役体を含むISIS 655861と比較して、本質的に等効力であった。それぞれ、GalNAc<sub>3</sub>-3またはGalNAc<sub>3</sub>-9を含む5'共役アンチセンスオリゴヌクレオチドISIS 661161及びISIS 665001は、3'共役アンチセンスオリゴヌクレオチド（ISIS 655861及びISIS 664078）と比較して、力価を増加させた。

【0927】

10

20

30

40

50

## 【表 2 8】

表 4 0

SRB-1を標的とするGalNAc<sub>3</sub>-1、3、8または9を含有するASO

| ISIS番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | SRB-1<br>mRNA(%生理<br>食塩水) | 共役体                        |
|--------|------------------|---------------------------|----------------------------|
| 生理食塩水  | 該当なし             | 100                       |                            |
| 353382 | 3                | 88                        | なし                         |
|        | 10               | 68                        |                            |
|        | 30               | 36                        |                            |
| 655861 | 0.5              | 98                        | GalNac <sub>3</sub> -1(3') |
|        | 1.5              | 76                        |                            |
|        | 5                | 31                        |                            |
|        | 15               | 20                        |                            |
| 664078 | 0.5              | 88                        | GalNac <sub>3</sub> -9(3') |
|        | 1.5              | 85                        |                            |
|        | 5                | 46                        |                            |
|        | 15               | 20                        |                            |
| 661161 | 0.5              | 92                        | GalNac <sub>3</sub> -3(5') |
|        | 1.5              | 59                        |                            |
|        | 5                | 19                        |                            |
|        | 15               | 11                        |                            |
| 665001 | 0.5              | 100                       | GalNac <sub>3</sub> -8(5') |
|        | 1.5              | 73                        |                            |
|        | 5                | 29                        |                            |
|        | 15               | 13                        |                            |

10

20

30

## 【0 9 2 8】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な変化は見られなかった。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表に示される。

## 【0 9 2 9】

40

50

【表 29】

表 4 1

| ISIS番号 | 投与量<br>(mg/kg) | ALT | AST | 総ビリ<br>ルビン | BUN   | 共役体                        |
|--------|----------------|-----|-----|------------|-------|----------------------------|
| 生理食塩水  |                | 24  | 59  | 0.1        | 37.52 |                            |
| 353382 | 3              | 21  | 66  | 0.2        | 34.65 | なし                         |
|        | 10             | 22  | 54  | 0.2        | 34.2  |                            |
|        | 30             | 22  | 49  | 0.2        | 33.72 |                            |
| 655861 | 0.5            | 25  | 62  | 0.2        | 30.65 | GalNac <sub>3</sub> -1(3') |
|        | 1.5            | 23  | 48  | 0.2        | 30.97 |                            |
|        | 5              | 28  | 49  | 0.1        | 32.92 |                            |
|        | 15             | 40  | 97  | 0.1        | 31.62 |                            |
| 664078 | 0.5            | 40  | 74  | 0.1        | 35.3  | GalNac <sub>3</sub> -9(3') |
|        | 1.5            | 47  | 104 | 0.1        | 32.75 |                            |
|        | 5              | 20  | 43  | 0.1        | 30.62 |                            |
|        | 15             | 38  | 92  | 0.1        | 26.2  |                            |
| 661161 | 0.5            | 101 | 162 | 0.1        | 34.17 | GalNac <sub>3</sub> -3(5') |
|        | 1.5g           | 42  | 100 | 0.1        | 33.37 |                            |
|        | 5g             | 23  | 99  | 0.1        | 34.97 |                            |
|        | 15             | 53  | 83  | 0.1        | 34.8  |                            |
| 665001 | 0.5            | 28  | 54  | 0.1        | 31.32 | GalNac <sub>3</sub> -8(5') |
|        | 1.5            | 42  | 75  | 0.1        | 32.32 |                            |
|        | 5              | 24  | 42  | 0.1        | 31.85 |                            |
|        | 15             | 32  | 67  | 0.1        | 31.   |                            |

実施例 56：生体内におけるSRB-1を標的とする3'-共役基または5'-共役基のいずれかを含むオリゴヌクレオチドの用量依存的試験（GalNac<sub>3</sub>-1、2、3、5、6、7、及び10の比較）

## 【0930】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおけるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。非共役ISIS 353382を標準物として含めた。3'末端にGalNac<sub>3</sub>共役基を結合させたISIS 655861を除いて、さまざまなGalNac<sub>3</sub>共役基のそれぞれは、ホスホジエステル連結2'-デオキシアデノシンヌクレオチド（切断可能部分）によってそれぞれのオリゴヌクレオチドの5'末端に取り付けられた。

## 【0931】

10

20

30

40

50

## 【表 3 0】

表 4 2

SRB-1 を標的とする修飾 ASO

| ASO               | 配列(5'から3')   | モチーフ   | 共役体                     | 配列番号 |
|-------------------|--|--------|-------------------------|------|
| ISIS<br>353382(親) | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | 5/10/5 | 共役体なし                   | 829  |
| ISIS<br>655861    | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>     | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -1  | 830  |
| ISIS<br>664507    | GalNAc <sub>3</sub> -2 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>    | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -2  | 831  |
| ISIS 661161       | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub><br>G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -3  | 831  |
| ISIS<br>666224    | GalNAc <sub>3</sub> -5 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>    | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -5  | 831  |
| ISIS<br>666961    | GalNAc <sub>3</sub> -6 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>    | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -6  | 831  |
| ISIS<br>666981    | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>    | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -7  | 831  |
| ISIS<br>666881    | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>   | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -10 | 831  |

## 【0932】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、<sup>m</sup>C は、5 - メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2' - MOE 修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部 (PS) を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部 (PO) を示し、「o'」は、- O - P (= O) (OH) - を示す。共役基は、太字で表示されている。

## 【0933】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 9 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-2<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 37 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 39 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-5<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 49 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-6<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 51 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 48 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 46 に示される。

処理

## 【0934】

6 週齢の雄 Balb/c マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) に、ISIS 353382、655861、664507、661161、666224、666961、666981、666881、または生理食塩水を、以下に示される投与量で 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。最終投与の 72 時間後にマウスを殺して、リアルタイム PCR 及び RIBOGREEN (登録商標) RNA 定量化試薬 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) を用いて、肝臓における SRB-1 mRNA レベルを決定した。以下の結果は、生理食塩水 (対照) に対して標準化された各処理群の SRB-1 mRNA レベルの平均パーセントとして提示される。

## 【0935】

表 4 3 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で S R B - 1 mRNA レベルを低下させた。実際には、共役アンチセンスオリゴヌクレオチドは、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド ( I S I S 3 5 3 3 8 2 ) と比較して、力価の大幅な改善を示した。5' 共役アンチセンスオリゴヌクレオチドは、3' 共役アンチセンスオリゴヌクレオチドと比較して、力価のわずかな増加を示した。

【 0 9 3 6 】

【表 3 1】

表 4 3

| ISIS番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | SRB-1<br>mRNA(%生理<br>食塩水) | 共役体                         |
|--------|------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 生理食塩水  | 該当なし             | 100.0                     |                             |
| 353382 | 3                | 96.0                      | なし                          |
|        | 10               | 73.1                      |                             |
|        | 30               | 36.1                      |                             |
| 655861 | 0.5              | 99.4                      | GalNac <sub>3</sub> -1(3')  |
|        | 1.5              | 81.2                      |                             |
|        | 5                | 33.9                      |                             |
|        | 15               | 15.2                      |                             |
| 664507 | 0.5              | 102.0                     | GalNac <sub>3</sub> -2(5')  |
|        | 1.5              | 73.2                      |                             |
|        | 5                | 31.3                      |                             |
|        | 15               | 10.8                      |                             |
| 661161 | 0.5              | 90.7                      | GalNac <sub>3</sub> -3(5')  |
|        | 1.5              | 67.6                      |                             |
|        | 5                | 24.3                      |                             |
|        | 15               | 11.5                      |                             |
| 666224 | 0.5              | 96.1                      | GalNac <sub>3</sub> -5(5')  |
|        | 1.5              | 61.6                      |                             |
|        | 5                | 25.6                      |                             |
|        | 15               | 11.7                      |                             |
| 666961 | 0.5              | 85.5                      | GalNac <sub>3</sub> -6(5')  |
|        | 1.5              | 56.3                      |                             |
|        | 5                | 34.2                      |                             |
|        | 15               | 13.1                      |                             |
| 666981 | 0.5              | 84.7                      | GalNac <sub>3</sub> -7(5')  |
|        | 1.5              | 59.9                      |                             |
|        | 5                | 24.9                      |                             |
|        | 15               | 8.5                       |                             |
| 666881 | 0.5              | 100.0                     | GalNac <sub>3</sub> -10(5') |
|        | 1.5              | 65.8                      |                             |
|        | 5                | 26.0                      |                             |
|        | 15               | 13.0                      |                             |

【 0 9 3 7 】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ ( A L T )、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ( A S T ) を、標準のブ



ロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な変化は見られなかった。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表44に示される。

【0938】

【表32】

表44

| ISIS番号 | 投与量<br>(mg/kg) | ALT | AST | 総ビリル<br>ビン | BUN | 共役体                         |
|--------|----------------|-----|-----|------------|-----|-----------------------------|
| 生理食塩水  |                | 26  | 57  | 0.2        | 27  |                             |
| 353382 | 3              | 25  | 92  | 0.2        | 27  | なし                          |
|        | 10             | 23  | 40  | 0.2        | 25  |                             |
|        | 30             | 29  | 54  | 0.1        | 28  |                             |
| 655861 | 0.5            | 25  | 71  | 0.2        | 34  | GalNac <sub>3</sub> -1(3')  |
|        | 1.5            | 28  | 60  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 5              | 26  | 63  | 0.2        | 28  |                             |
|        | 15             | 25  | 61  | 0.2        | 28  |                             |
| 664507 | 0.5            | 25  | 62  | 0.2        | 25  | GalNac <sub>3</sub> -2(5')  |
|        | 1.5            | 24  | 49  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 5              | 21  | 50  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 15             | 59  | 84  | 0.1        | 22  |                             |
| 661161 | 0.5            | 20  | 42  | 0.2        | 29  | GalNac <sub>3</sub> -3(5')  |
|        | 1.5g           | 37  | 74  | 0.2        | 25  |                             |
|        | 5g             | 28  | 61  | 0.2        | 29  |                             |
|        | 15             | 21  | 41  | 0.2        | 25  |                             |
| 666224 | 0.5            | 34  | 48  | 0.2        | 21  | GalNac <sub>3</sub> -5(5')  |
|        | 1.5            | 23  | 46  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 5              | 24  | 47  | 0.2        | 23  |                             |
|        | 15             | 32  | 49  | 0.1        | 26  |                             |
| 666961 | 0.5            | 17  | 63  | 0.2        | 26  | GalNac <sub>3</sub> -6(5')  |
|        | 1.5            | 23  | 68  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 5              | 25  | 66  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 15             | 29  | 107 | 0.2        | 28  |                             |
| 666981 | 0.5            | 24  | 48  | 0.2        | 26  | GalNac <sub>3</sub> -7(5')  |
|        | 1.5            | 30  | 55  | 0.2        | 24  |                             |
|        | 5              | 46  | 74  | 0.1        | 24  |                             |
|        | 15             | 29  | 58  | 0.1        | 26  |                             |
| 666881 | 0.5            | 20  | 65  | 0.2        | 27  | GalNac <sub>3</sub> -10(5') |
|        | 1.5            | 23  | 59  | 0.2        | 24  |                             |
|        | 5              | 45  | 70  | 0.2        | 26  |                             |
|        | 15             | 21  | 57  | 0.2        | 24  |                             |

実施例57：生体内におけるApoCIIIを標的とする3'-共役基を含むオリゴヌクレオチドの作用持続時間試験

【0939】

マウスに以下に示される用量を1回注入し、ApoCIII及び血漿トリグリセリド

(血漿TG)レベルを42日間にわたって監視した。各群におけるヒトAPOC-IIIを発現する3匹のトランスジェニックマウスを用いて、この試験を実行した。

【0940】

【表33】

表45

ApoC-IIIを標的とする修飾ASO

| ASO         | 配列(5'から3')  | 結合    | 配列番号 |
|-------------|---|-------|------|
| ISIS 304801 | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | PS    | 821  |
| ISIS 647535 | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | PS    | 822  |
| ISIS 647536 | A <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | PO/PS | 822  |

10

【0941】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、<sup>m</sup>Cは、5-メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示し、「o'」は、-O-P(=O)(OH)-を示す。共役基は、太字で表示されている。

20

【0942】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示される。

【0943】

【表34】

表46

ApoC-III mRNA(1日目の生理食塩水に対する%)及び血漿TGレベル(1日目の生理食塩水に対する%)

30

| ASO         | 用量      | 標的       | 3日目 | 7日目 | 14日目 | 35日目 | 42日目 |
|-------------|---------|----------|-----|-----|------|------|------|
| 生理食塩水       | 0mg/kg  | ApoC-III | 98  | 100 | 100  | 95   | 116  |
| ISIS 304801 | 30mg/kg | ApoC-III | 28  | 30  | 41   | 65   | 74   |
| ISIS 647535 | 10mg/kg | ApoC-III | 16  | 19  | 25   | 74   | 94   |
| ISIS 647536 | 10mg/kg | ApoC-III | 18  | 16  | 17   | 35   | 51   |
| 生理食塩水       | 0mg/kg  | 血漿TG     | 121 | 130 | 123  | 105  | 109  |
| ISIS 304801 | 30mg/kg | 血漿TG     | 34  | 37  | 50   | 69   | 69   |
| ISIS 647535 | 10mg/kg | 血漿TG     | 18  | 14  | 24   | 18   | 71   |
| ISIS 647536 | 10mg/kg | 血漿TG     | 21  | 19  | 15   | 32   | 35   |

40

【0944】

上の表に見られるように、作用持続時間は、非共役オリゴヌクレオチドと比較して、3'-共役基の付加によって増加した。共役完全PSオリゴヌクレオチド647535と比較して、共役混成PO/PSオリゴヌクレオチド647536の作用持続時間がさらに増加した。

実施例58：生体内におけるSRB-1を標的とする3'-共役基を含むオリゴヌクレオチドの用量依存的試験(GalNAc<sub>3</sub>-1及びGalNAc<sub>4</sub>-11の比較)

50

## 【 0 9 4 5 】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおけるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。非共役ISIS 440762を非共役標準物として含めた。共役基のそれぞれは、ホスホジエステル連結2'-デオキシアデノシンヌクレオシド(切断可能部分)によってそれぞれのオリゴヌクレオチドの3'末端に取り付けられた。

## 【 0 9 4 6 】

GalNAc3-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示される。GalNAc3-11<sub>a</sub>の構造は、先の実施例50に示される。

処理

## 【 0 9 4 7 】

6週齢の雄Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、ISIS 440762、651900、663748、または生理食塩水を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGREEN(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを決定した。以下の結果は、生理食塩水(対照)に対して標準化された各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。

## 【 0 9 4 8 】

表47に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でSRB-1 mRNAレベルを低下させた。3'末端にホスホジエステル連結GalNAc3-1及びGalNAc4-11共役体を含むアンチセンスオリゴヌクレオチド(ISIS 651900及びISIS 663748)は、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド(ISIS 440762)と比較して、力価の大幅な増加を示した。2つの共役オリゴヌクレオチド、すなわちGalNAc3-1とGalNAc4-11は、等効力であった。

## 【 0 9 4 9 】

## 【表35】

表47

SRB-1を標的とする修飾ASO

| ASO         | 配列(5'から3')   | 用量(mg/kg) | %生理食塩水(対照) | 配列番号 |
|-------------|--|-----------|------------|------|
| 生理食塩水       |  |           | 100        |      |
| ISIS 440762 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>  | 0.6       | 73.45      | 823  |
|             |  | 2         | 59.66      |      |
|             |  | 6         | 23.50      |      |
| ISIS 651900 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ko</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc3-1 <sub>a</sub>  | 0.2       | 62.75      | 824  |
|             |  | 0.6       | 29.14      |      |
|             |  | 2         | 8.61       |      |
|             |  | 6         | 5.62       |      |
| ISIS 663748 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ko</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc4-11 <sub>a</sub> | 0.2       | 63.99      | 824  |
|             |  | 0.6       | 33.53      |      |
|             |  | 2         | 7.58       |      |
|             |  | 6         | 5.52       |      |

10

20

30

40

50

## 【0950】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、mCは、5 - メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2' - MOE修飾ヌクレオシドを示し、「k」は、6' - (S) - C<sub>H3</sub>二環式ヌクレオシドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示し、「o'」は、- O - P(=O)(OH) - を示す。共役基は、太字で表示されている。

## 【0951】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な変化は見られなかった。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表48に示される。

## 【0952】

## 【表36】

表48

| ISIS番号 | 投与量<br>(mg/kg) | ALT | AST | 総ビリル<br>ビン | BUN | 共役体                         |
|--------|----------------|-----|-----|------------|-----|-----------------------------|
| 生理食塩水  |                | 30  | 76  | 0.2        | 40  |                             |
| 440762 | 0.60           | 32  | 70  | 0.1        | 35  | なし                          |
|        | 2              | 26  | 57  | 0.1        | 35  |                             |
|        | 6              | 31  | 48  | 0.1        | 39  |                             |
| 651900 | 0.2            | 32  | 115 | 0.2        | 39  | GalNac <sub>3</sub> -1(3')  |
|        | 0.6            | 33  | 61  | 0.1        | 35  |                             |
|        | 2              | 30  | 50  | 0.1        | 37  |                             |
|        | 6              | 34  | 52  | 0.1        | 36  |                             |
| 663748 | 0.2            | 28  | 56  | 0.2        | 36  | GalNac <sub>4</sub> -11(3') |
|        | 0.6            | 34  | 60  | 0.1        | 35  |                             |
|        | 2              | 44  | 62  | 0.1        | 36  |                             |
|        | 6              | 38  | 71  | 0.1        | 33  |                             |

実施例59：生体内におけるFXIを標的とするGalNAc<sub>3</sub>-1共役ASOの影響

## 【0953】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、複数回投与試験においてマウスにおけるFXIのアンチセンス阻害について試験した。ISIS 404071を非共役標準物として含めた。共役基のそれぞれは、ホスホジエステル連結2' - デオキシアデノシンヌクレオチドの切断可能部分によってそれぞれのオリゴヌクレオチドの3'末端に取り付けられた。

## 【0954】

10

20

30

40

## 【表 3 7】

表 4 9

F X I を標的とする修飾 A S O

| ASO            | 配列(5'から3')   | 結合    | 配 列<br>番号 |
|----------------|--|-------|-----------|
| ISIS<br>404071 | T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>  | PS    | 832       |
| ISIS<br>656172 | T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | PS    | 833       |
| ISIS<br>656173 | T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | PO/PS | 833       |

10

## 【0 9 5 5】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、<sup>m</sup>Cは、5 - メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2' - MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示し、「o'」は、- O - P(=O)(OH) - を示す。共役基は、太字で表示されている。

20

## 【0 9 5 6】

GalNAc<sub>3</sub> - 1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示される。

処理

## 【0 9 5 7】

6週齢の雄Balb/cマウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、ISIS 404071、656172、656173、またはPBS処理対照を、以下に示される投与量で週2回3週間、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGREEN(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて、肝臓におけるSRB - 1 mRNAレベルを決定した。ELISAを用いて血漿FXIタンパク質レベルも測定した。PBS処理対照に対して標準化する前に(RIBOGREEN(登録商標)を用いて)FXI mRNAレベルを全RNAとの比較で相対的に決定した。以下の結果は、各処理群のFXI mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。データをPBS処理対照に対して標準化し、「%PBS」で表示する。前記方法と同様の方法を用いてED50を測定し、以下に提示する。

30

## 【0 9 5 8】

40

50

## 【表 3 8】

表 5 0

第 X I 因子 mRNA (%生理食塩水)

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | %対照 | 共役体                    | 結合    |
|----------------|----------------|-----|------------------------|-------|
| 生 理 食<br>塩 水   |                | 100 | なし                     |       |
| ISIS<br>404071 | 3              | 92  | なし                     | PS    |
|                | 10             | 40  |                        |       |
|                | 30             | 15  |                        |       |
| ISIS<br>656172 | 0.7            | 74  | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS    |
|                | 2              | 33  |                        |       |
|                | 6              | 9   |                        |       |
| ISIS<br>656173 | 0.7            | 49  | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PO/PS |
|                | 2              | 22  |                        |       |
|                | 6              | 1   |                        |       |

10

20

## 【 0 9 5 9】

表 5 0 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で F X I mRNA レベルを低下させた。3' - GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役基を含むオリゴヌクレオチドは、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド (ISIS 404071) と比較して、力価の大幅な増加を示した。これら 2 つの共役オリゴヌクレオチドの間では、PS 連結部のうちのいくつかを PO (ISIS 656173) と置き換えることによって、力価がさらに増加した。

## 【 0 9 6 0】

表 5 0 a に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で F X I タンパク質レベルを低下させた。3' - GalNAc<sub>3</sub> - 1 共役基を含むオリゴヌクレオチドは、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド (ISIS 404071) と比較して、力価の大幅な増加を示した。これら 2 つの共役オリゴヌクレオチドの間では、PS 連結部のうちのいくつかを PO (ISIS 656173) と置き換えることによって、力価がさらに増加した。

30

## 【 0 9 6 1】

40

50

## 【表 3 9】

表 5 0 a

第 X I 因子タンパク質 (%生理食塩水)

| ASO            | 用 量<br>(mg/kg) | タンパク質<br>(%対照) | 共役体                    | 結合    |
|----------------|----------------|----------------|------------------------|-------|
| 生理食<br>塩水      |                | 100            | なし                     |       |
| ISIS<br>404071 | 3              | 127            | なし                     | PS    |
|                | 10             | 32             |                        |       |
|                | 30             | 3              |                        |       |
| ISIS<br>656172 | 0.7            | 70             | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PS    |
|                | 2              | 23             |                        |       |
|                | 6              | 1              |                        |       |
| ISIS<br>656173 | 0.7            | 45             | GalNAc <sub>3</sub> -1 | PO/PS |
|                | 2              | 6              |                        |       |
|                | 6              | 0              |                        |       |

10

20

## 【 0 9 6 2】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン、総アルブミン、CRE、及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な変化は見られなかった。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表に示される。

## 【 0 9 6 3】

## 【表 4 0】

表 5 1

| ISIS番号       | 投 与 量<br>(mg/kg) | ALT   | AST   | 総アル<br>ブミン | 総ビリ<br>ルビン | CRE | BUN  | 共役体                        |
|--------------|------------------|-------|-------|------------|------------|-----|------|----------------------------|
| 生 理 食<br>塩 水 |                  | 71.8  | 84.0  | 3.1        | 0.2        | 0.2 | 22.9 |                            |
| 404071       | 3                | 152.8 | 176.0 | 3.1        | 0.3        | 0.2 | 23.0 | なし                         |
|              | 10               | 73.3  | 121.5 | 3.0        | 0.2        | 0.2 | 21.4 |                            |
|              | 30               | 82.5  | 92.3  | 3.0        | 0.2        | 0.2 | 23.0 |                            |
| 656172       | 0.7              | 62.5  | 111.5 | 3.1        | 0.2        | 0.2 | 23.8 | GalNAc <sub>3</sub> -1(3') |
|              | 2                | 33.0  | 51.8  | 2.9        | 0.2        | 0.2 | 22.0 |                            |
|              | 6                | 65.0  | 71.5  | 3.2        | 0.2        | 0.2 | 23.9 |                            |
| 656173       | 0.7              | 54.8  | 90.5  | 3.0        | 0.2        | 0.2 | 24.9 | GalNAc <sub>3</sub> -1(3') |
|              | 2                | 85.8  | 71.5  | 3.2        | 0.2        | 0.2 | 21.0 |                            |
|              | 6                | 114.0 | 101.8 | 3.3        | 0.2        | 0.2 | 22.7 |                            |

30

40

実施例 6 0 : 生体外におけるSRB - 1を標的とする共役ASOの影響

## 【 0 9 6 4】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、複数回投与試験において初代マウス肝細胞にお

50

けるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。ISIS 353382を非共役標準物として含めた。共役基のそれぞれは、ホスホジエステル連結2'-デオキシアデノシンヌクレオシドの切断可能部分によってそれぞれのオリゴヌクレオチドの3'末端または5'末端に取り付けられた。

【0965】

【表41】

表52

SRB-1を標的とする修飾ASO

| ASO         | 配列(5'から3')   | モチーフ   | 共役体                     | 配列番号 |
|-------------|--|--------|-------------------------|------|
| ISIS 353382 | $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$                             | 5/10/5 | なし                      | 829  |
| ISIS 655861 | $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do}' - GalNAc_3 - 1_a$ | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -1  | 830  |
| ISIS 655862 | $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do}' - GalNAc_3 - 1_a$ | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -1  | 830  |
| ISIS 661161 | $GalNAc_3 - 3_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$  | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -3  | 831  |
| ISIS 665001 | $GalNAc_3 - 8_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$  | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -8  | 831  |
| ISIS 664078 | $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do}' - GalNAc_3 - 9_a$ | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -9  | 830  |
| ISIS 666961 | $GalNAc_3 - 6_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$  | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -6  | 831  |
| ISIS 664507 | $GalNAc_3 - 2_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$  | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -2  | 831  |
| ISIS 666881 | $GalNAc_3 - 10_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$ | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -10 | 831  |
| ISIS 666224 | $GalNAc_3 - 5_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$  | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -5  | 831  |
| ISIS 666981 | $GalNAc_3 - 7_{a-o}' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$  | 5/10/5 | GalNAc <sub>3</sub> -7  | 831  |

【0966】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、mCは、5-メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示し、「o'」は、-O-P(=O)(OH)-を示す。共役基は、太字で表示されている。

【0967】

GalNAc<sub>3</sub>-1aの構造は、先の実施例9に示される。GalNAc<sub>3</sub>-3aの構造は、先の実施例39に示される。GalNAc<sub>3</sub>-8aの構造は、先の実施例47に示される。GalNAc<sub>3</sub>-9aの構造は、先の実施例52に示される。GalNAc<sub>3</sub>-6aの構造は、先の実施例51に示される。GalNAc<sub>3</sub>-2aの構造は、先の実施例37に示される。GalNAc<sub>3</sub>-10aの構造は、先の実施例46に示される。GalNAc<sub>3</sub>-5aの構造は、先の実施例49に示される。GalNAc<sub>3</sub>-7aの構造は、先



の実施例 48 に示される。

処理

【0968】

上に列記されるオリゴヌクレオチドを、25,000細胞/ウェルの密度でプレATINGし、かつ0.03、0.08、0.24、0.74、2.22、6.67、または20nMの修飾オリゴヌクレオチドで処理した初代マウス肝細胞において生体外で試験した。約16時間の処理期間後、RNAを細胞から単離し、mRNAレベルを定量的リアルタイムPCRによって測定し、RIBOGREEN（登録商標）によって測定された総RNA含有量に従ってSRB-1 mRNAレベルを調整した。

【0969】

標準的方法を用いてIC<sub>50</sub>を計算し、結果を表53に提示する。結果は、オリゴヌクレオチドの細胞への進入を人工的に促進するために試薬も電気穿孔技法も用いない自由取り込み条件下で、GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドは、GalNAc共役体を含まない親オリゴヌクレオチド（ISIS 353382）よりも肝細胞において著しく強力であったことを示す。

【0970】

【表42】

表53

| ASO            | IC <sub>50</sub> (nM) | ヌクレオシド<br>間連結部 | 共役体                     | 配列番号 |
|----------------|-----------------------|----------------|-------------------------|------|
| ISIS<br>353382 | 190 <sup>a</sup>      | PS             | なし                      | 829  |
| ISIS<br>655861 | 11 <sup>a</sup>       | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -1  | 830  |
| ISIS<br>655862 | 3                     | PO/PS          | GalNAc <sub>3</sub> -1  | 830  |
| ISIS<br>661161 | 15 <sup>a</sup>       | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -3  | 831  |
| ISIS<br>665001 | 20                    | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -8  | 831  |
| ISIS<br>664078 | 55                    | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -9  | 830  |
| ISIS<br>666961 | 22 <sup>a</sup>       | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -6  | 831  |
| ISIS<br>664507 | 30                    | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -2  | 831  |
| ISIS<br>666881 | 30                    | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -10 | 831  |
| ISIS<br>666224 | 30 <sup>a</sup>       | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -5  | 831  |
| ISIS<br>666981 | 40                    | PS             | GalNAc <sub>3</sub> -7  | 831  |

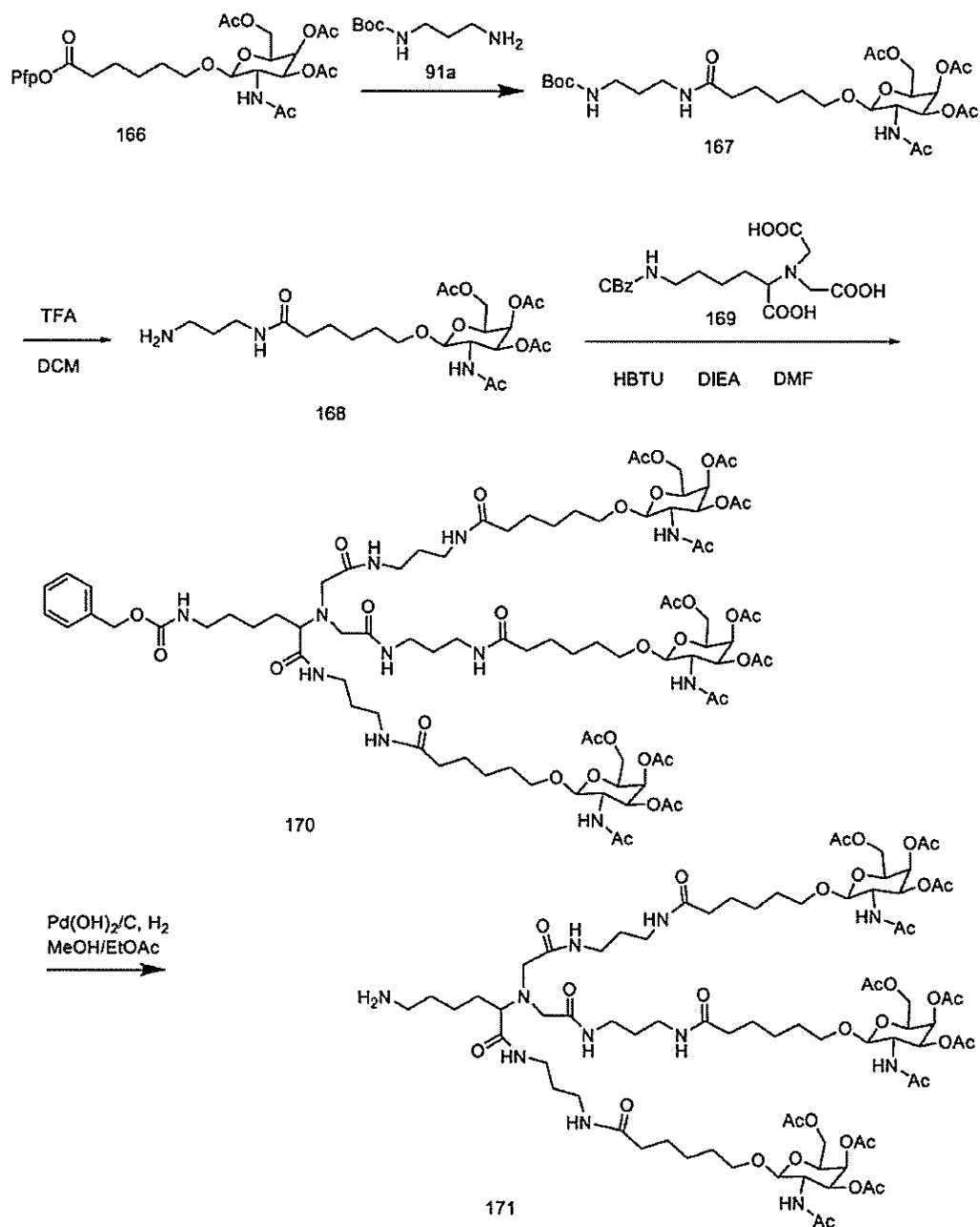
【0971】

<sup>a</sup> 複数回の実行の平均。

実施例 61 : GalNAc<sub>3</sub>-12を含むオリゴマー化合物 175 の調製

【 0 9 7 2 】

【 化 2 1 5 】



【 0 9 7 3 】

10

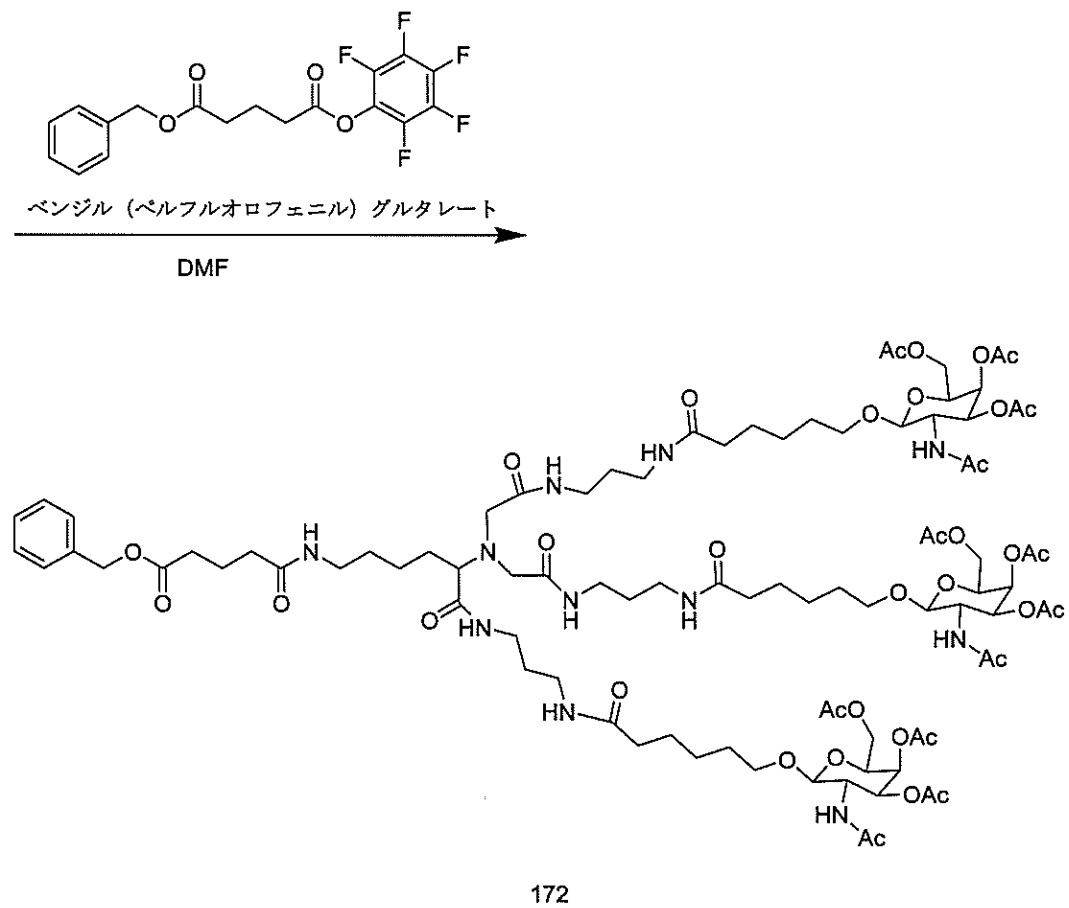
20

30

40

50

【化 2 1 6】



【 0 9 7 4 】

10

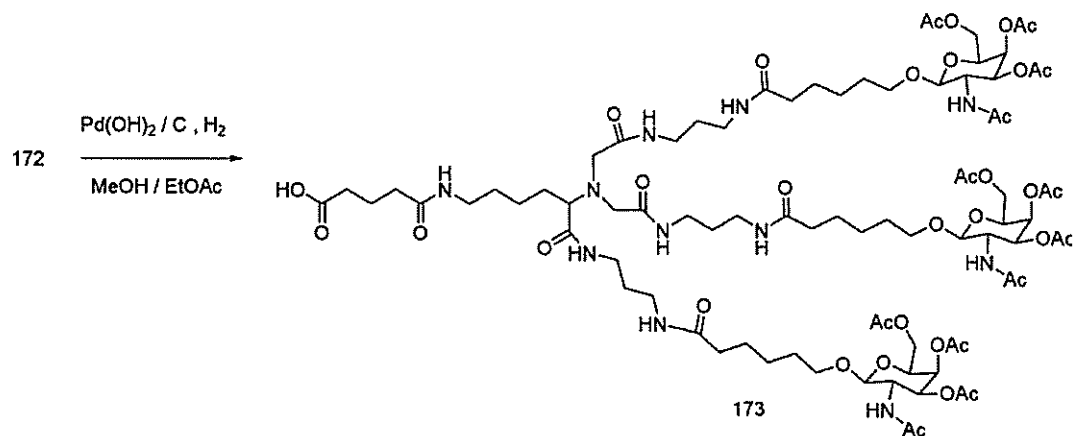
20

30

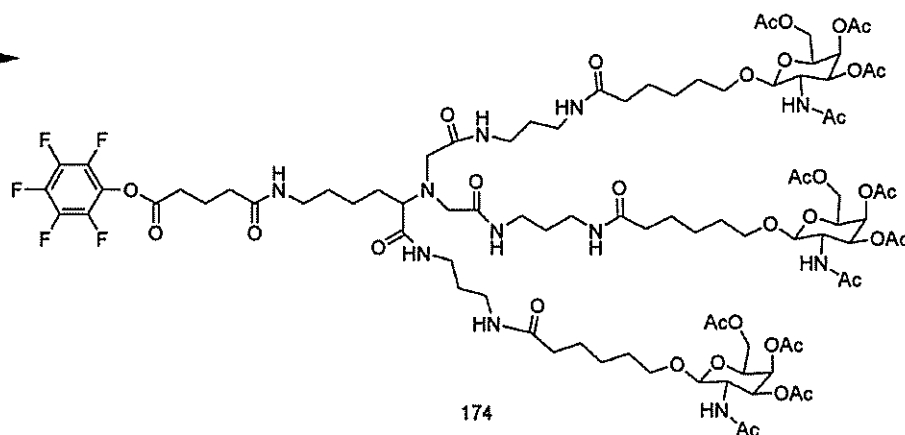
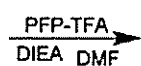
40

50

【化 2 1 7】



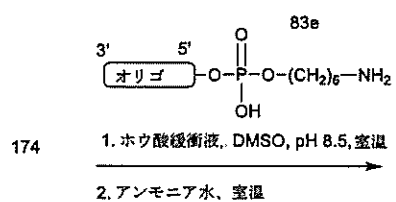
10



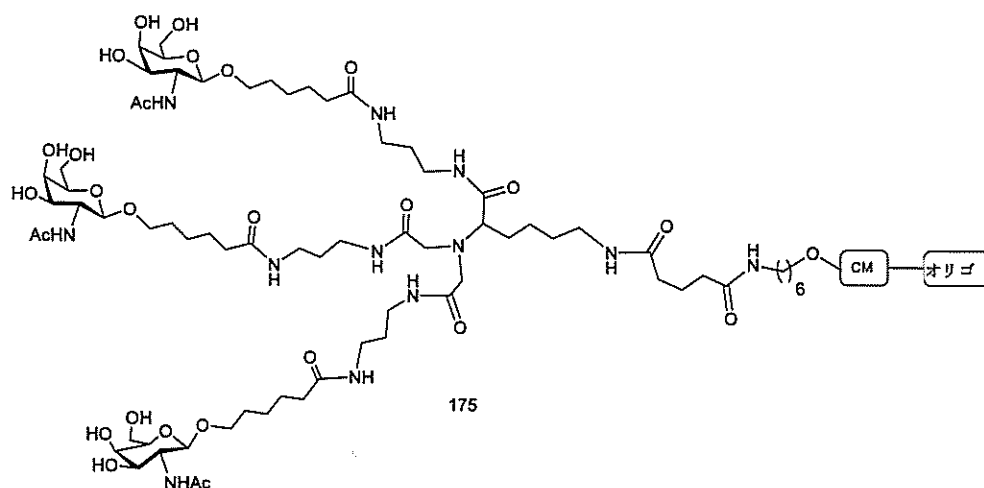
20

【 0 9 7 5】

【化 2 1 8】



30



40

50

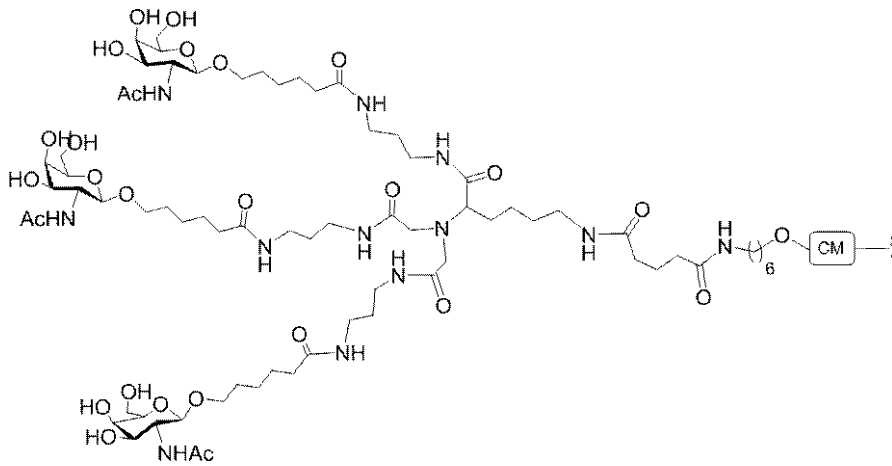
## 【 0 9 7 6 】

化合物 1 6 9 は、市販のものである。ベンジル（ペルフルオロフェニル）グルタレート  
化合物 1 7 1 に添加することによって化合物 1 7 2 を調製した。P F P - T F A 及び D  
I E A を D M F 中の 5 - （ベンジルオキシ） - 5 - オキソペンタン酸に添加することによ  
って、ベンジル（ペルフルオロフェニル）グルタレートを調製した。実施例 4 6 に例証さ  
れる一般的手順を用いて、G a l N A c 3 - 1 2 共役基を含むオリゴマー化合物 1 7 5 を  
化合物 1 7 4 から調製した。共役基 G a l N A c 3 - 1 2 （ G a l N A c 3 - 1 2 a ）の  
G a l N A c 3 クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基  
を提供することができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、 - P（= O）（O  
H） - A d - P（= O）（O H） - である。G a l N A c 3 - 1 2 （ G a l N A c 3 - 1  
2 a - C M - ）の構造は、以下に示される：

10

## 【 0 9 7 7 】

## 【 化 2 1 9 】

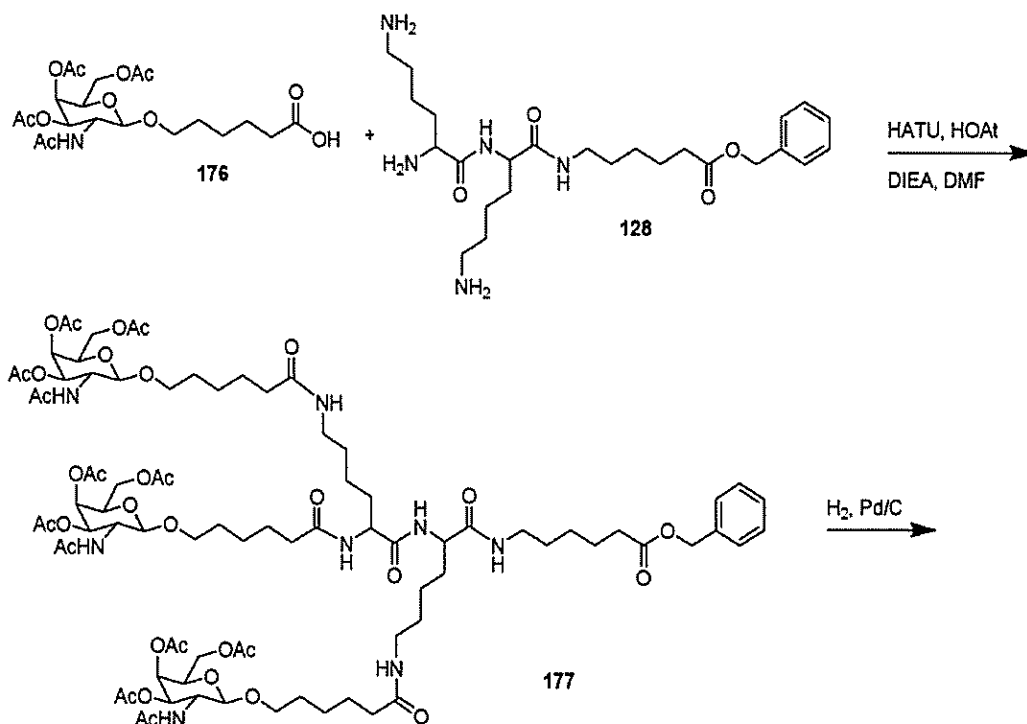


20

実施例 6 2 : G a l N A c 3 - 1 3 を含むオリゴマー化合物 1 8 0 の調製

## 【 0 9 7 8 】

## 【 化 2 2 0 】



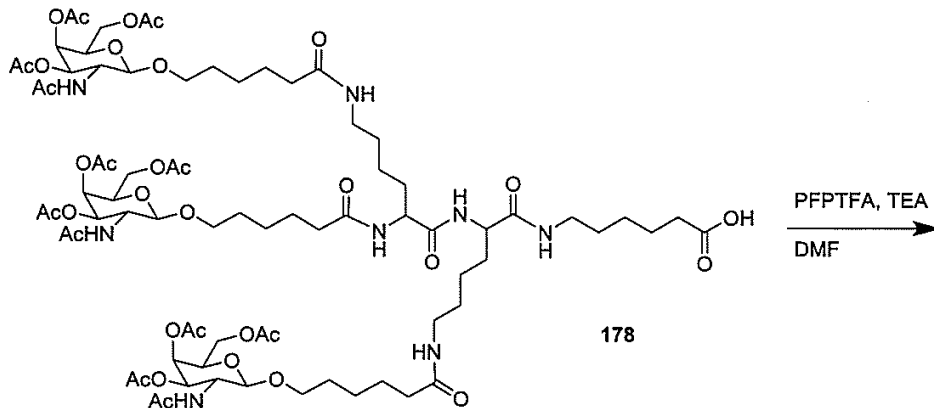
30

40

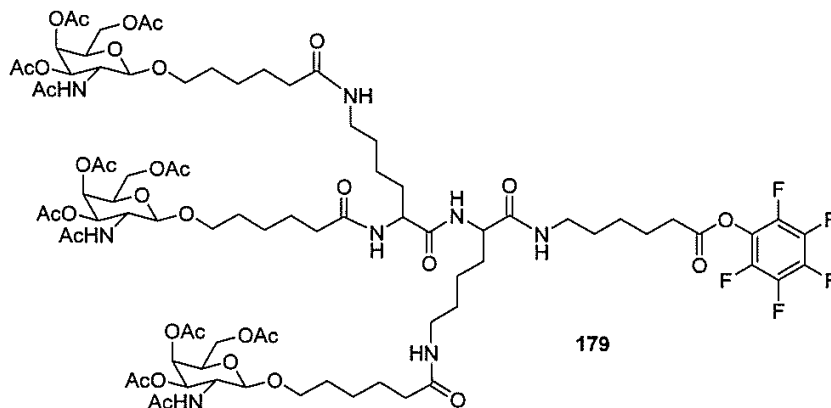
## 【 0 9 7 9 】

50

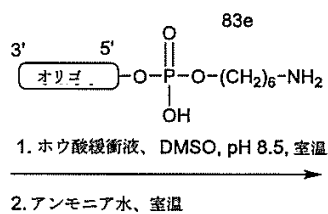
## 【化 2 2 1】



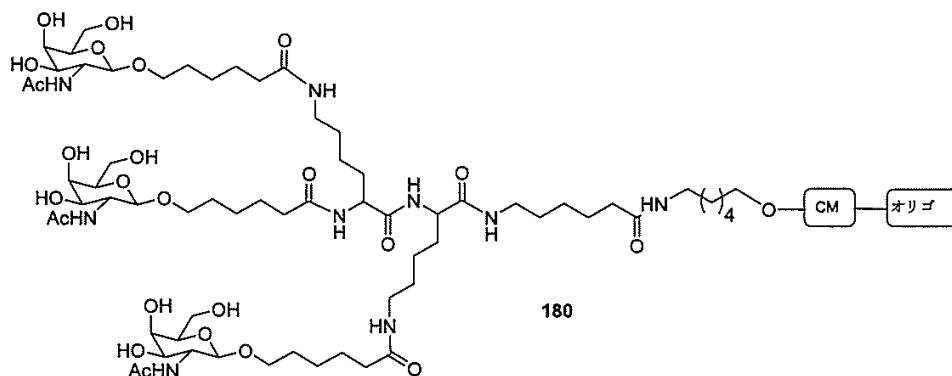
10



20



30



40

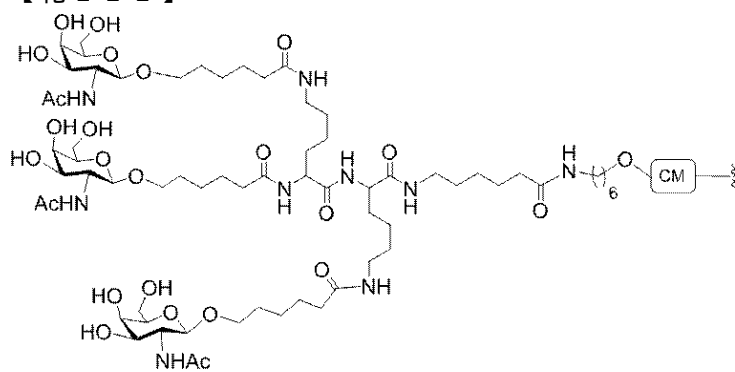
## 【 0 9 8 0】

実施例 2 に示される一般的手順を用いて、化合物 176 を調製した。実施例 49 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-13 共役基を含むオリゴマー化合物 180 を化合物 177 から調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-13 (GalNAc<sub>3</sub>-13a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-13 (GalNAc<sub>3</sub>-13a-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【 0 9 8 1】

50

【化 2 2 2】



10

実施例 63 : Ga1NAc3-14を含むオリゴマー化合物188の調製

【 0 9 8 2 】

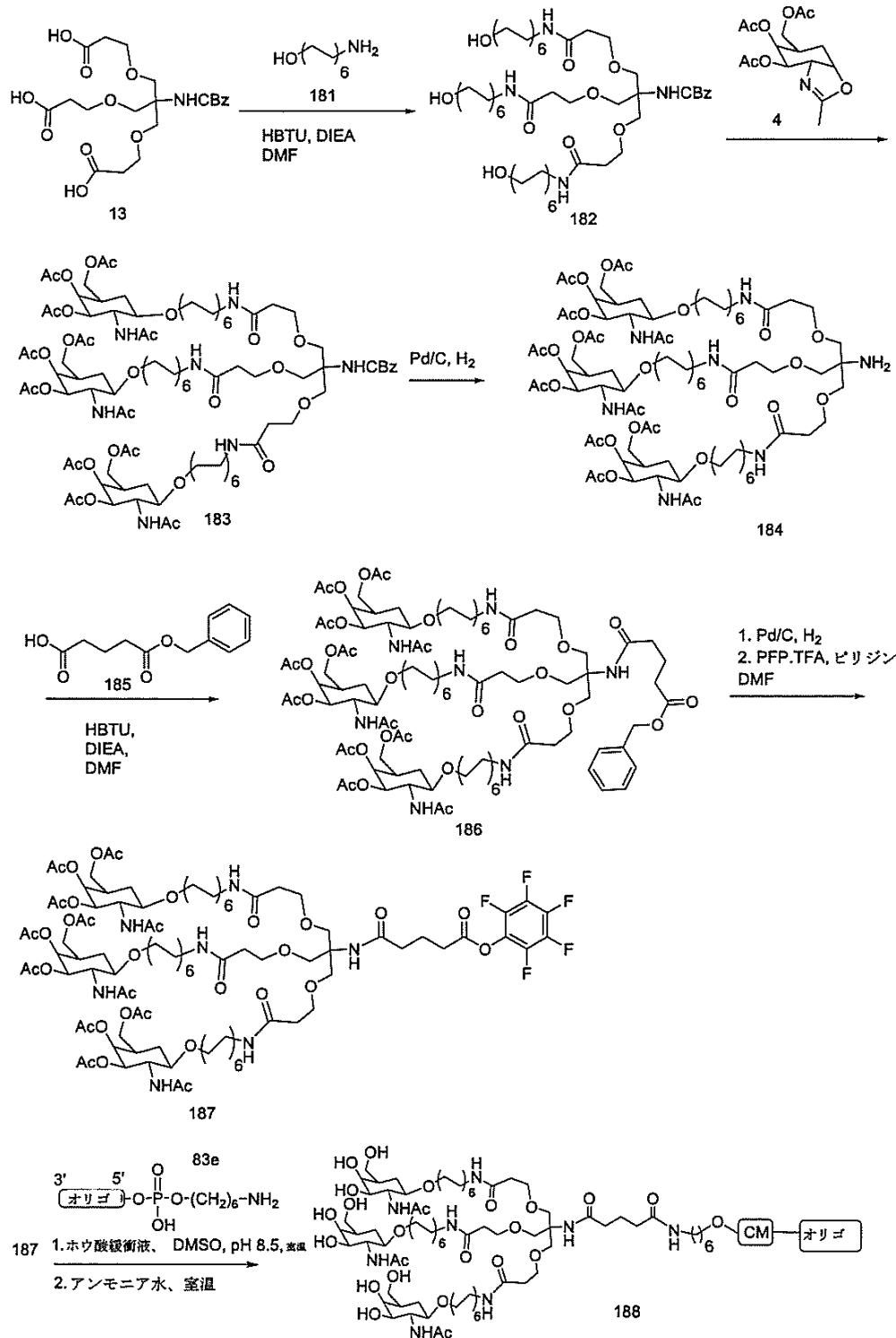
20

30

40

50

## 【化 2 2 3】



## 【 0 9 8 3】

化合物 181 及び 185 は、市販のものである。実施例 46 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-14 共役基を含むオリゴマー化合物 188 を化合物 187 から調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-14 (GalNAc<sub>3</sub>-14<sub>a</sub>) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-14 (GalNAc<sub>3</sub>-14<sub>a</sub>-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【 0 9 8 4】

10

20

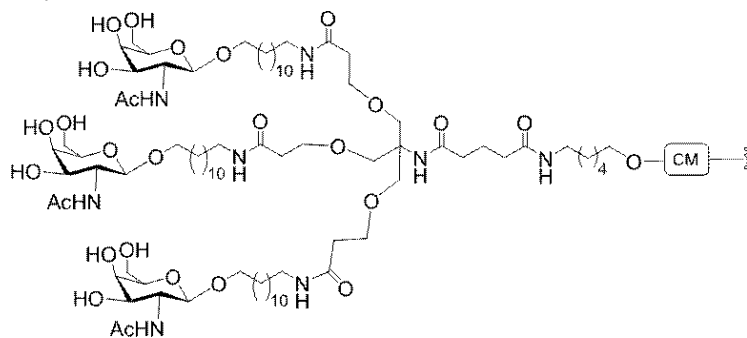
30

40

50



## 【化 2 2 4】

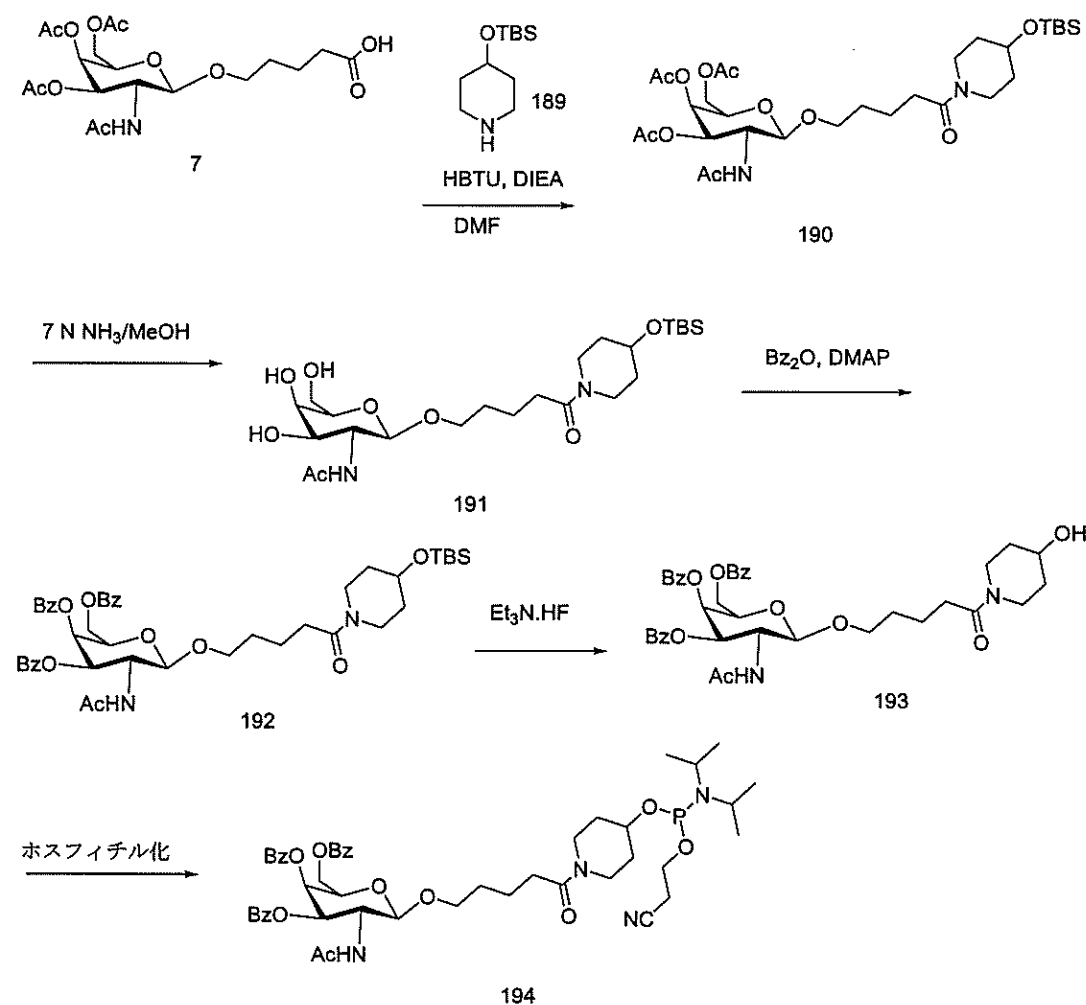


10

実施例 64 : GalNAc<sub>3</sub>-15を含むオリゴマー化合物 197 の調製

## 【 0 9 8 5】

## 【化 2 2 5】



20

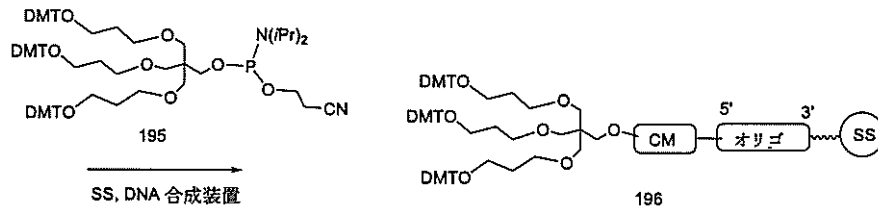
30

40

## 【 0 9 8 6】

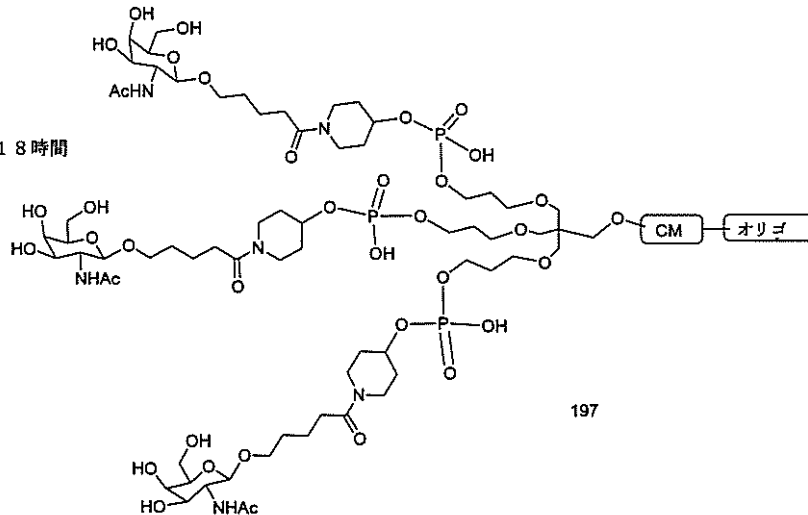
50

## 【化 2 2 6】



1. 194, DNA 合成装置

2. アンモニア水、55℃、18時間

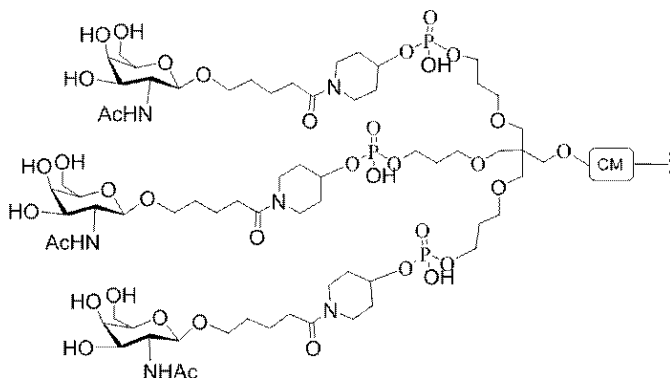


## 【 0 9 8 7】

化合物 189 は、市販のものである。実施例 31 に示される一般的手順を用いて、化合物 195 を調製した。標準のオリゴヌクレオチド合成手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-15 共役基を含むオリゴマー化合物 197 を化合物 194 及び 195 から調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-15 (GalNAc<sub>3</sub>-15a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-15 (GalNAc<sub>3</sub>-15a-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【 0 9 8 8】

## 【化 2 2 7】



実施例 65：生体内における SRB-1 を標的とする 5' - 共役基を含むオリゴヌクレオチドの用量依存的試験 (GalNAc<sub>3</sub>-3、12、13、14、及び 15 の比較)

## 【 0 9 8 9】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおける SRB-1 のアンチセンス阻害について試験した。非共役 ISIS 353382 を標準物として含めた。GalNAc<sub>3</sub> 共役基のそれぞれは、ホスホジエステル連結 2' - デオキシ

アデノシンヌクレオシド（切断可能部分）によってそれぞれのオリゴヌクレオチドの5'末端に取り付けられた。

【0990】

【表43】

表54

SRB-1を標的とする修飾ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | 共役体                         | 配列番号 |
|---------|---|-----------------------------|------|
| 353382  | $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}$<br>$T_{es} T_e$                                 | なし                          | 829  |
| 661161  | $GalNAc_3-3_{a-o} \cdot A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m$<br>$C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$   | GalNAc <sub>3</sub> -3      | 831  |
| 671144  | $GalNAc_3-12_{a-o} \cdot A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$<br>$^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$ | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>2 | 831  |
| 670061  | $GalNAc_3-13_{a-o} \cdot A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$<br>$^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$ | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>3 | 831  |
| 671261  | $GalNAc_3-14_{a-o} \cdot A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$<br>$^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$ | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>4 | 831  |
| 671262  | $GalNAc_3-15_{a-o} \cdot A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$<br>$^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$ | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>5 | 831  |

【0991】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、 $mC$ は、5-メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2'-MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部（PS）を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部（PO）を示し、「o'」は、-O-P(=O)(OH)-を示す。共役基は、太字で表示されている。

【0992】

GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>の構造は、先の実施例39に示される。GalNAc<sub>3</sub>-12<sub>a</sub>の構造は、先の実施例61に示される。GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>の構造は、先の実施例62に示される。GalNAc<sub>3</sub>-14<sub>a</sub>の構造は、先の実施例63に示される。GalNAc<sub>3</sub>-15<sub>a</sub>の構造は、先の実施例64に示される。

処理

【0993】

6~8週齢のC57b16マウス（Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME）に、ISIS 353382、661161、671144、670061、671261、671262、または生理食塩水を、以下に示される投与量で1回または2回、皮下注入した。2回投与されたマウスは、第1の投与の3日後に第2の投与

を受けた。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGREEN（登録商標）RNA定量化試薬（Molecular Probes, Inc. Eugene, OR）を用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを標準プロトコルに従って決定した。以下の結果は、生理食塩水（対照）に対して標準化された各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。

【0994】

表55に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でSRB-1 mRNAレベルを低下させた。単回用量を受けた動物と2回の用量を受けた動物との間で標的ノックダウンの著しい差は観察されなかった（ISIS 353382の投与量30及び2×15mg/kg、ならびにISIS 661161の投与量5及び2×2.5mg/kgを参照のこと）。ホスホジエステル連結GalNAc<sub>3</sub>-3、12、13、14、及び15共役体を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド（ISIS 335382）と比較して、力価の大幅な増加を示した。

【0995】

10

20

30

40

50

## 【表 4 4】

表 5 5

SRB-1 mRNA (%生理食塩水)

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1 mRNA(%生理食塩水) | ED <sub>50</sub> (mg/kg) | 共役体                     |
|--------|------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|
| 生理食塩水  | 該当なし       | 100.0              | 該当なし                     | 該当なし                    |
| 353382 | 3          | 85.0               | 22.4                     | なし                      |
|        | 10         | 69.2               |                          |                         |
|        | 30         | 34.2               |                          |                         |
|        | 2×15       | 36.0               |                          |                         |
| 661161 | 0.5        | 87.4               | 2.2                      | GalNAc <sub>3</sub> -3  |
|        | 1.5        | 59.0               |                          |                         |
|        | 5          | 25.6               |                          |                         |
|        | 2×2.5      | 27.5               |                          |                         |
|        | 15         | 17.4               |                          |                         |
| 671144 | 0.5        | 101.2              | 3.4                      | GalNAc <sub>3</sub> -12 |
|        | 1.5        | 76.1               |                          |                         |
|        | 5          | 32.0               |                          |                         |
|        | 15         | 17.6               |                          |                         |
| 670061 | 0.5        | 94.8               | 2.1                      | GalNAc <sub>3</sub> -13 |
|        | 1.5        | 57.8               |                          |                         |
|        | 5          | 20.7               |                          |                         |
|        | 15         | 13.3               |                          |                         |
| 671261 | 0.5        | 110.7              | 4.1                      | GalNAc <sub>3</sub> -14 |
|        | 1.5        | 81.9               |                          |                         |
|        | 5          | 39.8               |                          |                         |
|        | 15         | 14.1               |                          |                         |
| 671262 | 0.5        | 109.4              | 9.8                      | GalNAc <sub>3</sub> -15 |
|        | 1.5        | 99.5               |                          |                         |
|        | 5          | 69.2               |                          |                         |
|        | 15         | 36.1               |                          |                         |

10

20

30

## 【0996】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な差は見られなかった（データ示されず）。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表56に示される。

40

## 【0997】

50

【表 4 5】

表 5 6

| ISIS番号    | 投 与 量<br>(mg/kg) | ALT(U/L) | AST(U/L) | 総ビリル<br>ビ ン<br>(mg/dL) | BUN(mg/dL) | 共役体                     |
|-----------|------------------|----------|----------|------------------------|------------|-------------------------|
| 生理食塩<br>水 | 該当なし             | 28       | 60       | 0.1                    | 39         | 該当なし                    |
| 353382    | 3                | 30       | 77       | 0.2                    | 36         | なし                      |
|           | 10               | 25       | 78       | 0.2                    | 36         |                         |
|           | 30               | 28       | 62       | 0.2                    | 35         |                         |
|           | 2×15             | 22       | 59       | 0.2                    | 33         |                         |
| 661161    | 0.5              | 39       | 72       | 0.2                    | 34         | GalNAc <sub>3</sub> -3  |
|           | 1.5              | 26       | 50       | 0.2                    | 33         |                         |
|           | 5                | 41       | 80       | 0.2                    | 32         |                         |
|           | 2×2.5            | 24       | 72       | 0.2                    | 28         |                         |
|           | 15               | 32       | 69       | 0.2                    | 36         |                         |
| 671144    | 0.5              | 25       | 39       | 0.2                    | 34         | GalNAc <sub>3</sub> -12 |
|           | 1.5              | 26       | 55       | 0.2                    | 28         |                         |
|           | 5                | 48       | 82       | 0.2                    | 34         |                         |
|           | 15               | 23       | 46       | 0.2                    | 32         |                         |
| 670061    | 0.5              | 27       | 53       | 0.2                    | 33         | GalNAc <sub>3</sub> -13 |
|           | 1.5              | 24       | 45       | 0.2                    | 35         |                         |
|           | 5                | 23       | 58       | 0.1                    | 34         |                         |
|           | 15               | 24       | 72       | 0.1                    | 31         |                         |
| 671261    | 0.5              | 69       | 99       | 0.1                    | 33         | GalNAc <sub>3</sub> -14 |
|           | 1.5              | 34       | 62       | 0.1                    | 33         |                         |
|           | 5                | 43       | 73       | 0.1                    | 32         |                         |
|           | 15               | 32       | 53       | 0.2                    | 30         |                         |
| 671262    | 0.5              | 24       | 51       | 0.2                    | 29         | GalNAc <sub>3</sub> -15 |
|           | 1.5              | 32       | 62       | 0.1                    | 31         |                         |
|           | 5                | 30       | 76       | 0.2                    | 32         |                         |
|           | 15               | 31       | 64       | 0.1                    | 32         |                         |

実施例 6 6 : 5' - G a l N A c<sub>3</sub> クラスターを含む S R B - 1 を標的とするオリゴヌクレ  
オチドによる生体内におけるアンチセンス阻害へのさまざまな切断可能部分の影響

【 0 9 9 8 】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおける S R B  
- 1 のアンチセンス阻害について試験した。G a l N A c<sub>3</sub> 共役基のそれぞれは、ホスホ  
ジエステル連結ヌクレオチド（切断可能部分（C M））によってそれぞれのオリゴヌクレ  
オチドの 5' 末端に取り付けられた。

【 0 9 9 9 】

10

20

30

40

50

## 【表 4 6】

表 5 7

SRB-1 を標的とする修飾ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | CM             | 配列番号 |
|---------|--|---------------------------|----------------|------|
| 661161  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>d</sub> | 831  |
| 670699  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-T <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | T <sub>d</sub> | 834  |
| 670700  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>e</sub> | 831  |
| 670701  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-T <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | T <sub>e</sub> | 834  |
| 671165  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -13a  | A <sub>d</sub> | 831  |

## 【1000】

大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、<sup>m</sup>Cは、5 - メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2' - MOE修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部（PS）を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部（PO）を示し、「o'」は、- O - P（= O）（OH）- を示す。共役基は、太字で表示されている。

## 【1001】

GalNAc<sub>3</sub>-3aの構造は、先の実施例39に示した。GalNAc<sub>3</sub>-13aの構造は、先の実施例62に示した。

処理

## 【1002】

6～8週齢のC57b16マウス（Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME）に、ISIS 661161、670699、670700、670701、671165、または生理食塩水を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGREEN（登録商標）RNA定量化試薬（Molecular Probes, Inc. Eugene, OR）を用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを決定した。以下の結果は、生理食塩水（対照）に対して標準化された各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。

## 【1003】

表58に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でSRB-1 mRNAレベルを低下させた。さまざまな切断可能部分を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドはすべて、同様の力価を示した。

【 1 0 0 4 】

【 表 4 7 】

表 5 8

SRB-1 mRNA (%生理食塩水)

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1<br>mRNA(%生理食塩水) | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | CM             |
|--------|------------|-----------------------|---------------------------|----------------|
| 生理食塩水  | 該当なし       | 100.0                 | 該当なし                      | 該当なし           |
| 661161 | 0.5        | 87.8                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 61.3                  |                           |                |
|        | 5          | 33.8                  |                           |                |
|        | 15         | 14.0                  |                           |                |
| 670699 | 0.5        | 89.4                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | T <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 59.4                  |                           |                |
|        | 5          | 31.3                  |                           |                |
|        | 15         | 17.1                  |                           |                |
| 670700 | 0.5        | 79.0                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>c</sub> |
|        | 1.5        | 63.3                  |                           |                |
|        | 5          | 32.8                  |                           |                |
|        | 15         | 17.9                  |                           |                |
| 670701 | 0.5        | 79.1                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | T <sub>c</sub> |
|        | 1.5        | 59.2                  |                           |                |
|        | 5          | 35.8                  |                           |                |
|        | 15         | 17.7                  |                           |                |
| 671165 | 0.5        | 76.4                  | GalNAc <sub>3</sub> -13a  | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 43.2                  |                           |                |
|        | 5          | 22.6                  |                           |                |
|        | 15         | 10.0                  |                           |                |

【 1 0 0 5 】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な差は見られなかった (データ示されず)。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表 5 6 に示される。

【 1 0 0 6 】

10

20

30

40

50



【表 4 8】

表 5 9

| ISIS番号    | 投与量<br>(mg/kg) | ALT(U<br>/L) | AST(U<br>/L) | 総ビリル<br>ビン<br>(mg/dL) | BUN(mg<br>/dL) | GalNAc <sub>3</sub> ク<br>ラスター | CM             |
|-----------|----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------|-------------------------------|----------------|
| 生理食塩<br>水 | 該当なし           | 24           | 64           | 0.2                   | 31             | 該当なし                          | 該当<br>なし       |
| 661161    | 0.5            | 25           | 64           | 0.2                   | 31             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 24           | 50           | 0.2                   | 32             |                               |                |
|           | 5              | 26           | 55           | 0.2                   | 28             |                               |                |
|           | 15             | 27           | 52           | 0.2                   | 31             |                               |                |
| 670699    | 0.5            | 42           | 83           | 0.2                   | 31             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | T <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 33           | 58           | 0.2                   | 32             |                               |                |
|           | 5              | 26           | 70           | 0.2                   | 29             |                               |                |
|           | 15             | 25           | 67           | 0.2                   | 29             |                               |                |
| 670700    | 0.5            | 40           | 74           | 0.2                   | 27             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>e</sub> |
|           | 1.5            | 23           | 62           | 0.2                   | 27             |                               |                |
|           | 5              | 24           | 49           | 0.2                   | 29             |                               |                |
|           | 15             | 25           | 87           | 0.1                   | 25             |                               |                |
| 670701    | 0.5            | 30           | 77           | 0.2                   | 27             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | T <sub>e</sub> |
|           | 1.5            | 22           | 55           | 0.2                   | 30             |                               |                |
|           | 5              | 81           | 101          | 0.2                   | 25             |                               |                |
|           | 15             | 31           | 82           | 0.2                   | 24             |                               |                |
| 671165    | 0.5            | 44           | 84           | 0.2                   | 26             | GalNAc <sub>3</sub> -13a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 47           | 71           | 0.1                   | 24             |                               |                |
|           | 5              | 33           | 91           | 0.2                   | 26             |                               |                |
|           | 15             | 33           | 56           | 0.2                   | 29             |                               |                |

実施例 6 7 : G a l N A c <sub>3</sub> - 1 6 を含むオリゴマー化合物 1 9 9 の調製  
【 1 0 0 7 】

10

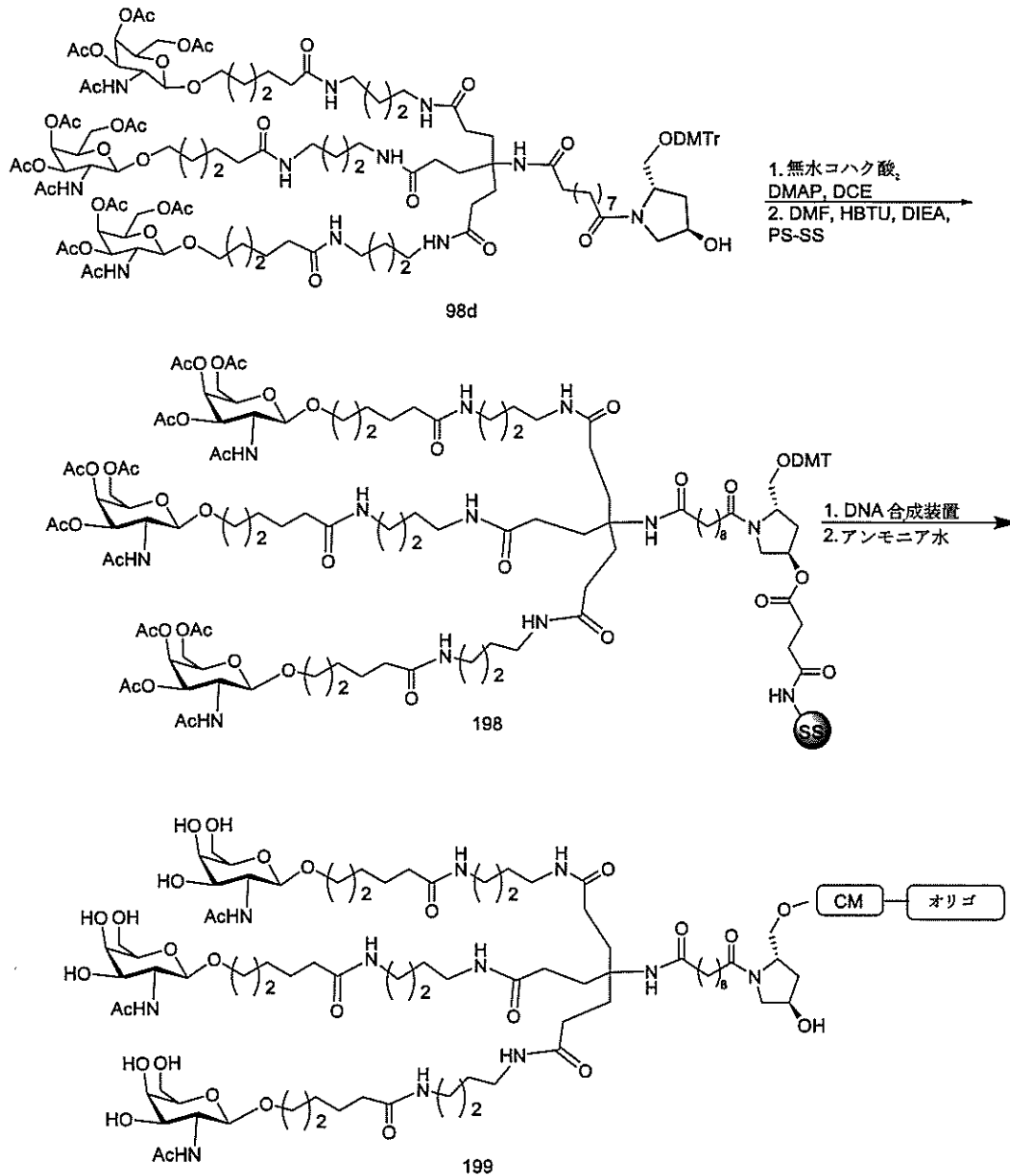
20

30

40

50

## 【化 2 2 8】



## 【1 0 0 8】

実施例 7 及び 9 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-16 共役基を含むオリゴマー化合物 199 を調製する。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-16 (GalNAc<sub>3</sub>-16 a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-16 (GalNAc<sub>3</sub>-16 a-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【1 0 0 9】

10

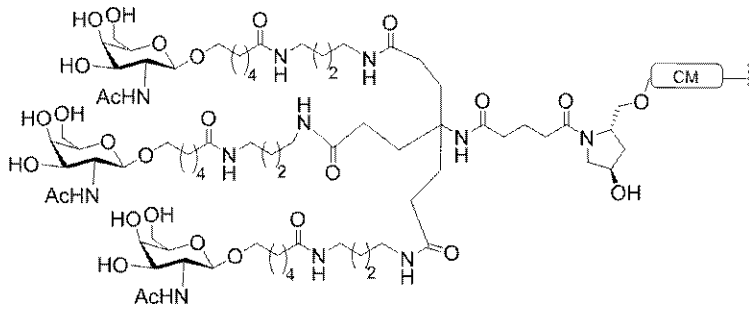
20

30

40

50

## 【化 2 2 9】

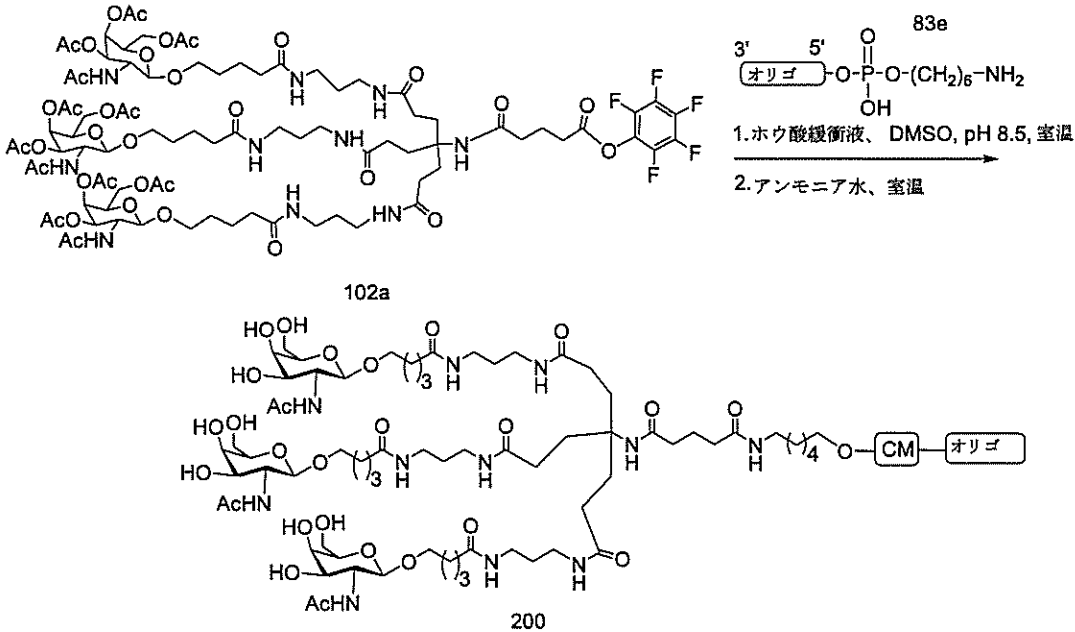


10

実施例 68 : GalNAc<sub>3</sub> - 17 を含むオリゴマー化合物 200 の調製

## 【 1 0 1 0】

## 【化 2 3 0】



20

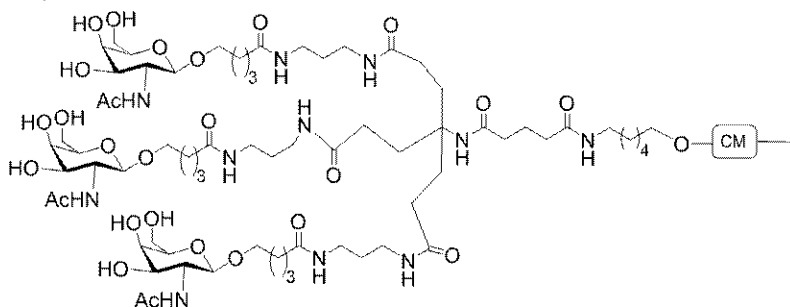
30

## 【 1 0 1 1】

実施例 46 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub> - 17 共役基を含むオリゴマー化合物 200 を調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub> - 17 (GalNAc<sub>3</sub> - 17 a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、- P(=O)(OH) - Ad - P(=O)(OH) - である。GalNAc<sub>3</sub> - 17 (GalNAc<sub>3</sub> - 17 a - CM - ) の構造は、以下に示される：

## 【 1 0 1 2】

## 【化 2 3 1】



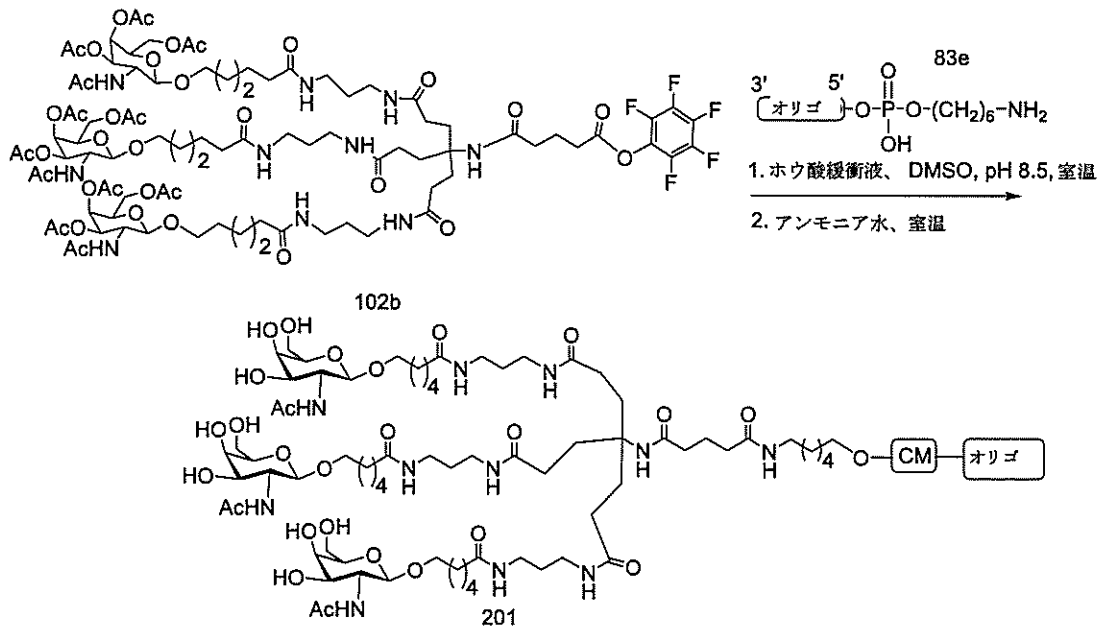
40

実施例 69 : GalNAc<sub>3</sub> - 18 を含むオリゴマー化合物 201 の調製

## 【 1 0 1 3】

50

## 【化 2 3 2】



10

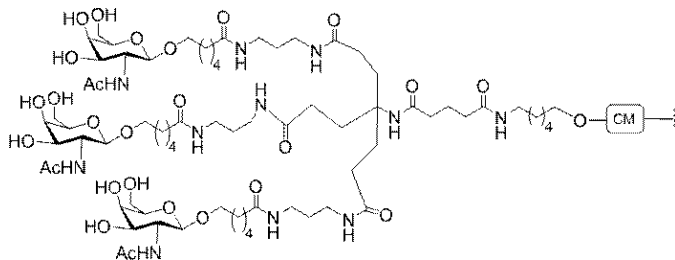
## 【 1 0 1 4 】

実施例 46 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-18 共役基を含むオリゴマー化合物 201 を調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-18 (GalNAc<sub>3</sub>-18a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{Ad}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$  である。GalNAc<sub>3</sub>-18 (GalNAc<sub>3</sub>-18a-CM-) の構造は、以下に示される：

20

## 【 1 0 1 5 】

## 【化 2 3 3】



30

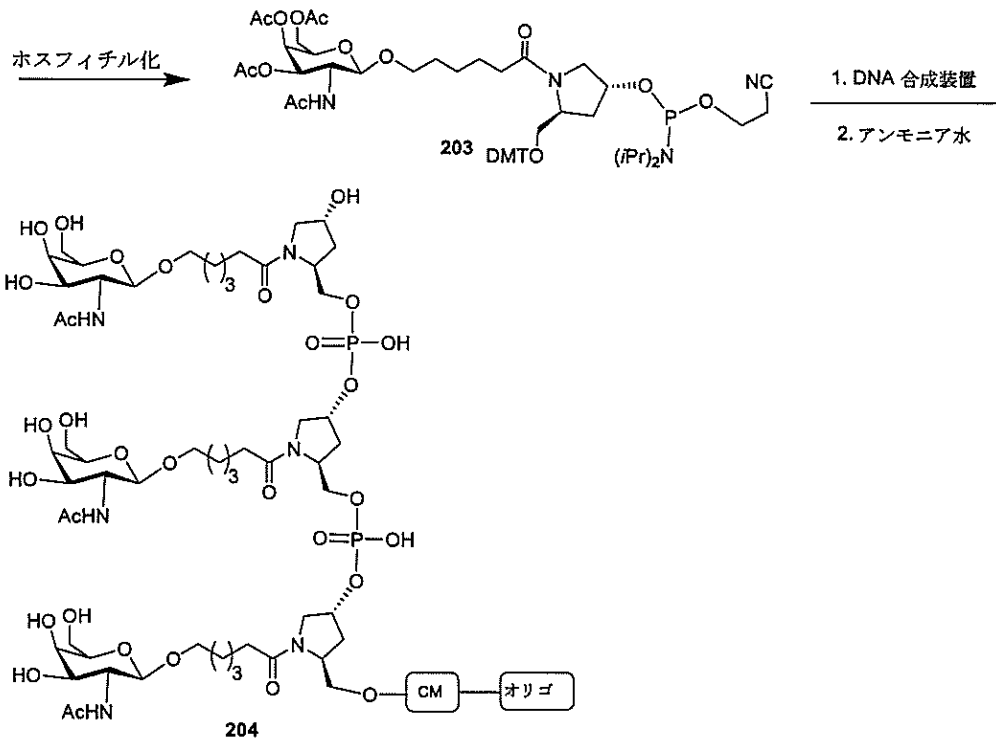
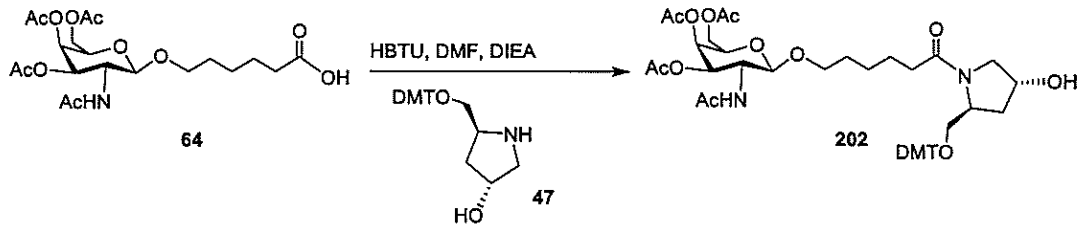
実施例 70 : GalNAc<sub>3</sub>-19 を含むオリゴマー化合物 204 の調製

## 【 1 0 1 6 】

40

50

## 【化 2 3 4】

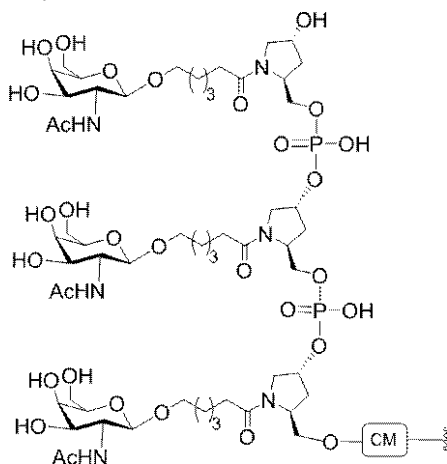


## 【 1 0 1 7】

実施例 5 2 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-19 共役基を含むオリゴマー化合物 204 を化合物 64 から調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-19 (GalNAc<sub>3</sub>-19a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-19 (GalNAc<sub>3</sub>-19a-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【 1 0 1 8】

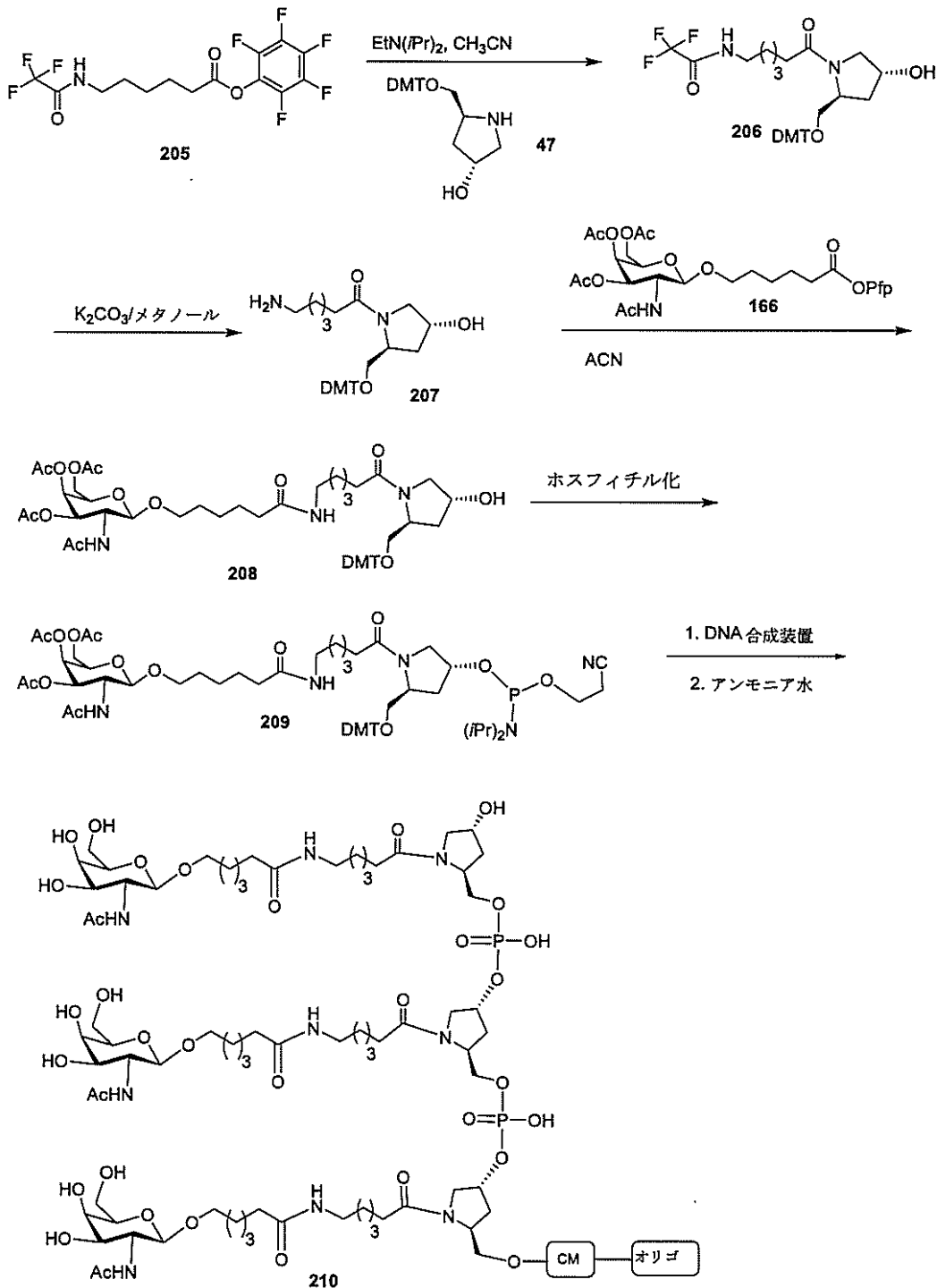
## 【化 2 3 5】



実施例 71 : GalNAc<sub>3</sub>-20 を含むオリゴマー化合物 210 の調製

【1019】

【化236】



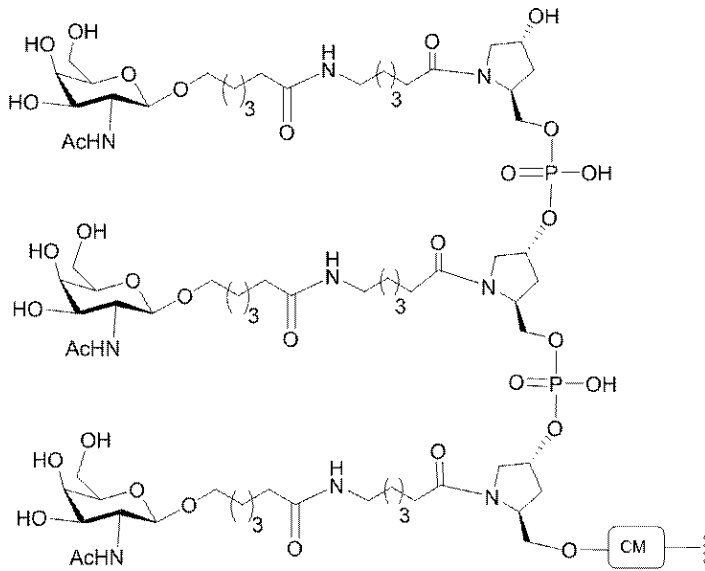
【1020】

PFP-TFA 及び DIEA を、トリフルिन酸無水物を 6-アミノヘキサン酸に添加することによって調製したアセトニトリル中の 6-(2,2,2-トリフルオロアセトアミド)ヘキサン酸に添加することによって、化合物 205 を調製した。反応混合物を 80 に加熱し、その後、室温まで下げた。実施例 52 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-20 共役基を含むオリゴマー化合物 210 を化合物 208 から調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-20 (GalNAc<sub>3</sub>-20a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{Ad}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$  で

ある。GalNAc<sub>3</sub>-20 (GalNAc<sub>3</sub>-20<sub>a</sub>-CM-) の構造は、以下に示される：

【1021】

【化237】



10

20

実施例72：GalNAc<sub>3</sub>-21を含むオリゴマー化合物215の調製

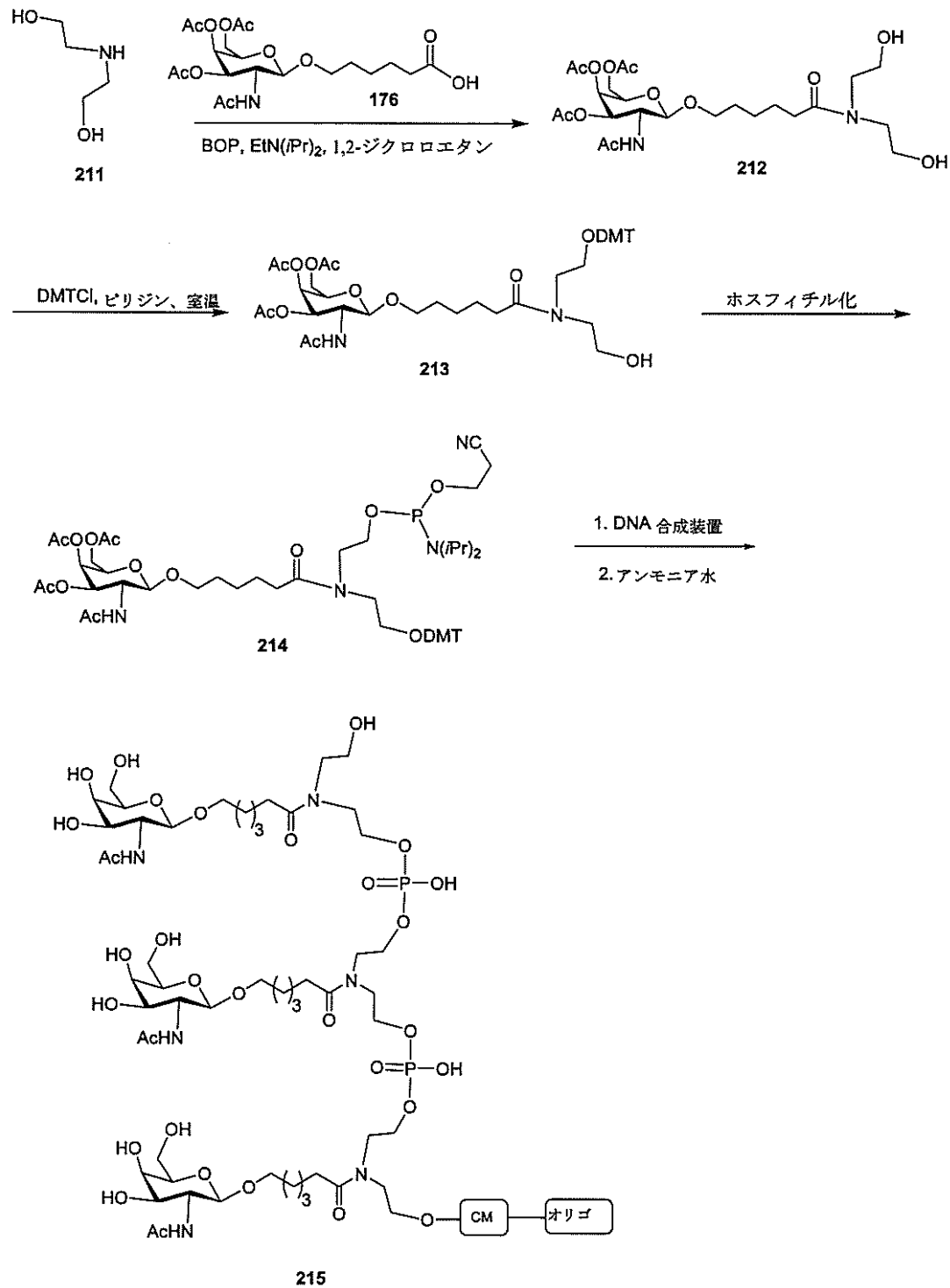
【1022】

30

40

50

## 【化 2 3 8】



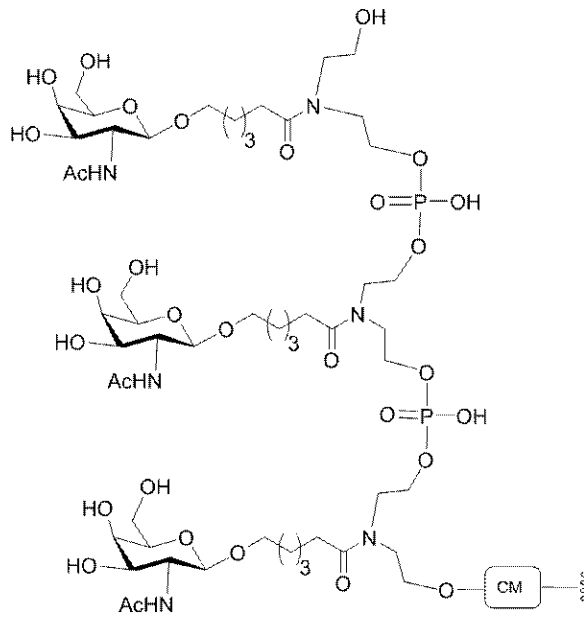
## 【1 0 2 3】

化合物 211 は、市販のものである。実施例 52 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-21 共役基を含むオリゴマー化合物 215 を化合物 213 から調製した。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-21 (GalNAc<sub>3</sub>-21<sub>a</sub>) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-21 (GalNAc<sub>3</sub>-21<sub>a</sub>-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【1 0 2 4】



【化 2 3 9】



10

実施例 7 3 : G a l N A c 3 - 2 2 を含むオリゴマー化合物 2 2 1 の調製  
【 1 0 2 5 】

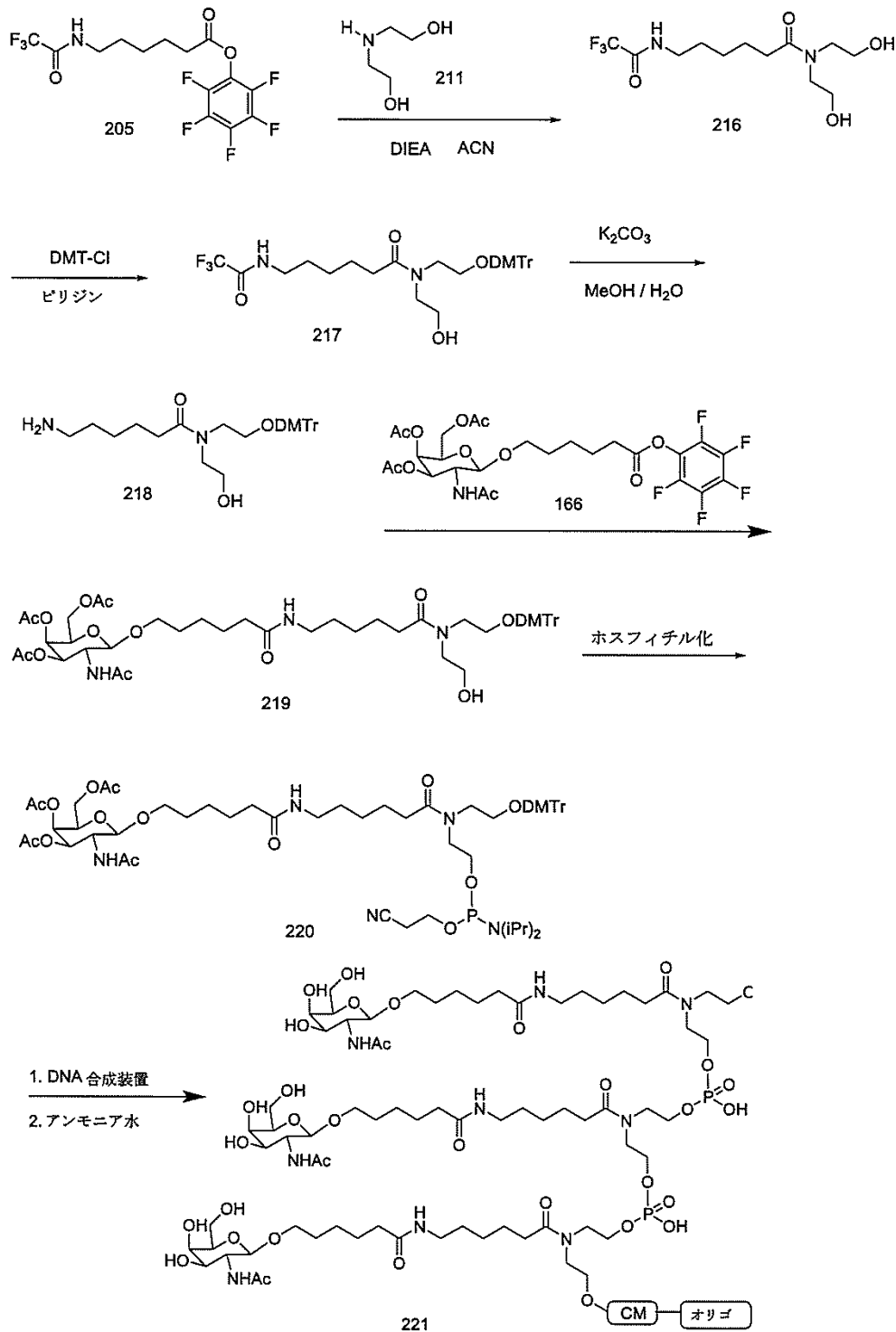
20

30

40

50

## 【化 2 4 0】



10

20

30

40

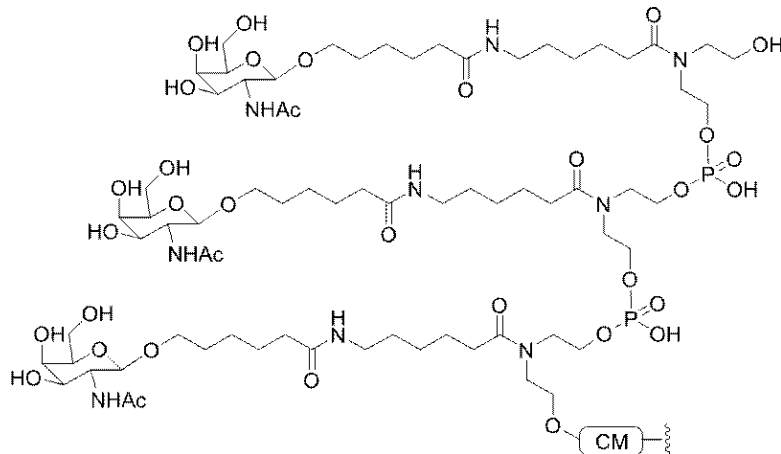
## 【1 0 2 6】

ジイソプロピルアンモニウムテトラゾリドを用いて、化合物 220 を化合物 219 から調製した。実施例 52 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-21 共役基を含むオリゴマー化合物 221 を化合物 220 から調製する。共役基 GalNAc<sub>3</sub>-22 (GalNAc<sub>3</sub>-22a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせ、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、切断可能部分は、-P(=O)(OH)-Ad-P(=O)(OH)-である。GalNAc<sub>3</sub>-22 (GalNAc<sub>3</sub>-22a-CM-) の構造は、以下に示される：

## 【1 0 2 7】

50

## 【化 2 4 1】



10

実施例 74 : 5' - GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含む SRB - 1 を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害へのさまざまな切断可能部分の影響

## 【1028】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおける SRB - 1 のアンチセンス阻害について試験した。GalNAc<sub>3</sub> 共役基のそれぞれは、それぞれのオリゴヌクレオチドの 5' 末端に取り付けられた。

20

## 【1029】

## 【表 4 9】

表 6 0

SRB - 1 を標的とする修飾 ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|---------|---|--------------------------|----------------|------|
| 353382  | G <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub><br>m <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>e</sub>   | 該当なし                     | 該当なし           | 829  |
| 661161  | GalNAc <sub>3</sub> -3a-o'-A <sub>do</sub> G <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub><br>G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> m <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | A <sub>d</sub> | 831  |
| 666904  | GalNAc <sub>3</sub> -3a-o'-G <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub><br>G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> m <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>e</sub>                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | PO             | 829  |
| 675441  | GalNAc <sub>3</sub> -17a-o'-A <sub>do</sub> G <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub><br>G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> m <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -17a | A <sub>d</sub> | 831  |
| 675442  | GalNAc <sub>3</sub> -18a-o'-A <sub>do</sub> G <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub><br>G <sup>m</sup> <sub>ds</sub> A <sup>m</sup> <sub>ds</sub> C <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>ds</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> m <sup>m</sup> <sub>es</sub> C <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>es</sub> T <sup>m</sup> <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -18a | A <sub>d</sub> | 831  |

30

40

## 【1030】

すべての表において、大文字は、各ヌクレオシドの核酸塩基を示し、mCは、5 - メチルシトシンを示す。下付き文字「e」は、2' - MOE 修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、

50

- D - 2' - デオキシリボヌクレオシドを示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部 (PS) を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部 (PO) を示し、「o'」は、- O - P (= O) (OH) - を示す。共役基は、太字で表示されている。

【1031】

GalNAc<sub>3</sub>-3aの構造は、先の実施例39に示した。GalNAc<sub>3</sub>-17aの構造は、先の実施例68に示し、GalNAc<sub>3</sub>-18aの構造は、実施例69に示した。

処理

【1032】

6~8週齢のC57BL/6マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) に、表60に列記されるオリゴヌクレオチドまたは生理食塩水を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGREEN (登録商標) RNA定量化試薬 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) を用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを決定した。以下の結果は、生理食塩水 (対照) に対して標準化された各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。

【1033】

表61に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でSRB-1 mRNAレベルを低下させた。GalNAc共役体を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、同様の力価を示し、GalNAc共役体を欠く親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であった。

【1034】

10

20

30

40

50

## 【表 5 0】

## 表 6 1

## S R B - 1 m R N A ( % 生 理 食 塩 水 )

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1 mRNA(% 生 理 食 塩 水) | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | CM             |
|--------|------------|-------------------------|---------------------------|----------------|
| 生理食塩水  | 該当なし       | 100.0                   | 該当なし                      | 該当なし           |
| 353382 | 3          | 79.38                   | 該当なし                      | 該当なし           |
|        | 10         | 68.67                   |                           |                |
|        | 30         | 40.70                   |                           |                |
| 661161 | 0.5        | 79.18                   | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 75.96                   |                           |                |
|        | 5          | 30.53                   |                           |                |
|        | 15         | 12.52                   |                           |                |
| 666904 | 0.5        | 91.30                   | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | PO             |
|        | 1.5        | 57.88                   |                           |                |
|        | 5          | 21.22                   |                           |                |
|        | 15         | 16.49                   |                           |                |
| 675441 | 0.5        | 76.71                   | GalNAc <sub>3</sub> -17a  | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 63.63                   |                           |                |
|        | 5          | 29.57                   |                           |                |
|        | 15         | 13.49                   |                           |                |
| 675442 | 0.5        | 95.03                   | GalNAc <sub>3</sub> -18a  | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 60.06                   |                           |                |
|        | 5          | 31.04                   |                           |                |
|        | 15         | 19.40                   |                           |                |

## 【 1 0 3 5】

血清における肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）を、標準のプロトコルを用いて、生理食塩水を注入したマウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な変化は見られなかった（データ示されず）。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表 6 2 に示される。

## 【 1 0 3 6】

10

20

30

40

50

## 【表 5 1】

表 6 2

| ISIS番号    | 投与量<br>(mg/kg) | ALT(U<br>/L) | AST(U<br>/L) | 総ビリル<br>ビン<br>(mg/dL) | BUN(mg<br>/dL) | GalNAc <sub>3</sub> ク<br>ラスター | CM             |
|-----------|----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------|-------------------------------|----------------|
| 生理食塩<br>水 | 該当な<br>し       | 26           | 59           | 0.16                  | 42             | 該当なし                          | 該 当<br>なし      |
| 353382    | 3              | 23           | 58           | 0.18                  | 39             | 該当なし                          | 該 当<br>なし      |
|           | 10             | 28           | 58           | 0.16                  | 43             |                               |                |
|           | 30             | 20           | 48           | 0.12                  | 34             |                               |                |
| 661161    | 0.5            | 30           | 47           | 0.13                  | 35             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 23           | 53           | 0.14                  | 37             |                               |                |
|           | 5              | 26           | 48           | 0.15                  | 39             |                               |                |
|           | 15             | 32           | 57           | 0.15                  | 42             |                               |                |
| 666904    | 0.5            | 24           | 73           | 0.13                  | 36             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | PO             |
|           | 1.5            | 21           | 48           | 0.12                  | 32             |                               |                |
|           | 5              | 19           | 49           | 0.14                  | 33             |                               |                |
|           | 15             | 20           | 52           | 0.15                  | 26             |                               |                |
| 675441    | 0.5            | 42           | 148          | 0.21                  | 36             | GalNAc <sub>3</sub> -17a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 60           | 95           | 0.16                  | 34             |                               |                |
|           | 5              | 27           | 75           | 0.14                  | 37             |                               |                |
|           | 15             | 24           | 61           | 0.14                  | 36             |                               |                |
| 675442    | 0.5            | 26           | 65           | 0.15                  | 37             | GalNAc <sub>3</sub> -18a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 25           | 64           | 0.15                  | 43             |                               |                |
|           | 5              | 27           | 69           | 0.15                  | 37             |                               |                |
|           | 15             | 30           | 84           | 0.14                  | 37             |                               |                |

実施例 7 5 : 5' - 共役基を含むオリゴヌクレオチドの薬物動態分析

## 【 1 0 3 7 】

実施例 6 5、6 6、及び 7 4 に記載される処理手順に従って得た肝臓試料を用いて、上の表 5 4、5 7、及び 6 0 における A S O の P K を評価した。肝臓試料を切り刻み、標準のプロトコルを用いて抽出し、内部標準とともに I P - H P L C - M S によって分析した。適切な U V ピークを統合することによってすべての代謝物の合わせた組織レベル (  $\mu\text{g} / \text{g}$  ) を測定し、適切な抽出イオンクロマトグラム ( E I C ) を用いて、共役体を欠く全長 A S O ( この場合、 I S I S 番号 3 5 3 3 8 2 の「親」 ) の組織レベルを測定した。

## 【 1 0 3 8 】

10

20

30

40

50

## 【表 5 2】

表 6 3

肝臓における P K 分析

| ISIS 番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | UVによる全組織<br>レベル(μg/g) | EICによる親ASO組<br>織レベル(μg/g) | GalNAc <sub>3</sub> クラ<br>スター | CM             |
|---------|------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------|
| 353382  | 3                | 8.9                   | 8.6                       | 該当なし                          | 該当なし           |
|         | 10               | 22.4                  | 21.0                      |                               |                |
|         | 30               | 54.2                  | 44.2                      |                               |                |
| 661161  | 5                | 32.4                  | 20.7                      | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 63.2                  | 44.1                      |                               |                |
| 671144  | 5                | 20.5                  | 19.2                      | GalNAc <sub>3</sub> -12a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 48.6                  | 41.5                      |                               |                |
| 670061  | 5                | 31.6                  | 28.0                      | GalNAc <sub>3</sub> -13a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 67.6                  | 55.5                      |                               |                |
| 671261  | 5                | 19.8                  | 16.8                      | GalNAc <sub>3</sub> -14a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 64.7                  | 49.1                      |                               |                |
| 671262  | 5                | 18.5                  | 7.4                       | GalNAc <sub>3</sub> -15a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 52.3                  | 24.2                      |                               |                |
| 670699  | 5                | 16.4                  | 10.4                      | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | T <sub>d</sub> |
|         | 15               | 31.5                  | 22.5                      |                               |                |
| 670700  | 5                | 19.3                  | 10.9                      | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>e</sub> |
|         | 15               | 38.1                  | 20.0                      |                               |                |
| 670701  | 5                | 21.8                  | 8.8                       | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | T <sub>e</sub> |
|         | 15               | 35.2                  | 16.1                      |                               |                |
| 671165  | 5                | 27.1                  | 26.5                      | GalNAc <sub>3</sub> -13a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 48.3                  | 44.3                      |                               |                |
| 666904  | 5                | 30.8                  | 24.0                      | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | PO             |
|         | 15               | 52.6                  | 37.6                      |                               |                |
| 675441  | 5                | 25.4                  | 19.0                      | GalNAc <sub>3</sub> -17a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 54.2                  | 42.1                      |                               |                |
| 675442  | 5                | 22.2                  | 20.7                      | GalNAc <sub>3</sub> -18a      | A <sub>d</sub> |
|         | 15               | 39.6                  | 29.0                      |                               |                |

## 【 1 0 3 9 】

上の表 6 3 における結果は、特に G a l N A c<sub>3</sub> 共役基を有するオリゴヌクレオチドと G a l N A c<sub>3</sub> 共役基を有しないオリゴヌクレオチドとの間の投薬の違いを考慮に入れた場合、オリゴヌクレオチド投与の 7 2 時間後に、G a l N A c<sub>3</sub> 共役基を含むオリゴヌクレオチドの肝臓組織レベルが、G a l N A c<sub>3</sub> 共役基を含まない親オリゴヌクレオチド ( I S I S 3 5 3 3 8 2 ) の肝臓組織レベルよりも高かったことを示す。さらに、7 2 時間までに、G a l N A c<sub>3</sub> 共役基を含む各オリゴヌクレオチドの 4 0 ~ 9 8 % が親化合物に代謝され、G a l N A c<sub>3</sub> 共役基がオリゴヌクレオチドから切断されたことを示す。

実施例 7 6 : G a l N A c<sub>3</sub> - 2 3 を含むオリゴマー化合物 2 3 0 の調製

## 【 1 0 4 0 】

10

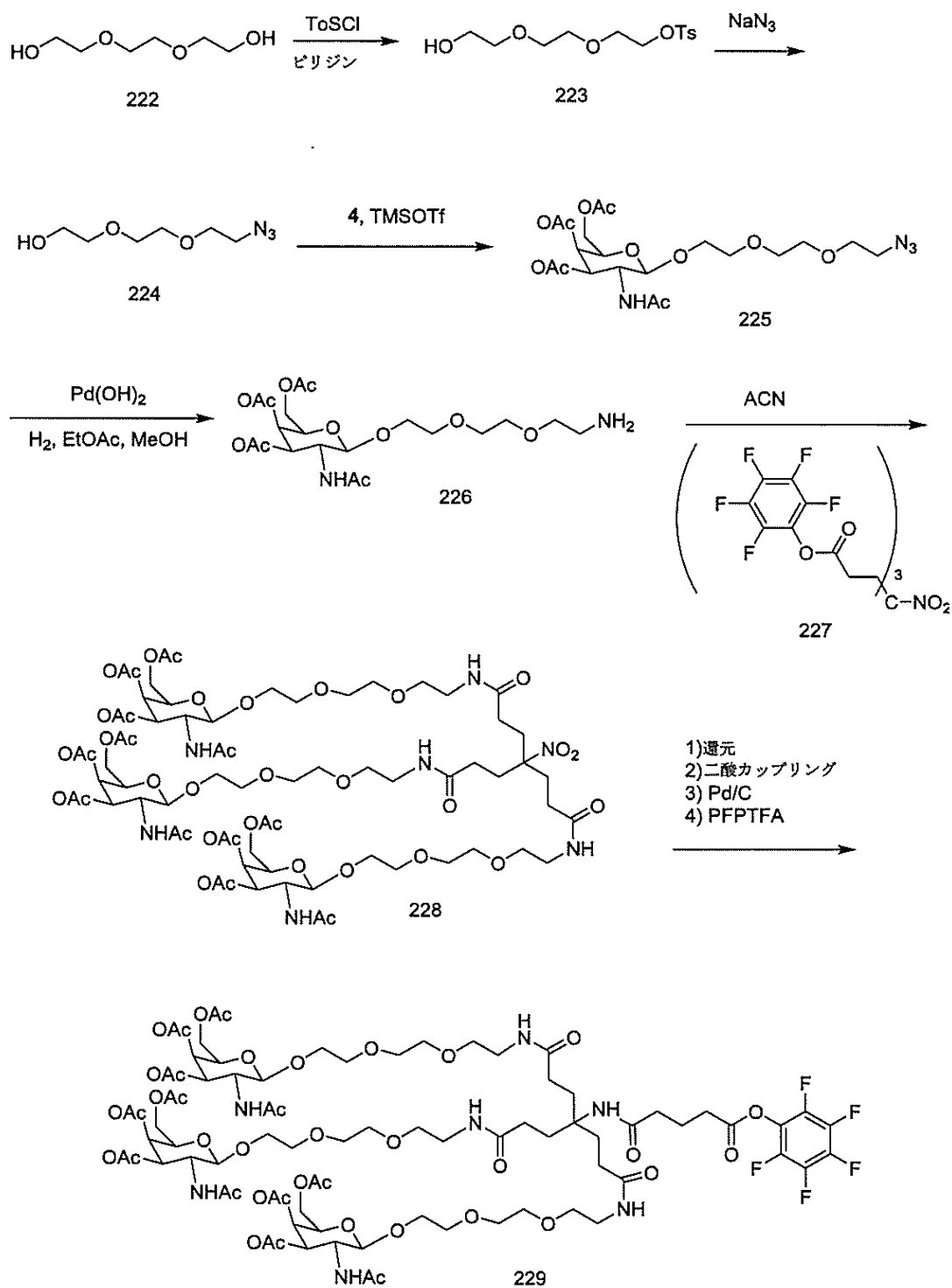
20

30

40

50

【化 2 4 2】



【 1 0 4 1 】

10

20

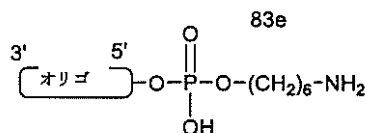
30

40

50

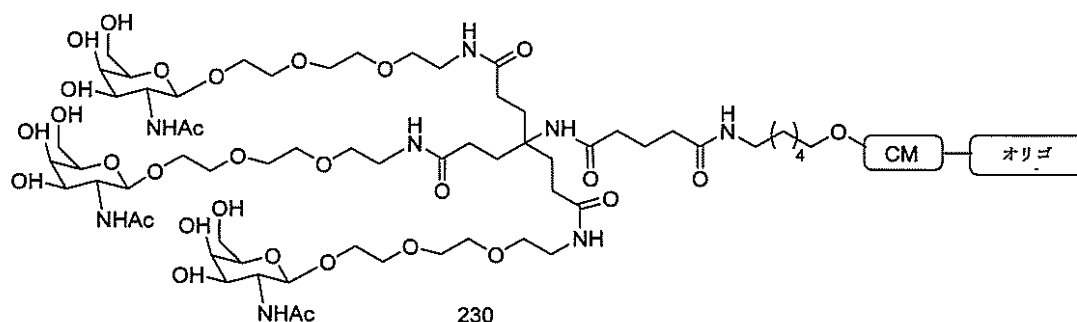


## 【化 2 4 3】



1. ホウ酸緩衝液、DMSO, pH 8.5, 室温

2. アンモニア水、室温



## 【1 0 4 2】

化合物 2 2 2 は、市販のものである。4 4 . 4 8 m L ( 0 . 3 3 m o l ) の化合物 2 2 2 をピリジン ( 5 0 0 m L ) 中の塩化トシル ( 2 5 . 3 9 g 、 0 . 1 3 m o l ) で 1 6 時間処理した。その後、反応物を蒸発させて油状物とし、E t O A c 中に溶解し、水、飽和 N a H C O <sub>3</sub>、ブラインで洗浄し、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 上で乾燥させた。酢酸エチルを濃縮乾固させ、カラムクロマトグラフィーによって精製し、E t O A c / ヘキサン ( 1 : 1 )、続いて、C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> 中の 1 0 % メタノールで溶出して、無色の油状物として化合物 2 2 3 を得た。L C M S 及び N M R は、その構造と一致した。1 0 g ( 3 2 . 8 6 m m o l ) の 1 - トシルトリエチレングリコール ( 化合物 2 2 3 ) を、D M S O ( 1 0 0 m L ) 中のアジ化ナトリウム ( 1 0 . 6 8 g 、 1 6 4 . 2 8 m m o l ) で、室温で 1 7 時間処理した。その後、反応混合物を水上に注ぎ、E t O A c で抽出した。有機層を水で 3 回洗浄し、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 上で乾燥させた。有機層を濃縮乾固させて、5 . 3 g の化合物 2 2 4 ( 9 2 % ) を得た。L C M S 及び N M R は、その構造と一致した。1 - アジドトリエチレングリコール ( 化合物 2 2 4 、 5 . 5 3 g 、 2 3 . 6 9 m m o l ) 及び化合物 4 ( 6 g 、 1 8 . 2 2 m m o l ) を、4 A モレキュラーシーブ ( 5 g ) 及びジクロロメタン ( 1 0 0 m L ) 中の T M S O T f ( 1 . 6 5 m L 、 9 . 1 1 m m o l ) で、不活性雰囲気下で処理した。1 4 時間後、反応物を濾過して前記モレキュラーシーブを除去し、有機層を飽和 N a H C O <sub>3</sub>、水、ブラインで洗浄し、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 上で乾燥させた。有機層を濃縮乾固させ、カラムクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン中の 2 ~ 4 % メタノールの勾配で溶出して、化合物 2 2 5 を得た。L C M S 及び N M R は、その構造と一致した。化合物 2 2 5 ( 1 1 . 9 g 、 2 3 . 5 9 m m o l ) をパールマン触媒上で、E t O A c / メタノール ( 4 : 1 、 2 5 0 m L ) 中で水素化した。8 時間後、触媒を濾去し、溶媒を除去乾固して、化合物 2 2 6 を得た。L C M S 及び N M R は、その構造と一致した。

## 【1 0 4 3】

化合物 2 2 7 を生成するために、D M F ( 1 0 0 m L ) 中のニトロメタントリスプロピオン酸 ( 4 . 1 7 g 、 1 5 . 0 4 m m o l ) 及びヒューニツヒ塩基 ( 1 0 . 3 m L 、 6 0 . 1 7 m m o l ) の溶液をペンタフルオロトリフルオロアセテート ( 9 . 0 5 m L 、 5 2 . 6 5 m m o l ) で液滴処理した。3 0 分間後、反応物を氷水上に注ぎ、E t O A c で抽出した。有機層を水、ブラインで洗浄し、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 上で乾燥させた。有機層を濃縮乾固させ、その後、ヘプタンから再結晶化して、白色の固体として化合物 2 2 7 を得た。L C M S 及び N M R は、その構造と一致した。化合物 2 2 7 ( 1 . 5 g 、 1 . 9 3 m m o l )

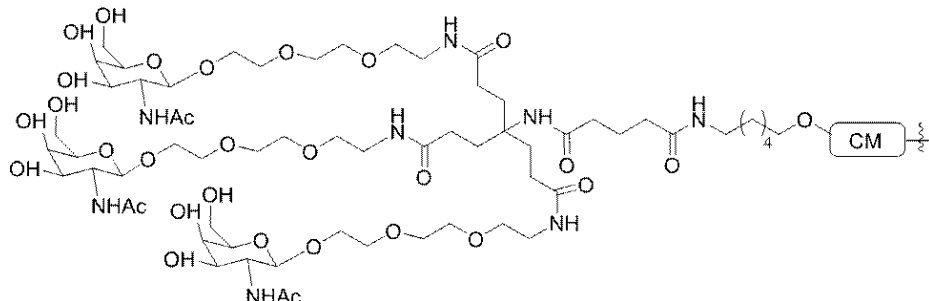
及び化合物 226 (3.7 g、7.74 mmol) をアセトニトリル (15 mL) 中で、室温で 2 時間撹拌した。その後、反応物を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン中の 2 ~ 10 % メタノールの勾配で溶出して、化合物 228 を得た。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。化合物 228 (1.7 g、1.02 mmol) をエタノール (100 mL) 中のラーニッケル (約 2 g、湿性) で、水素雰囲気下で処理した。12 時間後、触媒を濾去し、有機層を蒸発させて固体にし、これを次のステップで直接使用した。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。この固体 (0.87 g、0.53 mmol) を DMF (5 mL) 中のベンジルグルタル酸 (0.18 g、0.8 mmol)、HBTU (0.3 g、0.8 mmol)、及び DIEA (273.7  $\mu$ L、1.6 mmol) で処理した。16 時間後、DMF を減圧下で 65  $^{\circ}$ C で除去して油状物とし、この油状物をジクロロメタン中に溶解した。有機層を飽和 NaHCO<sub>3</sub>、ブラインで洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥させた。有機層を蒸発させた後、化合物をカラムクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン中の 2 ~ 20 % メタノールの勾配で溶出して、カップリング生成物を得た。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。ベンジルエステルをパールマン触媒で、水素雰囲気下で 1 時間脱保護した。その後、この触媒を濾去し、溶媒を除去乾固して、酸を得た。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。酸 (486 mg、0.27 mmol) を乾燥 DMF (3 mL) 中に溶解した。ピリジン (53.61  $\mu$ L、0.66 mmol) を添加し、反応物をアルゴンでパージした。ペンタフルオロトリフルオロアセート (46.39  $\mu$ L、0.4 mmol) を反応混合物に緩徐に添加した。反応物の色が淡黄色からワイン色に変化し、少しの煙を発生し、この煙をアルゴン流で吹き飛ばした。反応物を室温で 1 時間撹拌させた (反応の完了を LCMS によって確認した)。この溶媒を減圧下 (回転蒸発) で 70  $^{\circ}$ C で除去した。残渣を DCM で希釈し、1 N NaHSO<sub>4</sub>、ブライン、飽和重炭酸ナトリウム、及び再度ブラインで洗浄した。有機物を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、黄色の脆い泡状物として 225 mg の化合物 229 を得た。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。

#### 【1044】

実施例 46 に例証される一般的手順を用いて、GalNAc<sub>3</sub>-23 共役基を含むオリゴマー化合物 230 を化合物 229 から調製した。GalNAc<sub>3</sub>-23 共役基 (GalNAc<sub>3</sub>-23a) の GalNAc<sub>3</sub> クラスター部分を任意の切断可能部分と組み合わせ、さまざまな共役基を提供することができる。GalNAc<sub>3</sub>-23 (GalNAc<sub>3</sub>-23a-CM) の構造は、以下に示される：

#### 【1045】

#### 【化 244】



実施例 77 : GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含む SRB-1 を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

#### 【1046】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおける SRB-1 のアンチセンス阻害について試験した。

#### 【1047】

10

20

30

40

50

## 【表 5 3】

表 6 4

SRB-1 を標的とする修飾ASO

| ISIS<br>番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> ク<br>ラスター | CM             | 配 列<br>番号 |
|------------|--|-------------------------------|----------------|-----------|
| 66116<br>1 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>d</sub><br>s <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> | 831       |
| 66690<br>4 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                                | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | PO             | 829       |
| 67350<br>2 | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>               | GalNAc <sub>3</sub> -10a      | A <sub>d</sub> | 831       |
| 67784<br>4 | GalNAc <sub>3</sub> -9 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>d</sub><br>s <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -9a       | A <sub>d</sub> | 831       |
| 67784<br>3 | GalNAc <sub>3</sub> -23 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>               | GalNAc <sub>3</sub> -23a      | A <sub>d</sub> | 831       |
| 65586<br>1 | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -1a       | A <sub>d</sub> | 830       |
| 67784<br>1 | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub>                | GalNAc <sub>3</sub> -19a      | A <sub>d</sub> | 830       |
| 67784<br>2 | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -20 <sub>a</sub>                | GalNAc <sub>3</sub> -20a      | A <sub>d</sub> | 830       |

## 【1048】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示され、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>は、実施例39に示され、GalNAc<sub>3</sub>-9<sub>a</sub>は、実施例52に示され、GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>は、実施例46に示され、GalNAc<sub>3</sub>-19<sub>a</sub>は、実施例70に示され、GalNAc<sub>3</sub>-20<sub>a</sub>は、実施例71に示され、GalNAc<sub>3</sub>-23<sub>a</sub>は、実施例76に示される。

処理

## 【1049】

6～8週齢のC57BL/6マウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)のそれぞれに、表64に列記されるオリゴヌクレオチドまたは生理食塩水を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGR

E E N (登録商標) RNA 定量化試薬 (M o l e c u l a r P r o b e s , I n c .  
E u g e n e , O R ) を用いて、肝臓における S R B - 1 m R N A レベルを決定した。  
以下の結果は、生理食塩水 (対照) に対して標準化された各処理群の S R B - 1 m R N A  
レベルの平均パーセントとして提示される。

【 1 0 5 0 】

表 6 5 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様  
式で S R B - 1 m R N A レベルを低下させた。

【 1 0 5 1 】

【表 5 4 】

表 6 5

S R B - 1 m R N A ( % 生理食塩水 )

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1<br>mRNA(% 生 理<br>食塩水) | GalNAc <sub>3</sub> クラス<br>ター | CM             |
|--------|------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------|
| 生理食塩水  | 該当なし       | 100.0                       | 該当なし                          | 該当なし           |
| 661161 | 0.5        | 89.18                       | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 77.02                       |                               |                |
|        | 5          | 29.10                       |                               |                |
|        | 15         | 12.64                       |                               |                |
| 666904 | 0.5        | 93.11                       | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | PO             |
|        | 1.5        | 55.85                       |                               |                |
|        | 5          | 21.29                       |                               |                |
|        | 15         | 13.43                       |                               |                |
| 673502 | 0.5        | 77.75                       | GalNAc <sub>3</sub> -10a      | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 41.05                       |                               |                |
|        | 5          | 19.27                       |                               |                |
|        | 15         | 14.41                       |                               |                |
| 677844 | 0.5        | 87.65                       | GalNAc <sub>3</sub> -9a       | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 93.04                       |                               |                |
|        | 5          | 40.77                       |                               |                |
|        | 15         | 16.95                       |                               |                |
| 677843 | 0.5        | 102.28                      | GalNAc <sub>3</sub> -23a      | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 70.51                       |                               |                |
|        | 5          | 30.68                       |                               |                |
|        | 15         | 13.26                       |                               |                |
| 655861 | 0.5        | 79.72                       | GalNAc <sub>3</sub> -1a       | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 55.48                       |                               |                |
|        | 5          | 26.99                       |                               |                |
|        | 15         | 17.58                       |                               |                |
| 677841 | 0.5        | 67.43                       | GalNAc <sub>3</sub> -19a      | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 45.13                       |                               |                |
|        | 5          | 27.02                       |                               |                |
|        | 15         | 12.41                       |                               |                |
| 677842 | 0.5        | 64.13                       | GalNAc <sub>3</sub> -20a      | A <sub>d</sub> |
|        | 1.5        | 53.56                       |                               |                |
|        | 5          | 20.47                       |                               |                |
|        | 15         | 10.23                       |                               |                |

【 1 0 5 2 】

標準のプロトコルを用いて、血清中の肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）も測定した。総ビリルビン及びBUNも評価した。体重の変化を評価したが、生理食塩水群との有意な変化は見られなかった（データ示されず）。ALT、AST、総ビリルビン、及びBUN値が、以下の表66に示される。

【1053】

【表55】

表66

| ISIS番号    | 投与量<br>(mg/kg) | ALT(U<br>/L) | AST(U<br>/L) | 総ビリル<br>ビン<br>(mg/dL) | BUN(mg<br>/dL) | GalNAc <sub>3</sub> ク<br>ラスター | CM             |
|-----------|----------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------|-------------------------------|----------------|
| 生理食塩<br>水 | 該当な<br>し       | 21           | 45           | 0.13                  | 34             | 該当なし                          | 該 当<br>なし      |
| 661161    | 0.5            | 28           | 51           | 0.14                  | 39             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 23           | 42           | 0.13                  | 39             |                               |                |
|           | 5              | 22           | 59           | 0.13                  | 37             |                               |                |
|           | 15             | 21           | 56           | 0.15                  | 35             |                               |                |
| 666904    | 0.5            | 24           | 56           | 0.14                  | 37             | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | PO             |
|           | 1.5            | 26           | 68           | 0.15                  | 35             |                               |                |
|           | 5              | 23           | 77           | 0.14                  | 34             |                               |                |
|           | 15             | 24           | 60           | 0.13                  | 35             |                               |                |
| 673502    | 0.5            | 24           | 59           | 0.16                  | 34             | GalNAc <sub>3</sub> -10a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 20           | 46           | 0.17                  | 32             |                               |                |
|           | 5              | 24           | 45           | 0.12                  | 31             |                               |                |
|           | 15             | 24           | 47           | 0.13                  | 34             |                               |                |
| 677844    | 0.5            | 25           | 61           | 0.14                  | 37             | GalNAc <sub>3</sub> -9a       | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 23           | 64           | 0.17                  | 33             |                               |                |
|           | 5              | 25           | 58           | 0.13                  | 35             |                               |                |
|           | 15             | 22           | 65           | 0.14                  | 34             |                               |                |
| 677843    | 0.5            | 53           | 53           | 0.13                  | 35             | GalNAc <sub>3</sub> -23a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 25           | 54           | 0.13                  | 34             |                               |                |
|           | 5              | 21           | 60           | 0.15                  | 34             |                               |                |
|           | 15             | 22           | 43           | 0.12                  | 38             |                               |                |
| 655861    | 0.5            | 21           | 48           | 0.15                  | 33             | GalNAc <sub>3</sub> -1a       | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 28           | 54           | 0.12                  | 35             |                               |                |
|           | 5              | 22           | 60           | 0.13                  | 36             |                               |                |
|           | 15             | 21           | 55           | 0.17                  | 30             |                               |                |
| 677841    | 0.5            | 32           | 54           | 0.13                  | 34             | GalNAc <sub>3</sub> -19a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 24           | 56           | 0.14                  | 34             |                               |                |
|           | 5              | 23           | 92           | 0.18                  | 31             |                               |                |
|           | 15             | 24           | 58           | 0.15                  | 31             |                               |                |
| 677842    | 0.5            | 23           | 61           | 0.15                  | 35             | GalNAc <sub>3</sub> -20a      | A <sub>d</sub> |
|           | 1.5            | 24           | 57           | 0.14                  | 34             |                               |                |
|           | 5              | 41           | 62           | 0.15                  | 35             |                               |                |
|           | 15             | 24           | 37           | 0.14                  | 32             |                               |                |

実施例78：GalNAc<sub>3</sub>共役体を含むアンギオテンシノーゲンを標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

【1054】

以下に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験において正常血圧の S p r a g u e D a w l e y ラットにおけるアンギオテンシノーゲン ( A G T ) のアンチセンス阻害について試験した。

【 1 0 5 5 】

【表 5 6 】

表 6 7

AGTを標的とする修飾ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ            | CM             | 配列番号 |
|---------|---|-------------------------------------|----------------|------|
| 552668  | <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>   | 該当なし                                | 該当なし           | 835  |
| 669509  | <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>co</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 836  |

10

【 1 0 5 6 】

GalNAc<sub>3</sub> - 1<sub>a</sub> の構造は、先の実施例 9 に示した。

処理

【 1 0 5 7 】

6 週齢の雄 S p r a g u e D a w l e y ラットのそれぞれに、表 6 7 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは P B S を、以下に示される投与量で週 1 回、合計 3 回の投与で、皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。最終投与の 7 2 時間後にラットを殺した。リアルタイム P C R 及び R I B O G R E E N ( 登録商標 ) R N A 定量化試薬 ( M o l e c u l a r P r o b e s , I n c . E u g e n e , O R ) を用いて、肝臓における A G T m R N A レベルを決定した。全アンギオテンシノーゲン E L I S A ( カタログ番号 J P 2 7 4 1 2 、 I B L I n t e r n a t i o n a l , T o r o n t o , O N ) を用いて、1 : 2 0 , 0 0 0 で希釈した A G T 血漿タンパク質レベルを測定した。以下の結果は、P B S 対照に対して標準化された各処理群の肝臓における A G T m R N A レベルまたは血漿における A G T タンパク質レベルの平均パーセントとして提示される。

20

【 1 0 5 8 】

表 6 8 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で肝臓における A G T m R N A 及び血漿タンパク質レベルを低下させ、GalNAc 共役体を含むオリゴヌクレオチドは、GalNAc 共役体を欠く親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であった。

30

【 1 0 5 9 】

40

50

## 【表 5 7】

表 6 8

肝臓におけるAGT mRNA及び血漿タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投与量(mg/kg) | 肝臓におけるAGT mRNA(%PBS) | AGT血漿タンパク質(%PBS) | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             |
|---------|------------|----------------------|------------------|--------------------------|----------------|
| PBS     | 該当なし       | 100                  | 100              | 該当なし                     | 該当なし           |
| 552668  | 3          | 95                   | 122              | 該当なし                     | 該当なし           |
|         | 10         | 85                   | 97               |                          |                |
|         | 30         | 46                   | 79               |                          |                |
|         | 90         | 8                    | 11               |                          |                |
| 669509  | 0.3        | 95                   | 70               | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> |
|         | 1          | 95                   | 129              |                          |                |
|         | 3          | 62                   | 97               |                          |                |
|         | 10         | 9                    | 23               |                          |                |

10

## 【1060】

標準のプロトコルを用いて、殺時に血漿中の肝臓トランスアミナーゼレベル、すなわちアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、ならびに体重も測定した。結果が以下の表 6 9 に示される。

## 【1061】

## 【表 5 8】

表 6 9

肝臓トランスアミナーゼレベル及びラット体重

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | ALT(U/L) | AST(U/L) | 体重(%ベースライン) | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             |
|--------|------------|----------|----------|-------------|--------------------------|----------------|
| PBS    | 該当なし       | 51       | 81       | 186         | 該当なし                     | 該当なし           |
| 552668 | 3          | 54       | 93       | 183         | 該当なし                     | 該当なし           |
|        | 10         | 51       | 93       | 194         |                          |                |
|        | 30         | 59       | 99       | 182         |                          |                |
|        | 90         | 56       | 78       | 170         |                          |                |
| 669509 | 0.3        | 53       | 90       | 190         | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> |
|        | 1          | 51       | 93       | 192         |                          |                |
|        | 3          | 48       | 85       | 189         |                          |                |
|        | 10         | 56       | 95       | 189         |                          |                |

30

40

実施例 7 9 : GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含むAPOC - IIIを標的とするオリゴヌクレオチドの生体内における作用持続時間

## 【1062】

以下の表 7 0 に列記されるオリゴヌクレオチドを、単回投与試験においてマウスにおける作用持続時間について試験した。

## 【1063】

50

## 【表 5 9】

表 7 0

APOC-III を標的とする修飾 ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ             | CM             | 配列番号 |
|---------|--|--------------------------------------|----------------|------|
| 304801  | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>   | 該当なし                                 | 該当なし           | 821  |
| 647535  | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 822  |
| 663083  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup><br>C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>               | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 837  |
| 674449  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup><br>C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>               | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 837  |
| 674450  | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 837  |
| 674451  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 837  |

10

20

## 【1064】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示され、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>は、実施例39に示され、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>は、実施例48に示され、GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>は、実施例46に示され、GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>は、実施例62に示される。

処理

## 【1065】

ヒトAPOC-IIIを発現する6～8週齢のトランスジェニックマウスのそれぞれに、表70に列記されるオリゴヌクレオチドまたはPBSを1回皮下注入した。各処理群は、3匹の動物からなった。投薬前に血液を採取して、ベースライン、ならびに投与後72時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、及び6週間時点のレベルを決定した。実施例20に記載されるように、血漿トリグリセリド及びAPOC-IIIタンパク質レベルを測定した。以下の結果は、ベースラインレベルに対して標準化された各処理群の血漿トリグリセリド及びAPOC-IIIレベルの平均パーセントとして提示され、親オリゴヌクレオチドの投与量がGalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドの投与量の3倍であったにもかかわらず、GalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドが共役基を有しない親オリゴヌクレオチド(ISIS 304801)よりも長い作用持続時間を示したことを示す。

30

## 【1066】

40

50



## 【表 6 0 - 1】

表 7 1

トランスジェニックマウスにおける血漿トリグリセリド及びAPOC-IIIタンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | 時 点 (投<br>与後の日<br>数) | トリグリセ<br>リド(%ベー<br>スライン) | APOC-III タ<br>ンパク質(%<br>ベースライ<br>ン) | GalNAc <sub>3</sub> ク<br>ラスター | CM             |
|---------|------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------|
| PBS     | 該当なし             | 3                    | 97                       | 102                                 | 該当なし                          | 該当なし           |
|         |                  | 7                    | 101                      | 98                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 108                      | 98                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 107                      | 107                                 |                               |                |
|         |                  | 28                   | 94                       | 91                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 88                       | 90                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 91                       | 105                                 |                               |                |
| 304801  | 30               | 3                    | 40                       | 34                                  | 該当なし                          | 該当なし           |
|         |                  | 7                    | 41                       | 37                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 50                       | 57                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 50                       | 50                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 57                       | 73                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 68                       | 70                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 75                       | 93                                  |                               |                |
| 647535  | 10               | 3                    | 36                       | 37                                  | GalNAc <sub>3</sub> -1a       | A <sub>d</sub> |
|         |                  | 7                    | 39                       | 47                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 40                       | 45                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 41                       | 41                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 42                       | 62                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 69                       | 69                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 85                       | 102                                 |                               |                |
| 663083  | 10               | 3                    | 24                       | 18                                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|         |                  | 7                    | 28                       | 23                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 25                       | 27                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 28                       | 28                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 37                       | 44                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 55                       | 57                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 60                       | 78                                  |                               |                |

## 【 1 0 6 7】

10

20

30

40

50

【表 6 0 - 2】

|        |    |    |    |    |                          |                |
|--------|----|----|----|----|--------------------------|----------------|
| 674449 | 10 | 3  | 29 | 26 | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | A <sub>d</sub> |
|        |    | 7  | 32 | 31 |                          |                |
|        |    | 14 | 38 | 41 |                          |                |
|        |    | 21 | 44 | 44 |                          |                |
|        |    | 28 | 53 | 63 |                          |                |
|        |    | 35 | 69 | 77 |                          |                |
|        |    | 42 | 78 | 99 |                          |                |
| 674450 | 10 | 3  | 33 | 30 | GalNAc <sub>3</sub> -10a | A <sub>d</sub> |
|        |    | 7  | 35 | 34 |                          |                |
|        |    | 14 | 31 | 34 |                          |                |
|        |    | 21 | 44 | 44 |                          |                |
|        |    | 28 | 56 | 61 |                          |                |
|        |    | 35 | 68 | 70 |                          |                |
|        |    | 42 | 83 | 95 |                          |                |
| 674451 | 10 | 3  | 35 | 33 | GalNAc <sub>3</sub> -13a | A <sub>d</sub> |
|        |    | 7  | 24 | 32 |                          |                |
|        |    | 14 | 40 | 34 |                          |                |
|        |    | 21 | 48 | 48 |                          |                |
|        |    | 28 | 54 | 67 |                          |                |
|        |    | 35 | 65 | 75 |                          |                |
|        |    | 42 | 74 | 97 |                          |                |

10

20

実施例 80 : GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含む - 1 抗トリプシン (A1AT) を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

【1068】

以下の表 72 に列記されるオリゴヌクレオチドを、マウスにおける A1AT の用量依存的阻害試験において試験した。

30

【1069】

40

50

## 【表 6 1】

表 7 2

A1ATを標的とする修飾ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|---------|--|--------------------------|----------------|------|
| 476366  | A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub><br>G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>c</sub>  | 該当なし                     | 該当なし           | 838  |
| 656326  | A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub><br>G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>co</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>    | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> | 839  |
| 678381  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>c</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | A <sub>d</sub> | 840  |
| 678382  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>c</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | A <sub>d</sub> | 840  |
| 678383  | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>c</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -10a | A <sub>d</sub> | 840  |
| 678384  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>c</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -13a | A <sub>d</sub> | 840  |

## 【1070】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示され、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>は、実施例39に示され、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>は、実施例48に示され、GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>は、実施例46に示され、GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>は、実施例62に示される。

処理

## 【1071】

6週齢の雄C57BL/6マウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)のそれぞれに、表72に列記されるオリゴヌクレオチドまたはPBSを、以下に示される投与量で週1回、合計3回の投与で、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺した。リアルタイムPCR及びRIBOGREEN(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて、肝臓におけるA1AT mRNAレベルを決定した。マウス1-抗トリプシンELISA(カタログ番号41-A1AMS-E01、Alpco, Salem, NH)を用いて、A1AT血漿タンパク質レベルを決定した。以下の結果は、PBS対照に対して標準化された各処理群の肝臓におけるA1AT mRNA及び血漿タンパク質レベルの平均パーセントとして提示される。

## 【1072】

表73に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で肝臓におけるA1AT mRNA及びA1AT血漿タンパク質レベルを低下させた。GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドは、親(ISIS 476366)よりも著しく強力であった。

## 【1073】

10

20

30

40

50

## 【表 6 2】

表 7 3

肝臓における A 1 A T mRNA 及び血漿タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | 肝臓における<br>A1AT<br>mRNA(%PBS) | A1AT 血漿タ<br>ン パ ク 質<br>(%PBS) | GalNAc <sub>3</sub> クラ<br>スター | CM             |
|---------|------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|
| PBS     | 該当なし             | 100                          | 100                           | 該当なし                          | 該当なし           |
| 476366  | 5                | 86                           | 78                            | 該当なし                          | 該当なし           |
|         | 15               | 73                           | 61                            |                               |                |
|         | 45               | 30                           | 38                            |                               |                |
| 656326  | 0.6              | 99                           | 90                            | GalNAc <sub>3</sub> -1a       | A <sub>d</sub> |
|         | 2                | 61                           | 70                            |                               |                |
|         | 6                | 15                           | 30                            |                               |                |
|         | 18               | 6                            | 10                            |                               |                |
| 678381  | 0.6              | 105                          | 90                            | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|         | 2                | 53                           | 60                            |                               |                |
|         | 6                | 16                           | 20                            |                               |                |
|         | 18               | 7                            | 13                            |                               |                |
| 678382  | 0.6              | 90                           | 79                            | GalNAc <sub>3</sub> -7a       | A <sub>d</sub> |
|         | 2                | 49                           | 57                            |                               |                |
|         | 6                | 21                           | 27                            |                               |                |
|         | 18               | 8                            | 11                            |                               |                |
| 678383  | 0.6              | 94                           | 84                            | GalNAc <sub>3</sub> -10a      | A <sub>d</sub> |
|         | 2                | 44                           | 53                            |                               |                |
|         | 6                | 13                           | 24                            |                               |                |
|         | 18               | 6                            | 10                            |                               |                |
| 678384  | 0.6              | 106                          | 91                            | GalNAc <sub>3</sub> -13a      | A <sub>d</sub> |
|         | 2                | 65                           | 59                            |                               |                |
|         | 6                | 26                           | 31                            |                               |                |
|         | 18               | 11                           | 15                            |                               |                |

## 【 1 0 7 4 】

標準のプロトコルを用いて、殺時に血漿中の肝臓トランスアミナーゼ及び B U N レベルを測定した。体重及び臓器重量も測定した。結果が以下の表 7 4 に示される。体重は、ベースラインと比較した%として示される。臓器重量は、P B S 対照群と比較した体重の%として示される。

## 【 1 0 7 5 】

10

20

30

40

50

【表 6 3】

表 7 4

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | ALT(<br>U/L) | AST(<br>U/L) | BUN(m<br>g/dL) | 体重(%ベ<br>ースライ<br>ン) | 肝臓重量<br>(体重の相<br>対%) | 腎臓重量<br>(体重の相<br>対%) | 脾臓重<br>量<br>(体重の相<br>対%) |
|---------|----------------|--------------|--------------|----------------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|
| PBS     | 該当なし           | 25           | 51           | 37             | 119                 | 100                  | 100                  | 100                      |
| 476366  | 5              | 34           | 68           | 35             | 116                 | 91                   | 98                   | 106                      |
|         | 15             | 37           | 74           | 30             | 122                 | 92                   | 101                  | 128                      |
|         | 45             | 30           | 47           | 31             | 118                 | 99                   | 108                  | 123                      |
| 656326  | 0.6            | 29           | 57           | 40             | 123                 | 100                  | 103                  | 119                      |
|         | 2              | 36           | 75           | 39             | 114                 | 98                   | 111                  | 106                      |
|         | 6              | 32           | 67           | 39             | 125                 | 99                   | 97                   | 122                      |
|         | 18             | 46           | 77           | 36             | 116                 | 102                  | 109                  | 101                      |
| 678381  | 0.6            | 26           | 57           | 32             | 117                 | 93                   | 109                  | 110                      |
|         | 2              | 26           | 52           | 33             | 121                 | 96                   | 106                  | 125                      |
|         | 6              | 40           | 78           | 32             | 124                 | 92                   | 106                  | 126                      |
|         | 18             | 31           | 54           | 28             | 118                 | 94                   | 103                  | 120                      |
| 678382  | 0.6            | 26           | 42           | 35             | 114                 | 100                  | 103                  | 103                      |
|         | 2              | 25           | 50           | 31             | 117                 | 91                   | 104                  | 117                      |
|         | 6              | 30           | 79           | 29             | 117                 | 89                   | 102                  | 107                      |
|         | 18             | 65           | 112          | 31             | 120                 | 89                   | 104                  | 113                      |
| 678383  | 0.6            | 30           | 67           | 38             | 121                 | 91                   | 100                  | 123                      |
|         | 2              | 33           | 53           | 33             | 118                 | 98                   | 102                  | 121                      |
|         | 6              | 32           | 63           | 32             | 117                 | 97                   | 105                  | 105                      |
|         | 18             | 36           | 68           | 31             | 118                 | 99                   | 103                  | 108                      |
| 678384  | 0.6            | 36           | 63           | 31             | 118                 | 98                   | 103                  | 98                       |
|         | 2              | 32           | 61           | 32             | 119                 | 93                   | 102                  | 114                      |
|         | 6              | 34           | 69           | 34             | 122                 | 100                  | 100                  | 96                       |
|         | 18             | 28           | 54           | 30             | 117                 | 98                   | 101                  | 104                      |

10

20

30

実施例 8 1：生体内における G a l N A c 3 クラスターを含む A 1 A T を標的とするオリゴヌクレオチドの作用持続時間

【 1 0 7 6 】

表 7 2 に列記されるオリゴヌクレオチドを、単回投与試験においてマウスにおける作用持続時間について試験した。

処理

【 1 0 7 7 】

6 週齢の雄 C 5 7 B L / 6 マウスのそれぞれに、表 7 2 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは P B S を 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。投薬の前日に血液を採取して、ベースライン、ならびに投与後 5、12、19、及び 25 日時点のレベルを決定した。E L I S A を用いて血漿 A 1 A T タンパク質レベルを測定した（実施例 8 0 を参照のこと）。以下の結果は、ベースラインレベルに対して標準化された各処理群の血漿 A 1 A T タンパク質レベルの平均パーセントとして提示される。結果は、G a l N A c

40

50

共役体を含むオリゴヌクレオチドがGalNAc共役体を欠く親(ISIS 476366)よりも強力であり、かつより長い作用持続時間を有したことを示す。さらに、5'-GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチド(ISIS 678381、678382、678383、及び678384)は、概して、3'-GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチド(ISIS 656326)よりもさらに強力であり、さらに長い作用持続時間を有した。

【1078】

【表64】

表75

マウスにおける血漿A1ATタンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | 時点(投与後の日数) | A1AT(% ベースライン) | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             |
|---------|----------------|------------|----------------|--------------------------|----------------|
| PBS     | 該当なし           | 5          | 93             | 該当なし                     | 該当なし           |
|         |                | 12         | 93             |                          |                |
|         |                | 19         | 90             |                          |                |
|         |                | 25         | 97             |                          |                |
| 476366  | 100            | 5          | 38             | 該当なし                     | 該当なし           |
|         |                | 12         | 46             |                          |                |
|         |                | 19         | 62             |                          |                |
|         |                | 25         | 77             |                          |                |
| 656326  | 18             | 5          | 33             | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> |
|         |                | 12         | 36             |                          |                |
|         |                | 19         | 51             |                          |                |
|         |                | 25         | 72             |                          |                |
| 678381  | 18             | 5          | 21             | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | A <sub>d</sub> |
|         |                | 12         | 21             |                          |                |
|         |                | 19         | 35             |                          |                |
|         |                | 25         | 48             |                          |                |
| 678382  | 18             | 5          | 21             | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | A <sub>d</sub> |
|         |                | 12         | 21             |                          |                |
|         |                | 19         | 39             |                          |                |
|         |                | 25         | 60             |                          |                |
| 678383  | 18             | 5          | 24             | GalNAc <sub>3</sub> -10a | A <sub>d</sub> |
|         |                | 12         | 21             |                          |                |
|         |                | 19         | 45             |                          |                |
|         |                | 25         | 73             |                          |                |
| 678384  | 18             | 5          | 29             | GalNAc <sub>3</sub> -13a | A <sub>d</sub> |
|         |                | 12         | 34             |                          |                |
|         |                | 19         | 57             |                          |                |
|         |                | 25         | 76             |                          |                |

実施例82: GalNAc<sub>3</sub>共役体を含むSRB-1を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体外におけるアンチセンス阻害

【1079】

処理の2時間前に、初代マウス肝細胞を15,000細胞/ウェルで96ウェルプレート

に播種した。表 7 6 に列記されるオリゴヌクレオチドをウィリアム E 培地に 2、10、50、または 250 nM で添加し、細胞を 37、5% CO<sub>2</sub> で一晩インキュベートした。オリゴヌクレオチド添加の 16 時間後に細胞を溶解し、RNease 3000 Bio Robot (Qiagen) を用いて全 RNA を精製した。リアルタイム PCR 及び RIBOGREEN (登録商標) RNA 定量化試薬 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) を用いて、SRB-1 mRNA レベルを標準のプロトコルに従って決定した。Prism 4 ソフトウェア (GraphPad) を用いて、IC<sub>50</sub> 値を決定した。結果は、さまざまな異なる GalNAc 共役基及びさまざまな異なる切断可能部分を含むオリゴヌクレオチドが、生体外自由取り込み実験において、GalNAc 共役基を欠く親オリゴヌクレオチド (ISIS 353382 及び 666841) よりも著しく強力であることを示す。

10

【1080】

20

30

40

50

## 【表 6 5 - 1】

表 7 6

生体外におけるSRB-1発現の阻害

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | 結合    | GalNAc クラスタ                         | CM             | IC <sub>50</sub> (nM) | 配列番号 |
|---------|---|-------|-------------------------------------|----------------|-----------------------|------|
| 353382  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | PS    | 該当なし                                | 該当なし           | 250                   | 829  |
| 655861  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>   | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 40                    | 830  |
| 661161  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 40                    | 831  |
| 661162  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | PO/PS | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 8                     | 831  |
| 664078  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -9 <sub>a</sub>   | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -9 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 20                    | 830  |
| 665001  | GalNAc <sub>3</sub> -8 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> -A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -8 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 70                    | 831  |
| 666224  | GalNAc <sub>3</sub> -5 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -5 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 80                    | 831  |
| 666841  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>  | PO/PS | 該当なし                                | 該当なし           | >250                  | 829  |

## 【1081】

10

20

30

40

50



【表 6 5 - 2】

|        |   |       |                                      |                |     |     |
|--------|---|-------|--------------------------------------|----------------|-----|-----|
| 666881 | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub><br>T <sub>e</sub> | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 30  | 831 |
| 666904 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                     | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | PO             | 9   | 829 |
| 666924 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·T <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>     | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | T <sub>d</sub> | 15  | 834 |
| 666961 | GalNAc <sub>3</sub> -6 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub><br>T <sub>e</sub>  | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -6 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 150 | 831 |
| 666981 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub><br>T <sub>e</sub>  | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 20  | 831 |
| 670061 | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>    | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 30  | 831 |
| 670699 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·T <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>     | PO/PS | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | T <sub>d</sub> | 15  | 834 |
| 670700 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> ·A <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>     | PO/PS | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | A <sub>e</sub> | 30  | 831 |

【 1 0 8 2 】

10

20

30

40

50

【表 6 5 - 3】

|        |  |       |                                      |                |      |     |
|--------|--|-------|--------------------------------------|----------------|------|-----|
| 670701 | $\text{GalNAC}_3\text{-3}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$             | PO/PS | GalNAC <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | T <sub>e</sub> | 25   | 834 |
| 671144 | $\text{GalNAC}_3\text{-12}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$<br>$\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$ | PS    | GalNAC <sub>3</sub> -12 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 40   | 831 |
| 671165 | $\text{GalNAC}_3\text{-13}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{A}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}$                                   | PO/PS | GalNAC <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 8    | 831 |
| 671261 | $\text{GalNAC}_3\text{-14}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$<br>$\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$ | PS    | GalNAC <sub>3</sub> -14 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | >250 | 831 |
| 671262 | $\text{GalNAC}_3\text{-15}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$<br>$\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$ | PS    | GalNAC <sub>3</sub> -15 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | >250 | 831 |
| 673501 | $\text{GalNAC}_3\text{-7}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}$<br>$\text{T}_{\text{e}}$             | PO/PS | GalNAC <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 30   | 831 |
| 673502 | $\text{GalNAC}_3\text{-10}_a\text{-o'}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}\text{A}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$<br>$\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$             | PO/PS | GalNAC <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 8    | 831 |

【 1 0 8 3 】

10

20

30

40

50

【表 6 5 - 4】

|        |  |    |                                      |                |    |     |
|--------|--|----|--------------------------------------|----------------|----|-----|
| 675441 | GalNAc <sub>3</sub> -17 <sub>a</sub> -o-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | PS | GalNAc <sub>3</sub> -17 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 30 | 831 |
| 675442 | GalNAc <sub>3</sub> -18 <sub>a</sub> -o-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | PS | GalNAc <sub>3</sub> -18 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 20 | 831 |
| 677841 | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub>    | PS | GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 40 | 830 |
| 677842 | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -20 <sub>a</sub>    | PS | GalNAc <sub>3</sub> -20 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 30 | 830 |
| 677843 | GalNAc <sub>3</sub> -23 <sub>a</sub> -o-A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | PS | GalNAc <sub>3</sub> -23 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 40 | 831 |

10

20

## 【1084】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示され、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>は、実施例39に示され、GalNAc<sub>3</sub>-5<sub>a</sub>は、実施例49に示され、GalNAc<sub>3</sub>-6<sub>a</sub>は、実施例51に示され、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>は、実施例48に示され、GalNAc<sub>3</sub>-8<sub>a</sub>は、実施例47に示され、GalNAc<sub>3</sub>-9<sub>a</sub>は、実施例52に示され、GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>は、実施例46に示され、GalNAc<sub>3</sub>-12<sub>a</sub>は、実施例61に示され、GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>は、実施例62に示され、GalNAc<sub>3</sub>-14<sub>a</sub>は、実施例63に示され、GalNAc<sub>3</sub>-15<sub>a</sub>は、実施例64に示され、GalNAc<sub>3</sub>-17<sub>a</sub>は、実施例68に示され、GalNAc<sub>3</sub>-18<sub>a</sub>は、実施例69に示され、GalNAc<sub>3</sub>-19<sub>a</sub>は、実施例70に示され、GalNAc<sub>3</sub>-20<sub>a</sub>は、実施例71に示され、GalNAc<sub>3</sub>-23<sub>a</sub>は、実施例76に示される。

30

実施例83：GalNAc<sub>3</sub>クラスターを含む、第XI因子を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

40

## 【1085】

以下の表77に列記されるオリゴヌクレオチドを、マウスにおける第XI因子の用量依存的阻害試験において試験した。

## 【1086】

50

## 【表 6 6】

表 7 7

第 X I 因子を標的とする修飾オリゴヌクレオチド

| ISIS 番号    | 配列(5'から3')   | GalNAc クラスタ                          | CM             | 配列番号 |
|------------|--|--------------------------------------|----------------|------|
| 40407<br>1 | T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub><br>A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>  | 該当なし                                 | 該当なし           | 833  |
| 65617<br>3 | T <sub>es</sub> G <sub>co</sub> G <sub>co</sub> T <sub>co</sub> A <sub>co</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>co</sub> G <sub>co</sub><br>A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>co</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>    | GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 841  |
| 66308<br>6 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>co</sub> G <sub>co</sub> T <sub>co</sub> A <sub>co</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>co</sub> G <sub>co</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 841  |
| 67834<br>7 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>co</sub> G <sub>co</sub> T <sub>co</sub> A <sub>co</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>co</sub> G <sub>co</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 841  |
| 67834<br>8 | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>co</sub> G <sub>co</sub> T <sub>co</sub> A <sub>co</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>co</sub> G <sub>co</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 841  |
| 67834<br>9 | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> G <sub>co</sub> G <sub>co</sub> T <sub>co</sub> A <sub>co</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>co</sub> G <sub>co</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 841  |

## 【1087】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示され、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>は、実施例39に示され、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>は、実施例48に示され、GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>は、実施例46に示され、GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>は、実施例62に示される。

処理

## 【1088】

6～8週齢のマウスのそれぞれに、以下に列記されるオリゴヌクレオチドまたはPBSを、以下に示される投与量で週1回、合計3回の投与で、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺した。リアルタイムPCRを用いて肝臓における第XI因子mRNAレベルを測定し、標準のプロトコルに従ってシクロフィリンに対して標準化した。肝臓トランスアミナーゼ、BUN、及びビリルビンも測定した。以下の結果は、PBS対照に対して標準化された各処理群の平均パーセントとして提示される。

## 【1089】

表78に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で肝臓における第XI因子mRNAを低下させた。結果は、GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドが、GalNAc共役体を欠く親(ISIS 404071)よりも強力であったことを示す。さらに、5'-GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチド(ISIS 663086、678347、678348、及び678349)は、3'-GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチド(ISIS 656173)よりもさらに強力であった。

## 【1090】

10

20

30

40

50

【表 6 7】

表 7 8

肝臓における第X I 因子mRNA、肝臓トランスアミナーゼ、BUN、及びビリルビンレベル

| ISIS<br>番号 | 投与量<br>(mg/kg) | 第 X I 因 子<br>mRNA(%PBS) | ALT(<br>U/L) | AST(<br>U/L) | BUN(m<br>g/dL) | ビ リ ル<br>ビ ン<br>(mg/dL) | GalNAc <sub>3</sub><br>クラスター | 配 列 番<br>号 |
|------------|----------------|-------------------------|--------------|--------------|----------------|-------------------------|------------------------------|------------|
| PBS        | 該当なし           | 100                     | 63           | 70           | 21             | 0.18                    | 該当なし                         | 該当なし       |
| 4040<br>71 | 3              | 65                      | 41           | 58           | 21             | 0.15                    | 該当なし                         | 832        |
|            | 10             | 33                      | 49           | 53           | 23             | 0.15                    |                              |            |
|            | 30             | 17                      | 43           | 57           | 22             | 0.14                    |                              |            |
| 6561<br>73 | 0.7            | 43                      | 90           | 89           | 21             | 0.16                    | GalNAc <sub>3</sub> -<br>1a  | 833        |
|            | 2              | 9                       | 36           | 58           | 26             | 0.17                    |                              |            |
|            | 6              | 3                       | 50           | 63           | 25             | 0.15                    |                              |            |
| 6630<br>86 | 0.7            | 33                      | 91           | 169          | 25             | 0.16                    | GalNAc <sub>3</sub> -<br>3a  | 841        |
|            | 2              | 7                       | 38           | 55           | 21             | 0.16                    |                              |            |
|            | 6              | 1                       | 34           | 40           | 23             | 0.14                    |                              |            |
| 6783<br>47 | 0.7            | 35                      | 28           | 49           | 20             | 0.14                    | GalNAc <sub>3</sub> -<br>7a  | 841        |
|            | 2              | 10                      | 180          | 149          | 21             | 0.18                    |                              |            |
|            | 6              | 1                       | 44           | 76           | 19             | 0.15                    |                              |            |
| 6783<br>48 | 0.7            | 39                      | 43           | 54           | 21             | 0.16                    | GalNAc <sub>3</sub> -<br>10a | 841        |
|            | 2              | 5                       | 38           | 55           | 22             | 0.17                    |                              |            |
|            | 6              | 2                       | 25           | 38           | 20             | 0.14                    |                              |            |
| 6783<br>49 | 0.7            | 34                      | 39           | 46           | 20             | 0.16                    | GalNAc <sub>3</sub> -<br>13a | 841        |
|            | 2              | 8                       | 43           | 63           | 21             | 0.14                    |                              |            |
|            | 6              | 2                       | 28           | 41           | 20             | 0.14                    |                              |            |

実施例 8 4 : G a l N A c<sub>3</sub> 共役体を含む第 X I 因子を標的とするオリゴヌクレオチドの生体内における作用持続時間

## 【 1 0 9 1】

表 7 7 に列記されるオリゴヌクレオチドを、単回投与試験においてマウスにおける作用持続時間について試験した。

処理

## 【 1 0 9 2】

6 ~ 8 週齢のマウスのそれぞれに、表 7 7 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは P B S を 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。投薬の前日に尾採血によって血液を採取して、ベースライン、ならびに投与後 3、10、及び 17 日間時点のレベルを決定した。R & D Systems (Minneapolis, MN) の第 X I 因子捕捉及びビオチン化検出抗体 (それぞれ、カタログ番号 A F 2 4 6 0 及び B A F 2 4 6 0)、ならびに O p t E I A 試薬セット B (カタログ番号 5 5 0 5 3 4、B D Biosciences, San Jose, CA) を用いて、第 X I 因子血漿タンパク質レベルを E L I S A によって測定した。以下の結果は、ベースラインレベルに対して標準化された各処理群の第 X I 因子血漿タンパク質レベルの平均パーセントとして提示される。結果は、G a l N A c 共役体を含むオリゴヌクレオチドが、G a l N A c 共役体を欠く親 (I S I S 4 0 4 0 7 1) よりも強力であり、より長い作用持続時間を有したことを示す。さら

に、5'-GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチド(ISIS 663086、678347、678348、及び678349)は、3'-GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチド(ISIS 656173)よりもさらに強力であり、さらに長い作用持続時間を有した。

【1093】

【表68】

表79

マウスにおける第XI因子血漿タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | 時点(投与後の<br>日数) | 第XI因子(%ベ<br>ースライン) | GalNAc <sub>3</sub> クラス<br>ター | CM             | 配列番<br>号 |
|---------|----------------|----------------|--------------------|-------------------------------|----------------|----------|
| PBS     | 該当なし           | 3              | 123                | 該当なし                          | 該当<br>なし       | 該当な<br>し |
|         |                | 10             | 56                 |                               |                |          |
|         |                | 17             | 100                |                               |                |          |
| 404071  | 30             | 3              | 11                 | 該当なし                          | 該当<br>なし       | 832      |
|         |                | 10             | 47                 |                               |                |          |
|         |                | 17             | 52                 |                               |                |          |
| 656173  | 6              | 3              | 1                  | GalNAc <sub>3</sub> -1a       | A <sub>d</sub> | 833      |
|         |                | 10             | 3                  |                               |                |          |
|         |                | 17             | 21                 |                               |                |          |
| 663086  | 6              | 3              | 1                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> | 841      |
|         |                | 10             | 2                  |                               |                |          |
|         |                | 17             | 9                  |                               |                |          |
| 678347  | 6              | 3              | 1                  | GalNAc <sub>3</sub> -7a       | A <sub>d</sub> | 841      |
|         |                | 10             | 1                  |                               |                |          |
|         |                | 17             | 8                  |                               |                |          |
| 678348  | 6              | 3              | 1                  | GalNAc <sub>3</sub> -10a      | A <sub>d</sub> | 841      |
|         |                | 10             | 1                  |                               |                |          |
|         |                | 17             | 6                  |                               |                |          |
| 678349  | 6              | 3              | 1                  | GalNAc <sub>3</sub> -13a      | A <sub>d</sub> | 841      |
|         |                | 10             | 1                  |                               |                |          |
|         |                | 17             | 5                  |                               |                |          |

実施例85：GalNAc<sub>3</sub>共役体を含む、SRB-1を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

【1094】

表76に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおけるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。

処理

【1095】

6～8週齢のC57BL/6マウスのそれぞれに、表76に列記されるオリゴヌクレオチドまたは生理食塩水を、以下に示される投与量で週1回、合計3回の投与で、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の48時間後にマウスを殺して、リアルタイムPCR及びRIBOGREEN(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて、SRB-1 mRNAレベルを決定した。以下の結果は、生理食塩水(対照)に対して標準化された各処理群の肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。

【 1 0 9 6 】

表 8 0 及び 8 1 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で S R B - 1 m R N A レベルを低下させた。

【 1 0 9 7 】

【表 6 9 】

表 8 0

肝臓における S R B - 1 m R N A

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1 mRNA(%生理食塩水) | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | CM             |
|--------|------------|--------------------|---------------------------|----------------|
| 生理食塩水  | 該当なし       | 100                | 該当なし                      | 該当なし           |
| 655861 | 0.1        | 94                 | GalNAc <sub>3</sub> -1a   | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 119                |                           |                |
|        | 1          | 68                 |                           |                |
|        | 3          | 32                 |                           |                |
| 661161 | 0.1        | 120                | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 107                |                           |                |
|        | 1          | 68                 |                           |                |
|        | 3          | 26                 |                           |                |
| 666881 | 0.1        | 107                | GalNAc <sub>3</sub> -10a  | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 107                |                           |                |
|        | 1          | 69                 |                           |                |
|        | 3          | 27                 |                           |                |
| 666981 | 0.1        | 120                | GalNAc <sub>3</sub> -7a   | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 103                |                           |                |
|        | 1          | 54                 |                           |                |
|        | 3          | 21                 |                           |                |
| 670061 | 0.1        | 118                | GalNAc <sub>3</sub> -13a  | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 89                 |                           |                |
|        | 1          | 52                 |                           |                |
|        | 3          | 18                 |                           |                |
| 677842 | 0.1        | 119                | GalNAc <sub>3</sub> -20a  | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 96                 |                           |                |
|        | 1          | 65                 |                           |                |
|        | 3          | 23                 |                           |                |

【 1 0 9 8 】

10

20

30

40

50

## 【表 7 0】

表 8 1

肝臓におけるSRB-1 mRNA

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1 mRNA(%生理食塩水) | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | CM             |
|--------|------------|--------------------|---------------------------|----------------|
| 661161 | 0.1        | 107                | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 95                 |                           |                |
|        | 1          | 53                 |                           |                |
|        | 3          | 18                 |                           |                |
| 677841 | 0.1        | 110                | GalNAc <sub>3</sub> -19a  | A <sub>d</sub> |
|        | 0.3        | 88                 |                           |                |
|        | 1          | 52                 |                           |                |
|        | 3          | 25                 |                           |                |

10

## 【1 0 9 9】

標準のプロトコルを用いて、肝臓トランスアミナーゼレベル、総ビリルビン、BUN、及び体重も測定した。各処理群の平均値が以下の表 8 2 に示される。

20

## 【1 1 0 0】

30

40

50



【表 7 1】

表 8 2

| ISIS 番号   | 投与量<br>(mg/kg) | ALT(<br>U/L) | AST(<br>U/L) | ビリル<br>ビン<br>(mg/dL) | BUN(m<br>g/dL) | 体重(%ベ<br>ースライ<br>ン) | GalNAc <sub>3</sub> ク<br>ラスター | CM             |
|-----------|----------------|--------------|--------------|----------------------|----------------|---------------------|-------------------------------|----------------|
| 生理食<br>塩水 | 該当な<br>し       | 19           | 39           | 0.17                 | 26             | 118                 | 該当なし                          | 該 当<br>なし      |
| 655861    | 0.1            | 25           | 47           | 0.17                 | 27             | 114                 | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>a   | A <sub>d</sub> |
|           | 0.3            | 29           | 56           | 0.15                 | 27             | 118                 |                               |                |
|           | 1              | 20           | 32           | 0.14                 | 24             | 112                 |                               |                |
|           | 3              | 27           | 54           | 0.14                 | 24             | 115                 |                               |                |
| 661161    | 0.1            | 35           | 83           | 0.13                 | 24             | 113                 | GalNAc <sub>3</sub> -3<br>a   | A <sub>d</sub> |
|           | 0.3            | 42           | 61           | 0.15                 | 23             | 117                 |                               |                |
|           | 1              | 34           | 60           | 0.18                 | 22             | 116                 |                               |                |
|           | 3              | 29           | 52           | 0.13                 | 25             | 117                 |                               |                |
| 666881    | 0.1            | 30           | 51           | 0.15                 | 23             | 118                 | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>0a  | A <sub>d</sub> |
|           | 0.3            | 49           | 82           | 0.16                 | 25             | 119                 |                               |                |
|           | 1              | 23           | 45           | 0.14                 | 24             | 117                 |                               |                |
|           | 3              | 20           | 38           | 0.15                 | 21             | 112                 |                               |                |
| 666981    | 0.1            | 21           | 41           | 0.14                 | 22             | 113                 | GalNAc <sub>3</sub> -7<br>a   | A <sub>d</sub> |
|           | 0.3            | 29           | 49           | 0.16                 | 24             | 112                 |                               |                |
|           | 1              | 19           | 34           | 0.15                 | 22             | 111                 |                               |                |
|           | 3              | 77           | 78           | 0.18                 | 25             | 115                 |                               |                |
| 670061    | 0.1            | 20           | 63           | 0.18                 | 24             | 111                 | GalNAc <sub>3</sub> -1<br>3a  | A <sub>d</sub> |
|           | 0.3            | 20           | 57           | 0.15                 | 21             | 115                 |                               |                |
|           | 1              | 20           | 35           | 0.14                 | 20             | 115                 |                               |                |
|           | 3              | 27           | 42           | 0.12                 | 20             | 116                 |                               |                |
| 677842    | 0.1            | 20           | 38           | 0.17                 | 24             | 114                 | GalNAc <sub>3</sub> -2<br>0a  | A <sub>d</sub> |
|           | 0.3            | 31           | 46           | 0.17                 | 21             | 117                 |                               |                |
|           | 1              | 22           | 34           | 0.15                 | 21             | 119                 |                               |                |
|           | 3              | 41           | 57           | 0.14                 | 23             | 118                 |                               |                |

実施例 8 6 : GalNAc<sub>3</sub>クラスターを含む、TTRを標的とするオリゴヌクレオチドの生体内におけるアンチセンス阻害

## 【 1 1 0 1】

以下の表 8 3 に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてヒト TTR 遺伝子を発現するトランスジェニックマウスにおけるヒトトランスサイレチン (TTR) のアンチセンス阻害について試験した。

処理

## 【 1 1 0 2】

8 週齢の TTR トランスジェニックマウスのそれぞれに、以下の表に列記されるオリゴヌクレオチド及び投与量または PBS を、週 1 回 3 週間、合計 3 回の投与で、皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。最終投与の 7 2 時間後にマウスを殺した。この実験を通してさまざまな時点で尾採血を実行し、血漿 TTR タンパク質、ALT、及び AST レベルを測定し、表 8 5 ~ 8 7 に報告した。動物を殺した後、血漿 ALT、AST

、及びヒトTTRレベルを測定し、体重、臓器重量、及び肝臓におけるヒトTTR mRNAレベルも測定した。臨床分析器（AU480、Beckman Coulter, CA）を用いて、TTRタンパク質レベルを測定した。標準のプロトコルに従ってリアルタイムPCR及びRIBOGREEN（登録商標）RNA定量化試薬（Molecular Probes, Inc. Eugene, OR）を用いて、肝臓におけるヒトTTR mRNAレベルを決定した。表84～87に提示される結果は、各処理群の平均値である。mRNAレベルは、PBS群の平均と比較した平均値である。血漿タンパク質レベルは、ベースラインでのPBS群の平均値と比較した平均値である。体重は、個々の処理群それぞれを 殺するまでのベースラインからの平均体重変化率である。示される臓器重量は、動物の体重に対して標準化されており、各処理群の平均標準化臓器重量は、PBS群の平均標準化臓器重量との比較で提示される。

10

## 【1103】

表84～87において、「BL」は、第1の投与の直前に測定したベースラインを示す。表84及び85に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でTTR発現レベルを低下させた。GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドは、GalNAc共役体を欠く親（ISIS 420915）よりも強力であった。さらに、GalNAc共役体及び混成PS/POヌクレオシド間連結部を含むオリゴヌクレオチドは、GalNAc共役体及び完全PS連結部を含むオリゴヌクレオチドよりもさらに強力であった。

## 【1104】

20

## 【表72】

表83

ヒトTTRを標的とするオリゴヌクレオチド

| ISIS番号 | 配列5'から3'   | 結合    | GalNAc クラスタ                          | CM             | 配列番号 |
|--------|--|-------|--------------------------------------|----------------|------|
| 420915 | $T_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$                             | PS    | 該当なし                                 | 該当なし           | 842  |
| 660261 | $T_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{eo} A_{do}^m - GalNAc_3-1_a$  | PS    | GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 843  |
| 682883 | $GalNAc_3-3_{a-o} T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$            | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | PO             | 842  |
| 682884 | $GalNAc_3-7_{a-o} T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$            | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub>  | PO             | 842  |
| 682885 | $GalNAc_3-10_{a-o} T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$           | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a</sub> | PO             | 842  |
| 682886 | $GalNAc_3-13_{a-o} T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$           | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | PO             | 842  |
| 684057 | $T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{eo} A_{do}^m - GalNAc_3-19_a$ | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 843  |

30

40

## 【1105】

表85の説明文を実施例74で見つけることができる。GalNAc<sub>3</sub>-1の構造は、実施例9に示される。GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>の構造は、実施例39に示される。GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>の構造は、実施例48に示される。GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>の構造は、実施例46に示される。GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>の構造は、実施例62に示される。GalNAc<sub>3</sub>-19<sub>a</sub>の構造は、実施例70に示される。

## 【1106】

50

## 【表 7 3】

表 8 4

生体内におけるヒトTTRのアンチセンス阻害

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | TTR<br>mRNA(%PBS) | 血漿TTRタンパ<br>ク質(%PBS) | GalNAcクラス<br>ター         | CM             | 配列<br>番号 |
|--------|------------|-------------------|----------------------|-------------------------|----------------|----------|
| PBS    | 該当なし       | 100               | 100                  | 該当なし                    | 該 当<br>なし      |          |
| 420915 | 6          | 99                | 95                   | 該当なし                    | 該 当<br>なし      | 842      |
|        | 20         | 48                | 65                   |                         |                |          |
|        | 60         | 18                | 28                   |                         |                |          |
| 660261 | 0.6        | 113               | 87                   | GalNAc <sub>3</sub> -1a | A <sub>d</sub> | 843      |
|        | 2          | 40                | 56                   |                         |                |          |
|        | 6          | 20                | 27                   |                         |                |          |
|        | 20         | 9                 | 11                   |                         |                |          |

10

## 【 1 1 0 7 】

20

30

40

50

## 【表 7 4】

表 8 5

生体内におけるヒトTTRのアンチセンス阻害

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | TTR<br>mRNA(%PBS) | 血漿TTRタンパク質(BLでの%PBS) |     |      |           | GalNAcクラスター              | CM             | 配列番号 |
|---------|----------------|-------------------|----------------------|-----|------|-----------|--------------------------|----------------|------|
|         |                |                   | BL                   | 3日目 | 10日目 | 17日目(屠殺後) |                          |                |      |
| PBS     | 該当なし           | 100               | 100                  | 96  | 90   | 114       | 該当なし                     | 該当なし           |      |
| 420915  | 6              | 74                | 106                  | 86  | 76   | 83        | 該当なし                     | 該当なし           | 842  |
|         | 20             | 43                | 102                  | 66  | 61   | 58        |                          |                |      |
|         | 60             | 24                | 92                   | 43  | 29   | 32        |                          |                |      |
| 682883  | 0.6            | 60                | 88                   | 73  | 63   | 68        | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | PO             | 842  |
|         | 2              | 18                | 75                   | 38  | 23   | 23        |                          |                |      |
|         | 6              | 10                | 80                   | 35  | 11   | 9         |                          |                |      |
| 682884  | 0.6            | 56                | 88                   | 78  | 63   | 67        | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 842  |
|         | 2              | 19                | 76                   | 44  | 25   | 23        |                          |                |      |
|         | 6              | 15                | 82                   | 35  | 21   | 24        |                          |                |      |
| 682885  | 0.6            | 60                | 92                   | 77  | 68   | 76        | GalNAc <sub>3</sub> -10a | PO             | 842  |
|         | 2              | 22                | 93                   | 58  | 32   | 32        |                          |                |      |
|         | 6              | 17                | 85                   | 37  | 25   | 20        |                          |                |      |
| 682886  | 0.6            | 57                | 91                   | 70  | 64   | 69        | GalNAc <sub>3</sub> -13a | PO             | 842  |
|         | 2              | 21                | 89                   | 50  | 31   | 30        |                          |                |      |
|         | 6              | 18                | 102                  | 41  | 24   | 27        |                          |                |      |
| 684057  | 0.6            | 53                | 80                   | 69  | 56   | 62        | GalNAc <sub>3</sub> -19a | A <sub>d</sub> | 843  |
|         | 2              | 21                | 92                   | 55  | 34   | 30        |                          |                |      |
|         | 6              | 11                | 82                   | 50  | 18   | 13        |                          |                |      |

【 1 1 0 8 】

10

20

30

40

50

## 【表 7 5】

表 8 6

トランスアミナーゼレベル、体重変化、及び相対臓器重量

| ISIS<br>番号 | 投<br>与<br>量<br>(mg<br>/kg) | ALT(U/L) |         |              |              | AST(U/L) |         |              |              | 体 重<br>(%B<br>L) | 肝 臓<br>(%P<br>BS) | 脾<br>臓<br>(%P<br>BS) | 腎<br>臓<br>(%<br>PB<br>S) | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|----------------------------|----------|---------|--------------|--------------|----------|---------|--------------|--------------|------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|------------------|
|            |                            | BL       | 3日<br>目 | 10<br>日<br>目 | 17<br>日<br>目 | BL       | 3日<br>目 | 10<br>日<br>目 | 17<br>日<br>目 |                  |                   |                      |                          |                  |
| PBS        | 該<br>当<br>な<br>し           | 33       | 34      | 33           | 24           | 58       | 62      | 67           | 52           | 105              | 100               | 100                  | 100                      | 該<br>当<br>な<br>し |
| 420<br>915 | 6                          | 34       | 33      | 27           | 21           | 64       | 59      | 73           | 47           | 115              | 99                | 89                   | 91                       | 842              |
|            | 20                         | 34       | 30      | 28           | 19           | 64       | 54      | 56           | 42           | 111              | 97                | 83                   | 89                       |                  |
|            | 60                         | 34       | 35      | 31           | 24           | 61       | 58      | 71           | 58           | 113              | 102               | 98                   | 95                       |                  |
| 660<br>261 | 0.6                        | 33       | 38      | 28           | 26           | 70       | 71      | 63           | 59           | 111              | 96                | 99                   | 92                       | 843              |
|            | 2                          | 29       | 32      | 31           | 34           | 61       | 60      | 68           | 61           | 118              | 100               | 92                   | 90                       |                  |
|            | 6                          | 29       | 29      | 28           | 34           | 58       | 59      | 70           | 90           | 114              | 99                | 97                   | 95                       |                  |
|            | 20                         | 33       | 32      | 28           | 33           | 64       | 54      | 68           | 95           | 114              | 101               | 106                  | 92                       |                  |

10

20

## 【 1 1 0 9 】

30

40

50

【表 7 6】

表 8 7

トランスアミナーゼレベル、体重変化、及び相対臓器重量

| ISI<br>S<br>番号 | 投<br>与<br>量<br>(mg<br>/kg) | ALT(U/L) |         |              |              | AST(U/L) |         |              |              | 体 重<br>(%B<br>L) | 肝 臓<br>(%P<br>BS) | 脾 臓<br>(%PB<br>S) | 腎 臓<br>(%P<br>BS) | 配<br>列<br>番<br>号 |
|----------------|----------------------------|----------|---------|--------------|--------------|----------|---------|--------------|--------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|                |                            | BL       | 3日<br>目 | 10<br>日<br>目 | 17<br>日<br>目 | BL       | 3日<br>目 | 10<br>日<br>目 | 17<br>日<br>目 |                  |                   |                   |                   |                  |
| PB<br>S        | 該<br>当<br>な<br>し           | 32       | 34      | 37           | 41           | 62       | 78      | 76           | 77           | 104              | 100               | 100               | 100               | 該<br>当<br>な<br>し |
| 42             | 6                          | 32       | 30      | 34           | 34           | 61       | 71      | 72           | 66           | 102              | 103               | 102               | 105               | 84<br>2          |
| 09             | 20                         | 41       | 34      | 37           | 33           | 80       | 76      | 63           | 54           | 106              | 107               | 135               | 101               |                  |
| 15             | 60                         | 36       | 30      | 32           | 34           | 58       | 81      | 57           | 60           | 106              | 105               | 104               | 99                |                  |
| 68             | 0.6                        | 32       | 35      | 38           | 40           | 53       | 81      | 74           | 76           | 104              | 101               | 112               | 95                | 84<br>2          |
| 28             | 2                          | 38       | 39      | 42           | 43           | 71       | 84      | 70           | 77           | 107              | 98                | 116               | 99                |                  |
| 83             | 6                          | 35       | 35      | 41           | 38           | 62       | 79      | 103          | 65           | 105              | 103               | 143               | 97                |                  |
| 68             | 0.6                        | 33       | 32      | 35           | 34           | 70       | 74      | 75           | 67           | 101              | 100               | 130               | 99                | 84<br>2          |
| 28             | 2                          | 31       | 32      | 38           | 38           | 63       | 77      | 66           | 55           | 104              | 103               | 122               | 100               |                  |
| 84             | 6                          | 38       | 32      | 36           | 34           | 65       | 85      | 80           | 62           | 99               | 105               | 129               | 95                |                  |
| 68             | 0.6                        | 39       | 26      | 37           | 35           | 63       | 63      | 77           | 59           | 100              | 109               | 109               | 112               | 84<br>2          |
| 28             | 2                          | 30       | 26      | 38           | 40           | 54       | 56      | 71           | 72           | 102              | 98                | 111               | 102               |                  |
| 85             | 6                          | 27       | 27      | 34           | 35           | 46       | 52      | 56           | 64           | 102              | 98                | 113               | 96                |                  |
| 68             | 0.6                        | 30       | 40      | 34           | 36           | 58       | 87      | 54           | 61           | 104              | 99                | 120               | 101               | 84<br>2          |
| 28             | 2                          | 27       | 26      | 34           | 36           | 51       | 55      | 55           | 69           | 103              | 91                | 105               | 92                |                  |
| 86             | 6                          | 40       | 28      | 34           | 37           | 107      | 54      | 61           | 69           | 109              | 100               | 102               | 99                |                  |
| 68             | 0.6                        | 35       | 26      | 33           | 39           | 56       | 51      | 51           | 69           | 104              | 99                | 110               | 102               | 84<br>3          |
| 40             | 2                          | 33       | 32      | 31           | 40           | 54       | 57      | 56           | 87           | 103              | 100               | 112               | 97                |                  |
| 57             | 6                          | 39       | 33      | 35           | 40           | 67       | 52      | 55           | 92           | 98               | 104               | 121               | 108               |                  |

実施例 8 7 : G a l N A c 3 クラスターを含む T T R を標的とするオリゴヌクレオチドの  
単回投与による生体内における作用持続時間

【 1 1 1 0 】

I S I S 番号 4 2 0 9 1 5 及び 6 6 0 2 6 1 ( 表 8 3 を参照のこと ) を、単回投与試験に  
おいてマウスにおける作用持続時間について試験した。I S I S 番号 4 2 0 9 1 5、6 8  
2 8 8 3、及び 6 8 2 8 8 5 ( 表 8 3 を参照のこと ) も、単回投与試験においてマウスに  
おける作用持続時間について試験した。

処理

【 1 1 1 1 】

ヒト T T R を発現する 8 週齢の雄トランスジェニックマウスのそれぞれに、1 0 0 m g /  
k g の I S I S 番号 4 2 0 9 1 5 または 1 3 . 5 m g / k g の I S I S 番号 6 6 0 2 6 1  
を 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。投薬前に尾採血を実行して、  
ベースライン、ならびに投与後 3、7、1 0、1 7、2 4、及び 3 9 日目のレベルを決定  
した。実施例 8 6 に記載されるように、血漿 T T R タンパク質レベルを測定した。以下の

結果は、ベースラインレベルに対して標準化された各処理群の血漿 T T R レベルの平均パーセントとして提示される。

【 1 1 1 2 】

【 表 7 7 】

表 8 8

血漿 T T R タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | 時点(投与後<br>の日数) | TTR(%ベースライン) | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|---------|----------------|----------------|--------------|--------------------------|----------------|------|
| 420915  | 100            | 3              | 30           | 該当なし                     | 該当なし           | 842  |
|         |                | 7              | 23           |                          |                |      |
|         |                | 10             | 35           |                          |                |      |
|         |                | 17             | 53           |                          |                |      |
|         |                | 24             | 75           |                          |                |      |
|         |                | 39             | 100          |                          |                |      |
| 660261  | 13.5           | 3              | 27           | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> | 843  |
|         |                | 7              | 21           |                          |                |      |
|         |                | 10             | 22           |                          |                |      |
|         |                | 17             | 36           |                          |                |      |
|         |                | 24             | 48           |                          |                |      |
|         |                | 39             | 69           |                          |                |      |

処理

【 1 1 1 3 】

ヒト T T R を発現する雌トランスジェニックマウスのそれぞれに、100 mg / kg の ISIS 番号 420915、10.0 mg / kg の ISIS 番号 682883、または 10.0 mg / kg の 682885 を 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。投薬前に尾採血を実行して、ベースライン、ならびに投与後 3、7、10、17、24、及び 39 日目のレベルを決定した。実施例 86 に記載されるように、血漿 T T R タンパク質レベルを測定した。以下の結果は、ベースラインレベルに対して標準化された各処理群の血漿 T T R レベルの平均パーセントとして提示される。

【 1 1 1 4 】

10

20

30

40

50

## 【表 7 8】

表 8 9

血漿TTRタンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | 時点(投与後<br>の日数) | TTR(%ベースライン) | GalNAc <sub>3</sub> クラ<br>スター | CM       | 配列番号 |
|---------|----------------|----------------|--------------|-------------------------------|----------|------|
| 420915  | 100            | 3              | 48           | 該当なし                          | 該当<br>なし | 842  |
|         |                | 7              | 48           |                               |          |      |
|         |                | 10             | 48           |                               |          |      |
|         |                | 17             | 66           |                               |          |      |
|         |                | 31             | 80           |                               |          |      |
| 682883  | 10.0           | 3              | 45           | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | PO       | 842  |
|         |                | 7              | 37           |                               |          |      |
|         |                | 10             | 38           |                               |          |      |
|         |                | 17             | 42           |                               |          |      |
|         |                | 31             | 65           |                               |          |      |
| 682885  | 10.0           | 3              | 40           | GalNAc <sub>3</sub> -10a      | PO       | 842  |
|         |                | 7              | 33           |                               |          |      |
|         |                | 10             | 34           |                               |          |      |
|         |                | 17             | 40           |                               |          |      |
|         |                | 31             | 64           |                               |          |      |

10

20

## 【1115】

表 8 8 及び 8 9 における結果は、GalNAc 共役体を含むオリゴヌクレオチドが、共役体を欠く親オリゴヌクレオチド (ISIS 420915) よりも強力であり、より長い作用持続時間を有することを示す。

実施例 8 8 : GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含む SMN を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるスプライシング調節

30

## 【1116】

表 9 0 に列記されるオリゴヌクレオチドを、マウスにおけるヒト運動ニューロン生存 (SMN) のスプライシング調節について試験した。

## 【1117】

40

50



## 【表 7 9】

表 9 0

SMNを標的とする修飾ASO

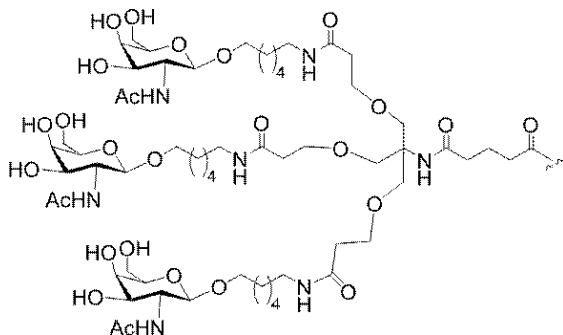
| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|---------|--|--------------------------|----------------|------|
| 387954  | A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>   | 該当なし                     | 該当なし           | 844  |
| 699819  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>               | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 844  |
| 699821  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> G <sub>e</sub>               | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 844  |
| 700000  | A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> | 845  |
| 703421  | X-ATT <sup>m</sup> CA <sup>m</sup> CTTT <sup>m</sup> CATAATG <sup>m</sup> CTGG   | 該当なし                     | 該当なし           | 844  |
| 703422  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>b</sub> -X-ATT <sup>m</sup> CA <sup>m</sup> CTTT <sup>m</sup> CATAATG <sup>m</sup> CTGG  | GalNAc <sub>3</sub> -7b  | 該当なし           | 844  |

## 【1118】

GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>の構造は、先の実施例48に示した。「X」は、Gene Tools (Pharmacia, OR)によって生成された5'-一次アミンを示し、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>b</sub>は、以下に示すように、リンカーの-NH-C<sub>6</sub>-O部分を欠くGalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>の構造を示す。

## 【1119】

## 【化245】



## 【1120】

ISIS番号703421及び703422は、モルホリノオリゴヌクレオチドであり、これら2つのオリゴヌクレオチドの各ヌクレオチドは、モルホリノヌクレオチドである。

処理

## 【1121】

ヒトSMNを発現する6週齢のトランスジェニックマウスに、表91に列記されるオリゴ

ヌクレオチドまたは生理食塩水を1回皮下注入した。各処理群は、2匹の雄及び2匹の雌からなった。投与の3日後にマウスを殺して、標準のプロトコルに従ってリアルタイムPCRを用いて、エキソン7を有する場合とエキソン7を有しない場合の肝臓におけるヒトSMN mRNAレベルを決定した。Ribogreen試薬を用いて総RNAを測定した。SMN mRNAレベルを総mRNAに対して標準化し、さらに生理食塩水処理群の平均に対して標準化した。結果として生じたエキソン7を含むSMN mRNAとエキソン7を欠くSMN mRNAとの平均比が、表91に示される。結果は、スプライシングを調節し、かつGalNAc共役体を含む完全修飾オリゴヌクレオチドが、GalNAc共役体を欠く親オリゴヌクレオチドよりも肝臓におけるスプライシングの改変に著しく強力であることを示す。さらに、この傾向は、2'-MOE及びモルホリノ修飾オリゴヌクレオチドを含む複数の修飾化学でも維持される。

10

【1122】

【表80】

表91

生体内におけるヒトSMNを標的とするオリゴヌクレオチドの影響

| ISIS 番号 | 用量(mg/kg) | エキソン7あり/エキソン7なし | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|---------|-----------|-----------------|--------------------------|----------------|------|
| 生理食塩水   | 該当なし      | 1.00            | 該当なし                     | 該当なし           | 該当なし |
| 387954  | 32        | 1.65            | 該当なし                     | 該当なし           | 844  |
| 387954  | 288       | 5.00            | 該当なし                     | 該当なし           | 844  |
| 699819  | 32        | 7.84            | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 844  |
| 699821  | 32        | 7.22            | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 844  |
| 700000  | 32        | 6.91            | GalNAc <sub>3</sub> -1a  | A <sub>d</sub> | 845  |
| 703421  | 32        | 1.27            | 該当なし                     | 該当なし           | 844  |
| 703422  | 32        | 4.12            | GalNAc <sub>3</sub> -7b  | 該当なし           | 844  |

20

30

40

実施例89：GalNAc<sub>3</sub>共役体を含むアポリポタンパク質A（Apo(a））を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

【1123】

以下の表92に列記されるオリゴヌクレオチドを、トランスジェニックマウスにおけるApo(a）の用量依存的阻害に関する試験で試験した。

【1124】

50

【表 8 1】

表 9 2

Apo (a) を標的とする修飾ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM   | 配列番号 |
|---------|--|--------------------------|------|------|
| 494372  | T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | 該当なし                     | 該当なし | 847  |
| 681257  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o <sub>1</sub> T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO   | 847  |

10

## 【1125】

GalNAc<sub>3</sub>-7aの構造は、実施例48に示される。

処理

## 【1126】

8週齢の雌C57BL/6マウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)のそれぞれに、表92に列記されるオリゴヌクレオチドまたはPBSを、以下に示される投与量で週1回、合計6回の投与で、皮下注入した。各処理群は、3~4匹の動物からなった。第1の投与の前日に、かつ各投与後週1回、尾採血を実行して、血漿Apo(a)タンパク質レベルを決定した。最終投与の2日後にマウスを殺した。リアルタイムPCR及びRIBOGREEN(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc. Eugene, OR)を用いて、肝臓におけるApo(a)mRNAレベルを決定した。ELISAを用いてApo(a)血漿タンパク質レベルを決定し、肝臓トランスアミナーゼレベルを決定した。表93におけるmRNA及び血漿タンパク質の結果は、PBS処理群と比較した処理群の平均パーセントとして提示される。血漿タンパク質レベルをさらにPBS群のベースライン(BL)値に対して標準化した。平均絶対トランスアミナーゼレベル及び体重(ベースライン平均と比較した%)が表94に報告される。

20

30

## 【1127】

表93に例証されるように、オリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で肝臓におけるApo(a)mRNA及び血漿タンパク質レベルを低下させた。さらに、GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドは、GalNAc共役体を欠く親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であり、より長い作用持続時間を有した。表94に例証されるように、トランスアミナーゼレベル及び体重はオリゴヌクレオチドの影響を受けず、オリゴヌクレオチドが良好な耐容性を示したことを示す。

## 【1128】

40

50

## 【表 8 2】

表 9 3

肝臓におけるApo(a)mRNA及び血漿タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | Apo(a)mRNA(%PBS) | Apo(a)血漿タンパク質(%PBS) |          |          |          |          |          |         |
|---------|------------------|------------------|---------------------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|
|         |                  |                  | BL                  | 1 週<br>目 | 2 週<br>目 | 3 週<br>目 | 4 週<br>目 | 5 週<br>目 | 6週<br>目 |
| PBS     | 該当なし             | 100              | 100                 | 120      | 119      | 113      | 88       | 121      | 97      |
| 494372  | 3                | 80               | 84                  | 89       | 91       | 98       | 87       | 87       | 79      |
|         | 10               | 30               | 87                  | 72       | 76       | 71       | 57       | 59       | 46      |
|         | 30               | 5                | 92                  | 54       | 28       | 10       | 7        | 9        | 7       |
| 681257  | 0.3              | 75               | 79                  | 76       | 89       | 98       | 71       | 94       | 78      |
|         | 1                | 19               | 79                  | 88       | 66       | 60       | 54       | 32       | 24      |
|         | 3                | 2                | 82                  | 52       | 17       | 7        | 4        | 6        | 5       |
|         | 10               | 2                | 79                  | 17       | 6        | 3        | 2        | 4        | 5       |

10

## 【 1 1 2 9】

## 【表 8 3】

20

表 9 4

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | ALT(U/L) | AST(U/L) | 体重(%ベースライン) |
|--------|------------|----------|----------|-------------|
| PBS    | 該当なし       | 37       | 54       | 103         |
| 494372 | 3          | 28       | 68       | 106         |
|        | 10         | 22       | 55       | 102         |
|        | 30         | 19       | 48       | 103         |
| 681257 | 0.3        | 30       | 80       | 104         |
|        | 1          | 26       | 47       | 105         |
|        | 3          | 29       | 62       | 102         |
|        | 10         | 21       | 52       | 107         |

30

実施例 9 0 : GalNAc3 クラスターを含む TTR を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

## 【 1 1 3 0】

以下の表 9 5 に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてヒト TTR 遺伝子を発現するトランスジェニックマウスにおけるヒトトランスサイレチン (TTR) のアンチセンス阻害について試験した。

40

処理

## 【 1 1 3 1】

TTR トランスジェニックマウスのそれぞれに、表 9 6 に列記されるオリゴヌクレオチド及び投与量または PBS を、週 1 回 3 週間、合計 3 回の投与で、皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。第 1 の投与の前に、尾採血を実行して、ベースライン (BL) での血漿 TTR タンパク質レベルを決定した。最終投与の 72 時間後にマウスを殺した。臨床分析器 (AU480、Beckman Coulter, CA) を用いて、TTR タンパク質レベルを測定した。標準のプロトコルに従ってリアルタイム PCR 及び RIBOGREEN (登録商標) RNA 定量化試薬 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) を用いて、肝臓におけるヒト TTR mRNA レベルを決定

50

した。表 9 6 に提示される結果は、各処理群の平均値である。mRNA レベルは、PBS 群の平均と比較した平均値である。血漿タンパク質レベルは、ベースラインでの PBS 群の平均値と比較した平均値である。「BL」は、第 1 の投与の直前に測定したベースラインを示す。表 9 6 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で TTR 発現レベルを低下させた。GalNAc 共役体を含むオリゴヌクレオチドは、GalNAc 共役体を欠く親 (ISIS 420915) よりも強力であり、ホスホジエステルまたはデオキシアデノシンの切断可能部分を含むオリゴヌクレオチドは、共役体を欠く親と比較して、力価の著しい改善を示した (ISIS 番号 682883 及び 666943 対 420915、ならびに実施例 86 及び 87 を参照のこと)。

【1132】

【表 84】

表 9 5

ヒト TTR を標的とするオリゴヌクレオチド

| ISIS 番号 | 配列 5' から 3'  | 結合    | GalNAc クラスタ              | CM             | 配列番号 |
|---------|--|-------|--------------------------|----------------|------|
| 420915  | T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | PS    | 該当なし                     | 該当なし           | 842  |
| 682883  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> ·T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>d</sub><br>sA <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                  | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | PO             | 842  |
| 666943  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> ·A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>  | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | A <sub>d</sub> | 846  |
| 682887  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>  | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | A <sub>d</sub> | 846  |
| 682888  | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a-o</sub> ·A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -10a | A <sub>d</sub> | 846  |
| 682889  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a-o</sub> ·A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | PS/PO | GalNAc <sub>3</sub> -13a | A <sub>d</sub> | 846  |

【1133】

表 9 5 の説明文を実施例 7 4 で見つけることができる。GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> の構造は、実施例 39 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub> の構造は、実施例 48 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub> の構造は、実施例 46 に示される。GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub> の構造は、実施例 62 に示される。

【1134】

10

20

30

40

50

## 【表 8 5】

表 9 6  
生体内におけるヒト TTR のアンチセンス阻害

| ISIS 番号 | 投与量(mg/kg) | TTR mRNA(%PBS) | TTR タンパク質(%BL) | GalNAcクラスター              | CM             |
|---------|------------|----------------|----------------|--------------------------|----------------|
| PBS     | 該当なし       | 100            | 124            | 該当なし                     | 該当なし           |
| 420915  | 6          | 69             | 114            | 該当なし                     | 該当なし           |
|         | 20         | 71             | 86             |                          |                |
|         | 60         | 21             | 36             |                          |                |
| 682883  | 0.6        | 61             | 73             | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | PO             |
|         | 2          | 23             | 36             |                          |                |
|         | 6          | 18             | 23             |                          |                |
| 666943  | 0.6        | 74             | 93             | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | A <sub>d</sub> |
|         | 2          | 33             | 57             |                          |                |
|         | 6          | 17             | 22             |                          |                |
| 682887  | 0.6        | 60             | 97             | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | A <sub>d</sub> |
|         | 2          | 36             | 49             |                          |                |
|         | 6          | 12             | 19             |                          |                |
| 682888  | 0.6        | 65             | 92             | GalNAc <sub>3</sub> -10a | A <sub>d</sub> |
|         | 2          | 32             | 46             |                          |                |
|         | 6          | 17             | 22             |                          |                |
| 682889  | 0.6        | 72             | 74             | GalNAc <sub>3</sub> -13a | A <sub>d</sub> |
|         | 2          | 38             | 45             |                          |                |
|         | 6          | 16             | 18             |                          |                |

実施例 9 1：非ヒト霊長類における GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含む第 V I I 因子を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

## 【 1 1 3 5】

以下の表 9 7 に列記されるオリゴヌクレオチドを、非終末用量増加試験 (non-terminal, dose escalation study) においてサルにおける第 V I I 因子のアンチセンス阻害について試験した。

処理

## 【 1 1 3 6】

処置した (non-naive) サルのそれぞれに、増加用量の表 9 7 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは PBS を、0、15、及び 29 日目に皮下注入した。各処理群は、4 匹の雄及び 1 匹の雌からなった。第 1 の投与の前とその後のさまざまな時点で、血液採取を実行して、血漿第 V I I 因子タンパク質レベルを決定した。E L I S A によって第 V I I 因子タンパク質レベルを測定した。表 9 8 に提示される結果は、第 1 の投与の直前に測定したベースライン (BL) での PBS 群の平均値と比較した各処理群の平均値である。表 9 8 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式で第 V I I 因子の発現レベルを低下させ、GalNAc 共役体を含むオリゴヌクレオチドは、サルにおいて GalNAc 共役体を欠くオリゴヌクレオチドよりも著しく強力であった。

## 【 1 1 3 7】

10

20

30

40

50

## 【表 8 6】

表 9 7

第ⅤⅠⅠ因子を標的とするオリゴヌクレオチド

| ISIS 番号 | 配列5'から3'  | 結合 | GalNAc クラスタ              | CM   | 配列番号 |
|---------|---|----|--------------------------|------|------|
| 407935  | A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub>   | PS | 該当なし                     | 該当なし | 848  |
| 686892  | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a-o</sub> ·A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> A <sub>e</sub> | PS | GalNAc <sub>3</sub> -10a | PO   | 848  |

10

## 【1138】

表 9 7 の説明文を実施例 7 4 で見つけることができる。GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>の構造は、実施例 4 6 に示される。

## 【1139】

## 【表 8 7】

表 9 8

第ⅤⅠⅠ因子血漿タンパク質レベル

| ISIS番号 | 日数 | 用量(mg/kg) | 第ⅤⅠⅠ因子(%BL) |
|--------|----|-----------|-------------|
| 407935 | 0  | 該当なし      | 100         |
|        | 15 | 10        | 87          |
|        | 22 | 該当なし      | 92          |
|        | 29 | 30        | 77          |
|        | 36 | 該当なし      | 46          |
|        | 43 | 該当なし      | 43          |
| 686892 | 0  | 3         | 100         |
|        | 15 | 10        | 56          |
|        | 22 | 該当なし      | 29          |
|        | 29 | 30        | 19          |
|        | 36 | 該当なし      | 15          |
|        | 43 | 該当なし      | 11          |

20

30

実施例 9 2 : GalNAc<sub>3</sub>共役体を含むApo-CⅠⅠⅠを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドによる初代肝細胞におけるアンチセンス阻害

## 【1140】

初代マウス肝細胞を15,000細胞/ウェルで96ウェルプレートに播種し、マウスApoC-ⅠⅠⅠを標的とする表99に列記されるオリゴヌクレオチドを、0.46、1.37、4.12、または12.35、37.04、111.11、もしくは333.33nMまたは1.00μmで添加した。オリゴヌクレオチドとともに24時間インキュベートした後、細胞を溶解し、RNeasy(Qiagen)を用いて全RNAを精製した。標準のプロトコルに従ってリアルタイムPCR及びRIBOGREEN(登録商標)RNA定量化試薬(Molecular Probes, Inc.)を用いて、ApoC-ⅠⅠⅠ mRNAレベルを決定した。Prism 4ソフトウェア(GraphPad)を用いて、IC<sub>50</sub>値を決定した。結果は、切断可能部分がホスホジエステルであるかホスホジエステル連結デオキシアデノシンであるかにかかわらず、GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドが、共役体を欠く親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であったことを示す。

40

50

【 1 1 4 1 】

【 表 8 8 】

表 9 9

マウス初代肝細胞におけるマウスAPOC-III発現の阻害

| ISIS番号 | 配列(5'から3')   | CM             | IC <sub>50</sub> (nM) | 配列番号 |
|--------|--|----------------|-----------------------|------|
| 440670 | <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>   | 該当なし           | 13.20                 | 849  |
| 661180 | <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub>  | A <sub>d</sub> | 1.40                  | 830  |
| 680771 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> ' <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>                                 | PO             | 0.70                  | 849  |
| 680772 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ' <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>                                 | PO             | 1.70                  | 849  |
| 680773 | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a-o</sub> ' <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>                                | PO             | 2.00                  | 849  |
| 680774 | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a-o</sub> ' <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>                                | PO             | 1.50                  | 849  |
| 681272 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> ' <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>eo</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>                                 | PO             | <0.46                 | 849  |
| 681273 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> 'A <sub>do</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>e</sub>                  | A <sub>d</sub> | 1.10                  | 851  |
| 683733 | <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 2.50                  | 830  |

【 1 1 4 2 】

GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示され、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>は、実施例39に示され、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>は、実施例48に示され、GalNAc<sub>3</sub>-10<sub>a</sub>は、実施例46に示され、GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>は、実施例62に示され、GalNAc<sub>3</sub>-19<sub>a</sub>は、実施例70に示される。

実施例93：混成ウイング及び5'-GalNAc<sub>3</sub>共役体を含むSRB-1を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

【 1 1 4 3 】

表100に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおけるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。

【 1 1 4 4 】

10

20

30

40

50



## 【表 8 9】

表 1 0 0

SRB-1 を標的とする修飾 ASO

| ISIS 番号    | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ            | CM   | 配列番号 |
|------------|--|-------------------------------------|------|------|
| 44909<br>3 | T <sub>ks</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>  | 該当なし                                | 該当なし | 852  |
| 69980<br>6 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> -T <sub>ks</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>d</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> | PO   | 852  |
| 69980<br>7 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> -T <sub>ks</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 852  |
| 69980<br>9 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> -T <sub>ks</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 852  |
| 69981<br>1 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> -T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 852  |
| 69981<br>3 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> -T <sub>ks</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 852  |
| 69981<br>5 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> -T <sub>es</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 852  |

## 【 1 1 4 5 】

GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>の構造は、先の実施例 3 9 に示され、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>の構造は、先の実施例 4 8 に示される。下付き文字「e」は、2'-MOE 修飾ヌクレオシドを示し、「d」は、-D-2'-デオキシリボヌクレオシドを示し、「k」は、6'-(S)-CH<sub>3</sub>二環式ヌクレオシド(cEt)を示し、「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部(PS)を示し、「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部(PO)を示す。上付き文字「m」は、5-メチルシトシンを示す。

処理

## 【 1 1 4 6 】

6～8週齢のC57BL/6マウス(Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)に、表 1 0 0 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは生理食塩水を、以下に示される投与量で1回、皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。最終投与の72時間後にマウスを殺した。リアルタイムPCRを用いて、肝臓におけるSRB-1 mRNAレベルを測定した。標準のプロトコルに従って、SRB-1 mRNAレベルをシクロフィリンmRNAレベルに対して標準化した。結果は、生理食塩水対照群と比較した各処理群のSRB-1 mRNAレベルの平均パーセントとして提示される。表 1 0 1 に例証されるように、アンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、用量依存的様式でSRB-1 mRNAレベルを低下させ、GalNAc 共役体を含み、かつ完全cEtまたは混成糖修飾のいずれかのウイングを有するギャップマーオリゴヌクレオチドは、共役体を欠き、かつ完全cEt修飾ウイングを含む親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であった。

## 【 1 1 4 7 】

体重、肝臓トランスアミナーゼ、総ビリルビン、及びBUNも測定し、各処理群の平均値が表 1 0 1 に示される。体重は、オリゴヌクレオチド投与の直前に測定したベースライン体重(%BL)と比較した平均体重率として示される。

## 【 1 1 4 8 】

10

20

30

40

50

## 【表 90】

表 101

SRB-1 mRNA、ALT、AST、BUN、及び総ビリルビンレベル、ならびに体重

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | SRB-1<br>mRNA(%PBS) | ALT(U/L) | AST(U/L) | Bil  | BUN | 体 重<br>(%BL) |
|---------|----------------|---------------------|----------|----------|------|-----|--------------|
| PBS     | 該当なし           | 100                 | 31       | 84       | 0.15 | 28  | 102          |
| 449093  | 1              | 111                 | 18       | 48       | 0.17 | 31  | 104          |
|         | 3              | 94                  | 20       | 43       | 0.15 | 26  | 103          |
|         | 10             | 36                  | 19       | 50       | 0.12 | 29  | 104          |
| 699806  | 0.1            | 114                 | 23       | 58       | 0.13 | 26  | 107          |
|         | 0.3            | 59                  | 21       | 45       | 0.12 | 27  | 108          |
|         | 1              | 25                  | 30       | 61       | 0.12 | 30  | 104          |
| 699807  | 0.1            | 121                 | 19       | 41       | 0.14 | 25  | 100          |
|         | 0.3            | 73                  | 23       | 56       | 0.13 | 26  | 105          |
|         | 1              | 24                  | 22       | 69       | 0.14 | 25  | 102          |
| 699809  | 0.1            | 125                 | 23       | 57       | 0.14 | 26  | 104          |
|         | 0.3            | 70                  | 20       | 49       | 0.10 | 25  | 105          |
|         | 1              | 33                  | 34       | 62       | 0.17 | 25  | 107          |
| 699811  | 0.1            | 123                 | 48       | 77       | 0.14 | 24  | 106          |
|         | 0.3            | 94                  | 20       | 45       | 0.13 | 25  | 101          |
|         | 1              | 66                  | 57       | 104      | 0.14 | 24  | 107          |
| 699813  | 0.1            | 95                  | 20       | 58       | 0.13 | 28  | 104          |
|         | 0.3            | 98                  | 22       | 61       | 0.17 | 28  | 105          |
|         | 1              | 49                  | 19       | 47       | 0.11 | 27  | 106          |
| 699815  | 0.1            | 93                  | 30       | 79       | 0.17 | 25  | 105          |
|         | 0.3            | 64                  | 30       | 61       | 0.12 | 26  | 105          |
|         | 1              | 24                  | 18       | 41       | 0.14 | 25  | 106          |

実施例 94：2'-糖修飾及び5'-GalNA<sub>3</sub>共役体を含むSRB-1を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

## 【1149】

表 102 に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおけるSRB-1のアンチセンス阻害について試験した。

## 【1150】

10

20

30

40

50

## 【表 9 1】

表 1 0 2

SRB-1 を標的とする修飾 ASO

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | CM   | 配列番号 |
|---------|---|---------------------------|------|------|
| 353382  | $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$                | 該当なし                      | 該当なし | 829  |
| 700989  | $G_{ms} C_{ms} U_{ms} U_{ms} C_{ms} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} U_{ms} C_{ms} U_{ms} U_m$                               | 該当なし                      | 該当なし | 853  |
| 666904  | $GalNAc_3-3a-o'-G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$ | GalNAc <sub>3</sub> -3a   | PO   | 829  |
| 700991  | $GalNAc_3-7a-o'-G_{ms} C_{ms} U_{ms} U_{ms} C_{ms} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} U_{ms} C_{ms} C_{ms} U_{ms} U_m$         | GalNAc <sub>3</sub> -7a   | PO   | 853  |

10

20

## 【1 1 5 1】

下付き文字「m」は、2'-O-メチル修飾ヌクレオシドを示す。完全な表の説明文については、実施例 7 4 を参照されたい。GalNAc<sub>3</sub>-3a の構造は、先の実施例 3 9 に示し、GalNAc<sub>3</sub>-7a の構造は、先の実施例 4 8 に示した。

処理

## 【1 1 5 2】

実施例 9 3 に記載されるプロトコルを用いて試験を完了した。結果が以下の表 1 0 3 に示され、GalNAc 共役体を含む 2'-MOE 修飾オリゴヌクレオチドと 2'-OMe 修飾オリゴヌクレオチドとが両方ともに、共役体を欠くそれぞれの親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であったことを示す。体重、肝臓トランスアミナーゼ、総ビリルビン、及び BUN の測定結果は、これらの化合物がすべて良好な耐容性を示したことを示す。

30

## 【1 1 5 3】

40

50

## 【表 9 2】

表 1 0 3

SRB-1 mRNA

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1 mRNA(%PBS) |
|--------|------------|------------------|
| PBS    | 該当なし       | 100              |
| 353382 | 5          | 116              |
|        | 15         | 58               |
|        | 45         | 27               |
| 700989 | 5          | 120              |
|        | 15         | 92               |
|        | 45         | 46               |
| 666904 | 1          | 98               |
|        | 3          | 45               |
|        | 10         | 17               |
| 700991 | 1          | 118              |
|        | 3          | 63               |
|        | 10         | 14               |

10

20

実施例 9 5 : 二環式ヌクレオシド及び 5' - GalNAc<sub>3</sub> 共役体を含む SRB - 1 を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

## 【 1 1 5 4 】

表 1 0 4 に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおける SRB - 1 のアンチセンス阻害について試験した。

## 【 1 1 5 5 】

30

40

50

## 【表 9 3】

表 1 0 4

SRB-1 を標的とする修飾ASO

| ISIS番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ            | CM             | 配列番号 |
|--------|---|-------------------------------------|----------------|------|
| 440762 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>  | 該当なし                                | 該当なし           | 823  |
| 666905 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>d</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> | PO             | 823  |
| 699782 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>                | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO             | 823  |
| 699783 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-T <sub>ls</sub> <sup>m</sup> C <sub>ls</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ls</sub> <sup>m</sup> C <sub>l</sub>                | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> | PO             | 823  |
| 653621 | T <sub>ls</sub> <sup>m</sup> C <sub>ls</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ls</sub> <sup>m</sup> C <sub>lo</sub> A <sub>do</sub> '-GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -1 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 824  |
| 439879 | T <sub>gs</sub> <sup>m</sup> C <sub>gs</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>d</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>gs</sub> <sup>m</sup> C <sub>g</sub>   | 該当なし                                | 該当なし           | 823  |
| 699789 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-T <sub>gs</sub> <sup>m</sup> C <sub>gs</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>d</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>gs</sub> <sup>m</sup> C <sub>g</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> | PO             | 823  |

## 【1156】

下付き文字「g」は、フルオロ-HNAヌクレオシドを示し、下付き文字「l」は、2'-O-CH<sub>2</sub>-4'橋を含むロックドヌクレオシドを示す。他の省略形については、実施例74の表の説明文を参照されたい。GalNAc<sub>3</sub>-1<sub>a</sub>の構造は、先の実施例9に示し、GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub>の構造は、先の実施例39に示し、GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>の構造は、先の実施例48に示した。

処理

## 【1157】

実施例93に記載されるプロトコルを用いて試験を完了した。結果が以下の表105に示され、GalNAc共役体及びさまざまな二環式ヌクレオシド修飾を含むオリゴヌクレオチドが、共役体を欠くが二環式ヌクレオシド修飾を含む親オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であったことを示す。さらに、GalNAc共役体及びフルオロ-HNA修飾を含むオリゴヌクレオチドは、共役体を欠くがフルオロ-HNA修飾を含む親よりも著しく強力であった。体重、肝臓トランスアミナーゼ、総ビリルビン、及びBUNの測定結果は、これらの化合物がすべて良好な耐容性であったことを示した。

## 【1158】

10

20

30

40

50

## 【表 9 4】

表 1 0 5

SRB-1 mRNA、ALT、AST、BUN、及び総ビリルビンレベル、ならびに体重

| ISIS番号 | 投与量(mg/kg) | SRB-1 mRNA(%PBS) |
|--------|------------|------------------|
| PBS    | 該当なし       | 100              |
| 440762 | 1          | 104              |
|        | 3          | 65               |
|        | 10         | 35               |
| 666905 | 0.1        | 105              |
|        | 0.3        | 56               |
|        | 1          | 18               |
| 699782 | 0.1        | 93               |
|        | 0.3        | 63               |
|        | 1          | 15               |
| 699783 | 0.1        | 105              |
|        | 0.3        | 53               |
|        | 1          | 12               |
| 653621 | 0.1        | 109              |
|        | 0.3        | 82               |
|        | 1          | 27               |
| 439879 | 1          | 96               |
|        | 3          | 77               |
|        | 10         | 37               |
| 699789 | 0.1        | 82               |
|        | 0.3        | 69               |
|        | 1          | 26               |

10

20

30

実施例 9 6 : G a l N A c 3 共役基を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドの血漿タンパク質結合

## 【 1 1 5 9】

A p o C - I I I を標的とする表 7 0 に列記されるオリゴヌクレオチド及び A p o ( a ) を標的とする表 1 0 6 におけるオリゴヌクレオチドを限外濾過アッセイにおいて試験して、血漿タンパク質結合を評価した。

## 【 1 1 6 0】

40

50

## 【表 9 5】

表 1 0 6

Apo (a) を標的とする修飾オリゴヌクレオチド

| ISIS番号     | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ            | CM   | 配列番号 |
|------------|---|-------------------------------------|------|------|
| 49437<br>2 | T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                            | 該当なし                                | 該当なし | 847  |
| 69340<br>1 | T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | 該当なし                                | 該当なし | 847  |
| 68125<br>1 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 847  |
| 68125<br>7 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> | PO   | 847  |

10

## 【 1 1 6 1】

表の説明文については、実施例 7 4 を参照されたい。GalNAc<sub>3</sub>-7 a の構造は、先の実施例 4 8 に示される。

20

## 【 1 1 6 2】

Ultrafree - MC 限外濾過ユニット (3 0 , 0 0 0 NMWL、低結合再生セルロース膜、Millipore, Bedford, MA) を 3 0 0 μ L の 0 . 5 % Tween 8 0 で事前に条件付け、2 0 0 0 g で 1 0 分間遠心分離し、その後、H<sub>2</sub>O 中の 3 0 0 μ L の 3 0 0 μ g / m L 対照オリゴヌクレオチド溶液で事前に条件付け、2 0 0 0 g で 1 6 分間遠心分離した。これらの試験で用いる表 7 0 及び 1 0 6 の各試験オリゴヌクレオチドのフィルターへの非特異的結合を評価するために、3 0 0 μ L の H<sub>2</sub>O 中の 2 5 0 n g / m L 溶液オリゴヌクレオチド (pH 7 . 4) を事前に条件付けたフィルターに設置し、2 0 0 0 g で 1 6 分間遠心分離した。ELISA アッセイによって濾過していない試料及び濾過した試料を分析して、オリゴヌクレオチド濃度を決定した。3 つの複製物を用いて各試料の平均濃度を求めた。濾過していない試料と比較した濾過した試料の平均濃度を用いて、血漿の不在下でフィルターによって回収されたオリゴヌクレオチドの割合 (% 回収) を決定する。

30

## 【 1 1 6 3】

薬物を使用していない健康なヒト志願者、カニクイザル、及び CD - 1 マウス由来の K 3 - EDTA 中に収集された凍結全血漿試料を Bioreclamation LLC (Westbury, NY) から購入した。試験オリゴヌクレオチドを、2 つの濃度 (5 μ g / m L 及び 1 5 0 μ g / m L) で血漿の 1 . 2 m L の一定分量に添加した。各スパイクした血漿試料の一定分量 (3 0 0 μ L) を事前に条件付けられたフィルターユニット内に設置し、3 7 ° C で 3 0 分間インキュベートした直後に 2 0 0 0 g で 1 6 分間遠心分離した。ELISA によって、濾過してスパイクした血漿試料及び濾過していないスパイクした血漿試料の一定分量を分析して、各試料中のオリゴヌクレオチドの濃度を決定した。1 つの濃度ごとに 3 つの複製物を用いて、各試料中の結合オリゴヌクレオチド及び非結合オリゴヌクレオチドの平均割合を決定した。濾過していない試料の濃度と比較した濾過した試料の平均濃度を用いて、血漿タンパク質に結合されていない血漿中のオリゴヌクレオチドの割合 (% 非結合) を決定する。各オリゴヌクレオチドの % 非結合を % 回収で割ることによって、最終非結合オリゴヌクレオチド値を非特異的結合に対して補正する。最終 % 非結合値を 1 0 0 から差し引くことによって、最終 % 結合オリゴヌクレオチド値を決定する。各種の血漿において試験した 2 つの濃度のオリゴヌクレオチド (5 μ g / m L 及び 1 5 0

40

50

$\mu\text{g}/\text{mL}$ )の結果が表107に示される。結果は、GalNAc共役基が血漿タンパク質結合に大きな影響を与えないことを示す。さらに、完全PSヌクレオシド間連結部を有するオリゴヌクレオチドも混成PO/PS連結部を有するオリゴヌクレオチドも血漿タンパク質に結合し、完全PS連結部を有するオリゴヌクレオチドは、混合PO/PS連結部を有するオリゴヌクレオチドよりも若干高い程度に血漿タンパク質に結合する。

【1164】

【表96】

表107

血漿タンパク質に結合される修飾オリゴヌクレオチドの割合

| ISIS 番号 | ヒト血漿                     |                            | サル血漿                     |                            | マウス血漿                    |                            |
|---------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|
|         | $5\mu\text{g}/\text{mL}$ | $150\mu\text{g}/\text{mL}$ | $5\mu\text{g}/\text{mL}$ | $150\mu\text{g}/\text{mL}$ | $5\mu\text{g}/\text{mL}$ | $150\mu\text{g}/\text{mL}$ |
| 304801  | 99.2                     | 98.0                       | 99.8                     | 99.5                       | 98.1                     | 97.2                       |
| 663083  | 97.8                     | 90.9                       | 99.3                     | 99.3                       | 96.5                     | 93.0                       |
| 674450  | 96.2                     | 97.0                       | 98.6                     | 94.4                       | 94.6                     | 89.3                       |
| 494372  | 94.1                     | 89.3                       | 98.9                     | 97.5                       | 97.2                     | 93.6                       |
| 693401  | 93.6                     | 89.9                       | 96.7                     | 92.0                       | 94.6                     | 90.2                       |
| 681251  | 95.4                     | 93.9                       | 99.1                     | 98.2                       | 97.8                     | 96.1                       |
| 681257  | 93.4                     | 90.5                       | 97.6                     | 93.7                       | 95.6                     | 92.7                       |

実施例97：GalNAc<sub>3</sub>共役基を含むTTRを標的とする修飾オリゴヌクレオチド

【1165】

GalNAc共役体を含む表108に示されるオリゴヌクレオチドを、TTRを標的とするように設計した。

【1166】

10

20

30

40

50



## 【表 9 7】

表 1 0 8

T T R を標的とする修飾オリゴヌクレオチド

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|---------|--|--------------------------|----------------|------|
| 666941  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o'</sub> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                  | GalNAc <sub>3</sub> -3   | A <sub>d</sub> | 846  |
| 666942  | T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>do'</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -1   | A <sub>d</sub> | 843  |
| 682876  | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o'</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                                  | GalNAc <sub>3</sub> -3   | PO             | 842  |
| 682877  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o'</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                                  | GalNAc <sub>3</sub> -7   | PO             | 842  |
| 682878  | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a-o'</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                                 | GalNAc <sub>3</sub> -10  | PO             | 842  |
| 682879  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a-o'</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                                 | GalNAc <sub>3</sub> -13  | PO             | 842  |
| 682880  | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o'</sub> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                  | GalNAc <sub>3</sub> -7   | A <sub>d</sub> | 846  |
| 682881  | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a-o'</sub> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -10  | A <sub>d</sub> | 846  |
| 682882  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a-o'</sub> A <sub>do</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -13  | A <sub>d</sub> | 846  |
| 684056  | T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>do'</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -19  | A <sub>d</sub> | 846  |

## 【 1 1 6 7 】

表 1 0 8 の説明文を実施例 7 4 で見つけることができる。G a l N A c 3 - 1 の構造は、実施例 9 に示した。G a l N A c 3 - 3 a の構造は、実施例 3 9 に示した。G a l N A c 3 - 7 a の構造は、実施例 4 8 に示した。G a l N A c 3 - 1 0 a の構造は、実施例 4 6 に示した。G a l N A c 3 - 1 3 a の構造は、実施例 6 2 に示した。G a l N A c 3 - 1 9 a の構造は、実施例 7 0 に示した。

実施例 9 8 : h P M B C アッセイにおける G a l N A c 共役体を含むオリゴヌクレオチドの炎症誘発作用の評価

## 【 1 1 6 8 】

表 1 0 9 に列記されるオリゴヌクレオチドを、実施例 2 3 及び 2 4 に記載されるように h P M B C アッセイにおいて炎症誘発作用について試験した（オリゴヌクレオチドの説明については、表 3 0 、 8 3 、 9 5 、 及び 1 0 8 を参照のこと）。I S I S 3 5 3 5 1 2 は、正の対照として用いられる高レスポンドであり、他のオリゴヌクレオチドは、表 8 3 、 9 5 、 及び 1 0 8 に記載されるものである。1 人の志願ドナー由来の血液を用いて表 1 0 9 に示される結果を得た。結果は、混合 P O / P S ヌクレオシド間連結部を含むオリゴヌクレオチドが、完全 P S 連結部を有する同一のオリゴヌクレオチドと比較して、著しく低い炎症誘発応答をもたらしたことを示す。さらに、G a l N A c 共役基は、このアッセイにおいて大きく影響しなかった。

## 【 1 1 6 9 】

10

20

30

40

50

【表 9 8】

表 1 0 9

| ISIS番号 | E <sub>max</sub> /EC <sub>50</sub> | GalNAc <sub>3</sub> クラスター | 結合    | CM             |
|--------|------------------------------------|---------------------------|-------|----------------|
| 353512 | 3630                               | 該当なし                      | PS    | 該当なし           |
| 420915 | 802                                | 該当なし                      | PS    | 該当なし           |
| 682881 | 1311                               | GalNAc <sub>3</sub> -10   | PS    | A <sub>d</sub> |
| 682888 | 0.26                               | GalNAc <sub>3</sub> -10   | PO/PS | A <sub>d</sub> |
| 684057 | 1.03                               | GalNAc <sub>3</sub> -19   | PO/PS | A <sub>d</sub> |

10

実施例 9 9 : アシアロ糖タンパク質受容体に対する G a l N A c 共役体を含むオリゴヌクレオチドの結合親和性

## 【 1 1 7 0 】

アシアロ糖タンパク質受容体に対する表 1 1 0 に列記されるオリゴヌクレオチド (オリゴヌクレオチドの説明については、表 7 6 を参照のこと) の結合親和性を、競合的受容体結合アッセイにおいて試験した。競合相手のリガンドである 1 - 酸性糖タンパク質 (A G P) を、5 0 m M 酢酸ナトリウム緩衝液 (p H 5) 中で 1 U ノイラミニダーゼ - アガロースとともに 3 7 ° で 1 6 時間インキュベートし、シアル酸アッセイまたはサイズ排除クロマトグラフィー (S E C) のいずれかで 9 0 % を超える脱シアル化を確認した。A t s m a e t a l . (J L i p i d R e s . 1 9 9 1 J a n ; 3 2 ( 1 ) : 1 7 3 - 8 1 を参照のこと) の手順に従って、一塩化ヨウ素を用いて A G P をヨウ素化した。この方法において、脱シアル化 1 - 酸性糖タンパク質 (d e - A G P) を、1 0 m M 塩化ヨウ素、N a 1 2 5 I、及び 0 . 2 5 M N a O H 中の 1 M グリシンに添加した。室温で 1 0 分間インキュベートした後、3 K D M W C O スピンカラムを利用してこの混合物を 2 回濃縮することによって、1 2 5 I 標識 d e - A G P を遊離 1 2 5 I から分離した。このタンパク質を、A g i l e n t S E C - 3 カラム (7 . 8 × 3 0 0 m m) 及び - R A M カウンタを装備した H P L C システムにおいて標識効率及び純度について試験した。1 2 5 I 標識 d e - A G P 及び A S O を含有するさまざまな G a l N A c クラスターを利用した競合実験を以下のとおりに行なった。ヒト H e p G 2 細胞 (1 0 <sup>6</sup> 細胞 / m L) を、2 m L の適切な成長培地中の 6 ウェルプレートにプレーティングした。1 0 % ウシ胎児血清 (F B S)、2 m M L - グルタミン、及び 1 0 m M H E P E S を補充した M E M 培地を用いた。細胞を、それぞれ、5 % 及び 1 0 % C O <sub>2</sub> で、3 7 ° で 1 6 ~ 2 0 時間インキュベートした。実験前に細胞を F B S を有しない培地で洗浄した。細胞を、2 % F B S を有する適切な成長培地を含有する 1 m L の競合混合物、1 0 - 8 M 1 2 5 I 標識 d e - A G P、及び 1 0 - 1 1 ~ 1 0 - 5 M の範囲の濃度の A S O を含有する G a l N A c クラスターとともに、3 7 ° で 3 0 分間インキュベートした。1 0 - 2 M G a l N A c 糖の存在下で非特異的結合を決定した。細胞を F B S を有しない培地で 2 回洗浄して、非結合 1 2 5 I 標識 d e - A G P 及び競合相手である G a l N A c A S O を除去した。1 % -メルカプトエタノールを含有する Q i a g e n の R L T 緩衝液を用いて、細胞を溶解した。1 0 分間の短時間凍結 / 解凍サイクル後に溶解物を丸底アッセイチューブに移し、- カウンタでアッセイした。非特異的結合を差し引いた後に、1 2 5 I タンパク質カウントを最も低い G a l N A c - A S O 濃度カウントの値で割った。非線形回帰アルゴリズムを用いた単一部位競合結合等式に従って阻害曲線を当てはめて、結合親和性 (K D) を計算した。

## 【 1 1 7 1 】

表 1 1 0 における結果を 5 つの異なる日に実行した実験から得た。上付き文字「a」の付いたオリゴヌクレオチドの結果は、2 つの異なる日に実行した実験の平均である。結果は、5' 末端に G a l N A c 共役基を含むオリゴヌクレオチドがヒト H e p G 2 細胞上のアシ

20

30

40

50

アロ糖タンパク質受容体に結合し、3'末端にGalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドよりも1.5～16倍高い親和性を有することを示す。

【1172】

【表99】

表110

アシアロ糖タンパク質受容体結合アッセイの結果

| ISIS番号              | GalNAc共役体               | GalNAc共役体が結合するオリゴヌクレオチド末端 | K <sub>D</sub> (nM) |
|---------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------|
| 661161 <sup>a</sup> | GalNAc <sub>3</sub> -3  | 5'                        | 3.7                 |
| 666881 <sup>a</sup> | GalNAc <sub>3</sub> -10 | 5'                        | 7.6                 |
| 666981              | GalNAc <sub>3</sub> -7  | 5'                        | 6.0                 |
| 670061              | GalNAc <sub>3</sub> -13 | 5'                        | 7.4                 |
| 655861 <sup>a</sup> | GalNAc <sub>3</sub> -1  | 3'                        | 11.6                |
| 677841 <sup>a</sup> | GalNAc <sub>3</sub> -19 | 3'                        | 60.8                |

10

実施例100：生体内におけるApo(a)を標的とするGalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

20

【1173】

以下の表111aに列記されるオリゴヌクレオチドを、単回投与試験においてマウスにおける作用持続時間について試験した。

【1174】

【表100】

表111a

APO(a)を標的とする修飾ASO

| ISIS番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM | 配列番号 |
|--------|---|--------------------------|----|------|
| 681251 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                 | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO | 847  |
| 681257 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a</sub> -o'-T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO | 847  |

30

【1175】

GalNAc<sub>3</sub>-7aの構造は、実施例48に示した。

処理

【1176】

ヒトApo(a)を発現する雌トランスジェニックマウスのそれぞれに、表111bに列記されるオリゴヌクレオチド及び投与量またはPBSを、週1回、合計6回の投与で、皮下注入した。各処理群は、3匹の動物からなった。投薬の前日に血液を採取して、血漿中のApo(a)タンパク質のベースラインレベル、ならびに第1の投与後72時間、1週間、及び2週間時点のレベルを決定した。第1の投与後3週間、4週間、5週間、及び6週間時点でさらに血液を採取する。ELISAを用いて血漿Apo(a)タンパク質レベルを測定した。表111bにおける結果は、ベースラインレベル(%BL)に対して標準化された各処理群の血漿Apo(a)タンパク質レベルの平均パーセントとして提示され、結果は、GalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドがApo(a)発現の強力な減少を示したことを示す。この強力な影響は、完全PSヌクレオシド間連結部を含むオリゴ

40

50

ヌクレオチド及び混成 P O 及び P S 連結部を含むオリゴヌクレオチドにおいて観察された。

【 1 1 7 7 】

【表 1 0 1】

表 1 1 1 b

Apo (a) 血漿タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投与量(mg/kg) | 72時間時点での<br>Apo(a)<br>(%BL) | 1週間時点での<br>Apo(a)<br>(%BL) | 3週間時点での<br>Apo(a)<br>(%BL) |
|---------|------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| PBS     | 該当なし       | 116                         | 104                        | 107                        |
| 681251  | 0.3        | 97                          | 108                        | 93                         |
|         | 1.0        | 85                          | 77                         | 57                         |
|         | 3.0        | 54                          | 49                         | 11                         |
|         | 10.0       | 23                          | 15                         | 4                          |
| 681257  | 0.3        | 114                         | 138                        | 104                        |
|         | 1.0        | 91                          | 98                         | 54                         |
|         | 3.0        | 69                          | 40                         | 6                          |
|         | 10.0       | 30                          | 21                         | 4                          |

10

20

実施例 1 0 1：安定した部分を介して連結された G a l N A c クラスターを含むオリゴヌクレオチドによるアンチセンス阻害

【 1 1 7 8 】

表 1 1 2 に列記されるオリゴヌクレオチドを生体内におけるマウス A P O C - I I I 発現の阻害について試験した。C 5 7 B 1 / 6 マウスのそれぞれに、表 1 1 2 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは P B S を 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。I S I S 4 4 0 6 7 0 で処理した各マウスは、2、6、20、または 6 0 m g / k g の投与を受けた。I S I S 6 8 0 7 7 2 または 6 9 6 8 4 7 で処理した各マウスは、0、6、2、6、または 2 0 m g / k g を受けた。I S I S 6 9 6 8 4 7 の G a l N A c 共役基は、安定した部分（容易に切断可能なホスホジエステル含有結合の代わりにホスホロチオエート連結部）を介して連結されている。投与の 7 2 時間後に動物を殺した。リアルタイム P C R を用いて、肝臓における A P O C - I I I m R N A レベルを測定した。標準のプロトコルに従って、A P O C - I I I m R N A レベルをシクロフィリン m R N A レベルに対して標準化した。結果は、生理食塩水対照群と比較した各処理群の A P O C - I I I m R N A レベルの平均パーセントとして表 1 1 2 に提示される。結果は、G a l N A c 共役基を含むオリゴヌクレオチドが、共役基を欠くオリゴヌクレオチドよりも著しく強力であったことを示す。さらに、切断可能部分を介してオリゴヌクレオチドに連結された G a l N A c 共役基を含むオリゴヌクレオチド（I S I S 6 8 0 7 7 2）は、安定した部分を介してオリゴヌクレオチドに連結された G a l N A c 共役基を含むオリゴヌクレオチド（I S I S 6 9 6 8 4 7）よりもさらに強力であった。

30

40

【 1 1 7 9 】

50

## 【表 102】

表 112

マウスAPOC-IIIを標的とする修飾オリゴヌクレオチド

| ISIS番号 | 配列(5'から3')   | CM       | 投与量<br>(mg/kg) | APOC-III<br>mRNA(%<br>PBS) | 配列<br>番号 |
|--------|--|----------|----------------|----------------------------|----------|
| 440670 | ${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$  | 該当なし     | 2              | 92                         | 849      |
|        |  |          | 6              | 86                         |          |
|        |  |          | 20             | 59                         |          |
|        |  |          | 60             | 37                         |          |
| 680772 | $\text{GalNAc}_3\text{-}7_{\text{a-o}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{es}}$<br>$\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$ | PO       | 0.6            | 79                         | 849      |
|        |  |          | 2              | 58                         |          |
|        |  |          | 6              | 31                         |          |
|        |  |          | 20             | 13                         |          |
| 696847 | $\text{GalNAc}_3\text{-}7_{\text{a-s}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$<br>$\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{es}}$<br>$\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$ | 該当なし(PS) | 0.6            | 83                         | 849      |
|        |  |          | 2              | 73                         |          |
|        |  |          | 6              | 40                         |          |
|        |  |          | 20             | 28                         |          |

10

20

## 【1180】

GalNAc<sub>3</sub>-7<sub>a</sub>の構造は、実施例48に示した。

実施例102：GalNAc共役体を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドの肝臓における分布

## 【1181】

GalNAc共役体を含まないISIS 353382（表36を参照のこと）及びGalNAc共役体を含むISIS 655861（表36を参照のこと）の肝臓における分布を評価した。雄balb/cマウスに、ISIS 353382または655861を、表113に列記される投与量で1回、皮下注入した。2匹の動物からなった18mg/kgのISIS 655861群を除いて、各処理群は、3匹の動物からなった。投与の48時間後に動物を殺して、オリゴヌクレオチドの肝臓における分布を決定した。1細胞あたりのアンチセンスオリゴヌクレオチド分子の数を測定するために、ルテニウム（II）トリス-ピリジン標識（MSD TAG、Meso Scale Discovery）を、アンチセンスオリゴヌクレオチドを検出するために用いるオリゴヌクレオチドプローブに共役させた。表113に提示される結果は、1細胞あたり100万オリゴヌクレオチド分子を1単位として表した各処理群のオリゴヌクレオチドの平均濃度である。結果は、等価用量で、GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドが、全肝臓及び肝細胞において、GalNAc共役体を含まないオリゴヌクレオチドよりも高い濃度で存在したことを示す。さらに、GalNAc共役体を含むオリゴヌクレオチドは、非実質肝臓細胞において、GalNAc共役体を含まないオリゴヌクレオチドよりも低い濃度で存在した。1細胞あたりの肝細胞及び非実質肝臓細胞におけるISIS 655861の濃度が同様であった一方で、肝臓は、約80体積%肝細胞であった。したがって、肝臓内に存在するISIS 655861オリゴヌクレオチドの大部分が肝細胞内に見られる一方で、肝臓内に存在するISIS 353382オリゴヌクレオチドの大部分は、非実質肝臓細胞内に見られた。

30

40

## 【1182】

50

## 【表 1 0 3】

## 【表 1 0 3】

## 表 1 1 3

| ISIS 番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | 全肝臓中の濃度(1細胞あたりの分子<br>×10 <sup>6</sup> ) | 肝細胞中の濃度(1細胞あたりの分子<br>×10 <sup>6</sup> ) | 非実質肝臓細胞中の濃度(1細胞あたりの分子<br>×10 <sup>6</sup> ) |
|---------|------------------|---|---|---|
| 353382  | 3                | 9.7                                     | 1.2                                     | 37.2  |
|         | 10               | 17.3                                    | 4.5                                     | 34.0  |
|         | 20               | 23.6                                    | 6.6                                     | 65.6  |
|         | 30               | 29.1                                    | 11.7                                    | 80.0  |
|         | 60               | 73.4                                    | 14.8                                    | 98.0  |
|         | 90               | 89.6                                    | 18.5                                    | 119.9                                       |
| 655861  | 0.5              | 2.6                                     | 2.9                                     | 3.2   |
|         | 1                | 6.2                                     | 7.0                                     | 8.8   |
|         | 3                | 19.1                                    | 25.1                                    | 28.5  |
|         | 6                | 44.1                                    | 48.7                                    | 55.0  |
|         | 18               | 76.6                                    | 82.3                                    | 77.1  |

実施例 1 0 3 : G a l N A c 3 共役体を含む A P O C - I I I を標的とするオリゴヌクレオチドの生体内における作用持続時間

## 【 1 1 8 3】

以下の表 1 1 4 に列記されるオリゴヌクレオチドを、単回投与試験においてマウスにおける作用持続時間について試験した。

## 【 1 1 8 4】

## 【表 1 0 4】

## 表 1 1 4

A P O C - I I I を標的とする修飾 A S O

| ISIS番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配 列<br>番号 |
|--------|---|--------------------------|----------------|-----------|
| 304801 | A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub>   | 該当なし                     | 該当なし           | 821       |
| 663084 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a</sub> -o'-A <sub>do</sub> A <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | A <sub>d</sub> | 837       |
| 679241 | A <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> -GalNAc <sub>3</sub> -19 <sub>a</sub>  | GalNAc <sub>3</sub> -19a | A <sub>d</sub> | 822       |

## 【 1 1 8 5】

G a l N A c 3 - 3 a の構造は、実施例 3 9 に示され、G a l N A c 3 - 1 9 a は、実施例 7 0 に示される。

処理

## 【 1 1 8 6】

ヒト A P O C - I I I を発現する雌トランスジェニックマウスのそれぞれに、表 1 1 4 に列記されるオリゴヌクレオチドまたは P B S を 1 回皮下注入した。各処理群は、3 匹の動物からなった。投薬前に血液を採取して、ベースライン、ならびに投与後 3、7、14、21、28、35、及び 42 日間のレベルを決定した。実施例 2 0 に記載されるように、

血漿トリグリセリド及びA P O C - I I I タンパク質レベルを測定した。表 1 1 5 における結果は、ベースラインレベルに対して標準化された各処理群の血漿トリグリセリド及びA P O C - I I I レベルの平均パーセントとして提示される。実施例 7 9 の表 7 1 における結果と以下の表 1 1 5 における結果の比較は、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部及びホスホロチオエートヌクレオシド間連結部の両方を含むオリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエートヌクレオシド間連結部のみを含む等価オリゴヌクレオチドよりも増加した作用持続時間を示したことを示す。

【 1 1 8 7 】

【表 1 0 5 】

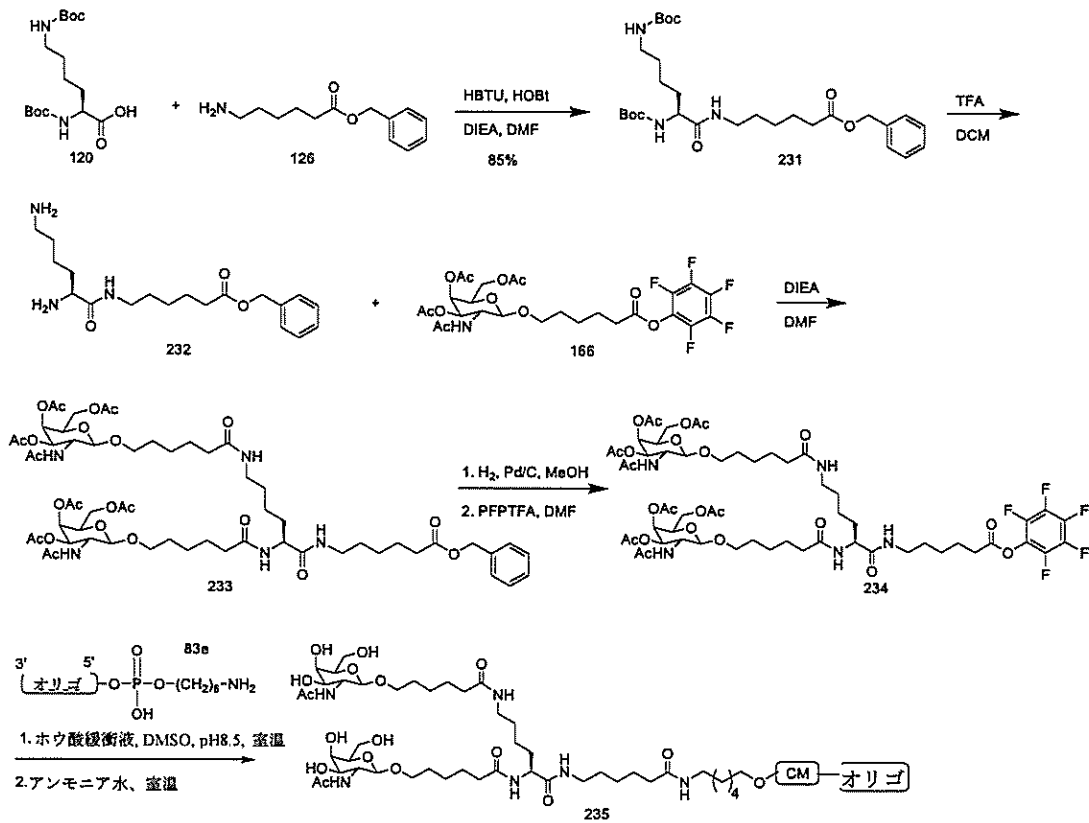
表 1 1 5

トランスジェニックマウスにおける血漿トリグリセリド及びA P O C - I I I タンパク質レベル

| ISIS 番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | 時 点 (投<br>与後の日<br>数) | トリグリセ<br>リド(%ベ<br>ースライン) | APOC-III タ<br>ンパク質(%<br>ベースライ<br>ン) | GalNAc <sub>3</sub> クラ<br>スター | CM             |
|---------|------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------|
| PBS     | 該当なし             | 3                    | 96                       | 101                                 | 該当なし                          | 該当なし           |
|         |                  | 7                    | 88                       | 98                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 91                       | 103                                 |                               |                |
|         |                  | 21                   | 69                       | 92                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 83                       | 81                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 65                       | 86                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 72                       | 88                                  |                               |                |
| 304801  | 30               | 3                    | 42                       | 46                                  | 該当なし                          | 該当なし           |
|         |                  | 7                    | 42                       | 51                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 59                       | 69                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 67                       | 81                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 79                       | 76                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 72                       | 95                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 82                       | 92                                  |                               |                |
| 663084  | 10               | 3                    | 35                       | 28                                  | GalNAc <sub>3</sub> -3a       | A <sub>d</sub> |
|         |                  | 7                    | 23                       | 24                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 23                       | 26                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 23                       | 29                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 30                       | 22                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 32                       | 36                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 37                       | 47                                  |                               |                |
| 679241  | 10               | 3                    | 38                       | 30                                  | GalNAc <sub>3</sub> -19a      | A <sub>d</sub> |
|         |                  | 7                    | 31                       | 28                                  |                               |                |
|         |                  | 14                   | 30                       | 22                                  |                               |                |
|         |                  | 21                   | 36                       | 34                                  |                               |                |
|         |                  | 28                   | 48                       | 34                                  |                               |                |
|         |                  | 35                   | 50                       | 45                                  |                               |                |
|         |                  | 42                   | 72                       | 64                                  |                               |                |

【 1 1 8 8 】

【 化 2 4 6 】



10

20

【 1 1 8 9 】

化合物 120 は市販されており、化合物 126 の合成は実施例 49 に記載されている。化合物 120 (1 g、2.89 mmol)、HBTU (0.39 g、2.89 mmol)、及び HOBt (1.64 g、4.33 mmol) を、DMF (10 mL) 中に溶解し、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (1.75 mL、10.1 mmol) を添加した。約 5 分後、アミノヘキサン酸ベンジルエステル (1.36 g、3.46 mmol) をこの反応物に添加した。3 時間後、反応混合物を 100 mL の 1 M NaHSO<sub>4</sub> に注ぎ、2 × 50 mL 酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせ、40 mL 飽和 NaHCO<sub>3</sub> で 3 回、ブラインで 2 回洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、濃縮した。この生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (DCM : EA : Hex = 1 : 1 : 1) によって精製して、化合物 231 を得た。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。化合物 231 (1.34 g、2.438 mmol) をジクロロメタン (10 mL) 中に溶解し、トリフルオロ酢酸 (10 mL) を添加した。室温で 2 時間撹拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮し、トルエン (3 × 10 mL) と共蒸発させた。残渣を減圧下で乾燥させて、トリフルオロ酢酸塩として化合物 232 を得た。化合物 166 の合成は、実施例 54 に記載される。化合物 166 (3.39 g、5.40 mmol) を DMF (3 mL) 中に溶解した。化合物 232 (1.3 g、2.25 mmol) の溶液を DMF (3 mL) 中に溶解し、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (1.55 mL) を添加した。反応物を室温で 30 分間撹拌し、その後、水 (80 mL) に注ぎ、水層を EtOAc (2 × 100 mL) で抽出した。有機相を分離し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (3 × 80 mL)、1 M NaHSO<sub>4</sub> (3 × 80 mL)、及びブライン (2 × 80 mL) で洗浄し、その後、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物 233 を得た。LCMS 及び NMR は、その構造と一致した。化合物 233 (0.59 g、0.48 mmol) をメタノール (2.2 mL) 及び酢酸エチル (2.2 mL) 中に溶解した。パラジウム炭素 (10 重量 % Pd/C、湿性、0.07 g) を添加し、反

30

40

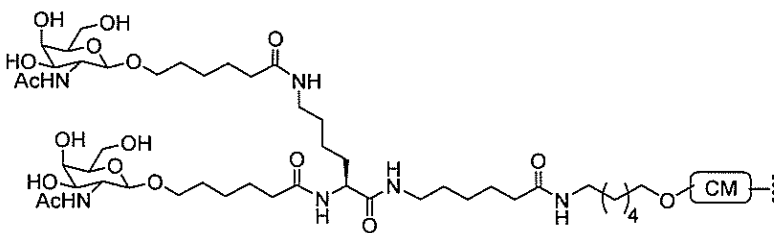
50



応混合物を水素雰囲気下で3時間撹拌した。セライトパッドを通して反応混合物を濾過し、濃縮して、カルボン酸を得た。カルボン酸(1.32g、1.15mmol、クラスター遊離酸)をDMF(3.2mL)中に溶解した。これに、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.3mL、1.73mmol)及びPFPTFA(0.30mL、1.73mmol)を添加した。室温で30分間撹拌した後、反応混合物を水(40mL)に注ぎ、EtOAc(2×50mL)で抽出した。上述のように標準の後処理を完了して、化合物234を得た。LCMS及びNMRは、その構造と一致した。実施例46に記載される一般的手順を用いて、オリゴヌクレオチド235を調製した。共役基GalNAc<sub>2</sub>-24のGalNAc<sub>2</sub>クラスター部分(GalNAc<sub>2</sub>-24a)をオリゴヌクレオチド上に存在する任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を提供することができる。GalNAc<sub>2</sub>-24(GalNAc<sub>2</sub>-24a-CM)の構造は、以下に示される：

【1190】

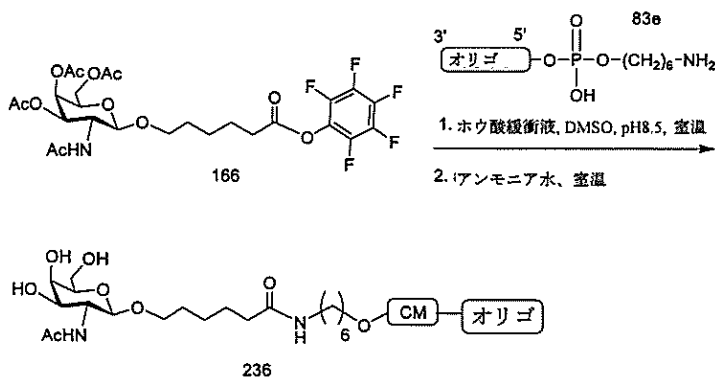
【化247】



実施例105：GalNAc<sub>1</sub>-25共役体を含むオリゴヌクレオチドの合成

【1191】

【化248】



【1192】

化合物166の合成は、実施例54に記載される。実施例46に記載される一般的手順を用いて、オリゴヌクレオチド236を調製した。

【1193】

あるいは、以下に示されるスキームを用いてオリゴヌクレオチド236を合成し、実施例10に記載される手順を用いて、化合物238を用いてオリゴヌクレオチド236を形成した。

【1194】

10

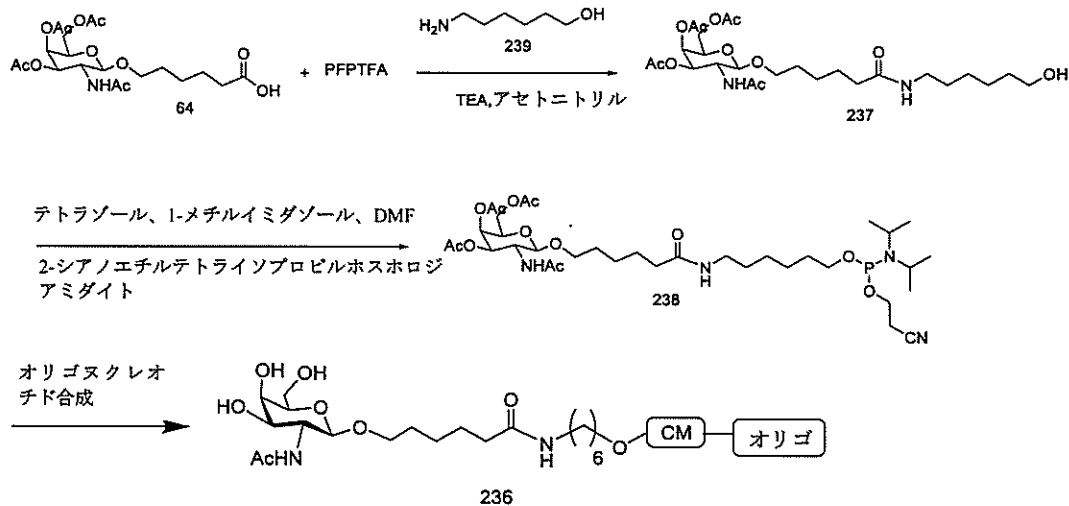
20

30

40

50

## 【化 2 4 9】



10

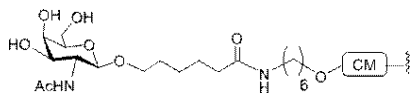
## 【 1 1 9 5】

共役基  $\text{GalNAc}_1 - 25$  の  $\text{GalNAc}_1$  クラスター部分 ( $\text{GalNAc}_1 - 25a$ ) をオリゴヌクレオチド上に存在する任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。  $\text{GalNAc}_1 - 25$  ( $\text{GalNAc}_1 - 25a - \text{CM}$ ) の構造は、以下に示される：

20

## 【 1 1 9 6】

## 【化 2 5 0】



実施例 106：5' -  $\text{GalNAc}_2$  または 5' -  $\text{GalNAc}_3$  共役体を含む  $\text{SRB} - 1$  を標的とするオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

## 【 1 1 9 7】

表 116 及び 117 に列記されるオリゴヌクレオチドを、用量依存的試験においてマウスにおける  $\text{SRB} - 1$  のアンチセンス阻害について試験した。

30

処理

## 【 1 1 9 8】

6 週齢の雄 C57BL/6 マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) に、2、7、もしくは 20 mg/kg の ISIS 番号 440762；または 0.2、0.6、2、6、もしくは 20 mg/kg の ISIS 番号 686221、686222、もしくは 708561；または生理食塩水を 1 回皮下注入した。各処理群は、4 匹の動物からなった。最終投与の 72 時間後にマウスを殺した。リアルタイム PCR を用いて、肝臓における  $\text{SRB} - 1$  mRNA レベルを測定した。標準のプロトコルに従って、 $\text{SRB} - 1$  mRNA レベルをシクロフィリン mRNA レベルに対して標準化した。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、用量依存的様式で  $\text{SRB} - 1$  mRNA レベルを低下させ、ED50 結果が、表 116 及び 117 に提示される。以前の研究において、三価  $\text{GalNAc}$  共役オリゴヌクレオチドが二価  $\text{GalNAc}$  共役オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であり、これは、次いで、一価  $\text{GalNAc}$  共役オリゴヌクレオチドよりも著しく強力であったことが示されたが (例えば、Khorev et al., Bioorg. & Med. Chem., Vol. 16, 5216 - 5231 (2008) を参照のこと)、表 116 及び 117 に示されるように、一価、二価、及び三価  $\text{GalNAc}$  クラスターを含むアンチセンスオリゴヌクレオチドでの処理は、同様の力価で  $\text{SRB} - 1$  mRNA レベルを低下させた。

40

## 【 1 1 9 9】

50

## 【表 106】

表 116

SRB-1 を標的とする修飾オリゴヌクレオチド

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')  | GalNAc クラスタ                          | ED <sub>50</sub> (mg/kg) | 配列番号 |
|---------|---|--------------------------------------|--------------------------|------|
| 440762  | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>  | 該当なし                                 | 4.7                      | 823  |
| 686221  | GalNAc <sub>2</sub> -24 <sub>a-o</sub> ·A <sub>do</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub> | GalNAc <sub>2</sub> -24 <sub>a</sub> | 0.39                     | 827  |
| 686222  | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a-o</sub> ·A <sub>do</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>    | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | 0.41                     | 827  |

10

## 【1200】

表の説明文については、実施例 93 を参照されたい。GalNAc<sub>3</sub>-13<sub>a</sub>の構造は、実施例 62 に示し、GalNAc<sub>2</sub>-24<sub>a</sub>の構造は、実施例 104 に示した。

## 【1201】

## 【表 107】

表 117

SRB-1 を標的とする修飾オリゴヌクレオチド

| ISIS番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc クラスタ                          | ED <sub>50</sub> (mg/kg) | 配列番号 |
|--------|--|--------------------------------------|--------------------------|------|
| 440762 | T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub>   | 該当なし                                 | 5                        | 823  |
| 708561 | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a-o</sub> ·T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>ks</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ks</sub> <sup>m</sup> C <sub>k</sub> | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a</sub> | 0.4                      | 823  |

20

## 【1202】

表の説明文については、実施例 93 を参照されたい。GalNAc<sub>1</sub>-25<sub>a</sub>の構造は、実施例 105 に示した。

## 【1203】

実施例 75 に記載される手順を用いて、表 116 及び 117 における肝臓中のオリゴヌクレオチドの濃度も評価した。以下の表 117a 及び 117b に示される結果は、肝臓組織のオリゴヌクレオチド(μg)/g 単位の UV によって測定された各処理群の平均総アンチセンスオリゴヌクレオチド組織レベルである。結果は、GalNAc 共役基を含むオリゴヌクレオチドが GalNAc 共役基を欠く同一の用量のオリゴヌクレオチドよりも著しく高いレベルで肝臓に蓄積したことを示す。さらに、それらのそれぞれの共役基に 1、2、または 3 個の GalNAc リガンドを含むアンチセンスオリゴヌクレオチドはすべて同様のレベルで肝臓に蓄積した。上記の Khorevet al. の文献参照を考慮すると、これは意外な結果であり、上の表 116 及び 117 に示される活性データと一致する。

40

## 【1204】

## 【表 108】

表 117 a

GalNAc<sub>2</sub>またはGalNAc<sub>3</sub>共役基を含むオリゴヌクレオチドの肝臓中の濃度

| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | [アンチセンスオリゴヌクレオチド]( $\mu$ g/g) | GalNAcクラスター                          | CM             |
|---------|----------------|-------------------------------|--------------------------------------|----------------|
| 440762  | 2              | 2.1                           | 該当なし                                 | 該当なし           |
|         | 7              | 13.1                          |                                      |                |
|         | 20             | 31.1                          |                                      |                |
| 686221  | 0.2            | 0.9                           | GalNAc <sub>2</sub> -24 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> |
|         | 0.6            | 2.7                           |                                      |                |
|         | 2              | 12.0                          |                                      |                |
|         | 6              | 26.5                          |                                      |                |
| 686222  | 0.2            | 0.5                           | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> |
|         | 0.6            | 1.6                           |                                      |                |
|         | 2              | 11.6                          |                                      |                |
|         | 6              | 19.8                          |                                      |                |

10

20

## 【1205】

## 【表 109】

表 117 b

GalNAc<sub>1</sub>共役基を含むオリゴヌクレオチドの肝臓中の濃度

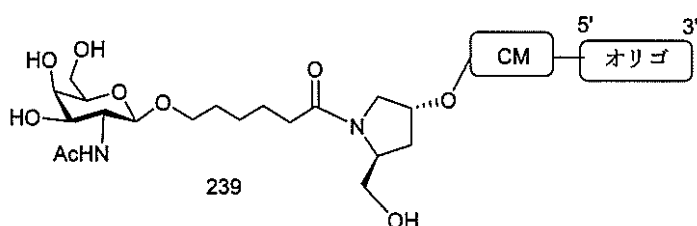
| ISIS 番号 | 投与量<br>(mg/kg) | [アンチセンスオリゴヌクレオチド]( $\mu$ g/g) | GalNAcクラスター                          | CM   |
|---------|----------------|-------------------------------|--------------------------------------|------|
| 440762  | 2              | 2.3                           | 該当なし                                 | 該当なし |
|         | 7              | 8.9                           |                                      |      |
|         | 20             | 23.7                          |                                      |      |
| 708561  | 0.2            | 0.4                           | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a</sub> | PO   |
|         | 0.6            | 1.1                           |                                      |      |
|         | 2              | 5.9                           |                                      |      |
|         | 6              | 23.7                          |                                      |      |
|         | 20             | 53.9                          |                                      |      |

30

実施例 107: GalNAc<sub>1</sub>-26またはGalNAc<sub>1</sub>-27共役体を含むオリゴヌクレオチドの合成

## 【1206】

## 【化 251】



40

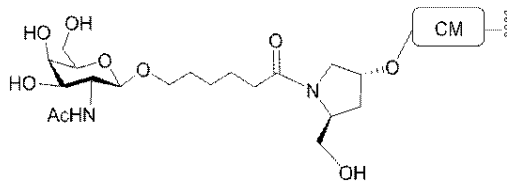
## 【1207】

50

DMF中HBTU及びDIEAを用いて、オリゴヌクレオチド239を化合物47（実施例15を参照のこと）と酸64（実施例32を参照のこと）とのカップリングによって合成する。結果として生じたアミド含有化合物をホスフィチル化し、その後、実施例10に記載される手順を用いて、オリゴヌクレオチドの5'末端に付加する。共役基GalNAc<sub>1</sub>-26のGalNAc<sub>1</sub>クラスター部分（GalNAc<sub>1</sub>-26<sub>a</sub>）をオリゴヌクレオチド上に存在する任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。GalNAc<sub>1</sub>-26（GalNAc<sub>1</sub>-26<sub>a</sub>-CM）の構造は、以下に示される：

【1208】

【化252】



10

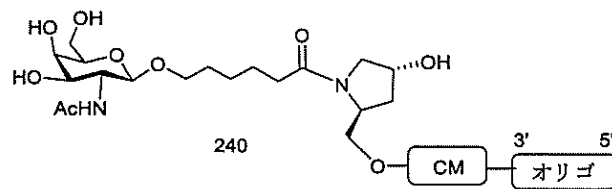
【1209】

GalNAc<sub>1</sub>共役基をオリゴヌクレオチドの3'末端に付加するために、実施例7に記載される手順を用いて、化合物47と64の反応から形成されたアミドを固体支持体に付加する。その後、実施例9に記載される手順を用いて、オリゴヌクレオチド合成を完了して、オリゴヌクレオチド240を形成する。

20

【1210】

【化253】



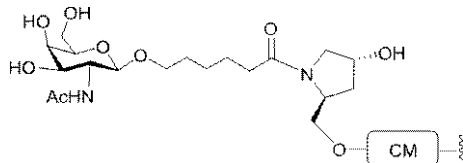
【1211】

共役基GalNAc<sub>1</sub>-27のGalNAc<sub>1</sub>クラスター部分（GalNAc<sub>1</sub>-27<sub>a</sub>）をオリゴヌクレオチド上に存在する任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。GalNAc<sub>1</sub>-27（GalNAc<sub>1</sub>-27<sub>a</sub>-CM）の構造は、以下に示される：

30

【1212】

【化254】



40

実施例108：生体内におけるApo(a)を標的とするGalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドによる生体内におけるアンチセンス阻害

【1213】

以下の表118に列記されるオリゴヌクレオチドを、マウスにおける単回投与試験において試験した。

【1214】

50

## 【表 1 1 0】

表 1 1 8

APO (a) を標的とする修飾ASO

| ISIS番号     | 配列(5'から3')   | GalNAc <sub>3</sub> クラスタ | CM             | 配列番号 |
|------------|--|--------------------------|----------------|------|
| 49437<br>2 | T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | 該当なし                     | 該当なし           | 847  |
| 68125<br>1 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> G <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>    | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 847  |
| 68125<br>5 | GalNAc <sub>3</sub> -3 <sub>a-o</sub> ·T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>    | GalNAc <sub>3</sub> -3a  | PO             | 847  |
| 68125<br>6 | GalNAc <sub>3</sub> -10 <sub>a-o</sub> ·T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | GalNAc <sub>3</sub> -10a | PO             | 847  |
| 68125<br>7 | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>    | GalNAc <sub>3</sub> -7a  | PO             | 847  |
| 68125<br>8 | GalNAc <sub>3</sub> -13 <sub>a-o</sub> ·T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>   | GalNAc <sub>3</sub> -13a | PO             | 847  |
| 68126<br>0 | T <sub>es</sub> G <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> G <sub>eo</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>do</sub> ·GalNAc <sub>3</sub> -19 | GalNAc <sub>3</sub> -19a | A <sub>d</sub> | 854  |

## 【1 2 1 5】

GalNAc<sub>3</sub>-7aの構造は、実施例48に示される。

処理

## 【1 2 1 6】

ヒトApo(a)を発現する雄トランスジェニックマウスのそれぞれに、表119に列記されるオリゴヌクレオチド及び投与量またはPBSを1回皮下注入した。各処理群は、4匹の動物からなった。投薬の前日に血液を採取して、血漿中のApo(a)タンパク質のベースラインレベル及び第1の投与後の1週間時点のレベルを決定した。週1回約8週間、さらに血液を採取する。ELISAを用いて血漿Apo(a)タンパク質レベルを測定した。表119における結果は、ベースラインレベル(%BL)に対して標準化された各処理群の血漿Apo(a)タンパク質レベルの平均パーセントとして提示され、結果は、アンチセンスオリゴヌクレオチドがApo(a)タンパク質の発現を低下させたことを示す。さらに、GalNAc共役基を含むオリゴヌクレオチドは、共役基を含まないオリゴヌクレオチドよりもさらに強力なApo(a)発現の減少を示した。

## 【1 2 1 7】

10

20

30

40

50

## 【表 1 1 1】

表 1 1 9

Apo(a) 血漿タンパク質レベル

| ISIS番号 | 投 与 量<br>(mg/kg) | 1 週 間 時 点 での<br>Apo(a)<br>(%BL) |
|--------|------------------|---------------------------------|
| PBS    | 該当なし             | 143                             |
| 494372 | 50               | 58                              |
| 681251 | 10               | 15                              |
| 681255 | 10               | 14                              |
| 681256 | 10               | 17                              |
| 681257 | 10               | 24                              |
| 681258 | 10               | 22                              |
| 681260 | 10               | 26                              |

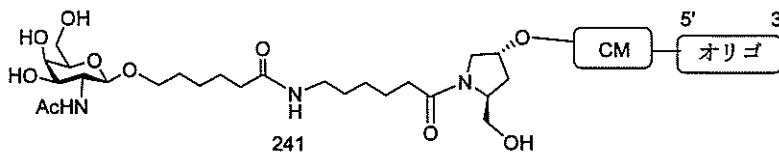
10

実施例 1 0 9 : GalNAc<sub>1</sub> - 2 8 または GalNAc<sub>1</sub> - 2 9 共役体を含むオリゴヌクレオチドの合成

20

## 【 1 2 1 8 】

## 【化 2 5 5】



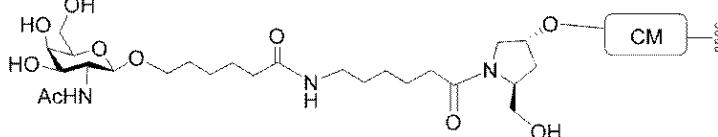
## 【 1 2 1 9 】

オリゴヌクレオチド 2 4 1 を実施例 7 1 に記載される手順と同様の手順を用いて合成して、ホスホラミダイト中間体を形成し、続いて、実施例 1 0 に記載される手順を用いてオリゴヌクレオチドを合成する。共役基 GalNAc<sub>1</sub> - 2 8 の GalNAc<sub>1</sub> クラスター部分 (GalNAc<sub>1</sub> - 2 8 a) をオリゴヌクレオチド上に存在する任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。GalNAc<sub>1</sub> - 2 8 (GalNAc<sub>1</sub> - 2 8 a - CM) の構造は、以下に示される：

30

## 【 1 2 2 0 】

## 【化 2 5 6】



40

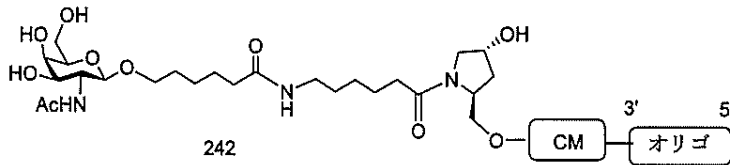
## 【 1 2 2 1 】

GalNAc<sub>1</sub> 共役基をオリゴヌクレオチドの 3' 末端に付加するために、実施例 7 1 に記載される手順と同様の手順を用いてヒドロキシル中間体を形成し、その後、実施例 7 に記載される手順を用いてこれを固体支持体に付加する。その後、実施例 9 に記載される手順を用いてオリゴヌクレオチド合成を完了させて、オリゴヌクレオチド 2 4 2 を形成する。

## 【 1 2 2 2 】

50

## 【化 2 5 7】



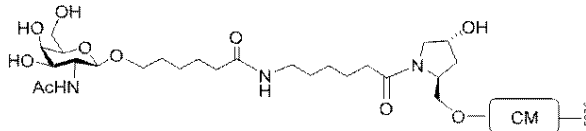
## 【 1 2 2 3】

共役基  $\text{GalNAc}_1 - 29$  の  $\text{GalNAc}_1$  クラスター部分 ( $\text{GalNAc}_1 - 29a$ ) をオリゴヌクレオチド上に存在する任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。  $\text{GalNAc}_1 - 29$  ( $\text{GalNAc}_1 - 29a - \text{CM}$ ) の構造は、以下に示される：

10

## 【 1 2 2 4】

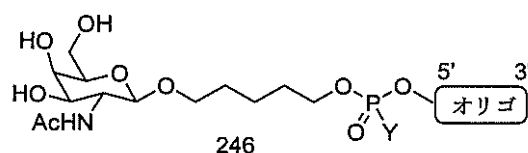
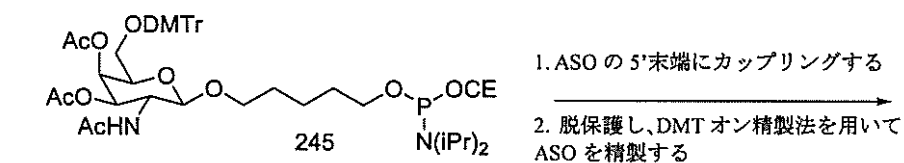
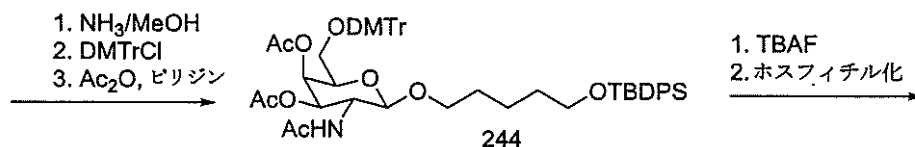
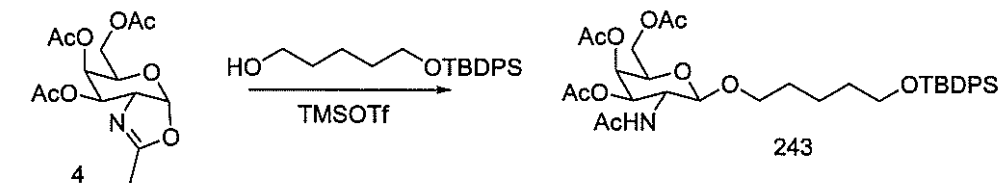
## 【化 2 5 8】



実施例 110 :  $\text{GalNAc}_1 - 30$  共役体を含むオリゴヌクレオチドの合成

## 【 1 2 2 5】

## 【化 2 5 9】



## 【 1 2 2 6】

$\text{GalNAc}_1 - 30$  共役体を含むオリゴヌクレオチド 246 (式中、Y が、O、S、置換もしくは無置換  $\text{C}_{1 \sim 10}$  アルキル、アミノ、置換アミノ、アジド、アルケニル、またはアルキニルから選択される) を上に示されるように合成する。共役基  $\text{GalNAc}_1 - 30$  の  $\text{GalNAc}_1$  クラスター部分 ( $\text{GalNAc}_1 - 30a$ ) を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、Y は、切断可能部分の一部である。特定の実施形態において、Y は、安定した部分の一部であり、切断可能部分は、オリゴヌクレオチド上に存在する。  $\text{GalNAc}_1 - 30a$  の構

30

40

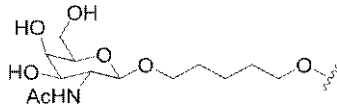
50



造は、以下に示される：

【 1 2 2 7 】

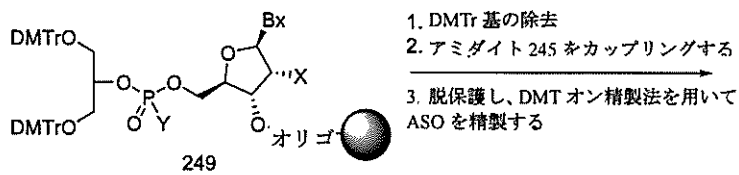
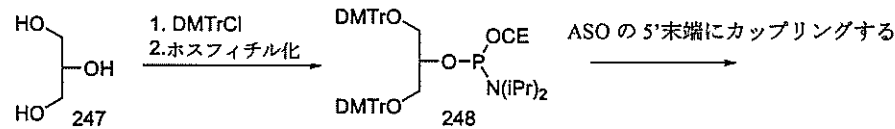
【 化 2 6 0 】



実施例 1 1 1：G a l N A c 2 - 3 1 または G a l N A c 2 - 3 2 共役体を含むオリゴヌクレオチドの合成

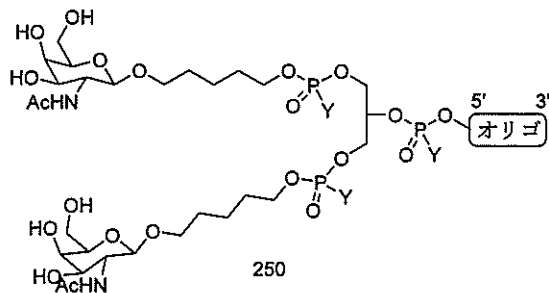
【 1 2 2 8 】

【 化 2 6 1 】



【 1 2 2 9 】

【 化 2 6 2 】



【 1 2 3 0 】

G a l N A c 2 - 3 1 共役基を含むオリゴヌクレオチド 2 5 0 ( 式中、Y が、O、S、置換もしくは無置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、アミノ、置換アミノ、アジド、アルケニル、またはアルキニルから選択される ) を上に示されるように合成する。共役基 G a l N A c 2 - 3 1 の G a l N A c 2 クラスター部分 ( G a l N A c 2 - 3 1 a ) を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの 5' 末端に直接隣接した Y 含有基は、切断可能部分の一部である。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの 5' 末端に直接隣接した Y 含有基は、安定した部分の一部であり、切断可能部分は、オリゴヌクレオチド上に存在する。G a l N A c 2 - 3 1 a の構造は、以下に示される：

【 1 2 3 1 】

10

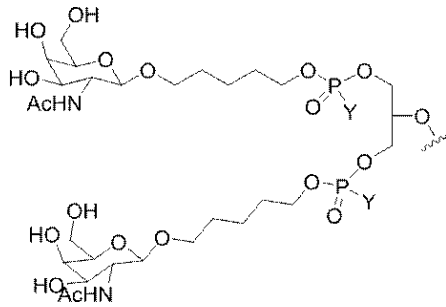
20

30

40

50

## 【化 2 6 3】



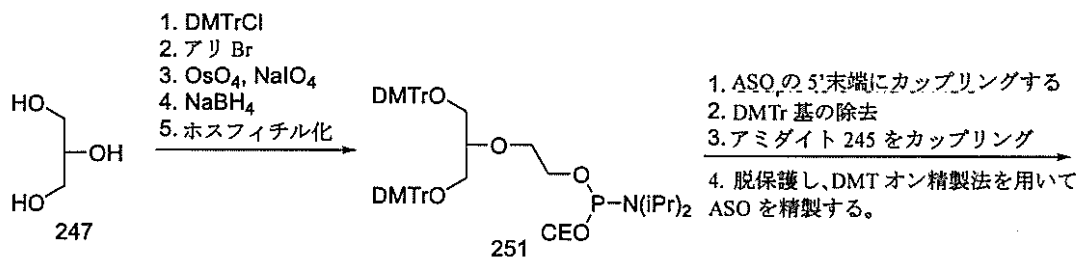
10

## 【 1 2 3 2】

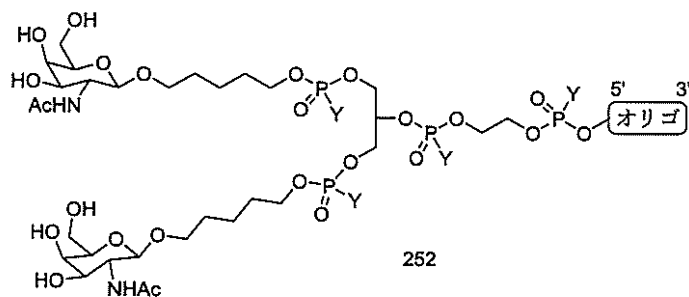
G a l N A c 2 - 3 2 共役体を含むオリゴヌクレオチドの合成は、以下に示される。

## 【 1 2 3 3】

## 【化 2 6 4】



20



30

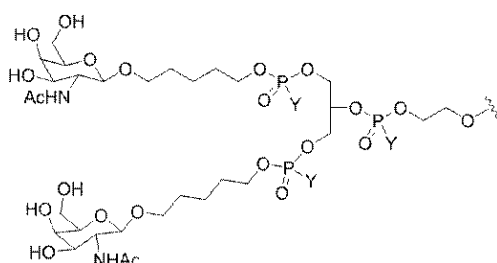
## 【 1 2 3 4】

G a l N A c 2 - 3 2 共役基を含むオリゴヌクレオチド 2 5 2 (式中、Y が、O、S、置換もしくは無置換 C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキル、アミノ、置換アミノ、アジド、アルケニル、またはアルキニルから選択される) を上に示されるように合成する。共役基 G a l N A c 2 - 3 2 の G a l N A c 2 クラスター部分 (G a l N A c 2 - 3 2 a) を任意の切断可能部分と組み合わせて、さまざまな共役基を得ることができる。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの 5' 末端に直接隣接した Y 含有基は、切断可能部分の一部である。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの 5' 末端に直接隣接した Y 含有基は、安定した部分の一部であり、切断可能部分、オリゴヌクレオチド上に存在する。G a l N A c 2 - 3 2 a の構造は、以下に示される：

40

## 【 1 2 3 5】

## 【化 2 6 5】



50

実施例 112 : GalNAc<sub>1</sub> 共役体を含む修飾オリゴヌクレオチド

【 1236 】

SRB-1を標的とする表120のオリゴヌクレオチドをGalNAc<sub>1</sub>共役基で合成して、GalNAcリガンドを含有する共役基を含むオリゴヌクレオチドの力価をさらに試験した。

【 1237 】

【表 112 - 1】

表 120

| ISIS 番号 | 配列(5'から3')   | GalNAc クラスター                         | CM             | 配列番号 |
|---------|--|--------------------------------------|----------------|------|
| 711461  | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a-o</sub> -A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub><br>T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 831  |
| 711462  | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a-o</sub> -G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                    | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 711463  | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a-o</sub> -G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                    | GalNAc <sub>1</sub> -25 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 711465  | GalNAc <sub>1</sub> -26 <sub>a-o</sub> -A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub><br>T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>1</sub> -26 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 831  |
| 711466  | GalNAc <sub>1</sub> -26 <sub>a-o</sub> -G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                    | GalNAc <sub>1</sub> -26 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 711467  | GalNAc <sub>1</sub> -26 <sub>a-o</sub> -G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                    | GalNAc <sub>1</sub> -26 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 711468  | GalNAc <sub>1</sub> -28 <sub>a-o</sub> -A <sub>do</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub><br>T <sub>es</sub> T <sub>e</sub> | GalNAc <sub>1</sub> -28 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 831  |
| 711469  | GalNAc <sub>1</sub> -28 <sub>a-o</sub> -G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                    | GalNAc <sub>1</sub> -28 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 711470  | GalNAc <sub>1</sub> -28 <sub>a-o</sub> -G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>e</sub>                    | GalNAc <sub>1</sub> -28 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 713844  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> ·GalNAc <sub>1</sub> -27 <sub>a</sub>                     | GalNAc <sub>1</sub> -27 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 713845  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub><br>T <sub>eo</sub> ·GalNAc <sub>1</sub> -27 <sub>a</sub>                  | GalNAc <sub>1</sub> -27 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 713846  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub><br>A <sub>do</sub> ·GalNAc <sub>1</sub> -27 <sub>a</sub>  | GalNAc <sub>1</sub> -27 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 830  |
| 713847  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> ·GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub>                     | GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 713848  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub><br>G <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub><br>T <sub>eo</sub> ·GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub>                  | GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub> | PO             | 829  |
| 713849  | G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> A <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br>A <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> T <sub>es</sub> T <sub>eo</sub><br>A <sub>do</sub> ·GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub>  | GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 830  |

【 1238 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 2 - 2】

|        |  |                                      |                |     |
|--------|--|--------------------------------------|----------------|-----|
| 713850 | $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds}$<br>$G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_{eo}$<br>$A_{do} \cdot GalNAc_1-29_a$ | GalNAc <sub>1</sub> -29 <sub>a</sub> | A <sub>d</sub> | 830 |
|--------|--|--------------------------------------|----------------|-----|

【 1 2 3 9】

実施例 1 1 3 : C F B を標的とするオリゴヌクレオチドによるインビボでのアンチセンス阻害

表 1 2 1 に列挙するオリゴヌクレオチドを、マウスにおけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害について、用量依存的試験で調べた。

【 1 2 4 0】

【表 1 1 3】

表 1 2 1 : C F B を標的とする修飾 A S O

| ISIS<br>番号 | 配列(5'→3')  | GalNAc <sub>3</sub><br>クラスター | CM        | 配列<br>番号 |
|------------|--|------------------------------|-----------|----------|
| 588540     | $A_{es} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} A_{ds}^m C_{ds} G_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m$<br>$C_{ds}^m C_{ds} T_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{es}^m C_{es} A_{es} G_{es}^m C_e$                            | 該当なし                         | 該 当<br>なし | 440      |
| 687301     | $GalNAc_3-3_a-o \cdot A_{es} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} A_{ds}^m C_{ds}$<br>$G_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds} T_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{es}$<br>$^m C_{es} A_{es} G_{es}^m C_e$ | GalNAc <sub>3</sub> -3a      | PO        | 440      |

GalNAc<sub>3</sub>-3<sub>a</sub> の構造は上記実施例 3 9 で示した。

【 1 2 4 1】

#### 処置

ヒト C F B を発現するトランスジェニックマウス ( Jackson Laboratory , メイン州バーハーバー ) に、表 1 2 2 に列挙するオリゴヌクレオチドまたは生理食塩水を週に 1 回、3 週にわたって皮下注射した ( 合計 4 回 ) 。 ISIS 番号 5 8 8 5 4 0 を投与した 4 つの処置群には、1 回あたり 6 、 1 2 、 2 5 、または 5 0 m g / k g を与えた。 ISIS 番号 6 8 7 3 0 1 を投与した 4 つの処置群には、1 回あたり 0 . 2 5 、 0 . 5 、 2 、または 6 m g / k g を与えた。各処置群は 4 匹からなった。最後の投与の 2 日後にマウスを 殺し、肝臓及び腎臓のヒト C F B 及びシクロフィリン mRNA レベルを、リアルタイム P C R を用いて標準的のプロトコルに従って決定した。 C F B mRNA レベルをシクロフィリンレベルに対して標準化し、各処置群の平均を使って、ヒト C F B 転写産物発現の 5 0 % 阻害を達成する用量 ( E D 5 0 ) を決定した。結果は、2 つの異なるプライマープロベセットを使って実施した 4 回の実験の平均であり、これを表 1 2 2 に示す。

【 1 2 4 2】

10

20

30

40

50

## 【表 1 1 4】

表 1 2 2 : ヒト C F B を標的とするオリゴヌクレオチドのインビボでの力価

| ISIS番号 | 肝臓における<br>ED <sub>50</sub> (mg/kg) | 腎臓における<br>ED <sub>50</sub> (mg/kg) | GalNAc <sub>3</sub><br>クラスター | CM   |
|--------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------|
| 588540 | 7.9                                | 11.7                               | 該当なし                         | 該当なし |
| 687301 | 0.49                               | 0.35                               | GalNAc <sub>3</sub> -3a      | PO   |

## 【 1 2 4 3 】

血清中の肝臓トランスアミナーゼレベル、アラニンアミノトランスフェラーゼ ( A L T ) 及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ( A S T ) を、標準的プロトコルを使って、生理食塩水注射マウスとの比較で相対的に測定した。総ビリルビン、B U N、及び体重も評価した。その結果から、どの処置群にも生理食塩水処置群との比較で有意な変化がないことがわかった ( データ省略 )。これは、どちらのオリゴヌクレオチドも耐容性が非常に高かったことを示している。

10

## 【 1 2 4 4 】

実施例 1 1 4 : C F B を標的とするオリゴヌクレオチドによるインビボでのアンチセンス阻害

表 1 2 3 に列挙するオリゴヌクレオチドを、マウスにおけるヒト C F B のアンチセンス阻害について、用量依存的試験で調べた。

20

## 【 1 2 4 5 】

処置

ヒト C F B を発現するトランスジェニックマウス ( J a c k s o n L a b o r a t o r y , メイン州バーハーバー ) に、0 . 6、1、6、または 1 8 m g / k g の表 1 2 3 に列挙したオリゴヌクレオチドまたは生理食塩水を 1 回皮下注射した。各処置群は 4 匹または 5 匹からなった。この投薬の 7 2 時間後にマウスを 殺し、肝臓のヒト C F B 及びシクロフィリン m R N A レベルを、リアルタイム P C R を用いて標準的プロトコルに従って決定した。C F B m R N A レベルをシクロフィリンレベルに対して標準化し、各処置群の平均を使って、ヒト C F B 転写産物発現の 5 0 % 阻害を達成する用量 ( E D 5 0 ) を決定した。結果を表 1 2 3 に示す。

30

## 【 1 2 4 6 】

40

50

## 【表 1 1 5】

表 1 2 3 : C F B を標的とする修飾 A S O

| ISIS<br>番号 | 配列(5'→3')   | GalNAc <sub>3</sub><br>クラスター | CM | 肝臓における<br>ED <sub>50</sub><br>(mg/kg) | 配列<br>番号 |
|------------|---|------------------------------|----|---------------------------------------|----------|
| 696844     | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub> <sup>m</sup><br>C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A<br><sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                              | GalNAc <sub>3</sub> -7a      | PO | 0.86                                  | 440      |
| 696845     | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A<br><sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                              | GalNAc <sub>3</sub> -7a      | PO | 0.71                                  | 440      |
| 698969     | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·A <sub>es</sub> T <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>es</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub> | GalNAc <sub>3</sub> -7a      | PO | 0.51                                  | 440      |
| 698970     | GalNAc <sub>3</sub> -7 <sub>a-o</sub> ·A <sub>es</sub> T <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>ds</sub><br><sup>m</sup> C <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> G <sub>ds</sub> T <sub>ds</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> <sup>m</sup> C <sub>eo</sub> A <sub>es</sub> G <sub>es</sub> <sup>m</sup> C <sub>e</sub>                              | GalNAc <sub>3</sub> -7a      | PO | 0.55                                  | 440      |

GalNAc<sub>3</sub>-7a の構造は上記実施例 48 で示した。

## 【 1 2 4 7 】

実施例 1 1 5 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、C F B m R N A に対するそれらの効果をインピトロで試験した。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、培養条件が類似する一連の実験で試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。1 ウェルあたり 20,000 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、4,500 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 24 時間の処理期間後に、細胞から R N A を単離し、定量リアルタイム P C R によって C F B m R N A レベルを測定した。ヒトプライマープローブセ

ット R T S 3 4 5 9 ( フォワード配列 A G T C T C T G T G G C A T G G T T T G G , 本明細書では配列番号 8 1 0 と呼ぶ ; リバース配列 G G G C G A A T G A C T G A G A T C T T G , 本明細書では配列番号 8 1 1 と呼ぶ ; プローブ配列 T A C C G A T T A C C A C A A G C A A C C A T G G C A , 本明細書では配列番号 8 1 2 と呼ぶ ) を使って m R N A レベルを測定した。 R I B O G R E E N ( 登録商標 ) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

【 1 2 4 8 】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーとして設計された。これらの 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 ' ウイングセグメント中の各ヌクレオシドと 3 ' ウイングセグメント中の各ヌクレオシドは 2 ' - M O E 修飾を有する。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート ( P = S ) 連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5 - メチルシトシンである。「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 5 ' 側のヌクレオシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 3 ' 側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号 1 と呼ぶヒト C F B m R N A ( G E N B A N K アクセッション番号 N M \_ 0 0 1 7 1 0 . 5 ) もしくは本明細書において配列番号 2 と呼ぶヒト C F B ゲノム配列 ( ヌクレオチド 3 1 8 5 2 0 0 0 から 3 1 8 6 1 0 0 0 までを切り出した G E N B A N K アクセッション番号 N T \_ 0 0 7 5 9 2 . 1 5 ) 、またはその両方を標的とする。「 n / a 」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を 1 0 0 % の相補性では標的としないことを示す。

【 1 2 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 6 - 1】

表 1 2 4 : 配列番号 1 及び配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終止<br>部位 | 標的<br>領域         | 配列                   | %<br>阻害 | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終止<br>部位 | 配列<br>番号 |
|------------|---------------------------|---------------------------|------------------|----------------------|---------|---------------------------|---------------------------|----------|
| 532608     | 20                        | 39                        | エクソン 1           | GCTGAGCTGCCAGTCAAGGA | 36      | 1741                      | 1760                      | 6        |
| 532609     | 26                        | 45                        | エクソン 1           | GGCCCCGCTGAGCTGCCAGT | 16      | 1747                      | 1766                      | 7        |
| 532610     | 45                        | 64                        | エクソン 1           | CGGAACATCCAAGCGGGAGG | 11      | 1766                      | 1785                      | 8        |
| 532611     | 51                        | 70                        | エクソン 1           | CTTTCCCGGAACATCCAAGC | 26      | 1772                      | 1791                      | 9        |
| 532612     | 100                       | 119                       | エクソン 1           | ATCTGTGTTCTGGCACCTGC | 25      | 1821                      | 1840                      | 10       |
| 532613     | 148                       | 167                       | エクソン 1           | GTCACATTCCCTTCCCCTGC | 39      | 1869                      | 1888                      | 11       |
| 532614     | 154                       | 173                       | エクソン 1           | GACCTGGTCACATTCCCTTC | 71      | 1875                      | 1894                      | 12       |
| 532615     | 160                       | 179                       | エクソン 1           | GACCTAGACCTGGTCACATT | 35      | 1881                      | 1900                      | 13       |
| 532616     | 166                       | 185                       | エクソン 1           | ACTCCAGACCTAGACCTGGT | 39      | 1887                      | 1906                      | 14       |
| 532617     | 172                       | 191                       | エクソン 1           | GCTGAAACTCCAGACCTAGA | 27      | 1893                      | 1912                      | 15       |
| 532618     | 178                       | 197                       | エクソン 1           | GTCCAAGCTGAAACTCCAGA | 29      | 1899                      | 1918                      | 16       |
| 532619     | 184                       | 203                       | エクソン 1           | CTCAGTGTCCAAGCTGAAAC | 21      | 1905                      | 1924                      | 17       |
| 532620     | 246                       | 265                       | エクソン 1           | AGGAGAGAAGCTGGGCCTGG | 31      | 1967                      | 1986                      | 18       |
| 532621     | 252                       | 271                       | エクソン 1           | GAAGGCAGGAGAGAAGCTGG | 25      | 1973                      | 1992                      | 19       |
| 532622     | 336                       | 355                       | エクソン 1<br>-2 接合部 | GTGGTGGTCACACCTCCAGA | 28      | n/a                       | n/a                       | 20       |
| 532623     | 381                       | 400                       | エクソン 2           | CCCTCCAGAGAGCAGGATCC | 22      | 2189                      | 2208                      | 21       |
| 532624     | 387                       | 406                       | エクソン 2           | TCTACCCCCTCCAGAGAGCA | 37      | 2195                      | 2214                      | 22       |
| 532625     | 393                       | 412                       | エクソン 2           | TTGATCTCTACCCCCTCCAG | 30      | 2201                      | 2220                      | 23       |
| 532626     | 417                       | 436                       | エクソン 2           | TGGAGAAGTCGGAAGGAGCC | 35      | 2225                      | 2244                      | 24       |
| 532627     | 423                       | 442                       | エクソン 2           | CCCTCTTGGAAGAAGTCGGA | 37      | 2231                      | 2250                      | 25       |
| 532628     | 429                       | 448                       | エクソン 2           | GCCTGGCCCTCTTGGAAGA  | 0       | 2237                      | 2256                      | 26       |
| 532629     | 435                       | 454                       | エクソン 2           | TCCAGTGCCTGGCCCTCTTG | 26      | 2243                      | 2262                      | 27       |
| 532630     | 458                       | 477                       | エクソン 2           | AGAAGCCAGAAGGACACACG | 30      | 2266                      | 2285                      | 28       |
| 532631     | 464                       | 483                       | エクソン 2           | ACGGGTAGAAGCCAGAAGGA | 43      | 2272                      | 2291                      | 29       |
| 532632     | 480                       | 499                       | エクソン 2           | CGTGTCTGCACAGGGTACGG | 57      | 2288                      | 2307                      | 30       |
| 532633     | 513                       | 532                       | エクソン 2           | AGGGTGCTCCAGGACCCCGT | 27      | 2321                      | 2340                      | 31       |
| 532634     | 560                       | 579                       | エクソン 2<br>-3 接合部 | TTGCTCTGCACTCTGCCTTC | 41      | n/a                       | n/a                       | 32       |
| 532635     | 600                       | 619                       | エクソン 3           | TATCCCCGTTCTCGAAGTC  | 67      | 2808                      | 2827                      | 33       |
| 532636     | 626                       | 645                       | エクソン 3           | CATTGTAGTAGGGAGACCGG | 24      | 2834                      | 2853                      | 34       |
| 532637     | 632                       | 651                       | エクソン 3           | CACTCACATTGTAGTAGGGA | 49      | 2840                      | 2859                      | 35       |

【 1 2 5 0 】

10

20

30

40

50



【表 1 1 6 - 2】

|        |     |     |                  |                       |    |      |      |    |
|--------|-----|-----|------------------|-----------------------|----|------|------|----|
| 532638 | 638 | 657 | エクソン 3           | TCTCATCACTCACATTGTAG  | 50 | 2846 | 2865 | 36 |
| 532639 | 644 | 663 | エクソン 3           | AAGAGATCTCATCACTCACA  | 52 | 2852 | 2871 | 37 |
| 532640 | 650 | 669 | エクソン 3           | AGTGGAAGAGATCTCATCA   | 34 | 2858 | 2877 | 38 |
| 532641 | 656 | 675 | エクソン 3           | CATAGCAGTGGAAAGAGATC  | 32 | 2864 | 2883 | 39 |
| 532642 | 662 | 681 | エクソン 3           | AACCGTCATAGCAGTGGAAA  | 45 | 2870 | 2889 | 40 |
| 532643 | 668 | 687 | エクソン 3           | GAGTGTAACCGTCATAGCAG  | 36 | 2876 | 2895 | 41 |
| 532644 | 674 | 693 | エクソン 3           | CCCGGAGAGTGTAACCGTCA  | 30 | 2882 | 2901 | 42 |
| 532645 | 680 | 699 | エクソン 3           | CAGAGCCCCGGAGAGTGTA   | 27 | 2888 | 2907 | 43 |
| 532646 | 686 | 705 | エクソン 3           | GATTGGCAGAGCCCCGGAGA  | 20 | 2894 | 2913 | 44 |
| 532647 | 692 | 711 | エクソン 3           | AGGTGCGATTGGCAGAGCCC  | 28 | 2900 | 2919 | 45 |
| 532648 | 698 | 717 | エクソン 3           | CTTGGCAGGTGCGATTGGCA  | 24 | 2906 | 2925 | 46 |
| 532649 | 704 | 723 | エクソン 3           | CATTCACTTGGCAGGTGCGA  | 28 | 2912 | 2931 | 47 |
| 532650 | 729 | 748 | エクソン 3           | ATCGCTGTCTGCCCCACTCCA | 44 | 2937 | 2956 | 48 |
| 532651 | 735 | 754 | エクソン 3           | TCACAGATCGCTGTCTGCCC  | 44 | 2943 | 2962 | 49 |
| 532652 | 741 | 760 | エクソン 3           | CCGTTGTCACAGATCGCTGT  | 27 | 2949 | 2968 | 50 |
| 532653 | 747 | 766 | エクソン 3<br>-4 接合部 | CCCCTCCGTTGTCACAGAT   | 28 | n/a  | n/a  | 51 |
| 532654 | 753 | 772 | エクソン 3<br>-4 接合部 | CAGTACCCCGCTCCGTTGTC  | 13 | n/a  | n/a  | 52 |
| 532655 | 759 | 778 | エクソン 3<br>-4 接合部 | TTGGAGCAGTACCCCGCTCC  | 8  | n/a  | n/a  | 53 |
| 532656 | 789 | 808 | エクソン 4           | ACCTTCCTTGTGCCAATGGG  | 40 | 3152 | 3171 | 54 |
| 532657 | 795 | 814 | エクソン 4           | CTGCCCACCTTCCTTGTGCC  | 41 | 3158 | 3177 | 55 |
| 532658 | 818 | 837 | エクソン 4           | CGCTGTCTTCAAGGCGGTAC  | 33 | 3181 | 3200 | 56 |
| 532659 | 835 | 854 | エクソン 4           | GCTGCAGTGGTAGGTGACGC  | 32 | 3198 | 3217 | 57 |
| 532660 | 841 | 860 | エクソン 4           | CCCCGGCTGCAGTGGTAGG   | 17 | 3204 | 3223 | 58 |
| 532661 | 847 | 866 | エクソン 4           | GGTAAGCCCCCGCTGCAGT   | 28 | 3210 | 3229 | 59 |
| 532662 | 853 | 872 | エクソン 4           | ACGCAGGGTAAGCCCCCGGC  | 13 | 3216 | 3235 | 60 |
| 532663 | 859 | 878 | エクソン 4           | GGAGCCACGCAGGGTAAGCC  | 33 | 3222 | 3241 | 61 |
| 532664 | 866 | 885 | エクソン 4           | GCCGCTGGGAGCCACGCAGG  | 10 | 3229 | 3248 | 62 |
| 532665 | 891 | 910 | エクソン 4           | CAAGAGCCACCTTCCTGACA  | 17 | 3254 | 3273 | 63 |
| 532666 | 897 | 916 | エクソン 4           | CCGCTCCAAGAGCCACCTTC  | 25 | 3260 | 3279 | 64 |
| 532667 | 903 | 922 | エクソン 4           | TCCGTCCCGCTCCAAGAGCC  | 29 | 3266 | 3285 | 65 |
| 532668 | 909 | 928 | エクソン 4           | GAAGGCTCCGTCCCGCTCCA  | 14 | 3272 | 3291 | 66 |
| 532669 | 915 | 934 | エクソン 4           | TGGCAGGAAGGCTCCGTCCC  | 18 | 3278 | 3297 | 67 |
| 532670 | 921 | 940 | エクソン 4<br>-5 接合部 | GAGTCTTGGCAGGAAGGCTC  | 20 | n/a  | n/a  | 68 |

【 1 2 5 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 6 - 3】

|        |      |      |                  |                       |    |      |      |    |
|--------|------|------|------------------|-----------------------|----|------|------|----|
| 532671 | 927  | 946  | エクソン 4<br>-5 接合部 | ATGAAGGAGTCTTGGCAGGA  | 14 | n/a  | n/a  | 69 |
| 532672 | 956  | 975  | エクソン 5           | CTTCGGCCACCTCTTGAGGG  | 45 | 3539 | 3558 | 70 |
| 532673 | 962  | 981  | エクソン 5           | GGAAAGCTTCGGCCACCTCT  | 37 | 3545 | 3564 | 71 |
| 532674 | 968  | 987  | エクソン 5           | AAGACAGGAAAGCTTCGGCC  | 28 | 3551 | 3570 | 72 |
| 532675 | 974  | 993  | エクソン 5           | TCAGGGAAGACAGGAAAGCT  | 16 | 3557 | 3576 | 73 |
| 532676 | 996  | 1015 | エクソン 5           | TCGACTCCTTCTATGGTCTC  | 31 | 3579 | 3598 | 74 |
| 532677 | 1033 | 1052 | エクソン 5<br>-6 接合部 | CTTCTGTTGTTCCCCTGGGC  | 36 | n/a  | n/a  | 75 |
| 532678 | 1068 | 1087 | エクソン 6           | TTCATGGAGCCTGAAGGGTC  | 19 | 3752 | 3771 | 76 |
| 532679 | 1074 | 1093 | エクソン 6           | TAGATGTTTCATGGAGCCTGA | 24 | 3758 | 3777 | 77 |
| 532680 | 1080 | 1099 | エクソン 6           | ACCAGGTAGATGTTTCATGGA | 13 | 3764 | 3783 | 78 |
| 532681 | 1086 | 1105 | エクソン 6           | TCTAGCACCAGGTAGATGTT  | 20 | 3770 | 3789 | 79 |
| 532682 | 1092 | 1111 | エクソン 6           | GATCCATCTAGCACCAGGTA  | 33 | 3776 | 3795 | 80 |
| 532683 | 1098 | 1117 | エクソン 6           | CTGTCTGATCCATCTAGCAC  | 44 | 3782 | 3801 | 81 |
| 532684 | 1104 | 1123 | エクソン 6           | CCAATGCTGTCTGATCCATC  | 29 | 3788 | 3807 | 82 |
| 532685 | 1129 | 1148 | エクソン 6           | TTTGGCTCCTGTGAAGTTGC  | 40 | 3813 | 3832 | 83 |

10

20

【 1 2 5 2 】

30

40

50

## 【表 1 1 7 - 1】

表 1 2 5 : 配列番号 1 及び配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終止<br>部位 | 標的領域             | 配列                   | %<br>阻<br>害 | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終止<br>部位 | 配列<br>番号 |
|------------|---------------------------|---------------------------|------------------|----------------------|-------------|---------------------------|---------------------------|----------|
| 532686     | 1135                      | 1154                      | エクソン 6           | ACACTTTTTGGCTCCTGTGA | 91          | 3819                      | 3838                      | 84       |
| 532687     | 1141                      | 1160                      | エクソン 6           | GACTAGACACTTTTTGGCTC | 77          | 3825                      | 3844                      | 85       |
| 532688     | 1147                      | 1166                      | エクソン 6           | TAAGTTGACTAGACACTTTT | 70          | 3831                      | 3850                      | 86       |
| 532689     | 1153                      | 1172                      | エクソン 6           | CTCAATTAAGTTGACTAGAC | 61          | 3837                      | 3856                      | 87       |
| 532690     | 1159                      | 1178                      | エクソン 6<br>-7 接合部 | CACCTTCTCAATTAAGTTGA | 57          | 3843                      | 3862                      | 88       |
| 532691     | 1165                      | 1184                      | エクソン 6<br>-7 接合部 | ACTTGCCACCTTCTCAATTA | 56          | n/a                       | n/a                       | 89       |
| 532692     | 1171                      | 1190                      | エクソン 6<br>-7 接合部 | ACCATAACTTGCCACCTTCT | 56          | n/a                       | n/a                       | 90       |
| 532693     | 1177                      | 1196                      | エクソン 7           | CTTCACACCATAACTTGCCA | 56          | 4153                      | 4172                      | 91       |
| 532694     | 1183                      | 1202                      | エクソン 7           | TCTTGCTTCACACCATAAC  | 55          | 4159                      | 4178                      | 92       |
| 532695     | 1208                      | 1227                      | エクソン 7           | ATGTGGCATATGTCCTAGTA | 55          | 4184                      | 4203                      | 93       |
| 532696     | 1235                      | 1254                      | エクソン 7           | CAGACACTTTGACCCAAATT | 55          | 4211                      | 4230                      | 94       |
| 532697     | 1298                      | 1317                      | エクソン 7<br>-8 接合部 | GGTCTTCATAATTGATTCA  | 53          | n/a                       | n/a                       | 95       |
| 532698     | 1304                      | 1323                      | エクソン 7<br>-8 接合部 | ACTTGTGGTCTTCATAATTG | 53          | n/a                       | n/a                       | 96       |
| 532699     | 1310                      | 1329                      | エクソン 7<br>-8 接合部 | ACTTCAACTTGTGGTCTTCA | 52          | n/a                       | n/a                       | 97       |
| 532700     | 1316                      | 1335                      | エクソン 8           | TCCCTGACTTCAACTTGTGG | 52          | 4609                      | 4628                      | 98       |
| 532701     | 1322                      | 1341                      | エクソン 8           | TGTTAGTCCCTGACTTCAAC | 52          | 4615                      | 4634                      | 99       |
| 532702     | 1328                      | 1347                      | エクソン 8           | TCTTGGTGTTAGTCCCTGAC | 51          | 4621                      | 4640                      | 100      |
| 532703     | 1349                      | 1368                      | エクソン 8           | TGTACACTGCCTGGAGGGCC | 51          | 4642                      | 4661                      | 101      |
| 532704     | 1355                      | 1374                      | エクソン 8           | TCATGCTGTACACTGCCTGG | 51          | 4648                      | 4667                      | 102      |
| 532705     | 1393                      | 1412                      | エクソン 8           | GTTCCAGCCTTCAGGAGGGA | 50          | 4686                      | 4705                      | 103      |
| 532706     | 1399                      | 1418                      | エクソン 8           | GGTGCGGTTCCAGCCTTCAG | 50          | 4692                      | 4711                      | 104      |
| 532707     | 1405                      | 1424                      | エクソン 8           | ATGGCGGGTGCGGTTCCAGC | 50          | 4698                      | 4717                      | 105      |
| 532708     | 1411                      | 1430                      | エクソン 8           | GATGACATGGCGGGTGCGGT | 49          | 4704                      | 4723                      | 106      |
| 532709     | 1417                      | 1436                      | エクソン 8           | GAGGATGATGACATGGCGGG | 49          | 4710                      | 4729                      | 107      |
| 532710     | 1443                      | 1462                      | エクソン 8<br>-9 接合部 | CCCATGTTGTGCAATCCATC | 48          | n/a                       | n/a                       | 108      |

## 【 1 2 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 7 - 2】

|        |      |      |                   |                       |    |      |      |     |
|--------|------|------|-------------------|-----------------------|----|------|------|-----|
| 532711 | 1449 | 1468 | エクソン 9            | TCCCCGCCCCATGTTGTGCAA | 48 | 5023 | 5042 | 109 |
| 532712 | 1455 | 1474 | エクソン 9            | ATTGGGTCCCCGCCCCATGTT | 48 | 5029 | 5048 | 110 |
| 532713 | 1461 | 1480 | エクソン 9            | ACAGTAATTGGGTCCCCGCC  | 48 | 5035 | 5054 | 111 |
| 532714 | 1467 | 1486 | エクソン 9            | TCAATGACAGTAATTGGGTC  | 47 | 5041 | 5060 | 112 |
| 532715 | 1473 | 1492 | エクソン 9            | ATCTCATCAATGACAGTAAT  | 47 | 5047 | 5066 | 113 |
| 532716 | 1479 | 1498 | エクソン 9            | TCCCGGATCTCATCAATGAC  | 46 | 5053 | 5072 | 114 |
| 532717 | 1533 | 1552 | エクソン 9<br>-10 接合部 | ACATCCAGATAATCCTCCCT  | 46 | n/a  | n/a  | 115 |
| 532718 | 1539 | 1558 | エクソン 9<br>-10 接合部 | ACATAGACATCCAGATAATC  | 46 | n/a  | n/a  | 116 |
| 532719 | 1545 | 1564 | エクソン 9<br>-10 接合部 | CCAAACACATAGACATCCAG  | 46 | n/a  | n/a  | 117 |
| 532720 | 1582 | 1601 | エクソン 10           | AGCATTGATGTTCACTTGGT  | 46 | 5231 | 5250 | 118 |
| 532721 | 1588 | 1607 | エクソン 10           | AGCCAAAGCATTGATGTTCA  | 45 | 5237 | 5256 | 119 |
| 532722 | 1594 | 1613 | エクソン 10           | CTTGGAAGCCAAAGCATTGA  | 45 | 5243 | 5262 | 120 |
| 532723 | 1600 | 1619 | エクソン 10           | GTCTTTCTTGGAAGCCAAAG  | 45 | 5249 | 5268 | 121 |
| 532724 | 1606 | 1625 | エクソン 10           | CTCATTGTCTTTCTTGGAAG  | 44 | 5255 | 5274 | 122 |
| 532725 | 1612 | 1631 | エクソン 10           | ATGTTGCTCATTGTCTTTCT  | 44 | 5261 | 5280 | 123 |
| 532726 | 1618 | 1637 | エクソン 10           | GAACACATGTTGCTCATTGT  | 44 | 5267 | 5286 | 124 |
| 532727 | 1624 | 1643 | エクソン 10           | GACTTTGAACACATGTTGCT  | 43 | 5273 | 5292 | 125 |
| 532728 | 1630 | 1649 | エクソン 10           | ATCCTTGACTTTGAACACAT  | 43 | 5279 | 5298 | 126 |
| 532729 | 1636 | 1655 | エクソン 10           | TTCCATATCCTTGACTTTGA  | 43 | 5285 | 5304 | 127 |
| 532730 | 1642 | 1661 | エクソン 10           | CAGGTTTTCCATATCCTTGA  | 42 | 5291 | 5310 | 128 |
| 532731 | 1686 | 1705 | エクソン 11           | CTCAGAGACTGGCTTTCATC  | 42 | 5827 | 5846 | 129 |
| 532732 | 1692 | 1711 | エクソン 11           | CAGAGACTCAGAGACTGGCT  | 42 | 5833 | 5852 | 130 |
| 516252 | 1698 | 1717 | エクソン 11           | ATGCCACAGAGACTCAGAGA  | 42 | 5839 | 5858 | 131 |
| 532733 | 1704 | 1723 | エクソン 11           | CAAACCATGCCACAGAGACT  | 41 | 5845 | 5864 | 132 |
| 532734 | 1710 | 1729 | エクソン 11           | TGTTCCCAAACCATGCCACA  | 41 | 5851 | 5870 | 133 |
| 532735 | 1734 | 1753 | エクソン 11           | TTGTGGTAATCGGTACCCTT  | 41 | 5875 | 5894 | 134 |
| 532736 | 1740 | 1759 | エクソン 11           | GGTTGCTTGTGGTAATCGGT  | 40 | 5881 | 5900 | 135 |
| 532737 | 1746 | 1765 | エクソン 11           | TGCCATGGTTGCTTGTGGTA  | 40 | 5887 | 5906 | 136 |
| 532738 | 1752 | 1771 | エクソン 11           | TTGGCCTGCCATGGTTGCTT  | 40 | 5893 | 5912 | 137 |
| 532739 | 1758 | 1777 | エクソン 11           | GAGATCTTGGCCTGCCATGG  | 38 | 5899 | 5918 | 138 |
| 532740 | 1803 | 1822 | エクソン 12           | ACAGCCCCCATACAGCTCTC  | 38 | 6082 | 6101 | 139 |
| 532741 | 1809 | 1828 | エクソン 12           | GACACCACAGCCCCCATACA  | 38 | 6088 | 6107 | 140 |
| 532742 | 1815 | 1834 | エクソン 12           | TACTCAGACACCACAGCCCC  | 38 | 6094 | 6113 | 141 |
| 532743 | 1821 | 1840 | エクソン 12           | ACAAAGTACTCAGACACCAC  | 37 | 6100 | 6119 | 142 |
| 532744 | 1827 | 1846 | エクソン 12           | GTCAGCACAAAGTACTCAGA  | 37 | 6106 | 6125 | 143 |

【 1 2 5 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 7 - 3】

|        |      |      |                    |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|--------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532745 | 1872 | 1891 | エクソン 12            | TTGATTGAGTGTCCTTGTC  | 36 | 6151 | 6170 | 144 |
| 532746 | 1878 | 1897 | エクソン 12            | CTGACCTTGATTGAGTGTC  | 35 | 6157 | 6176 | 145 |
| 532747 | 1909 | 1928 | エクソン 13            | TATCTCCAGGTCCCGCTTCT | 35 | 6403 | 6422 | 146 |
| 532748 | 1967 | 1986 | エクソン 13            | GAATTCCTGCTTCTTTTTTC | 32 | 6461 | 6480 | 147 |
| 532749 | 1973 | 1992 | エクソン 13            | ATTCAGGAATTCCTGCTTCT | 32 | 6467 | 6486 | 148 |
| 532750 | 1979 | 1998 | エクソン 13            | CATAAAATTCAGGAATTCCT | 32 | 6473 | 6492 | 149 |
| 532751 | 1985 | 2004 | エクソン 13            | CATAGTCATAAAATTCAGGA | 31 | 6479 | 6498 | 150 |
| 532752 | 2006 | 2025 | エクソン 13            | TGAGCTTGATCAGGGCAACG | 30 | 6500 | 6519 | 151 |
| 532753 | 2012 | 2031 | エクソン 13            | TATTCCTGAGCTTGATCAGG | 30 | 6506 | 6525 | 152 |
| 532754 | 2048 | 2067 | エクソン 13<br>-14 接合部 | GACAAATGGGCCTGATAGTC | 30 | n/a  | n/a  | 153 |
| 532755 | 2070 | 2089 | エクソン 14            | GTTGTTCCCTCGGTGCAGGG | 29 | 6659 | 6678 | 154 |
| 532756 | 2076 | 2095 | エクソン 14            | GCTCGAGTTGTTCCCTCGGT | 28 | 6665 | 6684 | 155 |
| 532757 | 2082 | 2101 | エクソン 14            | CTCAAAGCTCGAGTTGTTCC | 28 | 6671 | 6690 | 156 |
| 532758 | 2088 | 2107 | エクソン 14            | GGAAGCCTCAAAGCTCGAGT | 25 | 6677 | 6696 | 157 |
| 532759 | 2094 | 2113 | エクソン 14            | GTTGGAGGAAGCCTCAAAGC | 23 | 6683 | 6702 | 158 |
| 532760 | 2100 | 2119 | エクソン 14            | GTGGTAGTTGGAGGAAGCCT | 23 | 6689 | 6708 | 159 |
| 532761 | 2106 | 2125 | エクソン 14            | TGGCAAGTGGTAGTTGGAGG | 18 | 6695 | 6714 | 160 |
| 532762 | 2112 | 2131 | エクソン 14            | TGTTGCTGGCAAGTGGTAGT | 14 | 6701 | 6720 | 161 |

【 1 2 5 5 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 1 8 - 1】

表 1 2 6 : 配列番号 1 及び配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列 番<br>号1<br>終 止 部<br>位 | 標的領域                  | 配列                       | %<br>阻害 | 配 列<br>番号<br>2<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号<br>2<br>終 止 部<br>位 | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|--------------------------|---------|-----------------------------|------------------------------|------------------|
| 532812     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | TCCAGCTCACTC<br>CCCTGTTG | 19      | 1593                        | 1612                         | 162              |
| 532813     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | TAAGGATCCAG<br>CTCACTCCC | 40      | 1599                        | 1618                         | 163              |
| 532814     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | CAGAAATAAGG<br>ATCCAGCTC | 39      | 1605                        | 1624                         | 164              |
| 532815     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | AGGGACCAGAA<br>ATAAGGATC | 0       | 1611                        | 1630                         | 165              |
| 532816     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | CCACTTAGGGA<br>CCAGAAATA | 27      | 1617                        | 1636                         | 166              |
| 532817     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | TCCAGGACTCT<br>CCCCTTCAG | 39      | 1682                        | 1701                         | 167              |
| 532818     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | AAGTCCCACCC<br>TTTGCTGCC | 15      | 1707                        | 1726                         | 168              |
| 532819     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | CTGCAGAAGTC<br>CCACCCTTT | 26      | 1713                        | 1732                         | 169              |
| 532820     | n/a                     | n/a                       | エクソン 1                | CAGAAACTGCA<br>GAAGTCCCA | 8       | 1719                        | 1738                         | 170              |
| 532821     | n/a                     | n/a                       | エクソン 2<br>-イントロン<br>2 | AACCTCTGCAC<br>TCTGCCTTC | 39      | 2368                        | 2387                         | 171              |
| 532822     | n/a                     | n/a                       | エクソン 2<br>-イントロン<br>2 | CCCTCAAACCT<br>CTGCACTCT | 3       | 2374                        | 2393                         | 172              |
| 532823     | n/a                     | n/a                       | エクソン 2<br>-イントロン<br>2 | TCATTGCCCTCA<br>AACCTCTG | 19      | 2380                        | 2399                         | 173              |
| 532824     | n/a                     | n/a                       | イントロン<br>2            | CCACACTCATTG<br>CCCTCAAA | 37      | 2386                        | 2405                         | 174              |
| 532825     | n/a                     | n/a                       | イントロン<br>2            | CACTGCCCACA<br>CTCATTGCC | 23      | 2392                        | 2411                         | 175              |
| 532826     | n/a                     | n/a                       | イントロン<br>2            | TTAGGCCACTG<br>CCCACACTC | 15      | 2398                        | 2417                         | 176              |

## 【 1 2 5 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 8 - 2】

|        |      |      |                      |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|----------------------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 532827 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | CTAGTCCTGACC<br>TTGCTGCC | 28 | 2436 | 2455 | 177 |
| 532828 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | CTCATCCTAGTC<br>CTGACCTT | 25 | 2442 | 2461 | 178 |
| 532829 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | CCTAGTCTCATC<br>CTAGTCCT | 23 | 2448 | 2467 | 179 |
| 532830 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | ACCCTGCCTAGT<br>CTCATCCT | 30 | 2454 | 2473 | 180 |
| 532831 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | CTTGTCACCCTG<br>CCTAGTCT | 34 | 2460 | 2479 | 181 |
| 532832 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | GCCACCTTGTC<br>ACCCTGCC  | 36 | 2466 | 2485 | 182 |
| 532833 | n/a  | n/a  | イントロン<br>2           | CCTAAACTGC<br>TCCTACTCC  | 9  | 2492 | 2511 | 183 |
| 532834 | n/a  | n/a  | イントロン<br>4           | GAGTCAGAAAT<br>GAGGTCAA  | 19 | 3494 | 3513 | 184 |
| 532835 | n/a  | n/a  | イントロン<br>11          | CCCTACTCCCAT<br>TTCACCTT | 16 | 5971 | 5990 | 185 |
| 532836 | n/a  | n/a  | イントロン<br>8-エクソン<br>9 | TGTTGTGCAATC<br>CTGCAGAA | 25 | 5013 | 5032 | 186 |
| 532837 | n/a  | n/a  | イントロン<br>1           | AAAGGCTGATG<br>AAGCCTGGC | 18 | 2123 | 2142 | 187 |
| 532838 | n/a  | n/a  | イントロン<br>7           | CCTTTGACCAC<br>AAAGTGGCC | 21 | 4461 | 4480 | 188 |
| 532839 | n/a  | n/a  | イントロン<br>12          | AGGTACCACCT<br>CTTTGTGGG | 29 | 6362 | 6381 | 189 |
| 532840 | n/a  | n/a  | イントロン<br>1-エクソン<br>2 | TGGTGGTCACA<br>CCTGAAGAG | 34 | 2143 | 2162 | 190 |
| 532763 | 2133 | 2152 | エクソン 14<br>-15 接合部   | GCAGGGAGCAG<br>CTCTTCCTT | 40 | n/a  | n/a  | 191 |
| 532764 | 2139 | 2158 | エクソン 15              | TCCTGTGCAGG<br>GAGCAGCTC | 28 | 6927 | 6946 | 192 |
| 532765 | 2145 | 2164 | エクソン 15              | TTGATATCCTGT<br>GCAGGGAG | 41 | 6933 | 6952 | 193 |
| 532766 | 2151 | 2170 | エクソン 15              | AGAGCTTTGATA<br>TCCTGTGC | 36 | 6939 | 6958 | 194 |

【 1 2 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 8 - 3】

|        |      |      |                    |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|--------------------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 532767 | 2157 | 2176 | エクソン 15            | ACAAACAGAGC<br>TTTGATATC | 33 | 6945 | 6964 | 195 |
| 532768 | 2163 | 2182 | エクソン 15            | TCAGACACAAA<br>CAGAGCTTT | 41 | 6951 | 6970 | 196 |
| 532769 | 2169 | 2188 | エクソン 15            | TCCTCCTCAGAC<br>ACAAACAG | 49 | 6957 | 6976 | 197 |
| 532770 | 2193 | 2212 | エクソン 15            | ACCTCCTTCCGA<br>GTCAGCTT | 61 | 6981 | 7000 | 198 |
| 532771 | 2199 | 2218 | エクソン 15            | ATGTAGACCTCC<br>TTCCGAGT | 39 | 6987 | 7006 | 199 |
| 532772 | 2205 | 2224 | エクソン 15            | TTCTTGATGTAG<br>ACCTCCTT | 30 | 6993 | 7012 | 200 |
| 532773 | 2211 | 2230 | エクソン 15            | TCCCCATTCTTG<br>ATGTAGAC | 31 | 6999 | 7018 | 201 |
| 532774 | 2217 | 2236 | エクソン 15<br>-16 接合部 | TTCTTATCCCCA<br>TTCTTGAT | 36 | n/a  | n/a  | 202 |
| 532775 | 2223 | 2242 | エクソン 15<br>-16 接合部 | CTGCCTTTCTTA<br>TCCCCATT | 56 | n/a  | n/a  | 203 |
| 532776 | 2229 | 2248 | エクソン 15<br>-16 接合部 | TCACAGCTGCC<br>TTTCTTATC | 33 | n/a  | n/a  | 204 |
| 532777 | 2235 | 2254 | エクソン 16            | TCTCTCTCACAG<br>CTGCCTTT | 38 | 7119 | 7138 | 205 |
| 532778 | 2241 | 2260 | エクソン 16            | TGAGCATCTCTC<br>TCACAGCT | 51 | 7125 | 7144 | 206 |
| 532779 | 2247 | 2266 | エクソン 16            | GCATATTGAGCA<br>TCTCTCTC | 39 | 7131 | 7150 | 207 |
| 532780 | 2267 | 2286 | エクソン 16            | TGACTTTGTCAT<br>AGCCTGGG | 56 | 7151 | 7170 | 208 |
| 532781 | 2273 | 2292 | エクソン 16            | TGTCCTTGACTT<br>TGTCATAG | 36 | 7157 | 7176 | 209 |
| 532782 | 2309 | 2328 | エクソン 16            | CAGTACAAAGG<br>AACCGAGGG | 30 | 7193 | 7212 | 210 |
| 532783 | 2315 | 2334 | エクソン 16            | CTCCTCCAGTAC<br>AAAGGAAC | 21 | 7199 | 7218 | 211 |
| 532784 | 2321 | 2340 | エクソン 16            | GACTCACTCCTC<br>CAGTACAA | 31 | 7205 | 7224 | 212 |
| 532785 | 2327 | 2346 | エクソン 16            | CATAGGGACTC<br>ACTCCTCCA | 30 | 7211 | 7230 | 213 |

【 1 2 5 8 】

10

20

30

40

50



【表 1 1 8 - 4】

|        |      |      |                    |                           |    |      |      |     |
|--------|------|------|--------------------|---------------------------|----|------|------|-----|
| 532786 | 2333 | 2352 | エクソン 16            | GGTCAGCATAG<br>GGACTCACT  | 31 | 7217 | 7236 | 214 |
| 532787 | 2352 | 2371 | エクソン 16<br>-17 接合部 | TCACCTCTGCA<br>AGTATTGGG  | 42 | 7236 | 7255 | 215 |
| 532788 | 2358 | 2377 | エクソン 16<br>-17 接合部 | CCAGAATCACC<br>TCTGCAAGT  | 32 | n/a  | n/a  | 216 |
| 532789 | 2364 | 2383 | エクソン 16<br>-17 接合部 | GGGCCGCCAGA<br>ATCACCTCT  | 35 | n/a  | n/a  | 217 |
| 532790 | 2382 | 2401 | エクソン 17            | CTCTTGGAAGT<br>ATCAAGGG   | 33 | 7347 | 7366 | 218 |
| 532791 | 2388 | 2407 | エクソン 17            | CGACTTCTCTTG<br>TGAAGTAT  | 52 | 7353 | 7372 | 219 |
| 532792 | 2394 | 2413 | エクソン 17            | ATGAAACGACT<br>TCTCTTGTG  | 16 | 7359 | 7378 | 220 |
| 532793 | 2400 | 2419 | エクソン 17<br>-18 接合部 | ACTTGAATGAA<br>ACGACTTCT  | 45 | 7365 | 7384 | 221 |
| 532794 | 2406 | 2425 | エクソン 17<br>-18 接合部 | ACACCAACTTG<br>AATGAAACG  | 18 | n/a  | n/a  | 222 |
| 532795 | 2427 | 2446 | エクソン 18            | TCCACTACTCCC<br>CAGCTGAT  | 30 | 7662 | 7681 | 223 |
| 532796 | 2433 | 2452 | エクソン 18            | CAGACATCCACT<br>ACTCCCCA  | 38 | 7668 | 7687 | 224 |
| 532797 | 2439 | 2458 | エクソン 18            | TTTTTGACAGACA<br>TCCACTAC | 35 | 7674 | 7693 | 225 |
| 532798 | 2445 | 2464 | エクソン 18            | TTCTGGTTTTTG<br>CAGACATC  | 45 | 7680 | 7699 | 226 |
| 532799 | 2451 | 2470 | エクソン 18            | TGCCGCTTCTGG<br>TTTTTGCA  | 47 | 7686 | 7705 | 227 |
| 532800 | 2457 | 2476 | エクソン 18            | TGCTTTTGCCGC<br>TTCTGGTT  | 61 | 7692 | 7711 | 228 |
| 532801 | 2463 | 2482 | エクソン 18            | GGTACCTGCTTT<br>TGCCGCTT  | 47 | 7698 | 7717 | 229 |
| 532802 | 2469 | 2488 | エクソン 18            | TGAGCAGGTAC<br>CTGCTTTTG  | 31 | 7704 | 7723 | 230 |
| 532803 | 2517 | 2536 | エクソン 18            | TTCAGCCAGGG<br>CAGCACTTG  | 41 | 7752 | 7771 | 231 |
| 532804 | 2523 | 2542 | エクソン 18            | TTCTCCTTCAGC<br>CAGGGCAG  | 44 | 7758 | 7777 | 232 |

【 1 2 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 8 - 5】

|        |      |      |         |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|---------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 532805 | 2529 | 2548 | エクソン 18 | TGGAGTTTCTCC<br>TTCAGCCA | 46 | 7764 | 7783 | 233 |
| 532806 | 2535 | 2554 | エクソン 18 | TCATCTTGGAGT<br>TTCTCCTT | 49 | 7770 | 7789 | 234 |
| 532807 | 2541 | 2560 | エクソン 18 | AAATCCTCATCT<br>TGGAGTTT | 30 | 7776 | 7795 | 235 |
| 532808 | 2547 | 2566 | エクソン 18 | AAACCCAAATC<br>CTCATCTTG | 20 | 7782 | 7801 | 236 |
| 532809 | 2571 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGA<br>AACCCCTTA | 65 | 7806 | 7825 | 237 |
| 532810 | 2577 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCA<br>GCAGGAAAC | 74 | 7812 | 7831 | 238 |
| 532811 | 2599 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAAT<br>TCAATCCC | 96 | 7834 | 7853 | 239 |

【 1 2 6 0 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 1 9 - 1】

表 1 2 7 : 配列番号 1 及び配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的<br>領域               | 配列                   | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終止<br>部位 | %<br>阻<br>害 | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|------------------|
| 532841     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>6-エクソン7       | AACTTGCCACCTGTGGGTGA | 4142                      | 4161                      | 11          | 240              |
| 532842     | n/a                       | n/a                     | エクソン15<br>-イントロン<br>15 | TCACCTTATCCCCATTCTTG | 7007                      | 7026                      | 16          | 241              |
| 532843     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>11            | TCAACTTTCACAAACCACCA | 6015                      | 6034                      | 19          | 242              |
| 532844     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>16-エクソン<br>17 | CCGCCAGAATCACCTGCAAG | 7326                      | 7345                      | 33          | 243              |
| 532845     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>10            | AGGAGGAATGAAGAAGGCTT | 5431                      | 5450                      | 29          | 244              |
| 532846     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>13            | GCCTTTCCTCAGGGATCTGG | 6561                      | 6580                      | 26          | 245              |
| 532847     | n/a                       | n/a                     | イントロン4                 | AAATGTCTGGGAGTGTCAAG | 3477                      | 3496                      | 18          | 246              |
| 532848     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>15            | GCCTAGAGTGCCTCCTTAGG | 7038                      | 7057                      | 20          | 247              |
| 532849     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>17            | GGCATCTCCCCAGATAGGAA | 7396                      | 7415                      | 16          | 248              |
| 532850     | n/a                       | n/a                     | イントロン6                 | AGGGAGCTAGTCCTGGAAGA | 3906                      | 3925                      | 14          | 249              |
| 532851     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>1-エクソン2       | ACACCTGAAGAGAAAGGCTG | 2135                      | 2154                      | 6           | 250              |
| 532852     | n/a                       | n/a                     | イントロン7                 | CCCTTTGACCACAAAGTGGC | 4462                      | 4481                      | 25          | 251              |
| 532853     | n/a                       | n/a                     | イントロン7                 | GCCCTCAAGGTAGTCTCATG | 4354                      | 4373                      | 26          | 252              |
| 532854     | n/a                       | n/a                     | イントロン6                 | AAGGGAAGGAGGACAGAATA | 3977                      | 3996                      | 18          | 253              |
| 532855     | n/a                       | n/a                     | イントロン1                 | AAAGGCCAAGGAGGGATGCT | 2099                      | 2118                      | 9           | 254              |
| 532856     | n/a                       | n/a                     | エクソン8<br>-イントロン<br>8   | AGAGGTCCCTTCTGACCATC | 4736                      | 4755                      | 4           | 255              |
| 532857     | n/a                       | n/a                     | イントロン8                 | GCTGGGACAGGAGAGAGGTC | 4749                      | 4768                      | 0           | 256              |
| 532858     | n/a                       | n/a                     | イントロン4                 | TCAAATGTCTGGGAGTGTCA | 3479                      | 3498                      | 13          | 257              |
| 532859     | n/a                       | n/a                     | イントロン<br>10            | AGAAGGAGAATGTGCTGAAA | 5801                      | 5820                      | 20          | 258              |

## 【 1 2 6 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 9 - 2】

|        |     |     |                        |                      |      |      |    |     |
|--------|-----|-----|------------------------|----------------------|------|------|----|-----|
| 532860 | n/a | n/a | イントロン<br>17            | TGCTGACCACTTGGCATCTC | 7408 | 7427 | 20 | 259 |
| 532861 | n/a | n/a | イントロン<br>11            | CAACTTTCACAAACCACCAT | 6014 | 6033 | 18 | 260 |
| 532862 | n/a | n/a | イントロン<br>10            | AGCTCTGTGATTCTAAGGTT | 5497 | 5516 | 15 | 261 |
| 532863 | n/a | n/a | イントロン<br>6-エクソン7       | CCACCTGTGGGTGAGGAGAA | 4136 | 4155 | 16 | 262 |
| 532864 | n/a | n/a | エクソン17<br>-イントロン<br>17 | GAGGACTCACTTGAATGAAA | 7373 | 7392 | 21 | 263 |
| 532865 | n/a | n/a | イントロン6                 | TGGAATGATCAGGGAGCTAG | 3916 | 3935 | 30 | 264 |
| 532866 | n/a | n/a | イントロン5                 | GTCCCTTCTCCATTTCCCC  | 3659 | 3678 | 26 | 265 |
| 532867 | n/a | n/a | イントロン7                 | TCAACTTTTAAAGTTAATCA | 4497 | 4516 | 14 | 266 |
| 532868 | n/a | n/a | イントロン6                 | GGGTGAGGAGAACAAGGCGC | 4128 | 4147 | 21 | 267 |
| 532869 | n/a | n/a | イントロン7                 | CTTCCAAGCCATCTTTTAAC | 4553 | 4572 | 5  | 268 |
| 532870 | n/a | n/a | エクソン17<br>-イントロン<br>17 | AGGACTCACTTGAATGAAAC | 7372 | 7391 | 18 | 269 |
| 532871 | n/a | n/a | イントロン<br>10            | TTCCAGGCAACTAGAGCTTC | 5412 | 5431 | 15 | 270 |
| 532872 | n/a | n/a | エクソン1                  | CAGAGTCCAGCCACTGTTTG | 1557 | 1576 | 13 | 271 |
| 532873 | n/a | n/a | イントロン<br>17-エクソン<br>18 | CCAACCTGCAGAGGCAGTGG | 7638 | 7657 | 23 | 272 |
| 532874 | n/a | n/a | イントロン<br>16            | TGCAAGGAGAGGAGAAGCTG | 7312 | 7331 | 10 | 273 |
| 532875 | n/a | n/a | エクソン9<br>-イントロン<br>9   | CTAGGCAGGTTACTCACCCA | 5120 | 5139 | 21 | 274 |
| 532876 | n/a | n/a | イントロン<br>6-エクソン7       | CACCATAACTTGCCACCTGT | 4148 | 4167 | 41 | 275 |
| 532877 | n/a | n/a | イントロン<br>12            | TAGGTACCACCTCTTTGTGG | 6363 | 6382 | 27 | 276 |
| 532878 | n/a | n/a | イントロン<br>11            | CTTGACCTCACCTCCCCCAA | 5954 | 5973 | 13 | 277 |
| 532879 | n/a | n/a | イントロン<br>12            | CCACCTCTTTGTGGGCAGCT | 6357 | 6376 | 33 | 278 |

【 1 2 6 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 9 - 3】

|        |     |     |                        |                      |      |      |    |     |
|--------|-----|-----|------------------------|----------------------|------|------|----|-----|
| 532880 | n/a | n/a | イントロン<br>11            | TTCACAAACCACCATCTCTT | 6009 | 6028 | 8  | 279 |
| 532881 | n/a | n/a | エクソン3<br>-イントロン<br>3   | TTCTCACCTCCGTTGTCACA | 2958 | 2977 | 17 | 280 |
| 532882 | n/a | n/a | イントロン<br>12            | GAAAGTGGGAGGTGTTGCCT | 6225 | 6244 | 19 | 281 |
| 532883 | n/a | n/a | イントロン1                 | ACAGCAGGAAGGGAAGGTTA | 2075 | 2094 | 34 | 282 |
| 532884 | n/a | n/a | イントロン<br>17            | CATGCTGACCACTTGGCATC | 7410 | 7429 | 18 | 283 |
| 532885 | n/a | n/a | エクソン4<br>-イントロン<br>4   | GGTCACCTTGGCAGGAAGGC | 3286 | 3305 | 0  | 284 |
| 532886 | n/a | n/a | イントロン8                 | GTATAGTGTTACAAGTGGAC | 4804 | 4823 | 13 | 285 |
| 532887 | n/a | n/a | イントロン7                 | GGACTTCCCTTTGACCACAA | 4468 | 4487 | 18 | 286 |
| 532888 | n/a | n/a | イントロン<br>11            | TCACCTTGACCTCACCTCCC | 5958 | 5977 | 20 | 287 |
| 532889 | n/a | n/a | イントロン<br>15            | TAGAGTGCCTCCTTAGGATG | 7035 | 7054 | 27 | 288 |
| 532890 | n/a | n/a | イントロン7                 | TGACTTCAACTTGTGGTCTG | 4605 | 4624 | 16 | 289 |
| 532891 | n/a | n/a | イントロン<br>10            | CAGAGAAGGAGAATGTGCTG | 5804 | 5823 | 25 | 290 |
| 532892 | n/a | n/a | イントロン<br>14-エクソン<br>15 | AGGGAGCAGCTCTTCCTCTG | 6919 | 6938 | 47 | 291 |
| 532893 | n/a | n/a | イントロン<br>5-エクソン6       | TGTTCCCTGGGTGCCAGGA  | 3710 | 3729 | 24 | 292 |
| 532894 | n/a | n/a | イントロン<br>10            | GGCCTGGCTGTTTCAAGCC  | 5612 | 5631 | 15 | 293 |
| 532895 | n/a | n/a | イントロン<br>10-エクソン<br>11 | GACTGGCTTTCATCTGGCAG | 5821 | 5840 | 25 | 294 |
| 532896 | n/a | n/a | イントロン<br>10            | GAAGGCTTCCAGGCAACTA  | 5419 | 5438 | 19 | 295 |
| 532897 | n/a | n/a | エクソン17<br>-イントロン<br>17 | TCACCTGAATGAAACGACTT | 7367 | 7386 | 11 | 296 |
| 532898 | n/a | n/a | イントロン1                 | GGCCCCAAAAGGCCAAGGAG | 2106 | 2125 | 5  | 297 |

【 1 2 6 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 9 - 4】

|        |      |      |                         |                      |      |      |    |     |
|--------|------|------|-------------------------|----------------------|------|------|----|-----|
| 532899 | n/a  | n/a  | イントロン<br>16-エクソン<br>17  | AATCACCTGCAAGGAGAGGA | 7319 | 7338 | 19 | 298 |
| 532900 | n/a  | n/a  | イントロン<br>12             | GACCTTCAGTTGCATCCTTA | 6183 | 6202 | 25 | 299 |
| 532901 | n/a  | n/a  | イントロン 1                 | TGATGAAGCCTGGCCCCAAA | 2117 | 2136 | 0  | 300 |
| 532902 | n/a  | n/a  | イントロン<br>12             | TAGAAAGTGGGAGGTGTTGC | 6227 | 6246 | 0  | 301 |
| 532903 | n/a  | n/a  | イントロン<br>12             | CCCATCCCTGACTGGTCTGG | 6295 | 6314 | 14 | 302 |
| 532904 | n/a  | n/a  | イントロン 8                 | CCATGGGTATAGTGTACAA  | 4810 | 4829 | 13 | 303 |
| 532905 | n/a  | n/a  | イントロン 2                 | GTGTTCTCTTGACTTCCAGG | 2586 | 2605 | 23 | 304 |
| 532906 | n/a  | n/a  | イントロン<br>13             | GGCCTGCTCCTCACCCCAGT | 6597 | 6616 | 27 | 305 |
| 532907 | n/a  | n/a  | イントロン<br>10             | GAGGCCTGGCTGTTTTCAAG | 5614 | 5633 | 32 | 306 |
| 532908 | n/a  | n/a  | エクソン 1                  | GACTCTCCCCTTCAGTACCT | 1677 | 1696 | 16 | 307 |
| 532909 | n/a  | n/a  | イントロン 8                 | CATGGGTATAGTGTACAAG  | 4809 | 4828 | 10 | 308 |
| 532910 | n/a  | n/a  | イントロン<br>10             | GAAGGAGAATGTGCTGAAAA | 5800 | 5819 | 0  | 309 |
| 532911 | n/a  | n/a  | イントロン 7                 | TCACCTGGTCTTCCAAGCCA | 4562 | 4581 | 0  | 310 |
| 532912 | n/a  | n/a  | イントロン<br>17             | CTCCCCAGATAGGAAAGGGA | 7391 | 7410 | 0  | 311 |
| 532913 | n/a  | n/a  | エクソン 17<br>-イントロン<br>17 | GGACTCACTTGAATGAAACG | 7371 | 7390 | 0  | 312 |
| 532914 | n/a  | n/a  | イントロン<br>16-エクソン<br>17  | GGCCGCCAGAATCACCTGCA | 7328 | 7347 | 30 | 313 |
| 532915 | n/a  | n/a  | エクソン 17<br>-イントロン<br>17 | CTCACTTGAATGAAACGACT | 7368 | 7387 | 22 | 314 |
| 532916 | n/a  | n/a  | イントロン<br>13             | CTTCCCAGCCTTCCTCAG   | 6569 | 6588 | 28 | 315 |
| 532918 | n/a  | n/a  | イントロン<br>12             | AGAAAGTGGGAGGTGTTGCC | 6226 | 6245 | 3  | 316 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18                 | GTCGCAGCTGTTTAAATTCA | 7839 | 7858 | 90 | 317 |

【 1 2 6 4 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 2 0 - 1】

表 1 2 8 : 配列番号 1 及び配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーによる C F B m R N A の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終止<br>部位 | 標的領域                     | 配列                   | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終止<br>部位 | %<br>阻<br>害 | 配列<br>番号 |
|------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|----------|
| 532919     | n/a                       | n/a                       | エクソン 1                   | CCAGGACTCTCCCCTTCAGT | 1681                      | 1700                      | 4           | 318      |
| 532920     | n/a                       | n/a                       | イントロン 6                  | AGGGAAGGAGGACAGAATAG | 3976                      | 3995                      | 25          | 319      |
| 532921     | n/a                       | n/a                       | イントロン 4                  | GAAATGAGGTCAAATGTCTG | 3488                      | 3507                      | 30          | 320      |
| 532922     | n/a                       | n/a                       | イントロン 4                  | GGAGAGTCAGAAATGAGGTC | 3497                      | 3516                      | 25          | 321      |
| 532923     | n/a                       | n/a                       | イントロン 12                 | GTAGAAAGTGGGAGGTGTTG | 6228                      | 6247                      | 26          | 322      |
| 532924     | n/a                       | n/a                       | イントロン 10                 | TAGAAAGATCTCTGAAGTGC | 5521                      | 5540                      | 24          | 323      |
| 532925     | n/a                       | n/a                       | イントロン 13                 | CTGCTCCTCACCCAGTCCT  | 6594                      | 6613                      | 26          | 324      |
| 532926     | n/a                       | n/a                       | イントロン 11                 | CTACTGGGATTCTGTGCTTA | 5927                      | 5946                      | 30          | 325      |
| 532927     | n/a                       | n/a                       | イントロン 1                  | CCCAAAAGGCCAAGGAGGGA | 2103                      | 2122                      | 13          | 326      |
| 532928     | n/a                       | n/a                       | イントロン 17                 | TGACCACTTGGCATCTCCCC | 7405                      | 7424                      | 27          | 327      |
| 532929     | n/a                       | n/a                       | イントロン<br>16- エクソン<br>17  | CCTGCAAGGAGAGGAGAAGC | 7314                      | 7333                      | 29          | 328      |
| 532930     | n/a                       | n/a                       | エクソン 16<br>- イントロン<br>16 | CTCTCACCTCTGCAAGTATT | 7239                      | 7258                      | 44          | 329      |
| 532931     | n/a                       | n/a                       | イントロン 1                  | CCCCAAAAGGCCAAGGAGGG | 2104                      | 2123                      | 21          | 330      |
| 532932     | n/a                       | n/a                       | イントロン 7                  | GTCTTCCAAGCCATCTTTTA | 4555                      | 4574                      | 20          | 331      |
| 532933     | n/a                       | n/a                       | イントロン 8                  | GTTACAAGTGGACTTAAGGG | 4797                      | 4816                      | 30          | 332      |
| 532934     | n/a                       | n/a                       | イントロン 8-<br>エクソン 9       | CCCATGTTGTGCAATCCTGC | 5017                      | 5036                      | 30          | 333      |
| 532935     | n/a                       | n/a                       | イントロン 15                 | GAGGTGGGAAGCATGGAGAA | 7091                      | 7110                      | 17          | 334      |
| 532936     | n/a                       | n/a                       | イントロン 14                 | TGCTCCCACCACTGTCATCT | 6874                      | 6893                      | 21          | 335      |
| 532937     | n/a                       | n/a                       | エクソン 9<br>- イントロン 9      | AGGCAGGTTACTCACCCAGA | 5118                      | 5137                      | 18          | 336      |
| 532938     | n/a                       | n/a                       | イントロン 11                 | TACTGGGATTCTGTGCTTAC | 5926                      | 5945                      | 15          | 337      |
| 532939     | n/a                       | n/a                       | イントロン 13                 | GCCTTTCCCAGCCTTTCCTC | 6571                      | 6590                      | 27          | 338      |
| 532940     | n/a                       | n/a                       | イントロン 8-<br>エクソン 9       | GTGCAATCCTGCAGAAGAGA | 5009                      | 5028                      | 21          | 339      |
| 532941     | n/a                       | n/a                       | イントロン 8                  | ACAGGAGAGAGGTCCCTTCT | 4743                      | 4762                      | 20          | 340      |
| 532942     | n/a                       | n/a                       | イントロン 10                 | CCCAAAAGGAGAAAGGGAAA | 5717                      | 5736                      | 14          | 341      |
| 532943     | n/a                       | n/a                       | イントロン 2                  | AAGCCCAGGGTAAATGCTTA | 2557                      | 2576                      | 32          | 342      |

## 【 1 2 6 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 0 - 2】

|        |     |     |                         |                      |      |      |    |     |
|--------|-----|-----|-------------------------|----------------------|------|------|----|-----|
| 532944 | n/a | n/a | イントロン 1                 | GATGAAGCCTGGCCCCAAAA | 2116 | 2135 | 22 | 343 |
| 532945 | n/a | n/a | イントロン 10                | TGGCAGAGAAGGAGAATGTG | 5807 | 5826 | 22 | 344 |
| 532946 | n/a | n/a | イントロン 13                | TTCCCAGCCTTTCCTCAGGG | 6567 | 6586 | 35 | 345 |
| 532947 | n/a | n/a | イントロン 10                | GGCAGAGAAGGAGAATGTGC | 5806 | 5825 | 30 | 346 |
| 532948 | n/a | n/a | イントロン 10                | ACAGTGCCAGGAAACAAGAA | 5471 | 5490 | 25 | 347 |
| 532949 | n/a | n/a | エクソン 9<br>-イントロン 9      | TAGGCAGGTTACTCACCCAG | 5119 | 5138 | 22 | 348 |
| 532950 | n/a | n/a | イントロン 2                 | TTCTCTTGACTTCCAGGGCT | 2583 | 2602 | 22 | 349 |
| 532951 | n/a | n/a | イントロン 13                | CCTGCTCCTCACCCCAGTCC | 6595 | 6614 | 16 | 350 |
| 532953 | n/a | n/a | イントロン 7                 | TCCCACTAACCTCCATTGCC | 4422 | 4441 | 14 | 351 |
| 532954 | n/a | n/a | イントロン 7                 | TTCCCTTTGACCACAAAGTG | 4464 | 4483 | 16 | 352 |
| 532955 | n/a | n/a | イントロン 9                 | CTGGGTCCTAGGCAGGTTAC | 5127 | 5146 | 30 | 353 |
| 532956 | n/a | n/a | イントロン 10                | TCCAGGCAACTAGAGCTTCA | 5411 | 5430 | 20 | 354 |
| 532957 | n/a | n/a | イントロン 8-<br>エクソン 9      | GCCCATGTTGTGCAATCCTG | 5018 | 5037 | 45 | 355 |
| 532958 | n/a | n/a | イントロン 7                 | GGTCCCCACTAACCTCCATT | 4425 | 4444 | 18 | 356 |
| 532959 | n/a | n/a | イントロン 3                 | AGGTAGAGAGCAAGAGTTAC | 3052 | 3071 | 26 | 357 |
| 532960 | n/a | n/a | イントロン 7                 | CCACTAACCTCCATTGCCCA | 4420 | 4439 | 10 | 358 |
| 532961 | n/a | n/a | イントロン 11                | TCACAAACCACCATCTCTTA | 6008 | 6027 | 40 | 359 |
| 532962 | n/a | n/a | エクソン 9<br>-イントロン 9      | TACTCACCCAGATAATCCTC | 5110 | 5129 | 27 | 360 |
| 532963 | n/a | n/a | イントロン 13                | TGCTCCTCACCCCAGTCCTC | 6593 | 6612 | 24 | 361 |
| 532964 | n/a | n/a | イントロン<br>15- エクソン<br>16 | TCTCACAGCTGCCTTTCTGT | 7115 | 7134 | 25 | 362 |
| 532965 | n/a | n/a | エクソン 17<br>-イントロン<br>17 | GAAAGGGAGGACTCACTTGA | 7379 | 7398 | 11 | 363 |
| 532966 | n/a | n/a | イントロン 7                 | CCATCTTTTAACCCCAGAGA | 4545 | 4564 | 18 | 364 |
| 532967 | n/a | n/a | イントロン 13                | TCCTCACCCCAGTCCTCCAG | 6590 | 6609 | 27 | 365 |
| 532968 | n/a | n/a | イントロン 10                | CTGGCAGAGAAGGAGAATGT | 5808 | 5827 | 15 | 366 |
| 532969 | n/a | n/a | イントロン 17                | TCTCCCCAGATAGGAAAGGG | 7392 | 7411 | 23 | 367 |
| 532970 | n/a | n/a | イントロン 14                | ACTTCAGCTGCTCCCACCAC | 6882 | 6901 | 18 | 368 |
| 532971 | n/a | n/a | イントロン 1                 | GACAGCAGGAAGGGAAGGTT | 2076 | 2095 | 13 | 369 |
| 532972 | n/a | n/a | イントロン<br>13- エクソン<br>14 | GGAGACAAATGGGCCTATAA | 6640 | 6659 | 33 | 370 |
| 532973 | n/a | n/a | イントロン 14                | CTGCTCCCACCACTGTCATC | 6875 | 6894 | 11 | 371 |
| 532974 | n/a | n/a | イントロン 10                | AGGAATGAAGAAGGCTTTCC | 5428 | 5447 | 21 | 372 |

【 1 2 6 6 】

10

20

30

40

50



【表 1 2 0 - 3】

|        |      |      |                         |                       |      |      |    |     |
|--------|------|------|-------------------------|-----------------------|------|------|----|-----|
| 532975 | n/a  | n/a  | イントロン 14                | GGGATCTCATCCTTATCCTC  | 6741 | 6760 | 31 | 373 |
| 532976 | n/a  | n/a  | イントロン 9                 | GTGCTGGGTCCCTAGGCAGGT | 5130 | 5149 | 16 | 374 |
| 532977 | n/a  | n/a  | イントロン 1                 | CAAAAGGCCAAGGAGGGATG  | 2101 | 2120 | 14 | 375 |
| 532978 | n/a  | n/a  | イントロン 17                | CCATGCTGACCACTTGGCAT  | 7411 | 7430 | 20 | 376 |
| 532979 | n/a  | n/a  | イントロン 8                 | GGAGGCTGGGACAGGAGAGA  | 4753 | 4772 | 25 | 377 |
| 532980 | n/a  | n/a  | イントロン<br>14-エクソン<br>15  | GGAGCAGCTCTTCCTCTGGA  | 6917 | 6936 | 36 | 378 |
| 532981 | n/a  | n/a  | エクソン 3<br>-イントロン 3      | TCTCACCTCCGTTGTCACAG  | 2957 | 2976 | 20 | 379 |
| 532982 | n/a  | n/a  | イントロン 13                | CAGTCCTCCAGCCTTTCCCA  | 6581 | 6600 | 21 | 380 |
| 532983 | n/a  | n/a  | イントロン 13                | AGTCCTCCAGCCTTTCCCA   | 6580 | 6599 | 22 | 381 |
| 532984 | n/a  | n/a  | イントロン 4-<br>エクソン 5      | TGAAGGAGTCTGGGAGAGTC  | 3509 | 3528 | 12 | 382 |
| 532985 | n/a  | n/a  | イントロン<br>16-エクソン<br>17  | CAGAATCACCTGCAAGGAGA  | 7322 | 7341 | 20 | 383 |
| 532986 | n/a  | n/a  | エクソン 17<br>-イントロン<br>17 | TAGGAAAGGGAGGACTCACT  | 7382 | 7401 | 3  | 384 |
| 532987 | n/a  | n/a  | エクソン 4<br>-イントロン 4      | ACCTTGGCAGGAAGGCTCCG  | 3282 | 3301 | 12 | 385 |
| 532988 | n/a  | n/a  | イントロン<br>13-エクソン<br>14  | GAGACAAATGGGCCTATAAA  | 6639 | 6658 | 15 | 386 |
| 532989 | n/a  | n/a  | イントロン 1                 | CTGAAGAGAAAGGCTGATGA  | 2131 | 2150 | 17 | 387 |
| 532990 | n/a  | n/a  | イントロン 6                 | AATGATCAGGGAGCTAGTCC  | 3913 | 3932 | 30 | 388 |
| 532991 | n/a  | n/a  | イントロン 17                | CTTAGCTGACCTAAAGGAAT  | 7557 | 7576 | 22 | 389 |
| 532992 | n/a  | n/a  | イントロン 8                 | TGGGTATAGTGTACAAGTG   | 4807 | 4826 | 17 | 390 |
| 532993 | n/a  | n/a  | イントロン 1                 | TGAAGAGAAAGGCTGATGAA  | 2130 | 2149 | 19 | 391 |
| 532994 | n/a  | n/a  | イントロン 8                 | GTGTTACAAGTGGACTTAAG  | 4799 | 4818 | 25 | 392 |
| 532995 | n/a  | n/a  | イントロン 6                 | ACCTGTGGGTGAGGAGAACA  | 4134 | 4153 | 24 | 393 |
| 532996 | n/a  | n/a  | エクソン 9<br>-イントロン 9      | TCACCCAGATAATCCTCCCT  | 5107 | 5126 | 36 | 394 |
| 532952 | 2608 | 2627 | エクソン 18                 | TGTTGTTCGAGCTGTTTTAA  | 7843 | 7862 | 90 | 395 |

## 【 1 2 6 7 】

実施例 1 1 6 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とする新たなアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、 C F B m R N A に対するそれらの効果をインビトロで試験した。1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、4 , 5 0 0 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 2 4 時間の処理期間後に、 R N A を細胞から単離し、 C F B m R N A レベルを定量リアルタイム P C R で測定した。ヒトプライマー-プローブセット R T S 3 4 6 0 \_ M G B ( フォワード配列 C G A A G C A G C T C A A T G A A A T C A A , 本明細書では配列番号 8 1 3 と呼ぶ ;

10

20

30

40

50

リバース配列 T G C C T G G A G G G C C T T C T T , 本明細書では配列番号 8 1 4 と呼ぶ ; プローブ配列 A G A C C A C A A G T T G A A G T C , 本明細書では配列番号 8 1 5 と呼ぶ ) を使って、m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N ( 登録商標 ) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

【 1 2 6 8 】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーとして設計された。これらの 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 ' ウイングセグメント中の各ヌクレオシドと 3 ' ウイングセグメント中の各ヌクレオシドは 2 ' - M O E 修飾を有する。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート ( P = S ) 連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5 - メチルシトシンである。「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 5 ' 側のヌクレオシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 3 ' 側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号 1 と呼ぶヒト C F B m R N A ( G E N B A N K アクセッション番号 N M \_ 0 0 1 7 1 0 . 5 ) もしくは本明細書において配列番号 2 と呼ぶヒト C F B ゲノム配列 ( ヌクレオチド 3 1 8 5 2 0 0 0 から 3 1 8 6 1 0 0 0 までを切り出した G E N B A N K アクセッション番号 N T \_ 0 0 7 5 9 2 . 1 5 ) 、またはその両方を標的とする。「n / a」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を 1 0 0 % の相補性では標的としないことを示す。

【 1 2 6 9 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 2 1 - 1】

表 1 2 9 : 配列番号 1 及び配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる C F B mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番 号<br>1<br>開 始<br>部 位 | 配 列<br>番 号<br>1<br>終 止<br>部 位 | 標的<br>領域                    | 配列                   | %<br>阻<br>害 | 配 列<br>番 号<br>2<br>開 始<br>部 位 | 配 列<br>番 号<br>2<br>終 止<br>部 位 | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------|
| 532686     | 1135                          | 1154                          | エク<br>ソン<br>6               | ACACTTTTGGCTCCTGTGA  | 48          | 3819                          | 3838                          | 84               |
| 532687     | 1141                          | 1160                          | エク<br>ソン<br>6               | GACTAGACACTTTTGGCTC  | 63          | 3825                          | 3844                          | 85               |
| 532688     | 1147                          | 1166                          | エク<br>ソン<br>6               | TAAGTTGACTAGACACTTTT | 47          | 3831                          | 3850                          | 86               |
| 532689     | 1153                          | 1172                          | エク<br>ソン<br>6               | CTCAATTAAGTTGACTAGAC | 57          | 3837                          | 3856                          | 87               |
| 532690     | 1159                          | 1178                          | エク<br>ソン<br>6<br>-7 接<br>合部 | CACCTTCTCAATTAAGTTGA | 49          | 3843                          | 3862                          | 88               |
| 532691     | 1165                          | 1184                          | エク<br>ソン<br>6<br>-7 接<br>合部 | ACTTGCCACCTTCTCAATTA | 33          | n/a                           | n/a                           | 89               |
| 532692     | 1171                          | 1190                          | エク<br>ソン<br>6<br>-7 接<br>合部 | ACCATAACTTGCCACCTTCT | 67          | n/a                           | n/a                           | 90               |
| 532693     | 1177                          | 1196                          | エク<br>ソン<br>7               | CTTCACACCATAACTTGCCA | 56          | 4153                          | 4172                          | 91               |
| 532694     | 1183                          | 1202                          | エク<br>ソン<br>7               | TCTTGGCTTCACACCATAAC | 50          | 4159                          | 4178                          | 92               |

## 【 1 2 7 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 1 - 2】

|        |      |      |                             |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|-----------------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532695 | 1208 | 1227 | エク<br>ソン<br>7               | ATGTGGCATATGTCCTAGTA | 53 | 4184 | 4203 | 93  |
| 532696 | 1235 | 1254 | エク<br>ソン<br>7               | CAGACACTTTGACCCAAATT | 52 | 4211 | 4230 | 94  |
| 532697 | 1298 | 1317 | エク<br>ソン<br>7<br>-8 接<br>合部 | GGTCTTCATAATTGATTTC  | 59 | n/a  | n/a  | 95  |
| 532698 | 1304 | 1323 | エク<br>ソン<br>7<br>-8 接<br>合部 | ACTTGTGGTCTTCATAATTG | 52 | n/a  | n/a  | 96  |
| 532699 | 1310 | 1329 | エク<br>ソン<br>7<br>-8 接<br>合部 | ACTTCAACTTGTGGTCTTCA | 85 | n/a  | n/a  | 97  |
| 532700 | 1316 | 1335 | エク<br>ソン<br>8               | TCCCTGACTTCAACTTGTGG | 96 | 4609 | 4628 | 98  |
| 532701 | 1322 | 1341 | エク<br>ソン<br>8               | TGTTAGTCCCTGACTTCAAC | 56 | 4615 | 4634 | 99  |
| 532702 | 1328 | 1347 | エク<br>ソン<br>8               | TCTTGGTGTTAGTCCCTGAC | 86 | 4621 | 4640 | 100 |
| 532703 | 1349 | 1368 | エク<br>ソン<br>8               | TGTACACTGCCTGGAGGGCC | 35 | 4642 | 4661 | 101 |
| 532704 | 1355 | 1374 | エク<br>ソン<br>8               | TCATGCTGTACACTGCCTGG | 12 | 4648 | 4667 | 102 |
| 532705 | 1393 | 1412 | エク<br>ソン<br>8               | GTTCCAGCCTTCAGGAGGGA | 27 | 4686 | 4705 | 103 |

【 1 2 7 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 1 - 3】

|        |      |      |                              |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|------------------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532706 | 1399 | 1418 | エク<br>ソン<br>8                | GGTGCGGTTCCAGCCTTCAG | 67 | 4692 | 4711 | 104 |
| 532707 | 1405 | 1424 | エク<br>ソン<br>8                | ATGGCGGGTGCGGTTCCAGC | 26 | 4698 | 4717 | 105 |
| 532708 | 1411 | 1430 | エク<br>ソン<br>8                | GATGACATGGCGGGTGCGGT | 28 | 4704 | 4723 | 106 |
| 532709 | 1417 | 1436 | エク<br>ソン<br>8                | GAGGATGATGACATGGCGGG | 6  | 4710 | 4729 | 107 |
| 532710 | 1443 | 1462 | エク<br>ソン<br>8<br>-9 接<br>合部  | CCCATGTTGTGCAATCCATC | 35 | n/a  | n/a  | 108 |
| 532711 | 1449 | 1468 | エク<br>ソン<br>9                | TCCCCGCCCATGTTGTGCAA | 28 | 5023 | 5042 | 109 |
| 532712 | 1455 | 1474 | エク<br>ソン<br>9                | ATTGGGTCCCCGCCCATGTT | 19 | 5029 | 5048 | 110 |
| 532713 | 1461 | 1480 | エク<br>ソン<br>9                | ACAGTAATTGGGTCCCCGCC | 29 | 5035 | 5054 | 111 |
| 532714 | 1467 | 1486 | エク<br>ソン<br>9                | TCAATGACAGTAATTGGGTC | 49 | 5041 | 5060 | 112 |
| 532715 | 1473 | 1492 | エク<br>ソン<br>9                | ATCTCATCAATGACAGTAAT | 45 | 5047 | 5066 | 113 |
| 532716 | 1479 | 1498 | エク<br>ソン<br>9                | TCCCGGATCTCATCAATGAC | 54 | 5053 | 5072 | 114 |
| 532717 | 1533 | 1552 | エク<br>ソン<br>9<br>-10 接<br>合部 | ACATCCAGATAATCCTCCCT | 22 | n/a  | n/a  | 115 |

【 1 2 7 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 1 - 4】

|        |      |      |                                 |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|---------------------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532718 | 1539 | 1558 | エク<br>ソン<br>9<br>-10<br>接合<br>部 | ACATAGACATCCAGATAATC | 8  | n/a  | n/a  | 116 |
| 532719 | 1545 | 1564 | エク<br>ソン<br>9<br>-10<br>接合<br>部 | CCAAACACATAGACATCCAG | 30 | n/a  | n/a  | 117 |
| 532720 | 1582 | 1601 | エク<br>ソン<br>10                  | AGCATTGATGTTCACTTGGT | 62 | 5231 | 5250 | 118 |
| 532721 | 1588 | 1607 | エク<br>ソン<br>10                  | AGCCAAAGCATTGATGTTCA | 46 | 5237 | 5256 | 119 |
| 532722 | 1594 | 1613 | エク<br>ソン<br>10                  | CTTGGAAGCCAAAGCATTGA | 35 | 5243 | 5262 | 120 |
| 532723 | 1600 | 1619 | エク<br>ソン<br>10                  | GTCTTTCTTGGAAGCCAAAG | 43 | 5249 | 5268 | 121 |
| 532724 | 1606 | 1625 | エク<br>ソン<br>10                  | CTCATTGTCTTTCTTGGAAG | 40 | 5255 | 5274 | 122 |
| 532725 | 1612 | 1631 | エク<br>ソン<br>10                  | ATGTTGCTCATTGTCTTTCT | 49 | 5261 | 5280 | 123 |
| 532726 | 1618 | 1637 | エク<br>ソン<br>10                  | GAACACATGTTGCTCATTGT | 68 | 5267 | 5286 | 124 |
| 532727 | 1624 | 1643 | エク<br>ソン<br>10                  | GACTTTGAACACATGTTGCT | 54 | 5273 | 5292 | 125 |
| 532728 | 1630 | 1649 | エク<br>ソン<br>10                  | ATCCTTGACTTTGAACACAT | 61 | 5279 | 5298 | 126 |

【 1 2 7 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 1 - 5】

|        |      |      |                                  |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|----------------------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532729 | 1636 | 1655 | エク<br>ソン<br>10                   | TTCCATATCCTTGACTTTGA | 55 | 5285 | 5304 | 127 |
| 532730 | 1642 | 1661 | エク<br>ソン<br>10                   | CAGGTTTTCCATATCCTTGA | 51 | 5291 | 5310 | 440 |
| 532731 | 1686 | 1705 | エク<br>ソン<br>10<br>-11<br>接合<br>部 | CTCAGAGACTGGCTTTCATC | 41 | 5827 | 5846 | 129 |
| 532732 | 1692 | 1711 | エク<br>ソン<br>11                   | CAGAGACTCAGAGACTGGCT | 59 | 5833 | 5852 | 130 |
| 516252 | 1698 | 1717 | エク<br>ソン<br>11                   | ATGCCACAGAGACTCAGAGA | 57 | 5839 | 5858 | 131 |
| 532733 | 1704 | 1723 | エク<br>ソン<br>11                   | CAAACCATGCCACAGAGACT | 34 | 5845 | 5864 | 132 |
| 532734 | 1710 | 1729 | エク<br>ソン<br>11                   | TGTTCCCAAACCATGCCACA | 51 | 5851 | 5870 | 133 |
| 532735 | 1734 | 1753 | エク<br>ソン<br>11                   | TTGTGGTAATCGGTACCCTT | 50 | 5875 | 5894 | 134 |
| 532736 | 1740 | 1759 | エク<br>ソン<br>11                   | GGTTGCTTGTGGTAATCGGT | 64 | 5881 | 5900 | 135 |
| 532737 | 1746 | 1765 | エク<br>ソン<br>11                   | TGCCATGGTTGCTTGTGGTA | 40 | 5887 | 5906 | 136 |
| 532738 | 1752 | 1771 | エク<br>ソン<br>11                   | TTGGCCTGCCATGGTTGCTT | 49 | 5893 | 5912 | 137 |
| 532739 | 1758 | 1777 | エク<br>ソン<br>11                   | GAGATCTTGGCCTGCCATGG | 47 | 5899 | 5918 | 138 |

【 1 2 7 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 1 - 6】

|        |      |      |                |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|----------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532740 | 1803 | 1822 | エク<br>ソン<br>12 | ACAGCCCCCATACAGCTCTC | 48 | 6082 | 6101 | 139 |
| 532741 | 1809 | 1828 | エク<br>ソン<br>12 | GACACCACAGCCCCCATACA | 40 | 6088 | 6107 | 140 |
| 532742 | 1815 | 1834 | エク<br>ソン<br>12 | TACTCAGACACCACAGCCCC | 33 | 6094 | 6113 | 141 |
| 532743 | 1821 | 1840 | エク<br>ソン<br>12 | ACAAAGTACTCAGACACCAC | 39 | 6100 | 6119 | 142 |
| 532744 | 1827 | 1846 | エク<br>ソン<br>12 | GTCAGCACAAAGTACTCAGA | 45 | 6106 | 6125 | 143 |
| 532745 | 1872 | 1891 | エク<br>ソン<br>12 | TTGATTGAGTGTTCTTGTC  | 42 | 6151 | 6170 | 144 |
| 532746 | 1878 | 1897 | エク<br>ソン<br>12 | CTGACCTTGATTGAGTGTC  | 53 | 6157 | 6176 | 145 |
| 532747 | 1909 | 1928 | エク<br>ソン<br>13 | TATCTCCAGGTCCCGCTTCT | 31 | 6403 | 6422 | 146 |
| 532748 | 1967 | 1986 | エク<br>ソン<br>13 | GAATTCCTGCTTCTTTTTTC | 30 | 6461 | 6480 | 147 |
| 532749 | 1973 | 1992 | エク<br>ソン<br>13 | ATTCAGGAATTCCTGCTTCT | 40 | 6467 | 6486 | 148 |
| 532750 | 1979 | 1998 | エク<br>ソン<br>13 | CATAAAATTCAGGAATTCCT | 45 | 6473 | 6492 | 149 |
| 532751 | 1985 | 2004 | エク<br>ソン<br>13 | CATAGTCATAAAATTCAGGA | 43 | 6479 | 6498 | 150 |
| 532752 | 2006 | 2025 | エク<br>ソン<br>13 | TGAGCTTGATCAGGGCAACG | 61 | 6500 | 6519 | 151 |

【 1 2 7 5 】

10

20

30

40

50



【表 1 2 1 - 7】

|        |      |      |                                  |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|----------------------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532753 | 2012 | 2031 | エク<br>ソン<br>13                   | TATTCTTGAGCTTGATCAGG | 47 | 6506 | 6525 | 152 |
| 532754 | 2048 | 2067 | エク<br>ソン<br>13<br>-14<br>接合<br>部 | GACAAATGGGCCTGATAGTC | 35 | n/a  | n/a  | 153 |
| 532755 | 2070 | 2089 | エク<br>ソン<br>14                   | GTTGTTCCCTCGGTGCAGGG | 43 | 6659 | 6678 | 154 |
| 532756 | 2076 | 2095 | エク<br>ソン<br>14                   | GCTCGAGTTGTTCCCTCGGT | 51 | 6665 | 6684 | 155 |
| 532757 | 2082 | 2101 | エク<br>ソン<br>14                   | CTCAAAGCTCGAGTTGTTCC | 36 | 6671 | 6690 | 156 |
| 532758 | 2088 | 2107 | エク<br>ソン<br>14                   | GGAAGCCTCAAAGCTCGAGT | 54 | 6677 | 6696 | 157 |
| 532759 | 2094 | 2113 | エク<br>ソン<br>14                   | GTTGGAGGAAGCCTCAAAGC | 52 | 6683 | 6702 | 158 |
| 532760 | 2100 | 2119 | エク<br>ソン<br>14                   | GTGGTAGTTGGAGGAAGCCT | 22 | 6689 | 6708 | 159 |
| 532761 | 2106 | 2125 | エク<br>ソン<br>14                   | TGGCAAGTGGTAGTTGGAGG | 34 | 6695 | 6714 | 160 |
| 532762 | 2112 | 2131 | エク<br>ソン<br>14                   | TGTTGCTGGCAAGTGGTAGT | 52 | 6701 | 6720 | 161 |

## 【 1 2 7 6 】

実施例 1 1 7 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とする新たなアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、C F B m R N A に対するそれらの効果をインビトロで試験した。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドを、培養条件が類似する一連の実験で試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、5 , 0 0 0 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 2 4 時間の処理期間後に、細胞から R N A を単離し、定量リアルタイム P C R によって C F B m R N A レベルを測定した。ヒトプライマープローブセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N ( 登録商標 ) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

## 【 1 2 7 7 】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、5'-10'-5' MOE ギャップマーとして設計された。これらのギャップマーは20ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは10個の2'-デオキシヌクレオシドで構成され、5'側と3'側にそれぞれ5個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5'ウイングセグメント中の各ヌクレオシドと3'ウイングセグメント中の各ヌクレオシドは2'-MOE修飾を有する。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート (P=S) 連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5'-メチルシトシンである。「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も5'側のヌクレオシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号1と呼ぶヒトCFB mRNA (GENBANKアクセッション番号NM\_001710.5) もしくは本明細書において配列番号2と呼ぶヒトCFBゲノム配列 (ヌクレオチド31852000から31861000までを切り出したGENBANKアクセッション番号NT\_007592.15)、またはその両方を標的とする。「n/a」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を100%の相補性では標的としないことを示す。ある特定の表において標的遺伝子に関する配列アラインメントが示されていない場合は、その表に掲載されたオリゴヌクレオチドはいずれも、その標的遺伝子と100%の相補性では整列しないと理解される。

【1278】

10

20

30

40

50

## 【表 1 2 2 - 1】

表 1 3 0 : 配列番号 1 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号 1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番 号<br>1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                    | %<br>阻<br>害 | 配列<br>番号 |
|------------|--------------------------|------------------------------|---------|-----------------------|-------------|----------|
| 588570     | 150                      | 169                          | エクソン 1  | TGGTCACATTCCCTTCCCCT  | 54          | 396      |
| 588571     | 152                      | 171                          | エクソン 1  | CCTGGTCACATTCCCTTCCC  | 63          | 397      |
| 532614     | 154                      | 173                          | エクソン 1  | GACCTGGTCACATTCCCTTC  | 64          | 12       |
| 588572     | 156                      | 175                          | エクソン 1  | TAGACCTGGTCACATTCCCT  | 62          | 398      |
| 588573     | 158                      | 177                          | エクソン 1  | CCTAGACCTGGTCACATTCC  | 53          | 399      |
| 588566     | 2189                     | 2208                         | エクソン 15 | CCTTCCGAGTCAGCTTTTTTC | 60          | 400      |
| 588567     | 2191                     | 2210                         | エクソン 15 | CTCCTTCCGAGTCAGCTTTT  | 61          | 401      |
| 532770     | 2193                     | 2212                         | エクソン 15 | ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT  | 77          | 198      |
| 588568     | 2195                     | 2214                         | エクソン 15 | AGACCTCCTTCCGAGTCAGC  | 72          | 402      |
| 588569     | 2197                     | 2216                         | エクソン 15 | GTAGACCTCCTTCCGAGTCA  | 46          | 403      |
| 588574     | 2453                     | 2472                         | エクソン 18 | TTTGCCGCTTCTGGTTTTTG  | 46          | 404      |
| 588575     | 2455                     | 2474                         | エクソン 18 | CTTTTGCCGCTTCTGGTTTT  | 41          | 405      |
| 532800     | 2457                     | 2476                         | エクソン 18 | TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT  | 69          | 228      |
| 588576     | 2459                     | 2478                         | エクソン 18 | CCTGCTTTTGCCGCTTCTGG  | 61          | 406      |
| 588577     | 2461                     | 2480                         | エクソン 18 | TACCTGCTTTTGCCGCTTCT  | 51          | 407      |
| 516350     | 2550                     | 2569                         | エクソン 18 | AGAAAACCCAAATCCTCATC  | 71          | 408      |
| 588509     | 2551                     | 2570                         | エクソン 18 | TAGAAAACCCAAATCCTCAT  | 58          | 409      |
| 588510     | 2552                     | 2571                         | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCTCA  | 57          | 410      |
| 588511     | 2553                     | 2572                         | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCCTC  | 57          | 411      |
| 588512     | 2554                     | 2573                         | エクソン 18 | TTATAGAAAACCCAAATCCT  | 44          | 412      |
| 588513     | 2555                     | 2574                         | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAATCC  | 37          | 413      |
| 588514     | 2556                     | 2575                         | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAATC  | 50          | 414      |
| 588515     | 2557                     | 2576                         | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAAAT  | 45          | 415      |
| 588516     | 2558                     | 2577                         | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCAAA  | 60          | 416      |
| 588517     | 2559                     | 2578                         | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCCAA  | 67          | 417      |
| 588518     | 2560                     | 2579                         | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACCCA  | 57          | 418      |
| 588519     | 2561                     | 2580                         | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAACCC  | 61          | 419      |
| 588520     | 2562                     | 2581                         | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAACC  | 27          | 420      |
| 588521     | 2563                     | 2582                         | エクソン 18 | GGAAACCCCTTATAGAAAAC  | 25          | 421      |
| 588522     | 2564                     | 2583                         | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAAAA  | 36          | 422      |
| 588523     | 2565                     | 2584                         | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGAAA  | 36          | 423      |
| 588524     | 2566                     | 2585                         | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAGAA  | 46          | 424      |

## 【 1 2 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 2 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|-----|
| 588525 | 2567 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATAGA | 38 | 425 |
| 588526 | 2568 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTATAG | 47 | 426 |
| 588527 | 2569 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTATA | 68 | 427 |
| 588528 | 2570 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTTAT | 63 | 428 |
| 532809 | 2571 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCTTA | 85 | 237 |
| 588529 | 2572 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCCTT | 76 | 429 |
| 588530 | 2573 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGGAAACCCCT | 74 | 430 |
| 588531 | 2574 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACCCC | 75 | 431 |
| 588532 | 2575 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAACCC | 73 | 432 |
| 588533 | 2576 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAACC | 82 | 433 |
| 532810 | 2577 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC | 88 | 238 |
| 588534 | 2578 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA | 86 | 434 |
| 588535 | 2579 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCTGTCCAGCAGGAA | 86 | 435 |
| 588536 | 2580 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCTGTCCAGCAGGA | 93 | 436 |
| 588537 | 2581 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCCTGTCCAGCAGG | 92 | 437 |
| 588538 | 2582 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCCTGTCCAGCAG | 94 | 438 |
| 588539 | 2583 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCCCCTGTCCAGCA | 96 | 439 |
| 588540 | 2584 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCCTGTCCAGC | 88 | 440 |
| 588541 | 2585 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCCCCTGTCCAG | 79 | 441 |
| 588542 | 2586 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCCTGTCCA | 83 | 442 |
| 588543 | 2587 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCCTGTCC | 86 | 443 |
| 588544 | 2588 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCCCTGTC | 90 | 444 |
| 588545 | 2589 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCCCTGT | 92 | 445 |
| 588546 | 2590 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGCCCCTG | 92 | 446 |
| 588547 | 2591 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGCCCCT | 88 | 447 |
| 588548 | 2592 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACGCCCC | 93 | 448 |
| 588549 | 2593 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACGCCC | 88 | 449 |
| 588550 | 2594 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAATCCCACGCC | 89 | 450 |
| 588551 | 2595 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAATTCAATCCCACGC | 94 | 451 |
| 588552 | 2596 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAATTCAATCCCACG | 93 | 452 |
| 588553 | 2597 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTTAATTCAATCCCAC | 96 | 453 |
| 588554 | 2598 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTTAATTCAATCCCA | 98 | 454 |
| 532811 | 2599 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAATTCAATCCC | 97 | 239 |
| 532811 | 2599 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAATTCAATCCC | 95 | 239 |
| 588555 | 2600 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTTAATTCAATCC | 93 | 455 |
| 588556 | 2601 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTTAATTCAATC | 96 | 456 |
| 588557 | 2602 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGTTTTAATTCAAT | 98 | 457 |
| 588558 | 2603 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCTGTTTTAATTCAA | 95 | 458 |

10

20

30

40

【 1 2 8 0 】

50

【表 1 2 2 - 3】

|        |      |      |                  |                      |    |     |
|--------|------|------|------------------|----------------------|----|-----|
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 97 | 317 |
| 588559 | 2605 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTTAATTC | 95 | 459 |
| 588560 | 2606 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTTAATT | 92 | 460 |
| 588561 | 2607 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTTAAT | 93 | 461 |
| 532952 | 2608 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTTAA | 88 | 395 |
| 588562 | 2609 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTTTA | 90 | 462 |
| 588563 | 2610 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGTTTT | 89 | 463 |
| 588564 | 2611 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTGTTT | 92 | 464 |
| 588565 | 2612 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTTGTCGCAGCTGTT | 88 | 465 |

10

【 1 2 8 1】

【表 1 2 3 - 1】

表 1 3 1 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる  
CFB mRNA の阻害

20

| ISIS<br>番号 | 配<br>列<br>番<br>号<br>1<br>開<br>始<br>部<br>位 | 配<br>列<br>番<br>号<br>1<br>終<br>止<br>部<br>位 | 標的領域   | 配列                       | %<br>阻害 | 配列<br>番号<br>2<br>開<br>始<br>部<br>位 | 配列<br>番号<br>2<br>終<br>止<br>部<br>位 | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|---|---|--------|--------------------------|---------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------|
| 588685     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | GGATCCAGCTCACTCCCCTG     | 48      | 1596                              | 1615                              | 466              |
| 588686     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | AAATAAGGATCCAGCTCACT     | 29      | 1602                              | n/a                               | 467              |
| 588688     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | GACCAGAAATAAGGATCCAG     | 58      | 1608                              | 1627                              | 468              |
| 588690     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | CTTAGGGACCAGAAATAAGG     | 45      | 1614                              | 1633                              | 469              |
| 588692     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | CACCCACTTAGGGACCAGAA     | 36      | 1620                              | 1639                              | 470              |
| 588694     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | ACCACCCACTTAGGGACCAG     | 47      | 1622                              | 1641                              | 471              |
| 588696     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | AGGTCCAGGACTCTCCCCTT     | 96      | 1685                              | 1704                              | 472              |
| 588698     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | AAGGTCCAGGACTCTCCCCT     | 96      | 1686                              | 1705                              | 473              |
| 588700     | n/a                                       | n/a                                       | エクソン 1 | AAACTGCAGAAGTCCCACCC     | 2       | 1716                              | 1735                              | 474              |
| 588586     | 30  | 49  | エクソン 1 | GGAGGGCCCCGCTGAGCTG<br>C | 59      | 1751                              | 1770                              | 475              |
| 588587     | 48  | 67  | エクソン 1 | TCCCGGAACATCCAAGCGGG     | 45      | 1769                              | 1788                              | 476              |
| 588588     | 56  | 75  | エクソン 1 | CATCACTTTCCCGGAACATC     | 39      | 1777                              | n/a                               | 477              |
| 588589     | 151                                       | 170                                       | エクソン 1 | CTGGTCACATTCCCTTCCCC     | 29      | 1872                              | 1891                              | 478              |

30

40

【 1 2 8 2】

50

【表 1 2 3 - 2】

|        |      |      |                  |                       |    |      |      |     |
|--------|------|------|------------------|-----------------------|----|------|------|-----|
| 588590 | 157  | 176  | エクソン 1           | CTAGACCTGGTCACATTCCC  | 47 | 1878 | 1897 | 479 |
| 588591 | 339  | 358  | エクソン 1<br>-2 接合部 | GGAGTGGTGGTCACACCTCC  | 44 | n/a  | n/a  | 480 |
| 588592 | 384  | 403  | エクソン 2           | ACCCCCTCCAGAGAGCAGGA  | 43 | 2192 | 2211 | 481 |
| 588593 | 390  | 409  | エクソン 2           | ATCTCTACCCCCTCCAGAGA  | 34 | 2198 | 2217 | 482 |
| 588594 | 467  | 486  | エクソン 2           | GGTACGGGTAGAAGCCAGAA  | 17 | 2275 | 2294 | 483 |
| 588595 | 671  | 690  | エクソン 3           | GGAGAGTGTAAACCGTCATAG | 37 | 2879 | 2898 | 484 |
| 588596 | 689  | 708  | エクソン 3           | TGCGATTGGCAGAGCCCCGG  | 18 | 2897 | 2916 | 485 |
| 588597 | 695  | 714  | エクソン 3           | GGCAGGTGCGATTGGCAGAG  | 32 | 2903 | 2922 | 486 |
| 588598 | 707  | 726  | エクソン 3           | GGCCATTCACTTGGCAGGTG  | 45 | 2915 | 2934 | 487 |
| 588599 | 738  | 757  | エクソン 3           | TTGTACAGATCGCTGTCTG   | 52 | 2946 | 2965 | 488 |
| 588600 | 924  | 943  | エクソン 4<br>-5 接合部 | AAGGAGTCTTGGCAGGAAGG  | 39 | n/a  | n/a  | 489 |
| 588601 | 931  | 950  | エクソン 4<br>-5 接合部 | GTACATGAAGGAGTCTTGGC  | 37 | n/a  | n/a  | 490 |
| 588602 | 959  | 978  | エクソン 5           | AAGCTTCGGCCACCTCTTGA  | 21 | 3542 | 3561 | 491 |
| 588603 | 1089 | 1108 | エクソン 6           | CCATCTAGCACCAGGTAGAT  | 22 | 3773 | 3792 | 492 |
| 588604 | 1108 | 1127 | エクソン 6           | GGCCCCAATGCTGTCTGATC  | 21 | 3792 | 3811 | 493 |
| 588606 | 1150 | 1169 | エクソン 6           | AATTAAGTTGACTAGACACT  | 56 | 3834 | 3853 | 494 |
| 588608 | 1162 | 1181 | エクソン 6<br>-7 接合部 | TGCCACCTTCTCAATTAAGT  | 50 |      | 19   | 495 |
| 588578 | 1167 | 1186 | エクソン 6<br>-7 接合部 | TAACTTGCCACCTTCTCAAT  | 23 | n/a  | n/a  | 496 |
| 588579 | 1169 | 1188 | エクソン 6<br>-7 接合部 | CATAACTTGCCACCTTCTCA  | 23 | n/a  | n/a  | 497 |
| 532692 | 1171 | 1190 | エクソン 6<br>-7 接合部 | ACCATAACTTGCCACCTTCT  | 15 | n/a  | n/a  | 90  |
| 588580 | 1173 | 1192 | エクソン 6<br>-7 接合部 | ACACCATAACTTGCCACCTT  | 16 | n/a  | n/a  | 498 |
| 588581 | 1175 | 1194 | エクソン 6<br>-7 接合部 | TCACACCATAACTTGCCACC  | 14 | 4151 | 4170 | 499 |
| 588610 | 1319 | 1338 | エクソン 8           | TAGTCCCTGACTTCAACTTG  | 50 | 4612 | 4631 | 500 |
| 588612 | 1325 | 1344 | エクソン 8           | TGGTGTTAGTCCCTGACTTC  | 47 | 4618 | 4637 | 501 |
| 588614 | 1396 | 1415 | エクソン 8           | GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG  | 47 | 4689 | 4708 | 502 |
| 588616 | 1421 | 1440 | エクソン 8           | TCATGAGGATGATGACATGG  | 51 | 4714 | 4733 | 503 |
| 588618 | 1446 | 1465 | エクソン 9           | CCGCCCATGTTGTGCAATCC  | 18 | 5020 | 5039 | 504 |
| 588620 | 1458 | 1477 | エクソン 9           | GTAATTGGGTCCCCGCCCAT  | 40 | 5032 | 5051 | 505 |
| 588623 | 1482 | 1501 | エクソン 9           | AAGTCCCGGATCTCATCAAT  | 40 | 5056 | 5075 | 506 |

【 1 2 8 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 3 - 3】

|        |      |      |                  |                       |    |      |      |     |
|--------|------|------|------------------|-----------------------|----|------|------|-----|
| 588624 | 1542 | 1561 | エクソン9<br>-10 接合部 | AACACATAGACATCCAGATA  | 45 | n/a  | n/a  | 507 |
| 588626 | 1585 | 1604 | エクソン<br>10       | CAAAGCATTGATGTTCACCTT | 43 | 5234 | 5253 | 508 |
| 588628 | 1621 | 1640 | エクソン<br>10       | TTTGAACACATGTTGCTCAT  | 45 | 5270 | 5289 | 509 |
| 588631 | 1646 | 1665 | エクソン<br>10       | CTTCCAGGTTTTCCATATCC  | 53 | 5295 | 5314 | 510 |
| 588632 | 1647 | 1666 | エクソン<br>10       | TCTTCCAGGTTTTCCATATC  | 56 | 5296 | 5315 | 511 |
| 588634 | 1689 | 1708 | エクソン<br>11       | AGACTCAGAGACTGGCTTTC  | 35 | 5830 | 5849 | 512 |
| 588636 | 1749 | 1768 | エクソン<br>11       | GCCTGCCATGGTTGCTTGTG  | 55 | 5890 | 5909 | 513 |
| 588638 | 1763 | 1782 | エクソン<br>11       | TGACTGAGATCTTGGCCTGC  | 78 | 5904 | 5923 | 514 |
| 588640 | 1912 | 1931 | エクソン<br>13       | TTCTATCTCCAGGTCCCGCT  | 95 | 6406 | 6425 | 515 |
| 588642 | 1982 | 2001 | エクソン<br>13       | AGTCATAAAATTCAGGAATT  | 44 | 6476 | 6495 | 516 |
| 588645 | 2073 | 2092 | エクソン<br>14       | CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA  | 40 | 6662 | 6681 | 517 |
| 588646 | 2085 | 2104 | エクソン<br>14       | AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT  | 57 | 6674 | 6693 | 518 |
| 588648 | 2091 | 2110 | エクソン<br>14       | GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG  | 48 | 6680 | 6699 | 519 |
| 588651 | 2097 | 2116 | エクソン<br>14       | GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA  | 40 | 6686 | 6705 | 520 |
| 588652 | 2103 | 2122 | エクソン<br>14       | CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG  | 43 | 6692 | 6711 | 521 |
| 588654 | 2166 | 2185 | エクソン<br>15       | TCCTCAGACACAAACAGAGC  | 13 | 6954 | 6973 | 522 |
| 588656 | 2172 | 2191 | エクソン<br>15       | TTCTCCTCCTCAGACACAAA  | 55 | 6960 | 6979 | 523 |
| 588658 | 2196 | 2215 | エクソン<br>15       | TAGACCTCCTCCGAGTCAG   | 44 | 6984 | 7003 | 524 |
| 588660 | 2202 | 2221 | エクソン<br>15       | TTGATGTAGACCTCCTCCG   | 50 | 6990 | 7009 | 525 |

【 1 2 8 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 3 - 4】

|        |      |      |                       |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|-----------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 588582 | 2219 | 2238 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | CTTTCTTATCCCCATTCTTG | 19 | n/a  | n/a  | 526 |
| 588583 | 2221 | 2240 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | GCCTTTCTTATCCCCATTCT | 14 | n/a  | n/a  | 527 |
| 532775 | 2223 | 2242 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | CTGCCTTTCTTATCCCCATT | 3  | n/a  | n/a  | 203 |
| 588584 | 2225 | 2244 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | AGCTGCCTTTCTTATCCCCA | 18 | n/a  | n/a  | 528 |
| 588662 | 2226 | 2245 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | CAGCTGCCTTTCTTATCCCC | 27 | n/a  | n/a  | 529 |
| 588585 | 2227 | 2246 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | ACAGCTGCCTTTCTTATCCC | 59 | n/a  | n/a  | 530 |
| 588664 | 2238 | 2257 | エクソン<br>16            | GCATCTCTCTCACAGCTGCC | 49 | 7122 | 7141 | 531 |
| 588666 | 2276 | 2295 | エクソン<br>16            | AGATGTCCTTGACTTTGTCA | 41 | 7160 | 7179 | 532 |
| 588668 | 2330 | 2349 | エクソン<br>16            | CAGCATAGGGACTCACTCCT | 41 | 7214 | 7233 | 533 |
| 588670 | 2361 | 2380 | エクソン<br>16<br>-17 接合部 | CCGCCAGAATCACCTCTGCA | 43 | n/a  | n/a  | 534 |
| 588672 | 2397 | 2416 | エクソン<br>17            | TGAATGAAACGACTTCTCTT | 52 | 7362 | 7381 | 535 |
| 588674 | 2430 | 2449 | エクソン<br>18            | ACATCCACTACTCCCCAGCT | 39 | 7665 | 7684 | 536 |
| 588676 | 2448 | 2467 | エクソン<br>18            | CGCTTCTGGTTTTTGCAGAC | 69 | 7683 | 7702 | 537 |
| 588678 | 2454 | 2473 | エクソン<br>18            | TTTTGCCGCTTCTGGTTTTT | 46 | 7689 | 7708 | 538 |
| 588680 | 2466 | 2485 | エクソン<br>18            | GCAGGTACCTGCTTTTGCCG | 47 | 7701 | 7720 | 539 |
| 588682 | 2532 | 2551 | エクソン<br>18            | TCTTGGAGTTTCTCCTTCAG | 58 | 7767 | 7786 | 540 |

【 1 2 8 5 】

【表 1 2 3 - 5】

|        |      |      |            |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 532811 | 2599 | 2618 | エクソン<br>18 | AGCTGTTTTAATTCAATCCC | 10 | 7834 | 7853 | 239 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 11 | 7839 | 7858 | 317 |

10

20

30

40

50



## 【 1 2 8 6 】

実施例 1 1 8 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、C F B m R N A に対するそれらの効果をインビトロで試験した。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドを、培養条件が類似する一連の実験で試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、3 , 0 0 0 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 2 4 時間の処理期間後に、細胞から R N A を単離し、定量リアルタイム P C R によって C F B m R N A レベルを測定した。ヒトプライマーブローブセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

10

## 【 1 2 8 7 】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、4 - 8 - 5 M O E、5 - 9 - 5 M O E、5 - 1 0 - 5 M O E、3 - 1 0 - 4 M O E、3 - 1 0 - 7 M O E、6 - 7 - 6 - M O E、6 - 8 - 6 M O E、もしくは 5 - 7 - 5 M O E ギャップマーとして、またはデオキシ、M O E、及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドとして設計された。

## 【 1 2 8 8 】

4 - 8 - 5 M O E ギャップマーは 1 7 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 8 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 4 個及び 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 9 - 5 M O E ギャップマーは 1 9 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 9 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 7 - 5 M O E ギャップマーは 1 7 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 7 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。3 - 1 0 - 4 M O E ギャップマーは 1 7 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 3 個及び 4 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。3 - 1 0 - 7 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 3 個及び 7 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。6 - 7 - 6 M O E ギャップマーは 1 9 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 7 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 6 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。6 - 8 - 6 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 8 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 6 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート ( P = S ) 連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5 - メチルシトシンである。

20

30

40

## 【 1 2 8 9 】

前記デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドは 1 6 ヌクレオシド長であり、そのヌクレオシドは M O E 糖修飾、( S ) - c E t 糖修飾、またはデオキシ修飾のいずれかを有する。「化学的特徴」欄には各オリゴヌクレオチドの糖修飾を記載する。「k」は ( S ) - c E t 糖修飾を示し、「d」はデオキシリボースを示し、「e」は M O E 修飾を示す。

## 【 1 2 9 0 】

「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 5 ' 側のヌクレ

50

オシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号1と呼ぶヒトCFB mRNA (GENBANKアクセッション番号NM\_001710.5)もしくは本明細書において配列番号2と呼ぶヒトCFBゲノム配列(ヌクレオチド31852000から31861000までを切り出したGENBANKアクセッション番号NT\_007592.15)、またはその両方を標的とする。「n/a」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を100%の相補性では標的としないことを示す。

【1291】

【表124-1】

表132：配列番号1または配列番号2を標的とするデオキシ、MOE及び(S)-cEtオリゴヌクレオチドによるCFB mRNAの阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号1<br>終止<br>部位 | 標的領域              | 配列                       | %<br>阻害 | 配列<br>番号<br>2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終止<br>部位 | モチーフ                    | 配列<br>番号 |
|------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|--------------------------|---------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|----------|
| 532811     | 2599                  | 2618                  | エクソン18            | AGCTGTTTAAAT<br>TCAATCCC | 10      | 7834                      | 7853                      | eeeeeddddd<br>ddddeeeee | 239      |
| 588884     | 48                    | 63                    | エクソン1             | GGAACATCCAA<br>GCGGG     | 79      | 1769                      | 1784                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 541      |
| 588872     | 154                   | 169                   | エクソン1             | TGGTCACATTCC<br>CTTC     | 91      | 1875                      | 1890                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 542      |
| 588873     | 156                   | 171                   | エクソン1             | CCTGGTCACATT<br>CCCT     | 91      | 1877                      | 1892                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 543      |
| 588874     | 158                   | 173                   | エクソン1             | GACCTGGTCAC<br>ATTCC     | 91      | 1879                      | 1894                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 544      |
| 588878     | 1171                  | 1186                  | エクソン6<br>-7 接合部   | TAACTTGCCACC<br>TTCT     | 92      | n/a                       | n/a                       | eeekdddddd<br>dddkke    | 545      |
| 588879     | 1173                  | 1188                  | エクソン6<br>-7 接合部   | CATAACTGCCA<br>CCTT      | 94      | n/a                       | n/a                       | eeekdddddd<br>dddkke    | 546      |
| 588880     | 1175                  | 1190                  | エクソン6<br>-7 接合部   | ACCATAACTTGC<br>CACC     | 89      | 4151                      | 4166                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 547      |
| 588869     | 2193                  | 2208                  | エクソン15            | CCTTCCGAGTC<br>AGCTT     | 17      | 6981                      | 6996                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 548      |
| 588870     | 2195                  | 2210                  | エクソン15            | CTCCTTCCGAGT<br>CAGC     | 78      | 6983                      | 6998                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 549      |
| 588871     | 2197                  | 2212                  | エクソン15            | ACCTCCTTCCGA<br>GTCA     | 80      | 6985                      | 7000                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 550      |
| 588881     | 2223                  | 2238                  | エクソン15<br>-16 接合部 | CTTTCTATCCC<br>CATT      | 93      | n/a                       | n/a                       | eeekdddddd<br>dddkke    | 551      |
| 588882     | 2225                  | 2240                  | エクソン15<br>-16 接合部 | GCCTTTCTTATC<br>CCCA     | 88      | n/a                       | n/a                       | eeekdddddd<br>dddkke    | 552      |
| 588883     | 2227                  | 2242                  | エクソン15<br>-16 接合部 | CTGCCTTTCTTA<br>TCCC     | 90      | n/a                       | n/a                       | eeekdddddd<br>dddkke    | 553      |
| 588875     | 2457                  | 2472                  | エクソン18            | TTTGCCGCTTCT<br>GGTT     | 81      | 7692                      | 7707                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 554      |
| 588876     | 2459                  | 2474                  | エクソン18            | CTTTTGCCGCTT<br>CTGG     | 95      | 7694                      | 7709                      | eeekdddddd<br>dddkke    | 555      |

10

20

30

40

50

【 1 2 9 2 】

【 表 1 2 4 - 2 】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                   |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|-------------------|-----|
| 588877 | 2461 | 2476 | エクソン 18 | TGCTTTTGCCGC<br>TTCT | 91 | 7696 | 7711 | eekeeeee<br>ddkke | 556 |
| 588807 | 2551 | 2566 | エクソン 18 | AAACCCAAATC<br>CTCAT | 82 | 7786 | 7801 | eekeeeee<br>ddkke | 557 |
| 588808 | 2553 | 2568 | エクソン 18 | GAAACCCAAA<br>TCCTC  | 69 | 7788 | 7803 | eekeeeee<br>ddkke | 558 |
| 588809 | 2555 | 2570 | エクソン 18 | TAGAAAACCCA<br>AATCC | 51 | 7790 | 7805 | eekeeeee<br>ddkke | 559 |
| 588810 | 2556 | 2571 | エクソン 18 | ATAGAAAACCC<br>AAATC | 23 | 7791 | 7806 | eekeeeee<br>ddkke | 560 |
| 588811 | 2559 | 2574 | エクソン 18 | CTTATAGAAAC<br>CCAA  | 13 | 7794 | 7809 | eekeeeee<br>ddkke | 561 |
| 588812 | 2560 | 2575 | エクソン 18 | CCTTATAGAAA<br>CCCA  | 29 | 7795 | 7810 | eekeeeee<br>ddkke | 562 |
| 588813 | 2561 | 2576 | エクソン 18 | CCCTTATAGAA<br>ACCC  | 53 | 7796 | 7811 | eekeeeee<br>ddkke | 563 |
| 588814 | 2562 | 2577 | エクソン 18 | CCCCTTATAGAA<br>AACC | 86 | 7797 | 7812 | eekeeeee<br>ddkke | 564 |
| 588815 | 2563 | 2578 | エクソン 18 | ACCCCTTATAGA<br>AAAC | 76 | 7798 | 7813 | eekeeeee<br>ddkke | 565 |
| 588816 | 2564 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTATAG<br>AAAA | 33 | 7799 | 7814 | eekeeeee<br>ddkke | 566 |
| 588817 | 2565 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTTATA<br>GAAA | 48 | 7800 | 7815 | eekeeeee<br>ddkke | 567 |
| 588818 | 2566 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCTTAT<br>AGAA | 44 | 7801 | 7816 | eekeeeee<br>ddkke | 568 |
| 588819 | 2567 | 2582 | エクソン 18 | GGAAACCCCTTA<br>TAGA | 74 | 7802 | 7817 | eekeeeee<br>ddkke | 569 |
| 588820 | 2568 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACCCCT<br>TATAG | 68 | 7803 | 7818 | eekeeeee<br>ddkke | 570 |
| 588821 | 2569 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAACCCC<br>TTATA | 45 | 7804 | 7819 | eekeeeee<br>ddkke | 571 |
| 588822 | 2570 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAACCC<br>CTTAT | 50 | 7805 | 7820 | eekeeeee<br>ddkke | 572 |
| 588823 | 2571 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACC<br>CCTTA | 54 | 7806 | 7821 | eekeeeee<br>ddkke | 573 |
| 588824 | 2572 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAAC<br>CCCTT | 35 | 7807 | 7822 | eekeeeee<br>ddkke | 574 |

10

20

30

40

【 1 2 9 3 】

【表 1 2 4 - 3】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                      |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|----------------------|-----|
| 588825 | 2573 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGGAAA<br>CCCCT | 11 | 7808 | 7823 | eekeeeeeee<br>dddkke | 575 |
| 588826 | 2574 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAA<br>ACCCC | 19 | 7809 | 7824 | eekeeeeeee<br>dddkke | 576 |
| 588827 | 2575 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGA<br>AACCC | 42 | 7810 | 7825 | eekeeeeeee<br>dddkke | 577 |
| 588828 | 2576 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGG<br>AAACC | 0  | 7811 | 7826 | eekeeeeeee<br>dddkke | 578 |
| 588829 | 2577 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAG<br>GAAAC | 49 | 7812 | 7827 | eekeeeeeee<br>dddkke | 579 |
| 588830 | 2578 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCA<br>GAAAA | 11 | 7813 | 7828 | eekeeeeeee<br>dddkke | 580 |
| 588831 | 2579 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGC<br>AGGAA | 20 | 7814 | 7829 | eekeeeeeee<br>dddkke | 581 |
| 588832 | 2580 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAG<br>CAGGA | 19 | 7815 | 7830 | eekeeeeeee<br>dddkke | 582 |
| 588833 | 2581 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCA<br>GCAGG | 12 | 7816 | 7831 | eekeeeeeee<br>dddkke | 583 |
| 588834 | 2582 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCCTGTCC<br>AGCAG | 10 | 7817 | 7832 | eekeeeeeee<br>dddkke | 584 |
| 588835 | 2583 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCTGTC<br>CAGCA | 13 | 7818 | 7833 | eekeeeeeee<br>dddkke | 585 |
| 588836 | 2584 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCTGT<br>CCAGC | 13 | 7819 | 7834 | eekeeeeeee<br>dddkke | 586 |
| 588837 | 2585 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCCTG<br>TCCAG | 39 | 7820 | 7835 | eekeeeeeee<br>dddkke | 587 |
| 588838 | 2586 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCCT<br>GTCCA | 54 | 7821 | 7836 | eekeeeeeee<br>dddkke | 588 |
| 588839 | 2587 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCCCCT<br>GTCC | 51 | 7822 | 7837 | eekeeeeeee<br>dddkke | 589 |
| 588840 | 2588 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCC<br>TGTC | 65 | 7823 | 7838 | eekeeeeeee<br>dddkke | 590 |
| 588841 | 2589 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCC<br>CCTGT | 59 | 7824 | 7839 | eekeeeeeee<br>dddkke | 591 |
| 588842 | 2590 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGC<br>CCCTG | 70 | 7825 | 7840 | eekeeeeeee<br>dddkke | 592 |
| 588843 | 2591 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGC<br>CCCT | 0  | 7826 | 7841 | eekeeeeeee<br>dddkke | 593 |

【 1 2 9 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 4 - 4】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                     |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|---------------------|-----|
| 588844 | 2592 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACG<br>CCCC | 48 | 7827 | 7842 | eeekddddd<br>dddkke | 594 |
| 588845 | 2593 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCAC<br>GCCC | 46 | 7828 | 7843 | eeekddddd<br>dddkke | 595 |
| 588846 | 2594 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCA<br>CGCC | 67 | 7829 | 7844 | eeekddddd<br>dddkke | 596 |
| 588847 | 2595 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCC<br>ACGC | 75 | 7830 | 7845 | eeekddddd<br>dddkke | 597 |
| 588848 | 2596 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCC<br>CACG | 76 | 7831 | 7846 | eeekddddd<br>dddkke | 598 |
| 588849 | 2597 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATC<br>CCAC | 94 | 7832 | 7847 | eeekddddd<br>dddkke | 599 |
| 588850 | 2598 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAAT<br>CCCA | 91 | 7833 | 7848 | eeekddddd<br>dddkke | 600 |
| 588851 | 2599 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAATTCAA<br>TCCC | 91 | 7834 | 7849 | eeekddddd<br>dddkke | 601 |
| 588852 | 2600 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAATTCA<br>ATCC | 78 | 7835 | 7850 | eeekddddd<br>dddkke | 602 |
| 588853 | 2601 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTTAATTC<br>AATC | 81 | 7836 | 7851 | eeekddddd<br>dddkke | 603 |
| 588854 | 2602 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTTAATT<br>CAAT | 63 | 7837 | 7852 | eeekddddd<br>dddkke | 604 |
| 588855 | 2603 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAAT<br>TCAA | 65 | 7838 | 7853 | eeekddddd<br>dddkke | 605 |
| 588856 | 2604 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTTAA<br>TTCA | 76 | 7839 | 7854 | eeekddddd<br>dddkke | 606 |
| 588857 | 2605 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTTA<br>ATTC | 89 | 7840 | 7855 | eeekddddd<br>dddkke | 607 |
| 588858 | 2606 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGTTTT<br>AATT | 89 | 7841 | 7856 | eeekddddd<br>dddkke | 608 |
| 588859 | 2607 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCTGTTT<br>TAAT | 89 | 7842 | 7857 | eeekddddd<br>dddkke | 609 |
| 588860 | 2608 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCTGTT<br>TTAA | 76 | 7843 | 7858 | eeekddddd<br>dddkke | 610 |
| 588861 | 2609 | 2624 | エクソン 18 | TGTCGCAGCTGT<br>TTTA | 87 | 7844 | 7859 | eeekddddd<br>dddkke | 611 |
| 588862 | 2610 | 2625 | エクソン 18 | TTGTCGCAGCTG<br>TTTT | 85 | 7845 | 7860 | eeekddddd<br>dddkke | 612 |

【 1 2 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 4 - 5】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                      |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|----------------------|-----|
| 588863 | 2611 | 2626 | エクソン 18 | GTTGTCGCAGCT<br>GTTT | 87 | 7846 | 7861 | eekddddddd<br>dddkke | 613 |
| 588864 | 2612 | 2627 | エクソン 18 | TGTTGTCGCAGC<br>TGTT | 67 | 7847 | 7862 | eekddddddd<br>dddkke | 614 |
| 588865 | 2613 | 2628 | エクソン 18 | TTGTTGTCGCAG<br>CTGT | 51 | n/a  | n/a  | eekddddddd<br>dddkke | 615 |
| 588866 | 2614 | 2629 | エクソン 18 | TTTGTTGTCGCA<br>GCTG | 95 | n/a  | n/a  | eekddddddd<br>dddkke | 616 |
| 588867 | 2615 | 2630 | エクソン 18 | TTTTGTTGTCGC<br>AGCT | 92 | n/a  | n/a  | eekddddddd<br>dddkke | 617 |
| 588868 | 2616 | 2631 | エクソン 18 | TTTTTGTTGTCG<br>CAGC | 66 | n/a  | n/a  | eekddddddd<br>dddkke | 618 |

10

【 1 2 9 6 】

【表 1 2 5 - 1】

表 1 3 3 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる  
CFB mRNA の阻害

20

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域                 | 配列                   | %<br>阻<br>害 | 配列<br>番号<br>2<br>開 始<br>部位 | 配列<br>番号<br>2<br>終 止<br>部位 | 配列<br>番号 |
|------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|----------|
| 588685     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | GGATCCAGCTCACTCCCCTG | 14          | 1596                       | 1615                       | 466      |
| 588686     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | AAATAAGGATCCAGCTCACT | 2           | 1602                       | 1621                       | 467      |
| 588688     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | GACCAGAAATAAGGATCCAG | 3           | 1608                       | 1627                       | 468      |
| 588690     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | CTTAGGGACCAGAAATAAGG | 10          | 1614                       | 1633                       | 469      |
| 588692     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | CACCCACTTAGGGACCAGAA | 23          | 1620                       | 1639                       | 470      |
| 588694     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | ACCACCCACTTAGGGACCAG | 23          | 1622                       | 1641                       | 471      |
| 588696     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | AGGTCCAGGACTCTCCCCTT | 15          | 1685                       | 1704                       | 472      |
| 588698     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | AAGGTCCAGGACTCTCCCCT | 19          | 1686                       | 1705                       | 473      |
| 588700     | n/a                     | n/a                     | エクソン 1               | AAACTGCAGAAGTCCCACCC | 16          | 1716                       | 1735                       | 474      |
| 588586     | 30                      | 49                      | エクソン 1               | GGAGGGCCCCGCTGAGCTGC | 11          | 1751                       | 1770                       | 475      |
| 588587     | 48                      | 67                      | エクソン 1               | TCCCGGAACATCCAAGCGGG | 14          | 1769                       | 1788                       | 476      |
| 588588     | 56                      | 75                      | エクソン 1               | CATCACTTTCCCGGAACATC | 18          | 1777                       | 1796                       | 477      |
| 588589     | 151                     | 170                     | エクソン 1               | CTGGTCACATTCCCTTCCCC | 59          | 1872                       | 1891                       | 478      |
| 588590     | 157                     | 176                     | エクソン 1               | CTAGACCTGGTCACATTCCC | 59          | 1878                       | 1897                       | 479      |
| 588591     | 339                     | 358                     | エクソン 1<br>-2 接合<br>部 | GGAGTGGTGGTCACACCTCC | 45          | n/a                        | n/a                        | 480      |
| 588592     | 384                     | 403                     | エクソン 2               | ACCCCTCCAGAGAGCAGGA  | 39          | 2192                       | 2211                       | 481      |

30

40

【 1 2 9 7 】

50

【表 1 2 5 - 2】

|        |      |      |                  |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 588593 | 390  | 409  | エクソン2            | ATCTCTACCCCCTCCAGAGA | 29 | 2198 | 2217 | 482 |
| 588594 | 467  | 486  | エクソン2            | GGTACGGGTAGAAGCCAGAA | 47 | 2275 | 2294 | 483 |
| 588595 | 671  | 690  | エクソン3            | GGAGAGTGTAACCGTCATAG | 44 | 2879 | 2898 | 484 |
| 588596 | 689  | 708  | エクソン3            | TGCGATTGGCAGAGCCCCGG | 43 | 2897 | 2916 | 638 |
| 588597 | 695  | 714  | エクソン3            | GGCAGGTGCGATTGGCAGAG | 34 | 2903 | 2922 | 486 |
| 588598 | 707  | 726  | エクソン3            | GGCCATTCACTTGGCAGGTG | 17 | 2915 | 2934 | 487 |
| 588599 | 738  | 757  | エクソン3            | TTGTCACAGATCGCTGTCTG | 37 | 2946 | 2965 | 488 |
| 588600 | 924  | 943  | エクソン3<br>-4 接合部  | AAGGAGTCTTGGCAGGAAGG | 18 | n/a  | n/a  | 489 |
| 588601 | 931  | 950  | エクソン3<br>-4 接合部  | GTACATGAAGGAGTCTTGGC | 32 | n/a  | n/a  | 490 |
| 588602 | 959  | 978  | エクソン5            | AAGCTTCGGCCACCTCTTGA | 45 | 3542 | 3561 | 491 |
| 588603 | 1089 | 1108 | エクソン6            | CCATCTAGCACCAGGTAGAT | 52 | 3773 | 3792 | 492 |
| 588604 | 1108 | 1127 | エクソン6            | GGCCCCAATGCTGTCTGATC | 39 | 3792 | 3811 | 493 |
| 588606 | 1150 | 1169 | エクソン6            | AATTAAGTTGACTAGACACT | 37 | 3834 | 3853 | 494 |
| 588608 | 1162 | 1181 | エクソン6<br>-7 接合部  | TGCCACCTTCTCAATTAAGT | 21 | n/a  | n/a  | 648 |
| 588578 | 1167 | 1186 | エクソン6<br>-7 接合部  | TAACTTGCCACCTTCTCAAT | 22 | n/a  | n/a  | 496 |
| 588579 | 1169 | 1188 | エクソン6<br>-7 接合部  | CATAACTTGCCACCTTCTCA | 21 | n/a  | n/a  | 497 |
| 532692 | 1171 | 1190 | エクソン6<br>-7 接合部  | ACCATAACTTGCCACCTTCT | 56 | n/a  | n/a  | 90  |
| 588580 | 1173 | 1192 | エクソン6<br>-7 接合部  | ACACCATAACTTGCCACCTT | 50 | n/a  | n/a  | 498 |
| 588581 | 1175 | 1194 | エクソン7            | TCACACCATAACTTGCCACC | 50 | 4151 | 4170 | 499 |
| 588610 | 1319 | 1338 | エクソン8            | TAGTCCCTGACTTCAACTTG | 47 | 4612 | 4631 | 500 |
| 588612 | 1325 | 1344 | エクソン8            | TGGTGTAGTCCCTGACTTC  | 47 | 4618 | 4637 | 501 |
| 588614 | 1396 | 1415 | エクソン8            | GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG | 51 | 4689 | 4708 | 502 |
| 588616 | 1421 | 1440 | エクソン8            | TCATGAGGATGATGACATGG | 18 | 4714 | 4733 | 503 |
| 588618 | 1446 | 1465 | エクソン9            | CCGCCCATGTTGTGCAATCC | 40 | 5020 | 5039 | 504 |
| 588620 | 1458 | 1477 | エクソン9            | GTAATTGGGTCCCCGCCCAT | 40 | 5032 | 5051 | 505 |
| 588623 | 1482 | 1501 | エクソン9            | AAGTCCCGGATCTCATCAAT | 45 | 5056 | 5075 | 506 |
| 588624 | 1542 | 1561 | エクソン9<br>-10 接合部 | AACACATAGACATCCAGATA | 43 | n/a  | n/a  | 507 |

【 1 2 9 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 5 - 3】

|        |      |      |                       |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|-----------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 588626 | 1585 | 1604 | エクソン<br>10            | CAAAGCATTGATGTTCACTT | 45 | 5234 | 5253 | 508 |
| 588628 | 1621 | 1640 | エクソン<br>10            | TTTGAACACATGTTGCTCAT | 53 | 5270 | 5289 | 509 |
| 588631 | 1646 | 1665 | エクソン<br>10            | CTTCCAGGTTTTCCATATCC | 56 | 5295 | 5314 | 510 |
| 588632 | 1647 | 1666 | エクソン<br>10            | TCTTCCAGGTTTTCCATATC | 35 | 5296 | 5315 | 511 |
| 588634 | 1689 | 1708 | エクソン<br>11            | AGACTCAGAGACTGGCTTTC | 55 | 5830 | 5849 | 512 |
| 588636 | 1749 | 1768 | エクソン<br>11            | GCCTGCCATGGTTGCTTGTG | 78 | 5890 | 5909 | 513 |
| 588638 | 1763 | 1782 | エクソン<br>11            | TGACTGAGATCTTGGCCTGC | 95 | 5904 | 5923 | 514 |
| 588640 | 1912 | 1931 | エクソン<br>13            | TTCTATCTCCAGGTCCCGCT | 44 | 6406 | 6425 | 515 |
| 588642 | 1982 | 2001 | エクソン<br>13            | AGTCATAAAATTCAGGAATT | 40 | 6476 | 6495 | 516 |
| 588645 | 2073 | 2092 | エクソン<br>14            | CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA | 57 | 6662 | 6681 | 517 |
| 588646 | 2085 | 2104 | エクソン<br>14            | AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT | 48 | 6674 | 6693 | 518 |
| 588648 | 2091 | 2110 | エクソン<br>14            | GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG | 40 | 6680 | 6699 | 519 |
| 588651 | 2097 | 2116 | エクソン<br>14            | GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA | 43 | 6686 | 6705 | 520 |
| 588652 | 2103 | 2122 | エクソン<br>14            | CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG | 13 | 6692 | 6711 | 521 |
| 588654 | 2166 | 2185 | エクソン<br>15            | TCCTCAGACACAAACAGAGC | 55 | 6954 | 6973 | 522 |
| 588656 | 2172 | 2191 | エクソン<br>15            | TTCTCCTCCTCAGACACAAA | 44 | 6960 | 6979 | 523 |
| 588658 | 2196 | 2215 | エクソン<br>15            | TAGACCTCCTTCCGAGTCAG | 50 | 6984 | 7003 | 524 |
| 588660 | 2202 | 2221 | エクソン<br>15            | TTGATGTAGACCTCCTTCCG | 27 | 6990 | 7009 | 525 |
| 588582 | 2219 | 2238 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | CTTTCTTATCCCCATTCTTG | 49 | n/a  | n/a  | 526 |

【 1 2 9 9 】

10

20

30

40

50



【表 1 2 5 - 4】

|        |      |      |                       |                      |    |      |      |     |
|--------|------|------|-----------------------|----------------------|----|------|------|-----|
| 588583 | 2221 | 2240 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | GCCTTTCTTATCCCCATTCT | 41 | n/a  | n/a  | 527 |
| 532775 | 2223 | 2242 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | CTGCCTTTCTTATCCCCATT | 41 | n/a  | n/a  | 203 |
| 588584 | 2225 | 2244 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | AGCTGCCTTTCTTATCCCCA | 43 | n/a  | n/a  | 528 |
| 588662 | 2226 | 2245 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | CAGCTGCCTTTCTTATCCCC | 52 | n/a  | n/a  | 529 |
| 588585 | 2227 | 2246 | エクソン<br>15<br>-16 接合部 | ACAGCTGCCTTTCTTATCCC | 39 | n/a  | n/a  | 530 |
| 588664 | 2238 | 2257 | エクソン<br>16            | GCATCTCTCTCACAGTGCC  | 69 | 7122 | 7141 | 531 |
| 588666 | 2276 | 2295 | エクソン<br>16            | AGATGTCCTTGACTTTGTCA | 46 | 7160 | 7179 | 532 |
| 588668 | 2330 | 2349 | エクソン<br>16            | CAGCATAGGGACTCACTCCT | 47 | 7214 | 7233 | 533 |
| 588670 | 2361 | 2380 | エクソン<br>16<br>-17 接合部 | CCGCCAGAATCACCTCTGCA | 58 | n/a  | n/a  | 534 |
| 588672 | 2397 | 2416 | エクソン<br>17            | TGAATGAAACGACTTCTCTT | 48 | 7362 | 7381 | 535 |
| 588674 | 2430 | 2449 | エクソン<br>18            | ACATCCACTACTCCCCAGCT | 29 | 7665 | 7684 | 536 |
| 588676 | 2448 | 2467 | エクソン<br>18            | CGCTTCTGGTTTTTGCAGAC | 58 | 7683 | 7702 | 537 |
| 588678 | 2454 | 2473 | エクソン<br>18            | TTTTGCCGCTTCTGGTTTTT | 45 | 7689 | 7708 | 538 |
| 588680 | 2466 | 2485 | エクソン<br>18            | GCAGGTACCTGCTTTTGCCG | 36 | 7701 | 7720 | 539 |
| 588682 | 2532 | 2551 | エクソン<br>18            | TCTTGGAGTTTCTCCTTCAG | 47 | 7767 | 7786 | 540 |
| 532811 | 2599 | 2618 | エクソン<br>18            | AGCTGTTTTAATTCAATCCC | 96 | 7834 | 7853 | 239 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18            | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 96 | 7839 | 7858 | 317 |

【 1 3 0 0 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 2 6 - 1】

表 1 3 4 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR NA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部 位 | 標的領域       | 配列                | %<br>阻害 | 配 列<br>番号<br>2<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号<br>2<br>終 止<br>部 位 | モチーフ   | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|-------------------------|--------------------------|------------|-------------------|---------|-----------------------------|------------------------------|--------|------------------|
| 598973     | 2552                    | 2568                     | エクソン<br>18 | GAAAACCCAAATCCTCA | 40      | 7787                        | 7803                         | 3-10-4 | 619              |
| 599036     | 2552                    | 2568                     | エクソン<br>18 | GAAAACCCAAATCCTCA | 18      | 7787                        | 7803                         | 5-7-5  | 619              |
| 598974     | 2553                    | 2569                     | エクソン<br>18 | AGAAAACCCAAATCCTC | 28      | 7788                        | 7804                         | 3-10-4 | 620              |
| 599037     | 2553                    | 2569                     | エクソン<br>18 | AGAAAACCCAAATCCTC | 19      | 7788                        | 7804                         | 5-7-5  | 620              |
| 598975     | 2554                    | 2570                     | エクソン<br>18 | TAGAAAACCCAAATCCT | 15      | 7789                        | 7805                         | 3-10-4 | 621              |
| 599038     | 2554                    | 2570                     | エクソン<br>18 | TAGAAAACCCAAATCCT | 32      | 7789                        | 7805                         | 5-7-5  | 621              |
| 598976     | 2555                    | 2571                     | エクソン<br>18 | ATAGAAAACCCAAATCC | 12      | 7790                        | 7806                         | 3-10-4 | 622              |
| 599039     | 2555                    | 2571                     | エクソン<br>18 | ATAGAAAACCCAAATCC | 7       | 7790                        | 7806                         | 5-7-5  | 622              |
| 598977     | 2557                    | 2573                     | エクソン<br>18 | TTATAGAAAACCCAAAT | 13      | 7792                        | 7808                         | 3-10-4 | 623              |
| 599040     | 2557                    | 2573                     | エクソン<br>18 | TTATAGAAAACCCAAAT | 13      | 7792                        | 7808                         | 5-7-5  | 623              |
| 598978     | 2558                    | 2574                     | エクソン<br>18 | CTTATAGAAAACCCAAA | 0       | 7793                        | 7809                         | 3-10-4 | 624              |
| 599041     | 2558                    | 2574                     | エクソン<br>18 | CTTATAGAAAACCCAAA | 0       | 7793                        | 7809                         | 5-7-5  | 624              |
| 598979     | 2559                    | 2575                     | エクソン<br>18 | CCTTATAGAAAACCCAA | 8       | 7794                        | 7810                         | 3-10-4 | 625              |
| 599042     | 2559                    | 2575                     | エクソン<br>18 | CCTTATAGAAAACCCAA | 19      | 7794                        | 7810                         | 5-7-5  | 625              |
| 598980     | 2560                    | 2576                     | エクソン<br>18 | CCCTTATAGAAAACCCA | 42      | 7795                        | 7811                         | 3-10-4 | 626              |
| 599043     | 2560                    | 2576                     | エクソン<br>18 | CCCTTATAGAAAACCCA | 10      | 7795                        | 7811                         | 5-7-5  | 626              |

## 【 1 3 0 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 6 - 2】

|        |      |      |            |                   |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|-------------------|----|------|------|--------|-----|
| 598981 | 2561 | 2577 | エクソン<br>18 | CCCCTTATAGAAAACCC | 20 | 7796 | 7812 | 3-10-4 | 627 |
| 599044 | 2561 | 2577 | エクソン<br>18 | CCCCTTATAGAAAACCC | 12 | 7796 | 7812 | 5-7-5  | 627 |
| 598982 | 2562 | 2578 | エクソン<br>18 | ACCCCTTATAGAAAACC | 10 | 7797 | 7813 | 3-10-4 | 628 |
| 599045 | 2562 | 2578 | エクソン<br>18 | ACCCCTTATAGAAAACC | 3  | 7797 | 7813 | 5-7-5  | 628 |
| 598983 | 2563 | 2579 | エクソン<br>18 | AACCCCTTATAGAAAAC | 0  | 7798 | 7814 | 3-10-4 | 629 |
| 599046 | 2563 | 2579 | エクソン<br>18 | AACCCCTTATAGAAAAC | 18 | 7798 | 7814 | 5-7-5  | 629 |
| 598984 | 2564 | 2580 | エクソン<br>18 | AAACCCCTTATAGAAAA | 0  | 7799 | 7815 | 3-10-4 | 630 |
| 599047 | 2564 | 2580 | エクソン<br>18 | AAACCCCTTATAGAAAA | 7  | 7799 | 7815 | 5-7-5  | 630 |
| 598985 | 2565 | 2581 | エクソン<br>18 | GAAACCCCTTATAGAAA | 0  | 7800 | 7816 | 3-10-4 | 631 |
| 599048 | 2565 | 2581 | エクソン<br>18 | GAAACCCCTTATAGAAA | 9  | 7800 | 7816 | 5-7-5  | 631 |
| 598986 | 2566 | 2582 | エクソン<br>18 | GGAAACCCCTTATAGAA | 0  | 7801 | 7817 | 3-10-4 | 632 |
| 599049 | 2566 | 2582 | エクソン<br>18 | GGAAACCCCTTATAGAA | 18 | 7801 | 7817 | 5-7-5  | 632 |
| 598988 | 2567 | 2583 | エクソン<br>18 | AGGAAACCCCTTATAGA | 0  | 7802 | 7818 | 3-10-4 | 633 |
| 599050 | 2567 | 2583 | エクソン<br>18 | AGGAAACCCCTTATAGA | 8  | 7802 | 7818 | 5-7-5  | 633 |
| 598989 | 2568 | 2584 | エクソン<br>18 | CAGGAAACCCCTTATAG | 0  | 7803 | 7819 | 3-10-4 | 634 |
| 598990 | 2569 | 2585 | エクソン<br>18 | GCAGGAAACCCCTTATA | 8  | 7804 | 7820 | 3-10-4 | 635 |
| 598991 | 2570 | 2586 | エクソン<br>18 | AGCAGGAAACCCCTTAT | 25 | 7805 | 7821 | 3-10-4 | 636 |
| 598992 | 2571 | 2587 | エクソン<br>18 | CAGCAGGAAACCCCTTA | 12 | 7806 | 7822 | 3-10-4 | 637 |
| 598993 | 2572 | 2588 | エクソン<br>18 | CCAGCAGGAAACCCCTT | 37 | 7807 | 7823 | 3-10-4 | 638 |

【 1 3 0 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 6 - 3】

|        |      |      |            |                   |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|-------------------|----|------|------|--------|-----|
| 598994 | 2573 | 2589 | エクソン<br>18 | TCCAGCAGGAAACCCCT | 29 | 7808 | 7824 | 3-10-4 | 639 |
| 598995 | 2574 | 2590 | エクソン<br>18 | GTCCAGCAGGAAACCCC | 42 | 7809 | 7825 | 3-10-4 | 640 |
| 598996 | 2575 | 2591 | エクソン<br>18 | TGTCCAGCAGGAAACCC | 36 | 7810 | 7826 | 3-10-4 | 641 |
| 598997 | 2576 | 2592 | エクソン<br>18 | CTGTCCAGCAGGAAACC | 18 | 7811 | 7827 | 3-10-4 | 642 |
| 598998 | 2577 | 2593 | エクソン<br>18 | CCTGTCCAGCAGGAAAC | 27 | 7812 | 7828 | 3-10-4 | 643 |
| 598999 | 2578 | 2594 | エクソン<br>18 | CCCTGTCCAGCAGGAAA | 61 | 7813 | 7829 | 3-10-4 | 644 |
| 599000 | 2580 | 2596 | エクソン<br>18 | GCCCCTGTCCAGCAGGA | 71 | 7815 | 7831 | 3-10-4 | 645 |
| 599001 | 2581 | 2597 | エクソン<br>18 | CGCCCCTGTCCAGCAGG | 80 | 7816 | 7832 | 3-10-4 | 646 |
| 599002 | 2582 | 2598 | エクソン<br>18 | ACGCCCCTGTCCAGCAG | 68 | 7817 | 7833 | 3-10-4 | 647 |
| 599003 | 2583 | 2599 | エクソン<br>18 | CACGCCCCTGTCCAGCA | 71 | 7818 | 7834 | 3-10-4 | 648 |
| 599004 | 2584 | 2600 | エクソン<br>18 | CCACGCCCCTGTCCAGC | 76 | 7819 | 7835 | 3-10-4 | 649 |
| 599005 | 2585 | 2601 | エクソン<br>18 | CCCACGCCCCTGTCCAG | 70 | 7820 | 7836 | 3-10-4 | 650 |
| 599006 | 2586 | 2602 | エクソン<br>18 | TCCCACGCCCCTGTCCA | 65 | 7821 | 7837 | 3-10-4 | 651 |
| 599007 | 2587 | 2603 | エクソン<br>18 | ATCCCACGCCCCTGTCC | 60 | 7822 | 7838 | 3-10-4 | 652 |
| 599008 | 2588 | 2604 | エクソン<br>18 | AATCCCACGCCCCTGTC | 72 | 7823 | 7839 | 3-10-4 | 653 |
| 599009 | 2589 | 2605 | エクソン<br>18 | CAATCCCACGCCCCTGT | 79 | 7824 | 7840 | 3-10-4 | 654 |
| 599010 | 2590 | 2606 | エクソン<br>18 | TCAATCCCACGCCCCTG | 73 | 7825 | 7841 | 3-10-4 | 655 |
| 599011 | 2591 | 2607 | エクソン<br>18 | TTCAATCCCACGCCCCT | 79 | 7826 | 7842 | 3-10-4 | 656 |
| 599012 | 2592 | 2608 | エクソン<br>18 | ATTCAATCCCACGCCCC | 67 | 7827 | 7843 | 3-10-4 | 657 |

【 1 3 0 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 6 - 4】

|        |      |      |            |                      |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|----------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599013 | 2593 | 2609 | エクソン<br>18 | AATTCAATCCCACGCC     | 65 | 7828 | 7844 | 3-10-4 | 658 |
| 599014 | 2594 | 2610 | エクソン<br>18 | TAATTCAATCCCACGCC    | 74 | 7829 | 7845 | 3-10-4 | 659 |
| 599015 | 2595 | 2611 | エクソン<br>18 | TTAATTCAATCCCACGC    | 71 | 7830 | 7846 | 3-10-4 | 660 |
| 599016 | 2596 | 2612 | エクソン<br>18 | TTTAATTCAATCCCACG    | 48 | 7831 | 7847 | 3-10-4 | 661 |
| 599017 | 2597 | 2613 | エクソン<br>18 | TTTAAATTCAATCCCAC    | 34 | 7832 | 7848 | 3-10-4 | 662 |
| 599018 | 2598 | 2614 | エクソン<br>18 | GTTTAAATTCAATCCCA    | 56 | 7833 | 7849 | 3-10-4 | 663 |
| 599019 | 2599 | 2615 | エクソン<br>18 | TGTTTAAATTCAATCCC    | 60 | 7834 | 7850 | 3-10-4 | 664 |
| 599020 | 2600 | 2616 | エクソン<br>18 | CTGTTTAAATTCAATCC    | 0  | 7835 | 7851 | 3-10-4 | 665 |
| 599021 | 2601 | 2617 | エクソン<br>18 | GCTGTTTAAATTCAATC    | 33 | 7836 | 7852 | 3-10-4 | 666 |
| 599022 | 2602 | 2618 | エクソン<br>18 | AGCTGTTTAAATTCAAT    | 17 | 7837 | 7853 | 3-10-4 | 667 |
| 599023 | 2603 | 2619 | エクソン<br>18 | CAGCTGTTTAAATTCAA    | 52 | 7838 | 7854 | 3-10-4 | 668 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTAAATTCA | 86 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599024 | 2604 | 2620 | エクソン<br>18 | GCAGCTGTTTAAATTCA    | 88 | 7839 | 7855 | 3-10-4 | 669 |
| 599025 | 2605 | 2621 | エクソン<br>18 | CGCAGCTGTTTAAATTC    | 85 | 7840 | 7856 | 3-10-4 | 670 |
| 599026 | 2606 | 2622 | エクソン<br>18 | TCGCAGCTGTTTAAATT    | 69 | 7841 | 7857 | 3-10-4 | 671 |
| 599027 | 2607 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTAAAT    | 77 | 7842 | 7858 | 3-10-4 | 672 |
| 599028 | 2608 | 2624 | エクソン<br>18 | TGTCGCAGCTGTTTAA     | 73 | 7843 | 7859 | 3-10-4 | 673 |
| 599029 | 2609 | 2625 | エクソン<br>18 | TTGTCGCAGCTGTTTAA    | 78 | 7844 | 7860 | 3-10-4 | 674 |
| 599030 | 2610 | 2626 | エクソン<br>18 | GTTGTCGCAGCTGTTTT    | 75 | 7845 | 7861 | 3-10-4 | 675 |

【 1 3 0 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 6 - 5】

|        |      |      |                       |                   |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|-----------------------|-------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599031 | 2611 | 2627 | エクソン<br>18            | TGTTGTCGCAGCTGTTT | 77 | 7846 | 7862 | 3-10-4 | 676 |
| 599032 | 2612 | 2628 | エクソン<br>18 / リピ<br>ート | TTGTTGTCGCAGCTGTT | 79 | n/a  | n/a  | 3-10-4 | 677 |
| 599033 | 2613 | 2629 | エクソン<br>18 / リピ<br>ート | TTTGTTGTCGCAGCTGT | 80 | n/a  | n/a  | 3-10-4 | 678 |
| 599034 | 2614 | 2630 | エクソン<br>18 / リピ<br>ート | TTTTGTTGTCGCAGCTG | 78 | n/a  | n/a  | 3-10-4 | 679 |
| 599035 | 2615 | 2631 | エクソン<br>18 / リピ<br>ート | TTTTTGTTGTCGCAGCT | 63 | n/a  | n/a  | 3-10-4 | 680 |

10

【 1 3 0 5 】

【表 1 2 7 - 1】

20

表 1 3 5 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列番<br>号1<br>開始部<br>位 | 配列番号<br>1<br>終止部位 | 標的領域       | 配列                | %<br>阻<br>害 | 配列<br>番号2<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号2<br>終止<br>部位 | モチー<br>フ | 配列<br>番号 |
|------------|-----------------------|-------------------|------------|-------------------|-------------|-----------------------|-----------------------|----------|----------|
| 599098     | 2552                  | 2568              | エクソン<br>18 | GAAAACCCAAATCCTCA | 57          | 7787                  | 7803                  | 4-8-5    | 619      |
| 599099     | 2553                  | 2569              | エクソン<br>18 | AGAAAACCCAAATCCTC | 33          | 7788                  | 7804                  | 4-8-5    | 620      |
| 599100     | 2554                  | 2570              | エクソン<br>18 | TAGAAAACCCAAATCCT | 32          | 7789                  | 7805                  | 4-8-5    | 621      |
| 599101     | 2555                  | 2571              | エクソン<br>18 | ATAGAAAACCCAAATCC | 47          | 7790                  | 7806                  | 4-8-5    | 622      |
| 599102     | 2557                  | 2573              | エクソン<br>18 | TTATAGAAAACCCAAAT | 59          | 7792                  | 7808                  | 4-8-5    | 623      |
| 599103     | 2558                  | 2574              | エクソン<br>18 | CTTATAGAAAACCCAAA | 10          | 7793                  | 7809                  | 4-8-5    | 624      |
| 599104     | 2559                  | 2575              | エクソン<br>18 | CCTTATAGAAAACCCAA | 3           | 7794                  | 7810                  | 4-8-5    | 625      |
| 599105     | 2560                  | 2576              | エクソン<br>18 | CCCTTATAGAAAACCCA | 45          | 7795                  | 7811                  | 4-8-5    | 626      |

30

40

【 1 3 0 6 】

50

【表 1 2 7 - 2】

|        |      |      |            |                   |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|------------|-------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599106 | 2561 | 2577 | エクソン<br>18 | CCCCCTTAGAAAAACC  | 49 | 7796 | 7812 | 4-8-5 | 627 |
| 599107 | 2562 | 2578 | エクソン<br>18 | ACCCCTTAGAAAAACC  | 35 | 7797 | 7813 | 4-8-5 | 628 |
| 599108 | 2563 | 2579 | エクソン<br>18 | AACCCCTTAGAAAAAC  | 17 | 7798 | 7814 | 4-8-5 | 629 |
| 599109 | 2564 | 2580 | エクソン<br>18 | AAACCCCTTAGAAAAA  | 36 | 7799 | 7815 | 4-8-5 | 630 |
| 599110 | 2565 | 2581 | エクソン<br>18 | GAAACCCCTTAGAAAA  | 20 | 7800 | 7816 | 4-8-5 | 631 |
| 599111 | 2566 | 2582 | エクソン<br>18 | GGAAACCCCTTAGAA   | 20 | 7801 | 7817 | 4-8-5 | 632 |
| 599112 | 2567 | 2583 | エクソン<br>18 | AGGAAACCCCTTAGA   | 15 | 7802 | 7818 | 4-8-5 | 633 |
| 599113 | 2568 | 2584 | エクソン<br>18 | CAGGAAACCCCTTAG   | 19 | 7803 | 7819 | 4-8-5 | 634 |
| 599051 | 2568 | 2584 | エクソン<br>18 | CAGGAAACCCCTTAG   | 26 | 7803 | 7819 | 5-7-5 | 634 |
| 599114 | 2569 | 2585 | エクソン<br>18 | GCAGGAAACCCCTATA  | 18 | 7804 | 7820 | 4-8-5 | 635 |
| 599052 | 2569 | 2585 | エクソン<br>18 | GCAGGAAACCCCTATA  | 21 | 7804 | 7820 | 5-7-5 | 635 |
| 599115 | 2570 | 2586 | エクソン<br>18 | AGCAGGAAACCCCTAT  | 31 | 7805 | 7821 | 4-8-5 | 636 |
| 599053 | 2570 | 2586 | エクソン<br>18 | AGCAGGAAACCCCTAT  | 25 | 7805 | 7821 | 5-7-5 | 636 |
| 599116 | 2571 | 2587 | エクソン<br>18 | CAGCAGGAAACCCCTTA | 39 | 7806 | 7822 | 4-8-5 | 637 |
| 599054 | 2571 | 2587 | エクソン<br>18 | CAGCAGGAAACCCCTTA | 36 | 7806 | 7822 | 5-7-5 | 637 |
| 599117 | 2572 | 2588 | エクソン<br>18 | CCAGCAGGAAACCCCTT | 46 | 7807 | 7823 | 4-8-5 | 638 |
| 599055 | 2572 | 2588 | エクソン<br>18 | CCAGCAGGAAACCCCTT | 22 | 7807 | 7823 | 5-7-5 | 638 |
| 599118 | 2573 | 2589 | エクソン<br>18 | TCCAGCAGGAAACCCCT | 40 | 7808 | 7824 | 4-8-5 | 639 |
| 599056 | 2573 | 2589 | エクソン<br>18 | TCCAGCAGGAAACCCCT | 32 | 7808 | 7824 | 5-7-5 | 639 |

【 1 3 0 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 7 - 3】

|        |      |      |            |                    |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|------------|--------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599119 | 2574 | 2590 | エクソン<br>18 | GTCCAGCAGGAAACCCC  | 50 | 7809 | 7825 | 4-8-5 | 640 |
| 599057 | 2574 | 2590 | エクソン<br>18 | GTCCAGCAGGAAACCCC  | 46 | 7809 | 7825 | 5-7-5 | 640 |
| 599120 | 2575 | 2591 | エクソン<br>18 | TGTCCAGCAGGAAACCC  | 30 | 7810 | 7826 | 4-8-5 | 641 |
| 599058 | 2575 | 2591 | エクソン<br>18 | TGTCCAGCAGGAAACCC  | 52 | 7810 | 7826 | 5-7-5 | 641 |
| 599121 | 2576 | 2592 | エクソン<br>18 | CTGTCCAGCAGGAAACC  | 31 | 7811 | 7827 | 4-8-5 | 642 |
| 599059 | 2576 | 2592 | エクソン<br>18 | CTGTCCAGCAGGAAACC  | 24 | 7811 | 7827 | 5-7-5 | 642 |
| 599122 | 2577 | 2593 | エクソン<br>18 | CCTGTCCAGCAGGAAAC  | 23 | 7812 | 7828 | 4-8-5 | 643 |
| 599060 | 2577 | 2593 | エクソン<br>18 | CCTGTCCAGCAGGAAAC  | 37 | 7812 | 7828 | 5-7-5 | 643 |
| 599123 | 2578 | 2594 | エクソン<br>18 | CCCTGTCCAGCAGGAAA  | 51 | 7813 | 7829 | 4-8-5 | 644 |
| 599061 | 2578 | 2594 | エクソン<br>18 | CCCTGTCCAGCAGGAAA  | 34 | 7813 | 7829 | 5-7-5 | 644 |
| 599124 | 2580 | 2596 | エクソン<br>18 | GCCCCCTGTCCAGCAGGA | 56 | 7815 | 7831 | 4-8-5 | 645 |
| 599062 | 2580 | 2596 | エクソン<br>18 | GCCCCCTGTCCAGCAGGA | 51 | 7815 | 7831 | 5-7-5 | 645 |
| 599125 | 2581 | 2597 | エクソン<br>18 | CGCCCCCTGTCCAGCAGG | 70 | 7816 | 7832 | 4-8-5 | 646 |
| 599063 | 2581 | 2597 | エクソン<br>18 | CGCCCCCTGTCCAGCAGG | 56 | 7816 | 7832 | 5-7-5 | 646 |
| 599126 | 2582 | 2598 | エクソン<br>18 | ACGCCCCCTGTCCAGCAG | 76 | 7817 | 7833 | 4-8-5 | 647 |
| 599064 | 2582 | 2598 | エクソン<br>18 | ACGCCCCCTGTCCAGCAG | 61 | 7817 | 7833 | 5-7-5 | 647 |
| 599127 | 2583 | 2599 | エクソン<br>18 | CACGCCCCCTGTCCAGCA | 67 | 7818 | 7834 | 4-8-5 | 648 |
| 599065 | 2583 | 2599 | エクソン<br>18 | CACGCCCCCTGTCCAGCA | 64 | 7818 | 7834 | 5-7-5 | 648 |
| 599066 | 2584 | 2600 | エクソン<br>18 | CCACGCCCCCTGTCCAGC | 40 | 7819 | 7835 | 5-7-5 | 649 |

【 1 3 0 8 】

10

20

30

40

50



【表 1 2 7 - 4】

|        |      |      |            |                   |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|------------|-------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599067 | 2585 | 2601 | エクソン<br>18 | CCCACGCCCCTGTCCAG | 37 | 7820 | 7836 | 5-7-5 | 650 |
| 599068 | 2586 | 2602 | エクソン<br>18 | TCCCACGCCCCTGTCCA | 31 | 7821 | 7837 | 5-7-5 | 651 |
| 599069 | 2587 | 2603 | エクソン<br>18 | ATCCCACGCCCCTGTCC | 39 | 7822 | 7838 | 5-7-5 | 652 |
| 599070 | 2588 | 2604 | エクソン<br>18 | AATCCCACGCCCCTGTC | 59 | 7823 | 7839 | 5-7-5 | 653 |
| 599071 | 2589 | 2605 | エクソン<br>18 | CAATCCCACGCCCCTGT | 63 | 7824 | 7840 | 5-7-5 | 657 |
| 599072 | 2590 | 2606 | エクソン<br>18 | TCAATCCCACGCCCCTG | 74 | 7825 | 7841 | 5-7-5 | 655 |
| 599073 | 2591 | 2607 | エクソン<br>18 | TTCAATCCCACGCCCCT | 53 | 7826 | 7842 | 5-7-5 | 656 |
| 599074 | 2592 | 2608 | エクソン<br>18 | ATTCAATCCCACGCCCC | 56 | 7827 | 7843 | 5-7-5 | 657 |
| 599075 | 2593 | 2609 | エクソン<br>18 | AATTCAATCCCACGCCC | 49 | 7828 | 7844 | 5-7-5 | 658 |
| 599076 | 2594 | 2610 | エクソン<br>18 | TAATTCAATCCCACGCC | 54 | 7829 | 7845 | 5-7-5 | 659 |
| 599077 | 2595 | 2611 | エクソン<br>18 | TTAATTCAATCCCACGC | 79 | 7830 | 7846 | 5-7-5 | 660 |
| 599078 | 2596 | 2612 | エクソン<br>18 | TTTAATTCAATCCCACG | 67 | 7831 | 7847 | 5-7-5 | 661 |
| 599079 | 2597 | 2613 | エクソン<br>18 | TTTTAATTCAATCCCAC | 69 | 7832 | 7848 | 5-7-5 | 662 |
| 599080 | 2598 | 2614 | エクソン<br>18 | GTTTTAATTCAATCCCA | 79 | 7833 | 7849 | 5-7-5 | 663 |
| 599081 | 2599 | 2615 | エクソン<br>18 | TGTTTTAATTCAATCCC | 57 | 7834 | 7850 | 5-7-5 | 664 |
| 599082 | 2600 | 2616 | エクソン<br>18 | CTGTTTTAATTCAATCC | 50 | 7835 | 7851 | 5-7-5 | 665 |
| 599083 | 2601 | 2617 | エクソン<br>18 | GCTGTTTTAATTCAATC | 67 | 7836 | 7852 | 5-7-5 | 666 |
| 599084 | 2602 | 2618 | エクソン<br>18 | AGCTGTTTTAATTCAAT | 60 | 7837 | 7853 | 5-7-5 | 667 |
| 599085 | 2603 | 2619 | エクソン<br>18 | CAGCTGTTTTAATTCAA | 71 | 7838 | 7854 | 5-7-5 | 668 |

【 1 3 0 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 7 - 5】

|        |      |      |                     |                     |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|---------------------|---------------------|----|------|------|--------|-----|
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18          | GTCGCAGCTGTTTAAATCA | 82 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599086 | 2604 | 2620 | エクソン<br>18          | GCAGCTGTTTAAATCA    | 81 | 7839 | 7855 | 5-7-5  | 669 |
| 599087 | 2605 | 2621 | エクソン<br>18          | CGCAGCTGTTTAAATC    | 88 | 7840 | 7856 | 5-7-5  | 670 |
| 599088 | 2606 | 2622 | エクソン<br>18          | TCGCAGCTGTTTAAAT    | 84 | 7841 | 7857 | 5-7-5  | 671 |
| 599089 | 2607 | 2623 | エクソン<br>18          | GTCGCAGCTGTTTAAAT   | 81 | 7842 | 7858 | 5-7-5  | 672 |
| 599090 | 2608 | 2624 | エクソン<br>18          | TGTCGCAGCTGTTTAA    | 77 | 7843 | 7859 | 5-7-5  | 673 |
| 599091 | 2609 | 2625 | エクソン<br>18          | TTGTCGCAGCTGTTTA    | 74 | 7844 | 7860 | 5-7-5  | 674 |
| 599092 | 2610 | 2626 | エクソン<br>18          | GTTGTCGCAGCTGTTTT   | 66 | 7845 | 7861 | 5-7-5  | 675 |
| 599093 | 2611 | 2627 | エクソン<br>18          | TGTTGTCGCAGCTGTTT   | 89 | 7846 | 7862 | 5-7-5  | 676 |
| 599094 | 2612 | 2628 | エクソン<br>18／リピ<br>ート | TTGTTGTCGCAGCTGTT   | 82 | n/a  | n/a  | 5-7-5  | 677 |
| 599095 | 2613 | 2629 | エクソン<br>18／リピ<br>ート | TTTGTGTCGCAGCTGT    | 87 | n/a  | n/a  | 5-7-5  | 678 |
| 599096 | 2614 | 2630 | エクソン<br>18／リピ<br>ート | TTTTGTGTCGCAGCTG    | 85 | n/a  | n/a  | 5-7-5  | 679 |
| 599097 | 2615 | 2631 | エクソン<br>18／リピ<br>ート | TTTTTGTGTCGCAGCT    | 78 | n/a  | n/a  | 5-7-5  | 680 |

【 1 3 1 0 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 2 8 - 1】

表 1 3 6 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR NA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終止<br>部位 | 標的領域    | 配列                  | %<br>阻<br>害 | 配列番<br>号2<br>開始部<br>位 | 配列番<br>号2<br>終止部<br>位 | モ<br>チ<br>ーフ | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|---------------------------|---------------------------|---------|---------------------|-------------|-----------------------|-----------------------|--------------|------------------|
| 599510     | 2552                      | 2570                      | エクソン 18 | TAGAAAACCCAAATCCTCA | 45          | 7787                  | 7805                  | 5-9-5        | 681              |
| 599331     | 2553                      | 2571                      | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCTC | 46          | 7788                  | 7806                  | 5-9-5        | 682              |
| 599332     | 2554                      | 2572                      | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCCT | 38          | 7789                  | 7807                  | 5-9-5        | 683              |
| 599333     | 2556                      | 2574                      | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAATC | 1           | 7791                  | 7809                  | 5-9-5        | 684              |
| 599334     | 2557                      | 2575                      | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAAT | 5           | 7792                  | 7810                  | 5-9-5        | 685              |
| 599335     | 2558                      | 2576                      | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAAA | 34          | 7793                  | 7811                  | 5-9-5        | 686              |
| 599336     | 2559                      | 2577                      | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCAA | 40          | 7794                  | 7812                  | 5-9-5        | 687              |
| 599337     | 2560                      | 2578                      | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCCA | 39          | 7795                  | 7813                  | 5-9-5        | 688              |
| 599338     | 2561                      | 2579                      | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACCC | 57          | 7796                  | 7814                  | 5-9-5        | 689              |
| 599339     | 2562                      | 2580                      | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAACC | 26          | 7797                  | 7815                  | 5-9-5        | 690              |
| 599281     | 2562                      | 2580                      | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAACC | 15          | 7797                  | 7815                  | 6-7-6        | 690              |
| 599340     | 2563                      | 2581                      | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAAC | 17          | 7798                  | 7816                  | 5-9-5        | 691              |
| 599282     | 2563                      | 2581                      | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAAC | 12          | 7798                  | 7816                  | 6-7-6        | 691              |
| 599341     | 2564                      | 2582                      | エクソン 18 | GGAAACCCCTTATAGAAAA | 23          | 7799                  | 7817                  | 5-9-5        | 692              |
| 599283     | 2564                      | 2582                      | エクソン 18 | GGAAACCCCTTATAGAAAA | 18          | 7799                  | 7817                  | 6-7-6        | 692              |
| 599342     | 2565                      | 2583                      | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAAA | 10          | 7800                  | 7818                  | 5-9-5        | 693              |
| 599284     | 2565                      | 2583                      | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAAA | 14          | 7800                  | 7818                  | 6-7-6        | 693              |
| 599343     | 2566                      | 2584                      | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGAA | 10          | 7801                  | 7819                  | 5-9-5        | 694              |
| 599285     | 2566                      | 2584                      | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGAA | 13          | 7801                  | 7819                  | 6-7-6        | 694              |
| 599344     | 2567                      | 2585                      | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAGA | 22          | 7802                  | 7820                  | 5-9-5        | 695              |
| 599286     | 2567                      | 2585                      | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAGA | 31          | 7802                  | 7820                  | 6-7-6        | 695              |
| 599345     | 2568                      | 2586                      | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATAG | 19          | 7803                  | 7821                  | 5-9-5        | 696              |
| 599287     | 2568                      | 2586                      | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATAG | 12          | 7803                  | 7821                  | 6-7-6        | 696              |
| 599346     | 2569                      | 2587                      | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTATA | 30          | 7804                  | 7822                  | 5-9-5        | 697              |
| 599288     | 2569                      | 2587                      | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTATA | 28          | 7804                  | 7822                  | 6-7-6        | 697              |
| 599347     | 2570                      | 2588                      | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTAT | 46          | 7805                  | 7823                  | 5-9-5        | 698              |
| 599289     | 2570                      | 2588                      | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTAT | 32          | 7805                  | 7823                  | 6-7-6        | 698              |
| 599348     | 2571                      | 2589                      | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTTA | 44          | 7806                  | 7824                  | 5-9-5        | 699              |
| 599290     | 2571                      | 2589                      | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTTA | 24          | 7806                  | 7824                  | 6-7-6        | 699              |
| 599349     | 2572                      | 2590                      | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCTT | 60          | 7807                  | 7825                  | 5-9-5        | 700              |
| 599291     | 2572                      | 2590                      | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCTT | 38          | 7807                  | 7825                  | 6-7-6        | 700              |
| 599350     | 2573                      | 2591                      | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCCT | 49          | 7808                  | 7826                  | 5-9-5        | 701              |

## 【 1 3 1 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 8 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599292 | 2573 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCCT  | 35 | 7808 | 7826 | 6-7-6  | 701 |
| 599351 | 2575 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACCC  | 46 | 7810 | 7828 | 5-9-5  | 702 |
| 599293 | 2575 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACCC  | 12 | 7810 | 7828 | 6-7-6  | 702 |
| 599352 | 2576 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAACC  | 49 | 7811 | 7829 | 5-9-5  | 703 |
| 599294 | 2576 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAACC  | 38 | 7811 | 7829 | 6-7-6  | 703 |
| 599353 | 2577 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAAC  | 64 | 7812 | 7830 | 5-9-5  | 704 |
| 599295 | 2577 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAAC  | 33 | 7812 | 7830 | 6-7-6  | 704 |
| 599354 | 2578 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCAGCAGGAAA  | 56 | 7813 | 7831 | 5-9-5  | 705 |
| 599296 | 2578 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCAGCAGGAAA  | 13 | 7813 | 7831 | 6-7-6  | 705 |
| 599355 | 2580 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCCTGTCCAGCAGGA | 81 | 7815 | 7833 | 5-9-5  | 706 |
| 599297 | 2580 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCCTGTCCAGCAGGA | 57 | 7815 | 7833 | 6-7-6  | 706 |
| 599356 | 2581 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCCTGTCCAGCAGG | 64 | 7816 | 7834 | 5-9-5  | 707 |
| 599298 | 2581 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCCTGTCCAGCAGG | 39 | 7816 | 7834 | 6-7-6  | 707 |
| 599299 | 2582 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCCCTGTCCAGCAG | 55 | 7817 | 7835 | 6-7-6  | 708 |
| 599300 | 2583 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCCCTGTCCAGCA | 45 | 7818 | 7836 | 6-7-6  | 709 |
| 599301 | 2584 | 2602 | エクソン 18 | TCCACGCCCCCTGTCCAGC  | 39 | 7819 | 7837 | 6-7-6  | 710 |
| 599302 | 2585 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCCCTGTCCAG | 27 | 7820 | 7838 | 6-7-6  | 711 |
| 599303 | 2586 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCCCCCTGTCCA | 35 | 7821 | 7839 | 6-7-6  | 712 |
| 599304 | 2587 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCCCTGTCC | 16 | 7822 | 7840 | 6-7-6  | 713 |
| 599305 | 2588 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCCCTGTC | 41 | 7823 | 7841 | 6-7-6  | 714 |
| 599306 | 2589 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCCCCTGT | 70 | 7824 | 7842 | 6-7-6  | 715 |
| 599307 | 2590 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCCCCTG | 66 | 7825 | 7843 | 6-7-6  | 716 |
| 599308 | 2591 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGCCCCCT | 68 | 7826 | 7844 | 6-7-6  | 717 |
| 599309 | 2592 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGCCCC  | 52 | 7827 | 7845 | 6-7-6  | 718 |
| 599310 | 2593 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACGCCCC | 39 | 7828 | 7846 | 6-7-6  | 719 |
| 599311 | 2594 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACGCC  | 83 | 7829 | 7847 | 6-7-6  | 720 |
| 599312 | 2595 | 2613 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACGC   | 72 | 7830 | 7848 | 6-7-6  | 721 |
| 599313 | 2596 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATTCAATCCCACG  | 86 | 7831 | 7849 | 6-7-6  | 722 |
| 599314 | 2597 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAATTCAATCCCAC  | 91 | 7832 | 7850 | 6-7-6  | 723 |
| 599315 | 2598 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTTAATTCAATCCCA  | 71 | 7833 | 7851 | 6-7-6  | 724 |
| 599316 | 2599 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTTAATTCAATCCC  | 89 | 7834 | 7852 | 6-7-6  | 725 |
| 599317 | 2600 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAATTCAATCC  | 87 | 7835 | 7853 | 6-7-6  | 726 |
| 599318 | 2601 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTTAATTCAATC  | 81 | 7836 | 7854 | 6-7-6  | 727 |
| 599319 | 2602 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTTAATTCAAT  | 75 | 7837 | 7855 | 6-7-6  | 728 |
| 599320 | 2603 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGTTTTAATTCAA  | 84 | 7838 | 7856 | 6-7-6  | 729 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 92 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599321 | 2604 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCTGTTTTAATTCA  | 90 | 7839 | 7857 | 6-7-6  | 730 |

【 1 3 1 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 8 - 3】

|        |      |      |                  |                     |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|------------------|---------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599322 | 2605 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTAAATC  | 89 | 7840 | 7858 | 6-7-6 | 731 |
| 599323 | 2606 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTAAAT  | 81 | 7841 | 7859 | 6-7-6 | 732 |
| 599324 | 2607 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTAAAT | 68 | 7842 | 7860 | 6-7-6 | 733 |
| 599325 | 2608 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTAA  | 71 | 7843 | 7861 | 6-7-6 | 734 |
| 599326 | 2609 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTAA | 52 | 7844 | 7862 | 6-7-6 | 735 |
| 599327 | 2610 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTTT | 88 | n/a  | n/a  | 6-7-6 | 736 |
| 599328 | 2611 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTGTCGCAGCTGTTTT | 87 | n/a  | n/a  | 6-7-6 | 737 |
| 599329 | 2612 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTGTCGCAGCTGTT  | 84 | n/a  | n/a  | 6-7-6 | 738 |
| 599330 | 2613 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTGTCGCAGCTGT   | 87 | n/a  | n/a  | 6-7-6 | 739 |

10

【 1 3 1 3 】

【表 1 2 9 - 1】

表 1 3 7 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR  
NA の阻害

20

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                       | %<br>阻害 | 配 列<br>番号2<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号2<br>終 止<br>部位 | モチー<br>フ | 配 列<br>番号 |
|------------|-------------------------|-------------------------|---------|--------------------------|---------|-------------------------|-------------------------|----------|-----------|
| 599512     | 2552                    | 2571                    | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCTC<br>A | 74      | 7787                    | 7806                    | 3-10-7   | 410       |
| 599449     | 2553                    | 2572                    | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCCTC     | 43      | 7788                    | 7807                    | 3-10-7   | 411       |
| 599450     | 2554                    | 2573                    | エクソン 18 | TTATAGAAAACCCAAATCCT     | 51      | 7789                    | 7808                    | 3-10-7   | 412       |
| 599451     | 2555                    | 2574                    | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAATCC     | 35      | 7790                    | 7809                    | 3-10-7   | 413       |
| 599452     | 2556                    | 2575                    | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAATC     | 34      | 7791                    | 7810                    | 3-10-7   | 414       |
| 599453     | 2557                    | 2576                    | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAAAT     | 44      | 7792                    | 7811                    | 3-10-7   | 415       |
| 599454     | 2558                    | 2577                    | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCAA<br>A | 54      | 7793                    | 7812                    | 3-10-7   | 416       |
| 599455     | 2559                    | 2578                    | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCCA<br>A | 53      | 7794                    | 7813                    | 3-10-7   | 417       |

30

40

【 1 3 1 4 】

50

【表 1 2 9 - 2】

|        |      |      |            |                          |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|--------------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599456 | 2560 | 2579 | エクソン<br>18 | AACCCCTTATAGAAAACCCA     | 69 | 7795 | 7814 | 3-10-7 | 418 |
| 599457 | 2561 | 2580 | エクソン<br>18 | AAACCCCTTATAGAAAACCC     | 46 | 7796 | 7815 | 3-10-7 | 419 |
| 599458 | 2562 | 2581 | エクソン<br>18 | GAAACCCCTTATAGAAAACC     | 0  | 7797 | 7816 | 3-10-7 | 420 |
| 599459 | 2563 | 2582 | エクソン<br>18 | GGAAACCCCTTATAGAAAAC     | 12 | 7798 | 7817 | 3-10-7 | 421 |
| 599460 | 2564 | 2583 | エクソン<br>18 | AGGAAACCCCTTATAGAAAA     | 17 | 7799 | 7818 | 3-10-7 | 422 |
| 599461 | 2565 | 2584 | エクソン<br>18 | CAGGAAACCCCTTATAGAAA     | 24 | 7800 | 7819 | 3-10-7 | 423 |
| 599462 | 2566 | 2585 | エクソン<br>18 | GCAGGAAACCCCTTATAGAA     | 33 | 7801 | 7820 | 3-10-7 | 424 |
| 599463 | 2567 | 2586 | エクソン<br>18 | AGCAGGAAACCCCTTATAGA     | 38 | 7802 | 7821 | 3-10-7 | 425 |
| 599464 | 2568 | 2587 | エクソン<br>18 | CAGCAGGAAACCCCTTATAG     | 33 | 7803 | 7822 | 3-10-7 | 426 |
| 599465 | 2569 | 2588 | エクソン<br>18 | CCAGCAGGAAACCCCTTATA     | 49 | 7804 | 7823 | 3-10-7 | 427 |
| 599466 | 2570 | 2589 | エクソン<br>18 | TCCAGCAGGAAACCCCTTAT     | 45 | 7805 | 7824 | 3-10-7 | 428 |
| 599467 | 2571 | 2590 | エクソン<br>18 | GTCCAGCAGGAAACCCCTTA     | 60 | 7806 | 7825 | 3-10-7 | 237 |
| 599468 | 2572 | 2591 | エクソン<br>18 | TGTCCAGCAGGAAACCCCTT     | 61 | 7807 | 7826 | 3-10-7 | 429 |
| 599469 | 2573 | 2592 | エクソン<br>18 | CTGTCCAGCAGGAAACCCCT     | 52 | 7808 | 7827 | 3-10-7 | 430 |
| 599470 | 2574 | 2593 | エクソン<br>18 | CCTGTCCAGCAGGAAACCCC     | 45 | 7809 | 7828 | 3-10-7 | 431 |
| 599471 | 2575 | 2594 | エクソン<br>18 | CCCTGTCCAGCAGGAAACCC     | 67 | 7810 | 7829 | 3-10-7 | 432 |
| 599472 | 2576 | 2595 | エクソン<br>18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAACC     | 79 | 7811 | 7830 | 3-10-7 | 433 |
| 599473 | 2577 | 2596 | エクソン<br>18 | GCCCCTGTCCAGCAGGAAA<br>C | 72 | 7812 | 7831 | 3-10-7 | 238 |
| 599474 | 2578 | 2597 | エクソン<br>18 | CGCCCCTGTCCAGCAGGAA<br>A | 87 | 7813 | 7832 | 3-10-7 | 434 |

【 1 3 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 9 - 3】

|        |      |      |            |                          |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|--------------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599475 | 2579 | 2598 | エクソン<br>18 | ACGCCCCTGTCCAGCAGGA<br>A | 76 | 7814 | 7833 | 3-10-7 | 435 |
| 599476 | 2580 | 2599 | エクソン<br>18 | CACGCCCCTGTCCAGCAGGA     | 81 | 7815 | 7834 | 3-10-7 | 436 |
| 599477 | 2581 | 2600 | エクソン<br>18 | CCACGCCCCTGTCCAGCAGG     | 83 | 7816 | 7835 | 3-10-7 | 437 |
| 599478 | 2582 | 2601 | エクソン<br>18 | CCCACGCCCCTGTCCAGCAG     | 72 | 7817 | 7836 | 3-10-7 | 438 |
| 599479 | 2583 | 2602 | エクソン<br>18 | TCCCACGCCCCTGTCCAGCA     | 81 | 7818 | 7837 | 3-10-7 | 439 |
| 599480 | 2584 | 2603 | エクソン<br>18 | ATCCCACGCCCCTGTCCAGC     | 77 | 7819 | 7838 | 3-10-7 | 440 |
| 599481 | 2585 | 2604 | エクソン<br>18 | AATCCCACGCCCCTGTCCAG     | 83 | 7820 | 7839 | 3-10-7 | 441 |
| 599482 | 2586 | 2605 | エクソン<br>18 | CAATCCCACGCCCCTGTCCA     | 87 | 7821 | 7840 | 3-10-7 | 442 |
| 599483 | 2587 | 2606 | エクソン<br>18 | TCAATCCCACGCCCCTGTCC     | 90 | 7822 | 7841 | 3-10-7 | 443 |
| 599484 | 2588 | 2607 | エクソン<br>18 | TTCAATCCCACGCCCCTGTC     | 72 | 7823 | 7842 | 3-10-7 | 444 |
| 599485 | 2589 | 2608 | エクソン<br>18 | ATTCAATCCCACGCCCCTGT     | 82 | 7824 | 7843 | 3-10-7 | 445 |
| 599486 | 2590 | 2609 | エクソン<br>18 | AATTCAATCCCACGCCCCTG     | 84 | 7825 | 7844 | 3-10-7 | 446 |
| 599487 | 2591 | 2610 | エクソン<br>18 | TAATTCAATCCCACGCCCCT     | 84 | 7826 | 7845 | 3-10-7 | 447 |
| 599488 | 2592 | 2611 | エクソン<br>18 | TTAATTCAATCCCACGCCCC     | 87 | 7827 | 7846 | 3-10-7 | 448 |
| 599489 | 2593 | 2612 | エクソン<br>18 | TTTAATTCAATCCCACGCCC     | 87 | 7828 | 7847 | 3-10-7 | 449 |
| 599490 | 2594 | 2613 | エクソン<br>18 | TTTAAATTCAATCCCACGCC     | 86 | 7829 | 7848 | 3-10-7 | 450 |
| 599491 | 2595 | 2614 | エクソン<br>18 | GTTTAAATTCAATCCCACGC     | 87 | 7830 | 7849 | 3-10-7 | 451 |
| 599492 | 2596 | 2615 | エクソン<br>18 | TGTTTAAATTCAATCCCACG     | 88 | 7831 | 7850 | 3-10-7 | 452 |
| 599493 | 2597 | 2616 | エクソン<br>18 | CTGTTTTAAATTCAATCCCAC    | 75 | 7832 | 7851 | 3-10-7 | 453 |

【 1 3 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 9 - 4】

|        |      |      |            |                      |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|----------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599433 | 2597 | 2616 | エクソン<br>18 | CTGTTTTAATTCAATCCCAC | 89 | 7832 | 7851 | 6-8-6  | 453 |
| 599494 | 2598 | 2617 | エクソン<br>18 | GCTGTTTTAATTCAATCCCA | 90 | 7833 | 7852 | 3-10-7 | 454 |
| 599434 | 2598 | 2617 | エクソン<br>18 | GCTGTTTTAATTCAATCCCA | 89 | 7833 | 7852 | 6-8-6  | 454 |
| 599495 | 2599 | 2618 | エクソン<br>18 | AGCTGTTTTAATTCAATCCC | 88 | 7834 | 7853 | 3-10-7 | 239 |
| 599435 | 2599 | 2618 | エクソン<br>18 | AGCTGTTTTAATTCAATCCC | 91 | 7834 | 7853 | 6-8-6  | 239 |
| 599496 | 2600 | 2619 | エクソン<br>18 | CAGCTGTTTTAATTCAATCC | 89 | 7835 | 7854 | 3-10-7 | 455 |
| 599436 | 2600 | 2619 | エクソン<br>18 | CAGCTGTTTTAATTCAATCC | 89 | 7835 | 7854 | 6-8-6  | 455 |
| 599497 | 2601 | 2620 | エクソン<br>18 | GCAGCTGTTTTAATTCAATC | 89 | 7836 | 7855 | 3-10-7 | 456 |
| 599437 | 2601 | 2620 | エクソン<br>18 | GCAGCTGTTTTAATTCAATC | 91 | 7836 | 7855 | 6-8-6  | 456 |
| 599498 | 2602 | 2621 | エクソン<br>18 | CGCAGCTGTTTTAATTCAAT | 88 | 7837 | 7856 | 3-10-7 | 457 |
| 599438 | 2602 | 2621 | エクソン<br>18 | CGCAGCTGTTTTAATTCAAT | 90 | 7837 | 7856 | 6-8-6  | 457 |
| 599499 | 2603 | 2622 | エクソン<br>18 | TCGCAGCTGTTTTAATTCAA | 81 | 7838 | 7857 | 3-10-7 | 458 |
| 599439 | 2603 | 2622 | エクソン<br>18 | TCGCAGCTGTTTTAATTCAA | 88 | 7838 | 7857 | 6-8-6  | 458 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 90 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599500 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 88 | 7839 | 7858 | 3-10-7 | 317 |
| 599440 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 88 | 7839 | 7858 | 6-8-6  | 317 |
| 599501 | 2605 | 2624 | エクソン<br>18 | TGTCGCAGCTGTTTTAATTC | 78 | 7840 | 7859 | 3-10-7 | 459 |
| 599441 | 2605 | 2624 | エクソン<br>18 | TGTCGCAGCTGTTTTAATTC | 90 | 7840 | 7859 | 6-8-6  | 459 |
| 599502 | 2606 | 2625 | エクソン<br>18 | TTGTCGCAGCTGTTTTAATT | 87 | 7841 | 7860 | 3-10-7 | 460 |

【 1 3 1 7 】

10

20

30

40

50



【表 1 2 9 - 5】

|        |      |      |                     |                      |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|---------------------|----------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599442 | 2606 | 2625 | エクソン<br>18          | TTGTCGCAGCTGTTTAAAT  | 76 | 7841 | 7860 | 6-8-6  | 460 |
| 599503 | 2607 | 2626 | エクソン<br>18          | GTTGTCGCAGCTGTTTAAAT | 83 | 7842 | 7861 | 3-10-7 | 461 |
| 599443 | 2607 | 2626 | エクソン<br>18          | GTTGTCGCAGCTGTTTAAAT | 77 | 7842 | 7861 | 6-8-6  | 461 |
| 599504 | 2608 | 2627 | エクソン<br>18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTAA  | 89 | 7843 | 7862 | 3-10-7 | 395 |
| 599444 | 2608 | 2627 | エクソン<br>18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTAA  | 69 | 7843 | 7862 | 6-8-6  | 395 |
| 599505 | 2609 | 2628 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTGTTGTCGCAGCTGTTTAA | 83 | n/a  | n/a  | 3-10-7 | 462 |
| 599445 | 2609 | 2628 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTGTTGTCGCAGCTGTTTAA | 85 | n/a  | n/a  | 6-8-6  | 462 |
| 599506 | 2610 | 2629 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTTGTTCGCAGCTGTTT    | 89 | n/a  | n/a  | 3-10-7 | 463 |
| 599446 | 2610 | 2629 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTTGTTCGCAGCTGTTT    | 85 | n/a  | n/a  | 6-8-6  | 463 |
| 599507 | 2611 | 2630 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTTTGTTGTCGCAGCTGTTT | 82 | n/a  | n/a  | 3-10-7 | 464 |
| 599447 | 2611 | 2630 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTTTGTTGTCGCAGCTGTTT | 83 | n/a  | n/a  | 6-8-6  | 464 |
| 599508 | 2612 | 2631 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTTTGTTGTCGCAGCTGTT  | 90 | n/a  | n/a  | 3-10-7 | 465 |
| 599448 | 2612 | 2631 | エクソン<br>19／リビ<br>ート | TTTTGTTGTCGCAGCTGTT  | 87 | n/a  | n/a  | 6-8-6  | 465 |

## 【 1 3 1 8 】

実施例 1 1 9 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とする新たなアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、C F B m R N A に対するそれらの効果をインビトロで試験した。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドを、培養条件が類似する一連の実験で試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、2 , 0 0 0 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 2 4 時間の処理期間後に、細胞から R N A を単離し、定量リアルタイム P C R によって C F B m R N A レベルを測定した。ヒトプライマープロベセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R

E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

【 1 3 1 9 】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、4 - 8 - 5 M O E、5 - 8 - 5 M O E、5 - 9 - 5 M O E、5 - 1 0 - 5 M O E、6 - 7 - 6 M O E、3 - 1 0 - 5 M O E、または 6 - 8 - 6 M O E ギャップマーとして設計された。

【 1 3 2 0 】

4 - 8 - 5 M O E ギャップマーは 1 7 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 8 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 4 個及び 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 8 - 5 M O E ギャップマーは 1 8 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 8 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 9 - 5 M O E ギャップマーは 1 9 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 9 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。3 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 1 8 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 3 個及び 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。6 - 7 - 6 M O E ギャップマーは 1 9 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 7 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 6 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。6 - 8 - 6 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 8 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 6 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 ' ウイングセグメント中の各ヌクレオシド及び 3 ' ウイングセグメント中の各ヌクレオシドは 2 ' - M O E 修飾を有する。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート ( P = S ) 連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5 - メチルシトシンである。

【 1 3 2 1 】

「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 5 ' 側のヌクレオシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 3 ' 側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号 1 と呼ぶヒト C F B m R N A ( G E N B A N K アクセセッション番号 N M \_ 0 0 1 7 1 0 . 5 ) もしくは本明細書において配列番号 2 と呼ぶヒト C F B ゲノム配列 ( ヌクレオチド 3 1 8 5 2 0 0 0 から 3 1 8 6 1 0 0 0 までを切り出した G E N B A N K アクセセッション番号 N T \_ 0 0 7 5 9 2 . 1 5 )、またはその両方を標的とする。「n / a」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を 1 0 0 % の相補性では標的としないことを示す。

【 1 3 2 2 】

10

20

30

40

## 【表 1 3 0 - 1】

表 1 3 8 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR NA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番 号<br>1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                  | %<br>阻<br>害 | 配 列<br>番号2<br>開 始<br>部位 | 配 列 番<br>号2<br>終 止 部<br>位 | モ チ<br>ー フ | 配 列<br>番号 |
|------------|------------------------------|-------------------------|---------|---------------------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------|-----------|
| 599160     | 2560                         | 2577                    | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCA  | 26          | 7795                    | 7812                      | 5-8-5      | 740       |
| 599161     | 2561                         | 2578                    | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCC  | 20          | 7796                    | 7813                      | 5-8-5      | 741       |
| 599162     | 2562                         | 2579                    | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACC  | 12          | 7797                    | 7814                      | 5-8-5      | 742       |
| 599163     | 2563                         | 2580                    | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAAC  | 11          | 7798                    | 7815                      | 5-8-5      | 743       |
| 599164     | 2564                         | 2581                    | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAA  | 11          | 7799                    | 7816                      | 5-8-5      | 744       |
| 599165     | 2566                         | 2583                    | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAA  | 0           | 7801                    | 7818                      | 5-8-5      | 745       |
| 599166     | 2567                         | 2584                    | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGA  | 12          | 7802                    | 7819                      | 5-8-5      | 746       |
| 599167     | 2568                         | 2585                    | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAG  | 14          | 7803                    | 7820                      | 5-8-5      | 747       |
| 599168     | 2569                         | 2586                    | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATA  | 16          | 7804                    | 7821                      | 5-8-5      | 748       |
| 599169     | 2570                         | 2587                    | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTAT  | 24          | 7805                    | 7822                      | 5-8-5      | 749       |
| 599170     | 2571                         | 2588                    | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTA  | 37          | 7806                    | 7823                      | 5-8-5      | 750       |
| 599171     | 2572                         | 2589                    | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTT  | 30          | 7807                    | 7824                      | 5-8-5      | 751       |
| 599172     | 2573                         | 2590                    | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCT  | 43          | 7808                    | 7825                      | 5-8-5      | 752       |
| 599173     | 2574                         | 2591                    | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCC  | 47          | 7809                    | 7826                      | 5-8-5      | 753       |
| 599174     | 2575                         | 2592                    | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGGAAACCC  | 27          | 7810                    | 7827                      | 5-8-5      | 754       |
| 599175     | 2576                         | 2593                    | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACC  | 30          | 7811                    | 7828                      | 5-8-5      | 755       |
| 599176     | 2577                         | 2594                    | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAAC  | 34          | 7812                    | 7829                      | 5-8-5      | 756       |
| 599177     | 2578                         | 2595                    | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAA  | 41          | 7813                    | 7830                      | 5-8-5      | 757       |
| 599178     | 2580                         | 2597                    | エクソン 18 | CGCCCCTGTCCAGCAGGA  | 67          | 7815                    | 7832                      | 5-8-5      | 758       |
| 599179     | 2581                         | 2598                    | エクソン 18 | ACGCCCCTGTCCAGCAGG  | 61          | 7816                    | 7833                      | 5-8-5      | 759       |
| 599180     | 2582                         | 2599                    | エクソン 18 | CACGCCCCCTGTCCAGCAG | 62          | 7817                    | 7834                      | 5-8-5      | 760       |
| 599181     | 2583                         | 2600                    | エクソン 18 | CCACGCCCCCTGTCCAGCA | 63          | 7818                    | 7835                      | 5-8-5      | 761       |
| 599182     | 2584                         | 2600                    | エクソン 18 | CCACGCCCCCTGTCCAGC  | 55          | 7819                    | 7835                      | 4-8-5      | 649       |
| 599182     | 2584                         | 2601                    | エクソン 18 | CCCACGCCCCCTGTCCAGC | 58          | 7819                    | 7836                      | 5-8-5      | 762       |
| 599129     | 2585                         | 2601                    | エクソン 18 | CCCACGCCCCCTGTCCAG  | 41          | 7820                    | 7836                      | 4-8-5      | 650       |
| 599183     | 2585                         | 2602                    | エクソン 18 | TCCCACGCCCCCTGTCCAG | 43          | 7820                    | 7837                      | 5-8-5      | 763       |
| 599130     | 2586                         | 2602                    | エクソン 18 | TCCCACGCCCCCTGTCCA  | 46          | 7821                    | 7837                      | 4-8-5      | 651       |
| 599184     | 2586                         | 2603                    | エクソン 18 | ATCCCACGCCCCCTGTCCA | 32          | 7821                    | 7838                      | 5-8-5      | 764       |
| 599131     | 2587                         | 2603                    | エクソン 18 | ATCCCACGCCCCCTGTCC  | 30          | 7822                    | 7838                      | 4-8-5      | 652       |
| 599185     | 2587                         | 2604                    | エクソン 18 | AATCCCACGCCCCCTGTCC | 35          | 7822                    | 7839                      | 5-8-5      | 765       |
| 599132     | 2588                         | 2604                    | エクソン 18 | AATCCCACGCCCCCTGTC  | 52          | 7823                    | 7839                      | 4-8-5      | 653       |
| 599186     | 2588                         | 2605                    | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCCCTGTC | 55          | 7823                    | 7840                      | 5-8-5      | 766       |

## 【 1 3 2 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 0 - 2】

|        |      |      |         |                         |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|---------|-------------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599133 | 2589 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCCCTGT      | 66 | 7824 | 7840 | 4-8-5  | 654 |
| 599187 | 2589 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCCCTGT     | 72 | 7824 | 7841 | 5-8-5  | 767 |
| 599134 | 2590 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCCCTG      | 80 | 7825 | 7841 | 4-8-5  | 655 |
| 599188 | 2590 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCCCCTG     | 92 | 7825 | 7842 | 5-8-5  | 768 |
| 599135 | 2591 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCCCCT      | 61 | 7826 | 7842 | 4-8-5  | 656 |
| 599189 | 2591 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCCCCT     | 52 | 7826 | 7843 | 5-8-5  | 769 |
| 599136 | 2592 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCCC       | 68 | 7827 | 7843 | 4-8-5  | 657 |
| 599190 | 2592 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGCCCC      | 62 | 7827 | 7844 | 5-8-5  | 770 |
| 599137 | 2593 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGCCCC      | 51 | 7828 | 7844 | 4-8-5  | 658 |
| 599191 | 2593 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGCCC      | 54 | 7828 | 7845 | 5-8-5  | 771 |
| 599138 | 2594 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGCC       | 71 | 7829 | 7845 | 4-8-5  | 659 |
| 599192 | 2594 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACGCC      | 66 | 7829 | 7846 | 5-8-5  | 772 |
| 599139 | 2595 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACGC       | 80 | 7830 | 7846 | 4-8-5  | 660 |
| 599193 | 2595 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACGC      | 74 | 7830 | 7847 | 5-8-5  | 773 |
| 599140 | 2596 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACG       | 66 | 7831 | 7847 | 4-8-5  | 786 |
| 599194 | 2596 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAATCCCACG      | 66 | 7831 | 7848 | 5-8-5  | 774 |
| 599141 | 2597 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAATCCCAC       | 63 | 7832 | 7848 | 4-8-5  | 662 |
| 599195 | 2597 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATTCAATCCCAC      | 86 | 7832 | 7849 | 5-8-5  | 775 |
| 599142 | 2598 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATTCAATCCCA       | 69 | 7833 | 7849 | 4-8-5  | 663 |
| 599196 | 2598 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATTCAATCCCA      | 82 | 7833 | 7850 | 5-8-5  | 776 |
| 599143 | 2599 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATTCAATCCC       | 59 | 7834 | 7850 | 4-8-5  | 664 |
| 599197 | 2599 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAAATTCAATCCC      | 79 | 7834 | 7851 | 5-8-5  | 777 |
| 599144 | 2600 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAAATTCAATCC       | 52 | 7835 | 7851 | 4-8-5  | 665 |
| 599198 | 2600 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTAAATTCAATCC      | 86 | 7835 | 7852 | 5-8-5  | 778 |
| 599145 | 2601 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTAAATTCAATC       | 53 | 7836 | 7852 | 4-8-5  | 666 |
| 599199 | 2601 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTAAATTCAATC      | 72 | 7836 | 7853 | 5-8-5  | 779 |
| 599146 | 2602 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTAAATTCAAT       | 42 | 7837 | 7853 | 4-8-5  | 667 |
| 599200 | 2602 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTAAATTCAAT      | 76 | 7837 | 7854 | 5-8-5  | 780 |
| 599147 | 2603 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTAAATTCAA       | 55 | 7838 | 7854 | 4-8-5  | 668 |
| 599201 | 2603 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTAAATTCAA      | 87 | 7838 | 7855 | 5-8-5  | 781 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCTGTTTAAATC<br>A | 93 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599148 | 2604 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTAAATTCA       | 84 | 7839 | 7855 | 4-8-5  | 669 |
| 599202 | 2604 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGTTTAAATTCA      | 89 | 7839 | 7856 | 5-8-5  | 782 |
| 599149 | 2605 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGTTTAAATTC       | 92 | 7840 | 7856 | 4-8-5  | 670 |
| 599203 | 2605 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCTGTTTAAATTC      | 90 | 7840 | 7857 | 5-8-5  | 783 |
| 599150 | 2606 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCTGTTTAAATT       | 75 | 7841 | 7857 | 4-8-5  | 671 |
| 599151 | 2607 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCTGTTTAAAT       | 80 | 7842 | 7858 | 4-8-5  | 672 |

10

20

30

40

【 1 3 2 4 】

50

【表 1 3 0 - 3】

|        |      |      |                  |                    |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|------------------|--------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599152 | 2608 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTAA   | 76 | 7843 | 7859 | 4-8-5 | 673 |
| 599153 | 2609 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTA   | 56 | 7844 | 7860 | 4-8-5 | 674 |
| 599154 | 2610 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTT   | 85 | 7845 | 7861 | 4-8-5 | 675 |
| 599155 | 2611 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTT   | 89 | 7846 | 7862 | 4-8-5 | 676 |
| 599156 | 2612 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTT  | 83 | n/a  | n/a  | 4-8-5 | 813 |
| 599157 | 2613 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGT  | 78 | n/a  | n/a  | 4-8-5 | 678 |
| 599158 | 2614 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTG  | 83 | n/a  | n/a  | 4-8-5 | 679 |
| 599159 | 2615 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTTGTCGCAGCT  | 65 | n/a  | n/a  | 4-8-5 | 680 |
| 599204 | 2606 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTAAATT | 83 | 7841 | 7858 | 5-8-5 | 784 |

10

【 1 3 2 5】

【表 1 3 1 - 1】

表 1 3 9 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR  
NA の阻害

20

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                  | %<br>阻害 | 配 列<br>番号2<br>開 始<br>部位 | 配列番<br>号2<br>終止部<br>位 | モチーフ   | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|-------------------------|-------------------------|---------|---------------------|---------|-------------------------|-----------------------|--------|------------------|
| 599509     | 2552                    | 2570                    | エクソン 18 | TAGAAAACCCAAATCCTCA | 45      | 7787                    | 7805                  | 6-7-6  | 681              |
| 599213     | 2553                    | 2570                    | エクソン 18 | TAGAAAACCCAAATCCTC  | 89      | 7788                    | 7805                  | 3-10-5 | 785              |
| 599273     | 2553                    | 2571                    | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCTC | 85      | 7788                    | 7806                  | 6-7-6  | 682              |
| 599214     | 2554                    | 2571                    | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCT  | 79      | 7789                    | 7806                  | 3-10-5 | 786              |
| 599274     | 2554                    | 2572                    | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCCT | 75      | 7789                    | 7807                  | 6-7-6  | 683              |
| 599215     | 2555                    | 2572                    | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCC  | 81      | 7790                    | 7807                  | 3-10-5 | 787              |
| 599216     | 2556                    | 2573                    | エクソン 18 | TTATAGAAAACCCAAATC  | 87      | 7791                    | 7808                  | 3-10-5 | 788              |
| 599275     | 2556                    | 2574                    | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAATC | 84      | 7791                    | 7809                  | 6-7-6  | 684              |
| 599217     | 2557                    | 2574                    | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAAT  | 84      | 7792                    | 7809                  | 3-10-5 | 789              |
| 599276     | 2557                    | 2575                    | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAAT | 68      | 7792                    | 7810                  | 6-7-6  | 685              |
| 599218     | 2558                    | 2575                    | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAA  | 82      | 7793                    | 7810                  | 3-10-5 | 790              |
| 599277     | 2558                    | 2576                    | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAAA | 82      | 7793                    | 7811                  | 6-7-6  | 686              |
| 599219     | 2559                    | 2576                    | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAA  | 81      | 7794                    | 7811                  | 3-10-5 | 791              |
| 599278     | 2559                    | 2577                    | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCAA | 84      | 7794                    | 7812                  | 6-7-6  | 687              |
| 599220     | 2560                    | 2577                    | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCA  | 92      | 7795                    | 7812                  | 3-10-5 | 740              |
| 599279     | 2560                    | 2578                    | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCCA | 92      | 7795                    | 7813                  | 6-7-6  | 688              |
| 599221     | 2561                    | 2578                    | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCC  | 93      | 7796                    | 7813                  | 3-10-5 | 741              |
| 599280     | 2561                    | 2579                    | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACCC | 90      | 7796                    | 7814                  | 6-7-6  | 689              |

30

40

【 1 3 2 6】

50

【表 1 3 1 - 2】

|        |      |      |         |                    |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|---------|--------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599222 | 2562 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACC | 95 | 7797 | 7814 | 3-10-5 | 742 |
| 599223 | 2563 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAAC | 93 | 7798 | 7815 | 3-10-5 | 743 |
| 599224 | 2564 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAA | 90 | 7799 | 7816 | 3-10-5 | 744 |
| 599225 | 2566 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAA | 93 | 7801 | 7818 | 3-10-5 | 745 |
| 599226 | 2567 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGA | 95 | 7802 | 7819 | 3-10-5 | 746 |
| 599227 | 2568 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAG | 94 | 7803 | 7820 | 3-10-5 | 747 |
| 599228 | 2569 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATA | 96 | 7804 | 7821 | 3-10-5 | 748 |
| 599229 | 2570 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTAT | 92 | 7805 | 7822 | 3-10-5 | 749 |
| 599230 | 2571 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTA | 88 | 7806 | 7823 | 3-10-5 | 750 |
| 599231 | 2572 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTT | 83 | 7807 | 7824 | 3-10-5 | 751 |
| 599232 | 2573 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCT | 89 | 7808 | 7825 | 3-10-5 | 752 |
| 599233 | 2574 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCC | 83 | 7809 | 7826 | 3-10-5 | 753 |
| 599234 | 2575 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGGAAACCC | 88 | 7810 | 7827 | 3-10-5 | 754 |
| 599235 | 2576 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACC | 91 | 7811 | 7828 | 3-10-5 | 755 |
| 599236 | 2577 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAAC | 90 | 7812 | 7829 | 3-10-5 | 756 |
| 599237 | 2578 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAA | 34 | 7813 | 7830 | 3-10-5 | 757 |
| 599238 | 2580 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCTGTCCAGCAGGA  | 14 | 7815 | 7832 | 3-10-5 | 758 |
| 599239 | 2581 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCTGTCCAGCAGG  | 10 | 7816 | 7833 | 3-10-5 | 759 |
| 599240 | 2582 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCTGTCCAGCAG  | 26 | 7817 | 7834 | 3-10-5 | 760 |
| 599241 | 2583 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCTGTCCAGCA  | 11 | 7818 | 7835 | 3-10-5 | 761 |
| 599242 | 2584 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCTGTCCAGC  | 24 | 7819 | 7836 | 3-10-5 | 762 |
| 599243 | 2585 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCCCTGTCCAG  | 23 | 7820 | 7837 | 3-10-5 | 763 |
| 599244 | 2586 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCTGTCCA  | 29 | 7821 | 7838 | 3-10-5 | 764 |
| 599245 | 2587 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCCCTGTCC  | 11 | 7822 | 7839 | 3-10-5 | 765 |
| 599246 | 2588 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCTGTCC | 0  | 7823 | 7840 | 3-10-5 | 766 |
| 599247 | 2589 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCTGT  | 21 | 7824 | 7841 | 3-10-5 | 767 |
| 599248 | 2590 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCCTG  | 0  | 7825 | 7842 | 3-10-5 | 768 |
| 599249 | 2591 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCCT  | 9  | 7826 | 7843 | 3-10-5 | 769 |
| 599250 | 2592 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGCCCC | 4  | 7827 | 7844 | 3-10-5 | 770 |
| 599251 | 2593 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGCCC | 12 | 7828 | 7845 | 3-10-5 | 771 |
| 599252 | 2594 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACGCC | 2  | 7829 | 7846 | 3-10-5 | 772 |
| 599253 | 2595 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACGC | 28 | 7830 | 7847 | 3-10-5 | 773 |
| 599254 | 2596 | 2613 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACG  | 27 | 7831 | 7848 | 3-10-5 | 774 |
| 599255 | 2597 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATTCAATCCCAC | 38 | 7832 | 7849 | 3-10-5 | 775 |
| 599256 | 2598 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATTCAATCCCA | 36 | 7833 | 7850 | 3-10-5 | 776 |
| 599257 | 2599 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAAATTCAATCCC | 48 | 7834 | 7851 | 3-10-5 | 777 |
| 599258 | 2600 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTAAATTCAATCC | 19 | 7835 | 7852 | 3-10-5 | 778 |
| 599259 | 2601 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTAAATTCAATC | 36 | 7836 | 7853 | 3-10-5 | 779 |

【 1 3 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 1 - 3】

|        |      |      |                  |                     |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------------|---------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599260 | 2602 | 2619 | エクソン 18          | CAGCTGTTTAAATCAAT   | 58 | 7837 | 7854 | 3-10-5 | 780 |
| 599261 | 2603 | 2620 | エクソン 18          | GCAGCTGTTTAAATCAA   | 35 | 7838 | 7855 | 3-10-5 | 781 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTAAATCA | 96 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599262 | 2604 | 2621 | エクソン 18          | CGCAGCTGTTTAAATCA   | 52 | 7839 | 7856 | 3-10-5 | 782 |
| 599263 | 2605 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTTAAATTC  | 66 | 7840 | 7857 | 3-10-5 | 783 |
| 599264 | 2606 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTAAAT   | 48 | 7841 | 7858 | 3-10-5 | 784 |
| 599265 | 2607 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTAAAT  | 46 | 7842 | 7859 | 3-10-5 | 792 |
| 599205 | 2607 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTAAAT  | 83 | 7842 | 7859 | 5-8-5  | 792 |
| 599266 | 2608 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTAA   | 76 | 7843 | 7860 | 3-10-5 | 793 |
| 599206 | 2608 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTAA   | 90 | 7843 | 7860 | 5-8-5  | 793 |
| 599267 | 2609 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTAA  | 53 | 7844 | 7861 | 3-10-5 | 794 |
| 599207 | 2609 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTAA  | 82 | 7844 | 7861 | 5-8-5  | 794 |
| 599268 | 2610 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTT  | 58 | 7845 | 7862 | 3-10-5 | 795 |
| 599208 | 2610 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTT  | 70 | 7845 | 7862 | 5-8-5  | 795 |
| 599269 | 2611 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTT  | 38 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 796 |
| 599209 | 2611 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTT  | 50 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 796 |
| 599270 | 2612 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGTT  | 46 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 797 |
| 599210 | 2612 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGTT  | 76 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 797 |
| 599271 | 2613 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTGT  | 64 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 798 |
| 599211 | 2613 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTGT  | 78 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 798 |
| 599272 | 2614 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTTGTCGCAGCTG  | 89 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 799 |
| 599212 | 2614 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTTGTCGCAGCTG  | 84 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 799 |

【 1 3 2 8 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 3 2 - 1】

表 1 4 0 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR NA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域       | 配列                       | %<br>阻害 | 配<br>列<br>番<br>号2<br>開<br>始<br>部<br>位 | 配 列<br>番号2<br>終 止<br>部位 | モチーフ  | 配 列<br>番号 |
|------------|-------------------------|-------------------------|------------|--------------------------|---------|---------------------------------------|-------------------------|-------|-----------|
| 599511     | 2552                    | 2571                    | エクソン<br>18 | ATAGAAAACCCAAATCCTCA     | 38      | 778<br>7                              | 7806                    | 6-8-6 | 410       |
| 599389     | 2553                    | 2572                    | エクソン<br>18 | TATAGAAAACCCAAATCCTC     | 80      | 778<br>8                              | 7807                    | 6-8-6 | 411       |
| 599390     | 2554                    | 2573                    | エクソン<br>18 | TTATAGAAAACCCAAATCCT     | 92      | 778<br>9                              | 7808                    | 6-8-6 | 412       |
| 599391     | 2555                    | 2574                    | エクソン<br>18 | CTTATAGAAAACCCAAATCC     | 90      | 779<br>0                              | 7809                    | 6-8-6 | 413       |
| 599392     | 2556                    | 2575                    | エクソン<br>18 | CCTTATAGAAAACCCAAATC     | 87      | 779<br>1                              | 7810                    | 6-8-6 | 414       |
| 599393     | 2557                    | 2576                    | エクソン<br>18 | CCCTTATAGAAAACCCAAAT     | 87      | 779<br>2                              | 7811                    | 6-8-6 | 415       |
| 599394     | 2558                    | 2577                    | エクソン<br>18 | CCCCTTATAGAAAACCCAAA     | 74      | 779<br>3                              | 7812                    | 6-8-6 | 416       |
| 599395     | 2559                    | 2578                    | エクソン<br>18 | ACCCCTTATAGAAAACCCAA     | 78      | 779<br>4                              | 7813                    | 6-8-6 | 417       |
| 599396     | 2560                    | 2579                    | エクソン<br>18 | AACCCCTTATAGAAAACCCA     | 77      | 779<br>5                              | 7814                    | 6-8-6 | 418       |
| 599397     | 2561                    | 2580                    | エクソン<br>18 | AAACCCCTTATAGAAAACCC     | 89      | 779<br>6                              | 7815                    | 6-8-6 | 419       |
| 599398     | 2562                    | 2581                    | エクソン<br>18 | GAAACCCCTTATAGAAAACC     | 90      | 779<br>7                              | 7816                    | 6-8-6 | 420       |
| 599399     | 2563                    | 2582                    | エクソン<br>18 | GGAAACCCCTTATAGAAA<br>C  | 91      | 779<br>8                              | 7817                    | 6-8-6 | 421       |
| 599400     | 2564                    | 2583                    | エクソン<br>18 | AGGAAACCCCTTATAGAAA<br>A | 88      | 779<br>9                              | 7818                    | 6-8-6 | 422       |
| 599401     | 2565                    | 2584                    | エクソン<br>18 | CAGGAAACCCCTTATAGAA<br>A | 85      | 780<br>0                              | 7819                    | 6-8-6 | 423       |
| 599402     | 2566                    | 2585                    | エクソン<br>18 | GCAGGAAACCCCTTATAGA<br>A | 77      | 780<br>1                              | 7820                    | 6-8-6 | 424       |

## 【 1 3 2 9 】

10

20

30

40

50



【表 1 3 2 - 2】

|        |      |      |            |                          |    |          |      |       |     |
|--------|------|------|------------|--------------------------|----|----------|------|-------|-----|
| 599403 | 2567 | 2586 | エクソン<br>18 | AGCAGGAAACCCCTTATAGA     | 85 | 780<br>2 | 7821 | 6-8-6 | 425 |
| 599404 | 2568 | 2587 | エクソン<br>18 | CAGCAGGAAACCCCTTATAG     | 90 | 780<br>3 | 7822 | 6-8-6 | 426 |
| 599405 | 2569 | 2588 | エクソン<br>18 | CCAGCAGGAAACCCCTTATA     | 89 | 780<br>4 | 7823 | 6-8-6 | 427 |
| 599406 | 2570 | 2589 | エクソン<br>18 | TCCAGCAGGAAACCCCTTAT     | 72 | 780<br>5 | 7824 | 6-8-6 | 428 |
| 599407 | 2571 | 2590 | エクソン<br>18 | GTCCAGCAGGAAACCCCTTA     | 87 | 780<br>6 | 7825 | 6-8-6 | 237 |
| 599408 | 2572 | 2591 | エクソン<br>18 | TGTCCAGCAGGAAACCCCTT     | 87 | 780<br>7 | 7826 | 6-8-6 | 429 |
| 599409 | 2573 | 2592 | エクソン<br>18 | CTGTCCAGCAGGAAACCCCT     | 83 | 780<br>8 | 7827 | 6-8-6 | 430 |
| 599410 | 2574 | 2593 | エクソン<br>18 | CCTGTCCAGCAGGAAACCC<br>C | 88 | 780<br>9 | 7828 | 6-8-6 | 431 |
| 599411 | 2575 | 2594 | エクソン<br>18 | CCCTGTCCAGCAGGAAACC<br>C | 45 | 781<br>0 | 7829 | 6-8-6 | 432 |
| 599412 | 2576 | 2595 | エクソン<br>18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAAC<br>C | 66 | 781<br>1 | 7830 | 6-8-6 | 433 |
| 599413 | 2577 | 2596 | エクソン<br>18 | GCCCCTGTCCAGCAGGAAA<br>C | 92 | 781<br>2 | 7831 | 6-8-6 | 238 |
| 599414 | 2578 | 2597 | エクソン<br>18 | CGCCCCTGTCCAGCAGGAA<br>A | 92 | 781<br>3 | 7832 | 6-8-6 | 434 |
| 599415 | 2579 | 2598 | エクソン<br>18 | ACGCCCCTGTCCAGCAGGA<br>A | 87 | 781<br>4 | 7833 | 6-8-6 | 435 |
| 599416 | 2580 | 2599 | エクソン<br>18 | CACGCCCCTGTCCAGCAGG<br>A | 91 | 781<br>5 | 7834 | 6-8-6 | 436 |
| 599417 | 2581 | 2600 | エクソン<br>18 | CCACGCCCCTGTCCAGCAGG     | 84 | 781<br>6 | 7835 | 6-8-6 | 437 |
| 599357 | 2582 | 2600 | エクソン<br>18 | CCACGCCCCTGTCCAGCAG      | 88 | 781<br>7 | 7835 | 5-9-5 | 708 |
| 599418 | 2582 | 2601 | エクソン<br>18 | CCCACGCCCCTGTCCAGCAG     | 85 | 781<br>7 | 7836 | 6-8-6 | 438 |
| 599358 | 2583 | 2601 | エクソン<br>18 | CCCACGCCCCTGTCCAGCA      | 86 | 781<br>8 | 7836 | 5-9-5 | 709 |
| 599419 | 2583 | 2602 | エクソン<br>18 | TCCCACGCCCCTGTCCAGCA     | 91 | 781<br>8 | 7837 | 6-8-6 | 833 |

【 1 3 3 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 2 - 3】

|        |      |      |            |                       |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|------------|-----------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599359 | 2584 | 2602 | エクソン<br>18 | TCCCACGCCCCCTGTCCAGC  | 85 | 7819 | 7837 | 5-9-5 | 834 |
| 599420 | 2584 | 2603 | エクソン<br>18 | ATCCCACGCCCCCTGTCCAGC | 91 | 7819 | 7838 | 6-8-6 | 440 |
| 599360 | 2585 | 2603 | エクソン<br>18 | ATCCCACGCCCCCTGTCCAG  | 89 | 7820 | 7838 | 5-9-5 | 711 |
| 599421 | 2585 | 2604 | エクソン<br>18 | AATCCCACGCCCCCTGTCCAG | 87 | 7820 | 7839 | 6-8-6 | 441 |
| 599361 | 2586 | 2604 | エクソン<br>18 | AATCCCACGCCCCCTGTCCA  | 89 | 7821 | 7839 | 5-9-5 | 712 |
| 599422 | 2586 | 2605 | エクソン<br>18 | CAATCCCACGCCCCCTGTCCA | 90 | 7821 | 7840 | 6-8-6 | 442 |
| 599362 | 2587 | 2605 | エクソン<br>18 | CAATCCCACGCCCCCTGTCC  | 94 | 7822 | 7840 | 5-9-5 | 713 |
| 599423 | 2587 | 2606 | エクソン<br>18 | TCAATCCCACGCCCCCTGTCC | 85 | 7822 | 7841 | 6-8-6 | 841 |
| 599363 | 2588 | 2606 | エクソン<br>18 | TCAATCCCACGCCCCCTGTC  | 88 | 7823 | 7841 | 5-9-5 | 714 |
| 599424 | 2588 | 2607 | エクソン<br>18 | TTCAATCCCACGCCCCCTGTC | 88 | 7823 | 7842 | 6-8-6 | 444 |
| 599364 | 2589 | 2607 | エクソン<br>18 | TTCAATCCCACGCCCCCTGT  | 88 | 7824 | 7842 | 5-9-5 | 715 |
| 599425 | 2589 | 2608 | エクソン<br>18 | ATTCAATCCCACGCCCCCTGT | 68 | 7824 | 7843 | 6-8-6 | 445 |
| 599365 | 2590 | 2608 | エクソン<br>18 | ATTCAATCCCACGCCCCCTG  | 48 | 7825 | 7843 | 5-9-5 | 716 |
| 599426 | 2590 | 2609 | エクソン<br>18 | AATTCAATCCCACGCCCCCTG | 55 | 7825 | 7844 | 6-8-6 | 446 |
| 599366 | 2591 | 2609 | エクソン<br>18 | AATTCAATCCCACGCCCCCT  | 28 | 7826 | 7844 | 5-9-5 | 717 |
| 599427 | 2591 | 2610 | エクソン<br>18 | TAATTCAATCCCACGCCCCCT | 13 | 7826 | 7845 | 6-8-6 | 849 |
| 599367 | 2592 | 2610 | エクソン<br>18 | TAATTCAATCCCACGCCCC   | 21 | 7827 | 7845 | 5-9-5 | 718 |
| 599428 | 2592 | 2611 | エクソン<br>18 | TTAATTCAATCCCACGCCCC  | 39 | 7827 | 7846 | 6-8-6 | 448 |
| 599368 | 2593 | 2611 | エクソン<br>18 | TTAATTCAATCCCACGCCCC  | 20 | 7828 | 7846 | 5-9-5 | 719 |

【 1 3 3 1】

10

20

30

40

50

【表 1 3 2 - 4】

|        |      |      |            |                      |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------|----------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599429 | 2593 | 2612 | エクソン<br>18 | TTTAATTCAATCCCACGCC  | 18 | 7828 | 7847 | 6-8-6  | 449 |
| 599369 | 2594 | 2612 | エクソン<br>18 | TTTAATTCAATCCCACGCC  | 78 | 7829 | 7847 | 5-9-5  | 720 |
| 599430 | 2594 | 2613 | エクソン<br>18 | TTTTAATTCAATCCCACGCC | 24 | 7829 | 7848 | 6-8-6  | 450 |
| 599370 | 2595 | 2613 | エクソン<br>18 | TTTTAATTCAATCCCACGC  | 25 | 7830 | 7848 | 5-9-5  | 721 |
| 599431 | 2595 | 2614 | エクソン<br>18 | GTTTAAATTCAATCCCACGC | 30 | 7830 | 7849 | 6-8-6  | 451 |
| 599371 | 2596 | 2614 | エクソン<br>18 | GTTTAAATTCAATCCCACG  | 84 | 7831 | 7849 | 5-9-5  | 722 |
| 599432 | 2596 | 2615 | エクソン<br>18 | TGTTTTAATTCAATCCCACG | 29 | 7831 | 7850 | 6-8-6  | 452 |
| 599372 | 2597 | 2615 | エクソン<br>18 | TGTTTTAATTCAATCCCAC  | 83 | 7832 | 7850 | 5-9-5  | 723 |
| 599373 | 2598 | 2616 | エクソン<br>18 | CTGTTTTAATTCAATCCCA  | 81 | 7833 | 7851 | 5-9-5  | 724 |
| 599374 | 2599 | 2617 | エクソン<br>18 | GCTGTTTTAATTCAATCCC  | 26 | 7834 | 7852 | 5-9-5  | 725 |
| 599375 | 2600 | 2618 | エクソン<br>18 | AGCTGTTTTAATTCAATCC  | 26 | 7835 | 7853 | 5-9-5  | 726 |
| 599376 | 2601 | 2619 | エクソン<br>18 | CAGCTGTTTTAATTCAATC  | 62 | 7836 | 7854 | 5-9-5  | 727 |
| 599377 | 2602 | 2620 | エクソン<br>18 | GCAGCTGTTTTAATTCAAT  | 21 | 7837 | 7855 | 5-9-5  | 728 |
| 599378 | 2603 | 2621 | エクソン<br>18 | CGCAGCTGTTTTAATTCAA  | 90 | 7838 | 7856 | 5-9-5  | 729 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA | 95 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 867 |
| 599379 | 2604 | 2622 | エクソン<br>18 | TCGCAGCTGTTTTAATTCA  | 88 | 7839 | 7857 | 5-9-5  | 730 |
| 599380 | 2605 | 2623 | エクソン<br>18 | GTCGCAGCTGTTTTAATTC  | 37 | 7840 | 7858 | 5-9-5  | 869 |
| 599381 | 2606 | 2624 | エクソン<br>18 | TGTCGCAGCTGTTTTAATT  | 33 | 7841 | 7859 | 5-9-5  | 732 |
| 599382 | 2607 | 2625 | エクソン<br>18 | TTGTCGCAGCTGTTTTAAT  | 81 | 7842 | 7860 | 5-9-5  | 733 |

10

20

30

40

【 1 3 3 2 】

50

【表 1 3 2 - 5】

|        |      |      |                     |                     |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|---------------------|---------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599383 | 2608 | 2626 | エクソン<br>18          | GTTGTCGCAGCTGTTTTAA | 54 | 7843 | 7861 | 5-9-5 | 734 |
| 599384 | 2609 | 2627 | エクソン<br>18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTA  | 85 | 7844 | 7862 | 5-9-5 | 873 |
| 599385 | 2610 | 2628 | エクソン<br>18／リビ<br>ート | TTGTTGTCGCAGCTGTTTT | 59 | n/a  | n/a  | 5-9-5 | 736 |
| 599386 | 2611 | 2629 | エクソン<br>18／リビ<br>ート | TTTGTTGTCGCAGCTGTTT | 81 | n/a  | n/a  | 5-9-5 | 737 |
| 599387 | 2612 | 2630 | エクソン<br>18／リビ<br>ート | TTTTGTGTCGCAGCTGTT  | 80 | n/a  | n/a  | 5-9-5 | 738 |
| 599388 | 2613 | 2631 | エクソン<br>18／リビ<br>ート | TTTTTGTTGTCGCAGCTGT | 84 | n/a  | n/a  | 5-9-5 | 739 |

## 【 1 3 3 3 】

実施例 1 2 0 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とする新たなアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、C F B m R N A に対するそれらの効果をインビトロで試験した。1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、1 , 0 0 0 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 2 4 時間の処理期間後に、細胞から R N A を単離し、定量リアルタイム P C R によって C F B m R N A レベルを測定した。ヒトプライマープロベセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

## 【 1 3 3 4 】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドとして設計された。前記デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドは 1 6 ヌクレオシド長であり、そのヌクレオシドは M O E 糖修飾、( S ) - c E t 糖修飾、またはデオキシ修飾のいずれかを有する。「化学的特徴」欄には各オリゴヌクレオチドの糖修飾を記載する。「k」は ( S ) - c E t 糖修飾を示し、「d」はデオキシリボースを示し、「e」は M O E 修飾を示す。

## 【 1 3 3 5 】

「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 5 ' 側のヌクレオシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も 3 ' 側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号 1 と呼ぶヒト C F B m R N A ( G E N B A N K アクセション番号 N M \_ 0 0 1 7 1 0 . 5 ) もしくは本明細書において配列番号 2 と呼ぶヒト C F B ゲノム配列 (ヌクレオチド 3 1 8 5 2 0 0 0 から 3 1 8 6 1 0 0 0 までを切り出した G E N B A N K アクセション番号 N T \_ 0 0 7 5 9 2 . 1 5 ) 、またはその両方を標的とする。「n / a」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を 1 0 0 % の相補性では標的としないことを示す。

【 1 3 3 6 】

【表 1 3 3 - 1】

表 1 4 1 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とするデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドによる C F B mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                   | %<br>阻<br>害 | 配 列<br>番号2<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号2<br>終 止<br>部位 | モチーフ             | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|-------------------------|-------------------------|---------|----------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|------------------|------------------|
| 599513     | 2551                    | 2566                    | エクソン 18 | AAACCCAAATCC<br>TCAT | 11          | 7786                    | 7801                    | ekkeekkkdddddckk | 557              |
| 599514     | 2553                    | 2568                    | エクソン 18 | GAAAACCCAAAT<br>CCTC | 13          | 7788                    | 7803                    | ekkeekkkdddddckk | 801              |
| 599515     | 2555                    | 2570                    | エクソン 18 | TAGAAAACCCA<br>AATCC | 54          | 7790                    | 7805                    | ekkeekkkdddddckk | 559              |
| 599516     | 2559                    | 2574                    | エクソン 18 | CTTATAGAAAAC<br>CCAA | 16          | 7794                    | 7809                    | ekkeekkkdddddckk | 561              |
| 599517     | 2560                    | 2575                    | エクソン 18 | CCTTATAGAAAA<br>CCCA | 29          | 7795                    | 7810                    | ekkeekkkdddddckk | 562              |
| 599518     | 2561                    | 2576                    | エクソン 18 | CCCTTATAGAAA<br>ACCC | 55          | 7796                    | 7811                    | ekkeekkkdddddckk | 563              |
| 599519     | 2562                    | 2577                    | エクソン 18 | CCCCTTATAGAA<br>AACC | 31          | 7797                    | 7812                    | ekkeekkkdddddckk | 564              |
| 599520     | 2563                    | 2578                    | エクソン 18 | ACCCCTTATAGA<br>AAAC | 14          | 7798                    | 7813                    | ekkeekkkdddddckk | 565              |
| 599521     | 2564                    | 2579                    | エクソン 18 | AACCCCTTATAG<br>AAAA | 9           | 7799                    | 7814                    | ekkeekkkdddddckk | 566              |
| 599522     | 2565                    | 2580                    | エクソン 18 | AAACCCCTTATA<br>GAAA | 8           | 7800                    | 7815                    | ekkeekkkdddddckk | 567              |
| 599523     | 2566                    | 2581                    | エクソン 18 | GAAACCCCTTAT<br>AGAA | 6           | 7801                    | 7816                    | ekkeekkkdddddckk | 568              |
| 599524     | 2567                    | 2582                    | エクソン 18 | GGAAACCCCTTA<br>TAGA | 14          | 7802                    | 7817                    | ekkeekkkdddddckk | 569              |
| 599525     | 2568                    | 2583                    | エクソン 18 | AGGAAACCCCTT<br>ATAG | 6           | 7803                    | 7818                    | ekkeekkkdddddckk | 570              |
| 599526     | 2569                    | 2584                    | エクソン 18 | CAGGAAACCCCT<br>TATA | 16          | 7804                    | 7819                    | ekkeekkkdddddckk | 571              |
| 599527     | 2570                    | 2585                    | エクソン 18 | GCAGGAAACCC<br>CTTAT | 0           | 7805                    | 7820                    | ekkeekkkdddddckk | 572              |
| 599528     | 2571                    | 2586                    | エクソン 18 | AGCAGGAAACCC<br>CTTA | 6           | 7806                    | 7821                    | ekkeekkkdddddckk | 573              |
| 599529     | 2572                    | 2587                    | エクソン 18 | CAGCAGGAAAC<br>CCCTT | 6           | 7807                    | 7822                    | ekkeekkkdddddckk | 574              |

【 1 3 3 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 3 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|----------------|-----|
| 599530 | 2574 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAA<br>ACCCC | 29 | 7809 | 7824 | ekkeekkkkkkkkk | 576 |
| 599531 | 2575 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGA<br>AACCC | 64 | 7810 | 7825 | ekkeekkkkkkkkk | 577 |
| 599532 | 2576 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGA<br>AACC | 43 | 7811 | 7826 | ekkeekkkkkkkkk | 578 |
| 599533 | 2577 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGG<br>AAAC | 25 | 7812 | 7827 | ekkeekkkkkkkkk | 820 |
| 599534 | 2578 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAG<br>GAAA | 12 | 7813 | 7828 | ekkeekkkkkkkkk | 580 |
| 599535 | 2580 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGC<br>AGGA | 16 | 7815 | 7830 | ekkeekkkkkkkkk | 582 |
| 599536 | 2582 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCCTGTCCA<br>GCAG | 27 | 7817 | 7832 | ekkeekkkkkkkkk | 584 |
| 599537 | 2583 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCTGTCC<br>AGCA | 35 | 7818 | 7833 | ekkeekkkkkkkkk | 585 |
| 599538 | 2584 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCTGTC<br>CAGC | 26 | 7819 | 7834 | ekkeekkkkkkkkk | 586 |
| 599539 | 2585 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCCTGT<br>CCAG | 33 | 7820 | 7835 | ekkeekkkkkkkkk | 587 |
| 599540 | 2586 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCCTG<br>TCCA | 27 | 7821 | 7836 | ekkeekkkkkkkkk | 588 |
| 599541 | 2587 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCCCCT<br>GTCC | 52 | 7822 | 7837 | ekkeekkkkkkkkk | 589 |
| 599542 | 2588 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCC<br>TGTC | 16 | 7823 | 7838 | ekkeekkkkkkkkk | 590 |
| 599543 | 2589 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCCC<br>CTGT | 19 | 7824 | 7839 | ekkeekkkkkkkkk | 591 |
| 599544 | 2590 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCC<br>CCTG | 33 | 7825 | 7840 | ekkeekkkkkkkkk | 831 |
| 599545 | 2591 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGC<br>CCCT | 24 | 7826 | 7841 | ekkeekkkkkkkkk | 593 |
| 599546 | 2592 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACG<br>CCCC | 54 | 7827 | 7842 | ekkeekkkkkkkkk | 594 |
| 599547 | 2593 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCAC<br>GCCC | 87 | 7828 | 7843 | ekkeekkkkkkkkk | 595 |
| 599548 | 2594 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCA<br>CGCC | 79 | 7829 | 7844 | ekkeekkkkkkkkk | 596 |

【 1 3 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 3 - 3】

|        |      |      |         |                          |    |      |      |                            |     |
|--------|------|------|---------|--------------------------|----|------|------|----------------------------|-----|
| 599549 | 2595 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCC<br>ACGC     | 62 | 7830 | 7845 | ekkeekkkdddddskk           | 597 |
| 599550 | 2596 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCC<br>CACG     | 52 | 7831 | 7846 | ekkeekkkdddddskk           | 598 |
| 599551 | 2597 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCC<br>CAC     | 27 | 7832 | 7847 | ekkeekkkdddddskk           | 599 |
| 599577 | 2597 | 2613 | エクソン 18 | TTTAAATTCAATC<br>CCAC    | 90 | 7832 | 7848 | eeekkkdddddskkeee          | 662 |
| 599552 | 2598 | 2613 | エクソン 18 | TTTAAATTCAATC<br>CCA     | 92 | 7833 | 7848 | ekkeekkkdddddskk           | 600 |
| 599578 | 2598 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATTCAAT<br>CCCA    | 88 | 7833 | 7849 | eeekkkdddddskkeee          | 663 |
| 599553 | 2599 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATTCAAT<br>CCC     | 91 | 7834 | 7849 | ekkeekkkdddddskk           | 601 |
| 599579 | 2599 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATTCAA<br>TCCC    | 79 | 7834 | 7850 | eeekkkdddddskkeee          | 664 |
| 599554 | 2600 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATTCAA<br>TCC     | 90 | 7835 | 7850 | ekkeekkkdddddskk           | 602 |
| 599580 | 2600 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAAATTC<br>AATCC    | 79 | 7835 | 7851 | eeekkkdddddskkeee          | 665 |
| 599555 | 2601 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAAATTC<br>AATC     | 79 | 7836 | 7851 | ekkeekkkdddddskk           | 846 |
| 599581 | 2601 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTAAATT<br>CAATC    | 90 | 7836 | 7852 | eeekkkdddddskkeee          | 666 |
| 599556 | 2602 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTAAATT<br>CAAT     | 47 | 7837 | 7852 | ekkeekkkdddddskk           | 604 |
| 599582 | 2602 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTAAAT<br>TCAAT    | 89 | 7837 | 7853 | eeekkkdddddskkeee          | 849 |
| 599557 | 2603 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTAAAT<br>TCAA     | 67 | 7838 | 7853 | ekkeekkkdddddskk           | 850 |
| 599583 | 2603 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTAA<br>TTCAA     | 49 | 7838 | 7854 | eeekkkdddddskkeee          | 668 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCTGTT<br>TTAATTCA | 78 | 7839 | 7858 | eeeeeekkkdddddskkeee<br>ee | 317 |
| 599558 | 2604 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTAA<br>TTCA      | 80 | 7839 | 7854 | ekkeekkkdddddskk           | 606 |
| 599584 | 2604 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTAA<br>ATTCA    | 66 | 7839 | 7855 | eeekkkdddddskkeee          | 669 |

10

20

30

40

【 1 3 3 9 】

50

【表 1 3 3 - 4】

|        |      |      |                  |                       |    |      |      |                  |     |
|--------|------|------|------------------|-----------------------|----|------|------|------------------|-----|
| 599559 | 2605 | 2620 | エクソン 18          | GCAGCTGTTTAA<br>ATTC  | 38 | 7840 | 7855 | ekkeekkkkkkkkk   | 607 |
| 599585 | 2605 | 2621 | エクソン 18          | CGCAGCTGTTTT<br>AATTC | 80 | 7840 | 7856 | eeekkkkkkkkkkeee | 670 |
| 599560 | 2606 | 2621 | エクソン 18          | CGCAGCTGTTTT<br>AATT  | 16 | 7841 | 7856 | ekkeekkkkkkkkk   | 608 |
| 599586 | 2606 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTT<br>TAATT | 78 | 7841 | 7857 | eeekkkkkkkkkkeee | 671 |
| 599561 | 2607 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTT<br>TAAT  | 58 | 7842 | 7857 | ekkeekkkkkkkkk   | 609 |
| 599587 | 2607 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTT<br>TTAAT | 81 | 7842 | 7858 | eeekkkkkkkkkkeee | 672 |
| 588860 | 2608 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTT<br>TTAA  | 92 | 7843 | 7858 | eeekkkkkkkkkkeee | 610 |
| 599562 | 2608 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTT<br>TTAA  | 78 | 7843 | 7858 | ekkeekkkkkkkkk   | 610 |
| 599588 | 2608 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGT<br>TTTAA | 81 | 7843 | 7859 | eeekkkkkkkkkkeee | 673 |
| 599563 | 2609 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGT<br>TTTA  | 86 | 7844 | 7859 | ekkeekkkkkkkkk   | 611 |
| 599589 | 2609 | 2625 | エクソン 18          | TTGTGCGAGCTG<br>TTTTA | 75 | 7844 | 7860 | eeekkkkkkkkkkeee | 674 |
| 599564 | 2610 | 2625 | エクソン 18          | TTGTGCGAGCTG<br>TTTT  | 75 | 7845 | 7860 | ekkeekkkkkkkkk   | 612 |
| 599590 | 2610 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCT<br>GTTTT | 88 | 7845 | 7861 | eeekkkkkkkkkkeee | 675 |
| 599565 | 2611 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCT<br>GTTT  | 65 | 7846 | 7861 | ekkeekkkkkkkkk   | 613 |
| 599591 | 2611 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGC<br>TGTTT | 94 | 7846 | 7862 | eeekkkkkkkkkkeee | 676 |
| 599566 | 2612 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGC<br>TGTT  | 72 | 7847 | 7862 | ekkeekkkkkkkkk   | 614 |
| 599592 | 2612 | 2628 | エクソン 18/<br>リピート | TTGTTGTCGCAG<br>CTGTT | 90 | n/a  | n/a  | eeekkkkkkkkkkeee | 677 |
| 599567 | 2613 | 2628 | エクソン 18/<br>リピート | TTGTTGTCGCAG<br>CTGT  | 82 | n/a  | n/a  | ekkeekkkkkkkkk   | 615 |
| 599593 | 2613 | 2629 | エクソン 18/<br>リピート | TTGTTGTCGCA<br>GCTGT  | 95 | n/a  | n/a  | eeekkkkkkkkkkeee | 678 |

【 1 3 4 0 】

10

20

30

40

50



【表 1 3 3 - 5】

|        |      |      |                  |                      |    |     |     |                  |     |
|--------|------|------|------------------|----------------------|----|-----|-----|------------------|-----|
| 599568 | 2614 | 2629 | エクソン 18/<br>リピート | TTTGTTGTCGCA<br>GCTG | 92 | n/a | n/a | ekkeekkkdddddckk | 616 |
| 599594 | 2614 | 2630 | エクソン 18/<br>リピート | TTTGTTGTCGC<br>AGCTG | 86 | n/a | n/a | eeekkkdddddckee  | 679 |
| 599569 | 2615 | 2630 | エクソン 18/<br>リピート | TTTGTTGTCGC<br>AGCT  | 89 | n/a | n/a | ekkeekkkdddddckk | 617 |
| 599595 | 2615 | 2631 | エクソン 18/<br>リピート | TTTTGTTGTCG<br>CAGCT | 76 | n/a | n/a | eeekkkdddddckee  | 680 |
| 599570 | 2616 | 2631 | エクソン 18/<br>リピート | TTTTGTTGTCG<br>CAGC  | 95 | n/a | n/a | ekkeekkkdddddckk | 618 |

10

## 【 1 3 4 1】

実施例 1 2 1 : M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト補体 B 因子 ( C F B ) のアンチセンス阻害

ヒト補体 B 因子 ( C F B ) 核酸を標的とする新たなアンチセンスオリゴヌクレオチドを設計し、 C F B m R N A に対するそれらの効果をインビトロで試験した。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドを、培養条件が類似する一連の実験で試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度の培養 H e p G 2 細胞を、エレクトロポレーションにより、5 0 0 n M アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 2 4 時間の処理期間後に、細胞から R N A を単離し、定量リアルタイム P C R によって C F B m R N A レベルを測定した。ヒトプライマープロブセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

20

## 【 1 3 4 2】

以下の表に示す新設計のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドとして、または 5 - 8 - 5 M O E 、 5 - 9 - 5 M O E 、 5 - 1 0 - 5 M O E 、 6 - 7 - 6 M O E 、 3 - 1 0 - 5 M O E 、もしくは 6 - 8 - 6 M O E ギャップマーとして設計された。

30

## 【 1 3 4 3】

前記デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドは 1 6 ヌクレオシド長であり、そのヌクレオシドは M O E 糖修飾、( S ) - c E t 糖修飾、またはデオキシ修飾のいずれかを有する。「化学的特徴」欄には各オリゴヌクレオチドの糖修飾を記載する。「k」は ( S ) - c E t 糖修飾を示し、「d」はデオキシリボースを示し、「e」は M O E 修飾を示す。

## 【 1 3 4 4】

5 - 8 - 5 M O E ギャップマーは 1 8 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 8 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 9 - 5 M O E ギャップマーは 1 9 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 9 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 2 0 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 5 個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。3 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーは 1 8 ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは 1 0 個の 2 ' - デオキシヌクレオシドで構成され、5 ' 側と 3 ' 側にそれぞれ 3 個及び 5 個のヌクレオシドを含むウ

40

50

イングセグメントが隣接している。6 - 7 - 6 MOE ギャップマーは 19ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは7個の2' - デオキシヌクレオシドで構成され、5'側と3'側にそれぞれ6個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。6 - 8 - 6 MOE ギャップマーは20ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは8個の2' - デオキシヌクレオシドで構成され、5'側と3'側にそれぞれ6個のヌクレオシドを含むウイングセグメントが隣接している。5'ウイングセグメント中の各ヌクレオシド及び3'ウイングセグメント中の各ヌクレオシドは2' - MOE修飾を有する。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート (P = S) 連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5 - メチルシトシンである。

10

【1345】

「開始部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も5'側のヌクレオシドを示す。「終止部位」とは、ヒト遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に示す各ギャップマーは、本明細書において配列番号1と呼ぶヒトCFB mRNA (GENBANKアクセッション番号NM\_001710.5) もしくは本明細書において配列番号2と呼ぶヒトCFBゲノム配列 (ヌクレオチド31852000から31861000までを切り出したGENBANKアクセッション番号NT\_007592.15)、またはその両方を標的とする。「n/a」は、そのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当該特定遺伝子配列を100%の相補性では標的としないことを示す。

20

【1346】

30

40

50

## 【表 1 3 4 - 1】

表 1 4 2 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とするデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドによる C F B m R N A の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                   | %<br>阻害 | 配列番号<br>2<br>開始部位 | 配 列<br>番号2<br>終 止<br>部位 | モチーフ             | 配列番号 |
|------------|-------------------------|-------------------------|---------|----------------------|---------|-------------------|-------------------------|------------------|------|
| 601152     | 2551                    | 2566                    | エクソン 18 | AAACCCAAA<br>TCCTCAT | 22      | 7786              | 7801                    | eekkkkkkkkkkkkee | 557  |
| 601218     | 2551                    | 2566                    | エクソン 18 | AAACCCAAA<br>TCCTCAT | 21      | 7786              | 7801                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 557  |
| 601153     | 2552                    | 2567                    | エクソン 18 | AAAACCCA<br>AATCCTCA | 27      | 7787              | 7802                    | eekkkkkkkkkkkkee | 800  |
| 601219     | 2552                    | 2567                    | エクソン 18 | AAAACCCA<br>AATCCTCA | 19      | 7787              | 7802                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 800  |
| 601154     | 2553                    | 2568                    | エクソン 18 | GAAAACCC<br>AAATCCTC | 23      | 7788              | 7803                    | eekkkkkkkkkkkkee | 558  |
| 601220     | 2553                    | 2568                    | エクソン 18 | GAAAACCC<br>AAATCCTC | 24      | 7788              | 7803                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 558  |
| 601155     | 2554                    | 2569                    | エクソン 18 | AGAAAACC<br>CAAATCCT | 20      | 7789              | 7804                    | eekkkkkkkkkkkkee | 801  |
| 601221     | 2554                    | 2569                    | エクソン 18 | AGAAAACC<br>CAAATCCT | 0       | 7789              | 7804                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 801  |
| 601156     | 2555                    | 2570                    | エクソン 18 | TAGAAAACC<br>CAAATCC | 11      | 7790              | 7805                    | eekkkkkkkkkkkkee | 559  |
| 601222     | 2555                    | 2570                    | エクソン 18 | TAGAAAACC<br>CAAATCC | 23      | 7790              | 7805                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 559  |
| 601157     | 2556                    | 2571                    | エクソン 18 | ATAGAAAAC<br>CCAAATC | 9       | 7791              | 7806                    | eekkkkkkkkkkkkee | 560  |
| 601223     | 2556                    | 2571                    | エクソン 18 | ATAGAAAAC<br>CCAAATC | 0       | 7791              | 7806                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 560  |
| 601158     | 2557                    | 2572                    | エクソン 18 | TATAGAAAA<br>CCCAAAT | 0       | 7792              | 7807                    | eekkkkkkkkkkkkee | 802  |
| 601224     | 2557                    | 2572                    | エクソン 18 | TATAGAAAA<br>CCCAAAT | 0       | 7792              | 7807                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 802  |
| 601159     | 2558                    | 2573                    | エクソン 18 | TTATAGAAA<br>ACCCAAA | 2       | 7793              | 7808                    | eekkkkkkkkkkkkee | 803  |
| 601225     | 2558                    | 2573                    | エクソン 18 | TTATAGAAA<br>ACCCAAA | 0       | 7793              | 7808                    | ekkkkkkkkkkkkeee | 803  |

## 【 1 3 4 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 4 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                  |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|------------------|-----|
| 601160 | 2559 | 2574 | エクソン 18 | CTTATAGAA<br>AACCCAA | 0  | 7794 | 7809 | eekkkkkkkkkkkkee | 561 |
| 601226 | 2559 | 2574 | エクソン 18 | CTTATAGAA<br>AACCCAA | 0  | 7794 | 7809 | ekkkkkkkkkkkkeee | 561 |
| 601161 | 2560 | 2575 | エクソン 18 | CCTTATAGA<br>AAACCCA | 1  | 7795 | 7810 | eekkkkkkkkkkkkee | 562 |
| 601227 | 2560 | 2575 | エクソン 18 | CCTTATAGA<br>AAACCCA | 14 | 7795 | 7810 | ekkkkkkkkkkkkeee | 562 |
| 601162 | 2561 | 2576 | エクソン 18 | CCCTTATAG<br>AAAACCC | 9  | 7796 | 7811 | eekkkkkkkkkkkkee | 563 |
| 601228 | 2561 | 2576 | エクソン 18 | CCCTTATAG<br>AAAACCC | 9  | 7796 | 7811 | ekkkkkkkkkkkkeee | 563 |
| 601163 | 2562 | 2577 | エクソン 18 | CCCCTTATA<br>GAAAACC | 0  | 7797 | 7812 | eekkkkkkkkkkkkee | 564 |
| 601164 | 2563 | 2578 | エクソン 18 | ACCCCTTAT<br>AGAAAAC | 3  | 7798 | 7813 | eekkkkkkkkkkkkee | 565 |
| 601165 | 2564 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTA<br>TAGAAAA | 0  | 7799 | 7814 | eekkkkkkkkkkkkee | 566 |
| 601166 | 2565 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTT<br>ATAGAAA | 0  | 7800 | 7815 | eekkkkkkkkkkkkee | 567 |
| 601167 | 2566 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCT<br>TATAGAA | 0  | 7801 | 7816 | eekkkkkkkkkkkkee | 568 |
| 601168 | 2567 | 2582 | エクソン 18 | GGAAACCCC<br>TTATAGA | 0  | 7802 | 7817 | eekkkkkkkkkkkkee | 569 |
| 601169 | 2568 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACC<br>CCTTATAG | 0  | 7803 | 7818 | eekkkkkkkkkkkkee | 570 |
| 601170 | 2569 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAAC<br>CCCTTATA | 10 | 7804 | 7819 | eekkkkkkkkkkkkee | 571 |
| 601171 | 2570 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAA<br>CCCCTTAT | 9  | 7805 | 7820 | eekkkkkkkkkkkkee | 572 |
| 601172 | 2571 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAA<br>ACCCCTTA | 15 | 7806 | 7821 | eekkkkkkkkkkkkee | 573 |
| 601173 | 2572 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGA<br>AACCCCTT | 29 | 7807 | 7822 | eekkkkkkkkkkkkee | 574 |
| 601174 | 2573 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGG<br>AAACCCCT | 25 | 7808 | 7823 | eekkkkkkkkkkkkee | 575 |
| 601175 | 2574 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGG<br>AAACCCC | 15 | 7809 | 7824 | eekkkkkkkkkkkkee | 576 |

【 1 3 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 4 - 3】

|        |      |      |         |                       |    |      |      |               |     |
|--------|------|------|---------|-----------------------|----|------|------|---------------|-----|
| 601176 | 2575 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAG<br>GAAACCC  | 18 | 7810 | 7825 | eekkkkkkkkkkk | 577 |
| 601177 | 2576 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCA<br>GGAAACC  | 10 | 7811 | 7826 | eekkkkkkkkkkk | 578 |
| 601178 | 2577 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGC<br>AGGAAAC  | 11 | 7812 | 7827 | eekkkkkkkkkkk | 579 |
| 601179 | 2578 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAG<br>CAGGAAA  | 19 | 7813 | 7828 | eekkkkkkkkkkk | 580 |
| 601180 | 2579 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCA<br>GCAGGAA  | 7  | 7814 | 7829 | eekkkkkkkkkkk | 581 |
| 601181 | 2580 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCC<br>AGCAGGA  | 3  | 7815 | 7830 | eekkkkkkkkkkk | 582 |
| 601182 | 2581 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTC<br>CAGCAGG  | 0  | 7816 | 7831 | eekkkkkkkkkkk | 583 |
| 601183 | 2582 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCCGTG<br>CCAGCAG  | 4  | 7817 | 7832 | eekkkkkkkkkkk | 584 |
| 601184 | 2583 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCTG<br>TCCAGCA  | 14 | 7818 | 7833 | eekkkkkkkkkkk | 585 |
| 601185 | 2584 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCTT<br>GTCCAGC  | 26 | 7819 | 7834 | eekkkkkkkkkkk | 586 |
| 601186 | 2585 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCC<br>TGTCCAG  | 8  | 7820 | 7835 | eekkkkkkkkkkk | 587 |
| 601187 | 2586 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCC<br>CTGTCCA  | 18 | 7821 | 7836 | eekkkkkkkkkkk | 588 |
| 601188 | 2587 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCC<br>CCTGTCC  | 20 | 7822 | 7837 | eekkkkkkkkkkk | 589 |
| 601189 | 2588 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGC<br>CCCTGTC  | 12 | 7823 | 7838 | eekkkkkkkkkkk | 590 |
| 601190 | 2589 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACG<br>CCCCTGT  | 33 | 7824 | 7839 | eekkkkkkkkkkk | 591 |
| 601191 | 2590 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCAC<br>GCCCTGT  | 52 | 7825 | 7840 | eekkkkkkkkkkk | 592 |
| 601192 | 2591 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCA<br>CGCCCCCT | 46 | 7826 | 7841 | eekkkkkkkkkkk | 593 |
| 601193 | 2592 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCC<br>ACGCCCC  | 30 | 7827 | 7842 | eekkkkkkkkkkk | 594 |
| 601194 | 2593 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCC<br>CACGCCC  | 41 | 7828 | 7843 | eekkkkkkkkkkk | 595 |

【 1 3 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 4 - 4】

|        |      |      |         |                              |    |      |      |                      |     |
|--------|------|------|---------|------------------------------|----|------|------|----------------------|-----|
| 601195 | 2594 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATC<br>CCACGCC         | 40 | 7829 | 7844 | eekkkkkkkkkkkee      | 596 |
| 601196 | 2595 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAAT<br>CCCACGC         | 71 | 7830 | 7845 | eekkkkkkkkkkkee      | 597 |
| 601197 | 2596 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAA<br>TCCCACG         | 42 | 7831 | 7846 | eekkkkkkkkkkkee      | 598 |
| 601198 | 2597 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCA<br>ATCCCAC         | 63 | 7832 | 7847 | eekkkkkkkkkkkee      | 599 |
| 601199 | 2598 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTC<br>AATCCCA         | 51 | 7833 | 7848 | eekkkkkkkkkkkee      | 600 |
| 601200 | 2599 | 2614 | エクソン 18 | GTTTAAATT<br>CAATCCC         | 65 | 7834 | 7849 | eekkkkkkkkkkkee      | 601 |
| 601201 | 2600 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATT<br>CAATCC         | 49 | 7835 | 7850 | eekkkkkkkkkkkee      | 602 |
| 601202 | 2601 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAA<br>TTCAATC          | 33 | 7836 | 7851 | eekkkkkkkkkkkee      | 603 |
| 601203 | 2602 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTAA<br>ATTCAAT         | 63 | 7837 | 7852 | eekkkkkkkkkkkee      | 604 |
| 601204 | 2603 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTT<br>AATTCAA         | 69 | 7838 | 7853 | eekkkkkkkkkkkee      | 605 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCT<br>GTTTAAATT<br>CA | 73 | 7839 | 7858 | eeeeeeeeeeee<br>eeee | 317 |
| 601205 | 2604 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTT<br>TAATTCA         | 51 | 7839 | 7854 | eekkkkkkkkkkkee      | 606 |
| 601206 | 2605 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTT<br>TTAATTC         | 43 | 7840 | 7855 | eekkkkkkkkkkkee      | 607 |
| 601207 | 2606 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGT<br>TTAATT          | 52 | 7841 | 7856 | eekkkkkkkkkkkee      | 608 |
| 601208 | 2607 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCTG<br>TTTAAAT         | 61 | 7842 | 7857 | eekkkkkkkkkkkee      | 609 |
| 588860 | 2608 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCT<br>GTTTAA          | 75 | 7843 | 7858 | eekkkkkkkkkkkee      | 610 |
| 601209 | 2608 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCT<br>GTTTAA          | 73 | 7843 | 7858 | eekkkkkkkkkkkee      | 610 |
| 601210 | 2609 | 2624 | エクソン 18 | TGTCGCAGC<br>TGTTTAA         | 80 | 7844 | 7859 | eekkkkkkkkkkkee      | 611 |
| 601211 | 2610 | 2625 | エクソン 18 | TTGTCGCAG<br>CTGTTTT         | 64 | 7845 | 7860 | eekkkkkkkkkkkee      | 612 |

10

20

30

40

【 1 3 5 0 】

50

【表 1 3 4 - 5】

|        |      |      |                  |                       |    |      |      |                 |     |
|--------|------|------|------------------|-----------------------|----|------|------|-----------------|-----|
| 601212 | 2611 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCA<br>GCTGTTT  | 86 | 7846 | 7861 | eekkkkkkkkkkkee | 613 |
| 601213 | 2612 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGC<br>AGCTGTT  | 87 | 7847 | 7862 | eekkkkkkkkkkkee | 614 |
| 601214 | 2613 | 2628 | エクソン 18/<br>リピート | TTGTTGTCG<br>CAGCTGT  | 84 | n/a  | n/a  | eekkkkkkkkkkkee | 615 |
| 601215 | 2614 | 2629 | エクソン 18/<br>リピート | TTTGTGTC<br>GCAGCTG   | 78 | n/a  | n/a  | eekkkkkkkkkkkee | 616 |
| 601216 | 2615 | 2630 | エクソン 18/<br>リピート | TTTTGTTGT<br>CGCAGCT  | 73 | n/a  | n/a  | eekkkkkkkkkkkee | 617 |
| 601217 | 2616 | 2631 | エクソン 18/<br>リピート | TTTTTGTGTG<br>TCGCAGC | 66 | n/a  | n/a  | eekkkkkkkkkkkee | 618 |

10

【 1 3 5 1 】

【表 1 3 5 - 1】

表 1 4 3 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とするデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドによる CFB mRNA の阻害

20

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番 号<br>1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部位 | 標的領域    | 配列                   | %<br>阻<br>害 | 配列番<br>号2<br>開 始部<br>位 | 配列番<br>号2<br>終 止部<br>位 | モチーフ           | 配 列<br>番号 |
|------------|------------------------------|-------------------------|---------|----------------------|-------------|------------------------|------------------------|----------------|-----------|
| 601284     | 2551                         | 2566                    | エクソン 18 | AAACCCAAATCC<br>TCAT | 8           | 7786                   | 7801                   | ekkkkkkkkkkkee | 557       |
| 601285     | 2552                         | 2567                    | エクソン 18 | AAAACCCAAATC<br>CTCA | 15          | 7787                   | 7802                   | ekkkkkkkkkkkee | 800       |
| 601286     | 2553                         | 2568                    | エクソン 18 | GAAAACCCAAAT<br>CCTC | 21          | 7788                   | 7803                   | ekkkkkkkkkkkee | 558       |
| 601287     | 2554                         | 2569                    | エクソン 18 | AGAAAACCCAA<br>ATCCT | 9           | 7789                   | 7804                   | ekkkkkkkkkkkee | 801       |
| 601288     | 2555                         | 2570                    | エクソン 18 | TAGAAAACCCAA<br>ATCC | 0           | 7790                   | 7805                   | ekkkkkkkkkkkee | 559       |
| 601289     | 2556                         | 2571                    | エクソン 18 | ATAGAAAACCCA<br>AATC | 40          | 7791                   | 7806                   | ekkkkkkkkkkkee | 560       |
| 601290     | 2557                         | 2572                    | エクソン 18 | TATAGAAAACCC<br>AAAT | 16          | 7792                   | 7807                   | ekkkkkkkkkkkee | 802       |
| 601291     | 2558                         | 2573                    | エクソン 18 | TTATAGAAAACC<br>CAAA | 15          | 7793                   | 7808                   | ekkkkkkkkkkkee | 803       |
| 601292     | 2559                         | 2574                    | エクソン 18 | CTTATAGAAAAC<br>CCAA | 5           | 7794                   | 7809                   | ekkkkkkkkkkkee | 561       |

30

40

【 1 3 5 2 】

50

【表 1 3 5 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                  |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|------------------|-----|
| 601293 | 2560 | 2575 | エクソン 18 | CCTTATAGAAAA<br>CCCA | 15 | 7795 | 7810 | ekkkkkkkkkkkkeee | 562 |
| 601294 | 2561 | 2576 | エクソン 18 | CCCTTATAGAAA<br>ACCC | 3  | 7796 | 7811 | ekkkkkkkkkkkkeee | 563 |
| 601229 | 2562 | 2577 | エクソン 18 | CCCCTTATAGAA<br>AACC | 15 | 7797 | 7812 | ekkkkkkkkkkkkeee | 564 |
| 601295 | 2562 | 2577 | エクソン 18 | CCCCTTATAGAA<br>AACC | 5  | 7797 | 7812 | ekkkkkkkkkkkkeee | 564 |
| 601230 | 2563 | 2578 | エクソン 18 | ACCCCTTATAGA<br>AAAC | 14 | 7798 | 7813 | ekkkkkkkkkkkkeee | 565 |
| 601296 | 2563 | 2578 | エクソン 18 | ACCCCTTATAGA<br>AAAC | 0  | 7798 | 7813 | ekkkkkkkkkkkkeee | 565 |
| 601231 | 2564 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTATAG<br>AAAA | 14 | 7799 | 7814 | ekkkkkkkkkkkkeee | 566 |
| 601297 | 2564 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTATAG<br>AAAA | 14 | 7799 | 7814 | ekkkkkkkkkkkkeee | 566 |
| 601232 | 2565 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTTATA<br>GAAA | 15 | 7800 | 7815 | ekkkkkkkkkkkkeee | 567 |
| 601298 | 2565 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTTATA<br>GAAA | 7  | 7800 | 7815 | ekkkkkkkkkkkkeee | 567 |
| 601233 | 2566 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCTTAT<br>AGAA | 0  | 7801 | 7816 | ekkkkkkkkkkkkeee | 568 |
| 601299 | 2566 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCTTAT<br>AGAA | 0  | 7801 | 7816 | ekkkkkkkkkkkkeee | 568 |
| 601234 | 2567 | 2582 | エクソン 18 | GGAAACCCCTTA<br>TAGA | 0  | 7802 | 7817 | ekkkkkkkkkkkkeee | 569 |
| 601300 | 2567 | 2582 | エクソン 18 | GGAAACCCCTTA<br>TAGA | 9  | 7802 | 7817 | ekkkkkkkkkkkkeee | 569 |
| 601235 | 2568 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACCCCTT<br>ATAG | 3  | 7803 | 7818 | ekkkkkkkkkkkkeee | 570 |
| 601301 | 2568 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACCCCTT<br>ATAG | 14 | 7803 | 7818 | ekkkkkkkkkkkkeee | 570 |
| 601236 | 2569 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAACCCCT<br>TATA | 0  | 7804 | 7819 | ekkkkkkkkkkkkeee | 571 |
| 601302 | 2569 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAACCCCT<br>TATA | 0  | 7804 | 7819 | ekkkkkkkkkkkkeee | 571 |
| 601237 | 2570 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAACCC<br>CTTAT | 16 | 7805 | 7820 | ekkkkkkkkkkkkeee | 572 |

10

20

30

40

【 1 3 5 3 】

50



【表 1 3 5 - 3】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|----------------|-----|
| 601303 | 2570 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAACCC<br>CTTAT | 16 | 7805 | 7820 | ekkkkkkkkkkeee | 572 |
| 601238 | 2571 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACC<br>CCTTA | 11 | 7806 | 7821 | ekkkkkkkkkkeee | 573 |
| 601304 | 2571 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACC<br>CCTTA | 10 | 7806 | 7821 | ekkkkkkkkkkeee | 573 |
| 601239 | 2572 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAAC<br>CCCTT | 21 | 7807 | 7822 | ekkkkkkkkkkeee | 574 |
| 601305 | 2572 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAAC<br>CCCTT | 7  | 7807 | 7822 | ekkkkkkkkkkeee | 574 |
| 601240 | 2573 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGGAAA<br>CCCCT | 6  | 7808 | 7823 | ekkkkkkkkkkeee | 575 |
| 601241 | 2574 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAA<br>ACCCC | 10 | 7809 | 7824 | ekkkkkkkkkkeee | 576 |
| 601242 | 2575 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGA<br>AACCC | 19 | 7810 | 7825 | ekkkkkkkkkkeee | 577 |
| 601243 | 2576 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGA<br>AACC | 10 | 7811 | 7826 | ekkkkkkkkkkeee | 578 |
| 601244 | 2577 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGG<br>AAAC | 28 | 7812 | 7827 | ekkkkkkkkkkeee | 579 |
| 601245 | 2578 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAG<br>GAAA | 5  | 7813 | 7828 | ekkkkkkkkkkeee | 580 |
| 601246 | 2579 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCA<br>GGAA | 18 | 7814 | 7829 | ekkkkkkkkkkeee | 581 |
| 601247 | 2580 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGC<br>AGGA | 4  | 7815 | 7830 | ekkkkkkkkkkeee | 582 |
| 601248 | 2581 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCAG<br>CAGG | 6  | 7816 | 7831 | ekkkkkkkkkkeee | 583 |
| 601249 | 2582 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCCTGTCCA<br>GCAG | 18 | 7817 | 7832 | ekkkkkkkkkkeee | 584 |
| 601250 | 2583 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCTGTCC<br>AGCA | 26 | 7818 | 7833 | ekkkkkkkkkkeee | 585 |
| 601251 | 2584 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCTGTC<br>CAGC | 27 | 7819 | 7834 | ekkkkkkkkkkeee | 586 |
| 601252 | 2585 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCTGT<br>CCAG  | 21 | 7820 | 7835 | ekkkkkkkkkkeee | 587 |
| 601253 | 2586 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCTG<br>TCCA  | 0  | 7821 | 7836 | ekkkkkkkkkkeee | 588 |

【 1 3 5 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 5 - 4】

|        |      |      |         |                          |    |      |      |                        |     |
|--------|------|------|---------|--------------------------|----|------|------|------------------------|-----|
| 601254 | 2587 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCCCT<br>GTCC      | 31 | 7822 | 7837 | ekkkkkkkkkdkeee        | 589 |
| 601255 | 2588 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCC<br>TGTC     | 3  | 7823 | 7838 | ekkkkkkkkkdkeee        | 590 |
| 601256 | 2589 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCCC<br>CTGT     | 21 | 7824 | 7839 | ekkkkkkkkkdkeee        | 591 |
| 601257 | 2590 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCC<br>CCTG     | 47 | 7825 | 7840 | ekkkkkkkkkdkeee        | 592 |
| 601258 | 2591 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGC<br>CCCT     | 48 | 7826 | 7841 | ekkkkkkkkkdkeee        | 593 |
| 601259 | 2592 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACG<br>CCCC     | 38 | 7827 | 7842 | ekkkkkkkkkdkeee        | 594 |
| 601260 | 2593 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCAC<br>GCCC     | 33 | 7828 | 7843 | ekkkkkkkkkdkeee        | 595 |
| 601261 | 2594 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCA<br>CGCC     | 17 | 7829 | 7844 | ekkkkkkkkkdkeee        | 596 |
| 601262 | 2595 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCC<br>ACGC     | 40 | 7830 | 7845 | ekkkkkkkkkdkeee        | 597 |
| 601263 | 2596 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCC<br>ACG     | 31 | 7831 | 7846 | ekkkkkkkkkdkeee        | 598 |
| 601264 | 2597 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCC<br>CAC     | 72 | 7832 | 7847 | ekkkkkkkkkdkeee        | 599 |
| 601265 | 2598 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAATC<br>CCA     | 48 | 7833 | 7848 | ekkkkkkkkkdkeee        | 600 |
| 601266 | 2599 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAATTCAAT<br>CCC     | 64 | 7834 | 7849 | ekkkkkkkkkdkeee        | 601 |
| 601267 | 2600 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAATTCAA<br>TCC     | 43 | 7835 | 7850 | ekkkkkkkkkdkeee        | 602 |
| 601268 | 2601 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTTAATTCA<br>ATC     | 44 | 7836 | 7851 | ekkkkkkkkkdkeee        | 603 |
| 601269 | 2602 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTTAATTC<br>AAT     | 66 | 7837 | 7852 | ekkkkkkkkkdkeee        | 604 |
| 601270 | 2603 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAATT<br>CAA     | 47 | 7838 | 7853 | ekkkkkkkkkdkeee        | 605 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGCTGTT<br>TTAATTCA | 3  | 7839 | 7858 | eeeeeddddddddeee<br>ee | 317 |
| 601271 | 2604 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTTAA<br>TTCA     | 26 | 7839 | 7854 | ekkkkkkkkkdkeee        | 606 |

【 1 3 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 5 - 5】

|        |      |      |                  |                      |    |      |      |                |     |
|--------|------|------|------------------|----------------------|----|------|------|----------------|-----|
| 601272 | 2605 | 2620 | エクソン 18          | GCAGCTGTTTAA<br>ATTC | 33 | 7840 | 7855 | ekkkddddddkkee | 607 |
| 601273 | 2606 | 2621 | エクソン 18          | CGCAGCTGTTTT<br>AATT | 34 | 7841 | 7856 | ekkkddddddkkee | 608 |
| 601274 | 2607 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTT<br>TAAT | 39 | 7842 | 7857 | ekkkddddddkkee | 609 |
| 588860 | 2608 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTT<br>TTAA | 72 | 7843 | 7858 | ekkkddddddkkee | 610 |
| 601275 | 2608 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTT<br>TTAA | 65 | 7843 | 7858 | ekkkddddddkkee | 610 |
| 601276 | 2609 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGT<br>TTTA | 65 | 7844 | 7859 | ekkkddddddkkee | 611 |
| 601277 | 2610 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTG<br>TTTT | 51 | 7845 | 7860 | ekkkddddddkkee | 612 |
| 601278 | 2611 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCT<br>GTTT | 78 | 7846 | 7861 | ekkkddddddkkee | 613 |
| 601279 | 2612 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGC<br>TGTT | 79 | 7847 | 7862 | ekkkddddddkkee | 614 |
| 601280 | 2613 | 2628 | エクソン 18/<br>リピート | TTGTTGTCGCAG<br>CTGT | 70 | n/a  | n/a  | ekkkddddddkkee | 615 |
| 601281 | 2614 | 2629 | エクソン 18/<br>リピート | TTTGTTGTCGCA<br>GCTG | 78 | n/a  | n/a  | ekkkddddddkkee | 616 |
| 601282 | 2615 | 2630 | エクソン 18/<br>リピート | TTTTGTTGTCGC<br>AGCT | 68 | n/a  | n/a  | ekkkddddddkkee | 617 |
| 601283 | 2616 | 2631 | エクソン 18/<br>リピート | TTTTTGTTGTCG<br>CAGC | 61 | n/a  | n/a  | ekkkddddddkkee | 618 |

【 1 3 5 6 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 3 6 - 1】

表 1 4 4 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とするデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部 位 | 標的領域    | 配列                       | %<br>阻害 | 配 列<br>番 号<br>2<br>開 始<br>部位 | 配 列<br>番 号<br>2<br>終 止<br>部位 | モチーフ                | 配 列<br>番<br>号 |
|------------|-------------------------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|------------------------------|------------------------------|---------------------|---------------|
| 601306     | 2573                    | 2588                     | エクソン 18 | CCAGCAG<br>GAAACCCC<br>T | 22      | 7808                         | 7823                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 575           |
| 601307     | 2574                    | 2589                     | エクソン 18 | TCCAGCAG<br>GAAACCCC     | 22      | 7809                         | 7824                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 576           |
| 601308     | 2575                    | 2590                     | エクソン 18 | GTCCAGCA<br>GGAAACC<br>C | 33      | 7810                         | 7825                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 577           |
| 601309     | 2576                    | 2591                     | エクソン 18 | TGTCCAGC<br>AGGAAAC<br>C | 33      | 7811                         | 7826                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 578           |
| 601310     | 2577                    | 2592                     | エクソン 18 | CTGTCCAG<br>CAGGAAA<br>C | 28      | 7812                         | 7827                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 579           |
| 601311     | 2578                    | 2593                     | エクソン 18 | CCTGTCCA<br>GCAGGAA<br>A | 33      | 7813                         | 7828                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 580           |
| 601312     | 2579                    | 2594                     | エクソン 18 | CCCTGTCC<br>AGCAGGA<br>A | 13      | 7814                         | 7829                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 581           |
| 601313     | 2580                    | 2595                     | エクソン 18 | CCCCTGTC<br>CAGCAGG<br>A | 32      | 7815                         | 7830                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 582           |
| 601314     | 2581                    | 2596                     | エクソン 18 | GCCCCTGT<br>CCAGCAG<br>G | 0       | 7816                         | 7831                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 583           |
| 601315     | 2582                    | 2597                     | エクソン 18 | CGCCCCTG<br>TCCAGCAG     | 36      | 7817                         | 7832                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 584           |
| 601316     | 2583                    | 2598                     | エクソン 18 | ACGCCCT<br>GTCCAGCA      | 39      | 7818                         | 7833                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 585           |
| 601317     | 2584                    | 2599                     | エクソン 18 | CACGCCCC<br>TGTCCAGC     | 33      | 7819                         | 7834                         | ekkkkkkkkkk<br>keee | 586           |

## 【 1 3 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 6 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                     |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|---------------------|-----|
| 601356 | 2584 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCC<br>TGTCCAGC | 27 | 7819 | 7834 | kkkdddddddk<br>eeee | 586 |
| 601318 | 2585 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCC<br>CTGTCCAG | 35 | 7820 | 7835 | ekkdddddddk<br>keee | 587 |
| 601357 | 2585 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCC<br>CTGTCCAG | 26 | 7820 | 7835 | kkkdddddddk<br>eeee | 587 |
| 601319 | 2586 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCC<br>CCTGTCCA | 33 | 7821 | 7836 | ekkdddddddk<br>keee | 588 |
| 601358 | 2586 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCC<br>CCTGTCCA | 26 | 7821 | 7836 | kkkdddddddk<br>eeee | 588 |
| 601320 | 2587 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGC<br>CCCTGTCC | 25 | 7822 | 7837 | ekkdddddddk<br>keee | 589 |
| 601359 | 2587 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGC<br>CCCTGTCC | 23 | 7822 | 7837 | kkkdddddddk<br>eeee | 589 |
| 601321 | 2588 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACG<br>CCCCTGTC | 50 | 7823 | 7838 | ekkdddddddk<br>keee | 590 |
| 601360 | 2588 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACG<br>CCCCTGTC | 33 | 7823 | 7838 | kkkdddddddk<br>eeee | 590 |
| 601322 | 2589 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCAC<br>GCCCCTGT | 52 | 7824 | 7839 | ekkdddddddk<br>keee | 591 |
| 601361 | 2589 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCAC<br>GCCCCTGT | 48 | 7824 | 7839 | kkkdddddddk<br>eeee | 591 |
| 601323 | 2590 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCA<br>CGCCCCTG | 67 | 7825 | 7840 | ekkdddddddk<br>keee | 592 |
| 601362 | 2590 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCA<br>CGCCCCTG | 51 | 7825 | 7840 | kkkdddddddk<br>eeee | 592 |
| 601324 | 2591 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCC<br>ACGCCCCT | 42 | 7826 | 7841 | ekkdddddddk<br>keee | 593 |
| 601363 | 2591 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCC<br>ACGCCCCT | 42 | 7826 | 7841 | kkkdddddddk<br>eeee | 593 |
| 601325 | 2592 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCC<br>CACGCCCC | 52 | 7827 | 7842 | ekkdddddddk<br>keee | 594 |
| 601364 | 2592 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCC<br>CACGCCCC | 48 | 7827 | 7842 | kkkdddddddk<br>eeee | 594 |
| 601326 | 2593 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATC<br>CCACGCCC | 27 | 7828 | 7843 | ekkdddddddk<br>keee | 595 |
| 601365 | 2593 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATC<br>CCACGCCC | 36 | 7828 | 7843 | kkkdddddddk<br>eeee | 595 |

【 1 3 5 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 6 - 3】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |                     |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|---------------------|-----|
| 601327 | 2594 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAAT<br>CCCACGCC | 66 | 7829 | 7844 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 596 |
| 601366 | 2594 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAAT<br>CCCACGCC | 49 | 7829 | 7844 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 596 |
| 601328 | 2595 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAA<br>TCCCACGC | 55 | 7830 | 7845 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 597 |
| 601367 | 2595 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAA<br>TCCCACGC | 57 | 7830 | 7845 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 597 |
| 601329 | 2596 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCA<br>ATCCCACG | 69 | 7831 | 7846 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 598 |
| 601368 | 2596 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCA<br>ATCCCACG | 68 | 7831 | 7846 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 598 |
| 601330 | 2597 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTC<br>AATCCCAC | 58 | 7832 | 7847 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 599 |
| 601369 | 2597 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTC<br>AATCCCAC | 65 | 7832 | 7847 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 599 |
| 601331 | 2598 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTC<br>AATCCCA | 45 | 7833 | 7848 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 600 |
| 601370 | 2598 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTC<br>AATCCCA | 42 | 7833 | 7848 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 600 |
| 601332 | 2599 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAAT<br>TCAATCCC | 84 | 7834 | 7849 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 601 |
| 601371 | 2599 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAAT<br>TCAATCCC | 79 | 7834 | 7849 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 601 |
| 601333 | 2600 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAA<br>TTCAATCC | 61 | 7835 | 7850 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 602 |
| 601372 | 2600 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAA<br>TTCAATCC | 71 | 7835 | 7850 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 602 |
| 601334 | 2601 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAA<br>ATTCAATC | 61 | 7836 | 7851 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 603 |
| 601373 | 2601 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAA<br>ATTCAATC | 57 | 7836 | 7851 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 603 |
| 601335 | 2602 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTT<br>AATTCAAT | 73 | 7837 | 7852 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 604 |
| 601374 | 2602 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTT<br>AATTCAAT | 66 | 7837 | 7852 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 604 |
| 601336 | 2603 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTT<br>TAATTCAA | 64 | 7838 | 7853 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 605 |

【 1 3 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 6 - 4】

|        |      |      |         |                             |    |      |      |                     |     |
|--------|------|------|---------|-----------------------------|----|------|------|---------------------|-----|
| 601375 | 2603 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTT<br>TAATTCAA        | 61 | 7838 | 7853 | kkkdddddddk<br>eeee | 605 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGC<br>TGTTTAA<br>TTCA | 66 | 7839 | 7858 | eeeeeeee<br>dddeeee | 317 |
| 601337 | 2604 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTT<br>TTAATTCA        | 53 | 7839 | 7854 | ekkdddddddk<br>keee | 606 |
| 601376 | 2604 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTT<br>TTAATTCA        | 39 | 7839 | 7854 | kkkdddddddk<br>eeee | 606 |
| 601338 | 2605 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGT<br>TTTAATTC        | 67 | 7840 | 7855 | ekkdddddddk<br>keee | 607 |
| 601377 | 2605 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGT<br>TTTAATTC        | 67 | 7840 | 7855 | kkkdddddddk<br>eeee | 607 |
| 601339 | 2606 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTG<br>TTTAATT         | 63 | 7841 | 7856 | ekkdddddddk<br>keee | 608 |
| 601378 | 2606 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTG<br>TTTAATT         | 60 | 7841 | 7856 | kkkdddddddk<br>eeee | 608 |
| 601340 | 2607 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCT<br>GTTTAAAT        | 40 | 7842 | 7857 | ekkdddddddk<br>keee | 609 |
| 601379 | 2607 | 2622 | エクソン 18 | TCGCAGCT<br>GTTTAAAT        | 36 | 7842 | 7857 | kkkdddddddk<br>eeee | 609 |
| 588860 | 2608 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGC<br>TGTTTAA         | 84 | 7843 | 7858 | eekddddddd<br>dkke  | 610 |
| 601341 | 2608 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGC<br>TGTTTAA         | 74 | 7843 | 7858 | ekkdddddddk<br>keee | 610 |
| 601380 | 2608 | 2623 | エクソン 18 | GTCGCAGC<br>TGTTTAA         | 78 | 7843 | 7858 | kkkdddddddk<br>eeee | 610 |
| 601342 | 2609 | 2624 | エクソン 18 | TGTCGCAG<br>CTGTTTAA        | 68 | 7844 | 7859 | ekkdddddddk<br>keee | 611 |
| 601381 | 2609 | 2624 | エクソン 18 | TGTCGCAG<br>CTGTTTAA        | 66 | 7844 | 7859 | kkkdddddddk<br>eeee | 611 |
| 601343 | 2610 | 2625 | エクソン 18 | TTGTCGCA<br>GCTGTTTT        | 71 | 7845 | 7860 | ekkdddddddk<br>keee | 612 |
| 601382 | 2610 | 2625 | エクソン 18 | TTGTCGCA<br>GCTGTTTT        | 84 | 7845 | 7860 | kkkdddddddk<br>eeee | 612 |
| 601344 | 2611 | 2626 | エクソン 18 | GTTGTCGC<br>AGCTGTTT        | 87 | 7846 | 7861 | ekkdddddddk<br>keee | 613 |
| 601383 | 2611 | 2626 | エクソン 18 | GTTGTCGC<br>AGCTGTTT        | 85 | 7846 | 7861 | kkkdddddddk<br>eeee | 613 |

【 1 3 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 6 - 5】

|        |      |      |                  |                      |    |      |      |                     |     |
|--------|------|------|------------------|----------------------|----|------|------|---------------------|-----|
| 601345 | 2612 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCG<br>CAGCTGTT | 82 | 7847 | 7862 | ekkkkkkkkkk<br>keee | 614 |
| 601384 | 2612 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCG<br>CAGCTGTT | 79 | 7847 | 7862 | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 614 |
| 601346 | 2613 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTC<br>GCAGCTGT | 73 | n/a  | n/a  | ekkkkkkkkkk<br>keee | 615 |
| 601385 | 2613 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTC<br>GCAGCTGT | 84 | n/a  | n/a  | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 615 |
| 601347 | 2614 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTGTT<br>CGCAGCTG | 70 | n/a  | n/a  | ekkkkkkkkkk<br>keee | 616 |
| 601386 | 2614 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTGTT<br>CGCAGCTG | 71 | n/a  | n/a  | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 616 |
| 601348 | 2615 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTG<br>TCGCAGCT | 71 | n/a  | n/a  | ekkkkkkkkkk<br>keee | 617 |
| 601387 | 2615 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTG<br>TCGCAGCT | 76 | n/a  | n/a  | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 617 |
| 601349 | 2616 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTT<br>GTCGCAGC | 71 | n/a  | n/a  | ekkkkkkkkkk<br>keee | 618 |
| 601388 | 2616 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTT<br>GTCGCAGC | 67 | n/a  | n/a  | kkkkkkkkkkk<br>eeee | 618 |

【 1 3 6 1 】

【表 1 3 7 - 1】

表 1 4 5 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番号1<br>開 始<br>部 位 | 配 列<br>番号1<br>終 止<br>部 位 | 標的領域    | 配列                  | %<br>阻害 | 配 列<br>番号2<br>開 始<br>部 位 | 配 列<br>番号2<br>終 止<br>部 位 | モ チ<br>ー フ | 配<br>列<br>番<br>号 |
|------------|--------------------------|--------------------------|---------|---------------------|---------|--------------------------|--------------------------|------------|------------------|
| 599357     | 2582                     | 2600                     | エクソン 18 | CCACGCCCCTGTCCAGCAG | 26      | 7817                     | 7835                     | 5-9-5      | 708              |
| 599358     | 2583                     | 2601                     | エクソン 18 | CCCACGCCCCTGTCCAGCA | 22      | 7818                     | 7836                     | 5-9-5      | 709              |
| 599359     | 2584                     | 2602                     | エクソン 18 | TCCCACGCCCCTGTCCAGC | 13      | 7819                     | 7837                     | 5-9-5      | 710              |
| 599360     | 2585                     | 2603                     | エクソン 18 | ATCCCACGCCCCTGTCCAG | 7       | 7820                     | 7838                     | 5-9-5      | 711              |
| 599361     | 2586                     | 2604                     | エクソン 18 | AATCCCACGCCCCTGTCCA | 11      | 7821                     | 7839                     | 5-9-5      | 712              |
| 599362     | 2587                     | 2605                     | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCCTGTCC | 14      | 7822                     | 7840                     | 5-9-5      | 713              |
| 599363     | 2588                     | 2606                     | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCCTGTC | 17      | 7823                     | 7841                     | 5-9-5      | 714              |
| 599364     | 2589                     | 2607                     | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCCCTGT | 20      | 7824                     | 7842                     | 5-9-5      | 715              |
| 599365     | 2590                     | 2608                     | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCCCTG | 22      | 7825                     | 7843                     | 5-9-5      | 716              |
| 599366     | 2591                     | 2609                     | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGCCCCT | 13      | 7826                     | 7844                     | 5-9-5      | 717              |
| 599367     | 2592                     | 2610                     | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGCCCC | 11      | 7827                     | 7845                     | 5-9-5      | 718              |

【 1 3 6 2 】

10

20

30

40

50



【表 1 3 7 - 2】

|        |      |      |         |                      |    |      |      |       |     |
|--------|------|------|---------|----------------------|----|------|------|-------|-----|
| 599368 | 2593 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACGCC   | 10 | 7828 | 7846 | 5-9-5 | 719 |
| 599369 | 2594 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCACGCC  | 19 | 7829 | 7847 | 5-9-5 | 720 |
| 599370 | 2595 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAATCCCACGC  | 23 | 7830 | 7848 | 5-9-5 | 721 |
| 599371 | 2596 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAATTCAATCCCACG  | 4  | 7831 | 7849 | 5-9-5 | 722 |
| 599372 | 2597 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTAAATTCAATCCCAC  | 16 | 7832 | 7850 | 5-9-5 | 723 |
| 599373 | 2598 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTAAATTCAATCCCA  | 3  | 7833 | 7851 | 5-9-5 | 724 |
| 599374 | 2599 | 2617 | エクソン 18 | GCTGTTTTAATTCAATCCC  | 10 | 7834 | 7852 | 5-9-5 | 725 |
| 599375 | 2600 | 2618 | エクソン 18 | AGCTGTTTTAATTCAATCC  | 17 | 7835 | 7853 | 5-9-5 | 726 |
| 599376 | 2601 | 2619 | エクソン 18 | CAGCTGTTTTAATTCAATC  | 18 | 7836 | 7854 | 5-9-5 | 727 |
| 599377 | 2602 | 2620 | エクソン 18 | GCAGCTGTTTTAATTCAAT  | 22 | 7837 | 7855 | 5-9-5 | 728 |
| 599378 | 2603 | 2621 | エクソン 18 | CGCAGCTGTTTTAATTCAA  | 11 | 7838 | 7856 | 5-9-5 | 729 |
| 599511 | 2552 | 2571 | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCTCA | 7  | 7787 | 7806 | 6-8-6 | 410 |
| 599389 | 2553 | 2572 | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCCTC | 22 | 7788 | 7807 | 6-8-6 | 411 |
| 599390 | 2554 | 2573 | エクソン 18 | TTATAGAAAACCCAAATCCT | 21 | 7789 | 7808 | 6-8-6 | 412 |
| 599391 | 2555 | 2574 | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAATCC | 27 | 7790 | 7809 | 6-8-6 | 413 |
| 599392 | 2556 | 2575 | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAATC | 30 | 7791 | 7810 | 6-8-6 | 414 |
| 599393 | 2557 | 2576 | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAAAT | 30 | 7792 | 7811 | 6-8-6 | 415 |
| 599394 | 2558 | 2577 | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCAAA | 28 | 7793 | 7812 | 6-8-6 | 416 |
| 599395 | 2559 | 2578 | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCCAA | 23 | 7794 | 7813 | 6-8-6 | 417 |
| 599396 | 2560 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACCCA | 53 | 7795 | 7814 | 6-8-6 | 418 |
| 599397 | 2561 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAACCC | 33 | 7796 | 7815 | 6-8-6 | 419 |
| 599398 | 2562 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAACC | 58 | 7797 | 7816 | 6-8-6 | 420 |
| 599399 | 2563 | 2582 | エクソン 18 | GGAAACCCCTTATAGAAAAC | 23 | 7798 | 7817 | 6-8-6 | 421 |
| 599400 | 2564 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAAAA | 54 | 7799 | 7818 | 6-8-6 | 422 |
| 599401 | 2565 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGAAA | 30 | 7800 | 7819 | 6-8-6 | 423 |
| 599402 | 2566 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAGAA | 25 | 7801 | 7820 | 6-8-6 | 424 |
| 599403 | 2567 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATAGA | 17 | 7802 | 7821 | 6-8-6 | 425 |
| 599404 | 2568 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTATAG | 20 | 7803 | 7822 | 6-8-6 | 426 |
| 599405 | 2569 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTATA | 12 | 7804 | 7823 | 6-8-6 | 427 |
| 599406 | 2570 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTTAT | 51 | 7805 | 7824 | 6-8-6 | 428 |
| 599407 | 2571 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCTTA | 39 | 7806 | 7825 | 6-8-6 | 237 |
| 599408 | 2572 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCCTT | 53 | 7807 | 7826 | 6-8-6 | 429 |
| 599409 | 2573 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGGAAACCCCT | 65 | 7808 | 7827 | 6-8-6 | 430 |
| 599410 | 2574 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACCCC | 56 | 7809 | 7828 | 6-8-6 | 431 |
| 599411 | 2575 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAACCC | 60 | 7810 | 7829 | 6-8-6 | 432 |
| 599412 | 2576 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAACC | 61 | 7811 | 7830 | 6-8-6 | 433 |
| 599413 | 2577 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC | 40 | 7812 | 7831 | 6-8-6 | 238 |
| 599414 | 2578 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCTGTCCAGCAGGAAA  | 41 | 7813 | 7832 | 6-8-6 | 434 |

【 1 3 6 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 7 - 3】

|        |      |      |                  |                       |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------------|-----------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599415 | 2579 | 2598 | エクソン 18          | ACGCCCCCTGTCCAGCAGGAA | 37 | 7814 | 7833 | 6-8-6  | 435 |
| 599416 | 2580 | 2599 | エクソン 18          | CACGCCCCCTGTCCAGCAGGA | 54 | 7815 | 7834 | 6-8-6  | 436 |
| 599417 | 2581 | 2600 | エクソン 18          | CCACGCCCCCTGTCCAGCAGG | 36 | 7816 | 7835 | 6-8-6  | 437 |
| 599418 | 2582 | 2601 | エクソン 18          | CCCACGCCCCCTGTCCAGCAG | 53 | 7817 | 7836 | 6-8-6  | 438 |
| 599419 | 2583 | 2602 | エクソン 18          | TCCCACGCCCCCTGTCCAGCA | 54 | 7818 | 7837 | 6-8-6  | 439 |
| 599420 | 2584 | 2603 | エクソン 18          | ATCCCACGCCCCCTGTCCAGC | 50 | 7819 | 7838 | 6-8-6  | 440 |
| 599421 | 2585 | 2604 | エクソン 18          | AATCCCACGCCCCCTGTCCAG | 48 | 7820 | 7839 | 6-8-6  | 441 |
| 599422 | 2586 | 2605 | エクソン 18          | CAATCCCACGCCCCCTGTCCA | 55 | 7821 | 7840 | 6-8-6  | 442 |
| 599423 | 2587 | 2606 | エクソン 18          | TCAATCCCACGCCCCCTGTCC | 75 | 7822 | 7841 | 6-8-6  | 443 |
| 599424 | 2588 | 2607 | エクソン 18          | TTCAATCCCACGCCCCCTGTC | 69 | 7823 | 7842 | 6-8-6  | 444 |
| 599425 | 2589 | 2608 | エクソン 18          | ATTCAATCCCACGCCCCCTGT | 77 | 7824 | 7843 | 6-8-6  | 445 |
| 599426 | 2590 | 2609 | エクソン 18          | AATTCAATCCCACGCCCCCTG | 60 | 7825 | 7844 | 6-8-6  | 446 |
| 599427 | 2591 | 2610 | エクソン 18          | TAATTCAATCCCACGCCCCCT | 72 | 7826 | 7845 | 6-8-6  | 447 |
| 599428 | 2592 | 2611 | エクソン 18          | TTAATTCAATCCCACGCCCC  | 81 | 7827 | 7846 | 6-8-6  | 448 |
| 599429 | 2593 | 2612 | エクソン 18          | TTTAATTCAATCCCACGCCCC | 68 | 7828 | 7847 | 6-8-6  | 449 |
| 599430 | 2594 | 2613 | エクソン 18          | TTTTAATTCAATCCCACGCC  | 58 | 7829 | 7848 | 6-8-6  | 450 |
| 599431 | 2595 | 2614 | エクソン 18          | GTTTTAATTCAATCCCACGC  | 70 | 7830 | 7849 | 6-8-6  | 451 |
| 599432 | 2596 | 2615 | エクソン 18          | TGTTTTAATTCAATCCCACG  | 85 | 7831 | 7850 | 6-8-6  | 452 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTTAATTCA  | 85 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599379 | 2604 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTTTAATTCA   | 73 | 7839 | 7857 | 5-9-5  | 730 |
| 599380 | 2605 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTTAATTC   | 77 | 7840 | 7858 | 5-9-5  | 731 |
| 599381 | 2606 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTTAATT   | 69 | 7841 | 7859 | 5-9-5  | 732 |
| 599382 | 2607 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTTAAT   | 58 | 7842 | 7860 | 5-9-5  | 733 |
| 599383 | 2608 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTTAA   | 52 | 7843 | 7861 | 5-9-5  | 734 |
| 599384 | 2609 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTTAA   | 63 | 7844 | 7862 | 5-9-5  | 735 |
| 599385 | 2610 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTTT   | 53 | n/a  | n/a  | 5-9-5  | 736 |
| 599386 | 2611 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGTTT   | 63 | n/a  | n/a  | 5-9-5  | 737 |
| 599387 | 2612 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTGTT   | 64 | n/a  | n/a  | 5-9-5  | 438 |
| 599388 | 2613 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTTGTCGCAGCTGT   | 66 | n/a  | n/a  | 5-9-5  | 739 |

【 1 3 6 4 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 3 8 - 1】

表 1 4 6 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする MOE ギャップマーによる CFB mR NA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配列<br>番号<br>1<br>開始<br>部位 | 配列<br>番号<br>1<br>終止<br>部位 | 標的領域    | 配列                 | %<br>阻害 | 配列<br>番号2<br>開始<br>部位 | 配列番号2<br>終止部位 | モチーフ   | 配列<br>番号 |
|------------|---------------------------|---------------------------|---------|--------------------|---------|-----------------------|---------------|--------|----------|
| 599213     | 2553                      | 2570                      | エクソン 18 | TAGAAAACCCAAATCCTC | 0       | 7788                  | 7805          | 3-10-5 | 785      |
| 599214     | 2554                      | 2571                      | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAATCCT | 0       | 7789                  | 7806          | 3-10-5 | 786      |
| 599215     | 2555                      | 2572                      | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAATCC | 36      | 7790                  | 7807          | 3-10-5 | 787      |
| 599216     | 2556                      | 2573                      | エクソン 18 | TTATAGAAAACCCAAATC | 8       | 7791                  | 7808          | 3-10-5 | 788      |
| 599217     | 2557                      | 2574                      | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCAAAT | 5       | 7792                  | 7809          | 3-10-5 | 789      |
| 599218     | 2558                      | 2575                      | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCCAAA | 0       | 7793                  | 7810          | 3-10-5 | 790      |
| 599219     | 2559                      | 2576                      | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACCCAA | 8       | 7794                  | 7811          | 3-10-5 | 791      |
| 599220     | 2560                      | 2577                      | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAACCCA | 0       | 7795                  | 7812          | 3-10-5 | 740      |
| 599221     | 2561                      | 2578                      | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAACCC | 54      | 7796                  | 7813          | 3-10-5 | 741      |
| 599222     | 2562                      | 2579                      | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAAACC | 3       | 7797                  | 7814          | 3-10-5 | 742      |
| 599223     | 2563                      | 2580                      | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAAAAC | 0       | 7798                  | 7815          | 3-10-5 | 743      |
| 599224     | 2564                      | 2581                      | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGAAAA | 0       | 7799                  | 7816          | 3-10-5 | 744      |
| 599225     | 2566                      | 2583                      | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATAGAA | 60      | 7801                  | 7818          | 3-10-5 | 745      |
| 599226     | 2567                      | 2584                      | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTATAGA | 0       | 7802                  | 7819          | 3-10-5 | 746      |
| 599227     | 2568                      | 2585                      | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTATAG | 37      | 7803                  | 7820          | 3-10-5 | 747      |
| 599228     | 2569                      | 2586                      | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTTATA | 0       | 7804                  | 7821          | 3-10-5 | 748      |
| 599229     | 2570                      | 2587                      | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCTTAT | 39      | 7805                  | 7822          | 3-10-5 | 749      |
| 599230     | 2571                      | 2588                      | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCCTTA | 10      | 7806                  | 7823          | 3-10-5 | 750      |
| 599231     | 2572                      | 2589                      | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCCCTT | 16      | 7807                  | 7824          | 3-10-5 | 751      |
| 599232     | 2573                      | 2590                      | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACCCCT | 9       | 7808                  | 7825          | 3-10-5 | 752      |
| 599233     | 2574                      | 2591                      | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAACCCC | 44      | 7809                  | 7826          | 3-10-5 | 753      |
| 599234     | 2575                      | 2592                      | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGGAAACCC | 14      | 7810                  | 7827          | 3-10-5 | 754      |
| 599235     | 2576                      | 2593                      | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAAACC | 0       | 7811                  | 7828          | 3-10-5 | 755      |
| 599236     | 2577                      | 2594                      | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGAAAC | 43      | 7812                  | 7829          | 3-10-5 | 756      |
| 599237     | 2578                      | 2595                      | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGGAAA | 0       | 7813                  | 7830          | 3-10-5 | 757      |
| 599238     | 2580                      | 2597                      | エクソン 18 | CGCCCTGTCCAGCAGGA  | 9       | 7815                  | 7832          | 3-10-5 | 758      |
| 599239     | 2581                      | 2598                      | エクソン 18 | ACGCCCTGTCCAGCAGG  | 36      | 7816                  | 7833          | 3-10-5 | 759      |
| 599240     | 2582                      | 2599                      | エクソン 18 | CACGCCCTGTCCAGCAG  | 11      | 7817                  | 7834          | 3-10-5 | 760      |
| 599241     | 2583                      | 2600                      | エクソン 18 | CCACGCCCTGTCCAGCA  | 51      | 7818                  | 7835          | 3-10-5 | 761      |
| 599242     | 2584                      | 2601                      | エクソン 18 | CCCACGCCCTGTCCAGC  | 7       | 7819                  | 7836          | 3-10-5 | 762      |
| 599243     | 2585                      | 2602                      | エクソン 18 | TCCCACGCCCTGTCCAG  | 47      | 7820                  | 7837          | 3-10-5 | 763      |
| 599244     | 2586                      | 2603                      | エクソン 18 | ATCCCACGCCCTGTCCA  | 37      | 7821                  | 7838          | 3-10-5 | 764      |

## 【 1 3 6 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 8 - 2】

|        |      |      |                  |                     |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------------|---------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599245 | 2587 | 2604 | エクソン 18          | AATCCCACGCCCCTGTCC  | 35 | 7822 | 7839 | 3-10-5 | 765 |
| 599246 | 2588 | 2605 | エクソン 18          | CAATCCCACGCCCCTGTC  | 21 | 7823 | 7840 | 3-10-5 | 766 |
| 599247 | 2589 | 2606 | エクソン 18          | TCAATCCCACGCCCCTGT  | 61 | 7824 | 7841 | 3-10-5 | 767 |
| 599248 | 2590 | 2607 | エクソン 18          | TTCAATCCCACGCCCCTG  | 51 | 7825 | 7842 | 3-10-5 | 768 |
| 599249 | 2591 | 2608 | エクソン 18          | ATTCAATCCCACGCCCCT  | 58 | 7826 | 7843 | 3-10-5 | 769 |
| 599250 | 2592 | 2609 | エクソン 18          | AATTCAATCCCACGCCCC  | 49 | 7827 | 7844 | 3-10-5 | 770 |
| 599251 | 2593 | 2610 | エクソン 18          | TAATTCAATCCCACGCCC  | 46 | 7828 | 7845 | 3-10-5 | 771 |
| 599252 | 2594 | 2611 | エクソン 18          | TTAATTCAATCCCACGCC  | 32 | 7829 | 7846 | 3-10-5 | 772 |
| 599253 | 2595 | 2612 | エクソン 18          | TTTAATTCAATCCCACGC  | 23 | 7830 | 7847 | 3-10-5 | 773 |
| 599254 | 2596 | 2613 | エクソン 18          | TTTAAATTCAATCCCACG  | 0  | 7831 | 7848 | 3-10-5 | 774 |
| 599255 | 2597 | 2614 | エクソン 18          | GTTTAAATTCAATCCCAC  | 61 | 7832 | 7849 | 3-10-5 | 775 |
| 599256 | 2598 | 2615 | エクソン 18          | TGTTTAAATTCAATCCCA  | 64 | 7833 | 7850 | 3-10-5 | 776 |
| 599257 | 2599 | 2616 | エクソン 18          | CTGTTTAAATTCAATCCC  | 66 | 7834 | 7851 | 3-10-5 | 777 |
| 599258 | 2600 | 2617 | エクソン 18          | GCTGTTTAAATTCAATCC  | 59 | 7835 | 7852 | 3-10-5 | 778 |
| 599259 | 2601 | 2618 | エクソン 18          | AGCTGTTTAAATTCAATC  | 40 | 7836 | 7853 | 3-10-5 | 779 |
| 599260 | 2602 | 2619 | エクソン 18          | CAGCTGTTTAAATTCAAT  | 38 | 7837 | 7854 | 3-10-5 | 780 |
| 599261 | 2603 | 2620 | エクソン 18          | GCAGCTGTTTAAATTCAA  | 54 | 7838 | 7855 | 3-10-5 | 781 |
| 599509 | 2552 | 2570 | エクソン 18          | TAGAAAACCCAAATCCTCA | 54 | 7787 | 7805 | 6-7-6  | 681 |
| 599273 | 2553 | 2571 | エクソン 18          | ATAGAAAACCCAAATCCTC | 0  | 7788 | 7806 | 6-7-6  | 682 |
| 599274 | 2554 | 2572 | エクソン 18          | TATAGAAAACCCAAATCCT | 57 | 7789 | 7807 | 6-7-6  | 683 |
| 599275 | 2556 | 2574 | エクソン 18          | CTTATAGAAAACCCAAATC | 0  | 7791 | 7809 | 6-7-6  | 684 |
| 599276 | 2557 | 2575 | エクソン 18          | CCTTATAGAAAACCCAAAT | 44 | 7792 | 7810 | 6-7-6  | 685 |
| 599277 | 2558 | 2576 | エクソン 18          | CCCTTATAGAAAACCCAAA | 0  | 7793 | 7811 | 6-7-6  | 686 |
| 599278 | 2559 | 2577 | エクソン 18          | CCCCTTATAGAAAACCCAA | 0  | 7794 | 7812 | 6-7-6  | 687 |
| 599279 | 2560 | 2578 | エクソン 18          | ACCCCTTATAGAAAACCCA | 20 | 7795 | 7813 | 6-7-6  | 688 |
| 599280 | 2561 | 2579 | エクソン 18          | AACCCCTTATAGAAAACCC | 70 | 7796 | 7814 | 6-7-6  | 689 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTAAATCA | 85 | 7839 | 7858 | 5-10-5 | 317 |
| 599262 | 2604 | 2621 | エクソン 18          | CGCAGCTGTTTAAATCA   | 49 | 7839 | 7856 | 3-10-5 | 782 |
| 599263 | 2605 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTTAAATTC  | 49 | 7840 | 7857 | 3-10-5 | 783 |
| 599264 | 2606 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTAAATT  | 62 | 7841 | 7858 | 3-10-5 | 784 |
| 599265 | 2607 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTAAAT  | 63 | 7842 | 7859 | 3-10-5 | 792 |
| 599266 | 2608 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTAA   | 41 | 7843 | 7860 | 3-10-5 | 793 |
| 599267 | 2609 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTAA  | 52 | 7844 | 7861 | 3-10-5 | 794 |
| 599268 | 2610 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTT   | 51 | 7845 | 7862 | 3-10-5 | 795 |
| 599269 | 2611 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTT  | 58 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 796 |

【 1 3 6 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 8 - 3】

|        |      |      |                  |                    |    |      |      |        |     |
|--------|------|------|------------------|--------------------|----|------|------|--------|-----|
| 599270 | 2612 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGTT | 69 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 797 |
| 599271 | 2613 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTGT | 69 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 798 |
| 599272 | 2614 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTGTCGCAGCTG  | 72 | n/a  | n/a  | 3-10-5 | 799 |
| 599205 | 2607 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTAAT  | 54 | 7842 | 7859 | 5-8-5  | 792 |
| 599206 | 2608 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTAA  | 62 | 7843 | 7860 | 5-8-5  | 793 |
| 599207 | 2609 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTTTA  | 62 | 7844 | 7861 | 5-8-5  | 794 |
| 599208 | 2610 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGTTT  | 66 | 7845 | 7862 | 5-8-5  | 795 |
| 599209 | 2611 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTGTTT | 60 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 796 |
| 599210 | 2612 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTTGTCGCAGCTGTT | 62 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 797 |
| 599211 | 2613 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTTGTCGCAGCTGT | 65 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 798 |
| 599212 | 2614 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTGTCGCAGCTG  | 67 | n/a  | n/a  | 5-8-5  | 799 |

【 1 3 6 7 】

【表 1 3 9 - 1】

表 1 4 7 : 配列番号 1 または配列番号 2 を標的とする 5 - 1 0 - 5 MOE ギャップマーによる  
CFB mRNA の阻害

| ISIS<br>番号 | 配 列<br>番 号<br>1<br>開 始<br>部 位 | 配 列<br>番 号<br>1<br>終 止<br>部 位 | 標的領域    | 配列                       | %<br>阻害 | 配列<br>番号<br>2<br>開 始<br>部 位 | 配 列<br>番 号<br>2<br>終 止<br>部 位 | 配 列<br>番 号 |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|---------|--------------------------|---------|-----------------------------|-------------------------------|------------|
| 588570     | 150                           | 169                           | エクソン 1  | TGGTCACATTCCCTTC<br>CCCT | 72      | 1871                        | 1890                          | 396        |
| 588571     | 152                           | 171                           | エクソン 1  | CCTGGTCACATTCCCT<br>TCCC | 80      | 1873                        | 1892                          | 397        |
| 532614     | 154                           | 173                           | エクソン 1  | GACCTGGTCACATTC<br>CCTTC | 65      | 1875                        | 1894                          | 12         |
| 588572     | 156                           | 175                           | エクソン 1  | TAGACCTGGTCACAT<br>TCCCT | 74      | 1877                        | 1896                          | 398        |
| 588573     | 158                           | 177                           | エクソン 1  | CCTAGACCTGGTCAC<br>ATCC  | 72      | 1879                        | 1898                          | 399        |
| 588566     | 2189                          | 2208                          | エクソン 15 | CCTTCCGAGTCAGCT<br>TTTTC | 66      | 6977                        | 6996                          | 400        |

【 1 3 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 9 - 2】

|        |      |      |         |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|---------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 588567 | 2191 | 2210 | エクソン 15 | CTCCTTCCGAGTCAG<br>CTTTT | 66 | 6979 | 6998 | 401 |
| 532770 | 2193 | 2212 | エクソン 15 | ACCTCCTTCCGAGTC<br>AGCTT | 64 | 6981 | 7000 | 198 |
| 588568 | 2195 | 2214 | エクソン 15 | AGACCTCCTTCCGAG<br>TCAGC | 78 | 6983 | 7002 | 402 |
| 588569 | 2197 | 2216 | エクソン 15 | GTAGACCTCCTTCCG<br>AGTCA | 74 | 6985 | 7004 | 403 |
| 588574 | 2453 | 2472 | エクソン 18 | TTTGCCGCTTCTGGTT<br>TTTG | 71 | 7688 | 7707 | 404 |
| 588575 | 2455 | 2474 | エクソン 18 | CTTTTGCCGCTTCTGG<br>TTTT | 72 | 7690 | 7709 | 405 |
| 532800 | 2457 | 2476 | エクソン 18 | TGCTTTTGCCGCTTCT<br>GGTT | 71 | 7692 | 7711 | 228 |
| 588576 | 2459 | 2478 | エクソン 18 | CCTGCTTTTGCCGCTT<br>CTGG | 59 | 7694 | 7713 | 406 |
| 588577 | 2461 | 2480 | エクソン 18 | TACCTGCTTTTGCCGC<br>TTCT | 76 | 7696 | 7715 | 407 |
| 516350 | 2550 | 2569 | エクソン 18 | AGAAAACCCAAATCC<br>TCATC | 58 | 7785 | 7804 | 408 |
| 588509 | 2551 | 2570 | エクソン 18 | TAGAAAACCCAAATC<br>CTCAT | 6  | 7786 | 7805 | 409 |
| 588510 | 2552 | 2571 | エクソン 18 | ATAGAAAACCCAAAT<br>CCTCA | 10 | 7787 | 7806 | 410 |
| 588511 | 2553 | 2572 | エクソン 18 | TATAGAAAACCCAAA<br>TCCTC | 9  | 7788 | 7807 | 411 |
| 588512 | 2554 | 2573 | エクソン 18 | TTATAGAAAACCCAA<br>ATCCT | 80 | 7789 | 7808 | 412 |
| 588513 | 2555 | 2574 | エクソン 18 | CTTATAGAAAACCCA<br>AATCC | 70 | 7790 | 7809 | 413 |
| 588514 | 2556 | 2575 | エクソン 18 | CCTTATAGAAAACCC<br>AAATC | 71 | 7791 | 7810 | 414 |
| 588515 | 2557 | 2576 | エクソン 18 | CCCTTATAGAAAACC<br>CAAAT | 78 | 7792 | 7811 | 415 |
| 588516 | 2558 | 2577 | エクソン 18 | CCCCTTATAGAAAAC<br>CCAAA | 72 | 7793 | 7812 | 416 |
| 588517 | 2559 | 2578 | エクソン 18 | ACCCCTTATAGAAAA<br>CCCAA | 80 | 7794 | 7813 | 417 |

【 1 3 6 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 9 - 3】

|        |      |      |         |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|---------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 588518 | 2560 | 2579 | エクソン 18 | AACCCCTTATAGAAA<br>ACCCA | 80 | 7795 | 7814 | 418 |
| 588519 | 2561 | 2580 | エクソン 18 | AAACCCCTTATAGAA<br>AACCC | 62 | 7796 | 7815 | 419 |
| 588520 | 2562 | 2581 | エクソン 18 | GAAACCCCTTATAGA<br>AAACC | 59 | 7797 | 7816 | 420 |
| 588521 | 2563 | 2582 | エクソン 18 | GGAAACCCCTTATAG<br>AAAAC | 40 | 7798 | 7817 | 421 |
| 588522 | 2564 | 2583 | エクソン 18 | AGGAAACCCCTTATA<br>GAAAA | 66 | 7799 | 7818 | 422 |
| 588523 | 2565 | 2584 | エクソン 18 | CAGGAAACCCCTTAT<br>AGAAA | 63 | 7800 | 7819 | 423 |
| 588524 | 2566 | 2585 | エクソン 18 | GCAGGAAACCCCTTA<br>TAGAA | 70 | 7801 | 7820 | 424 |
| 588525 | 2567 | 2586 | エクソン 18 | AGCAGGAAACCCCTT<br>ATAGA | 67 | 7802 | 7821 | 425 |
| 588526 | 2568 | 2587 | エクソン 18 | CAGCAGGAAACCCCT<br>TATAG | 0  | 7803 | 7822 | 426 |
| 588527 | 2569 | 2588 | エクソン 18 | CCAGCAGGAAACCCC<br>TTATA | 11 | 7804 | 7823 | 427 |
| 588528 | 2570 | 2589 | エクソン 18 | TCCAGCAGGAAACCC<br>CTTAT | 15 | 7805 | 7824 | 428 |
| 532809 | 2571 | 2590 | エクソン 18 | GTCCAGCAGGAAACC<br>CCTTA | 75 | 7806 | 7825 | 237 |
| 588529 | 2572 | 2591 | エクソン 18 | TGTCCAGCAGGAAAC<br>CCCTT | 16 | 7807 | 7826 | 429 |
| 588530 | 2573 | 2592 | エクソン 18 | CTGTCCAGCAGGAAA<br>CCCCT | 16 | 7808 | 7827 | 430 |
| 588531 | 2574 | 2593 | エクソン 18 | CCTGTCCAGCAGGAA<br>ACCCC | 19 | 7809 | 7828 | 431 |
| 588532 | 2575 | 2594 | エクソン 18 | CCCTGTCCAGCAGGA<br>AACCC | 15 | 7810 | 7829 | 432 |
| 588533 | 2576 | 2595 | エクソン 18 | CCCCTGTCCAGCAGG<br>AAACC | 29 | 7811 | 7830 | 433 |
| 532810 | 2577 | 2596 | エクソン 18 | GCCCCTGTCCAGCAG<br>GAAAC | 74 | 7812 | 7831 | 238 |
| 588534 | 2578 | 2597 | エクソン 18 | CGCCCCTGTCCAGCA<br>GGAAA | 21 | 7813 | 7832 | 434 |

【 1 3 7 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 9 - 4】

|        |      |      |         |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|---------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 588535 | 2579 | 2598 | エクソン 18 | ACGCCCCTGTCCAGC<br>AGGAA | 16 | 7814 | 7833 | 435 |
| 588536 | 2580 | 2599 | エクソン 18 | CACGCCCCTGTCCAG<br>CAGGA | 0  | 7815 | 7834 | 436 |
| 588537 | 2581 | 2600 | エクソン 18 | CCACGCCCCTGTCCA<br>GCAGG | 8  | 7816 | 7835 | 437 |
| 588538 | 2582 | 2601 | エクソン 18 | CCCACGCCCCTGTCC<br>AGCAG | 10 | 7817 | 7836 | 438 |
| 588539 | 2583 | 2602 | エクソン 18 | TCCCACGCCCCTGTC<br>CAGCA | 23 | 7818 | 7837 | 439 |
| 588540 | 2584 | 2603 | エクソン 18 | ATCCCACGCCCCTGT<br>CCAGC | 16 | 7819 | 7838 | 440 |
| 588541 | 2585 | 2604 | エクソン 18 | AATCCCACGCCCCTG<br>TCCAG | 16 | 7820 | 7839 | 441 |
| 588542 | 2586 | 2605 | エクソン 18 | CAATCCCACGCCCCT<br>GTCCA | 12 | 7821 | 7840 | 442 |
| 588543 | 2587 | 2606 | エクソン 18 | TCAATCCCACGCCCC<br>TGTC  | 26 | 7822 | 7841 | 443 |
| 588544 | 2588 | 2607 | エクソン 18 | TTCAATCCCACGCCC<br>CTGTC | 26 | 7823 | 7842 | 444 |
| 588545 | 2589 | 2608 | エクソン 18 | ATTCAATCCCACGCCC<br>CTGT | 31 | 7824 | 7843 | 445 |
| 588546 | 2590 | 2609 | エクソン 18 | AATTCAATCCCACGC<br>CCCTG | 22 | 7825 | 7844 | 446 |
| 588547 | 2591 | 2610 | エクソン 18 | TAATTCAATCCCACGC<br>CCCT | 12 | 7826 | 7845 | 447 |
| 588548 | 2592 | 2611 | エクソン 18 | TTAATTCAATCCCACG<br>CCCC | 20 | 7827 | 7846 | 448 |
| 588549 | 2593 | 2612 | エクソン 18 | TTTAATTCAATCCCAC<br>GCCC | 26 | 7828 | 7847 | 449 |
| 588550 | 2594 | 2613 | エクソン 18 | TTTTAATTCAATCCCA<br>CGCC | 32 | 7829 | 7848 | 450 |
| 588551 | 2595 | 2614 | エクソン 18 | GTTTTAATTCAATCCC<br>ACGC | 48 | 7830 | 7849 | 451 |
| 588552 | 2596 | 2615 | エクソン 18 | TGTTTTAATTCAATCC<br>CACG | 57 | 7831 | 7850 | 452 |
| 588553 | 2597 | 2616 | エクソン 18 | CTGTTTTAATTCAATC<br>CCAC | 49 | 7832 | 7851 | 453 |

【 1 3 7 1 】

10

20

30

40

50



【表 1 3 9 - 5】

|        |      |      |                  |                          |    |      |      |     |
|--------|------|------|------------------|--------------------------|----|------|------|-----|
| 588554 | 2598 | 2617 | エクソン 18          | GCTGTTTTAATTCAAT<br>CCCA | 64 | 7833 | 7852 | 454 |
| 532811 | 2599 | 2618 | エクソン 18          | AGCTGTTTTAATTCAA<br>TCCC | 78 | 7834 | 7853 | 239 |
| 588555 | 2600 | 2619 | エクソン 18          | CAGCTGTTTTAATTCA<br>ATCC | 48 | 7835 | 7854 | 455 |
| 588556 | 2601 | 2620 | エクソン 18          | GCAGCTGTTTTAATTC<br>AATC | 55 | 7836 | 7855 | 456 |
| 588557 | 2602 | 2621 | エクソン 18          | CGCAGCTGTTTTAATT<br>CAAT | 51 | 7837 | 7856 | 457 |
| 588558 | 2603 | 2622 | エクソン 18          | TCGCAGCTGTTTTAAT<br>TCAA | 51 | 7838 | 7857 | 458 |
| 532917 | 2604 | 2623 | エクソン 18          | GTCGCAGCTGTTTTAA<br>TTCA | 82 | 7839 | 7858 | 317 |
| 588559 | 2605 | 2624 | エクソン 18          | TGTCGCAGCTGTTTTA<br>ATTC | 58 | 7840 | 7859 | 459 |
| 588560 | 2606 | 2625 | エクソン 18          | TTGTCGCAGCTGTTTT<br>AATT | 72 | 7841 | 7860 | 460 |
| 588561 | 2607 | 2626 | エクソン 18          | GTTGTCGCAGCTGTT<br>TTAAT | 75 | 7842 | 7861 | 461 |
| 532952 | 2608 | 2627 | エクソン 18          | TGTTGTCGCAGCTGT<br>TTTAA | 39 | 7843 | 7862 | 395 |
| 588562 | 2609 | 2628 | エクソン 18<br>／リピート | TTGTTGTCGCAGCTG<br>TTTTA | 53 | n/a  | n/a  | 462 |
| 588563 | 2610 | 2629 | エクソン 18<br>／リピート | TTTGTGTCGCAGCT<br>GTTTT  | 62 | n/a  | n/a  | 463 |
| 588564 | 2611 | 2630 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTGTGTCGCAGCT<br>GTTT  | 63 | n/a  | n/a  | 464 |
| 588565 | 2612 | 2631 | エクソン 18<br>／リピート | TTTTTGTGTCGCAGC<br>TGTT  | 64 | n/a  | n/a  | 465 |

## 【 1 3 7 2 】

実施例 1 2 2 : 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーによる H e p G 2 細胞におけるヒト C F B の用量依存的アンチセンス阻害

上記の試験から、C F B m R N A のインビトロ阻害を呈するギャップマーを選択し、H e p G 2 細胞において、さまざまな用量で試験した。細胞を 1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度でプレATINGし、エレクトロポレーションにより、以下の表に指定するとおり、0 . 3 1 3 μ M 、 0 . 6 2 5 μ M 、 1 . 2 5 μ M 、 2 . 5 0 μ M 、 5 . 0 0 μ M 、または 1 0 . 0 0 μ M 濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 1 6 時間の処理期間後に、R N A を細胞から単離し、C F B m R N A レベルを定量リアルタイム P C R によって測定した。ヒトプライマープロブセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

## 【 1 3 7 3 】

各オリゴヌクレオチドの50%阻害濃度（IC<sub>50</sub>）も掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチド処理細胞ではCFB mRNAレベルが用量依存的に低減した。

## 【 1 3 7 4 】

## 【表 1 4 0】

表 1 4 8

| ISIS<br>番号 | 0.313<br>μM | 0.625<br>μM | 1.25<br>μM | 2.50<br>μM | 5.00<br>μM | 10.00<br>μM | IC <sub>50</sub><br>(μM) |
|------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|--------------------------|
| 532614     | 7           | 13          | 43         | 72         | 65         | 71          | 2.2                      |
| 532635     | 12          | 0           | 3          | 28         | 0          | 0           | >10                      |
| 532692     | 26          | 0           | 12         | 52         | 55         | 74          | 3.7                      |
| 532770     | 21          | 18          | 32         | 73         | 64         | 88          | 1.8                      |
| 532775     | 8           | 0           | 26         | 35         | 47         | 59          | 6.2                      |
| 532800     | 0           | 5           | 30         | 65         | 50         | 75          | 3.1                      |
| 532809     | 12          | 30          | 28         | 40         | 46         | 66          | 4.6                      |
| 532810     | 28          | 44          | 32         | 69         | 84         | 95          | 1.2                      |
| 532811     | 66          | 83          | 90         | 94         | 97         | 99          | <0.3                     |
| 532917     | 64          | 85          | 88         | 96         | 97         | 99          | <0.3                     |
| 532952     | 50          | 53          | 68         | 80         | 91         | 94          | 0.4                      |

## 【 1 3 7 5 】

実施例 1 2 3 : H e p G 2 細胞におけるヒトCFBの用量依存的アンチセンス阻害

上記の試験から、CFB mRNAのインビトロ阻害を呈するギャップマーを選択し、H e p G 2 細胞において、さまざまな用量で試験した。類似する培養条件を使用するいくつかの実験でアンチセンスオリゴヌクレオチドを試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。細胞を1ウェルあたり20,000細胞の密度でプレーティングし、エレクトロポレーションにより、以下の表に指定するとおり、0.08 μM、0.25 μM、0.74 μM、2.22 μM、6.67 μM、及び20.00 μM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約16時間の処理期間後に、RNAを細胞から単離し、CFB mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3459を使ってmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定される全RNA含有量に従ってCFB mRNAレベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、CFBの阻害パーセントとして表す。

## 【 1 3 7 6 】

各オリゴヌクレオチドの50%阻害濃度（IC<sub>50</sub>）も掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチド処理細胞ではCFB mRNAレベルが用量依存的に低減した。

## 【 1 3 7 7 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 4 1】

表 1 4 9

| ISIS<br>番号 | 0.08<br>$\mu\text{M}$ | 0.25<br>$\mu\text{M}$ | 0.74<br>$\mu\text{M}$ | 2.22<br>$\mu\text{M}$ | 6.67<br>$\mu\text{M}$ | 20.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------------------|
| 532811     | 19                    | 53                    | 81                    | 87                    | 96                    | 97                     | 0.2                                   |
| 588834     | 7                     | 42                    | 64                    | 92                    | 98                    | 98                     | 0.5                                   |
| 588835     | 11                    | 30                    | 66                    | 89                    | 97                    | 97                     | 0.5                                   |
| 588836     | 14                    | 40                    | 61                    | 91                    | 97                    | 97                     | 0.5                                   |
| 588837     | 6                     | 39                    | 67                    | 89                    | 96                    | 97                     | 0.5                                   |
| 588838     | 0                     | 27                    | 41                    | 81                    | 87                    | 97                     | 1.0                                   |
| 588842     | 17                    | 51                    | 68                    | 86                    | 93                    | 95                     | 0.3                                   |
| 588843     | 21                    | 38                    | 72                    | 90                    | 95                    | 96                     | 0.4                                   |
| 588870     | 9                     | 31                    | 56                    | 88                    | 95                    | 97                     | 0.6                                   |
| 588871     | 14                    | 25                    | 47                    | 79                    | 93                    | 97                     | 0.7                                   |
| 588872     | 18                    | 28                    | 59                    | 84                    | 92                    | 97                     | 0.6                                   |

10

## 【 1 3 7 8 】

## 【表 1 4 2】

20

表 1 5 0

| ISIS<br>番号 | 0.08<br>$\mu\text{M}$ | 0.25<br>$\mu\text{M}$ | 0.74<br>$\mu\text{M}$ | 2.22<br>$\mu\text{M}$ | 6.67<br>$\mu\text{M}$ | 20.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------------------|
| 532811     | 31                    | 70                    | 89                    | 94                    | 97                    | 97                     | 0.1                                   |
| 588844     | 31                    | 60                    | 77                    | 91                    | 95                    | 96                     | 0.1                                   |
| 588846     | 32                    | 52                    | 78                    | 89                    | 95                    | 97                     | 0.2                                   |
| 588847     | 22                    | 52                    | 77                    | 91                    | 95                    | 97                     | 0.2                                   |
| 588848     | 20                    | 40                    | 73                    | 91                    | 96                    | 98                     | 0.3                                   |
| 588851     | 40                    | 52                    | 82                    | 94                    | 97                    | 97                     | 0.1                                   |
| 588854     | 17                    | 55                    | 59                    | 84                    | 94                    | 96                     | 0.4                                   |
| 588855     | 10                    | 32                    | 56                    | 82                    | 93                    | 96                     | 0.6                                   |
| 588856     | 13                    | 46                    | 75                    | 90                    | 96                    | 97                     | 0.3                                   |
| 588857     | 11                    | 52                    | 73                    | 94                    | 96                    | 97                     | 0.3                                   |
| 588858     | 19                    | 48                    | 75                    | 94                    | 97                    | 98                     | 0.3                                   |

30

## 【 1 3 7 9 】

40

50

## 【表 1 4 3】

表 1 5 1

| ISIS<br>番号 | 0.08<br>$\mu\text{M}$ | 0.25<br>$\mu\text{M}$ | 0.74<br>$\mu\text{M}$ | 2.22<br>$\mu\text{M}$ | 6.67<br>$\mu\text{M}$ | 20.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------------------|
| 532811     | 42                    | 66                    | 88                    | 96                    | 97                    | 98                     | 0.1                                   |
| 588859     | 18                    | 46                    | 66                    | 90                    | 96                    | 97                     | 0.4                                   |
| 588860     | 55                    | 80                    | 94                    | 97                    | 97                    | 97                     | <0.1                                  |
| 588861     | 24                    | 61                    | 86                    | 93                    | 96                    | 97                     | 0.2                                   |
| 588862     | 25                    | 64                    | 85                    | 94                    | 96                    | 98                     | 0.1                                   |
| 588863     | 50                    | 73                    | 89                    | 96                    | 96                    | 98                     | <0.1                                  |
| 588864     | 52                    | 80                    | 92                    | 96                    | 98                    | 98                     | <0.1                                  |
| 588865     | 46                    | 72                    | 91                    | 96                    | 96                    | 99                     | <0.1                                  |
| 588866     | 47                    | 76                    | 88                    | 96                    | 97                    | 98                     | <0.1                                  |
| 588867     | 43                    | 69                    | 83                    | 92                    | 96                    | 99                     | 0.1                                   |
| 588868     | 43                    | 56                    | 65                    | 84                    | 93                    | 97                     | 0.1                                   |

10

## 【 1 3 8 0】

20

## 【表 1 4 4】

表 1 5 2

| ISIS<br>番号 | 0.08<br>$\mu\text{M}$ | 0.25<br>$\mu\text{M}$ | 0.74<br>$\mu\text{M}$ | 2.22<br>$\mu\text{M}$ | 6.67<br>$\mu\text{M}$ | 20.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------------------|
| 532810     | 0                     | 14                    | 38                    | 72                    | 89                    | 96                     | 1.2                                   |
| 532811     | 18                    | 54                    | 79                    | 93                    | 96                    | 97                     | 0.3                                   |
| 532952     | 19                    | 34                    | 73                    | 87                    | 94                    | 96                     | 0.4                                   |
| 588534     | 17                    | 13                    | 44                    | 77                    | 93                    | 97                     | 0.9                                   |
| 588544     | 12                    | 43                    | 69                    | 86                    | 89                    | 93                     | 0.4                                   |
| 588545     | 17                    | 55                    | 67                    | 86                    | 91                    | 93                     | 0.3                                   |
| 588546     | 10                    | 32                    | 67                    | 85                    | 91                    | 93                     | 0.6                                   |
| 588552     | 27                    | 54                    | 76                    | 90                    | 94                    | 97                     | 0.2                                   |
| 588553     | 32                    | 68                    | 87                    | 93                    | 95                    | 97                     | 0.1                                   |
| 588560     | 16                    | 54                    | 76                    | 90                    | 94                    | 96                     | 0.3                                   |
| 588561     | 18                    | 45                    | 68                    | 85                    | 93                    | 96                     | 0.4                                   |

30

## 【 1 3 8 1】

40

50

## 【表 1 4 5】

表 1 5 3

| ISIS<br>番号 | 0.08<br>$\mu$ M | 0.25<br>$\mu$ M | 0.74<br>$\mu$ M | 2.22<br>$\mu$ M | 6.67<br>$\mu$ M | 20.00<br>$\mu$ M | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|--------------------------------|
| 532811     | 22              | 60              | 82              | 94              | 97              | 98               | 0.2                            |
| 588536     | 2               | 38              | 65              | 90              | 96              | 97               | 0.6                            |
| 588537     | 12              | 38              | 63              | 87              | 94              | 97               | 0.5                            |
| 588547     | 19              | 35              | 61              | 86              | 93              | 97               | 0.5                            |
| 588548     | 19              | 36              | 75              | 88              | 95              | 96               | 0.4                            |
| 588554     | 0               | 76              | 92              | 95              | 97              | 97               | <0.1                           |
| 588555     | 31              | 61              | 89              | 96              | 97              | 98               | 0.1                            |
| 588556     | 33              | 56              | 82              | 95              | 94              | 97               | 0.1                            |
| 588562     | 12              | 39              | 71              | 87              | 94              | 97               | 0.4                            |
| 588563     | 25              | 48              | 72              | 86              | 94              | 96               | 0.3                            |
| 588564     | 15              | 33              | 63              | 89              | 91              | 97               | 0.5                            |

10

## 【 1 3 8 2】

20

## 【表 1 4 6】

表 1 5 4

| ISIS<br>番号 | 0.08<br>$\mu$ M | 0.25<br>$\mu$ M | 0.74<br>$\mu$ M | 2.22<br>$\mu$ M | 6.67<br>$\mu$ M | 20.00<br>$\mu$ M | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|--------------------------------|
| 532811     | 39              | 68              | 86              | 96              | 98              | 98               | 0.1                            |
| 588538     | 0               | 40              | 82              | 94              | 97              | 98               | 0.3                            |
| 588539     | 34              | 65              | 88              | 95              | 98              | 98               | 0.1                            |
| 588540     | 30              | 51              | 81              | 91              | 97              | 98               | 0.2                            |
| 588549     | 31              | 57              | 82              | 95              | 96              | 98               | 0.1                            |
| 588550     | 34              | 65              | 88              | 96              | 98              | 98               | 0.1                            |
| 588551     | 47              | 66              | 87              | 96              | 98              | 99               | <0.1                           |
| 588557     | 40              | 84              | 95              | 98              | 98              | 98               | <0.1                           |
| 588558     | 45              | 73              | 93              | 97              | 98              | 99               | <0.1                           |
| 588559     | 51              | 69              | 83              | 96              | 98              | 99               | <0.1                           |
| 588565     | 19              | 56              | 81              | 92              | 96              | 98               | 0.2                            |

30

## 【 1 3 8 3】

実施例 1 2 4 : H e p G 2 細胞におけるヒト C F B の用量依存的アンチセンス阻害  
 上記の試験から、C F B m R N A のインビトロ阻害を呈するギャップマーを選択し、H e p G 2 細胞において、さまざまな用量で試験した。類似する培養条件を使用するいくつかの実験でアンチセンスオリゴヌクレオチドを試験した。各実験に関する結果を以下に示す別々の表に掲載する。細胞を 1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度でプレーティングし、エレクトロポレーションにより、以下の表に指定するとおり、0 . 0 6  $\mu$  M、0 . 2 5  $\mu$  M、1 . 0 0  $\mu$  M、及び 4 . 0 0  $\mu$  M 濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 1 6 時間の処理期間後に、R N A を細胞から単離し、C F B m R N A レベルを定量リアルタイム P C R によって測定した。ヒトプライマープロベセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、

40

50

無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

【 1 3 8 4 】

各オリゴヌクレオチドの50%阻害濃度( IC<sub>50</sub> )も掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチド処理細胞ではC F B m R N A レベルが用量依存的に低減した。

【 1 3 8 5 】

【表 1 4 7 】

表 1 5 5

| ISIS<br>番号 | 0.06<br>μ M | 0.25<br>μ M | 1.00<br>μ M | 4.00<br>μ M | IC <sub>50</sub><br>( μ M ) |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------------------------|
| 532917     | 31          | 58          | 87          | 92          | 0.2                         |
| 588860     | 18          | 50          | 79          | 93          | 0.3                         |
| 599001     | 16          | 28          | 69          | 90          | 0.5                         |
| 599024     | 14          | 32          | 74          | 90          | 0.4                         |
| 599025     | 0           | 31          | 56          | 92          | 0.7                         |
| 599032     | 28          | 44          | 62          | 88          | 0.3                         |
| 599033     | 28          | 46          | 80          | 92          | 0.2                         |
| 599077     | 8           | 20          | 59          | 80          | 0.8                         |
| 599080     | 9           | 33          | 48          | 76          | 0.9                         |
| 599086     | 7           | 22          | 53          | 83          | 0.8                         |
| 599087     | 21          | 31          | 74          | 87          | 0.4                         |
| 599088     | 13          | 37          | 69          | 82          | 0.5                         |
| 599089     | 3           | 36          | 55          | 79          | 0.7                         |
| 599093     | 25          | 59          | 79          | 88          | 0.2                         |
| 599094     | 19          | 29          | 75          | 89          | 0.4                         |
| 599095     | 29          | 43          | 67          | 87          | 0.3                         |
| 599096     | 23          | 51          | 70          | 88          | 0.3                         |
| 599149     | 20          | 53          | 82          | 92          | 0.3                         |
| 599188     | 0           | 21          | 62          | 85          | 0.8                         |

【 1 3 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 4 8】

表 1 5 6

| ISIS<br>番号 | 0.06<br>$\mu\text{M}$ | 0.25<br>$\mu\text{M}$ | 1.00<br>$\mu\text{M}$ | 4.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 532917     | 0                     | 42                    | 81                    | 91                    | 0.4                                   |
| 588860     | 17                    | 49                    | 74                    | 92                    | 0.3                                   |
| 599155     | 29                    | 52                    | 67                    | 87                    | 0.3                                   |
| 599198     | 3                     | 25                    | 64                    | 89                    | 0.6                                   |
| 599201     | 13                    | 26                    | 67                    | 91                    | 0.5                                   |
| 599202     | 0                     | 44                    | 72                    | 87                    | 0.5                                   |
| 599203     | 22                    | 41                    | 75                    | 88                    | 0.3                                   |
| 599314     | 12                    | 34                    | 71                    | 84                    | 0.5                                   |
| 599316     | 7                     | 37                    | 66                    | 88                    | 0.5                                   |
| 599317     | 8                     | 1                     | 54                    | 83                    | 1.0                                   |
| 599321     | 8                     | 33                    | 70                    | 85                    | 0.5                                   |
| 599322     | 24                    | 38                    | 66                    | 87                    | 0.4                                   |
| 599327     | 22                    | 32                    | 66                    | 89                    | 0.4                                   |
| 599328     | 0                     | 31                    | 59                    | 88                    | 0.7                                   |
| 599330     | 5                     | 43                    | 67                    | 84                    | 0.5                                   |
| 599374     | 23                    | 42                    | 80                    | 91                    | 0.3                                   |
| 599378     | 21                    | 57                    | 80                    | 93                    | 0.2                                   |
| 599380     | 23                    | 56                    | 82                    | 93                    | 0.2                                   |
| 599432     | 17                    | 37                    | 73                    | 93                    | 0.4                                   |

【 1 3 8 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 4 9】

表 1 5 7

| ISIS<br>番号 | 0.06<br>$\mu$ M | 0.25<br>$\mu$ M | 1.00<br>$\mu$ M | 4.00<br>$\mu$ M | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|
| 532917     | 23              | 65              | 76              | 93              | 0.2                            |
| 588860     | 17              | 60              | 76              | 90              | 0.3                            |
| 601282     | 48              | 68              | 81              | 88              | 0.1                            |
| 601269     | 18              | 59              | 80              | 94              | 0.2                            |
| 601276     | 34              | 64              | 81              | 91              | 0.1                            |
| 601275     | 14              | 39              | 78              | 90              | 0.4                            |
| 601344     | 52              | 84              | 92              | 94              | <0.06                          |
| 601383     | 53              | 81              | 86              | 94              | <0.06                          |
| 601382     | 41              | 76              | 88              | 94              | 0.1                            |
| 601385     | 52              | 74              | 89              | 91              | <0.06                          |
| 601332     | 41              | 69              | 86              | 94              | 0.1                            |
| 601345     | 36              | 75              | 86              | 95              | 0.1                            |
| 601371     | 34              | 72              | 91              | 93              | 0.1                            |
| 601384     | 50              | 78              | 91              | 95              | <0.06                          |
| 601380     | 28              | 57              | 83              | 92              | 0.2                            |
| 601387     | 48              | 61              | 82              | 88              | 0.1                            |
| 601341     | 28              | 65              | 83              | 91              | 0.2                            |
| 601346     | 31              | 69              | 82              | 93              | 0.1                            |
| 601335     | 24              | 56              | 85              | 92              | 0.2                            |

【 1 3 8 8 】

10

20

30

40

50



【表 1 5 0】

表 1 5 8

| ISIS<br>番号 | 0.06<br>$\mu$ M | 0.25<br>$\mu$ M | 1.00<br>$\mu$ M | 4.00<br>$\mu$ M | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|
| 532917     | 31              | 66              | 86              | 93              | 0.1                            |
| 588860     | 28              | 62              | 85              | 94              | 0.2                            |
| 599208     | 24              | 50              | 71              | 89              | 0.3                            |
| 599261     | 31              | 49              | 81              | 94              | 0.2                            |
| 599267     | 41              | 48              | 80              | 88              | 0.2                            |
| 599268     | 28              | 56              | 75              | 92              | 0.2                            |
| 599313     | 14              | 24              | 71              | 92              | 0.5                            |
| 599441     | 24              | 57              | 80              | 87              | 0.2                            |
| 599494     | 13              | 55              | 86              | 94              | 0.3                            |
| 599552     | 30              | 69              | 93              | 95              | 0.1                            |
| 599553     | 34              | 71              | 93              | 96              | 0.1                            |
| 599554     | 30              | 74              | 93              | 96              | 0.1                            |
| 599568     | 40              | 77              | 90              | 97              | 0.1                            |
| 599570     | 61              | 82              | 93              | 96              | <0.06                          |
| 599577     | 18              | 62              | 81              | 93              | 0.2                            |
| 599581     | 27              | 60              | 80              | 94              | 0.2                            |
| 599591     | 49              | 74              | 93              | 96              | <0.06                          |
| 599592     | 46              | 76              | 90              | 94              | 0.1                            |
| 599593     | 44              | 72              | 91              | 95              | 0.1                            |

【 1 3 8 9 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 5 1】

表 1 5 9

| ISIS<br>番号 | 0.06<br>$\mu\text{M}$ | 0.25<br>$\mu\text{M}$ | 1.00<br>$\mu\text{M}$ | 4.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 532917     | 25                    | 56                    | 84                    | 92                    | 0.2                                   |
| 588860     | 11                    | 51                    | 80                    | 92                    | 0.3                                   |
| 599547     | 23                    | 60                    | 82                    | 90                    | 0.2                                   |
| 599569     | 42                    | 73                    | 85                    | 88                    | 0.1                                   |
| 599578     | 29                    | 49                    | 82                    | 89                    | 0.2                                   |
| 599582     | 21                    | 56                    | 78                    | 91                    | 0.2                                   |
| 599590     | 24                    | 62                    | 80                    | 90                    | 0.2                                   |
| 601209     | 21                    | 49                    | 85                    | 88                    | 0.3                                   |
| 601210     | 34                    | 64                    | 86                    | 92                    | 0.1                                   |
| 601212     | 46                    | 68                    | 88                    | 90                    | 0.1                                   |
| 601213     | 54                    | 80                    | 90                    | 92                    | <0.06                                 |
| 601214     | 38                    | 77                    | 88                    | 95                    | 0.1                                   |
| 601215     | 42                    | 64                    | 85                    | 92                    | 0.1                                   |
| 601216     | 45                    | 57                    | 76                    | 89                    | 0.1                                   |
| 601264     | 29                    | 58                    | 86                    | 95                    | 0.2                                   |
| 601278     | 51                    | 82                    | 83                    | 93                    | <0.06                                 |
| 601279     | 44                    | 80                    | 92                    | 96                    | 0.1                                   |
| 601280     | 44                    | 73                    | 87                    | 94                    | 0.1                                   |
| 601281     | 51                    | 80                    | 91                    | 94                    | <0.06                                 |

## 【 1 3 9 0】

実施例 1 2 5 : H e p G 2 細胞におけるヒト C F B の用量依存的アンチセンス阻害

上記の試験から、C F B m R N A のインビトロ阻害を呈するギャップマーを選択し、H e p G 2 細胞において、さまざまな用量で試験した。加えて、もう一つのデオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチド I S I S 5 8 8 8 7 0 と同じ配列 ( C T C C T T C C G A G T C A G C 、配列番号 5 4 9 ) 及び標的領域 ( 標的開始部位は配列番号 1 の 2 1 9 5 と配列番号 2 の 6 9 8 3 ) を持つデオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドの一つ、I S I S 5 9 4 4 3 0 を設計した。I S I S 5 9 4 4 3 0 は 3 - 1 0 - 3 ( S ) - c E t ギャップマーである。

## 【 1 3 9 1】

細胞を 1 ウェルあたり 2 0 , 0 0 0 細胞の密度でプレーティングし、エレクトロポレーションにより、以下の表に指定するとおり、0 . 0 1  $\mu\text{M}$ 、0 . 0 4  $\mu\text{M}$ 、0 . 1 2  $\mu\text{M}$ 、0 . 3 7  $\mu\text{M}$ 、1 . 1 1  $\mu\text{M}$ 、3 . 3 3  $\mu\text{M}$ 、及び 1 0 . 0 0  $\mu\text{M}$  濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 1 6 時間の処理期間後に、R N A を細胞から単離し、C F B m R N A レベルを定量リアルタイム P C R によって測定した。ヒトブライマープローブセット R T S 3 4 5 9 を使って m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定される全 R N A 含有量に従って C F B m R N A レベルを調整した。結果を、無処理対照細胞との比較で、C F B の阻害パーセントとして表す。

## 【 1 3 9 2】

各オリゴヌクレオチドの 5 0 % 阻害濃度 ( I C 5 0 ) も掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチド処理細胞では C F B m R N A レベルが用量依存的に低減した。

## 【 1 3 9 3】

10

20

30

40

50

## 【表 1 5 2】

表 1 6 0

| ISIS<br>番号 | 0.01<br>$\mu\text{M}$ | 0.04<br>$\mu\text{M}$ | 0.12<br>$\mu\text{M}$ | 0.37<br>$\mu\text{M}$ | 1.11<br>$\mu\text{M}$ | 3.33<br>$\mu\text{M}$ | 10.00<br>$\mu\text{M}$ | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------------------|
| 588536     | 0                     | 0                     | 0                     | 5                     | 45                    | 73                    | 94                     | 1.4                                   |
| 588548     | 0                     | 0                     | 0                     | 19                    | 52                    | 78                    | 90                     | 1.2                                   |
| 588553     | 0                     | 0                     | 9                     | 42                    | 76                    | 85                    | 94                     | 0.6                                   |
| 588555     | 0                     | 52                    | 23                    | 58                    | 78                    | 83                    | 95                     | 0.3                                   |
| 588847     | 4                     | 1                     | 18                    | 45                    | 67                    | 84                    | 96                     | 0.5                                   |
| 588848     | 0                     | 3                     | 13                    | 38                    | 67                    | 83                    | 95                     | 0.6                                   |
| 594430     | 0                     | 0                     | 10                    | 34                    | 50                    | 55                    | 84                     | 1.4                                   |

10

## 【 1 3 9 4 】

実施例 1 2 6 : ヒト C F B を標的とする M O E ギャップマーの C D 1 マウスにおける耐容性 C D 1 (登録商標) マウス (Charles River, マサチューセッツ州) は多目的マウスモデルであり、安全性及び効力の試験にはよく利用されている。このマウスを上述の試験から選択した I S I S アンチセンスオリゴヌクレオチドで処置し、さまざまな血漿中化学マーカーのレベルの変化について評価した。

20

## 【 1 3 9 5 】

試験 1 ( 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーを使用 )

7 週齢雄 C D 1 マウスの群に、週に 1 回、6 週にわたって 1 0 0 m g / k g の I S I S オリゴヌクレオチドを皮下注射した。1つの雄 C D 1 マウス群には、週 1 回、6 週にわたって P B S を皮下注射した。1つのマウス群には、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の対照オリゴヌクレオチド I S I S 1 4 1 9 2 3 ( C C T T C C C T G A A G G T T C C T C C , 本明細書では配列番号 8 0 9 と呼ぶ、既知のマウス標的がない 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマー) を皮下注射した。最後の投薬の 4 8 時間後にマウスを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

## 【 1 3 9 6 】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (Hitachi Olympus AU 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル) を使って、トランスアミナーゼ及び B U N の血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【 1 3 9 7 】

30

40

50

## 【表 1 5 3】

表 1 6 1 : 4 0 日目における C D 1 マウス血漿中の血漿中化学マーカー

|             | ALT(IU/L) | AST(IU/L) | BUN(mg/dL) |
|-------------|-----------|-----------|------------|
| PBS         | 25        | 46        | 20         |
| ISIS 532614 | 513       | 407       | 22         |
| ISIS 532692 | 131       | 130       | 24         |
| ISIS 532770 | 36        | 53        | 25         |
| ISIS 532775 | 193       | 158       | 23         |
| ISIS 532800 | 127       | 110       | 25         |
| ISIS 532809 | 36        | 42        | 22         |
| ISIS 532810 | 229       | 286       | 26         |
| ISIS 532811 | 197       | 183       | 21         |
| ISIS 532917 | 207       | 204       | 27         |
| ISIS 532952 | 246       | 207       | 25         |
| ISIS 141923 | 39        | 67        | 23         |

10

## 【 1 3 9 8】

## 重量

20

4 0 日目にマウスの 殺に先だってマウスの体重を測定した。肝臓、腎臓、及び脾臓の臓器重量もマウスの 殺後に測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで重量を変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【 1 3 9 9】

## 【表 1 5 4】

表 1 6 2 : 4 0 日目における C D 1 マウスの重量 (g)

|             | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | 44 | 0.8 | 2.0 | 0.1 |
| ISIS 532614 | 43 | 0.7 | 4.3 | 0.2 |
| ISIS 532692 | 42 | 0.7 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 532770 | 42 | 0.6 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 532775 | 42 | 0.7 | 2.5 | 0.2 |
| ISIS 532800 | 43 | 0.6 | 2.8 | 0.3 |
| ISIS 532809 | 42 | 0.6 | 2.2 | 0.1 |
| ISIS 532810 | 43 | 0.6 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 532811 | 41 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 532917 | 42 | 0.7 | 3.0 | 0.2 |
| ISIS 532952 | 44 | 0.8 | 2.5 | 0.3 |
| ISIS 141923 | 41 | 0.6 | 2.0 | 0.1 |

30

40

## 【 1 4 0 0】

試験 2 ( 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーを使用 )

6 ~ 8 週齢の雄 C D 1 マウスの群に、週 1 回、6 週にわたって 1 0 0 m g / k g の I S I S オリゴヌクレオチドを皮下注射した。2つの雄 C D 1 マウス群には、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。1つのマウス群には、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の対照オリゴヌクレオチド I S I S 1 4 1 9 2 3 を皮下注射した。マウスを最

50

後の投薬の４８時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

【１４０１】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対するISISオリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル）を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、及びBUNの血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【１４０２】

【表１５５】

表１６３：４５日目のCD1マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブミン<br>(g/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|---------------|---------------|-----------------|----------------|
| PBS         | 39            | 53            | 2.9             | 29             |
| PBS         | 50            | 97            | 2.9             | 30             |
| ISIS 141923 | 163           | 174           | 4.1             | 25             |
| ISIS 532810 | 321           | 297           | 2.5             | 26             |
| ISIS 532952 | 182           | 199           | 2.7             | 27             |
| ISIS 588534 | 276           | 248           | 2.6             | 29             |
| ISIS 588536 | 48            | 60            | 2.9             | 31             |
| ISIS 588537 | 72            | 79            | 4.0             | 25             |
| ISIS 588538 | 63            | 67            | 4.5             | 29             |
| ISIS 588539 | 238           | 177           | 3.9             | 28             |
| ISIS 588545 | 496           | 256           | 4.4             | 24             |
| ISIS 588547 | 323           | 210           | 4.4             | 25             |
| ISIS 588548 | 61            | 63            | 4.2             | 27             |
| ISIS 588549 | 127           | 132           | 4.1             | 23             |
| ISIS 588551 | 302           | 282           | 4.2             | 22             |
| ISIS 588552 | 76            | 98            | 4.0             | 30             |
| ISIS 588558 | 1066          | 521           | 3.9             | 27             |
| ISIS 588559 | 76            | 94            | 4.1             | 26             |
| ISIS 588561 | 502           | 500           | 4.4             | 26             |
| ISIS 588563 | 50            | 99            | 4.4             | 28             |

【１４０３】

重量

４２日目にマウスの体重を測定した。４５日目にマウスを殺した後、肝臓、腎臓、及び脾臓の臓器重量も測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで重量を変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【１４０４】

10

20

30

40

50

## 【表 1 5 6】

表 1 6 4 : 4 0 日目における C D 1 マウスの重量 (g)

|             | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | 44 | 0.7 | 2.4 | 0.1 |
| PBS         | 43 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 141923 | 43 | 0.6 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 532810 | 41 | 0.6 | 1.9 | 0.1 |
| ISIS 532952 | 43 | 0.6 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 588534 | 44 | 0.7 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588536 | 43 | 0.7 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 588537 | 43 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 588538 | 44 | 0.7 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588539 | 44 | 0.6 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 588545 | 44 | 0.8 | 3.3 | 0.3 |
| ISIS 588547 | 42 | 0.6 | 3.3 | 0.3 |
| ISIS 588548 | 43 | 0.6 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588549 | 42 | 0.6 | 2.8 | 0.3 |
| ISIS 588551 | 39 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 588552 | 41 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 588558 | 44 | 0.7 | 3.3 | 0.3 |
| ISIS 588559 | 43 | 0.6 | 2.7 | 0.3 |
| ISIS 588561 | 40 | 0.7 | 2.4 | 0.3 |
| ISIS 588563 | 41 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |

## 【 1 4 0 5 】

試験 3 ( 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーを使用 )

6 ~ 8 週齢の雄 C D 1 マウスの群に、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の I S I S オリゴヌクレオチドを皮下注射した。2 つの雄 C D 1 マウス群には、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。マウスを最後の投薬の 4 8 時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

## 【 1 4 0 6 】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 ( H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル ) を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、及び B U N の血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【 1 4 0 7 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 5 7】

表 1 6 5 : 4 2 日目の C D 1 マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|---------------|---------------|---------------------|----------------|
| PBS         | 37            | 108           | 3.1                 | 30             |
| PBS         | 45            | 51            | 3.0                 | 27             |
| ISIS 588544 | 209           | 168           | 2.9                 | 26             |
| ISIS 588546 | 526           | 279           | 3.0                 | 22             |
| ISIS 588550 | 82            | 136           | 2.7                 | 25             |
| ISIS 588553 | 79            | 105           | 3.0                 | 24             |
| ISIS 588554 | 112           | 220           | 3.2                 | 19             |
| ISIS 588555 | 95            | 162           | 2.8                 | 25             |
| ISIS 588556 | 345           | 236           | 3.0                 | 26             |
| ISIS 588557 | 393           | 420           | 2.8                 | 24             |
| ISIS 588560 | 109           | 148           | 2.7                 | 27             |
| ISIS 588562 | 279           | 284           | 2.8                 | 22             |
| ISIS 588564 | 152           | 188           | 3.0                 | 23             |
| ISIS 588565 | 247           | 271           | 2.8                 | 28             |

## 【 1 4 0 8 】

## 重量

4 2 日目にマウスの体重を測定した。4 2 日目にマウスを 殺した後、肝臓、腎臓、及び  
 脾臓の臓器重量も測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチ  
 ドに予想される範囲外にまで重量を変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の  
 試験では除外した。

## 【 1 4 0 9 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 5 8】

表 1 6 6 : 4 0 日目における C D 1 マウスの重量 (g)

|             | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | 42 | 0.7 | 2.4 | 0.1 |
| PBS         | 41 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 588544 | 44 | 0.6 | 1.9 | 0.1 |
| ISIS 588546 | 43 | 0.6 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 588550 | 41 | 0.7 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588553 | 44 | 0.7 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 588554 | 40 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 588555 | 44 | 0.7 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588556 | 39 | 0.6 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 588557 | 41 | 0.8 | 3.3 | 0.3 |
| ISIS 588560 | 38 | 0.6 | 3.2 | 0.3 |
| ISIS 588562 | 41 | 0.6 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588564 | 40 | 0.6 | 2.8 | 0.3 |
| ISIS 588565 | 39 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |

## 【 1 4 1 0 】

試験 4 ( ( S ) c E t ギャップマーならびにデオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t オリゴヌクレオチドを使用 )

1 0 週齢の雄 C D 1 マウスの群に、5 0 m g / k g の、上述の試験で得た I S I S オリゴヌクレオチドを、週 1 回、6 週にわたって、皮下注射した。加えて、2 つのオリゴヌクレオチド I S I S 5 9 4 4 3 1 及び I S I S 5 9 4 4 3 2 を 3 - 1 0 - 3 ( S ) - c E t ギャップマーとして設計し、それらもこの試験で調べた。I S I S 5 9 4 4 3 1 ( A C C T C C T T C C G A G T C A 、配列番号 5 5 0 ) は、デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t ギャップマーである I S I S 5 8 8 8 7 1 と同じ領域 ( 標的開始部位は配列番号 1 の 2 1 9 7 及び配列番号 2 の 6 9 8 5 ) を標的とする。I S I S 5 9 4 4 3 2 ( T G G T C A C A T T C C C T T C 、配列番号 5 4 2 ) は、デオキシ、M O E 及び ( S ) - c E t ギャップマーである I S I S 5 8 8 8 7 2 と同じ領域 ( 標的開始部位は配列番号 1 の 1 5 4 及び配列番号 2 の 1 8 7 5 ) を標的とする。

## 【 1 4 1 1 】

2 つの雄 C D 1 マウス群には、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。マウスを最後の投薬の 4 8 時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

## 【 1 4 1 2 】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 ( H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル ) を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、クレアチニン、及び B U N の血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【 1 4 1 3 】

10

20

30

40

50



## 【表 1 5 9】

表 1 6 7 : 4 2 日目の CD 1 マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | 化学的特徴                  | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) | クレアチ<br>ニン<br>(mg/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|------------------------|---------------|---------------|---------------------|-----------------------|----------------|
| PBS         | -                      | 71            | 77            | 2.7                 | 0.2                   | 29             |
| PBS         | -                      | 30            | 36            | 2.7                 | 0.2                   | 26             |
| ISIS 588834 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 436           | 510           | 2.8                 | 0.2                   | 25             |
| ISIS 588835 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 70            | 98            | 3.0                 | 0.2                   | 27             |
| ISIS 588836 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 442           | 312           | 2.7                 | 0.2                   | 27             |
| ISIS 588846 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 50            | 75            | 2.5                 | 0.1                   | 28             |
| ISIS 588847 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 44            | 71            | 2.6                 | 0.1                   | 24             |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 47            | 70            | 2.4                 | 0.1                   | 27             |
| ISIS 588857 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 1287          | 655           | 2.7                 | 0.2                   | 26             |
| ISIS 588858 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 1169          | 676           | 2.5                 | 0.2                   | 26             |
| ISIS 588859 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 1036          | 1300          | 3.2                 | 0.2                   | 25             |
| ISIS 588861 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 749           | 466           | 3.1                 | 0.1                   | 24             |
| ISIS 588862 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 1564          | 1283          | 2.9                 | 0.2                   | 22             |
| ISIS 588863 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 477           | 362           | 2.8                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 588864 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 118           | 165           | 2.9                 | 0.2                   | 27             |
| ISIS 588866 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 843           | 784           | 3.2                 | 0.2                   | 25             |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt         | 89            | 99            | 2.4                 | 0.1                   | 28             |
| ISIS 594431 | 3-10-3 (S)-cEt         | 590           | 433           | 3.0                 | 0.2                   | 24             |
| ISIS 594432 | 3-10-3 (S)-cEt         | 2595          | 2865          | 2.4                 | 0.1                   | 25             |

## 【 1 4 1 4 】

## 重量

3 9 日目にマウスの体重を測定した。4 2 日目にマウスを 殺した後、肝臓、腎臓、及び  
 脾臓の臓器重量も測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチ  
 ドに予想される範囲外にまで重量を変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の  
 試験では除外した。

## 【 1 4 1 5 】

10

20

30

40

50

## 【表 160】

表 168 : CD1マウスの重量 (g)

|             | 化学的特徴               | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|---------------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | -                   | 37 | 0.6 | 2.1 | 0.1 |
| PBS         | -                   | 45 | 0.7 | 2.5 | 0.2 |
| ISIS 588834 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 40 | 0.6 | 3.2 | 0.2 |
| ISIS 588835 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 38 | 0.7 | 2.8 | 0.3 |
| ISIS 588836 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 41 | 0.7 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 588837 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 38 | 0.6 | 2.4 | 0.3 |
| ISIS 588846 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 39 | 0.6 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 588847 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 40 | 0.7 | 2.5 | 0.2 |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 43 | 0.7 | 2.6 | 0.3 |
| ISIS 588857 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 39 | 0.6 | 3.3 | 0.2 |
| ISIS 588858 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 37 | 0.6 | 3.4 | 0.2 |
| ISIS 588859 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 41 | 0.7 | 2.5 | 0.3 |
| ISIS 588861 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 39 | 0.6 | 2.6 | 0.4 |
| ISIS 588862 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 34 | 0.6 | 2.5 | 0.4 |
| ISIS 588863 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 40 | 0.6 | 2.7 | 0.3 |
| ISIS 588864 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 40 | 0.7 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 588866 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 45 | 0.7 | 3.0 | 0.2 |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt      | 39 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 594431 | 3-10-3 (S)-cEt      | 36 | 0.6 | 3.2 | 0.2 |
| ISIS 594432 | 3-10-3 (S)-cEt      | 31 | 0.4 | 1.9 | 0.1 |

## 【1416】

試験 5 (MOE ギャップマー、(S)-cEt ギャップマーならびにデオキシ、MOE 及び (S)-cEt オリゴヌクレオチドを使用)

8 ~ 9 週齢の雄 CD1 マウスの群に、週 1 回、6 週にわたって、50 mg / kg の ISIS オリゴヌクレオチドを皮下注射した。2 つの雄 CD1 マウス群には、週 1 回、6 週にわたって、PBS を皮下注射した。マウスを最後の投薬の 48 時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

## 【1417】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対するISISオリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル）を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、クレアチニン、及びBUNの血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【 1 4 1 8 】

【表 1 6 1】

表 1 6 9 : 4 2 日目のCD1マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | 化学的特徴                   | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) | クレアチ<br>ニン<br>(mg/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|-------------------------|---------------|---------------|---------------------|-----------------------|----------------|
| PBS         | -                       | 33            | 84            | 2.9                 | 0.2                   | 28             |
| PBS         | -                       | 32            | 65            | 2.5                 | 0.1                   | 27             |
| ISIS 532692 | 5-10-5 MOE              | 363           | 281           | 3.0                 | 0.2                   | 30             |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE              | 69            | 100           | 2.9                 | 0.1                   | 28             |
| ISIS 532775 | 5-10-5 MOE              | 371           | 333           | 2.6                 | 0.1                   | 29             |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE              | 104           | 106           | 2.7                 | 0.1                   | 31             |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE              | 69            | 127           | 2.8                 | 0.1                   | 26             |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE              | 66            | 110           | 2.8                 | 0.1                   | 26             |
| ISIS 588838 | 3-10-3 (S)-cEt          | 391           | 330           | 2.9                 | 0.1                   | 25             |
| ISIS 588842 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 224           | 264           | 2.6                 | 0.1                   | 26             |
| ISIS 588843 | 3-10-3 (S)-cEt          | 185           | 160           | 2.8                 | 0.1                   | 24             |
| ISIS 588844 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 304           | 204           | 2.7                 | 0.1                   | 25             |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 186           | 123           | 2.7                 | 0.1                   | 31             |
| ISIS 588854 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 1232          | 925           | 2.7                 | 0.1                   | 25             |
| ISIS 588855 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 425           | 321           | 2.7                 | 0.1                   | 28             |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 78            | 101           | 2.4                 | 0.1                   | 31             |
| ISIS 588865 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 126           | 145           | 2.5                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 588867 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 108           | 112           | 2.5                 | 0.1                   | 32             |
| ISIS 588868 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 61            | 124           | 2.5                 | 0.1                   | 28             |
| ISIS 588870 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 48            | 69            | 2.4                 | 0.1                   | 31             |
| ISIS 588871 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 723           | 881           | 2.5                 | 0.1                   | 24             |
| ISIS 588872 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 649           | 654           | 2.7                 | 0.1                   | 26             |

【 1 4 1 9 】

重量

40日目にマウスの体重を測定した。42日目にマウスを殺した後、肝臓、腎臓、及び脾臓の臓器重量も測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで重量を変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【1420】

【表162】

表170：CD1マウスの重量（g）

|             | 化学的特徴               | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|---------------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | -                   | 46 | 0.7 | 2.3 | 0.2 |
| PBS         | -                   | 44 | 0.7 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 532692 | 5-10-5 MOE          | 44 | 0.6 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 43 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 532775 | 5-10-5 MOE          | 43 | 0.6 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE          | 47 | 0.7 | 2.9 | 0.2 |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE          | 44 | 0.7 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE          | 44 | 0.7 | 2.5 | 0.2 |
| ISIS 588838 | 3-10-3 (S)-cEt      | 45 | 0.7 | 3.1 | 0.2 |
| ISIS 588842 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 41 | 0.6 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 588843 | 3-10-3 (S)-cEt      | 43 | 0.7 | 2.9 | 0.2 |
| ISIS 588844 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 43 | 0.7 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 46 | 0.6 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 588854 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 45 | 0.7 | 4.1 | 0.2 |
| ISIS 588855 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 44 | 0.7 | 2.9 | 0.3 |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 44 | 0.7 | 3.2 | 0.2 |
| ISIS 588865 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 45 | 0.7 | 2.6 | 0.3 |
| ISIS 588867 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 46 | 0.7 | 3.2 | 0.3 |
| ISIS 588868 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 42 | 0.7 | 2.9 | 0.3 |
| ISIS 588870 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 43 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 588871 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 41 | 0.7 | 3.1 | 0.2 |
| ISIS 588872 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 39 | 0.6 | 3.2 | 0.3 |

【1421】

試験6（デオキシ、MOE及び（S）-cEtオリゴヌクレオチドを使用）

8～9週齢の雄CD1マウスの群に、週1回、6週にわたって、50mg/kgのデオキシ、MOE、及び（S）-cEtオリゴヌクレオチドを皮下注射した。2つの雄CD1マ

ウス群には、週 1 回、6 週にわたって、PBS を皮下注射した。マウスを最後の投薬の 48 時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

【 1 4 2 2 】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対する ISIS オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル) を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、クレアチニン、ビリルビン、及び BUN の血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

10

【 1 4 2 3 】

【表 1 6 3 】

表 1 7 1 : 4 5 日目の CD 1 マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) | クレア<br>チニン<br>(mg/dL) | ビリルビン<br>(mg/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|---------------|---------------|---------------------|-----------------------|------------------|----------------|
| PBS         | 39            | 78            | 3.4                 | 0.2                   | 0.2              | 31             |
| PBS         | 37            | 59            | 2.9                 | 0.1                   | 0.2              | 27             |
| ISIS 599552 | 167           | 208           | 3.0                 | 0.1                   | 0.2              | 32             |
| ISIS 599553 | 43            | 86            | 2.9                 | 0.1                   | 0.2              | 28             |
| ISIS 599554 | 57            | 101           | 2.2                 | 0.2                   | 0.2              | 31             |
| ISIS 599569 | 469           | 530           | 3.5                 | 0.2                   | 0.3              | 27             |
| ISIS 599577 | 37            | 84            | 2.9                 | 0.1                   | 0.1              | 31             |
| ISIS 599578 | 45            | 104           | 2.8                 | 0.1                   | 0.2              | 30             |
| ISIS 599581 | 54            | 88            | 3.1                 | 0.1                   | 0.2              | 31             |
| ISIS 599590 | 1741          | 1466          | 3.1                 | 0.1                   | 0.3              | 25             |
| ISIS 599591 | 2230          | 1183          | 3.2                 | 0.1                   | 0.3              | 27             |
| ISIS 601209 | 68            | 104           | 2.9                 | 0.1                   | 0.2              | 30             |
| ISIS 601212 | 1795          | 968           | 3.2                 | 0.1                   | 0.3              | 22             |
| ISIS 601215 | 424           | 385           | 3.1                 | 0.1                   | 0.4              | 25             |
| ISIS 601216 | 90            | 125           | 2.9                 | 0.1                   | 0.2              | 29             |
| ISIS 601276 | 946           | 366           | 2.9                 | 0.1                   | 0.5              | 31             |
| ISIS 601282 | 831           | 540           | 3.3                 | 0.2                   | 0.2              | 32             |

20

30

【 1 4 2 4 】

重量

40 日目にマウスの体重を測定した。45 日目にマウスを殺した後、肝臓、腎臓、及び脾臓の臓器重量も測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで重量を変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

40

【 1 4 2 5 】

50

## 【表 1 6 4】

表 1 7 2 : CD 1 マウスの重量 (g)

|             | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | 40 | 0.7 | 2.1 | 0.2 |
| PBS         | 42 | 0.8 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 599552 | 38 | 0.6 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 599553 | 39 | 0.7 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 599554 | 39 | 0.7 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 599569 | 39 | 0.7 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 599577 | 41 | 0.7 | 2.5 | 0.2 |
| ISIS 599578 | 37 | 0.6 | 2.0 | 0.2 |
| ISIS 599581 | 40 | 0.6 | 2.5 | 0.2 |
| ISIS 599590 | 34 | 0.6 | 3.5 | 0.2 |
| ISIS 599591 | 38 | 0.8 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 601209 | 42 | 0.7 | 2.6 | 0.3 |
| ISIS 601212 | 38 | 0.6 | 2.9 | 0.2 |
| ISIS 601215 | 36 | 0.7 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 601216 | 42 | 0.6 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 601276 | 42 | 0.7 | 3.2 | 0.2 |
| ISIS 601282 | 38 | 0.7 | 3.2 | 0.2 |

10

20

## 【 1 4 2 6】

試験 7 (MOE ギャップマーならびにデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドを使用)

8 ~ 9 週齢の雄 CD 1 マウスの群に、週 1 回、6 週にわたって、100 mg / kg の ISIS オリゴヌクレオチドを皮下注射した。1つの雄 CD 1 マウス群に、週 1 回、6 週にわたって、PBS を皮下注射した。マウスを最後の投薬の 48 時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

30

## 【 1 4 2 7】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対する ISIS オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル) を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、クレアチニン、及び BUN の血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーまたは腎臓機能マーカーのいずれかのレベルを、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

40

## 【 1 4 2 8】

## 【表 1 6 5】

表 1 7 3 : 4 5 日目の CD 1 マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | 化学的特徴                   | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) | クレア<br>チニン<br>(mg/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|-------------------------|---------------|---------------|---------------------|-----------------------|----------------|
| PBS         | -                       | 120           | 102           | 2.7                 | 0.2                   | 26             |
| ISIS 588842 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 177           | 164           | 2.7                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 588843 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 98            | 194           | 2.7                 | 0.1                   | 24             |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 91            | 142           | 2.6                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及<br>び (S)-cEt | 78            | 110           | 2.7                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 599024 | 3-10-4 MOE              | 91            | 108           | 2.7                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 599087 | 5-7-5 MOE               | 198           | 183           | 2.6                 | 0.2                   | 28             |
| ISIS 599093 | 5-7-5 MOE               | 3285          | 2518          | 2.6                 | 0.2                   | 24             |
| ISIS 599149 | 4-8-5 MOE               | 30            | 64            | 2.9                 | 0.2                   | 25             |
| ISIS 599155 | 4-8-5 MOE               | 145           | 189           | 2.6                 | 0.2                   | 25             |
| ISIS 599202 | 5-8-5 MOE               | 150           | 128           | 2.8                 | 0.2                   | 23             |
| ISIS 599203 | 5-8-5 MOE               | 111           | 127           | 2.8                 | 0.2                   | 24             |
| ISIS 599208 | 5-8-5 MOE               | 146           | 178           | 2.9                 | 0.2                   | 22             |
| ISIS 599261 | 3-10-5 MOE              | 144           | 165           | 2.8                 | 0.2                   | 26             |
| ISIS 599267 | 3-10-5 MOE              | 96            | 132           | 2.6                 | 0.2                   | 27             |
| ISIS 599268 | 3-10-5 MOE              | 87            | 115           | 2.6                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 599322 | 6-7-6 MOE               | 115           | 138           | 2.7                 | 0.1                   | 22             |
| ISIS 599374 | 5-9-5 MOE               | 375           | 271           | 2.6                 | 0.1                   | 21             |
| ISIS 599378 | 5-9-5 MOE               | 77            | 99            | 2.7                 | 0.1                   | 23             |
| ISIS 599441 | 6-8-6 MOE               | 150           | 250           | 2.9                 | 0.1                   | 23             |

## 【 1 4 2 9 】

## 重量

4 4 日目にマウスの体重を測定した。4 9 日目にマウスを 殺した後、肝臓、腎臓、及び  
脾臓の臓器重量も測定した。結果を以下の表に掲載する。アンチセンスオリゴヌクレオチ  
ドに予想される範囲外にまで重量を変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の  
試験では除外した。

## 【 1 4 3 0 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 6 6】

表 1 7 4 : C D 1 マウスの重量 (g)

|             | 化学的特徴               | 体重 | 腎臓  | 肝臓  | 脾臓  |
|-------------|---------------------|----|-----|-----|-----|
| PBS         | -                   | 39 | 0.6 | 1.9 | 0.1 |
| ISIS 588842 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 38 | 0.5 | 2.1 | 0.1 |
| ISIS 588843 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 41 | 0.6 | 2.4 | 0.2 |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 42 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 42 | 0.7 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 599024 | 3-10-4 MOE          | 41 | 0.6 | 4.0 | 0.2 |
| ISIS 599087 | 5-7-5 MOE           | 44 | 0.8 | 2.6 | 0.3 |
| ISIS 599093 | 5-7-5 MOE           | 39 | 0.6 | 2.3 | 0.2 |
| ISIS 599149 | 4-8-5 MOE           | 42 | 0.7 | 2.8 | 0.2 |
| ISIS 599155 | 4-8-5 MOE           | 41 | 0.7 | 2.1 | 0.2 |
| ISIS 599202 | 5-8-5 MOE           | 43 | 0.6 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 599203 | 5-8-5 MOE           | 42 | 0.6 | 2.6 | 0.2 |
| ISIS 599208 | 5-8-5 MOE           | 40 | 0.6 | 2.1 | 0.2 |
| ISIS 599261 | 3-10-5 MOE          | 39 | 0.7 | 3.4 | 0.3 |
| ISIS 599267 | 3-10-5 MOE          | 42 | 0.8 | 2.5 | 0.3 |
| ISIS 599268 | 3-10-5 MOE          | 41 | 0.7 | 2.1 | 0.2 |
| ISIS 599322 | 6-7-6 MOE           | 43 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 599374 | 5-9-5 MOE           | 37 | 0.6 | 2.2 | 0.2 |
| ISIS 599378 | 5-9-5 MOE           | 43 | 0.7 | 2.7 | 0.2 |
| ISIS 599441 | 6-8-6 MOE           | 42 | 0.6 | 2.5 | 0.3 |

## 【 1 4 3 1】

試験 8 (MOE ギャップマー、デオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチド、ならびに (S) - c E t ギャップマーを使用)

8 ~ 9 週齢の雄 C D 1 マウスの群に、週 1 回、6 週にわたって、100 mg / kg の MOE ギャップマー、または 50 mg / kg のデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドもしくは (S) - c E t ギャップマーを皮下注射した。1つの雄 C D 1 マウス群には、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。マウスを最後の投薬の 48 時間後に安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

## 【 1 4 3 2】

血漿中化学マーカー

肝臓機能及び腎臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル) を使って、トランスアミナーゼ、アルブミン、クレアチニン、及び B U N の血漿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。

## 【 1 4 3 3】

10

20

30

40

50



## 【表 1 6 7】

表 1 7 5 : 4 3 日目の C D 1 マウス血漿における血漿中化学マーカー

|             | 化学的特徴                      | 用量<br>(mg/kg/<br>週) | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | ア<br>ル<br>ブ<br>ミ<br>ン<br>(g/dL) | クレア<br>チニン<br>(mg/dL) | BUN<br>(mg/dL) |
|-------------|----------------------------|---------------------|---------------|---------------|---------------------------------|-----------------------|----------------|
| PBS         | -                          | -                   | 37            | 57            | 2.5                             | 0.08                  | 26             |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 57            | 73            | 2.5                             | 0.07                  | 24             |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 74            | 126           | 2.8                             | 0.10                  | 26             |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 83            | 73            | 2.5                             | 0.07                  | 23             |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 106           | 102           | 2.7                             | 0.09                  | 27             |
| ISIS 588544 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 66            | 62            | 2.6                             | 0.10                  | 24             |
| ISIS 588548 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 48            | 67            | 2.6                             | 0.08                  | 23             |
| ISIS 588550 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 65            | 106           | 2.5                             | 0.10                  | 25             |
| ISIS 588553 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 78            | 90            | 2.6                             | 0.09                  | 25             |
| ISIS 588555 | 5-10-5 MOE                 | 100                 | 94            | 89            | 2.5                             | 0.08                  | 23             |
| ISIS 588848 | デオキシ、<br>MOE 及び<br>(S)-cEt | 50                  | 38            | 54            | 2.3                             | 0.07                  | 25             |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt             | 50                  | 63            | 72            | 2.5                             | 0.10                  | 27             |

## 【 1 4 3 4 】

## 重量

3 6 日目にマウスの体重を測定した。4 3 日目にマウスを 殺した後、肝臓、腎臓、及び  
脾臓の臓器重量も測定した。臓器重量に関する結果を体重に対する比として表し、P B S  
対照比に対して標準化した。

## 【 1 4 3 5 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 6 8】

表 1 7 6 : CD 1 マウスの臓器重量／体重 (BW)

|             | 化学的特徴                  | 用量<br>(mg/kg/週) | 腎臓/BW | 肝臓/BW | 脾臓/BW |
|-------------|------------------------|-----------------|-------|-------|-------|
| PBS         | -                      | -               | 1.0   | 1.0   | 1.0   |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.4   | 1.1   | 1.0   |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.5   | 1.1   | 0.9   |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.3   | 1.2   | 0.9   |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.3   | 1.2   | 1.0   |
| ISIS 588544 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.6   | 1.1   | 1.0   |
| ISIS 588548 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.7   | 1.2   | 1.0   |
| ISIS 588550 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.5   | 1.2   | 1.0   |
| ISIS 588553 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.5   | 1.0   | 0.8   |
| ISIS 588555 | 5-10-5 MOE             | 100             | 1.8   | 1.2   | 1.0   |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE<br>及び (S)-cEt | 50              | 1.3   | 1.0   | 0.9   |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt         | 50              | 1.4   | 1.1   | 0.9   |

## 【 1 4 3 6 】

## サイトカインアッセイ

すべてのマウス群から得た血液を、IL - 6、MDC、MIP 1、IP - 10、MCP 1、MIP - 1、及び RANTES などといったさまざまなサイトカインの測定のために、Antech Diagnostics に送った。結果を表 5 4 に掲載する。

## 【 1 4 3 7 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 6 9】

表 1 7 7 : CD 1 マウス血漿中のサイトカインレベル (p g / m L )

|                | 化学的特徴                      | IL-6 | MDC | MIP1 $\beta$ | IP-10 | MCP1 | MIP-1 $\alpha$ | RANTES |
|----------------|----------------------------|------|-----|--------------|-------|------|----------------|--------|
| PBS            | -                          | 70   | 16  | 23           | 20    | 17   | 6              | 2      |
| ISIS<br>532770 | 5-10-5 MOE                 | 101  | 18  | 146          | 116   | 101  | 24             | 6      |
| ISIS<br>532800 | 5-10-5 MOE                 | 78   | 17  | 83           | 53    | 105  | 1              | 3      |
| ISIS<br>532809 | 5-10-5 MOE                 | 66   | 19  | 60           | 32    | 55   | 20             | 4      |
| ISIS<br>588540 | 5-10-5 MOE                 | 51   | 18  | 126          | 70    | 75   | 4              | 3      |
| ISIS<br>588544 | 5-10-5 MOE                 | 157  | 14  | 94           | 34    | 102  | 1              | 3      |
| ISIS<br>588548 | 5-10-5 MOE                 | 164  | 12  | 90           | 66    | 84   | 10             | 4      |
| ISIS<br>588550 | 5-10-5 MOE                 | 58   | 21  | 222          | 124   | 157  | 3              | 5      |
| ISIS<br>588553 | 5-10-5 MOE                 | 62   | 14  | 183          | 60    | 103  | 9              | 4      |
| ISIS<br>588555 | 5-10-5 MOE                 | 70   | 19  | 172          | 171   | 178  | 16             | 9      |
| ISIS<br>588848 | デオキシ、<br>MOE 及び<br>(S)-cEt | 59   | 13  | 61           | 27    | 63   | 12             | 4      |
| ISIS<br>594430 | 3-10-3 (S)-cEt             | 48   | 14  | 56           | 38    | 85   | 10             | 3      |

## 【 1 4 3 8 】

## 血液学的アッセイ

すべてのマウス群から得た血液を、ヘマトクリット (HCT) の測定、ならびに WBC、RBC、及び血小板などのさまざまな血球及び総ヘモグロビン (Hb) 含有量の測定のために、Antech Diagnostics に送った。結果を表 5 5 に掲載する。

## 【 1 4 3 9 】

10

20

30

40

50

## 【表 1 7 0】

表 1 7 8 : C D 1 マウス血漿中の血液学的マーカー

|             | 化学的特徴                  | HCT<br>(%) | Hb<br>(g/dL) | WBC<br>(10 <sup>3</sup> /μL) | RBC<br>(10 <sup>6</sup> /μL) | 血小板<br>(10 <sup>3</sup> /μL) |
|-------------|------------------------|------------|--------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| PBS         | -                      | 46         | 15           | 7                            | 9                            | 960                          |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE             | 45         | 14           | 5                            | 9                            | 879                          |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE             | 45         | 14           | 5                            | 9                            | 690                          |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE             | 46         | 14           | 6                            | 9                            | 1005                         |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE             | 49         | 15           | 6                            | 10                           | 790                          |
| ISIS 588544 | 5-10-5 MOE             | 36         | 11           | 7                            | 7                            | 899                          |
| ISIS 588548 | 5-10-5 MOE             | 46         | 14           | 6                            | 9                            | 883                          |
| ISIS 588550 | 5-10-5 MOE             | 42         | 13           | 8                            | 8                            | 721                          |
| ISIS 588553 | 5-10-5 MOE             | 45         | 14           | 6                            | 9                            | 719                          |
| ISIS 588555 | 5-10-5 MOE             | 43         | 13           | 8                            | 9                            | 838                          |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE<br>及び (S)-cEt | 40         | 15           | 8                            | 10                           | 840                          |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt         | 45         | 14           | 8                            | 9                            | 993                          |

## 【 1 4 4 0】

実施例 1 2 7 : ヒト C F B を標的とするアンチオリゴヌクレオチドのスプレグ・ドリーラットにおける耐容性

スプレグ・ドリーラットは、安全性や効力の評価に使用される多目的モデルである。これらのラットを、上記実施例で述べた試験によって得た I S I S アンチセンスオリゴヌクレオチドで処置し、さまざまな血漿中化学マーカーのレベルの変化を評価した。

## 【 1 4 4 1】

試験 1 ( 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーを使用 )

7 ~ 8 週齢の雄スプレグ・ドリーラットを 1 2 時間明 / 暗周期で飼育し、P u r i n a 通常ラット用飼料ダイエツ 5 0 0 1 を不断給餌した。スプレグ・ドリーラット各 4 匹の群に、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の 5 - 1 0 - 5 M O E ギャップマーを皮下注射した。ラット 6 匹の対照群 1 つには、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。最後の投薬の 4 8 時間後に、ラットを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

## 【 1 4 4 2】

肝臓機能

肝臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 ( H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル ) を使って、トランスアミナーゼの血漿中レベルを測定した。A L T ( アラニントランスアミナーゼ ) と A S T ( アスパラギン酸トランスアミナーゼ ) の血漿中レベルを測定し、結果を I U / L の単位で表して、以下の表に掲載する。肝臓機能のいずれかのマーカーのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【 1 4 4 3】

10

20

30

40

50

## 【表 1 7 1】

表 1 7 9：スプレーグ・ドーリーラットにおける肝臓機能マーカー

|             | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) |
|-------------|---------------|---------------|
| PBS         | 66            | 134           |
| ISIS 588544 | 101           | 329           |
| ISIS 588550 | 69            | 157           |
| ISIS 588553 | 88            | 304           |
| ISIS 588554 | 202           | 243           |
| ISIS 588555 | 94            | 113           |
| ISIS 588556 | 102           | 117           |
| ISIS 588560 | 206           | 317           |
| ISIS 588564 | 292           | 594           |

10

## 【 1 4 4 4】

## 腎臓機能

腎臓機能に対する ISIS オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e，ニューヨーク州メルビル）を使って、血中尿素窒素（BUN）及びクレアチニンの血漿中レベルを測定した。結果を mg/dL の単位で表して、以下の表に掲載する。腎臓機能マーカーのいずれかのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

20

## 【 1 4 4 5】

## 【表 1 7 2】

表 1 8 0：スプレーグ・ドーリーラットにおける腎臓機能マーカー（mg/dL）

|             | BUN | クレアチニン |
|-------------|-----|--------|
| PBS         | 18  | 3.5    |
| ISIS 588544 | 21  | 3.1    |
| ISIS 588550 | 21  | 3.0    |
| ISIS 588553 | 22  | 2.8    |
| ISIS 588554 | 23  | 3.0    |
| ISIS 588555 | 22  | 3.5    |
| ISIS 588556 | 21  | 3.2    |
| ISIS 588560 | 26  | 2.4    |
| ISIS 588564 | 24  | 2.7    |

30

## 【 1 4 4 6】

## 重量

体重測定は 39 日目に行った。42 日目の試験終了時に肝臓、心臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。それらを以下の表に掲載する。臓器重量をアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【 1 4 4 7】

40

50

## 【表 1 7 3】

表 1 8 1 : 重量 (g)

|             | 体重  | 肝臓 | 脾臓  | 腎臓  |
|-------------|-----|----|-----|-----|
| PBS         | 422 | 16 | 1.2 | 3.9 |
| ISIS 588544 | 353 | 15 | 1.7 | 2.9 |
| ISIS 588550 | 321 | 14 | 2.1 | 3.2 |
| ISIS 588553 | 313 | 15 | 2.3 | 3.2 |
| ISIS 588554 | 265 | 11 | 1.6 | 2.7 |
| ISIS 588555 | 345 | 14 | 1.4 | 3.3 |
| ISIS 588556 | 328 | 13 | 1.7 | 3.1 |
| ISIS 588560 | 270 | 13 | 2.4 | 3.0 |
| ISIS 588564 | 253 | 12 | 2.9 | 3.0 |

10

## 【 1 4 4 8】

試験 2 (デオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドを使用)

9 ~ 10 週齢の雄スプレーグ・ドーリーラットを 12 時間明 / 暗周期で飼育し、P u r i n a 通常ラット飼料ダイエツト 5 0 0 1 を不断給餌した。スプレーグ・ドーリーラット各 4 匹の群に、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g のデオキシ、MOE、及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドを皮下注射した。ラット各 3 匹の対照群 2 つには、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。最後の投薬の 4 8 時間後に、ラットを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

20

## 【 1 4 4 9】

肝臓機能

肝機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル) を使って、42 日目に、トランスアミナーゼの血漿中レベルを測定した。A L T (アラニントランスアミナーゼ) と A S T (アスパラギン酸トランスアミナーゼ) 及びアルブミンの血漿中レベルを測定し、それらの結果を以下の表に掲載する。肝臓機能のいずれかのマーカーのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

30

## 【 1 4 5 0】

40

50

## 【表 174】

表 182：スプレーグ・ドローラットにおける肝臓機能マーカー

|             | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) |
|-------------|---------------|---------------|---------------------|
| PBS         | 55            | 150           | 3.4                 |
| PBS         | 64            | 91            | 3.5                 |
| ISIS 588554 | 52            | 92            | 3.2                 |
| ISIS 588835 | 971           | 844           | 4.1                 |
| ISIS 588842 | 317           | 359           | 3.8                 |
| ISIS 588843 | 327           | 753           | 2.9                 |
| ISIS 588846 | 70            | 111           | 3.2                 |
| ISIS 588847 | 65            | 100           | 3.0                 |
| ISIS 588864 | 91            | 109           | 3.0                 |
| ISIS 594430 | 85            | 106           | 3.7                 |

10

## 【1451】

## 腎臓機能

20

腎臓機能に対する ISIS オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e，ニューヨーク州メルビル）を使って、血中尿素窒素（BUN）及びクレアチニンの血漿中レベルを測定した。結果を mg/dL の単位で表して、以下の表に掲載する。腎臓機能マーカーのいずれかのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【1452】

## 【表 175】

表 183：スプレーグ・ドローラットにおける腎臓機能マーカー（mg/dL）

30

|             | BUN | クレアチニン |
|-------------|-----|--------|
| PBS         | 17  | 0.4    |
| PBS         | 21  | 0.4    |
| ISIS 588554 | 20  | 0.4    |
| ISIS 588835 | 23  | 0.5    |
| ISIS 588842 | 22  | 0.4    |
| ISIS 588843 | 51  | 0.4    |
| ISIS 588846 | 25  | 0.5    |
| ISIS 588847 | 23  | 0.5    |
| ISIS 588864 | 23  | 0.4    |
| ISIS 594430 | 22  | 0.5    |

40

## 【1453】

## 重量

体重測定は 39 日目に行った。42 日目の試験終了時に肝臓、心臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。それらを以下の表に掲載する。臓器重量をアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

50

【 1 4 5 4 】

【 表 1 7 6 】

表 1 8 4 : 重量 (g)

|             | 体重  | 肝臓 | 脾臓  | 腎臓  |
|-------------|-----|----|-----|-----|
| PBS         | 466 | 16 | 0.9 | 3.8 |
| PBS         | 485 | 16 | 0.9 | 3.6 |
| ISIS 588554 | 393 | 15 | 2.3 | 2.6 |
| ISIS 588835 | 387 | 16 | 1.0 | 3.3 |
| ISIS 588842 | 414 | 22 | 1.5 | 3.7 |
| ISIS 588843 | 427 | 20 | 2.5 | 4.2 |
| ISIS 588846 | 366 | 16 | 2.1 | 3.3 |
| ISIS 588847 | 402 | 15 | 1.6 | 3.1 |
| ISIS 588864 | 364 | 15 | 2.1 | 3.8 |
| ISIS 594430 | 420 | 16 | 1.2 | 3.6 |

10

【 1 4 5 5 】

試験 3 ( M O E ギャップマーを使用 )

20

9 ~ 10 週齢の雄スプレーグ・ドーリーラットを 12 時間明 / 暗周期で飼育し、P u r i n a 通常ラット飼料ダイエツト 5 0 0 1 を不断給餌した。スプレーグ・ドーリーラット各 4 匹の群に、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の M O E ギャップマーを皮下注射した。ラット 6 匹の対照群 1 つには、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。最後の投薬の 48 時間後に、ラットを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

【 1 4 5 6 】

肝臓機能

肝機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 ( H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル ) を使って、43 日目に、トランスアミナーゼの血漿中レベルを測定した。A L T ( アラニントランスアミナーゼ ) と A S T ( アスパラギン酸トランスアミナーゼ ) の血漿中レベルを測定し、結果を I U / L の単位で表して、以下の表に掲載する。肝臓機能のいずれかのマーカーのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

30

【 1 4 5 7 】

40

50



## 【表 177】

表 185：スプレーグ・ドーリーラットにおける肝臓機能マーカー

|             | 化学的特徴      | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブミン<br>(g/dL) |
|-------------|------------|---------------|---------------|-----------------|
| PBS         | -          | 52            | 110           | 3.7             |
| ISIS 588563 | 5-10-5 MOE | 175           | 291           | 2.9             |
| ISIS 599024 | 3-10-4 MOE | 139           | 173           | 1.4             |
| ISIS 599093 | 5-7-5 MOE  | 116           | 238           | 2.6             |
| ISIS 599149 | 4-8-5 MOE  | 232           | 190           | 3.4             |
| ISIS 599155 | 4-8-5 MOE  | 108           | 215           | 2.5             |
| ISIS 599202 | 5-8-5 MOE  | 65            | 86            | 3.5             |
| ISIS 599203 | 5-8-5 MOE  | 71            | 97            | 3.1             |
| ISIS 599208 | 5-8-5 MOE  | 257           | 467           | 1.9             |
| ISIS 599261 | 3-10-5 MOE | 387           | 475           | 1.5             |
| ISIS 599267 | 3-10-5 MOE | 201           | 337           | 2.7             |

10

## 【1458】

## 腎臓機能

腎臓機能に対する ISIS オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e，ニューヨーク州メルビル）を使って、血中尿素窒素（BUN）及びクレアチニンの血漿中レベルを測定した。結果を mg/dL の単位で表して、以下の表に掲載する。腎臓機能マーカーのいずれかのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【1459】

## 【表 178】

表 186：スプレーグ・ドーリーラットにおける腎臓機能マーカー（mg/dL）

|             | 化学的特徴      | BUN | クレアチニン |
|-------------|------------|-----|--------|
| PBS         | -          | 16  | 0.3    |
| ISIS 588563 | 5-10-5 MOE | 26  | 0.4    |
| ISIS 599024 | 3-10-4 MOE | 135 | 1.2    |
| ISIS 599093 | 5-7-5 MOE  | 29  | 0.4    |
| ISIS 599149 | 4-8-5 MOE  | 23  | 0.4    |
| ISIS 599155 | 4-8-5 MOE  | 29  | 0.4    |
| ISIS 599202 | 5-8-5 MOE  | 19  | 0.4    |
| ISIS 599203 | 5-8-5 MOE  | 22  | 0.4    |
| ISIS 599208 | 5-8-5 MOE  | 26  | 0.3    |
| ISIS 599261 | 3-10-5 MOE | 228 | 1.6    |
| ISIS 599267 | 3-10-5 MOE | 24  | 0.4    |

30

40

## 【1460】

## 重量

体重測定は 39 日目に行った。42 日目の試験終了時に肝臓、心臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。それらを以下の表に掲載する。臓器重量をアンチセンスオリゴヌクレオチド

50

に予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【1461】

【表179】

表187：重量（g）

|             | 化学的特徴      | 体重  | 肝臓 | 脾臓  | 腎臓  |
|-------------|------------|-----|----|-----|-----|
| PBS         | -          | 471 | 16 | 1.0 | 4.1 |
| ISIS 588563 | 5-10-5 MOE | 311 | 16 | 3.4 | 4.1 |
| ISIS 599024 | 3-10-4 MOE | 297 | 11 | 1.0 | 3.5 |
| ISIS 599093 | 5-7-5 MOE  | 332 | 18 | 4.1 | 5.0 |
| ISIS 599149 | 4-8-5 MOE  | 388 | 16 | 2.3 | 3.7 |
| ISIS 599155 | 4-8-5 MOE  | 290 | 15 | 2.9 | 4.5 |
| ISIS 599202 | 5-8-5 MOE  | 359 | 13 | 1.3 | 3.2 |
| ISIS 599203 | 5-8-5 MOE  | 334 | 14 | 1.8 | 3.3 |
| ISIS 599208 | 5-8-5 MOE  | 353 | 29 | 4.7 | 4.6 |
| ISIS 599261 | 3-10-5 MOE | 277 | 10 | 0.9 | 3.2 |
| ISIS 599267 | 3-10-5 MOE | 344 | 21 | 3.9 | 4.7 |

【1462】

試験4（MOEギャップマーを使用）

9～10週齢の雄スプレーグ・ドーリーラットを12時間明/暗周期で飼育し、Purina通常ラット飼料ダイエツト5001を不断給餌した。スプレーグ・ドーリーラット各4匹の群に、週1回、6週にわたって、100mg/kgのMOEギャップマーを皮下注射した。ラット6匹の対照群1つには、週1回、6週にわたって、PBSを皮下注射した。最後の投薬の48時間後に、ラットを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

【1463】

肝臓機能

肝臓機能に対するISISオリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e，ニューヨーク州メルビル）を使って、42日目に、トランスアミナーゼの血漿中レベルを測定した。ALT（アラントランスアミナーゼ）とAST（アスパラギン酸トランスアミナーゼ）の血漿中レベルを測定し、結果をIU/Lの単位で表して、以下の表に掲載する。肝臓機能のいずれかのマーカーのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【1464】

## 【表 180】

表 188：スプレーグ・ドーリーラットにおける肝臓機能マーカー

|             | 化学的特徴      | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブミン<br>(g/dL) |
|-------------|------------|---------------|---------------|-----------------|
| PBS         | -          | 48            | 77            | 3.9             |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE | 72            | 111           | 3.4             |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE | 59            | 89            | 3.8             |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE | 146           | 259           | 3.8             |
| ISIS 599268 | 3-10-5 MOE | 175           | 206           | 2.7             |
| ISIS 599322 | 6-7-6 MOE  | 523           | 567           | 3.3             |
| ISIS 599374 | 5-9-5 MOE  | 114           | 176           | 3.0             |
| ISIS 599378 | 5-9-5 MOE  | 124           | 116           | 3.2             |
| ISIS 599380 | 5-9-5 MOE  | 148           | 210           | 3.4             |
| ISIS 599441 | 6-8-6 MOE  | 51            | 91            | 2.6             |

10

## 【1465】

## 腎臓機能

20

腎臓機能に対するISISオリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置（Hitachi Olympus AU400e，ニューヨーク州メルビル）を使って、血中尿素窒素（BUN）及びクレアチニンの血漿中レベルを測定した。結果をmg/dLの単位で表して、以下の表に掲載する。腎臓機能マーカーのいずれかのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【1466】

## 【表 181】

表 189：スプレーグ・ドーリーラットにおける腎臓機能マーカー（mg/dL）

|             | 化学的特徴      | BUN | クレアチニン |
|-------------|------------|-----|--------|
| PBS         | -          | 15  | 0.4    |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE | 26  | 0.5    |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE | 18  | 0.5    |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE | 22  | 0.5    |
| ISIS 599268 | 3-10-5 MOE | 28  | 0.5    |
| ISIS 599322 | 6-7-6 MOE  | 24  | 0.5    |
| ISIS 599374 | 5-9-5 MOE  | 29  | 0.5    |
| ISIS 599378 | 5-9-5 MOE  | 22  | 0.4    |
| ISIS 599380 | 5-9-5 MOE  | 26  | 0.5    |
| ISIS 599441 | 6-8-6 MOE  | 24  | 0.4    |

30

40

## 【1467】

## 重量

体重測定は39日目に行った。42日目の試験終了時に肝臓、心臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。それらを以下の表に掲載する。臓器重量をアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

## 【1468】

50

## 【表 182】

表 190：重量 (g)

|             | 化学的特徴      | 体重  | 肝臓 | 脾臓  | 腎臓  |
|-------------|------------|-----|----|-----|-----|
| PBS         | -          | 502 | 16 | 0.9 | 3.7 |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE | 376 | 16 | 2.0 | 3.4 |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE | 430 | 16 | 1.4 | 3.4 |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE | 391 | 16 | 1.8 | 3.5 |
| ISIS 599268 | 3-10-5 MOE | 332 | 16 | 3.6 | 3.6 |
| ISIS 599322 | 6-7-6 MOE  | 348 | 13 | 2.1 | 3.4 |
| ISIS 599374 | 5-9-5 MOE  | 302 | 12 | 2.0 | 3.3 |
| ISIS 599378 | 5-9-5 MOE  | 332 | 11 | 1.1 | 2.8 |
| ISIS 599380 | 5-9-5 MOE  | 350 | 11 | 1.5 | 3.3 |
| ISIS 599441 | 6-8-6 MOE  | 368 | 16 | 2.5 | 3.3 |

10

## 【1469】

試験 5 (MOE ギャップマーならびにデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドを使用)

9 ~ 10 週齢の雄スプレーグ・ドーリーラットを 12 時間明 / 暗周期で飼育し、P u r i n a 通常ラット飼料ダイエツト 5 0 0 1 を不断給餌した。スプレーグ・ドーリーラット各 4 匹の群に、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の MOE ギャップマーまたは 5 0 m g / k g のデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドを皮下注射した。ラット 4 匹の対照群 1 つには、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。最後の投薬の 48 時間後に、ラットを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

20

## 【1470】

肝臓機能

肝臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル) を使って、42 日目に、トランスアミナーゼの血漿中レベルを測定した。A L T (アラニントランスアミナーゼ) と A S T (アスパラギン酸トランスアミナーゼ) の血漿中レベルを測定し、結果を I U / L の単位で表して、以下の表に掲載する。肝臓機能のいずれかのマーカーのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

30

## 【1471】

40

50

## 【表 1 8 3】

表 1 9 1 : スプレグ・ドーリーラットにおける肝臓機能マーカー

|             | 化学的特徴               | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブ<br>ミン<br>(g/dL) |
|-------------|---------------------|---------------|---------------|---------------------|
| PBS         | -                   | 49            | 74            | 3.3                 |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 95            | 132           | 3.3                 |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 47            | 72            | 3.1                 |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 56            | 75            | 3.0                 |
| ISIS 588865 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 62            | 84            | 2.9                 |
| ISIS 588867 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 73            | 214           | 2.9                 |
| ISIS 588868 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 59            | 83            | 3.1                 |
| ISIS 588870 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 144           | 144           | 3.4                 |

10

## 【 1 4 7 2】

## 腎臓機能

腎臓機能に対する ISIS オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル) を使って、血中尿素窒素 (BUN) 及びクレアチニンの血漿中レベル及び尿中レベルを測定した。結果を mg/dL の単位で表して以下の表に掲載する。腎臓機能マーカーのいずれかのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた ISIS オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

20

## 【 1 4 7 3】

## 【表 1 8 4】

表 1 9 2 : スプレグ・ドーリーラットの血漿における腎臓機能マーカー (mg/dL)

|             | 化学的特徴               | BUN | クレアチニン |
|-------------|---------------------|-----|--------|
| PBS         | -                   | 18  | 0.3    |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 20  | 0.4    |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 20  | 0.4    |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 22  | 0.4    |
| ISIS 588865 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 24  | 0.5    |
| ISIS 588867 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 22  | 0.4    |
| ISIS 588868 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 19  | 0.4    |
| ISIS 588870 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 20  | 0.5    |

30

## 【 1 4 7 4】

40

## 【表 1 8 5】

表 1 9 3 : スプレーグ・ドーリーラットの尿における腎臓機能マーカー (mg/dL)

|             | 化学的特徴               | 総タンパク質 | クレアチニン |
|-------------|---------------------|--------|--------|
| PBS         | -                   | 80     | 92     |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 466    | 69     |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 273    | 64     |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 259    | 68     |
| ISIS 588865 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 277    | 67     |
| ISIS 588867 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 337    | 68     |
| ISIS 588868 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 326    | 75     |
| ISIS 588870 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 388    | 82     |

10

## 【1 4 7 5】

## 重量

体重測定は 3 9 日目に行った。4 2 日目の試験終了時に肝臓、心臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。それらを以下の表に掲載する。臓器重量をアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させた I S I S オリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

20

## 【1 4 7 6】

## 【表 1 8 6】

表 1 9 4 : 重量 (g)

|             | 化学的特徴               | 体重  | 肝臓 | 脾臓  | 腎臓  |
|-------------|---------------------|-----|----|-----|-----|
| PBS         | -                   | 489 | 16 | 0.9 | 3.5 |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 372 | 15 | 1.7 | 3.1 |
| ISIS 588851 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 285 | 14 | 1.4 | 3.2 |
| ISIS 588856 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 415 | 15 | 1.1 | 3.3 |
| ISIS 588865 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 362 | 14 | 2.0 | 3.3 |
| ISIS 588867 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 406 | 15 | 2.4 | 3.4 |
| ISIS 588868 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 399 | 15 | 1.5 | 3.4 |
| ISIS 588870 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 446 | 14 | 1.4 | 3.3 |

30

## 【1 4 7 7】

試験 6 (MOE ギャップマー、デオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチド、ならびに (S) - c E t ギャップマーを使用)

雄ラットを 1 2 時間明 / 暗周期で飼育し、P u r i n a 通常ラット飼料ダイエツト 5 0 0 1 を不断給餌した。ラット各 4 匹の群に、週 1 回、6 週にわたって、1 0 0 m g / k g の MOE ギャップマーまたは 5 0 m g / k g のデオキシ、MOE 及び (S) - c E t オリゴヌクレオチドもしくは (S) - c E t ギャップマーを皮下注射した。ラット 4 匹の対照群 1 つには、週 1 回、6 週にわたって、P B S を皮下注射した。最後の投薬の 4 8 時間後に、ラットを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

40

## 【1 4 7 8】

## 肝臓機能

肝臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置 (H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e , ニューヨーク州メルビル) を使って、4 2 日目に、トランスアミナーゼの血漿中レベルを測定した。A L T (アラニントランスアミナーゼ) と A S T (アスパラギン酸トランスアミナーゼ) の血漿中レベルを測定

50

し、結果をIU/Lの単位で表して、以下の表に掲載する。

【1479】

【表187】

表195：肝臓機能マーカー

|             | 化学的特徴                  | 用量<br>(mg/kg/週) | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | アルブミン(g/dL) |
|-------------|------------------------|-----------------|---------------|---------------|-------------|
| PBS         | -                      | -               | 54            | 73            | 4.3         |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE             | 100             | 57            | 114           | 4.4         |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE             | 100             | 176           | 180           | 4.3         |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE             | 100             | 71            | 132           | 4.1         |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE             | 100             | 89            | 202           | 4.4         |
| ISIS 588544 | 5-10-5 MOE             | 100             | 75            | 152           | 3.9         |
| ISIS 588548 | 5-10-5 MOE             | 100             | 50            | 71            | 4.1         |
| ISIS 588550 | 5-10-5 MOE             | 100             | 80            | 133           | 3.6         |
| ISIS 588553 | 5-10-5 MOE             | 100             | 59            | 112           | 3.9         |
| ISIS 588555 | 5-10-5 MOE             | 100             | 97            | 142           | 3.8         |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE 及び<br>(S)-cEt | 50              | 53            | 82            | 3.9         |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt         | 50              | 198           | 172           | 4.4         |

【1480】

#### 腎臓機能

腎臓機能に対するISISオリゴヌクレオチドの効果を評価するために、自動臨床化学分析装置(Hitachi Olympus AU400e, ニューヨーク州メルビル)を使って、総タンパク質及びクレアチニンの尿中レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。腎臓機能マーカーのいずれかのレベルをアンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲外にまで変化させたISISオリゴヌクレオチドを、その後の試験では除外した。

【1481】

10

20

30

40

50

## 【表 1 8 8】

表 1 9 6 : ラットの尿における総タンパク質／クレアチニン比

|             | 化学的特徴               | 用量(mg/kg/週) | P/C比 |
|-------------|---------------------|-------------|------|
| PBS         | -                   | -           | 1.1  |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 100         | 8.3  |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE          | 100         | 6.5  |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE          | 100         | 6.1  |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE          | 100         | 10.1 |
| ISIS 588544 | 5-10-5 MOE          | 100         | 7.9  |
| ISIS 588548 | 5-10-5 MOE          | 100         | 6.6  |
| ISIS 588550 | 5-10-5 MOE          | 100         | 7.6  |
| ISIS 588553 | 5-10-5 MOE          | 100         | 7.0  |
| ISIS 588555 | 5-10-5 MOE          | 100         | 6.2  |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 50          | 5.2  |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt      | 50          | 5.3  |

10

20

## 【 1 4 8 2】

## 重量

体重測定は 3 9 日目に行った。4 2 日目の試験終了時に肝臓、心臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。それらを以下の表に掲載する。臓器重量に関する結果を体重に対する比として表し、P B S 対照比に対して標準化した。

## 【 1 4 8 3】

## 【表 1 8 9】

表 1 9 7 : 臓器重量／体重 (BW) 比

|             | 化学的特徴               | 用量<br>(mg/kg/週) | 脾 臓<br>/BW | 肝臓/BW | 腎 臓<br>/BW |
|-------------|---------------------|-----------------|------------|-------|------------|
| PBS         | -                   | -               | 1.0        | 1.0   | 1.0        |
| ISIS 532770 | 5-10-5 MOE          | 100             | 2.0        | 1.2   | 1.0        |
| ISIS 532800 | 5-10-5 MOE          | 100             | 2.8        | 1.3   | 1.0        |
| ISIS 532809 | 5-10-5 MOE          | 100             | 2.2        | 1.1   | 1.0        |
| ISIS 588540 | 5-10-5 MOE          | 100             | 2.2        | 1.4   | 1.0        |
| ISIS 588544 | 5-10-5 MOE          | 100             | 2.5        | 1.3   | 1.1        |
| ISIS 588548 | 5-10-5 MOE          | 100             | 2.1        | 1.3   | 1.1        |
| ISIS 588550 | 5-10-5 MOE          | 100             | 3.9        | 1.4   | 1.1        |
| ISIS 588553 | 5-10-5 MOE          | 100             | 4.1        | 1.4   | 1.4        |
| ISIS 588555 | 5-10-5 MOE          | 100             | 1.8        | 1.3   | 1.0        |
| ISIS 588848 | デオキシ、MOE 及び (S)-cEt | 50              | 3.1        | 1.3   | 1.1        |
| ISIS 594430 | 3-10-3 (S)-cEt      | 50              | 1.7        | 1.0   | 1.1        |

30

40

## 【 1 4 8 4】

実施例 1 2 8 : h C F B マウス中の C F B m R N A に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの効力

50



選ばれた化合物を、ヒトCFBトランスジェニックマウス樹立系統#6における効力について試験した。ヒトCFB遺伝子は第6染色体の位置31913721-31919861に位置する。ヒトCFB遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを作製するために、CFB配列を含有するフォスミド(ABC14-50933200C23)を選択した。ClaI(31926612)及びAgeI(31926815)制限酵素を使って、CFB遺伝子を含有する前核注入用の22,127bpフラグメントを生成させた。PvuIを使った制限酵素解析によってDNAを確認した。前記22,127bpのDNAフラグメントをC57BL/6NTac胚に注入した。6つの陽性ファウンダーを育てた。肝臓ヒトCFB mRNAを発現するファウンダー#6を第3世代まで交雑した。第3世代マウスからの子孫を使って、ヒトCFB ASOをヒトCFB mRNAの低減について評価した。

10

【1485】

## 処置

マウス各3匹の群に、第1週は週に2回、50mg/kgのISISオリゴヌクレオチドを皮下注射し、次に、さらに3週にわたって、週に1回、50mg/kgのISISオリゴヌクレオチドを投与した。マウス4匹の対照群1つに、第1週は週に2回、その後さらに3週にわたって週に1回、PBSを皮下注射した。最後の投薬の48時間後にマウスを安楽死させ、さらなる分析のために臓器及び血漿を収集した。

【1486】

## RNA分析

投薬期間の終了時に、CFB mRNAレベルのリアルタイムPCR分析用に、肝臓と腎臓からRNAを抽出した。ヒトCFB mRNAレベルはヒトプライマープローブセットRTS3459を使って測定した。CFB mRNAレベルをRIBOGREEN(登録商標)及びハウスキーピング遺伝子シクロフィリンに対して標準化した。結果は対照と比較したCFB mRNA発現の阻害パーセントとして算出した。すべてのアンチセンスオリゴヌクレオチドが肝臓においてヒトCFB mRNAレベルの阻害を達成した。

20

【1487】

【表190】

表198: hCFBマウスにおけるCFB mRNAレベルの低減パーセント

30

| ISIS番号 | RIBOGREENに対して標準化 | シクロフィリンに対して標準化 |
|--------|------------------|----------------|
| 532770 | 86               | 87             |
| 532800 | 88               | 87             |
| 532809 | 69               | 69             |
| 588540 | 95               | 94             |
| 588544 | 91               | 91             |
| 588548 | 78               | 77             |
| 588550 | 89               | 88             |
| 588553 | 94               | 94             |
| 588555 | 94               | 94             |
| 588848 | 83               | 82             |
| 594430 | 78               | 76             |

40

【1488】

実施例129: マウスCFBのインビボアンチセンス阻害

マウスCFB mRNA (GENBANKアクセッション番号NM\_008198.2, 本明細書には配列番号5として組み込まれる)を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオ

50

チドをいくつか設計した。各オリゴヌクレオチドの標的開始部位と配列を以下の表に記載する。以下の表のキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは5'-10'-5' MOEギャップマーとして設計された。これらのギャップマーは20ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは10個の2'-デオキシヌクレオシドで構成され、両側（5'側及び3'側）にそれぞれ5ヌクレオシドを含むウイングが隣接している。5'ウイングセグメント中の各ヌクレオシド及び3'ウイングセグメント中の各ヌクレオシドは2'-MOE修飾を有する。ヌクレオシド間連結部は、各ギャップマーの全体を通して、ホスホロチオエート（P=S）連結部である。シトシン残基は、各ギャップマーの全体を通してすべて、5'-メチルシトシンである。

【1489】

10

【表191】

表199：マウスCFBを標的とするギャップマー

| ISIS番号 | 配列                   | 配列番号5上の<br>標的開始部位 | 配列<br>番号 |
|--------|----------------------|-------------------|----------|
| 516269 | GCATAAGAGGGTACCAGCTG | 2593              | 804      |
| 516272 | GTCCTTTAGCCAGGGCAGCA | 2642              | 805      |
| 516323 | TCCACCCATGTTGTGCAAGC | 1568              | 806      |
| 516330 | CCACACCATGCCACAGAGAC | 1826              | 807      |
| 516341 | TTCCGAGTCAGGCTCTTCCC | 2308              | 808      |

20

【1490】

処置

C57BL/6マウス各4匹の群に、3週にわたる週1回の投与で、50mg/kgのISIS516269、ISIS516272、ISIS516323、ISIS516330、またはISIS516341を注射した。対照マウス群には、3週にわたる週1回の投与で、リン酸緩衝食塩水（PBS）を注射した。

【1491】

CFB RNA分析

30

試験の最後に、プライマープロベセットRTS3430（フォワード配列GGGCAACACAGCAATTTGTGA、本明細書では配列番号816と呼ぶ；リバーズ配列TG GCTACCCACCTTCTTGT、本明細書では配列番号817と呼ぶ；プローブ配列CTGGATACTGTCCCAATCCCGGTATTCCX、本明細書では配列番号818と呼ぶ）を用いるCFBのリアルタイムPCR分析用に、肝臓組織からRNAを抽出した。RIBOGREEN（登録商標）を使ってmRNAレベルを標準化した。以下の表に示すとおり、一部のアンチセンスオリゴヌクレオチドはPBS対照と比較してマウスCFBの低減を達成した。結果を、対照と比較したCFBの阻害パーセントとして表す。

【1492】

40

【表192】

表200：C57BL/6マウスにおけるマウスCFB mRNAの阻害パーセント

| ISIS番号 | %  |
|--------|----|
| 516269 | 29 |
| 516272 | 72 |
| 516323 | 77 |
| 516330 | 62 |
| 516341 | 72 |

50

## 【 1 4 9 3 】

## タンパク質分析

ヤギ抗CFB抗体 (Sigma Aldrich) を用いるウェスタンブロットによって、腎臓、肝臓、血漿、及び眼におけるCFBタンパク質レベルを測定した。結果を、PBS対照と比較したCFBの阻害パーセントとして表す。「n/a」は、当該試料では測定が行われなかったことを示す。以下の表に示すとおり、ISISオリゴヌクレオチドによるCFBのアンチセンス阻害は、さまざまな組織においてCFBタンパク質の低減をもたらした。以下の表に示すとおり、ISISオリゴヌクレオチドの全身性投与は、眼におけるCFBレベルを低減するのに有効であった。

## 【 1 4 9 4 】

10

## 【表 1 9 3】

表 2 0 1 : C 5 7 B L / 6 マウスにおけるマウスCFBタンパク質の阻害パーセント

| ISIS番号 | 腎臓 | 肝臓 | 血漿  | 眼   |
|--------|----|----|-----|-----|
| 516269 | 20 | 58 | n/a | 70  |
| 516272 | 48 | 74 | n/a | 99  |
| 516323 | 73 | 85 | 90  | 93  |
| 516330 | 77 | 80 | n/a | n/a |
| 516341 | 80 | 88 | 68  | n/a |

20

## 【 1 4 9 5 】

## 実施例 1 3 0 : マウスCFBの用量依存的アンチセンス阻害

C 5 7 B L / 6 マウス各 4 匹の群に、6 週にわたる週 1 回の投与で、2 5 m g / k g、5 0 m g / k g、または 1 0 0 m g / k g の ISIS 5 1 6 2 7 2、及び ISIS 5 1 6 3 2 3 を注射した。別の 2 つのマウス群に、6 週にわたる週 1 回の投与で、1 0 0 m g / k g の ISIS 5 1 6 3 3 0 または ISIS 5 1 6 3 4 1 を注射した。2 つの対照マウス群には、6 週にわたる週 1 回の投与で、リン酸緩衝食塩水 (PBS) を注射した。

## 【 1 4 9 6 】

## CFB RNA 分析

30

プライマープローブセット RTS 3 4 3 0 を用いる CFB のリアルタイム PCR 分析のために、肝臓組織と腎臓組織から RNA を抽出した。RIBOGREEN (登録商標) を使って mRNA レベルを標準化した。以下の表に示すとおり、アンチセンスオリゴヌクレオチドは PBS 対照との比較でマウス CFB の用量依存的低減を達成した。結果を、対照と比較した CFB の阻害パーセントとして表す。

## 【 1 4 9 7 】

40

50

## 【表 194】

表 202 : C57BL/6 マウスにおけるマウス CFB mRNA の阻害パーセント

| ISIS番号 | 用量<br>(mg/kg/週) | 肝臓 | 腎臓 |
|--------|-----------------|----|----|
| 516272 | 25              | 39 | 32 |
|        | 50              | 73 | 36 |
|        | 100             | 87 | 42 |
| 516323 | 25              | 36 | 41 |
|        | 50              | 65 | 47 |
|        | 100             | 79 | 71 |
| 516330 | 100             | 85 | 45 |
| 516341 | 200             | 89 | 65 |

10

## 【1498】

## タンパク質分析

ヤギ抗 CFB 抗体 (Sigma Aldrich) を用いるウェスタンブロットにより、血漿中の CFB タンパク質レベルを測定した。以下の表に示すように、ISIS オリゴヌクレオチドによる CFB のアンチセンス阻害は、CFB タンパク質の低減をもたらした。結果を、PBS 対照と比較した CFB の阻害パーセントとして表す。「n/a」は、当該試料で測定が行われなかったことを示す。

20

## 【1499】

眼における CFB タンパク質レベルもウェスタンブロットで測定した。すべての処置群が、95% の CFB 阻害を示し、一部の試料測定値はアッセイの検出レベル未満であった。

## 【1500】

## 【表 195】

表 203 : C57BL/6 マウスにおけるマウス CFB タンパク質の阻害パーセント

| ISIS番号 | 用量(mg/kg/週) | 肝臓  |
|--------|-------------|-----|
| 516272 | 25          | 32  |
|        | 50          | 70  |
|        | 100         | 83  |
| 516323 | 25          | 43  |
|        | 50          | 80  |
|        | 100         | 90  |
| 516330 | 100         | n/a |
| 516341 | 200         | n/a |

30

## 【1501】

実施例 131 : NZB/W F1 マウスモデルにおける CFB のアンチセンス阻害の効果  
NZB/W F1 は狼瘡の最も古い古典的モデルであり、これらのマウスは、狼瘡患者の表現型に匹敵する重度の狼瘡様表現型を発症する (Theofilopoulos, A. N. and Dixon, F. J. Advances in Immunology, vol. 37, pp. 269 - 390, 1985)。これらの狼瘡様表現型には、リンパ節腫脹、脾腫、抗 dsDNA IgG (その大半は IgG2a 及び IgG3 である) を含む血清中抗核自己抗体 (ANA) の上昇、及び 5 ~ 6 月齢で明白になり 10 ~ 12 月齢で腎不全及び死亡につながる免疫複合体媒介性糸球体腎炎 (GN) が含まれる。

40

## 【1502】

50

## 試験 1

C F Bを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置が、前記マウスモデルにおける腎臓病理を改善することを実証するための試験を行った。17週齢の雌N Z B / W F 1マウスをJ a c k s o n L a b o r a t o r i e sから購入した。マウス各16匹の群に用量100  $\mu$  g / k g / 週のI S I S 5 1 6 2 7 2またはI S I S 5 1 6 3 2 3を20週にわたって与えた。マウス16匹のもう一つの群には、用量100  $\mu$  g / k g / 週の対照オリゴヌクレオチドI S I S 1 4 1 9 2 3を20週にわたって与えた。マウス10匹のもう一つの群にはP B Sを20週にわたって投与し、それを対照群として、他のすべての群をこの対照群と比較した。最後の注射を行った48時間後に、最終エンドポイントを収集した。

10

【1503】

## C F B R N A分析

プライマープローブセットR T S 3 4 3 0を用いるC F BのリアルタイムP C R分析用に、肝臓組織と腎臓組織からR N Aを抽出した。R I B O G R E E N (登録商標)を使ってm R N Aレベルを標準化した。以下の表に示すとおり、一部のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、P B S対照に対してマウスC F Bの低減を達成した。結果を、対照と比較したC F Bの阻害パーセントとして表す。

【1504】

【表196】

20

表204: N Z B / W F 1マウスにおけるマウスC F B m R N Aの阻害パーセント

| ISIS番号 | 肝臓 | 腎臓 |
|--------|----|----|
| 516272 | 55 | 25 |
| 516323 | 63 | 43 |
| 141923 | 0  | 0  |

【1505】

## タンパク尿

このマウスモデルでは60%の動物にタンパク尿が予想される。臨床分析装置を使って総タンパク質対クレアチニン比を算出することにより、重症タンパク尿の累積発生率を測定した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、C F Bを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置が、P B S対照マウス及び対照オリゴヌクレオチド処置マウスと比較して、マウスにおけるタンパク質尿の低減を達成したことを実証している。

30

【1506】

【表197】

表205: N Z B / W F 1マウスにおける重症タンパク尿の累積発生率 (パーセント)

|             | %  |
|-------------|----|
| PBS         | 40 |
| ISIS 516272 | 6  |
| ISIS 516323 | 0  |
| ISIS 141923 | 25 |

40

【1507】

## 生存率

マウスの数を処置開始時に記録し、20週目に再び記録することにより、マウスの生存率を監視した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、C F Bを標的とするアンチオリゴヌクレオチドによる処置が、マウスの生存率を、P B S対照マウス及び対照オリゴヌ

50

クレオチド処置マウスと比較して増加させたことを実証している。

【 1 5 0 8 】

【表 1 9 8】

表 2 0 6 : 生き残ったマウスの数及び生存率 (%)

|             | 1 週目 | 20週目 | 2 0 週目での生存率 (%) |
|-------------|------|------|-----------------|
| PBS         | 10   | 6    | 60              |
| ISIS 516272 | 16   | 15   | 94              |
| ISIS 516323 | 16   | 16   | 100             |
| ISIS 141923 | 16   | 12   | 75              |

10

【 1 5 0 9 】

糸球体沈着

腎臓の糸球体における C 3 沈着及び I g G 沈着の量を、抗 C 3 抗体を用いる免疫組織化学によって測定した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、C F B を標的とするアンチオリゴヌクレオチドによる処置が、P B S 対照マウス及び対照オリゴヌクレオチド処置マウスと比較して、腎臓糸球体における C 3 沈着の低減と I g G 沈着の低減をどちらも達成したことを実証している。

【 1 5 1 0 】

20

【表 1 9 9】

表 2 0 7 : N Z B / W F 1 マウスにおける糸球体沈着の阻害パーセント

| ISIS番号 | C3 | IgG |
|--------|----|-----|
| 516272 | 45 | 20  |
| 516323 | 48 | 2   |
| 141923 | 0  | 0   |

【 1 5 1 1 】

試験 2

30

1 6 週齢の雌 N Z B / W F 1 マウスを J a c k s o n L a b o r a t o r i e s から購入した。マウス 1 0 匹の群に、用量 1 0 0  $\mu$  g / k g / 週の I S I S 5 1 6 3 2 3 を 1 2 週にわたって与えた。マウス 1 0 匹のもう一つの群には、用量 1 0 0  $\mu$  g / k g / 週の対照オリゴヌクレオチド I S I S 1 4 1 9 2 3 を 1 2 週にわたって与えた。マウス 1 0 匹のもう一つの群には、P B S を 1 2 週にわたって投与し、それを対照群として、他のすべての群をこの対照群と比較した。最後の注射を行った 4 8 時間後に、最終エンドポイントを収集した。

【 1 5 1 2 】

C F B R N A 分析

プライマープローブセット R T S 3 4 3 0 を用いる C F B のリアルタイム P C R 分析用に、肝臓組織と腎臓組織から R N A を抽出した。以下の表に示すように、I S I S 5 1 6 3 2 3 による処置は P B S 対照に対してマウス C F B の低減を達成した。結果を、対照と比較した C F B の阻害パーセントとして表す。

40

【 1 5 1 3 】

50

## 【表 2 0 0】

表 2 0 8 : N Z B / W F 1 マウスにおけるマウス C F B mRNA の阻害パーセント

| ISIS番号 | 肝臓 | 腎臓 |
|--------|----|----|
| 516323 | 75 | 46 |
| 141923 | 0  | 6  |

## 【1 5 1 4】

## タンパク尿

尿中総タンパク質対クレアチニン比を測定すると共に、総マイクロアルブミンレベルを測定することにより、重症タンパク尿の累積発生率を評価した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、C F B を標的とするアンチオリゴヌクレオチドによる処置が、P B S 対照マウス及び対照オリゴヌクレオチド処置マウスと比較して、マウスにおけるタンパク尿を低減したことを実証している。

10

## 【1 5 1 5】

## 【表 2 0 1】

表 2 0 9 : 尿中マイクロアルブミンレベル (mg / d l) として測定した N Z B / W F 1 マウスにおけるタンパク尿

| ISIS番号 | 0週目 | 6週目  | 8週目 | 10週目 |
|--------|-----|------|-----|------|
| 516323 | 0   | 0    | 5.4 | 0.4  |
| 141923 | 0   | 8.28 | 8.6 | 5.6  |

20

## 【1 5 1 6】

## 【表 2 0 2】

表 2 1 0 : 総タンパク質対クレアチニン比として測定した N Z B / W F 1 マウスにおけるタンパク尿

| ISIS番号 | 0週目 | 6週目  | 8週目  | 10週目 |
|--------|-----|------|------|------|
| 516323 | 5.5 | 7.8  | 8.6  | 7.2  |
| 141923 | 6.9 | 10.0 | 13.5 | 7.2  |

30

## 【1 5 1 7】

## 生存率

マウスの数を処置開始時に記録し、12週目に再び記録することにより、マウスの生存率を監視した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、C F B を標的とするアンチオリゴヌクレオチドによる処置が、マウスにおける生存率を、P B S 対照マウス及び対照オリゴヌクレオチド処置マウスと比較して増加させたことを実証している。

## 【1 5 1 8】

## 【表 2 0 3】

表 2 1 1 : 生き残ったマウスの数

|             | 1週目 | 12週目 |
|-------------|-----|------|
| PBS         | 10  | 9    |
| ISIS 516323 | 10  | 10   |
| ISIS 141923 | 10  | 9    |

40

## 【1 5 1 9】

実施例 1 3 2 : M R L マウスモデルにおける C F B のアンチセンス阻害の効果

M R L / l p r ループス腎炎マウスモデルは、二重陰性 (C D 4 - C D 8 - ) 及び B 2 2

50

0 + T細胞の蓄積に起因するリンパ節腫脹を特徴とするSLE様表現型を発症する。これらのマウスは死亡率の増進を呈する。加えて、これらのマウスは循環免疫グロブリン濃度が高く、それらには、ANA、抗ssDNA、抗dsDNA、抗Sm、及びリウマトイド因子などといった自己抗体レベルの上昇も含まれていて、多量の免疫複合体をもたらす(Andrews, B. et al., J. Exp. Med. 148: 1198 - 1215, 1978)。

#### 【1520】

##### 処置

CFBを標的とするアンチオリゴヌクレオチドによる処置が前記マウスモデルにおける腎病理を逆転させるかどうかを調べるための試験を行った。14週齢の雌MRL/lprマウスをJackson Laboratoriesから購入した。マウス10匹の1群に用量50µg/kg/週のISIS516323を7週にわたって与えた。マウス10匹のもう一つの群には用量50µg/kg/週の対照オリゴヌクレオチドISIS141923を7週にわたって与えた。マウス10匹のもう一つの群にはPBSを7週にわたって投与し、それを対照群として、他のすべての群をこの対照群と比較した。最後の注射を行った48時間後に、最終エンドポイントを収集した。

#### 【1521】

##### CFB RNA分析

プライマープローブセットRTS3430を用いるCFBのリアルタイムPCR用に、肝臓組織からRNAを抽出した。以下の表に示すとおり、ISIS516323は、PBS対照と比較してCFBを低減した。結果を、対照と比較したCFBの阻害パーセントとして表す。

#### 【1522】

#### 【表204】

表212: MRL/lprマウスにおけるマウスCFB mRNAの阻害パーセント

| ISIS番号 | %  |
|--------|----|
| 516323 | 68 |
| 141923 | 4  |

#### 【1523】

##### 腎病理

腎病理を2つの方法で評価した。腎臓の組織切片をヘマトキシリンとエオシンで染色した。PBS対照は、糸球体硬化症の一症状である多数の糸球体半月体及び管状円柱(multiglomerular crescents tubular casts)の存在を示す。これに対し、ISIS516323で処置したマウスからの切片には、半月体及び管状円柱(crescents tubular casts)が存在せず、ボウマン嚢のごくわずかな線維性変化、中等度～重度の分節性メサングウム細胞増殖及び糸球体基底膜肥厚を示した。

#### 【1524】

抗C3抗体を用いる免疫組織化学によって腎臓におけるC3の蓄積も評価した。1腎臓あたり10個の糸球体をキャプチャし陽性C3染色の強度を算出することによって計算される強度スコア化システムにより、全腎臓C3免疫組織化学強度スコアを算出した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、ISIS516323による処置が腎C3蓄積を対照群と比較して低減したことを実証している。

#### 【1525】

10

20

30

40

50



## 【表 2 0 5】

表 2 1 3 : MRL / l p r マウスにおける腎 C 3 蓄積

|             | 全腎臓C3強度スコア | 平均PBSに対する<br>C3定量(面積/総面積)% |
|-------------|------------|----------------------------|
| PBS         | 2.5        | 100                        |
| ISIS 516323 | 1.6        | 68                         |
| ISIS 141923 | 2.2        | 99                         |

10

## 【 1 5 2 6 】

## 血漿中 C 3 レベル

C F B の低減は代替補体経路の活性化を阻害する。これは、C 3 消費を防止し、血漿中 C 3 レベルの見掛け上の上昇につながる。終末採血により、臨床分析装置で血漿中 C 3 レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、I S I S 5 1 6 3 2 3 による処置が血漿中の C 3 レベルを対照群と比較して増加させたこと (  $p < 0.001$  ) を実証している。

## 【 1 5 2 7 】

## 【表 2 0 6】

20

表 2 1 4 : MRL / l p r マウスにおける血漿中 C 3 レベル (mg / d L)

| ISIS番号 | C3 |
|--------|----|
| 516323 | 28 |
| 141923 | 16 |

これらの結果は、C F B を標的とするアンチオリゴヌクレオチドによる処置が狼瘡マウスモデルにおける腎病理を逆転させることを示している。

## 【 1 5 2 8 】

実施例 1 3 3 : C F H H e t マウスモデルにおける C F B のアンチセンス阻害の効果

30

C F H ヘテロ接合 ( C F H H e t , C F H + / - ) マウスモデルは、突然変異型 H 因子タンパク質を完全長マウスタンパク質と共に発現する ( P i c k e r i n g , M . C . e t a l . , J . E x p . M e d . 2 0 0 7 . 2 0 4 : 1 2 4 9 - 5 6 ) 。これらのマウスでは、6 月齢までは腎組織構造が正常な状態を保っている。

## 【 1 5 2 9 】

## 試験 1

6 週齢の C F H + / - マウス各 8 匹の群に用量 7 5 m g / k g / 週の I S I S 5 1 6 3 2 3 または I S I S 5 1 6 3 4 1 を 6 週にわたって与えた。マウス 8 匹のもう一つの群には用量 7 5 m g / k g / 週の対照オリゴヌクレオチド I S I S 1 4 1 9 2 3 を 6 週にわたって与えた。マウス 8 匹のもう一つの群には P B S を 6 週にわたって投与し、それを対照群として、他のすべての群をこの対照群と比較した。最後の注射を行った 4 8 時間後に、最終エンドポイントを収集した。

40

## 【 1 5 3 0 】

## C F B R N A 分析

プライマープローブセット R T S 3 4 3 0 を用いる C F B のリアルタイム P C R 分析用に、肝臓組織と腎臓組織から R N A を抽出した。以下の表に示すとおり、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、P B S 対照と比較して、C F B を低減した。結果を、対照と比較した C F B の阻害パーセントとして表す。

## 【 1 5 3 1 】

50

## 【表 2 0 7】

表 2 1 5 : C F H<sup>+/−</sup>マウスにおけるマウス C F B mRNA の阻害パーセント

| ISIS番号 | 肝臓 | 腎臓 |
|--------|----|----|
| 516323 | 80 | 38 |
| 516341 | 90 | 44 |
| 141923 | 0  | 17 |

## 【 1 5 3 2 】

10

## 血漿中 C 3 レベル

C F B の低減は代替補体経路の活性化を阻害する。これは、C 3 消費を防止し、血漿中 C 3 レベルの見掛け上の上昇につながる。終末採血により、臨床分析装置で、血漿中 C 3 レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、I S I S 5 1 6 3 2 3 による処置が血漿中の C 3 レベルを正常レベルまで増加させたことを実証している。

## 【 1 5 3 3 】

## 【表 2 0 8】

表 2 1 6 : C F H<sup>+/−</sup>マウスにおける血漿中 C 3 レベル (mg / d L)

| ISIS番号 | C3 |
|--------|----|
| 516323 | 15 |
| 516341 | 17 |
| 141923 | 8  |

20

## 【 1 5 3 4 】

## 試験 2

C F H<sup>+/−</sup>マウス各 5 匹の群に、用量 1 2 . 5 m g / k g / 週、2 5 m g / k g / 週、5 0 m g / k g / 週、7 5 m g / k g / 週、または 1 0 0 m g / k g / 週の I S I S 5 1 6 3 2 3 または I S I S 5 1 6 3 4 1 を、6 週にわたって与えた。マウス 5 匹のもう一つの群には用量 7 5 μ g / k g / 週の対照オリゴヌクレオチド I S I S 1 4 1 9 2 3 を 6 週にわたって与えた。マウス 5 匹のもう一つの群には、P B S を 6 週にわたって投与し、それを対照群として、他のすべての群をこの対照群と比較した。最後の注射を行った 4 8 時間後に、最終エンドポイントを収集した。

30

## 【 1 5 3 5 】

## C F B mRNA 分析

プライマープローブセット R T S 3 4 3 0 を用いる C F B のリアルタイム P C R 分析用に、肝臓組織と腎臓組織から R N A を抽出した。以下の表に示すとおり、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドは、C F B を P B S 対照と比較して用量依存的に低減した。結果を、対照と比較した C F B の阻害パーセントとして表す。

40

## 【 1 5 3 6 】

## 【表 2 0 9】

表 2 1 7 : CFH<sup>+/+</sup>マウスの肝臓におけるマウスCFB mRNAの阻害パーセント

| ISIS番号 | 用量<br>(mg/kg/週) | %  |
|--------|-----------------|----|
| 516323 | 12.5            | 34 |
|        | 25              | 51 |
|        | 50              | 72 |
|        | 75              | 79 |
|        | 100             | 92 |
| 516341 | 12.5            | 38 |
|        | 25              | 57 |
|        | 50              | 89 |
|        | 75              | 92 |
|        | 100             | 90 |
| 141923 | 75              | 13 |

10

## 【 1 5 3 7】

20

## 血漿中C3レベル

CFBの低減は代替補体経路の活性化を阻害する。これは、C3消費を防止し、血漿中C3レベルの見掛け上の上昇につながる。終末血漿収集により、臨床分析装置で血漿中C3レベルを測定した。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、CFBを標的とするISISオリゴヌクレオチドによる処置が、血漿中のC3レベルを増加させることを実証している。

## 【 1 5 3 8】

## 【表 2 1 0】

表 2 1 8 : CFH<sup>+/+</sup>マウスにおける血漿中C3レベル (mg/dL)

30

|        | 用量<br>(mg/kg/週) | C3   |
|--------|-----------------|------|
| PBS    | -               | 10.1 |
| 516323 | 12.5            | 11.4 |
|        | 25              | 15.5 |
|        | 50              | 17.0 |
|        | 75              | 18.3 |
|        | 100             | 18.8 |
| 516341 | 12.5            | 12.1 |
|        | 25              | 16.3 |
|        | 50              | 18.6 |
|        | 75              | 22.1 |
|        | 100             | 19.1 |
| 141923 | 75              | 8.9  |

40

## 【 1 5 3 9】

実施例 1 3 4 : ヒトCFBを標的とするISISオリゴヌクレオチドの、カニクイザルにおける効果

50

カニクイザルを、上記実施例で述べた試験から選択したISISアンチセンスオリゴヌクレオチドで処置した。アンチセンスオリゴヌクレオチドの効力と耐容性、ならびに肝臓及び腎臓におけるそれらの薬物動態プロファイルを評価した。

#### 【1540】

この試験を企画した時点で、国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）データベースにカニクイザルゲノム配列がなかったため、カニクイザル遺伝子配列との交差反応性を確認することはできなかった。その代わりに、カニクイザルに使用するISISアンチセンスオリゴヌクレオチドの配列を、ホモロジーについて、アカゲザル配列と比較した。アカゲザル配列に対してホモロジーを有するISISオリゴヌクレオチドはカニクイザル配列とも十分に交差反応性であると予想される。試験したヒトアンチセンスオリゴヌクレオチドはアカゲザルゲノム配列（GENBANKアクセッション番号NW\_001116486.1、ヌクレオチド536000から545000までを切り出したもの、本明細書では配列番号3と呼ぶ）と交差反応性である。ヒトオリゴヌクレオチドとアカゲザル配列の間の相補性が大きいほど、そのヒトオリゴヌクレオチドがアカゲザル配列と交差反応できる可能性は高くなる。以下の表には、配列番号3を標的とする各オリゴヌクレオチドの開始部位と終止部位を掲載する。「開始部位」とは、アカゲザル遺伝子配列中で当該ギャップマーの標的になる最も5'側のヌクレオチドを示す。「ミスマッチ」は、アカゲザルゲノム配列とミスマッチしているヒトオリゴヌクレオチド中の核酸塩基の数を示す。

#### 【1541】

#### 【表211】

表219：アカゲザルCFBゲノム配列（配列番号3）に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド

| ISIS番号 | 標的開始部位 | ミスマッチ | 化学的特徴           | 配列番号 |
|--------|--------|-------|-----------------|------|
| 532770 | 6788   | 0     | 5-10-5 MOE      | 198  |
| 532800 | 7500   | 0     | 5-10-5 MOE      | 228  |
| 532809 | 7614   | 0     | 5-10-5 MOE      | 237  |
| 588540 | 7627   | 1     | 5-10-5 MOE      | 440  |
| 588544 | 7631   | 1     | 5-10-5 MOE      | 444  |
| 588548 | 7635   | 1     | 5-10-5 MOE      | 448  |
| 588550 | 7637   | 1     | 5-10-5 MOE      | 450  |
| 588553 | 7640   | 1     | 5-10-5 MOE      | 453  |
| 588555 | 7643   | 0     | 5-10-5 MOE      | 455  |
| 588848 | 7639   | 1     | デオキシ、MOE 及び cEt | 598  |
| 594430 | 6790   | 0     | 3-10-3 cEt      | 549  |

#### 【1542】

#### 処置

試験に先だって、サルを少なくとも30日間にわたって隔離し続け、その期間中は全身の健康状態について動物を毎日観察した。サルは2～4歳で、体重は2～4kgであった。ランダムに割り当てた雄カニクイザル各4～6匹の11群に対し、背中の中4ヶ所に時計回りに（すなわち左、上、右、及び下）、ISISオリゴヌクレオチドまたはPBSを、各回1部位ずつ、皮下注射した。最初の1週間はサルに初回負荷量のPBSまたは40mg/kgのISIS532800、ISIS532809、ISIS588540、ISIS588544、ISIS588548、ISIS588550、ISIS588553、ISIS588555、ISIS588848、またはISIS594430を4回（1日目、3日目、5日目、及び7日目）与え、次にPBSまたは40mg/kgのISISオリゴヌクレオチドを、週1回、12週にわたって投与した（14日目、21日目、2

8日目、35日目、42日目、49日目、56日目、63日目、70日目、77日目、及び84日目)。ISIS532770は、2匹の雄カニクイザル及び2匹の雌カニクイザルを含む群による別個の試験において、類似する条件で調べた。

#### 【1543】

肝標的の低減

RNA分析

86日目に、肝臓試料及び腎臓試料を、二つ一組（それぞれ約250mg）にして、CFB mRNA分析用に採取した。殺から約10分以内の剖検時に試料を液体窒素中で急速冷凍した。

#### 【1544】

CFBのmRNA発現量を測定するためのリアルタイムPCR分析用に、RNAを肝臓及び腎臓から抽出した。結果を、RIBOGREEN（登録商標）で標準化し、PBS対照と比較した、mRNAの変化率（パーセント）として掲載する。また、ハウスキーピング遺伝子であるシクロフィリンAでも、RNAレベルを標準化した。RNAレベルは、上述のプライマープローブセットRTS3459、またはRTS4445\_MGB（フォワード配列CGAAGAAGCTCAGTGAAATCAA、本明細書では配列番号819と呼ぶ；リバー配列TGCCCTGGAGGGCCCTCTT、本明細書では配列番号820と呼ぶ；プローブ配列AGACCAACAAGTTGAAGTC、本明細書では配列番号815と呼ぶ）を使って測定した。

#### 【1545】

以下の表に示すとおり、ISISアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、PBS対照との比較で、CFB mRNAの低減をもたらした。CFB mRNAレベルの分析により、前記ISISオリゴヌクレオチドのいくつかは、肝臓及び/または腎臓におけるCFBレベルを低減することが明らかになった。ここで「0」は、発現レベルが阻害されなかったことを示す。「\*」は、当該オリゴヌクレオチドを類似する条件の別個の試験で調べたことを示す。

#### 【1546】

#### 【表212】

表220：PBS対照と比較したカニクイザル肝臓におけるCFB mRNAの阻害パーセント

| ISIS番号  | RTS3459/<br>シクロフィリンA | RTS3459/<br>RIBOGREEN | RTS445_MGB/<br>シクロフィリンA | RTS445_MGB/<br>RIBOGREEN |
|---------|----------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
| 532770* | 12                   | 37                    | 24                      | 45                       |
| 532800  | 54                   | 45                    | 56                      | 46                       |
| 588540  | 31                   | 27                    | 28                      | 24                       |
| 588548  | 68                   | 67                    | 68                      | 67                       |
| 588550  | 53                   | 39                    | 51                      | 37                       |
| 588553  | 74                   | 59                    | 74                      | 59                       |
| 588555  | 73                   | 71                    | 71                      | 69                       |
| 588848  | 9                    | 0                     | 6                       | 0                        |
| 594430  | 24                   | 26                    | 23                      | 25                       |

#### 【1547】

## 【表 2 1 3】

表 2 2 1 : P B S 対照と比較したカニクイザル腎臓における C F B m R N A の阻害パーセント

| ISIS番号  | RTS3459/<br>シクロフィリンA | RTS3459/<br>RIBOGREEN | RTS445_MGB/<br>シクロフィリンA | RTS445_MGB/<br>RIBOGREEN |
|---------|----------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
| 532770* | 34                   | 56                    | 2                       | 31                       |
| 532800  | 36                   | 30                    | 43                      | 37                       |
| 588540  | 70                   | 71                    | 67                      | 69                       |
| 588548  | 83                   | 84                    | 82                      | 83                       |
| 588550  | 81                   | 77                    | 78                      | 74                       |
| 588553  | 86                   | 84                    | 86                      | 85                       |
| 588555  | 32                   | 34                    | 48                      | 50                       |
| 588848  | 89                   | 91                    | 87                      | 90                       |
| 594430  | 33                   | 37                    | 19                      | 23                       |

10

## 【 1 5 4 8 】

## タンパク質分析

8 5 日目に利用可能なすべての動物から約 1 m L の血液を採取して、E D T A のカリウム塩が入っているチューブに入れた。その血液試料を氷または K r y o r a c k に直ちに投入し、遠心分離 ( 3 0 0 0 r p m 、 4 で 1 0 分間 ) することにより、採取から 6 0 分以内に血漿 ( 約 0 . 4 m L ) を得た。ポリクローナル抗 B 因子抗体を用いる放射状免疫拡散法 ( R I D ) により、C F B の血漿中レベルを血漿で測定した。結果を以下の表に掲載する。I S I S 5 3 2 7 7 0 は別個の試験で調べ、その群では血漿中タンパク質レベルを 9 1 日目または 9 2 日目に測定した。

20

## 【 1 5 4 9 】

血漿中 C F B の分析により、I S I S オリゴヌクレオチドはタンパク質レベルを持続的に低減することが明らかになった。別個の試験で調べた I S I S 5 3 2 7 7 0 は、9 1 / 9 2 日目に、ベースライン値と比較して、C F B タンパク質レベルを 5 0 % 低減した。血漿中 C F B タンパク質レベルの低減は、対応する動物群における肝臓 C F B m R N A レベルの低減とよく相関している。

30

## 【 1 5 5 0 】

40

50

## 【表 2 1 4】

表 2 2 2 : カニクイザルにおける血漿中タンパク質レベル (%ベースライン値)

|             | 1日目 | 30日目 | 58日目 | 72日目 | 86日目 |
|-------------|-----|------|------|------|------|
| PBS         | 113 | 115  | 95   | 83   | 86   |
| ISIS 532800 | 117 | 68   | 52   | 39   | 34   |
| ISIS 532809 | 104 | 121  | 100  | 80   | 71   |
| ISIS 588540 | 108 | 72   | 61   | 40   | 38   |
| ISIS 588544 | 118 | 74   | 53   | 33   | 29   |
| ISIS 588548 | 110 | 41   | 28   | 20   | 16   |
| ISIS 588550 | 104 | 64   | 54   | 38   | 37   |
| ISIS 588553 | 97  | 42   | 35   | 18   | 16   |
| ISIS 588555 | 107 | 35   | 37   | 18   | 18   |
| ISIS 588848 | 116 | 95   | 92   | 69   | 71   |
| ISIS 594430 | 104 | 64   | 59   | 45   | 46   |

10

## 【 1 5 5 1】

耐容性試験

20

体重測定

動物の総合的健康に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、体重及び臓器重量を測定した。それを以下の表に掲載する。「\*」は、当該オリゴヌクレオチドが別個の試験において類似の条件で調べられたこと、そして雄サルと雌サルから得られた測定値の平均であることを示す。これらの結果は、アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置が体重及び臓器重量に及ぼす効果は、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲内であったことを示している。

## 【 1 5 5 2】

## 【表 2 1 5】

30

表 2 2 3 : カニクイザルの最終体重 (g)

|              | 1日目  | 14日目 | 28日目 | 42日目 | 56日目 | 70日目 | 84日目 |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|
| PBS          | 2887 | 2953 | 3028 | 3094 | 3125 | 3143 | 3193 |
| ISIS 532770* | 2963 | 2947 | 2966 | 3050 | 3097 | 3138 | 3160 |
| ISIS 532800  | 2886 | 2976 | 3072 | 3149 | 3220 | 3269 | 3265 |
| ISIS 532809  | 2755 | 2836 | 2927 | 2983 | 3019 | 3071 | 3098 |
| ISIS 588540  | 2779 | 2834 | 2907 | 2934 | 2981 | 3034 | 3057 |
| ISIS 588544  | 2837 | 2896 | 3009 | 3064 | 3132 | 3163 | 3199 |
| ISIS 588548  | 2694 | 2816 | 2882 | 2990 | 3073 | 3149 | 3161 |
| ISIS 588550  | 2855 | 2988 | 3062 | 3188 | 3219 | 3282 | 3323 |
| ISIS 588553  | 3033 | 3156 | 3256 | 3335 | 3379 | 3372 | 3442 |
| ISIS 588555  | 2757 | 2863 | 2965 | 3022 | 3075 | 3088 | 3158 |
| ISIS 588848  | 2850 | 3018 | 3032 | 3187 | 3230 | 3212 | 3291 |
| ISIS 594430  | 2884 | 2963 | 2953 | 3149 | 3187 | 3204 | 3256 |

40

## 【 1 5 5 3】

50

## 【表 2 1 6】

表 2 2 4 : カニクイザルの最終臓器重量 (g)

|              | 脾臓  | 心臓   | 腎臓   | 肝臓   |
|--------------|-----|------|------|------|
| PBS          | 2.8 | 11.6 | 11.9 | 55.8 |
| ISIS 532770* | 5.0 | 11.3 | 20.6 | 77.9 |
| ISIS 532800  | 6.2 | 11.9 | 18.6 | 94.4 |
| ISIS 588540  | 4.0 | 11.4 | 13.5 | 67.1 |
| ISIS 588548  | 4.1 | 11.7 | 17.3 | 72.0 |
| ISIS 588550  | 5.8 | 10.9 | 18.5 | 81.8 |
| ISIS 588553  | 5.0 | 12.7 | 17.2 | 85.9 |
| ISIS 588555  | 4.7 | 11.8 | 15.9 | 88.3 |
| ISIS 588848  | 5.0 | 12.7 | 14.4 | 75.7 |
| ISIS 594430  | 3.9 | 11.9 | 14.8 | 69.9 |

10

## 【 1 5 5 4】

## 肝臓機能

20

肝臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、すべての試験群から血液試料を集めた。血液試料は、橈側皮静脈、伏在静脈、または大腿静脈から、投薬の 48 時間後に集めた。採血に先だてサルを終夜絶食させた。血清を分離するために、抗凝固剤が入っていないチューブに血液 (1.5 mL) を集めた。そのチューブを最低 90 分間室温に保ってから、遠心分離 (約 3,000 rpm で 10 分間) することにより、血清を得た。東芝 200FR NEO 化学分析装置 (東芝、日本) を使って、さまざまな肝臓機能マーカーのレベルを測定した。

## 【 1 5 5 5】

ALT と AST の血漿中レベルを測定した。その結果を IU/L の単位で以下の表に掲載する。肝臓機能マーカーの一つであるビリルビンも同様に測定し、mg/dL の単位で以下の表に掲載する。「\*」は、当該オリゴヌクレオチドが別個の試験において類似の条件で調べられたこと、そして雄サルと雌サルから得られた測定値の平均であることを示す。これらの結果は、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの大半が、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲から外れる影響を、肝臓機能に及ぼさなかったことを示している。

30

## 【 1 5 5 6】

40

50



## 【表 2 1 7】

表 2 2 5 : 8 6 日目のカニクイザル血漿における肝臓化学マーカーレベル

|              | ALT<br>(IU/L) | AST<br>(IU/L) | ビリルビン<br>(mg/dL) |
|--------------|---------------|---------------|------------------|
| PBS          | 71            | 57            | 0.3              |
| ISIS 532770* | 59            | 58            | 0.1              |
| ISIS 532800  | 65            | 86            | 0.1              |
| ISIS 532809  | 35            | 58            | 0.1              |
| ISIS 588540  | 70            | 88            | 0.2              |
| ISIS 588544  | 55            | 97            | 0.2              |
| ISIS 588548  | 61            | 85            | 0.2              |
| ISIS 588550  | 94            | 84            | 0.2              |
| ISIS 588553  | 44            | 65            | 0.2              |
| ISIS 588555  | 63            | 84            | 0.2              |
| ISIS 588848  | 69            | 65            | 0.2              |
| ISIS 594430  | 86            | 53            | 0.2              |

10

20

## 【 1 5 5 7 】

## 腎臓機能

腎臓機能に対する I S I S オリゴヌクレオチドの効果を評価するために、すべての試験群から血液試料を集めた。血液試料は、橈側皮静脈、伏在静脈、または大腿静脈から、投薬の 4 8 時間後に集めた。採血に先だってサルを終夜絶食させた。血清を分離するために、抗凝固剤が入っていないチューブに血液を集めた。そのチューブを最低 9 0 分間室温に保ってから、遠心分離（約 3 , 0 0 0 r p m で 1 0 分間）することにより、血清を得た。東芝 2 0 0 F R N E O 化学分析装置（東芝、日本）を使って、B U N 及びクレアチニンのレベルを測定した。結果を m g / d L の単位で表して、以下の表に掲載する。「\*」は、当該オリゴヌクレオチドが別個の試験において類似の条件で調べられたこと、そして雄サルと雌サルから得られた測定値の平均であることを示す。

30

## 【 1 5 5 8 】

尿検査のために、氷上の清浄なケージパンを使って、朝、すべての動物から新鮮尿を集めた。採尿の前日は終夜、飼料を除去したが、水は供給した。東芝 2 0 0 F R N E O 化学分析装置（東芝、日本）を使って、尿試料（約 1 m L）をタンパク質対 / クレアチニン（P / C）比について分析した。「n . d .」は、尿タンパク質レベルが分析装置の検出限界未満であったことを示している。

## 【 1 5 5 9 】

血漿及び尿の化学的データは、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの大半が、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲から外れる影響を、腎臓機能に及ぼさなかったことを示している。

40

## 【 1 5 6 0 】

50

## 【表 2 1 8】

表 2 2 6 : 8 6 日目のカニクイザル血漿における腎化学マーカーレベル (mg/dL)

|              | BUN | クレアチニン | 総タンパク質 |
|--------------|-----|--------|--------|
| PBS          | 28  | 0.9    | 8.0    |
| ISIS 532770* | 20  | 0.9    | 6.9    |
| ISIS 532800  | 25  | 0.9    | 7.5    |
| ISIS 532809  | 23  | 0.8    | 7.4    |
| ISIS 588540  | 30  | 0.8    | 7.5    |
| ISIS 588544  | 26  | 0.9    | 7.4    |
| ISIS 588548  | 25  | 0.9    | 7.6    |
| ISIS 588550  | 24  | 0.9    | 7.2    |
| ISIS 588553  | 25  | 0.8    | 7.2    |
| ISIS 588555  | 25  | 0.8    | 7.6    |
| ISIS 588848  | 24  | 0.9    | 7.5    |
| ISIS 594430  | 25  | 0.8    | 7.2    |

10

## 【1 5 6 1】

## 【表 2 1 9】

表 2 2 7 : 4 4 日目及び8 6 日目のカニクイザル尿における腎化学マーカーレベル

|             | 44日目 | 86日目 |
|-------------|------|------|
| PBS         | 0.03 | n.d. |
| ISIS 532800 | 0.01 | n.d. |
| ISIS 532809 | 0.01 | n.d. |
| ISIS 588540 | 0.03 | n.d. |
| ISIS 588544 | 0.01 | 0.09 |
| ISIS 588548 | 0.01 | 0.01 |
| ISIS 588550 | 0.04 | 0.01 |
| ISIS 588553 | 0.05 | n.d. |
| ISIS 588555 | 0.03 | 0.03 |
| ISIS 588848 | 0.09 | n.d. |
| ISIS 594430 | 0.03 | n.d. |

30

## 【1 5 6 2】

## 血液学

カニクイザル中の ISIS オリゴヌクレオチドが血液学的パラメータに及ぼす影響を評価するために、利用可能な試験動物のそれぞれから、血液約 0.5 mL の血液試料を、K<sub>2</sub>-EDTA が入っているチューブに集めた。ADVIA 120 血液分析装置 (Bayer、米国) を使って、試料を、赤血球 (RBC) 数、白血球 (WBC) 数、個別白血球数、例えば単球、好中球、リンパ球の数、ならびに血小板数、ヘモグロビン含量及びヘマトクリットについて分析した。データを以下の表に掲載する。「\*」は、当該オリゴヌクレオチドが別個の試験において類似の条件で調べられたこと、そして雄サルと雌サルから得られた測定値の平均であることを示す。

## 【1 5 6 3】

40

50

このデータは、前記オリゴヌクレオチドが、この用量では、アンチセンスオリゴヌクレオチドに予想される範囲から外れる変化を血液学的パラメータに引き起こさなかったことを示している。

【 1 5 6 4 】

【表 2 2 0】

表 2 2 8 : カニクイザルにおける血球数

|              | RBC<br>( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) | 血小板<br>( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | WBC<br>( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) | 好中球<br>( %<br>WBC) | リンパ球<br>(%総数) | 単球<br>(%総数) |
|--------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|---------------|-------------|
| PBS          | 5.8                                  | 347                                  | 9.4                                  | 42.7               | 53.1          | 3.0         |
| ISIS 532770* | 5.4                                  | 386                                  | 10.8                                 | 22.3               | 71.7          | 3.3         |
| ISIS 532800  | 5.6                                  | 360                                  | 13.1                                 | 29.5               | 61.1          | 6.5         |
| ISIS 532809  | 5.2                                  | 400                                  | 11.5                                 | 56.6               | 38.2          | 2.5         |
| ISIS 588540  | 5.5                                  | 367                                  | 11.7                                 | 50.9               | 42.7          | 2.1         |
| ISIS 588544  | 5.2                                  | 373                                  | 14.3                                 | 56.6               | 37.6          | 4.3         |
| ISIS 588548  | 5.1                                  | 373                                  | 9.7                                  | 40.4               | 54.3          | 3.9         |
| ISIS 588550  | 6.1                                  | 343                                  | 9.9                                  | 32.1               | 61.7          | 4.6         |
| ISIS 588553  | 5.2                                  | 424                                  | 9.3                                  | 41.7               | 53.2          | 3.6         |
| ISIS 588555  | 5.1                                  | 411                                  | 9.6                                  | 45.1               | 49.7          | 3.5         |
| ISIS 588848  | 5.7                                  | 370                                  | 10.0                                 | 39.8               | 55.8          | 3.1         |
| ISIS 594430  | 5.7                                  | 477                                  | 10.6                                 | 47.3               | 47.8          | 3.6         |

【 1 5 6 5 】

【表 2 2 1】

表 2 2 9 : カニクイザルにおける血液学的パラメータ

|              | ヘモグロビン<br>(g/dL) | HCT<br>(%) |
|--------------|------------------|------------|
| PBS          | 14.1             | 46.6       |
| ISIS 532770* | 12.4             | 40.9       |
| ISIS 532800  | 12.3             | 40.5       |
| ISIS 532809  | 12.2             | 40.4       |
| ISIS 588540  | 12.5             | 41.5       |
| ISIS 588544  | 11.9             | 38.1       |
| ISIS 588548  | 12.3             | 39.6       |
| ISIS 588550  | 13.4             | 45.0       |
| ISIS 588553  | 12.6             | 39.8       |
| ISIS 588555  | 11.6             | 38.1       |
| ISIS 588848  | 13.2             | 42.7       |
| ISIS 594430  | 13.4             | 43.1       |

【 1 5 6 6 】

オリゴヌクレオチド濃度の測定

腎臓組織及び肝臓組織における完全長オリゴヌクレオチドの濃度を測定した。使用した方法は、以前に公表された方法 (Leeds et al., 1996; Geary et al., 1999) の変法であり、フェノール - クロロホルム (液 - 液) 抽出と、それに

続く固相抽出からなる。組織試料中濃度は、定量下限 ( L L O Q ) が約  $1.14 \mu\text{g/g}$  である検量線を使って算出した。結果を、 $\mu\text{g/g}$  - 肝臓または腎臓組織の単位で、以下の表に掲載する。

【 1 5 6 7 】

【表 2 2 2】

表 2 3 0 : アンチセンスオリゴヌクレオチドの分布

|             | 腎 臓<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 肝 臓<br>( $\mu\text{g/g}$ ) | 腎臓/肝臓<br>比 |
|-------------|----------------------------|----------------------------|------------|
| ISIS 532800 | 3881                       | 1633                       | 2.4        |
| ISIS 588540 | 3074                       | 1410                       | 2.2        |
| ISIS 588548 | 3703                       | 1233                       | 3.0        |
| ISIS 588550 | 4242                       | 860                        | 4.9        |
| ISIS 588553 | 3096                       | 736                        | 4.2        |
| ISIS 588555 | 4147                       | 1860                       | 2.2        |
| ISIS 588848 | 2235                       | 738                        | 3.0        |
| ISIS 594430 | 1548                       | 752                        | 2.1        |

10

【 1 5 6 8 】

20

実施例 1 3 5 : ヒト C F B を標的とする非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド及び 5' - T H A - G a l N A c 3 共役アンチセンスオリゴヌクレオチドの、トランスジェニックマウスにおける 6 週間効力試験

同じ核酸塩基配列を有する 2 つのアンチセンスオリゴヌクレオチド、すなわち非共役アンチセンスオリゴヌクレオチド I S I S 5 8 8 5 4 0 と、5' - T H A - G a l N A c 3 - 共役アンチセンスオリゴヌクレオチド I S I S 6 9 6 8 4 4 とを、ヒト C F B トランスジェニックマウス ( h C F B - T g マウス ) で調べた。

【 1 5 6 9 】

マウスに、6 週にわたって、I S I S 6 9 6 8 4 4 を 0 . 1、1 . 2 5、0 . 5、2 . 0、6 . 0、または 1 2 . 0 m g / k g / 週の用量で皮下投与するか、I S I S 5 8 8 5 4 0 を 2、6、1 2、2 5、または 5 0 m g / k g / 週の用量で皮下投与した。対照マウス群には 6 週にわたって P B S を皮下投与した。最後の投与の 4 8 時間後にマウスを殺した。肝 m R N A レベル s を q R T - P C R で分析した。

30

【 1 5 7 0 】

試験 1

結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、C F B を標的とする 5' - T H A - G a l N A c 3 - 共役アンチセンスオリゴヌクレオチドの方が同じ配列を持つ非共役アンチセンスオリゴヌクレオチドよりも強力であることを実証している。

【 1 5 7 1 】

【表 2 2 3】

40

表 2 3 1 : C F B を標的とするアンチオリゴヌクレオチドの効力

|            | ED <sub>50</sub> (mg/kg) | ED <sub>75</sub> (mg/kg) |
|------------|--------------------------|--------------------------|
| ISIS588540 | 4.52                     | 9.26                     |
| ISIS696844 | 0.52                     | 1.12                     |

【 1 5 7 2 】

試験 2

50

肝臓 mRNA レベルを、同 mRNA の異なる領域を標的とする 2 つの異なるプライマープローブセットで測定し、RIBOGREEN (登録商標) (RGB) またはシクロフィリンのどちらかに対して標準化した。プライマープローブセットは上述の RTS3459、及び RTS3460 (フォワード配列 CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, 本明細書では配列番号 813 と呼ぶ; リバース配列 TGCCTGGAGGGCCTTCTT, 本明細書では配列番号 814 と呼ぶ; プローブ配列 AGACCAACAAGTTGAAGTC, 本明細書では配列番号 815 と呼ぶ) であった。結果を以下の表に掲載する。これらの結果は、使用したプライマープローブセットとは無関係に、CFB を標的とする 5' - THA - Ga l N A c 3 - 共役アンチセンスオリゴヌクレオチドの方が同じ配列を持つ非共役アンチセンスオリゴヌクレオチドより強力であることを実証している。

10

【1573】

【表224】

表231: CFB を標的とするアンチオリゴヌクレオチドの効力

|                    | ED <sub>50</sub><br>RTS345<br>9<br>(RGB) | ED <sub>50</sub><br>RTS346<br>0<br>(RGB) | ED <sub>50</sub><br>RTS3459<br>(シクロ<br>フィリン) | ED <sub>50</sub><br>RTS3460<br>(シクロフ<br>ィリン) | ED <sub>75</sub><br>RTS3459<br>(RGB) | ED <sub>75</sub><br>RTS346<br>0<br>(RGB) | ED <sub>75</sub><br>RTS3459<br>(シクロフィ<br>リン) | ED <sub>75</sub><br>RTS3460<br>(シクロフ<br>ィリン) |
|--------------------|--|--|--|--|--------------------------------------|--|--|--|
| ISIS<br>58854<br>0 | 4.5                                      | 4.1                                      | 5.2  | 5.4  | 9.3                                  | 10.0                                     | 10.0   | 9.3  |
| ISIS<br>69684<br>4 | 0.5                                      | 0.5                                      | 0.6  | 0.5  | 1.1                                  | 1.3                                      | 1.2  | 0.9  |

20

## 出願時の請求項

〔項1〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号1の核酸塩基30～49、48～63、150～169、151～170、152～171、154～169、154～173、156～171、156～175、157～176、158～173、158～177、480～499、600～619、638～657、644～663、738～757、1089～1108、1135～1154、1141～1160、1147～1166、1150～1169、1153～1172、1159～1178、1162～1181、1165～1184、1171～1186、1171～1190、1173～1188、1173～1192、1175～1190、1175～1194、1177～1196、1183～1202、1208～1227、1235～1254、1298～1317、1304～1323、1310～1329、1316～1335、1319～1338、1322～1341、1328～1347、1349～1368、1355～1374、1393～1412、1396～1415、1399～1418、1405～1424、1421～1440、1621～1640、1646～1665、1646～1665、1647～1666、1689～1708、1749～1768、1763～1782、1912～1931、2073～2092、2085～2104、2166～2185、2172～2191、2189～2208、2191～2210、2193～2212、2195～2210、2195～2214、2196～2215、2197～2212、2197～2216、2202～2221、2223～2238、2223～2242、2225～2240、2226～2245、2227～2242、2227～2246、2238～2257、2241～2260、2267～2286、2361～2380、2388～2407、2397～

30

40

50

2 4 1 6、2 4 4 8 ~ 2 4 6 7、2 4 5 3 ~ 2 4 7 2、2 4 5 5 ~ 2 4 7 4、2 4 5 7 ~  
 2 4 7 2、2 4 5 7 ~ 2 4 7 6、2 4 5 9 ~ 2 4 7 4、2 4 5 9 ~ 2 4 7 8、2 4 6 1 ~  
 2 4 7 6、2 4 6 1 ~ 2 4 8 0、2 5 3 2 ~ 2 5 5 1、2 5 5 0 ~ 2 5 6 9、2 5 5 1 ~  
 2 5 6 6、2 5 5 1 ~ 2 5 7 0、2 5 5 2 ~ 2 5 6 8、2 5 5 2 ~ 2 5 7 0、2 5 5 2 ~  
 2 5 7 1、2 5 5 3 ~ 2 5 6 8、2 5 5 3 ~ 2 5 7 0、2 5 5 3 ~ 2 5 7 1、2 5 5 3 ~  
 2 5 7 2、2 5 5 4 ~ 2 5 7 1、2 5 5 4 ~ 2 5 7 2、2 5 5 4 ~ 2 5 7 3、2 5 5 5 ~  
 2 5 7 0、2 5 5 5 ~ 2 5 7 2、2 5 5 5 ~ 2 5 7 4、2 5 5 6 ~ 2 5 7 3、2 5 5 6 ~  
 2 5 7 4、2 5 5 6 ~ 2 5 7 5、2 5 5 7 ~ 2 5 7 3、2 5 5 7 ~ 2 5 7 4、2 5 5 7 ~  
 2 5 7 5、2 5 5 7 ~ 2 5 7 6、2 5 5 8 ~ 2 5 7 5、2 5 5 8 ~ 2 5 7 6、2 5 5 8 ~  
 2 5 7 7、2 5 5 9 ~ 2 5 7 6、2 5 5 9 ~ 2 5 7 7、2 5 5 9 ~ 2 5 7 8、2 5 6 0 ~  
 2 5 7 7、2 5 6 0 ~ 2 5 7 8、2 5 6 0 ~ 2 5 7 9、2 5 6 1 ~ 2 5 7 6、2 5 6 1 ~  
 2 5 7 8、2 5 6 1 ~ 2 5 7 9、2 5 6 1 ~ 2 5 8 0、2 5 6 2 ~ 2 5 7 7、2 5 6 2 ~  
 2 5 7 9、2 5 6 2 ~ 2 5 8 1、2 5 6 3 ~ 2 5 7 8、2 5 6 3 ~ 2 5 8 0、2 5 6 3 ~  
 2 5 8 2、2 5 6 4 ~ 2 5 8 1、2 5 6 4 ~ 2 5 8 3、2 5 6 5 ~ 2 5 8 4、2 5 6 6 ~  
 2 5 8 3、2 5 6 6 ~ 2 5 8 5、2 5 6 7 ~ 2 5 8 2、2 5 6 7 ~ 2 5 8 4、2 5 6 7 ~  
 2 5 8 6、2 5 6 8 ~ 2 5 8 3、2 5 6 8 ~ 2 5 8 5、2 5 6 8 ~ 2 5 8 7、2 5 6 9 ~  
 2 5 8 6、2 5 6 9 ~ 2 5 8 8、2 5 7 0 ~ 2 5 8 5、2 5 7 0 ~ 2 5 8 7、2 5 7 0 ~  
 2 5 8 9、2 5 7 1 ~ 2 5 8 6、2 5 7 1 ~ 2 5 8 8、2 5 7 1 ~ 2 5 9 0、2 5 7 2 ~  
 2 5 8 9、2 5 7 2 ~ 2 5 9 0、2 5 7 2 ~ 2 5 9 1、2 5 7 3 ~ 2 5 9 0、2 5 7 3 ~  
 2 5 9 2、2 5 7 4 ~ 2 5 9 0、2 5 7 4 ~ 2 5 9 1、2 5 7 4 ~ 2 5 9 3、2 5 7 5 ~  
 2 5 9 0、2 5 7 5 ~ 2 5 9 1、2 5 7 5 ~ 2 5 9 2、2 5 7 5 ~ 2 5 9 4、2 5 7 6 ~  
 2 5 9 3、2 5 7 6 ~ 2 5 9 5、2 5 7 7 ~ 2 5 9 4、2 5 7 7 ~ 2 5 9 5、2 5 7 7 ~  
 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 4、2 5 7 8 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 7、2 5 7 9 ~  
 2 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 6、2 5 8 0 ~ 2 5 9 7、2 5 8 0 ~ 2 5 9 8、2 5 8 0 ~  
 2 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 5 9 7、2 5 8 1 ~ 2 5 9 8、2 5 8 1 ~ 2 5 9 9、2 5 8 1 ~  
 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 5 9 8、2 5 8 2 ~ 2 5 9 9、2 5 8 2 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~  
 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 5 9 9、2 5 8 3 ~ 2 6 0 0、2 5 8 3 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~  
 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 1、2 5 8 4 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~  
 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 1、2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~  
 2 6 0 1、2 5 8 6 ~ 2 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~  
 2 6 0 2、2 5 8 7 ~ 2 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~  
 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 5、2 5 8 8 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~  
 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 4、2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2 6 0 6、2 5 8 9 ~  
 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2 6 0 6、2 5 9 0 ~  
 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~  
 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2 6 0 8、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 1 0、2 5 9 2 ~  
 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2 6 1 0、2 5 9 2 ~  
 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2 6 0 8、2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2 6 1 0、2 5 9 3 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、2 5 9 4 ~ 2 6 1 1、2 5 9 4 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、2 5 9 5 ~ 2 6 1 1、2 5 9 5 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2 6 1 1、2 5 9 6 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2 6 1 4、2 5 9 7 ~  
 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 4、2 5 9 8 ~  
 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 4、2 5 9 9 ~  
 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~  
 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2 6 1 8、2 6 0 1 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2 6 1 8、2 6 0 2 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 1 8、2 6 0 3 ~

10

20

30

40

50

2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 2、2 6 0 6 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 2、2 6 0 7 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2 6 2 6、2 6 0 9 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2 6 2 6、2 6 1 0 ~  
 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~  
 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~  
 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~  
 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 0、2 6 1 3 ~  
 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~  
 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、または 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1 内で相補的な 8 ~ 8 0 個の連  
 結されたヌクレオシドからなり、かつ該修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 に対して  
 少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 1 0 0 % 相補的である、前記化合物。

〔項 2〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチド  
 が、配列番号 1 の核酸塩基 3 0 ~ 4 9、4 8 ~ 6 3、1 5 0 ~ 1 6 9、1 5 1 ~ 1 7 0、  
 1 5 2 ~ 1 7 1、1 5 4 ~ 1 6 9、1 5 4 ~ 1 7 3、1 5 6 ~ 1 7 1、1 5 6 ~ 1 7 5、  
 1 5 7 ~ 1 7 6、1 5 8 ~ 1 7 3、1 5 8 ~ 1 7 7、4 8 0 ~ 4 9 9、6 0 0 ~ 6 1 9、  
 6 3 8 ~ 6 5 7、6 4 4 ~ 6 6 3、7 3 8 ~ 7 5 7、1 0 8 9 ~ 1 1 0 8、1 1 3 5 ~ 1  
 1 5 4、1 1 4 1 ~ 1 1 6 0、1 1 4 7 ~ 1 1 6 6、1 1 5 0 ~ 1 1 6 9、1 1 5 3 ~ 1  
 1 7 2、1 1 5 9 ~ 1 1 7 8、1 1 6 2 ~ 1 1 8 1、1 1 6 5 ~ 1 1 8 4、1 1 7 1 ~ 1  
 1 8 6、1 1 7 1 ~ 1 1 9 0、1 1 7 3 ~ 1 1 8 8、1 1 7 3 ~ 1 1 9 2、1 1 7 5 ~ 1  
 1 9 0、1 1 7 5 ~ 1 1 9 4、1 1 7 7 ~ 1 1 9 6、1 1 8 3 ~ 1 2 0 2、1 2 0 8 ~ 1  
 2 2 7、1 2 3 5 ~ 1 2 5 4、1 2 9 8 ~ 1 3 1 7、1 3 0 4 ~ 1 3 2 3、1 3 1 0 ~ 1  
 3 2 9、1 3 1 6 ~ 1 3 3 5、1 3 1 9 ~ 1 3 3 8、1 3 2 2 ~ 1 3 4 1、1 3 2 8 ~ 1  
 3 4 7、1 3 4 9 ~ 1 3 6 8、1 3 5 5 ~ 1 3 7 4、1 3 9 3 ~ 1 4 1 2、1 3 9 6 ~ 1  
 4 1 5、1 3 9 9 ~ 1 4 1 8、1 4 0 5 ~ 1 4 2 4、1 4 2 1 ~ 1 4 4 0、1 6 2 1 ~ 1  
 6 4 0、1 6 4 6 ~ 1 6 6 5、1 6 4 6 ~ 1 6 6 5、1 6 4 7 ~ 1 6 6 6、1 6 8 9 ~ 1  
 7 0 8、1 7 4 9 ~ 1 7 6 8、1 7 6 3 ~ 1 7 8 2、1 9 1 2 ~ 1 9 3 1、2 0 7 3 ~ 2  
 0 9 2、2 0 8 5 ~ 2 1 0 4、2 1 6 6 ~ 2 1 8 5、2 1 7 2 ~ 2 1 9 1、2 1 8 9 ~ 2  
 2 0 8、2 1 9 1 ~ 2 2 1 0、2 1 9 3 ~ 2 2 1 2、2 1 9 5 ~ 2 2 1 0、2 1 9 5 ~ 2  
 2 1 4、2 1 9 6 ~ 2 2 1 5、2 1 9 7 ~ 2 2 1 2、2 1 9 7 ~ 2 2 1 6、2 2 0 2 ~ 2  
 2 2 1、2 2 2 3 ~ 2 2 3 8、2 2 2 3 ~ 2 2 4 2、2 2 2 5 ~ 2 2 4 0、2 2 2 6 ~ 2  
 2 4 5、2 2 2 7 ~ 2 2 4 2、2 2 2 7 ~ 2 2 4 6、2 2 3 8 ~ 2 2 5 7、2 2 4 1 ~ 2  
 2 6 0、2 2 6 7 ~ 2 2 8 6、2 3 6 1 ~ 2 3 8 0、2 3 8 8 ~ 2 4 0 7、2 3 9 7 ~ 2  
 4 1 6、2 4 4 8 ~ 2 4 6 7、2 4 5 3 ~ 2 4 7 2、2 4 5 5 ~ 2 4 7 4、2 4 5 7 ~  
 2 4 7 2、2 4 5 7 ~ 2 4 7 6、2 4 5 9 ~ 2 4 7 4、2 4 5 9 ~ 2 4 7 8、2 4 6 1 ~  
 2 4 7 6、2 4 6 1 ~ 2 4 8 0、2 5 3 2 ~ 2 5 5 1、2 5 5 0 ~ 2 5 6 9、2 5 5 1 ~  
 2 5 6 6、2 5 5 1 ~ 2 5 7 0、2 5 5 2 ~ 2 5 6 8、2 5 5 2 ~ 2 5 7 0、2 5 5 2 ~  
 2 5 7 1、2 5 5 3 ~ 2 5 6 8、2 5 5 3 ~ 2 5 7 0、2 5 5 3 ~ 2 5 7 1、2 5 5 3 ~  
 2 5 7 2、2 5 5 4 ~ 2 5 7 1、2 5 5 4 ~ 2 5 7 2、2 5 5 4 ~ 2 5 7 3、2 5 5 5 ~  
 2 5 7 0、2 5 5 5 ~ 2 5 7 2、2 5 5 5 ~ 2 5 7 4、2 5 5 6 ~ 2 5 7 3、2 5 5 6 ~  
 2 5 7 4、2 5 5 6 ~ 2 5 7 5、2 5 5 7 ~ 2 5 7 3、2 5 5 7 ~ 2 5 7 4、2 5 5 7 ~  
 2 5 7 5、2 5 5 7 ~ 2 5 7 6、2 5 5 8 ~ 2 5 7 5、2 5 5 8 ~ 2 5 7 6、2 5 5 8 ~  
 2 5 7 7、2 5 5 9 ~ 2 5 7 6、2 5 5 9 ~ 2 5 7 7、2 5 5 9 ~ 2 5 7 8、2 5 6 0 ~  
 2 5 7 7、2 5 6 0 ~ 2 5 7 8、2 5 6 0 ~ 2 5 7 9、2 5 6 1 ~ 2 5 7 6、2 5 6 1 ~

10

20

30

40

50

2 5 7 8、2 5 6 1 ~ 2 5 7 9、2 5 6 1 ~ 2 5 8 0、2 5 6 2 ~ 2 5 7 7、2 5 6 2 ~  
 2 5 7 9、2 5 6 2 ~ 2 5 8 1、2 5 6 3 ~ 2 5 7 8、2 5 6 3 ~ 2 5 8 0、2 5 6 3 ~  
 2 5 8 2、2 5 6 4 ~ 2 5 8 1、2 5 6 4 ~ 2 5 8 3、2 5 6 5 ~ 2 5 8 4、2 5 6 6 ~  
 2 5 8 3、2 5 6 6 ~ 2 5 8 5、2 5 6 7 ~ 2 5 8 2、2 5 6 7 ~ 2 5 8 4、2 5 6 7 ~  
 2 5 8 6、2 5 6 8 ~ 2 5 8 3、2 5 6 8 ~ 2 5 8 5、2 5 6 8 ~ 2 5 8 7、2 5 6 9 ~  
 2 5 8 6、2 5 6 9 ~ 2 5 8 8、2 5 7 0 ~ 2 5 8 5、2 5 7 0 ~ 2 5 8 7、2 5 7 0 ~  
 2 5 8 9、2 5 7 1 ~ 2 5 8 6、2 5 7 1 ~ 2 5 8 8、2 5 7 1 ~ 2 5 9 0、2 5 7 2 ~  
 2 5 8 9、2 5 7 2 ~ 2 5 9 0、2 5 7 2 ~ 2 5 9 1、2 5 7 3 ~ 2 5 9 0、2 5 7 3 ~  
 2 5 9 2、2 5 7 4 ~ 2 5 9 0、2 5 7 4 ~ 2 5 9 1、2 5 7 4 ~ 2 5 9 3、2 5 7 5 ~  
 2 5 9 0、2 5 7 5 ~ 2 5 9 1、2 5 7 5 ~ 2 5 9 2、2 5 7 5 ~ 2 5 9 4、2 5 7 6 ~  
 2 5 9 3、2 5 7 6 ~ 2 5 9 5、2 5 7 7 ~ 2 5 9 4、2 5 7 7 ~ 2 5 9 5、2 5 7 7 ~  
 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 4、2 5 7 8 ~ 2 5 9 6、2 5 7 8 ~ 2 5 9 7、2 5 7 9 ~  
 2 5 9 8、2 5 8 0 ~ 2 5 9 6、2 5 8 0 ~ 2 5 9 7、2 5 8 0 ~ 2 5 9 8、2 5 8 0 ~  
 2 5 9 9、2 5 8 1 ~ 2 5 9 7、2 5 8 1 ~ 2 5 9 8、2 5 8 1 ~ 2 5 9 9、2 5 8 1 ~  
 2 6 0 0、2 5 8 2 ~ 2 5 9 8、2 5 8 2 ~ 2 5 9 9、2 5 8 2 ~ 2 6 0 0、2 5 8 2 ~  
 2 6 0 1、2 5 8 3 ~ 2 5 9 9、2 5 8 3 ~ 2 6 0 0、2 5 8 3 ~ 2 6 0 1、2 5 8 3 ~  
 2 6 0 2、2 5 8 4 ~ 2 6 0 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 1、2 5 8 4 ~ 2 6 0 2、2 5 8 4 ~  
 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 1、2 5 8 5 ~ 2 6 0 3、2 5 8 5 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~  
 2 6 0 1、2 5 8 6 ~ 2 6 0 2、2 5 8 6 ~ 2 6 0 4、2 5 8 6 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~  
 2 6 0 2、2 5 8 7 ~ 2 6 0 3、2 5 8 7 ~ 2 6 0 5、2 5 8 7 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~  
 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 4、2 5 8 8 ~ 2 6 0 5、2 5 8 8 ~ 2 6 0 6、2 5 8 8 ~  
 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 4、2 5 8 9 ~ 2 6 0 5、2 5 8 9 ~ 2 6 0 6、2 5 8 9 ~  
 2 6 0 7、2 5 8 9 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 5、2 5 9 0 ~ 2 6 0 6、2 5 9 0 ~  
 2 6 0 7、2 5 9 0 ~ 2 6 0 8、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 0 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~  
 2 6 0 7、2 5 9 1 ~ 2 6 0 8、2 5 9 1 ~ 2 6 0 9、2 5 9 1 ~ 2 6 1 0、2 5 9 2 ~  
 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2 6 0 8、2 5 9 2 ~ 2 6 0 9、2 5 9 2 ~ 2 6 1 0、2 5 9 2 ~  
 2 6 1 1、2 5 9 3 ~ 2 6 0 8、2 5 9 3 ~ 2 6 0 9、2 5 9 3 ~ 2 6 1 0、2 5 9 3 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 0 9、2 5 9 4 ~ 2 6 1 0、2 5 9 4 ~ 2 6 1 1、2 5 9 4 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 0、2 5 9 5 ~ 2 6 1 1、2 5 9 5 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 5 ~ 2 6 1 3、2 5 9 5 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2 6 1 1、2 5 9 6 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 6 ~ 2 6 1 3、2 5 9 6 ~ 2 6 1 4、2 5 9 6 ~ 2 6 1 5、2 5 9 7 ~  
 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 2、2 5 9 7 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2 6 1 4、2 5 9 7 ~  
 2 6 1 5、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 3、2 5 9 8 ~ 2 6 1 4、2 5 9 8 ~  
 2 6 1 5、2 5 9 8 ~ 2 6 1 6、2 5 9 8 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 4、2 5 9 9 ~  
 2 6 1 5、2 5 9 9 ~ 2 6 1 6、2 5 9 9 ~ 2 6 1 7、2 5 9 9 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~  
 2 6 1 5、2 6 0 0 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 7、2 6 0 0 ~ 2 6 1 8、2 6 0 0 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~ 2 6 1 8、2 6 0 1 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 1 7、2 6 0 2 ~ 2 6 1 8、2 6 0 2 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 2 ~ 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 1 8、2 6 0 3 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 3 ~ 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 2、2 6 0 6 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 6 ~ 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 2、2 6 0 7 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~ 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~ 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2 6 2 6、2 6 0 9 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~ 2 6 2 6、2 6 1 0 ~  
 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~  
 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~

10

20

30

40

50



2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~ 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 0、2 6 1 3 ~ 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~ 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、または2 6 1 6 ~ 2 6 3 1のうちの長さが等しい部分に1 0 0 %相補的な少なくとも8個の連続する核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する8 ~ 8 0個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号1に対して少なくとも8 5 %、9 0 %、9 5 %、または1 0 0 %相補的である、前記化合物。

〔項3〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号2の核酸塩基1 6 0 8 ~ 1 6 2 7、1 6 8 5 ~ 1 7 0 4、1 6 8 6 ~ 1 7 0 5、1 7 5 1 ~ 1 7 7 0、1 7 6 9 ~ 1 7 8 4、1 8 7 1 ~ 1 8 9 0、1 8 7 2 ~ 1 8 9 1、1 8 7 3 ~ 1 8 9 2、1 8 7 5 ~ 1 8 9 0、1 8 7 5 ~ 1 8 9 4、1 8 7 7 ~ 1 8 9 2、1 8 7 7 ~ 1 8 9 6、1 8 7 8 ~ 1 8 9 7、1 8 7 9 ~ 1 8 9 4、1 8 7 9 ~ 1 8 9 8、2 2 8 8 ~ 2 3 0 7、2 8 0 8 ~ 2 8 2 7、2 8 4 6 ~ 2 8 6 5、2 8 5 2 ~ 2 8 7 1、2 9 4 6 ~ 2 9 6 5、3 7 7 3 ~ 3 7 9 2、3 8 1 9 ~ 3 8 3 8、3 8 2 5 ~ 3 8 4 4、3 8 3 1 ~ 3 8 5 0、3 8 3 4 ~ 3 8 5 3、3 8 3 7 ~ 3 8 5 6、3 8 4 3 ~ 3 8 6 2、4 1 5 1 ~ 4 1 6 6、4 1 5 1 ~ 4 1 7 0、4 1 5 3 ~ 4 1 7 2、4 1 5 9 ~ 4 1 7 8、4 1 8 4 ~ 4 2 0 3、4 2 1 1 ~ 4 2 3 0、4 6 0 9 ~ 4 6 2 8、4 6 1 2 ~ 4 6 3 1、4 6 1 5 ~ 4 6 3 4、4 6 2 1 ~ 4 6 4 0、4 6 4 2 ~ 4 6 6 1、4 6 4 8 ~ 4 6 6 7、4 6 8 6 ~ 4 7 0 5、4 6 8 9 ~ 4 7 0 8、4 6 9 2 ~ 4 7 1 1、4 6 9 8 ~ 4 7 1 7、4 7 1 4 ~ 4 7 3 3、5 2 7 0 ~ 5 2 8 9、5 2 9 5 ~ 5 3 1 4、5 2 9 6 ~ 5 3 1 5、5 8 3 0 ~ 5 8 4 9、5 8 9 0 ~ 5 9 0 9、5 9 0 4 ~ 5 9 2 3、6 4 0 6 ~ 6 4 2 5、6 6 6 2 ~ 6 6 8 1、6 6 7 4 ~ 6 6 9 3、6 9 5 4 ~ 6 9 7 3、6 9 6 0 ~ 6 9 7 9、6 9 7 7 ~ 6 9 9 6、6 9 7 9 ~ 6 9 9 8、6 9 8 1 ~ 7 0 0 0、6 9 8 3 ~ 6 9 9 8、6 9 8 3 ~ 7 0 0 2、6 9 8 4 ~ 7 0 0 3、6 9 8 5 ~ 7 0 0 0、6 9 8 5 ~ 7 0 0 4、6 9 9 0 ~ 7 0 0 9、7 1 2 2 ~ 7 1 4 1、7 1 2 5 ~ 7 1 4 4、7 1 5 1 ~ 7 1 7 0、7 3 5 3 ~ 7 3 7 2、7 3 6 2 ~ 7 3 8 1、7 6 8 3 ~ 7 7 0 2、7 6 8 8 ~ 7 7 0 7、7 6 9 0 ~ 7 7 0 9、7 6 9 2 ~ 7 7 0 7、7 6 9 2 ~ 7 7 1 1、7 6 9 4 ~ 7 7 0 9、7 6 9 4 ~ 7 7 1 3、7 6 9 6 ~ 7 7 1 1、7 6 9 6 ~ 7 7 1 5、7 7 6 7 ~ 7 7 8 6、7 7 8 5 ~ 7 8 0 4、7 7 8 6 ~ 7 8 0 1、7 7 8 7 ~ 7 8 0 3、7 7 8 7 ~ 7 8 0 5、7 7 8 7 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 3、7 7 8 8 ~ 7 8 0 5、7 7 8 8 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 6、7 7 8 9 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 8、7 7 9 0 ~ 7 8 0 5、7 7 9 0 ~ 7 8 0 7、7 7 9 0 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 0 8、7 7 9 1 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 0 8、7 7 9 2 ~ 7 8 0 9、7 7 9 2 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 0、7 7 9 3 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 1、7 7 9 4 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 2、7 7 9 5 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 1、7 7 9 6 ~ 7 8 1 3、7 7 9 6 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 5、7 7 9 7 ~ 7 8 1 2、7 7 9 7 ~ 7 8 1 4、7 7 9 7 ~ 7 8 1 6、7 7 9 8 ~ 7 8 1 3、7 7 9 8 ~ 7 8 1 5、7 7 9 8 ~ 7 8 1 7、7 7 9 9 ~ 7 8 1 6、7 7 9 9 ~ 7 8 1 8、7 8 0 0 ~ 7 8 0 1、7 8 0 1 ~ 7 8 1 8、7 8 0 1 ~ 7 8 2 0、7 8 0 2 ~ 7 8 1 7、7 8 0 2 ~ 7 8 1 9、7 8 0 2 ~ 7 8 2 1、7 8 0 3 ~ 7 8 1 8、7 8 0 3 ~ 7 8 2 0、7 8 0 3 ~ 7 8 2 2、7 8 0 4 ~ 7 8 2 1、7 8 0 4 ~ 7 8 2 3、7 8 0 5 ~ 7 8 2 0、7 8 0 5 ~ 7 8 2 2、7 8 0 5 ~ 7 8 2 4、7 8 0 6 ~ 7 8 2 1、7 8 0 6 ~ 7 8 2 3、7 8 0 6 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 4、7 8 0 7 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 6、7 8 0 8 ~ 7 8 2 5、7 8 0 8 ~ 7 8 2 7、7 8 0 9 ~ 7 8 2 5、7 8 0 9 ~ 7 8 2 6、7 8 0 9 ~ 7 8 2 8、7 8 1 0 ~ 7 8 2 5、7 8 1 0 ~ 7 8 2 6、7 8 1 0 ~ 7 8 2 7、7 8 1 0 ~ 7 8 2 9、7 8 1 1 ~ 7 8 2 8、7 8 1 1 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 2 9、7 8 1 2 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 3 1、7 8 1 3 ~ 7 8 2 9、7 8 1 3 ~ 7 8 3 1、7 8 1 3 ~ 7 8

10

20

30

40

50

3 2、7 8 1 4 ~ 7 8 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 1、7 8 1 5 ~ 7 8 3 2、7 8 1 5 ~ 7 8  
 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 2、7 8 1 6 ~ 7 8 3 3、7 8 1 6 ~ 7 8  
 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 3、7 8 1 7 ~ 7 8 3 4、7 8 1 7 ~ 7 8  
 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 4、7 8 1 8 ~ 7 8 3 5、7 8 1 8 ~ 7 8  
 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 5、7 8 1 9 ~ 7 8 3 6、7 8 1 9 ~ 7 8  
 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 8、7 8 2 0 ~ 7 8 3 6、7 8 2 0 ~ 7 8 3 8、7 8 2 0 ~ 7 8  
 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 3 6、7 8 2 1 ~ 7 8 3 7、7 8 2 1 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8  
 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8 3 7、7 8 2 2 ~ 7 8 3 8、7 8 2 2 ~ 7 8 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8  
 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 3 8、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8  
 4 0、7 8 2 3 ~ 7 8 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8 3 9、7 8 2 4 ~ 7 8  
 4 0、7 8 2 4 ~ 7 8 4 0、7 8 2 4 ~ 7 8 4 1、7 8 2 4 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8  
 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4 0、7 8 2 5 ~ 7 8 4 1、7 8 2 5 ~ 7 8 4 2、7 8 2 5 ~ 7 8  
 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4 4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 2、7 8 2 6 ~ 7 8 4 3、7 8 2 6 ~ 7 8  
 4 4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 2、7 8 2 7 ~ 7 8 4 3、7 8 2 7 ~ 7 8  
 4 4、7 8 2 7 ~ 7 8 4 5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 6、7 8 2 8 ~ 7 8 4 3、7 8 2 8 ~ 7 8  
 4 4、7 8 2 8 ~ 7 8 4 5、7 8 2 8 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 4、7 8 2 9 ~ 7 8  
 4 5、7 8 2 9 ~ 7 8 4 6、7 8 2 9 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8  
 4 5、7 8 3 0 ~ 7 8 4 6、7 8 3 0 ~ 7 8 4 7、7 8 3 0 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 4 6、7 8 3 1 ~ 7 8 4 7、7 8 3 1 ~ 7 8 4 8、7 8 3 1 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 5 0、7 8 3 2 ~ 7 8 4 7、7 8 3 2 ~ 7 8 4 8、7 8 3 2 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 2 ~ 7 8 5 0、7 8 3 2 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 4 8、7 8 3 3 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 3 ~ 7 8 5 0、7 8 3 3 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 4 ~ 7 8 5 0、7 8 3 4 ~ 7 8 5 1、7 8 3 4 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5 0、7 8 3 5 ~ 7 8 5 1、7 8 3 5 ~ 7 8 5 2、7 8 3 5 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5 4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 1、7 8 3 6 ~ 7 8 5 2、7 8 3 6 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 6 ~ 7 8 5 4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 2、7 8 3 7 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 7 ~ 7 8 5 4、7 8 3 7 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 8 ~ 7 8 5 4、7 8 3 8 ~ 7 8 5 5、7 8 3 8 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8  
 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5 4、7 8 3 9 ~ 7 8 5 5、7 8 3 9 ~ 7 8 5 6、7 8 3 9 ~ 7 8  
 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5 8、7 8 4 0 ~ 7 8 5 5、7 8 4 0 ~ 7 8 5 6、7 8 4 0 ~ 7 8  
 5 7、7 8 4 0 ~ 7 8 5 8、7 8 4 0 ~ 7 8 5 9、7 8 4 1 ~ 7 8 5 6、7 8 4 1 ~ 7 8  
 5 7、7 8 4 1 ~ 7 8 5 8、7 8 4 1 ~ 7 8 5 9、7 8 4 1 ~ 7 8 6 0、7 8 4 2 ~ 7 8  
 5 7、7 8 4 2 ~ 7 8 5 8、7 8 4 2 ~ 7 8 5 9、7 8 4 2 ~ 7 8 6 0、7 8 4 2 ~ 7 8  
 6 1、7 8 4 3 ~ 7 8 5 8、7 8 4 3 ~ 7 8 5 9、7 8 4 3 ~ 7 8 6 0、7 8 4 3 ~ 7 8  
 6 1、7 8 4 3 ~ 7 8 6 2、7 8 4 4 ~ 7 8 5 9、7 8 4 4 ~ 7 8 6 0、7 8 4 4 ~ 7 8  
 6 1、7 8 4 4 ~ 7 8 6 2、7 8 4 5 ~ 7 8 6 0、7 8 4 5 ~ 7 8 6 1、7 8 4 5 ~ 7 8  
 6 2、7 8 4 6 ~ 7 8 6 1、または7 8 4 6 ~ 7 8 6 2内で相補的な8 ~ 8 0個の連結さ  
 れたヌクレオシドからなり、かつ該修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号2に対して少な  
 くとも8 5 %、9 0 %、9 5 %、または1 0 0 %相補的である、前記化合物。

〔項4〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチド  
 が、配列番号2の核酸塩基1 6 0 8 ~ 1 6 2 7、1 6 8 5 ~ 1 7 0 4、1 6 8 6 ~ 1 7 0  
 5、1 7 5 1 ~ 1 7 7 0、1 7 6 9 ~ 1 7 8 4、1 8 7 1 ~ 1 8 9 0、1 8 7 2 ~ 1 8 9  
 1、1 8 7 3 ~ 1 8 9 2、1 8 7 5 ~ 1 8 9 0、1 8 7 5 ~ 1 8 9 4、1 8 7 7 ~ 1 8 9  
 2、1 8 7 7 ~ 1 8 9 6、1 8 7 8 ~ 1 8 9 7、1 8 7 9 ~ 1 8 9 4、1 8 7 9 ~ 1 8 9  
 8、2 2 8 8 ~ 2 3 0 7、2 8 0 8 ~ 2 8 2 7、2 8 4 6 ~ 2 8 6 5、2 8 5 2 ~ 2 8 7  
 1、2 9 4 6 ~ 2 9 6 5、3 7 7 3 ~ 3 7 9 2、3 8 1 9 ~ 3 8 3 8、3 8 2 5 ~ 3 8 4  
 4、3 8 3 1 ~ 3 8 5 0、3 8 3 4 ~ 3 8 5 3、3 8 3 7 ~ 3 8 5 6、3 8 4 3 ~ 3 8 6  
 2、4 1 5 1 ~ 4 1 6 6、4 1 5 1 ~ 4 1 7 0、4 1 5 3 ~ 4 1 7 2、4 1 5 9 ~ 4 1 7  
 8、4 1 8 4 ~ 4 2 0 3、4 2 1 1 ~ 4 2 3 0、4 6 0 9 ~ 4 6 2 8、4 6 1 2 ~ 4 6 3

10

20

30

40

50

1、4 6 1 5 ~ 4 6 3 4、4 6 2 1 ~ 4 6 4 0、4 6 4 2 ~ 4 6 6 1、4 6 4 8 ~ 4 6 6  
 7、4 6 8 6 ~ 4 7 0 5、4 6 8 9 ~ 4 7 0 8、4 6 9 2 ~ 4 7 1 1、4 6 9 8 ~ 4 7 1  
 7、4 7 1 4 ~ 4 7 3 3、5 2 7 0 ~ 5 2 8 9、5 2 9 5 ~ 5 3 1 4、5 2 9 6 ~ 5 3 1  
 5、5 8 3 0 ~ 5 8 4 9、5 8 9 0 ~ 5 9 0 9、5 9 0 4 ~ 5 9 2 3、6 4 0 6 ~ 6 4 2  
 5、6 6 6 2 ~ 6 6 8 1、6 6 7 4 ~ 6 6 9 3、6 9 5 4 ~ 6 9 7 3、6 9 6 0 ~ 6 9 7  
 9、6 9 7 7 ~ 6 9 9 6、6 9 7 9 ~ 6 9 9 8、6 9 8 1 ~ 7 0 0 0、6 9 8 3 ~ 6 9 9  
 8、6 9 8 3 ~ 7 0 0 2、6 9 8 4 ~ 7 0 0 3、6 9 8 5 ~ 7 0 0 0、6 9 8 5 ~ 7 0 0  
 4、6 9 9 0 ~ 7 0 0 9、7 1 2 2 ~ 7 1 4 1、7 1 2 5 ~ 7 1 4 4、7 1 5 1 ~ 7 1 7  
 0、7 3 5 3 ~ 7 3 7 2、7 3 6 2 ~ 7 3 8 1、7 6 8 3 ~ 7 7 0 2、7 6 8 8 ~ 7 7 0  
 7、7 6 9 0 ~ 7 7 0 9、7 6 9 2 ~ 7 7 0 7、7 6 9 2 ~ 7 7 1 1、7 6 9 4 ~ 7 7 0  
 9、7 6 9 4 ~ 7 7 1 3、7 6 9 6 ~ 7 7 1 1、7 6 9 6 ~ 7 7 1 5、7 7 6 7 ~ 7 7 8  
 6、7 7 8 5 ~ 7 8 0 4、7 7 8 6 ~ 7 8 0 1、7 7 8 7 ~ 7 8 0 3、7 7 8 7 ~ 7 8 0  
 5、7 7 8 7 ~ 7 8 0 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 3、7 7 8 8 ~ 7 8 0 5、7 7 8 8 ~ 7 8 0  
 6、7 7 8 8 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0 6、7 7 8 9 ~ 7 8 0 7、7 7 8 9 ~ 7 8 0  
 8、7 7 9 0 ~ 7 8 0 5、7 7 9 0 ~ 7 8 0 7、7 7 9 0 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 0  
 8、7 7 9 1 ~ 7 8 0 9、7 7 9 1 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 0 8、7 7 9 2 ~ 7 8 0  
 9、7 7 9 2 ~ 7 8 1 0、7 7 9 2 ~ 7 8 1 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 0、7 7 9 3 ~ 7 8 1  
 1、7 7 9 3 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1 1、7 7 9 4 ~ 7 8 1 2、7 7 9 4 ~ 7 8 1  
 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 2、7 7 9 5 ~ 7 8 1 3、7 7 9 5 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1  
 1、7 7 9 6 ~ 7 8 1 3、7 7 9 6 ~ 7 8 1 4、7 7 9 6 ~ 7 8 1 5、7 7 9 7 ~ 7 8 1  
 2、7 7 9 7 ~ 7 8 1 4、7 7 9 7 ~ 7 8 1 6、7 7 9 8 ~ 7 8 1 3、7 7 9 8 ~ 7 8 1  
 5、7 7 9 8 ~ 7 8 1 7、7 7 9 9 ~ 7 8 1 6、7 7 9 9 ~ 7 8 1 8、7 8 0 0 ~ 7 8 1  
 9、7 8 0 1 ~ 7 8 1 8、7 8 0 1 ~ 7 8 2 0、7 8 0 2 ~ 7 8 1 7、7 8 0 2 ~ 7 8 1  
 9、7 8 0 2 ~ 7 8 2 1、7 8 0 3 ~ 7 8 1 8、7 8 0 3 ~ 7 8 2 0、7 8 0 3 ~ 7 8 2  
 2、7 8 0 4 ~ 7 8 2 1、7 8 0 4 ~ 7 8 2 3、7 8 0 5 ~ 7 8 2 0、7 8 0 5 ~ 7 8 2  
 2、7 8 0 5 ~ 7 8 2 4、7 8 0 6 ~ 7 8 2 1、7 8 0 6 ~ 7 8 2 3、7 8 0 6 ~ 7 8 2  
 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 4、7 8 0 7 ~ 7 8 2 5、7 8 0 7 ~ 7 8 2 6、7 8 0 8 ~ 7 8 2  
 5、7 8 0 8 ~ 7 8 2 7、7 8 0 9 ~ 7 8 2 5、7 8 0 9 ~ 7 8 2 6、7 8 0 9 ~ 7 8 2  
 8、7 8 1 0 ~ 7 8 2 5、7 8 1 0 ~ 7 8 2 6、7 8 1 0 ~ 7 8 2 7、7 8 1 0 ~ 7 8 2  
 9、7 8 1 1 ~ 7 8 2 8、7 8 1 1 ~ 7 8 3 0、7 8 1 2 ~ 7 8 2 9、7 8 1 2 ~ 7 8 3  
 0、7 8 1 2 ~ 7 8 3 1、7 8 1 3 ~ 7 8 2 9、7 8 1 3 ~ 7 8 3 1、7 8 1 3 ~ 7 8 3  
 2、7 8 1 4 ~ 7 8 3 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 1、7 8 1 5 ~ 7 8 3 2、7 8 1 5 ~ 7 8 3  
 3、7 8 1 5 ~ 7 8 3 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 2、7 8 1 6 ~ 7 8 3 3、7 8 1 6 ~ 7 8 3  
 4、7 8 1 6 ~ 7 8 3 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 3、7 8 1 7 ~ 7 8 3 4、7 8 1 7 ~ 7 8 3  
 5、7 8 1 7 ~ 7 8 3 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 4、7 8 1 8 ~ 7 8 3 5、7 8 1 8 ~ 7 8 3  
 6、7 8 1 8 ~ 7 8 3 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 5、7 8 1 9 ~ 7 8 3 6、7 8 1 9 ~ 7 8 3  
 7、7 8 1 9 ~ 7 8 3 8、7 8 2 0 ~ 7 8 3 6、7 8 2 0 ~ 7 8 3 8、7 8 2 0 ~ 7 8 3  
 9、7 8 2 1 ~ 7 8 3 6、7 8 2 1 ~ 7 8 3 7、7 8 2 1 ~ 7 8 3 9、7 8 2 1 ~ 7 8 4  
 0、7 8 2 2 ~ 7 8 3 7、7 8 2 2 ~ 7 8 3 8、7 8 2 2 ~ 7 8 4 0、7 8 2 2 ~ 7 8 4  
 1、7 8 2 3 ~ 7 8 3 8、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8 3 9、7 8 2 3 ~ 7 8  
 4 0、7 8 2 3 ~ 7 8 4 1、7 8 2 3 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8 3 9、7 8 2 4 ~ 7 8  
 4 0、7 8 2 4 ~ 7 8 4 0、7 8 2 4 ~ 7 8 4 1、7 8 2 4 ~ 7 8 4 2、7 8 2 4 ~ 7 8  
 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4 0、7 8 2 5 ~ 7 8 4 1、7 8 2 5 ~ 7 8 4 2、7 8 2 5 ~ 7 8  
 4 3、7 8 2 5 ~ 7 8 4 4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 2、7 8 2 6 ~ 7 8 4 3、7 8 2 6 ~ 7 8  
 4 4、7 8 2 6 ~ 7 8 4 5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 2、7 8 2 7 ~ 7 8 4 3、7 8 2 7 ~ 7 8  
 4 4、7 8 2 7 ~ 7 8 4 5、7 8 2 7 ~ 7 8 4 6、7 8 2 8 ~ 7 8 4 3、7 8 2 8 ~ 7 8  
 4 4、7 8 2 8 ~ 7 8 4 5、7 8 2 8 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 4、7 8 2 9 ~ 7 8  
 4 5、7 8 2 9 ~ 7 8 4 6、7 8 2 9 ~ 7 8 4 7、7 8 2 9 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8  
 4 5、7 8 3 0 ~ 7 8 4 6、7 8 3 0 ~ 7 8 4 7、7 8 3 0 ~ 7 8 4 8、7 8 3 0 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 4 6、7 8 3 1 ~ 7 8 4 7、7 8 3 1 ~ 7 8 4 8、7 8 3 1 ~ 7 8

10

20

30

40

50

4 9、7 8 3 1 ~ 7 8 5 0、7 8 3 2 ~ 7 8 4 7、7 8 3 2 ~ 7 8 4 8、7 8 3 2 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 2 ~ 7 8 5 0、7 8 3 2 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 4 8、7 8 3 3 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 3 ~ 7 8 5 0、7 8 3 3 ~ 7 8 5 1、7 8 3 3 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8  
 4 9、7 8 3 4 ~ 7 8 5 0、7 8 3 4 ~ 7 8 5 1、7 8 3 4 ~ 7 8 5 2、7 8 3 4 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5 0、7 8 3 5 ~ 7 8 5 1、7 8 3 5 ~ 7 8 5 2、7 8 3 5 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 5 ~ 7 8 5 4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 1、7 8 3 6 ~ 7 8 5 2、7 8 3 6 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 6 ~ 7 8 5 4、7 8 3 6 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 2、7 8 3 7 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 7 ~ 7 8 5 4、7 8 3 7 ~ 7 8 5 5、7 8 3 7 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8  
 5 3、7 8 3 8 ~ 7 8 5 4、7 8 3 8 ~ 7 8 5 5、7 8 3 8 ~ 7 8 5 6、7 8 3 8 ~ 7 8  
 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5 4、7 8 3 9 ~ 7 8 5 5、7 8 3 9 ~ 7 8 5 6、7 8 3 9 ~ 7 8  
 5 7、7 8 3 9 ~ 7 8 5 8、7 8 4 0 ~ 7 8 5 5、7 8 4 0 ~ 7 8 5 6、7 8 4 0 ~ 7 8  
 5 7、7 8 4 0 ~ 7 8 5 8、7 8 4 0 ~ 7 8 5 9、7 8 4 1 ~ 7 8 5 6、7 8 4 1 ~ 7 8  
 5 7、7 8 4 1 ~ 7 8 5 8、7 8 4 1 ~ 7 8 5 9、7 8 4 1 ~ 7 8 6 0、7 8 4 2 ~ 7 8  
 5 7、7 8 4 2 ~ 7 8 5 8、7 8 4 2 ~ 7 8 5 9、7 8 4 2 ~ 7 8 6 0、7 8 4 2 ~ 7 8  
 6 1、7 8 4 3 ~ 7 8 5 8、7 8 4 3 ~ 7 8 5 9、7 8 4 3 ~ 7 8 6 0、7 8 4 3 ~ 7 8  
 6 1、7 8 4 3 ~ 7 8 6 2、7 8 4 4 ~ 7 8 5 9、7 8 4 4 ~ 7 8 6 0、7 8 4 4 ~ 7 8  
 6 1、7 8 4 4 ~ 7 8 6 2、7 8 4 5 ~ 7 8 6 0、7 8 4 5 ~ 7 8 6 1、7 8 4 5 ~ 7 8  
 6 2、7 8 4 6 ~ 7 8 6 1、及び7 8 4 6 ~ 7 8 6 2のうちの長さが等しい部分に1 0 0  
 %相補的な少なくとも8個の連続する核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する8 ~ 8 0  
 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基  
 配列は、配列番号2に対して少なくとも8 5 %、9 0 %、9 5 %、または1 0 0 %相補的  
 である、前記化合物。

10

20

〔項5〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチド  
 がC F B核酸の3' U T Rを標的とする、前記化合物。

〔項6〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号1の核酸塩基配列を有するC F B核酸のヌクレ  
 オチド2 5 7 4 ~ 2 6 2 6内を標的とする、請求項5に記載の化合物。

〔項7〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチド  
 は、配列番号1の核酸塩基配列を有するC F B核酸の核酸塩基2 4 5 7 ~ 2 6 3 1、2 4  
 5 7 ~ 2 4 7 2、2 4 5 7 ~ 2 4 7 4、2 4 5 7 ~ 2 4 7 6、2 4 5 7 ~ 2 5 6 6、2 4  
 5 7 ~ 2 5 7 0、2 4 5 7 ~ 2 5 7 1、2 4 5 7 ~ 2 5 7 2、2 4 5 7 ~ 2 5 7 3、2 4  
 5 7 ~ 2 5 7 4、2 4 5 7 ~ 2 5 7 5、2 4 5 7 ~ 2 5 7 6、2 4 5 7 ~ 2 5 7 7、2 4  
 5 7 ~ 2 5 7 8、2 4 5 7 ~ 2 5 7 9、2 4 5 7 ~ 2 5 8 0、2 4 5 7 ~ 2 5 8 1、2 4  
 5 7 ~ 2 5 8 2、2 4 5 7 ~ 2 5 8 3、2 4 5 7 ~ 2 5 8 4、2 4 5 7 ~ 2 5 8 5、2 4  
 5 7 ~ 2 5 8 6、2 4 5 7 ~ 2 5 8 7、2 4 5 7 ~ 2 5 8 8、2 4 5 7 ~ 2 5 8 9、2 4  
 5 7 ~ 2 5 9 0、2 4 5 7 ~ 2 5 9 1、2 4 5 7 ~ 2 5 9 2、2 4 5 7 ~ 2 5 9 3、2 4  
 5 7 ~ 2 5 9 4、2 4 5 7 ~ 2 5 9 5、2 4 5 7 ~ 2 5 9 6、2 4 5 7 ~ 2 5 9 7、2 4  
 5 7 ~ 2 5 9 8、2 4 5 7 ~ 2 5 9 9、2 4 5 7 ~ 2 6 0 0、2 4 5 7 ~ 2 6 0 1、2  
 4 5 7 ~ 2 6 0 2、2 4 5 7 ~ 2 6 0 3、2 4 5 7 ~ 2 6 0 4、2 4 5 7 ~ 2 6 0 5、2  
 4 5 7 ~ 2 6 0 6、2 4 5 7 ~ 2 6 0 7、2 4 5 7 ~ 2 6 0 8、2 4 5 7 ~ 2 6 0 9、2  
 4 5 7 ~ 2 6 1 0、2 4 5 7 ~ 2 6 1 1、2 4 5 7 ~ 2 6 1 2、2 4 5 7 ~ 2 6 1 3、2  
 4 5 7 ~ 2 6 1 4、2 4 5 7 ~ 2 6 1 5、2 4 5 7 ~ 2 6 1 6、2 4 5 7 ~ 2 6 1 7、2  
 4 5 7 ~ 2 6 1 8、2 4 5 7 ~ 2 6 1 9、2 4 5 7 ~ 2 6 2 0、2 4 5 7 ~ 2 6 2 1、2  
 4 5 7 ~ 2 6 2 2、2 4 5 7 ~ 2 6 2 3、2 4 5 7 ~ 2 6 2 4、2 4 5 7 ~ 2 6 2 5、2  
 4 5 7 ~ 2 6 2 6、2 4 5 7 ~ 2 6 2 7、2 4 5 7 ~ 2 6 2 8、2 4 5 7 ~ 2 6 2 9、2  
 4 5 7 ~ 2 6 3 0、2 4 5 7 ~ 2 6 3 1、2 4 5 9 ~ 2 4 7 4、2 4 5 9 ~ 2 4 7 6、2  
 4 5 9 ~ 2 5 6 6、2 4 5 9 ~ 2 5 7 0、2 4 5 9 ~ 2 5 7 1、2 4 5 9 ~ 2 5 7 2、2  
 4 5 9 ~ 2 5 7 3、2 4 5 9 ~ 2 5 7 4、2 4 5 9 ~ 2 5 7 5、2 4 5 9 ~ 2 5 7 6、2

30

40

50

50

50

|                |                    |                    |                    |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 5 7 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 2、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 3、 |
| 5 7 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 6、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 7、 |
| 5 7 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 0、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 1、 |
| 5 7 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 4、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 5、 |
| 5 7 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 8、 | 2 5 5 7 ~ 2 5 9 9、 |
| 5 7 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 2、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 3、 |
| 5 7 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 6、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 7、 |
| 5 7 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 0、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 1、 |
| 5 7 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 4、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 5、 |
| 5 7 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 8、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 1 9、 |
| 5 7 ~ 2 6 2 0、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 1、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 2、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 3、 |
| 5 7 ~ 2 6 2 4、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 5、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 6、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 7、 |
| 5 7 ~ 2 6 2 8、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 2 9、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 3 0、 | 2 5 5 7 ~ 2 6 3 1、 |
| 5 8 ~ 2 5 7 5、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 7 6、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 7 7、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 7 8、 |
| 5 8 ~ 2 5 7 9、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 2、 |
| 5 8 ~ 2 5 8 3、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 6、 |
| 5 8 ~ 2 5 8 7、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 0、 |
| 5 8 ~ 2 5 9 1、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 4、 |
| 5 8 ~ 2 5 9 5、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 5 8 ~ 2 5 9 8、 |
| 5 8 ~ 2 5 9 9、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 2、 |
| 5 8 ~ 2 6 0 3、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 6、 |
| 5 8 ~ 2 6 0 7、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 0、 |
| 5 8 ~ 2 6 1 1、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 4、 |
| 5 8 ~ 2 6 1 5、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 1 8、 |
| 5 8 ~ 2 6 1 9、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 0、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 1、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 2、 |
| 5 8 ~ 2 6 2 3、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 4、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 5、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 6、 |
| 5 8 ~ 2 6 2 7、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 8、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 2 9、 | 2 5 5 8 ~ 2 6 3 0、 |
| 5 8 ~ 2 6 3 1、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 7 6、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 7 7、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 7 8、 |
| 5 9 ~ 2 5 7 9、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 2、 |
| 5 9 ~ 2 5 8 3、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 6、 |
| 5 9 ~ 2 5 8 7、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 0、 |
| 5 9 ~ 2 5 9 1、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 4、 |
| 5 9 ~ 2 5 9 5、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 5 9 ~ 2 5 9 8、 |
| 5 9 ~ 2 5 9 9、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 2、 |
| 5 9 ~ 2 6 0 3、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 6、 |
| 5 9 ~ 2 6 0 7、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 0、 |
| 5 9 ~ 2 6 1 1、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 4、 |
| 5 9 ~ 2 6 1 5、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 1 8、 |
| 5 9 ~ 2 6 1 9、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 0、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 1、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 2、 |
| 5 9 ~ 2 6 2 3、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 4、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 5、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 6、 |
| 5 9 ~ 2 6 2 7、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 8、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 2 9、 | 2 5 5 9 ~ 2 6 3 0、 |
| 5 9 ~ 2 6 3 1、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 7 7、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 7 8、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 7 9、 |

50

|                |                    |                    |                    |     |    |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----|----|
| 6 0 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 2、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 3、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 6、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 7、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 0、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 1、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 4、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 5、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 8、 | 2 5 6 0 ~ 2 5 9 9、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 2、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 3、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 6、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 7、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 0、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 1、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 4、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 5、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 8、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 1 9、 | 2 5 | 10 |
| 6 0 ~ 2 6 2 0、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 1、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 2、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 3、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 2 4、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 5、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 6、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 7、 | 2 5 |    |
| 6 0 ~ 2 6 2 8、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 2 9、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 3 0、 | 2 5 6 0 ~ 2 6 3 1、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 5 7 8、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 7 9、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 5 8 2、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 3、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 5 8 6、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 7、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 5 9 0、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 1、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 5 9 4、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 5、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 5 9 8、 | 2 5 6 1 ~ 2 5 9 9、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 0 2、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 3、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 | 20 |
| 6 1 ~ 2 6 0 6、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 7、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 1 0、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 1、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 1 4、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 5、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 1 8、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 1 9、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 0、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 1、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 2 2、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 3、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 4、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 5、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 2 6、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 7、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 8、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 2 9、 | 2 5 |    |
| 6 1 ~ 2 6 3 0、 | 2 5 6 1 ~ 2 6 3 1、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 7 7、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 7 8、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 5 7 9、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 2、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 5 8 3、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 6、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 5 8 7、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 0、 | 2 5 | 30 |
| 6 2 ~ 2 5 9 1、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 4、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 5 9 5、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 6 2 ~ 2 5 9 8、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 5 9 9、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 2、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 0 3、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 6、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 0 7、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 0、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 1 1、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 4、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 1 5、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 1 8、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 1 9、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 0、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 1、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 2、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 2 3、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 4、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 5、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 6、 | 2 5 |    |
| 6 2 ~ 2 6 2 7、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 8、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 2 9、 | 2 5 6 2 ~ 2 6 3 0、 | 2 5 | 40 |
| 6 2 ~ 2 6 3 1、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 0、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 1、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 2、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 5 8 3、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 4、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 5、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 6、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 5 8 7、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 8、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 8 9、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 0、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 5 9 1、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 2、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 3、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 4、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 5 9 5、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 6、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 7、 | 2 5 6 3 ~ 2 5 9 8、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 5 9 9、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 0、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 1、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 2、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 6 0 3、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 4、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 5、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 6、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 6 0 7、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 8、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 0 9、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 0、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 6 1 1、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 2、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 3、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 4、 | 2 5 |    |
| 6 3 ~ 2 6 1 5、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 6、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 7、 | 2 5 6 3 ~ 2 6 1 8、 | 2 5 | 50 |



30

50

50

50

10

20

30

40

50

50

40

50

2 6 2 6、2 6 0 0 ~ 2 6 2 7、2 6 0 0 ~ 2 6 2 8、2 6 0 0 ~ 2 6 2 9、2 6 0 0 ~  
 2 6 3 0、2 6 0 0 ~ 2 6 3 1、2 6 0 1 ~ 2 6 1 6、2 6 0 1 ~ 2 6 1 7、2 6 0 1 ~  
 2 6 1 8、2 6 0 1 ~ 2 6 1 9、2 6 0 1 ~ 2 6 2 0、2 6 0 1 ~ 2 6 2 1、2 6 0 1 ~  
 2 6 2 2、2 6 0 1 ~ 2 6 2 3、2 6 0 1 ~ 2 6 2 4、2 6 0 1 ~ 2 6 2 5、2 6 0 1 ~  
 2 6 2 6、2 6 0 1 ~ 2 6 2 7、2 6 0 1 ~ 2 6 2 8、2 6 0 1 ~ 2 6 2 9、2 6 0 1 ~  
 2 6 3 0、2 6 0 1 ~ 2 6 3 1、2 6 0 2 ~ 2 6 1 8、2 6 0 2 ~ 2 6 1 9、2 6 0 2 ~  
 2 6 2 0、2 6 0 2 ~ 2 6 2 1、2 6 0 2 ~ 2 6 2 2、2 6 0 2 ~ 2 6 2 3、2 6 0 2 ~  
 2 6 2 4、2 6 0 2 ~ 2 6 2 5、2 6 0 2 ~ 2 6 2 6、2 6 0 2 ~ 2 6 2 7、2 6 0 2 ~  
 2 6 2 8、2 6 0 2 ~ 2 6 2 9、2 6 0 2 ~ 2 6 3 0、2 6 0 2 ~ 2 6 3 1、2 6 0 3 ~  
 2 6 2 0、2 6 0 3 ~ 2 6 2 1、2 6 0 3 ~ 2 6 2 2、2 6 0 3 ~ 2 6 2 3、2 6 0 3 ~ 10  
 2 6 2 4、2 6 0 3 ~ 2 6 2 5、2 6 0 3 ~ 2 6 2 6、2 6 0 3 ~ 2 6 2 7、2 6 0 3 ~  
 2 6 2 8、2 6 0 3 ~ 2 6 2 9、2 6 0 3 ~ 2 6 3 0、2 6 0 3 ~ 2 6 3 1、2 6 0 4 ~  
 2 6 1 9、2 6 0 4 ~ 2 6 2 0、2 6 0 4 ~ 2 6 2 1、2 6 0 4 ~ 2 6 2 2、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 4 ~ 2 6 2 4、2 6 0 4 ~ 2 6 2 5、2 6 0 4 ~ 2 6 2 6、2 6 0 4 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 4 ~ 2 6 2 8、2 6 0 4 ~ 2 6 2 9、2 6 0 4 ~ 2 6 3 0、2 6 0 4 ~  
 2 6 3 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 0、2 6 0 5 ~ 2 6 2 1、2 6 0 5 ~ 2 6 2 2、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 3、2 6 0 5 ~ 2 6 2 4、2 6 0 5 ~ 2 6 2 5、2 6 0 5 ~ 2 6 2 6、2 6 0 5 ~  
 2 6 2 7、2 6 0 5 ~ 2 6 2 8、2 6 0 5 ~ 2 6 2 9、2 6 0 5 ~ 2 6 3 0、2 6 0 5 ~  
 2 6 3 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 1、2 6 0 6 ~ 2 6 2 2、2 6 0 6 ~ 2 6 2 3、2 6 0 6 ~  
 2 6 2 4、2 6 0 6 ~ 2 6 2 5、2 6 0 6 ~ 2 6 2 6、2 6 0 6 ~ 2 6 2 7、2 6 0 6 ~ 20  
 2 6 2 8、2 6 0 6 ~ 2 6 2 9、2 6 0 6 ~ 2 6 3 0、2 6 0 6 ~ 2 6 3 1、2 6 0 7 ~  
 2 6 2 2、2 6 0 7 ~ 2 6 2 3、2 6 0 7 ~ 2 6 2 4、2 6 0 7 ~ 2 6 2 5、2 6 0 7 ~  
 2 6 2 6、2 6 0 7 ~ 2 6 2 7、2 6 0 7 ~ 2 6 2 8、2 6 0 7 ~ 2 6 2 9、2 6 0 7 ~  
 2 6 3 0、2 6 0 7 ~ 2 6 3 1、2 6 0 8 ~ 2 6 2 3、2 6 0 8 ~ 2 6 2 4、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 5、2 6 0 8 ~ 2 6 2 6、2 6 0 8 ~ 2 6 2 7、2 6 0 8 ~ 2 6 2 8、2 6 0 8 ~  
 2 6 2 9、2 6 0 8 ~ 2 6 3 0、2 6 0 8 ~ 2 6 3 1、2 6 0 9 ~ 2 6 2 4、2 6 0 9 ~  
 2 6 2 5、2 6 0 9 ~ 2 6 2 6、2 6 0 9 ~ 2 6 2 7、2 6 0 9 ~ 2 6 2 8、2 6 0 9 ~  
 2 6 2 9、2 6 0 9 ~ 2 6 3 0、2 6 0 9 ~ 2 6 3 1、2 6 1 0 ~ 2 6 2 5、2 6 1 0 ~  
 2 6 2 6、2 6 1 0 ~ 2 6 2 7、2 6 1 0 ~ 2 6 2 8、2 6 1 0 ~ 2 6 2 9、2 6 1 0 ~  
 2 6 3 0、2 6 1 0 ~ 2 6 3 1、2 6 1 1 ~ 2 6 2 6、2 6 1 1 ~ 2 6 2 7、2 6 1 1 ~ 30  
 2 6 2 8、2 6 1 1 ~ 2 6 2 9、2 6 1 1 ~ 2 6 3 0、2 6 1 1 ~ 2 6 3 1、2 6 1 2 ~  
 2 6 2 7、2 6 1 2 ~ 2 6 2 8、2 6 1 2 ~ 2 6 2 9、2 6 1 2 ~ 2 6 3 0、2 6 1 2 ~  
 2 6 3 1、2 6 1 3 ~ 2 6 2 8、2 6 1 3 ~ 2 6 2 9、2 6 1 3 ~ 2 6 3 0、2 6 1 3 ~  
 2 6 3 1、2 6 1 4 ~ 2 6 2 9、2 6 1 4 ~ 2 6 3 0、2 6 1 4 ~ 2 6 3 1、2 6 1 5 ~  
 2 6 3 0、2 6 1 5 ~ 2 6 3 1、または 2 6 1 6 ~ 2 6 3 1 のうちの長さが等しい部分に  
 相補的な少なくとも 8 個の連続する核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 8 ~ 8 0 個  
 の連結されたヌクレオシドからなり、かつ前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配  
 列が配列番号 1 に相補的である、前記化合物。

〔項 8〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチド  
 が、配列番号 1 のヌクレオチド 2 1 9 3 ~ 2 2 1 2、2 1 9 5 ~ 2 2 1 0、2 4 5 7 ~ 2  
 4 7 6、2 5 7 1 ~ 2 5 9 0、2 5 8 4 ~ 2 6 0 3、2 5 8 8 ~ 2 6 0 7、2 5 9 2 ~ 2  
 6 1 1、2 5 9 4 ~ 2 6 1 3、2 5 9 7 ~ 2 6 1 6、2 6 0 0 ~ 2 6 1 9、または 2 5 9  
 6 ~ 2 6 1 1 内で相補的な 8 ~ 8 0 個の連結されたヌクレオシドからなる、前記化合物。

〔項 9〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチド  
 が、配列番号 1 9 8、2 2 8、2 3 7、4 4 0、4 4 4、4 4 8、4 5 0、4 5 3、4 5  
 5、5 4 9、及び 5 9 8 のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する 8 ~ 8 0 個の連結さ  
 れたヌクレオシドからなる、前記化合物。

〔項 10〕

10

20

30

40

50

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、455、549、及び 598 のいずれか一つからなる核酸塩基配列を有する、前記化合物。〔項 11〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが 10～30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6～808 の核酸塩基配列のいずれかの少なくとも 8 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 12〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが 10～30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6～808 の核酸塩基配列のいずれかの少なくとも 9 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 13〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが 10～30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6～808 の核酸塩基配列のいずれかの少なくとも 10 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 14〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが 10～30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6～808 の核酸塩基配列のいずれかの少なくとも 11 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 15〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが 10～30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6～808 の核酸塩基配列のいずれかの少なくとも 12 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 16〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが 10～30 個の連結されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 6～808 のいずれか一つの核酸塩基配列を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 17〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが配列番号 6～808 のいずれか一つの核酸塩基配列からなる、前記化合物。

〔項 18〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 84、238、239、317、412、413、420、421、426、434、436、437、438、439、440、442、443、444、445、446、448、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、464、465、472、473、514、515、542、543、544、545、546、551、553、555、556、599、600、601、602、610、616、617、618、662、666、670、676、677、678、688、689、713、723、729、730、740、741、742、743、744、745、746、747、748、749、755、756、768、783、793、833、及び 867 のいずれか一つの少なくとも 8 核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する、前記化合物。

〔項 19〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 198、228、237、440、444、448、450、453、45

10

20

30

40

50



5、549、及び598のいずれか一つを含む核酸塩基配列を有する10～30個の連結されたヌクレオシドからなり、前記修飾オリゴヌクレオチドが、  
 連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
 連結されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメント、及び  
 連結されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメント  
 を含み、前記ギャップセグメントは前記5'ウイングセグメントと前記3'ウイングセグメントの間に配置されており、かつ各ウイングセグメントの各ヌクレオシドが修飾糖を含む、前記化合物。

〔項20〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号198、228、237、440、444、448、450、453、または455に示す配列からなる核酸塩基配列を有する20個の連結されたヌクレオシドからなり、前記修飾オリゴヌクレオチドが

10

10個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
 5個の連結されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメント、及び  
 5個の連結されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメント

を含み、前記ギャップセグメントは前記5'ウイングセグメントと前記3'ウイングセグメントの間に配置されており、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは2'-O-メトキシエチル糖を含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、かつ各シトシンが5-メチルシトシンである、前記化合物。

20

〔項21〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号598に示す配列からなる核酸塩基配列を有する16個の連結されたヌクレオシドからなり、前記修飾オリゴヌクレオチドが

10個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
 3個の連結されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメント、及び  
 3個の連結されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメント

を含み、前記ギャップセグメントは前記5'ウイングセグメントと前記3'ウイングセグメントの間に配置されており、前記5'ウイングセグメントは2'-O-メトキシエチル糖、2'-O-メトキシエチル糖、及びcEt糖を5'3'方向に含み、前記3'ウイングセグメントはcEt糖、cEt糖、及び2'-O-メトキシエチル糖を5'3'方向に含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、かつ各シトシンが5-メチルシトシンである、前記化合物。

30

〔項22〕

修飾オリゴヌクレオチドと共役基とを含む化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号549に示す配列からなる核酸塩基配列を有する16個の連結されたヌクレオシドからなり、前記修飾オリゴヌクレオチドが

10個の連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、  
 3個の連結されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメント、及び  
 3個の連結されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメント

を含み、前記ギャップセグメントは前記5'ウイングセグメントと前記3'ウイングセグメントの間に配置されており、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドはcEt糖を含み、各ヌクレオシド間連結部はホスホロチオエート連結部であり、かつ各シトシンが5-メチルシトシンである、前記化合物。

40

〔項23〕

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1または配列番号2に少なくとも80%、85%、90%、95%または100%相補的である、請求項1～22のいずれか一項に記載の化合物。

〔項24〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間連結部、少なくとも

50

も 1 つの修飾糖、または少なくとも 1 つの修飾核酸塩基を含む、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 2 5〕

前記修飾ヌクレオシド間連結部がホスホロチオエートヌクレオシド間連結部である、請求項 2 4 に記載の化合物。

〔項 2 6〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

〔項 2 7〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 2 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

10

〔項 2 8〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 3 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

〔項 2 9〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 4 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

〔項 3 0〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 5 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

20

〔項 3 1〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 6 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

〔項 3 2〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 7 つのホスホジエステルヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

〔項 3 3〕

前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部が、ホスホジエステルヌクレオシド間連結部及びホスホロチオエートヌクレオシド間連結部から選択される、請求項 2 6 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の化合物。

30

〔項 3 4〕

前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間連結部がホスホロチオエートヌクレオシド間連結部を含む、請求項 2 5 に記載の化合物。

〔項 3 5〕

前記修飾糖が二環式糖である、請求項 2 4 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 3 6〕

前記二環式糖が、 $4' - (CH_2) - O - 2' (LNA)$ 、 $4' - (CH)_2 - O - 2' (ENA)$ 、及び  $4' - CH(CH_3) - O - 2' (cet)$  からなる群より選択される、請求項 3 5 に記載の化合物。

〔項 3 7〕

40

前記修飾糖が  $2' - O -$  メトキシエチルである、請求項 2 4 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 3 8〕

前記修飾核酸塩基が 5 - メチルシトシンである、請求項 2 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 3 9〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが

- (a) 連結されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメント、
- (b) 連結されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメント、及び
- (c) 連結されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメント；

50

を含み、前記ギャップセグメントが前記 5' ウィングセグメント及び前記 3' ウィングセグメントに直接隣り合うように、前記 5' ウィングセグメントと前記 3' ウィングセグメントの間に配置され、各ウィングセグメントの各ヌクレオシドが修飾糖を含む、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 40〕

一本鎖である、請求項 1 ~ 39 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 41〕

二本鎖である、請求項 1 ~ 39 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 42〕

リボヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 41 のいずれか一項に記載の化合物。

10

〔項 43〕

デオキシリボヌクレオチドを含む、請求項 1 ~ 41 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 44〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが 10 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる、請求項 1 ~ 43 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 45〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが 12 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる、請求項 1 ~ 43 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 46〕

前記修飾オリゴヌクレオチドが 15 ~ 30 個の連結されたヌクレオシドからなる、請求項 1 ~ 43 のいずれか一項に記載の化合物。

20

〔項 47〕

ISIS532770、ISIS532800、ISIS532809、ISIS588540、ISIS588544、ISIS588548、ISIS588550、ISIS588553、ISIS588555、ISIS588848、またはISIS594430と、共役基とからなる化合物。

〔項 48〕

前記共役基が前記修飾オリゴヌクレオチドの 5' 端で前記修飾オリゴヌクレオチドに連結されている、請求項 1 ~ 47 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 49〕

30

前記共役基が前記修飾オリゴヌクレオチドの 3' 端で前記修飾オリゴヌクレオチドに連結されている、請求項 1 ~ 47 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 50〕

前記共役基が厳密に 1 つのリガンドを含む、請求項 1 ~ 49 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 51〕

前記共役基が厳密に 2 つのリガンドを含む、請求項 1 ~ 49 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 52〕

前記共役基が 3 つ以上のリガンドを含む、請求項 1 ~ 49 のいずれか一項に記載の化合物。

40

〔項 53〕

前記共役基が厳密に 3 つのリガンドを含む、請求項 1 ~ 49 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 54〕

各リガンドが多糖、修飾多糖、マンノース、ガラクトース、マンノース誘導体、ガラクトース誘導体、D-マンノピラノース、L-マンノピラノース、D-アラビノース、L-ガラクトース、D-キシロフラノース、L-キシロフラノース、D-グルコース、L-グルコース、D-ガラクトース、L-ガラクトース、-D-マンノフラノース、-D-マンノフラノース、-D-マンノピラノース、-D-マンノピラノース、-D-グルコピラノース、-D-グルコピラノース、-D-グルコフラノース、-D-グルコ

50

フラノース、  
- D - フルクトフラノース、  
- D - フルクトピラノース、  
- D - ガラクトピラノース、  
- D - ガラクトピラノース、  
- D - ガラクトフラノース、  
- D - ガラクトフラノース、グルコサミン、シアル酸、  
- D - ガラクトサミン、N - アセチルガラクトサミン、2 - アミノ - 3 - O - [ ( R ) - 1 - カルボキシエチル ] - 2 - デオキシ -  
- D - グルコピラノース、2 - デオキシ - 2 - メチルアミノ - L - グルコピラノース、4 , 6 - ジデオキシ - 4 - ホルムアミド - 2 , 3 - ジ - O - メチル - D - マンノピラノース、2 - デオキシ - 2 - スルホアミノ - D - グルコピラノース、N - グリコロイル -  
- ノイラミン酸、5 - チオ -  
- D - グルコピラノース、メチル 2 , 3 , 4 - トリ - O - アセチル - 1 - チオ - 6 - O - トリチル -  
- D - グルコピラノシド、4 - チオ -  
- D - ガラクトピラノース、エチル 3 , 4 , 6 , 7 - テトラ - O - アセチル - 2 - デオキシ - 1 , 5 - ジチオ -  
- D - グルコ - ヘプトピラノシド、2 , 5 - アンヒドロ - D - アロノニトリル、リボース、D - リボース、D - 4 - チオリボース、L - リボース、L - 4 - チオリボースのなかから選択される、請求項 5 0 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の化合物。

10

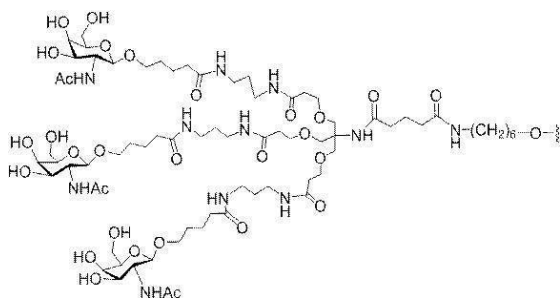
〔項 5 5〕

各リガンドが N - アセチルガラクトサミンである、請求項 5 4 に記載の化合物。

〔項 5 6〕

前記共役基が

【化 1 0 0 1】



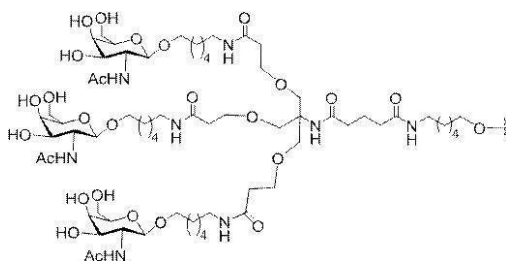
20

を含む、請求項 1 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 5 7〕

前記共役基が

【化 1 0 0 2】



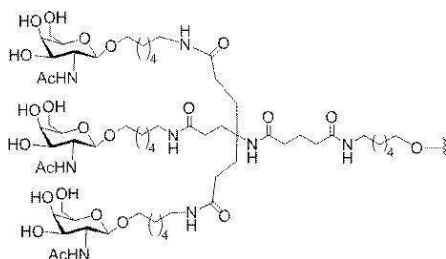
30

を含む、請求項 1 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 5 8〕

前記共役基が

【化 1 0 0 3】



40

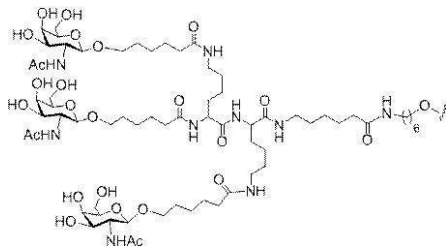
50

を含む、請求項 1 ～ 55 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 59〕

前記共役基が

【化 1004】



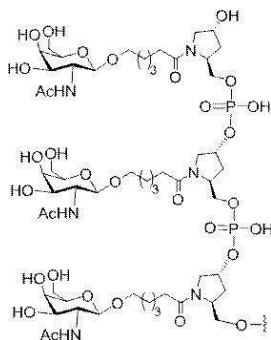
10

を含む、請求項 1 ～ 55 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 60〕

前記共役基が

【化 1005】



20

を含む、請求項 1 ～ 55 のいずれか一項に記載の化合物。

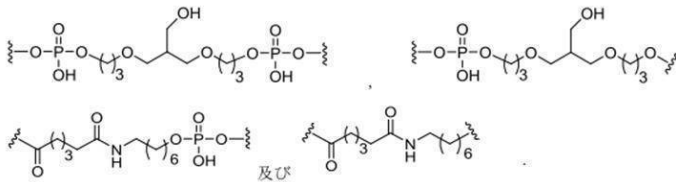
〔項 61〕

前記共役基が少なくとも 1 つのリン連結基または中性連結基を含む、請求項 49 ～ 60 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 62〕

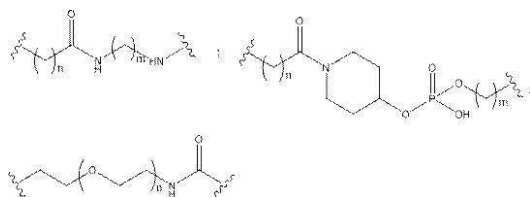
前記共役基が

【化 1006】



30

【化 1007】



40

;

〔式中、

n は 1 ～ 12 であり、かつ

m は 1 ～ 12 である〕

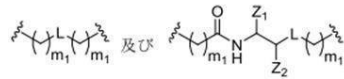
50

のなかから選択される構造を含む、請求項 1 ～ 6 1 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 6 3〕

前記共役基が、

【化 1 0 0 8】



〔式中、

L は、リン連結基または中性連結基のどちらかであり、

Z<sub>1</sub> は、C(=O)O-R<sub>2</sub> であり、

Z<sub>2</sub> は、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルまたは置換 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルであり、

R<sub>2</sub> は、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルまたは置換 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルであり、かつ

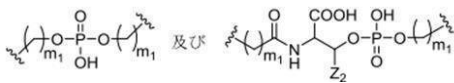
各 m<sub>1</sub> は、独立して、0 ～ 20 であって、各テザーにつき少なくとも 1 つの m<sub>1</sub> は 0 より大きい]

のなかから選択される構造を有するテザーを有する、請求項 1 ～ 6 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 6 4〕

前記共役基が、

【化 1 0 0 9】



〔式中、

Z<sub>2</sub> は、H または C H<sub>3</sub> であり、かつ

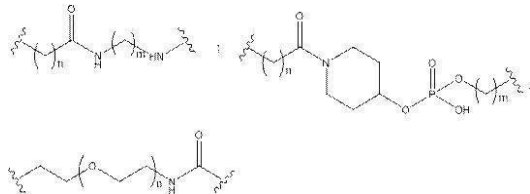
各 m<sub>1</sub> は、独立して、0 ～ 20 であって、各テザーにつき少なくとも 1 つの m<sub>1</sub> は 0 より大きい]

のなかから選択される構造を有するテザーを有する、請求項 6 3 に記載の化合物。

〔項 6 5〕

前記共役基が

【化 1 0 0 1 0】



〔式中、

n は 1 ～ 12 であり、かつ

m は 1 ～ 12 である]

のなかから選択される構造を有するテザーを有する、請求項 1 ～ 6 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 6 6〕

前記共役基が、前記修飾オリゴヌクレオチドに共有結合で取り付けられている、請求項 1 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 6 7〕

式：

【化 1 0 0 1 1】



10

20

30

40

50

[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

B は前記切断可能部分であり、

C は前記共役リンカーであり、

D は前記分岐基であり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、かつ

q は 1 と 5 の間の整数である ]

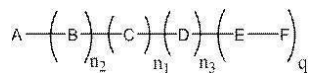
によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 68 ]

10

式：

【化 10012】



[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

B は前記切断可能部分であり、

C は前記共役リンカーであり、

D は前記分岐基であり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、

各 n は独立して 0 または 1 であり、かつ

q は 1 と 5 の間の整数である ]

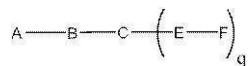
によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 69 ]

20

式：

【化 10013】



30

[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

B は前記切断可能部分であり、

C は前記共役リンカーであり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、かつ

q は 1 と 5 の間の整数である ]

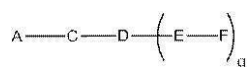
によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 70 ]

40

式：

【化 10014】



[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

C は前記共役リンカーであり、

D は前記分岐基であり、

各 E はテザーであり、

50

各 F はリガンドであり、かつ

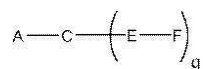
q は 1 と 5 の間の整数である ]

によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 7 1 ]

式：

【化 1 0 0 1 5】



[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

C は前記共役リンカーであり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、かつ

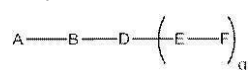
q は 1 と 5 の間の整数である ]

によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 7 2 ]

式：

【化 1 0 0 1 6】



[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

B は前記切断可能部分であり、

D は前記分岐基であり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、かつ

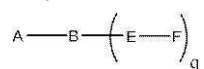
q は 1 と 5 の間の整数である ]

によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 7 3 ]

式：

【化 1 0 0 1 7】



[ 式中、

A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

B は前記切断可能部分であり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、かつ

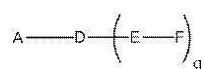
q は 1 と 5 の間の整数である ]

によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 7 4 ]

式：

【化 1 0 0 1 8】



[ 式中、



A は前記修飾オリゴヌクレオチドであり、

D は前記分岐基であり、

各 E はテザーであり、

各 F はリガンドであり、かつ

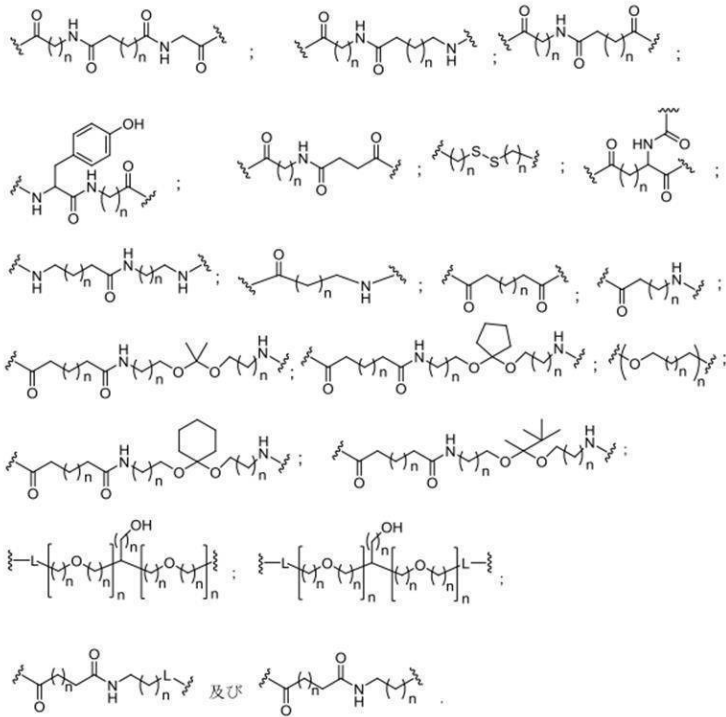
q は 1 と 5 の間の整数である ]

によって表される構造を有する、請求項 1 ～ 66 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 7 5 ]

前記共役リンカーが

【化 1 0 0 1 9】



10

20

[ 式中、

各 L は、独立して、リン連結基または中性連結基であり、かつ

各 n は、独立して、1 ～ 20 である ]

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ～ 74 のいずれか一項に記載の化合物。 [ 項 7 6 ]

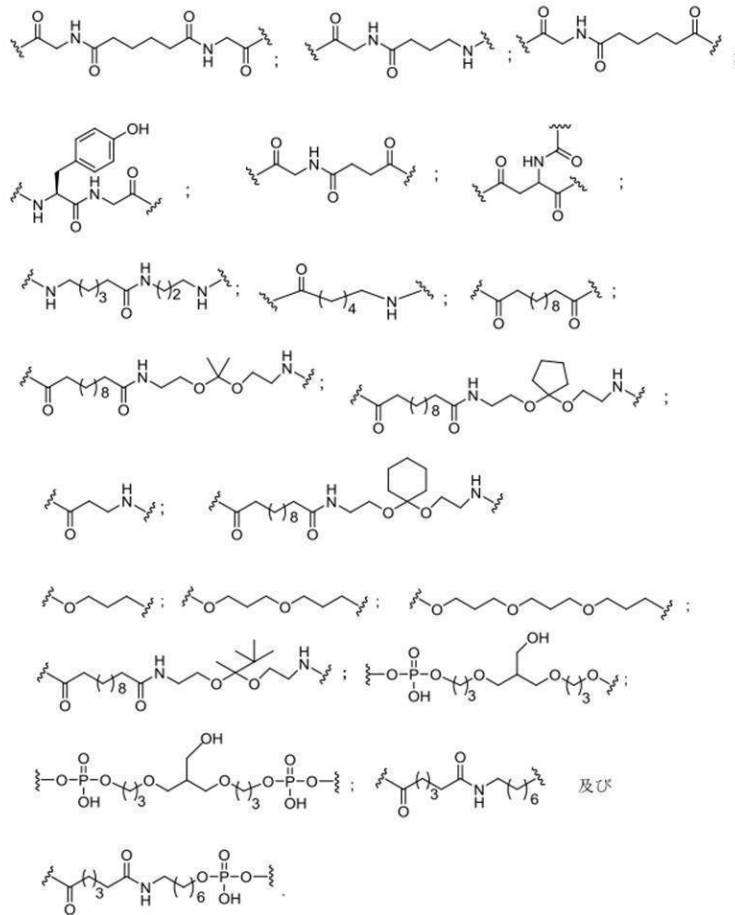
前記共役リンカーが

30

40

50

## 【化 1 0 0 2 0】

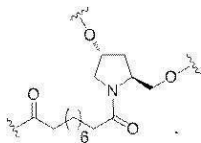


10

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の化合物。〔項 7 7〕

前記共役リンカーが以下の構造を有する、請求項 1 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 2 1】



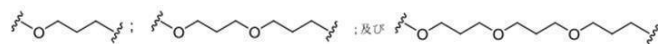
30

。

〔項 7 8〕

前記共役リンカーが

## 【化 1 0 0 2 2】



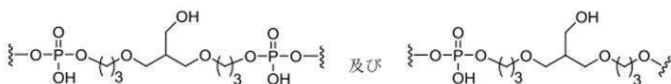
40

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 7 9〕

前記共役リンカーが

## 【化 1 0 0 2 3】



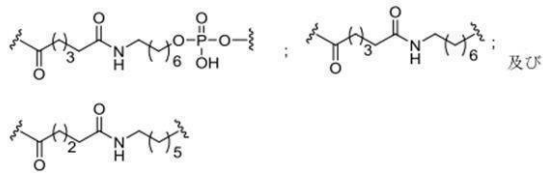
のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 0〕

50

前記共役リンカーが

【化 1 0 0 2 4】



のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ～ 7 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 1〕

前記共役リンカーがピロリジンを含む、請求項 1 ～ 8 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 2〕

前記共役リンカーがピロリジンを含まない、請求項 1 ～ 8 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 3〕

前記共役リンカーが P E G を含む、請求項 1 ～ 8 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 4〕

前記共役リンカーがアミドを含む、請求項 1 ～ 8 3 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 5〕

前記共役リンカーが少なくとも 2 つのアミドを含む、請求項 1 ～ 8 4 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 6〕

前記共役リンカーがアミドを含まない、請求項 1 ～ 8 3 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 7〕

前記共役リンカーがポリアミドを含む、請求項 1 ～ 8 6 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 8〕

前記共役リンカーがアミンを含む、請求項 1 ～ 8 7 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 8 9〕

前記共役リンカーが 1 つ以上のジスルフィド結合を含む、請求項 1 ～ 8 8 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 9 0〕

前記共役リンカーがタンパク質結合部分を含む、請求項 1 ～ 8 9 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 9 1〕

前記タンパク質結合部分が脂質を含む、請求項 9 0 に記載の化合物。

〔項 9 2〕

前記タンパク質結合部分が、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、1 - ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、1, 3 - ビス - O (ヘキサデシル) グリセロール、グラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、1, 3 - プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、O 3 - (オレオイル) リトコール酸、O 3 - (オレオイル) コレン酸、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジン)、ビタミン (例えば葉酸、ビタミン A、ビタミン E、ビオチン、ピリドキサル)、ペプチド、炭水化物 (例えば単糖、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖、多糖)、エンドソーム溶解成分、ステロイド (例えばウバオール、ヘシゲニン (h e c i g e n i n)、ジオスゲニン)、テルペン (例えばトリテルペン、例えばサルササポゲニン、フリーデリン、エピフリーデラノール誘導体化リトコール酸)、またはカチオン性脂質のなかから選択される、請求項 9 0 に記載の化合物。

〔項 9 3〕

前記タンパク質結合部分が、C 1 6 ~ C 2 2 長鎖飽和または不飽和脂肪酸、コレステロール、コール酸、ビタミン E、アダマンタンまたは 1 - ペンタフルオロプロピルのなかから

10

20

30

40

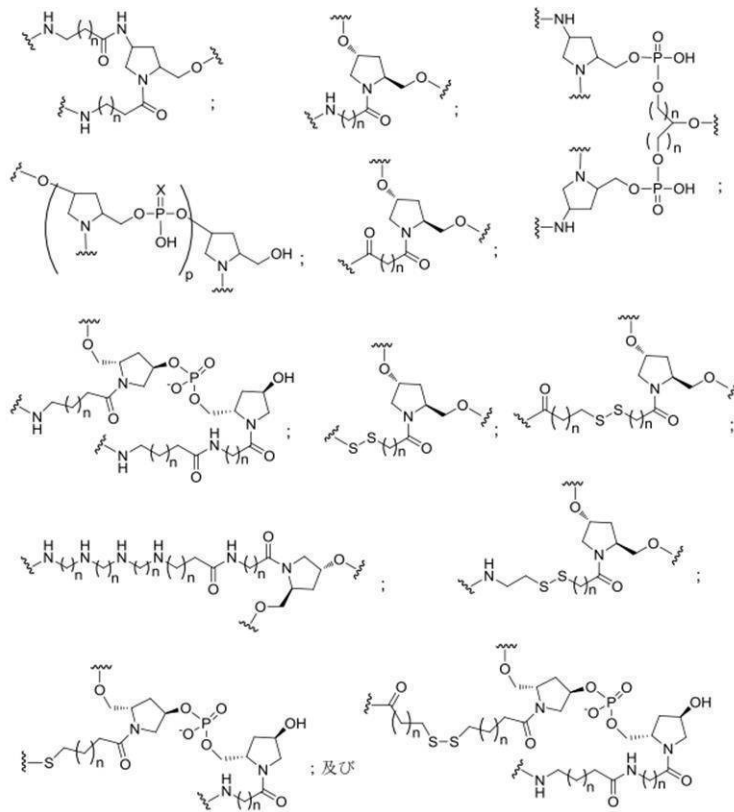
50

選択される、請求項 90 に記載の化合物。

[ 項 94 ]

前記共役リンカーが

【化 10025】



10

20

[ 式中、各 n は、独立して、1 ~ 20 であり、かつ p は 1 ~ 6 である ]

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 93 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 95 ]

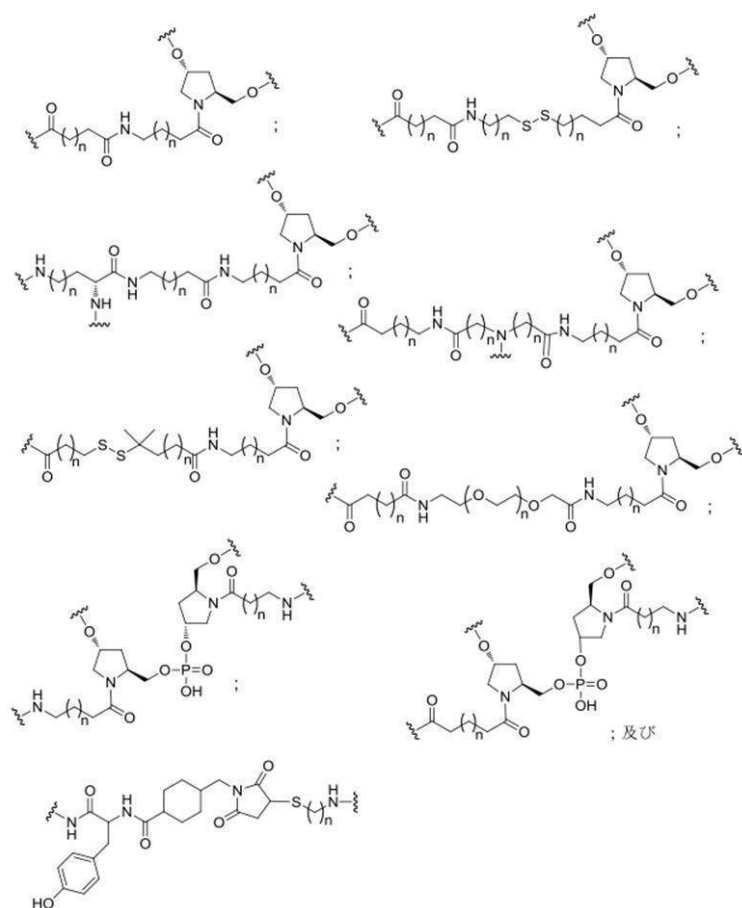
前記共役リンカーが

30

40

50

【化 1 0 0 2 6】



10

20

〔式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 である〕

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 94 のいずれか一項に記載の化合物。〔項 96〕

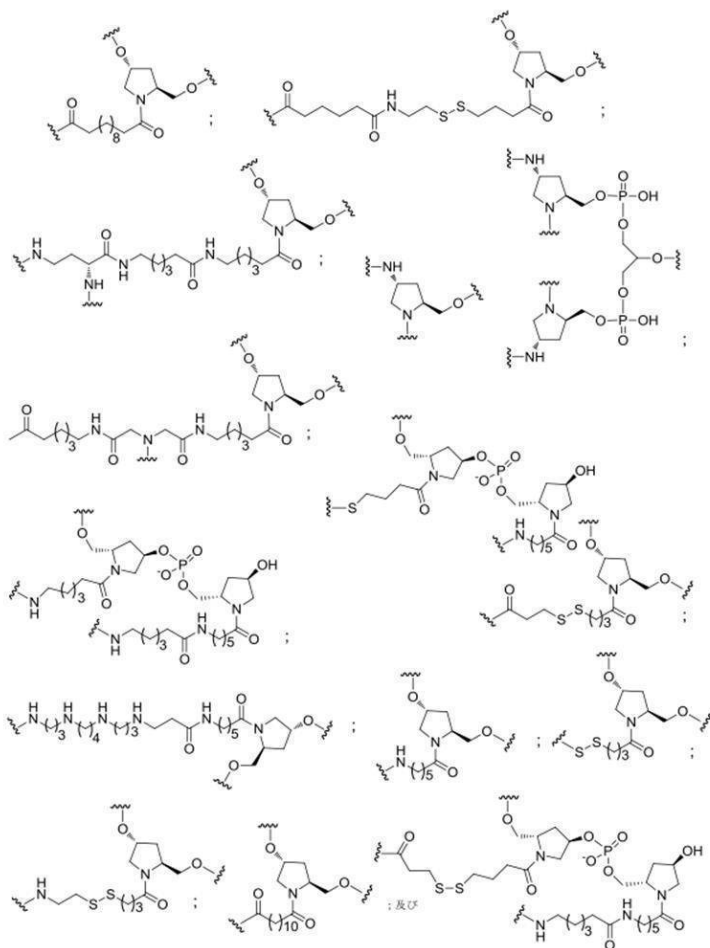
前記共役リンカーが

30

40

50

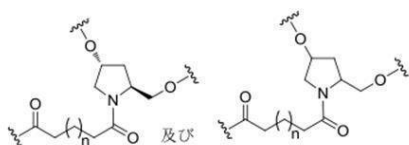
【化 1 0 0 2 7】



のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の化合物。〔項 9 7 〕

前記共役リンカーが

【化 1 0 0 2 8】

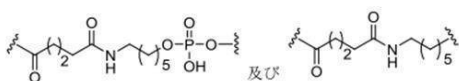


[ 式中、 $n$  は 1 ~ 20 である ]

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の化合物。〔項 9 8 〕

前記共役リンカーが

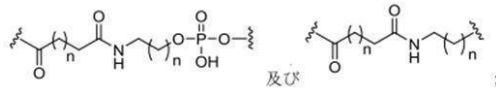
【化 1 0 0 2 9】



のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の化合物。〔項 9 9 〕

前記共役リンカーが

## 【化 1 0 0 3 0】

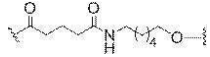


[ 式中、各  $n$  は、独立して、0、1、2、3、4、5、6、または7である ]

のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の化合物。〔項 1 0 0〕

前記共役リンカーが以下の構造を有する、請求項 1 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 3 1】



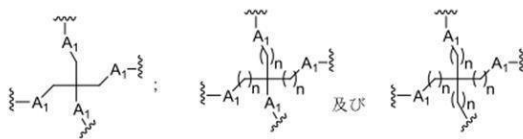
10

。

## 〔項 1 0 1〕

前記分岐基が以下の構造のうちの一つを有する、請求項 1 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 3 2】



20

[ 式中、

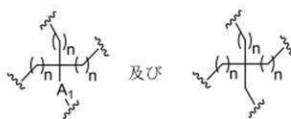
各  $A_1$  は、独立して、O、S、C = OまたはNHであり、かつ

各  $n$  は、独立して、1 ~ 2 0である ]。

## 〔項 1 0 2〕

前記分岐基が以下の構造のうちの一つを有する、請求項 1 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 3 3】



30

[ 式中、

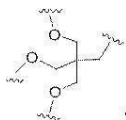
各  $A_1$  は、独立して、O、S、C = OまたはNHであり、かつ

各  $n$  は、独立して、1 ~ 2 0である ]。

## 〔項 1 0 3〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 3 4】



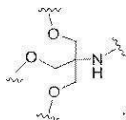
40

。

## 〔項 1 0 4〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 3 5】



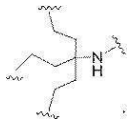
50

。

〔項 105〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ~ 100 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 10036】

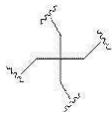


。

〔項 106〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ~ 100 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 10037】



。

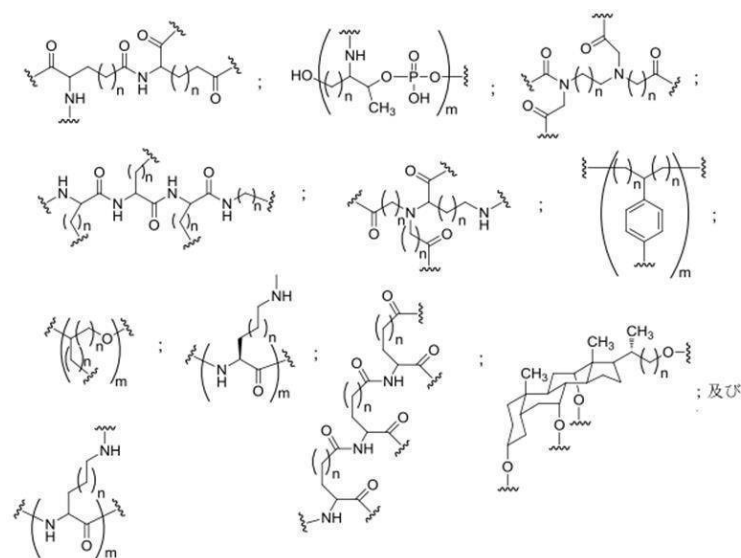
〔項 107〕

前記分岐基がエーテルを含む、請求項 1 ~ 100 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 108〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ~ 100 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 10038】



〔各 n は、独立して、1 ~ 20 であり、かつ

m は 2 ~ 6 である〕。

〔項 109〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ~ 100 のいずれか一項に記載の化合物：

10

20

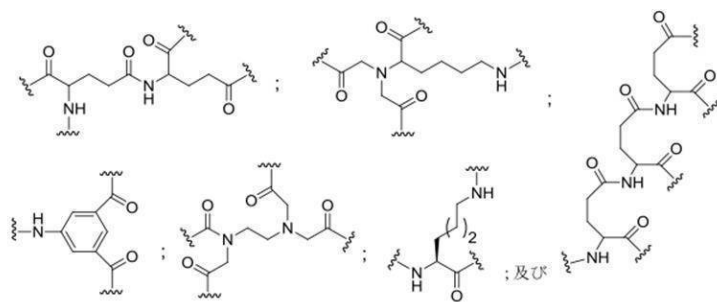
30

40

50



## 【化 1 0 0 3 9】



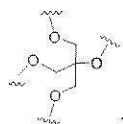
10

。

## 〔 項 1 1 0 〕

前記分岐基が以下の構造を有する、請求項 1 ～ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 4 0】

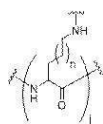


。

## 〔 項 1 1 1 〕

前記分岐基が

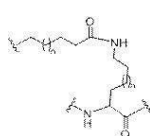
## 【化 1 0 0 4 1】



20

、

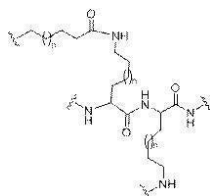
## 【化 1 0 0 4 2】



30

、

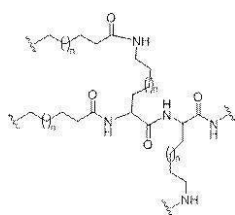
## 【化 1 0 0 4 3】



40

、

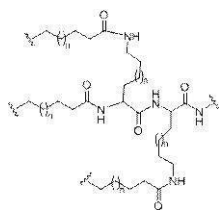
## 【化 1 0 0 4 4】



、または

50

## 【化 1 0 0 4 5】



[ 式中、

各  $j$  は 1 ～ 3 の整数であり、かつ

各  $n$  は 1 ～ 2 0 の整数である ]

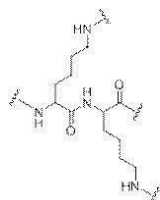
10

を含む、請求項 1 ～ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 1 2 ]

前記分岐基が

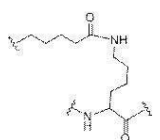
## 【化 1 0 0 4 6】



20

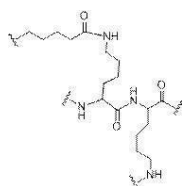
、

## 【化 1 0 0 4 7】



、

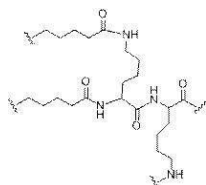
## 【化 1 0 0 4 8】



30

、

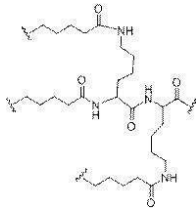
## 【化 1 0 0 4 9】



40

、または

## 【化 1 0 0 5 0】



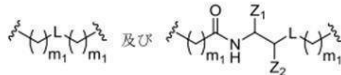
を含む、請求項 1 ~ 1 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 3〕

各テザーが

10

## 【化 1 0 0 5 1】



〔式中、

L は、リン連結基及び中性連結基から選択され、

Z<sub>1</sub> は、C(=O)O-R<sub>2</sub> であり、

Z<sub>2</sub> は、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルまたは置換 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルであり、

R<sub>2</sub> は、H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルまたは置換 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルであり、かつ

各 m<sub>1</sub> は、独立して、0 ~ 20 であって、各テザーにつき少なくとも 1 つの m<sub>1</sub> は 0 より大きい]

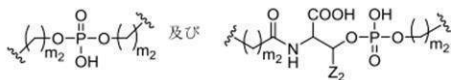
20

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 1 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 4〕

各テザーが

## 【化 1 0 0 5 2】



〔式中、

Z<sub>2</sub> は、H または C H<sub>3</sub> であり、

30

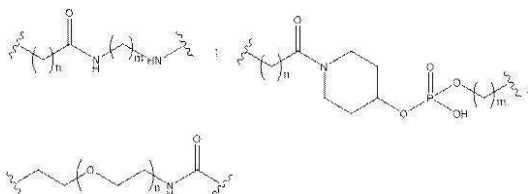
各 m<sub>2</sub> は、独立して、0 ~ 20 であって、各テザーにつき少なくとも 1 つの m<sub>2</sub> は 0 より大きい]

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 1 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 5〕

各テザーが

## 【化 1 0 0 5 3】



40

〔式中、

n は 1 ~ 12 であり、かつ

m は 1 ~ 12 である]

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 1 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 6〕

少なくとも 1 つのテザーがエチレングリコールを含む、請求項 1 ~ 1 1 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 7〕

50

少なくとも 1 つのテザーがアミドを含む、請求項 1 ~ 1 1 6 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 8〕

少なくとも 1 つのテザーがポリアミドを含む、請求項 1 ~ 1 1 7 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 1 9〕

少なくとも 1 つのテザーがアミンを含む、請求項 1 ~ 1 1 8 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 2 0〕

少なくとも 2 つのテザーが互いに異なる、請求項 1 ~ 1 1 9 のいずれか一項に記載の化合物。

10

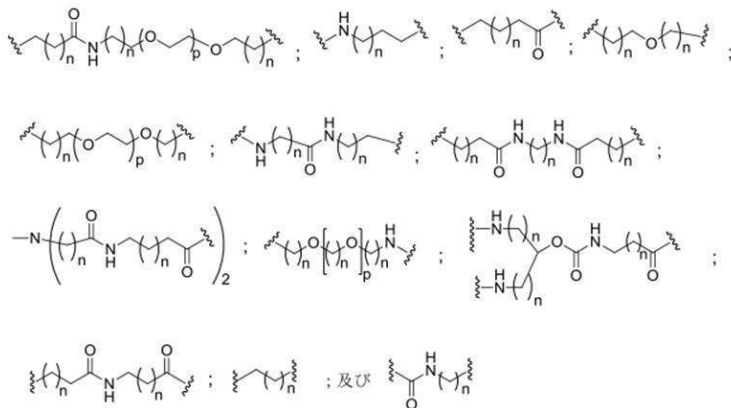
〔項 1 2 1〕

すべてのテザーが互いに同じである、請求項 1 ~ 1 2 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 2 2〕

各テザーが

【化 1 0 0 5 4】



20

〔式中、

各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 であり、かつ

30

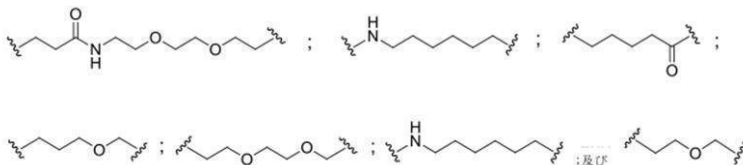
各  $p$  は 1 ~ 約 6 である〕

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 2 1 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 2 3〕

各テザーが

【化 1 0 0 5 5】



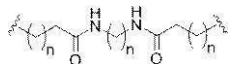
40

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 2 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 2 4〕

各テザーが以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 2 3 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 1 0 0 5 6】



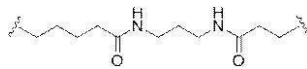
〔式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 である〕。

〔項 1 2 5〕

50

各テザーが以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 2 4 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 1 0 0 5 7】

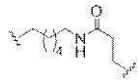


。

〔項 1 2 6〕

前記テザーが、

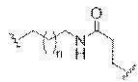
【化 1 0 0 5 8】



10

、または

【化 1 0 0 5 9】



〔式中、各  $n$  は、独立して、0、1、2、3、4、5、6、または7である〕

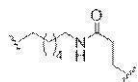
のなかから選択される構造を有する、請求項 1 ~ 1 2 5 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 2 7〕

20

前記テザーが構造：

【化 1 0 0 6 0】



を有する、請求項 1 2 6 に記載の化合物。

〔項 1 2 8〕

$n$  が3である、請求項 1 2 6 に記載の化合物。

〔項 1 2 9〕

前記リガンドがガラクトースである、請求項 1 ~ 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

30

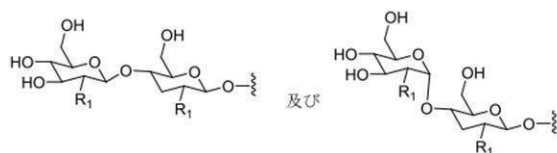
〔項 1 3 0〕

前記リガンドがマンノース - 6 - ホスフェートである、請求項 1 ~ 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 3 1〕

各リガンドが、

【化 1 0 0 6 1】



40

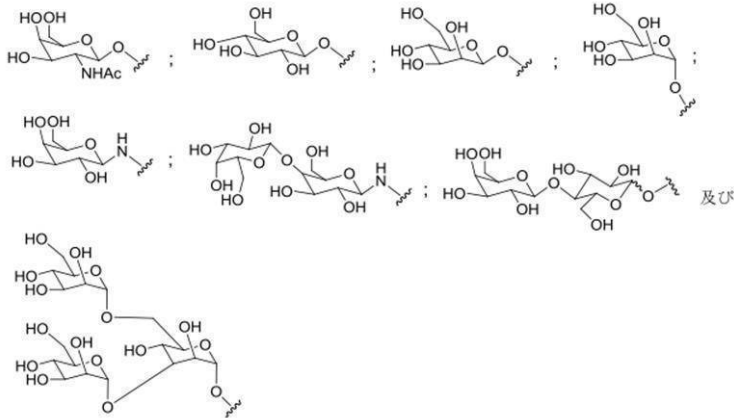
〔式中、各  $R_1$  は  $OH$  及び  $NHCOOH$  から選択される〕

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 1 3 2〕

各リガンドが、

## 【化 1 0 0 6 2】



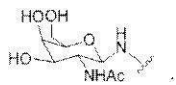
10

のなかから選択される、請求項 1 ~ 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

## 〔項 1 3 3〕

各リガンドが以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 6 3】



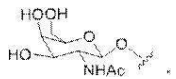
20

。

## 〔項 1 3 4〕

各リガンドが以下の構造を有する、請求項 1 2 4 ~ 1 2 7 のいずれか一項に記載の共役アンチセンス化合物：

## 【化 1 0 0 6 4】



。

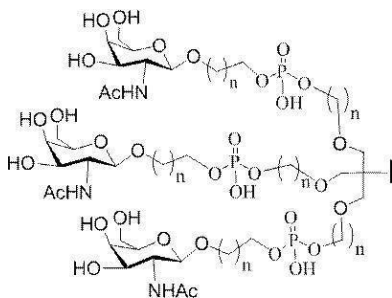
## 〔項 1 3 5〕

前記共役基が細胞ターゲティング部分を含む、請求項 1 ~ 1 3 4 のいずれか一項に記載の化合物。

## 〔項 1 3 6〕

前記共役基が以下の構造を有する細胞ターゲティング部分を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 6 5】



40

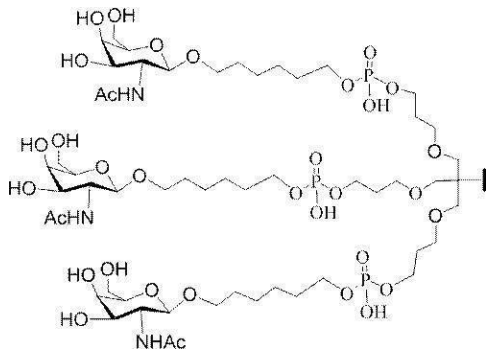
[ 式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 2 0 である ]。

## 〔項 1 3 7〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

50

## 【化 1 0 0 6 6】



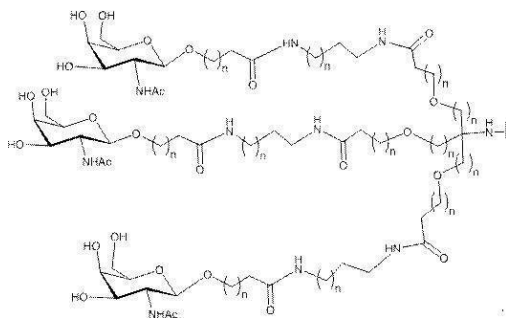
10

。

## 〔 項 1 3 8 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 6 7】



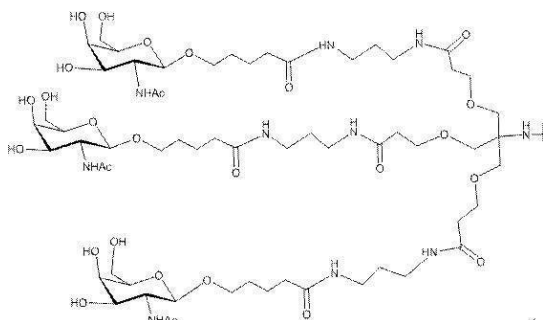
20

[ 式中、各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 である ]。

## 〔 項 1 3 9 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 6 8】



30

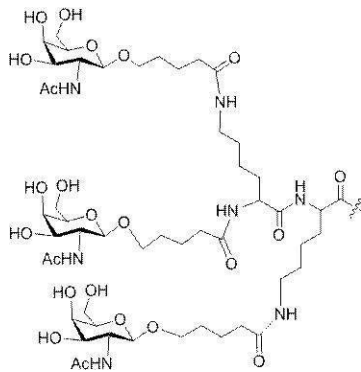
。

## 〔 項 1 4 0 〕

前記細胞ターゲティング部分が、

40

## 【化 1 0 0 6 9】



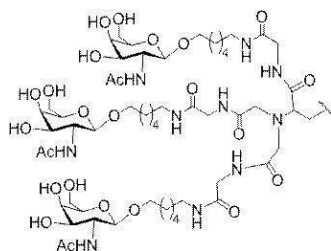
10

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 4 1 〕

前記細胞ターゲティング部分が

## 【化 1 0 0 7 0】



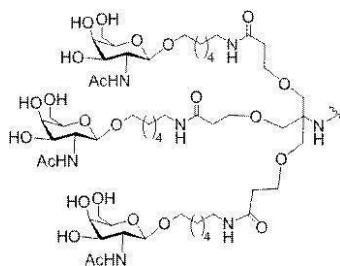
20

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 4 2 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 7 1】



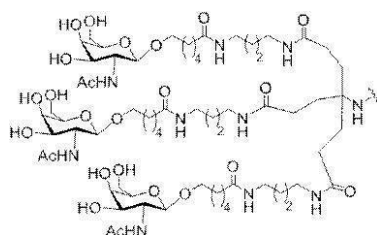
30

。

## 〔 項 1 4 3 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 7 2】



40

。

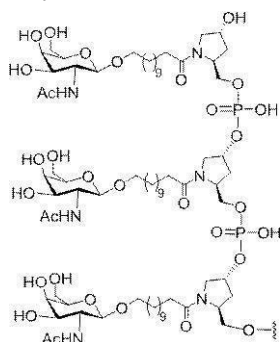
## 〔 項 1 4 4 〕

前記細胞ターゲティング部分が

50



## 【化 1 0 0 7 3】



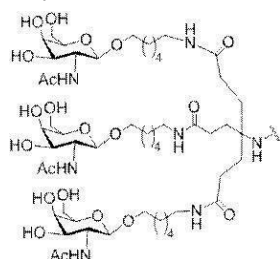
10

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 4 5 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 7 4】



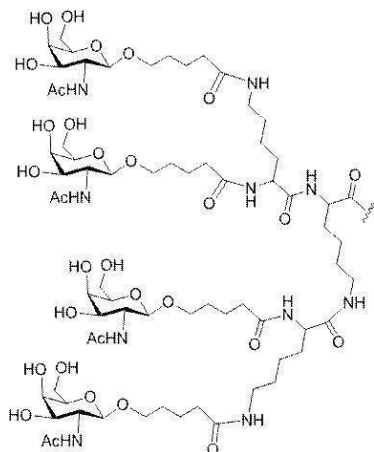
20

。

## 〔 項 1 4 6 〕

前記細胞ターゲティング部分が

## 【化 1 0 0 7 5】



30

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

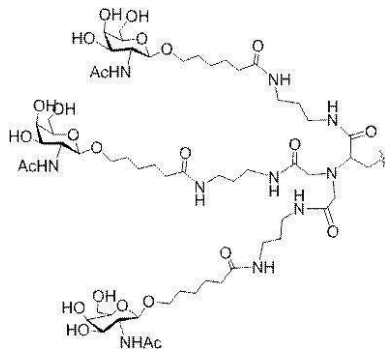
## 〔 項 1 4 7 〕

前記細胞ターゲティング部分が

40

50

## 【化 1 0 0 7 6】



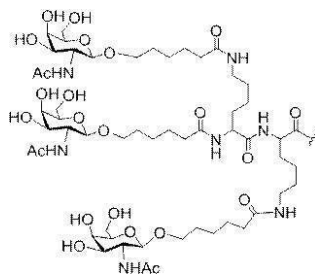
10

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 4 8 〕

前記細胞ターゲティング部分が

## 【化 1 0 0 7 7】



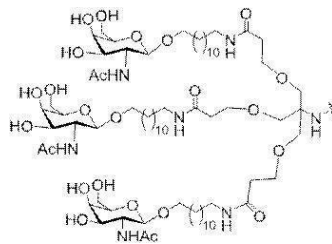
20

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 4 9 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 7 8】



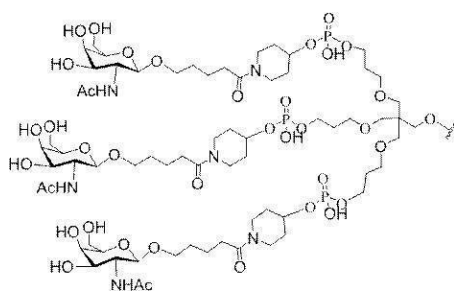
30

。

## 〔 項 1 5 0 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 7 9】



40

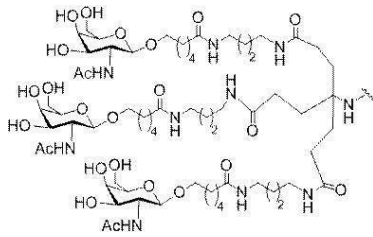
。

## 〔 項 1 5 1 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

50

## 【化 1 0 0 8 0】



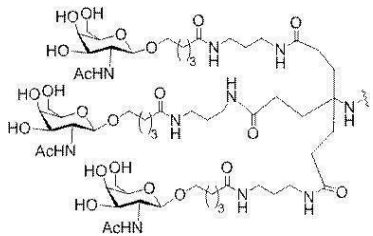
。

## 〔項 1 5 2〕

10

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 8 1】



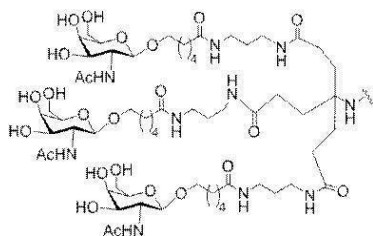
。

20

## 〔項 1 5 3〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 8 2】



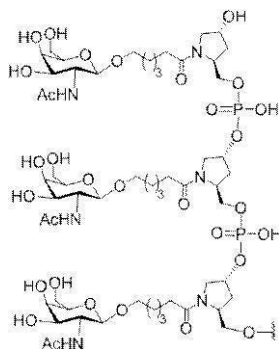
30

。

## 〔項 1 5 4〕

前記細胞ターゲティング部分が

## 【化 1 0 0 8 3】



40

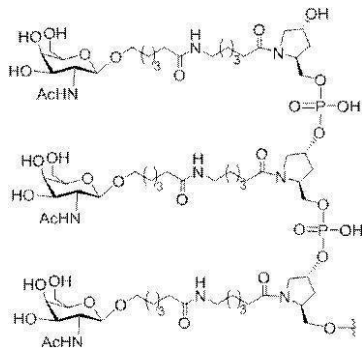
を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔項 1 5 5〕

前記細胞ターゲティング部分が

50

## 【化 1 0 0 8 4】



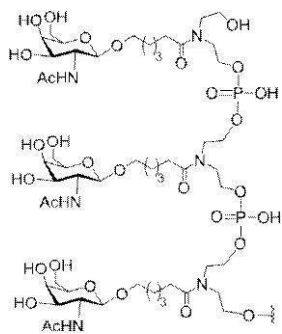
10

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 5 6 〕

前記細胞ターゲティング部分が

## 【化 1 0 0 8 5】



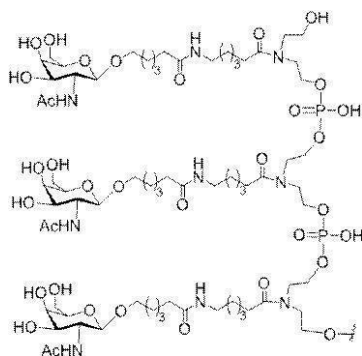
20

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 5 7 〕

前記細胞ターゲティング部分が

## 【化 1 0 0 8 6】



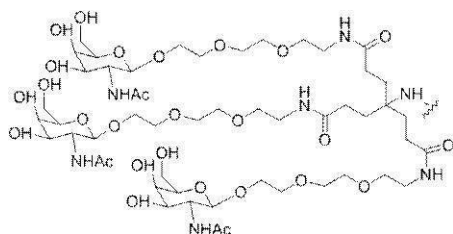
30

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

## 〔 項 1 5 8 〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 8 7】



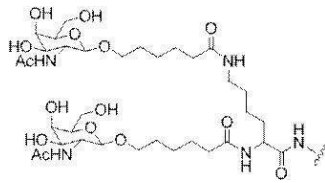
50

。

〔項 1 5 9〕

前記細胞ターゲティング部分が

【化 1 0 0 8 8】



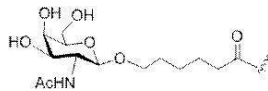
10

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

〔項 1 6 0〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

【化 1 0 0 8 9】

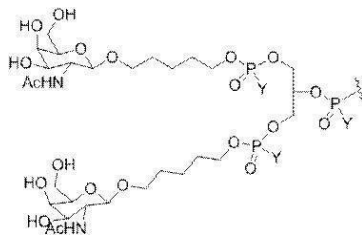


。

〔項 1 6 1〕

前記細胞ターゲティング部分が

【化 1 0 0 9 0】



20

〔式中、各 Y は、O、S、置換または無置換 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキル、アミノ、置換アミノ、アジド、アルケニルまたはアルキニルから選択される〕

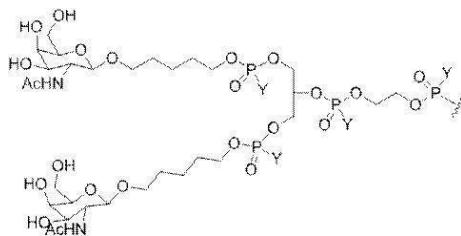
30

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

〔項 1 6 2〕

前記共役基が

【化 1 0 0 9 1】



40

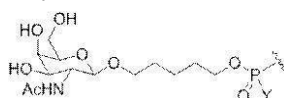
〔式中、各 Y は、O、S、置換または無置換 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキル、アミノ、置換アミノ、アジド、アルケニルまたはアルキニルから選択される〕

を含む、請求項 1 3 5 に記載の化合物。

〔項 1 6 3〕

前記細胞ターゲティング部分が以下の構造を有する、請求項 1 3 5 に記載の化合物：

【化 1 0 0 9 2】



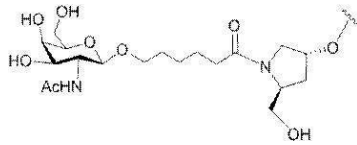
50

[ 式中、各 Y は、O、S、置換または無置換 C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> アルキル、アミノ、置換アミノ、アジド、アルケニルまたはアルキニルから選択される ]。

[ 項 1 6 4 ]

前記共役基が

【化 1 0 0 9 3】



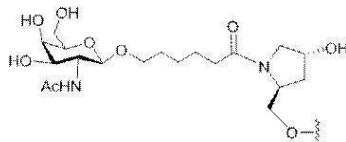
10

を含む、請求項 1 ~ 1 6 3 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 6 5 ]

前記共役基が

【化 1 0 0 9 4】



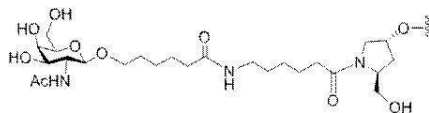
を含む、請求項 1 ~ 1 6 4 のいずれか一項に記載の化合物。

20

[ 項 1 6 6 ]

前記共役基が

【化 1 0 0 9 5】

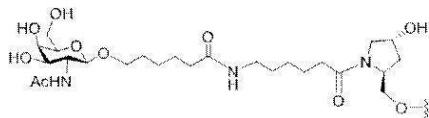


を含む、請求項 1 ~ 1 6 4 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 6 7 ]

前記共役基が

【化 1 0 0 9 6】



30

を含む、請求項 1 6 6 に記載の化合物。

[ 項 1 6 8 ]

前記共役基が、ホスホジエステル、アミド、またはエステルから選択される切断可能部分を含む、請求項 1 ~ 1 6 7 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 6 9 ]

40

前記共役基がホスホジエステル切断可能部分を含む、請求項 1 ~ 1 6 8 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 7 0 ]

前記共役基が切断可能部分を含まず、かつ前記共役基が前記共役基と前記オリゴヌクレオチドとの間にホスホロチオエート連結部を含む、請求項 1 ~ 1 6 9 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 7 1 ]

前記共役基がアミド切断可能部分を含む、請求項 1 ~ 1 7 0 のいずれか一項に記載の化合物。

[ 項 1 7 2 ]

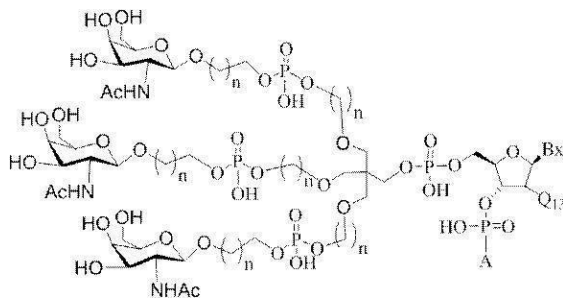
50

前記共役基がエステル切断可能部分を含む、請求項 1 ~ 171 のいずれか一項に記載の化合物。

〔項 173〕

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 10097】



10

〔式中、

各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 であり、

$Q_{13}$  は、H または  $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$  であり、

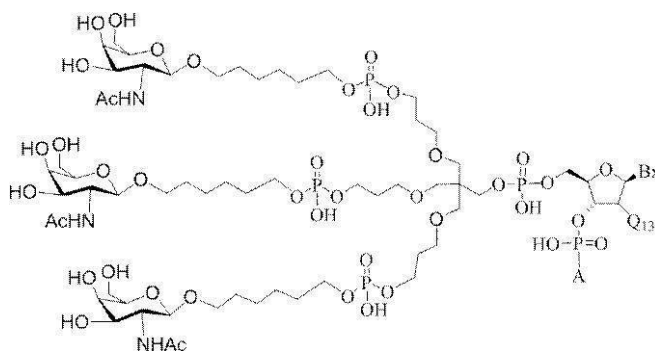
A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

Bx は、複素環式塩基部分である〕。

〔項 174〕

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 10098】



30

〔式中、

各  $n$  は、独立して、1 ~ 20 であり、

$Q_{13}$  は、H または  $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$  であり、

A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

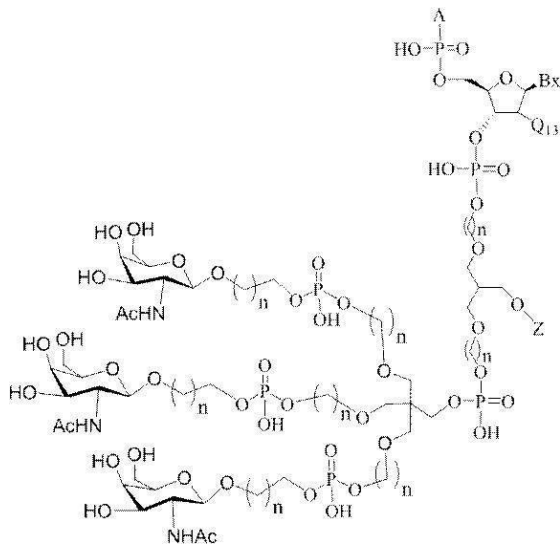
Bx は、複素環式塩基部分である〕。

〔項 175〕

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

40

【化 1 0 0 9 9】



10

〔式中、

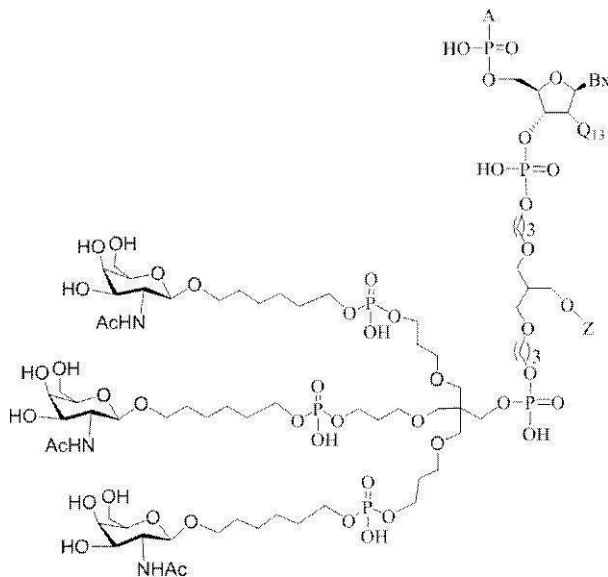
各  $n$  は、独立して、1 ~ 20であり、 $Q_{13}$  は、Hまたは $O(CH_2)_2-OCH_3$ であり、 $A$  は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、 $Z$  は、Hまたは連結された固体支持体であり、かつ $B_x$  は、複素環式塩基部分である〕。

20

〔項 1 7 6〕

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 1 0 0 1 0 0】



30

〔式中、

各  $n$  は、独立して、1 ~ 20であり、 $Q_{13}$  は、Hまたは $O(CH_2)_2-OCH_3$ ； $A$  は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、 $Z$  は、Hまたは連結された固体支持体であり、かつ $B_x$  は、複素環式塩基部分である〕。

〔項 1 7 7〕

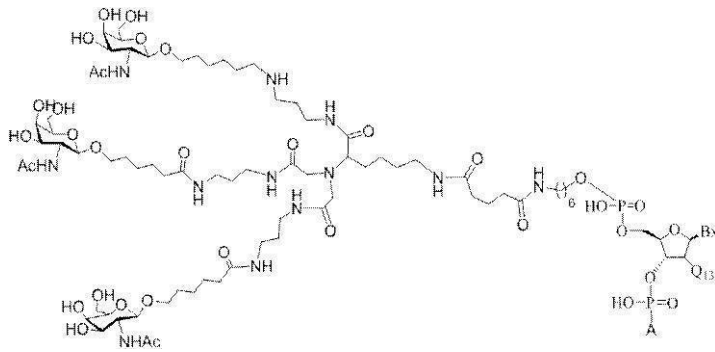
以下の構造を有する、請求項 1 ~ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

40

50



## 【化100101】



10

〔式中、

Q<sub>13</sub>は、HまたはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>であり、

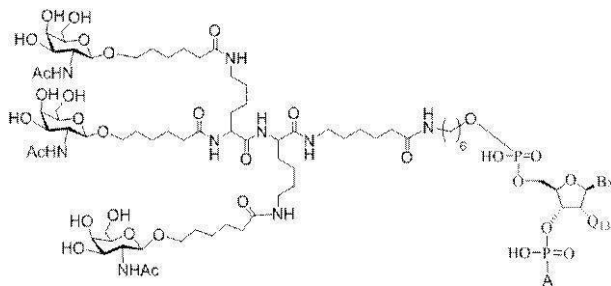
Aは、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

B<sub>x</sub>は、複素環式塩基部分である〕。

〔項178〕

以下の構造を有する、請求項1～172のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化100102】



20

〔式中、

Q<sub>13</sub>は、HまたはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>であり、

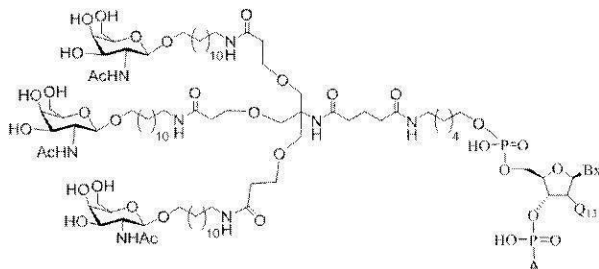
Aは、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

B<sub>x</sub>は、複素環式塩基部分である〕。

〔項179〕

以下の構造を有する、請求項1～172のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化100103】



40

〔式中、

Q<sub>13</sub>は、HまたはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>であり、

Aは、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

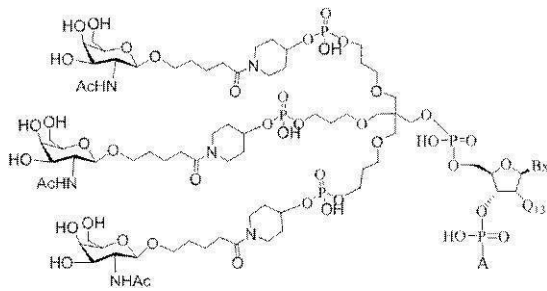
B<sub>x</sub>は、複素環式塩基部分である〕。

〔項180〕

以下の構造を有する、請求項1～172のいずれか一項に記載の化合物：

50

## 【化 1 0 0 1 0 4】



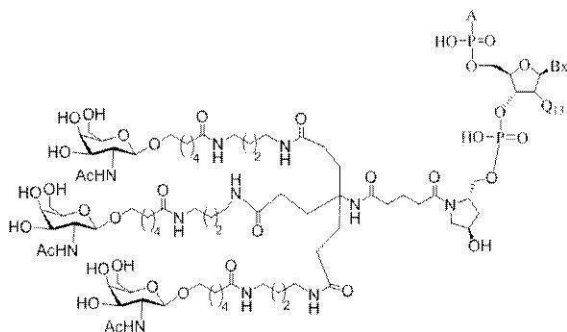
[ 式中、

Q 1 3 は、H または  $O(CH_2)_2 - OCH_3$  であり、  
A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ  
B x は、複素環式塩基部分である ]。

[ 項 1 8 1 ]

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 7 2 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 1 0 5】



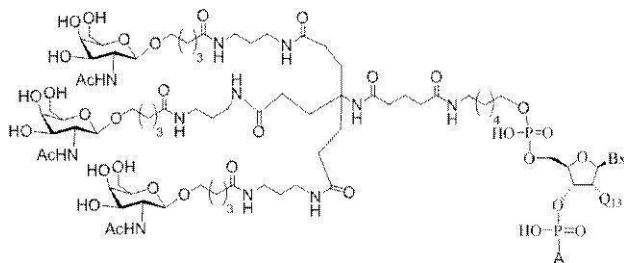
[ 式中、

Q 1 3 は、H または  $O(CH_2)_2 - OCH_3$  であり、  
A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ  
B x は、複素環式塩基部分である ]。

[ 項 1 8 2 ]

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 7 2 のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化 1 0 0 1 0 6】



[ 式中、

Q 1 3 は、H または  $O(CH_2)_2 - OCH_3$  であり、  
A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ  
B x は、複素環式塩基部分である ]。

[ 項 1 8 3 ]

以下の構造を有する、請求項 1 ~ 1 7 2 のいずれか一項に記載の化合物：

10

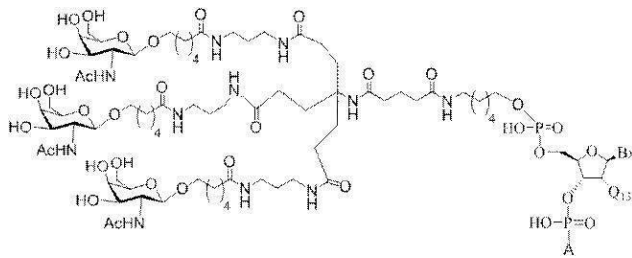
20

30

40

50

## 【化100107】



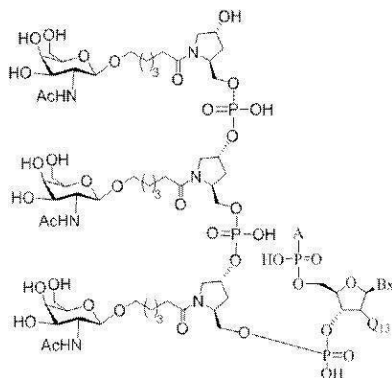
[ 式中、

Q13は、HまたはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>であり、  
Aは、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ  
Bxは、複素環式塩基部分である]。

[ 項184 ]

以下の構造を有する、請求項1～172のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化100108】



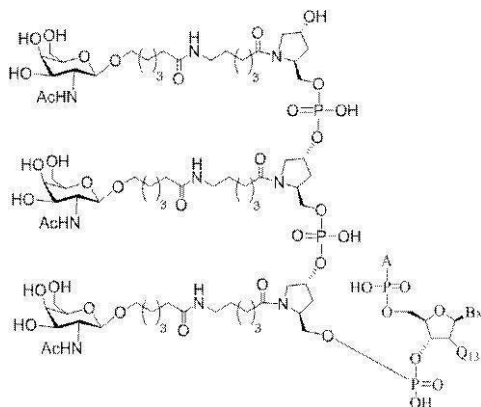
[ 式中、

Q13は、HまたはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>であり、  
Aは、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ  
Bxは、複素環式塩基部分である]。

[ 項185 ]

以下の構造を有する、請求項1～172のいずれか一項に記載の化合物：

## 【化100109】



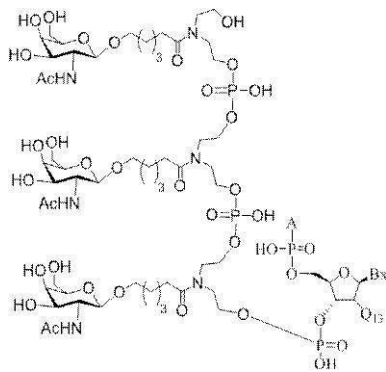
[ 式中、

Q13は、HまたはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>であり、  
Aは、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ  
Bxは、複素環式塩基部分である]。

[ 項186 ]

以下の構造を有する、請求項 1 ～ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 100110】



10

[ 式中、

Q13 は、H または  $O(CH_2)_2-OCH_3$  であり、

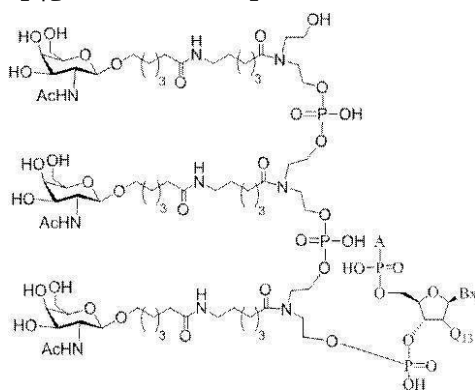
A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

Bx は、複素環式塩基部分である ]。

[ 項 187 ]

以下の構造を有する、請求項 1 ～ 172 のいずれか一項に記載の化合物：

【化 100111】



20

[ 式中、

Q13 は、H または  $O(CH_2)_2-OCH_3$  であり、

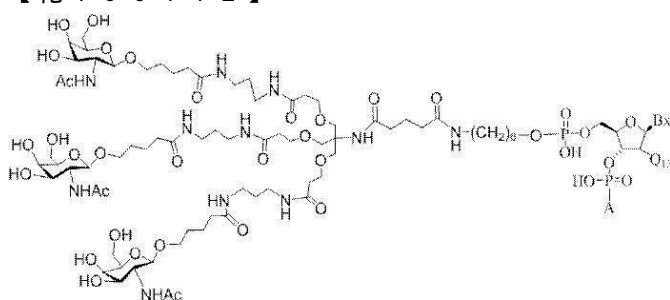
A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

Bx は、複素環式塩基部分である ]。

[ 項 188 ]

前記共役基が

【化 100112】



40

[ 式中、

Q13 は、H または  $O(CH_2)_2-OCH_3$  であり、

A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

Bx は、複素環式塩基部分である ]

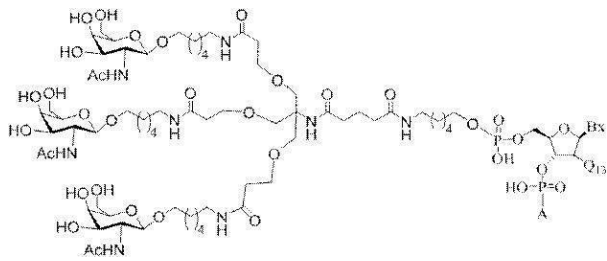
50

を含む、請求項 1 ～ 1 7 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 1 8 9 〕

前記共役基が

【 化 1 0 0 1 1 3 】



10

〔 式中、

Q 1 3 は、HまたはO ( C H 2 ) 2 - O C H 3 であり、

A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

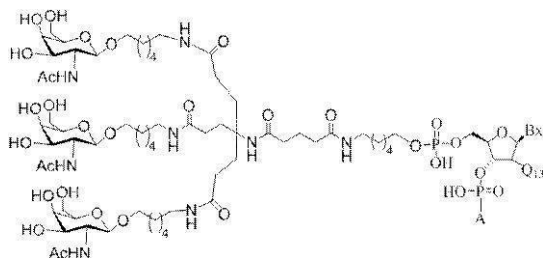
B x は、複素環式塩基部分である 〕

を含む、請求項 1 ～ 1 7 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 2 0 0 〕

前記共役基が

【 化 1 0 0 1 1 4 】



20

〔 式中、Q 1 3 は、HまたはO ( C H 2 ) 2 - O C H 3 であり、

A は、前記修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ

B x は、複素環式塩基部分である 〕

を含む、請求項 1 ～ 1 7 2 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 2 0 1 〕

B x が、アデニン、グアニン、チミン、ウラシル、またはシトシンもしくは 5 - メチルシトシンのなかから選択される、請求項 1 7 3 ～ 2 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。〔

項 2 0 2 〕

B x がアデニンである、請求項 1 7 3 ～ 2 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 2 0 3 〕

B x がチミンである、請求項 1 7 3 ～ 2 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 2 0 4 〕

Q 1 3 が O ( C H 2 ) 2 - O C H 3 である、請求項 1 7 3 ～ 2 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 2 0 5 〕

Q 1 3 が H である、請求項 1 7 3 ～ 2 0 0 のいずれか一項に記載の化合物。

〔 項 2 0 6 〕

I S I S 6 9 6 8 4 4、I S I S 6 9 6 8 4 5、I S I S 6 9 8 9 6 9、または I S I S 6 9 8 9 7 0 を含む化合物。

〔 項 2 0 7 〕

I S I S 6 9 6 8 4 4、I S I S 6 9 6 8 4 5、I S I S 6 9 8 9 6 9、または I S I S 6 9 8 9 7 0 からなる化合物。

40

50

〔項 2 0 8〕

請求項 1 ～ 2 0 7 のいずれか一項に記載の化合物またはその塩と、医薬上許容される担体または希釈剤の少なくとも 1 つとを含む組成物。

〔項 2 0 9〕

請求項 1 ～ 2 0 8 のいずれか一項に記載の化合物を含むプロドラッグ。

〔項 2 1 0〕

対象における補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善する方法であって、前記対象に、請求項 1 ～ 2 0 7 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 2 0 8 に記載の組成物、または請求項 2 0 9 に記載のプロドラッグを投与し、それによって前記疾患を処置し、防止し、または改善することを含む、前記方法。

10

〔項 2 1 1〕

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 2 1 0 に記載の方法。

〔項 2 1 2〕

前記疾患が黄斑変性である、請求項 2 1 0 または 2 1 1 に記載の方法。

〔項 2 1 3〕

前記黄斑変性が加齢黄斑変性（AMD）である、請求項 2 1 2 に記載の方法。

〔項 2 1 4〕

前記 AMD が滲出型 AMD である、請求項 2 1 3 に記載の方法。

〔項 2 1 5〕

前記 AMD が乾性 AMD である、請求項 2 1 3 に記載の方法。

20

〔項 2 1 6〕

前記乾性 AMD が地図状萎縮である、請求項 2 1 5 に記載の方法。

〔項 2 1 7〕

前記疾患が腎臓疾患である、請求項 2 1 0 または 2 1 1 に記載の方法。

〔項 2 1 8〕

前記腎臓疾患がループス腎炎である、請求項 2 1 7 に記載の方法。

〔項 2 1 9〕

前記腎臓疾患が全身性エリテマトーデス（SLE）である、請求項 2 1 7 に記載の方法。

〔項 2 2 0〕

前記腎臓疾患がデンスデポジット病（DDD）である、請求項 2 1 7 に記載の方法。

30

〔項 2 2 1〕

前記腎臓疾患が C 3 系球体腎炎（C3GN）である、請求項 2 1 7 に記載の方法。

〔項 2 2 2〕

前記腎臓疾患が CFHR5 ネフロパシーである、請求項 2 1 7 に記載の方法。

〔項 2 2 3〕

前記腎臓疾患が非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）である、請求項 2 1 7 に記載の方法。

〔項 2 2 4〕

前記 aHUS が血栓性微小血管症を特徴とする、請求項 2 2 3 に記載の方法。

〔項 2 2 5〕

前記腎臓疾患が C 3 沈着に関連する、請求項 2 1 7 ～ 2 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

40

〔項 2 2 6〕

前記腎臓疾患が糸球体における C 3 沈着に関連する、請求項 2 2 5 に記載の方法。

〔項 2 2 7〕

前記腎臓疾患が正常値未満の循環 C 3 レベルに関連する、請求項 2 1 7 ～ 2 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 2 8〕

前記循環 C 3 レベルが血清中 C 3 レベルまたは血漿中 C 3 レベルである、請求項 2 2 7 に記載の方法。

〔項 2 2 9〕

50

前記化合物または組成物を投与することによって、眼 C 3 レベルが低減し、または眼 C 3 レベルの蓄積が阻害される、請求項 2 1 0 ~ 2 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 0〕

前記 C 3 レベルが C 3 タンパク質レベルである、請求項 2 2 9 に記載の方法。

〔項 2 3 1〕

前記化合物または組成物を投与することによって、眼 C 3 沈着のレベルが低減するか、眼 C 3 沈着の蓄積が阻害される、請求項 2 1 0 ~ 2 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 2〕

前記化合物または組成物が前記対象に非経口投与される、請求項 2 2 9 ~ 2 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 3〕

前記化合物または組成物を投与することによって、腎臓における C 3 レベルが低減し、または腎臓における C 3 レベルの蓄積が阻害される、請求項 2 1 7 ~ 2 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 4〕

前記 C 3 レベルが C 3 タンパク質レベルである、請求項 2 3 3 に記載の方法。

〔項 2 3 5〕

前記化合物または組成物を投与することによって、腎臓 C 3 沈着のレベルが低減するか、腎臓 C 3 沈着の蓄積が阻害される、請求項 2 3 3 または 2 3 4 に記載の方法。

〔項 2 3 6〕

腎臓における前記 C 3 レベルが糸球体における C 3 レベルである、請求項 2 3 3 ~ 2 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 7〕

前記化合物または組成物が前記対象に非経口投与される、請求項 2 3 3 ~ 2 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 8〕

前記対象が、補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するか、または前記疾患を有するリスクがあると同定される、請求項 2 1 0 ~ 2 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 3 9〕

前記同定が、前記対象の血清における補体レベルまたは膜侵襲複合体レベルを検出することを含む、請求項 2 3 8 に記載の方法。

〔項 2 4 0〕

前記同定が、前記疾患に関連する補体因子の遺伝子変異に関する遺伝子検査を実行することを含む、請求項 2 3 8 に記載の方法。

〔項 2 4 1〕

補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象における補体 B 因子 (C F B) の発現を阻害する方法であって、請求項 1 ~ 2 0 7 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 2 0 8 に記載の組成物、または請求項 2 0 9 に記載のプロドラッグを前記対象に投与し、それによって前記対象における C F B の発現を阻害することを含む、前記方法。

〔項 2 4 2〕

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 2 4 1 に記載の方法。

〔項 2 4 3〕

前記化合物または組成物を投与することによって、眼における C F B の発現が阻害される、請求項 2 4 1 または 2 4 2 に記載の方法。

〔項 2 4 4〕

前記対象が加齢黄斑変性 (A M D) を有するか、加齢黄斑変性 (A M D) を有するリスクがある、請求項 2 4 3 に記載の方法。

〔項 2 4 5〕

前記化合物または組成物を投与することによって、腎臓における C F B の発現が阻害され

10

20

30

40

50

る、請求項 2 4 1 または 2 4 2 に記載の方法。

〔項 2 4 6〕

前記化合物または組成物を投与することによって、糸球体における C F B の発現が阻害される、請求項 2 4 5 に記載の方法。

〔項 2 4 7〕

前記対象が、ループス腎炎、デンスデポジット病 ( D D D )、C 3 糸球体腎炎 ( C 3 G N )、C F H R 5 ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S )、またはそれらの任意の組み合わせを有するか、それらを有するリスクがある、請求項 2 4 5 または 2 4 6 に記載の方法。

〔項 2 4 8〕

補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の眼における C 3 沈着を低減しまたは C 3 沈着の蓄積を阻害する方法であって、請求項 1 ~ 2 0 7 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 2 0 8 に記載の組成物、または請求項 2 0 9 に記載のプロドラッグを前記対象に投与し、それによって前記対象の眼における C 3 沈着を低減しまたは C 3 沈着の蓄積を阻害することを含む、前記方法。

〔項 2 4 9〕

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 2 4 8 に記載の方法。

〔項 2 5 0〕

前記対象が加齢黄斑変性 ( A M D ) を有するか、または加齢黄斑変性 ( A M D ) を有するリスクがある、請求項 2 4 8 または 2 4 9 に記載の方法。

〔項 2 5 1〕

補体代替経路の調節異常に関連する疾患を有するかまたは前記疾患を有するリスクがある対象の腎臓における C 3 沈着を低減しまたは C 3 沈着の蓄積を阻害する方法であって、請求項 1 ~ 2 0 7 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 2 0 8 に記載の組成物、または請求項 2 0 9 に記載のプロドラッグを前記対象に投与し、それによって前記対象の腎臓における C 3 沈着を低減しまたは C 3 沈着の蓄積を阻害することを含む、前記方法。

〔項 2 5 2〕

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 2 5 1 に記載の方法。

〔項 2 5 3〕

前記対象が、ループス腎炎、デンスデポジット病 ( D D D )、C 3 糸球体腎炎 ( C 3 G N )、C F H R 5 ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S )、またはそれらの任意の組み合わせを有するか、またはそれらを有するリスクがある、請求項 2 5 1 または 2 5 2 に記載の方法。

〔項 2 5 4〕

前記化合物または組成物が前記対象に非経口投与される、請求項 2 4 1 ~ 2 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

〔項 2 5 5〕

補体代替経路の調節異常に関連する疾患を処置し、防止し、または改善するための、請求項 1 ~ 2 0 7 のいずれか一項に記載の化合物、請求項 2 0 8 に記載の組成物、または請求項 2 0 9 に記載のプロドラッグの使用。

〔項 2 5 6〕

前記補体代替経路が正常より強く活性化されている、請求項 2 5 5 に記載の使用。

〔項 2 5 7〕

前記疾患が黄斑変性である、請求項 2 5 5 または 2 5 6 に記載の使用。

〔項 2 5 8〕

前記黄斑変性が加齢黄斑変性 ( A M D ) である、請求項 2 5 7 に記載の使用。

〔項 2 5 9〕

前記 A M D が滲出型 A M D である、請求項 2 5 8 に記載の使用。

〔項 2 6 0〕

前記 A M D が乾性 A M D である、請求項 2 5 8 に記載の使用。

10

20

30

40

50



〔項 2 6 1 〕

前記乾性 A M D が地図状萎縮である、請求項 2 6 0 に記載の使用。

〔項 2 6 2 〕

前記疾患が腎臓疾患である、請求項 2 5 5 または 2 5 6 に記載の使用。

〔項 2 6 3 〕

前記腎臓疾患が、ループス腎炎、デンスデポジット病 ( D D D )、C 3 系球体腎炎 ( C 3 G N )、C F H R 5 ネフロパシー、もしくは非典型溶血性尿毒症症候群 ( a H U S )、またはそれらの任意の組み合わせである、請求項 2 6 2 に記載の使用。

【配列表】

0007001663000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

|         |       |           |         |       |       |
|---------|-------|-----------|---------|-------|-------|
| A 6 1 P | 13/12 | (2006.01) | A 6 1 P | 13/12 |       |
| A 6 1 P | 37/02 | (2006.01) | A 6 1 P | 37/02 |       |
| A 6 1 P | 43/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 43/00 | 1 1 1 |
| C 0 7 K | 14/47 | (2006.01) | C 0 7 K | 14/47 |       |

米国(US)

中西 基晴

(74)代理人 100135415

弁理士 中濱 明子

(72)発明者 ブラカシュ, タジャ・ピー

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 セス, プニット・ピー

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 スウェイジ, エリック・イー

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 グロスマン, タマル・アール

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 マッカレブ, マイケル・エル

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 ワット, アンドリュー・ティ

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 フレアー, スーザン・エム

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

審査官 鈴木 崇之

(56)参考文献 特表 2 0 0 5 - 5 0 4 5 2 2 ( J P , A )

特表 2 0 0 6 - 5 0 7 8 4 1 ( J P , A )

特表 2 0 0 7 - 5 0 5 6 0 5 ( J P , A )

国際公開第 2 0 1 2 / 1 7 7 9 4 7 ( W O , A 2 )

国際公開第 2 0 1 3 / 1 6 6 1 2 1 ( W O , A 1 )

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )

P u b M e d