

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7557378号
(P7557378)

(45)発行日 令和6年9月27日(2024.9.27)

(24)登録日 令和6年9月18日(2024.9.18)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/113(2010.01)	C 1 2 N	15/113
C 0 7 H	21/04 (2006.01)	C 0 7 H	21/04
A 6 1 K	31/125(2006.01)	A 6 1 K	31/125
A 6 1 K	31/712(2006.01)	A 6 1 K	31/712
A 6 1 K	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/7125
請求項の数 24 (全60頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-568694(P2020-568694)	(73)特許権者	595104323
(86)(22)出願日	令和1年6月14日(2019.6.14)		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
(65)公表番号	特表2021-526823(P2021-526823 A)		Ionis Pharmaceutical s, Inc.
(43)公表日	令和3年10月11日(2021.10.11)		アメリカ合衆国カリフォルニア州92010, カールズバッド, ガゼル コート 2855
(86)国際出願番号	PCT/US2019/037215	(73)特許権者	501448532
(87)国際公開番号	WO2019/241648		ルートヴィヒ・インスティテュート・フォー・キャンサー・リサーチ
(87)国際公開日	令和1年12月19日(2019.12.19)		スイス国8001 チューリヒ, シュターデルホファーシュトラッセ 22
審査請求日	令和4年6月14日(2022.6.14)	(74)代理人	100118902
(31)優先権主張番号	62/685,192		弁理士 山本 修
(32)優先日	平成30年6月14日(2018.6.14)		最終頁に続く
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

(54)【発明の名称】 STMN2発現を増加させるための化合物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

18～50個の結合されたヌクレオシドからなる修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、配列番号1又は配列番号2の等長部分と100%相補的であり、

ここにおいて、前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、修飾された糖、糖サロゲート、及び修飾されたヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含み、

ここにおいて、前記修飾されたオリゴヌクレオチドは、

配列番号1の8819～8841もしくは配列番号2の100～122、

配列番号1の8827～8851もしくは配列番号2の108～132、

配列番号1の8836～8880もしくは配列番号2の117～161、または

配列番号1の8913～8948もしくは配列番号2の194～229

と相補的な少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有し、そして、

ここにおいて、前記オリゴマー化合物は、STMN2 RNAの量または活性を増加させる、

前記オリゴマー化合物。

【請求項2】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、一本鎖の修飾されたオリゴヌクレオチドである、請求項1に記載のオリゴマー化合物。

【請求項3】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合が、修飾されたヌクレオシド間結合であり、所望により、前記修飾されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項1又は請求項2に記載のオリゴマー化合物。

【請求項4】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、修飾されたヌクレオシド間結合であり、所望により、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各修飾されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項1又は請求項2に記載のオリゴマー化合物。

【請求項5】

a. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である；あるいは、

b. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合のいずれかである、請求項1～3のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項6】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドが、修飾された核酸塩基を含み、所望により、前記修飾された核酸塩基が、5-メチルシトシンである、請求項1～5のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項7】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、修飾された糖部分を含む少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17、または少なくとも18個の修飾されたヌクレオシドを含む、請求項1～6のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項8】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、二環式糖部分を含む少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17、または少なくとも18個の修飾されたヌクレオシドを含み、所望により、前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、2'-4'架橋を有する二環式糖部分を含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含み、前記2'-4'架橋が、 $-O-C_2H_4-$ 及び $-O-CH(CH_3)-$ から選択される、請求項7に記載のオリゴマー化合物。

【請求項9】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、非二環式糖部分を含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含み、所望により、前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、2'-MOEまたは2'-OMeを含む非二環式糖部分を含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含む、請求項1～7のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項10】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各修飾されたヌクレオシドが、2'-MOEまたは2'-OMeを含む非二環式糖部分を含む、請求項9に記載のオリゴマー化合物。

【請求項11】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含み、所望により、前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、モルホリノ及びPNAから選択される糖サロゲートを含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含む、請求項1～6のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項12】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、20個の結合されたヌクレオシドからなり、以

10

20

30

40

50

下のヌクレオシド間モチーフ：s o o o s s s s s s s s s s s o o s s を有し、

s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、及び

o = ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、

請求項 1 ～ 3 及び 5 ～ 11 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 13】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、

18 ～ 24、18 ～ 22、または 18 ～ 20 個の結合されたヌクレオシドからなる、あるいは

18 個の結合されたヌクレオシドからなる、

請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

10

【請求項 14】

前記修飾されたオリゴヌクレオチドからなる、請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 15】

複合部分及び複合リンカーを含む複合群を含み、所望により、

a. 前記複合群が、1 ～ 3 個の G a l N A c リガンドを含む G a l N A c クラスターを含む；

b. 前記複合リンカーが、単結合からなる；

c. 前記複合リンカーが、切断可能である；

d. 前記複合リンカーが、1 ～ 3 個のリンカーヌクレオシドを含む；あるいは、

20

e. 前記オリゴマー化合物が、リンカーヌクレオシドを含まない、

請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 16】

前記複合群が、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの 5' - 末端で、あるいは、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの 3' - 末端で、前記修飾されたオリゴヌクレオチドに結合されている、請求項 15 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 17】

末端基を含む、請求項 1 ～ 13、15 および 16 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 18】

30

前記オリゴマー化合物が、一本鎖オリゴマー化合物である、請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 19】

請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物を含むか、またはそれらからなるアンチセンス化合物。

【請求項 20】

請求項 1 ～ 18 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 19 に記載のアンチセンス化合物、ならびに、薬学的に許容される担体もしくは希釈剤を含む薬学的組成物。

【請求項 21】

40

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、ナトリウム塩である、請求項 20 に記載の薬学的組成物。

【請求項 22】

STMN2 に関連する疾患を治療するための薬学的組成物であって、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物、請求項 19 に記載のアンチセンス化合物、または、請求項 20 若しくは 21 に記載の薬学的組成物を含む、前記薬学的組成物。

【請求項 23】

STMN2 に関連する前記疾患が、神経変性疾患であり、所望により、前記神経変性疾患が、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、前頭側頭型認知症 (FTD)、アルツハイマー病 (AD)、またはレビー小体型認知症 (DLB) である、請求項 22 に記載の薬学的組成

50

物。

【請求項 2 4】

前記神経変性疾患の少なくとも 1 つの症状が、改善され、所望により、前記症状が、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、または、寿命減少である、請求項 2 3 に記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

配列表

本出願は、電子形式で配列表と共に出願される。配列表は、サイズが 1 4 0 K B である、2 0 1 9 年 5 月 2 3 日に作成された B I O L 0 3 3 8 W O S E Q _ S T 2 5 . t x t のファイル名で提供される。配列表の電子形式での情報は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0 0 0 2】

細胞または動物における S T M N 2 R N A の量または活性を増加させるため、そしてある特定の例では、細胞または動物におけるスタスミン-2 タンパク質の量を増加させるための化合物、方法、及び薬学的組成物が提供される。そのような化合物、方法、及び薬学的組成物は、神経変性疾患の少なくとも 1 つの症状を改善するのに有用である。そのような症状には、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、及び寿命減少が含まれる。そのような神経変性疾患には、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、前頭側頭型認知症 (F T D)、アルツハイマー病 (A D)、及びレビー小体型認知症 (D L B) が含まれる。

20

【背景技術】

【0 0 0 3】

S T M N 2 遺伝子は、リントタンパク質のスタスミンファミリーのメンバーである、スタスミン-2 タンパク質をコードする。スタスミンタンパク質は、微小管ダイナミクス及びシグナル伝達において機能する。スタスミン-2 は、神経成長において調節的役割を果たし、また骨形成に関与すると考えられている。

【0 0 0 4】

筋萎縮性側索硬化症 (A L S、ルー・ゲーリック病としても既知である) は、上位及び下位運動ニューロンの選択的変性によって特徴付けられる疾患である (R o w l a n d , N . E n g l . J . M e d . 2 0 0 1 , 3 4 4 , 1 6 8 8 - 1 7 0 0) 。 A L S は、任意の所与の時点で 3 0 , 0 0 0 人もの数の米国人に影響を及ぼしている壊滅的進行性神経変性疾患である。A L S における運動ニューロンの進行性変性障害は、結果的にそれらの死亡につながる。運動ニューロンが死ぬと、筋肉の運動を開始及び制御する脳の能力が失われる。随意筋の作用が進行的に影響されると、疾患の後期の患者は、完全に麻痺になり得る。

30

【0 0 0 5】

前頭側頭型認知症 (F T D) は、脳の前頭葉または側頭葉における進行性神経細胞の喪失によって引き起こされる障害の 1 つの群を指す。F T D によって引き起こされる神経細胞損傷は、前頭葉または側頭葉の機能の喪失につながり、それらは行動及び性格の悪化、言語障害、または筋肉もしくは運動機能における変化を可変的に引き起こす。

40

【0 0 0 6】

アルツハイマー病 (A D) は、記憶及び思考能力をゆっくりと破壊し、結果的に最も単純な作業を実行する能力を破壊する不可逆性の、進行性の脳障害である。A D は、高齢者の間の認知症の最も一般的な原因である。認知症は、それがその人の日常生活及び活動に干渉する程の認知機能及び行動能力の喪失である。認知症は、その人の機能に影響し始めたばかりのときの中程度の段階から、その人が日常生活の基本的活動を他の者に完全に依存しなければならない場合である最も重度の段階までの重症度の範囲に及ぶ。

【0 0 0 7】

レビー小体型認知症 (D L B) は、神経細胞における異常なレビー小体沈着のために、

50

思考、論理的思考、及び独立機能の低下につながる進行性認知症の一種である。DLBは、知能の進行性低下を引き起こす。DLBを有する人々は、幻視、ならびに覚醒度及び注意力の変化を経験し得る。他の影響には、筋硬直、動作緩慢、及び振戦などのパーキンソン病のような症状が挙げられる。

【0008】

現在、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、アルツハイマー病（AD）、及びレビー小体型認知症（DLB）などの神経変性疾患を治療するための許容される選択肢が欠如している。したがって、本明細書では、そのような疾患の治療のための化合物、方法、及び薬学的組成物を提供することが目的である。

【発明の概要】

【0009】

STMN2 RNAの量または活性を増加させるため、そしてある特定の実施形態では、細胞または動物におけるスタスミン-2タンパク質の量を増加させるための化合物、方法、及び薬学的組成物が本明細書に提供される。特定のメカニズムに限定されないが、本明細書に記載される修飾されたオリゴヌクレオチドは、STMN2プレmRNAの第1のイントロンにおいて未成熟ポリアデニル化部位の使用を妨げることによってSTMN2 RNA発現を増加させると考えられる。ある特定の実施形態では、動物は、神経変性疾患を有する。ある特定の実施形態では、動物は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、アルツハイマー病（AD）、及びレビー小体型認知症（DLB）を有する。ある特定の実施形態では、STMN2 RNAの発現を増加させるのに有用な化合物は、オリゴマー化合物または修飾されたオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、修飾されたオリゴヌクレオチドを含む。

【0010】

神経変性疾患の少なくとも1つの症状を改善するのに有用な方法もまた提供される。ある特定の実施形態では、神経変性疾患は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、アルツハイマー病（AD）、及びレビー小体型認知症（DLB）である。ある特定の実施形態では、症状には、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、及び寿命減少が含まれる。ある特定の実施形態では、これらの症状の改善は、改善された運動機能、低減された神経障害、改善されたシナプス機能、改善された認知、及び生存率をもたらす。

【発明を実施するための形態】

【0011】

前述の概要及び以下の詳細な説明は共に、例示的かつ説明的であるに過ぎず、制限するものではないことを理解されたい。本明細書において、単数の使用は、特に明記されない限り、複数を含む。本明細書で使用される場合、「または」の使用は、特に明記されない限り、「及び／または」を意味する。さらに、「含む（including）」という用語、ならびに「含む（includes）」及び「含まれる（included）」などの他の形態の使用は、制限するものではない。また、「要素」または「構成要素」などの用語は、特に別段の定めのない限り、1つのユニットを含む要素及び構成要素、ならびに2つ以上のサブユニットを含む要素及び構成要素の両方を包含する。

【0012】

本明細書で使用される項の見出しは、構造的目的のためのみであり、記載される主題を限定するものとして解釈されるべきではない。これらに限定されないが、特許、特許出願、論説、書物、及び論文を含む、この出願に列挙される全ての文献、または文献の一部は、本明細書で考察される文献の一部、ならびにそれらの全体が参照により本明細書に明確に組み込まれる。

【0013】

定義

特定の定義が提供されない限り、本明細書に記載される分析化学、有機合成化学、ならびに医薬的及び薬学的化学に関連して使用される用語法、ならびにそれらの手順及び技法

10

20

30

40

50

は、当該技術分野で周知のものであり、一般的に使用されるものである。本開示全体において参照される、許可された全ての特許、出願、公開された出願、ならびに他の出版物及び他のデータは、それらの全体が本明細書において参照により組み込まれる。

【0014】

別段の指示がない限り、以下の用語は、以下の意味を有する。

【0015】

定義

本明細書で使用される場合、「2'-デオキシヌクレオシド」とは、天然発生型のデオキシリボ核酸(DNA)中に見出されるような、2'-H(H)デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、2'-デオキシヌクレオシドは、修飾された核酸塩基を含み得るか、またはRNA核酸塩基(ウラシル)を含み得る。

10

【0016】

本明細書で使用される場合、「2'-置換ヌクレオシド」とは、2'-置換糖部分を含むヌクレオシドを意味する。本明細書で使用される場合、糖部分に関する「2'-置換」とは、HまたはOH以外の少なくとも1つの2'-置換基を含む糖部分を意味する。

【0017】

本明細書で使用される場合、「5-メチルシトシン」とは、5位に結合さ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、修飾された核酸塩基である。

【0018】

本明細書で使用される場合、「投与すること」とは、薬学的剤を動物に提供することを意味する。

20

【0019】

本明細書で使用される場合、「動物」とは、ヒトまたは非ヒト動物を意味する。

【0020】

本明細書で使用される場合、「アンチセンス活性」とは、アンチセンス化合物のその標的核酸へのハイブリダイゼーションに起因し得る任意の検出可能な及び／または測定可能な変化を意味する。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性は、アンチセンス化合物の不在下で標的核酸レベルまたは標的タンパク質レベルと比較した、標的核酸またはそのような標的核酸によってコードされるタンパク質の量または発現の減少である。

【0021】

本明細書で使用される場合、「アンチセンス化合物」とは、少なくとも1つのアンチセンス活性を達成することができるオリゴマー化合物またはオリゴマー二本鎖を意味する。

30

【0022】

本明細書で使用される場合、治療に関連する「改善する」とは、治療の不在下で同じ症状に対する少なくとも1つの症状における改善を意味する。ある特定の実施形態では、改善は、症状の重症度もしくは頻度の低減、または症状の発症の遅延、または症状の重症度もしくは頻度の進行の遅延である。ある特定の実施形態では、症状は、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、及び寿命減少である。ある特定の実施形態では、これらの症状の改善は、改善された運動機能、低減された神経障害、改善されたシナプス機能、改善された認知、及び生存率をもたらす。

40

【0023】

本明細書で使用される場合、「二環式ヌクレオシド」または「BNA」とは、二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。本明細書で使用される場合、「二環式糖」または「二環式糖部分」とは、2つの環を含む修飾された糖部分を意味し、第2の環は、第1の環において原子のうち2つを接続する架橋を介して形成され、それにより二環式構造を形成する。ある特定の実施形態では、二環式糖部分の第1の環は、フラノシル部分である。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、フラノシル部分を含まない。

【0024】

本明細書で使用される場合、「切断可能な部分」とは、生理学的条件下、例えば、細胞、動物、またはヒト内で切断される原子の結合または群を意味する。

50

【0025】

本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドに関連する「相補的」とは、オリゴヌクレオチドまたはその1つ以上の領域の核酸塩基及び別の核酸またはその1つ以上の領域の核酸塩基の少なくとも70%は、オリゴヌクレオチド及び他方の核酸の核酸塩基配列が反対の方向に整列されている場合に、互いに水素結合することができることを意味する。相補的核酸塩基とは、互いに水素結合を形成することができる核酸塩基を意味する。相補的核酸塩基対は、アデニン（A）及びチミン（T）、アデニン（A）及びウラシル（U）、シトシン（C）及びグアニン（G）、5-メチルシトシン（mC）及びグアニン（G）を含む。相補的オリゴヌクレオチド及び／または核酸は、各ヌクレオシドで核酸塩基相補性を有する必要はない。むしろ、いくつかの不適合が耐容される。本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドに関連する「完全に相補的」または「100%相補的」とは、オリゴヌクレオチドが、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドで別のオリゴヌクレオチドまたは核酸と相補的であることを意味する。

10

【0026】

本明細書で使用される場合、「複合群」とは、オリゴヌクレオチドに直接的または間接的に結合される原子の群を意味する。複合群は、複合部分及び複合部分をオリゴヌクレオチドに結合する複合リンカーを含む。

【0027】

本明細書で使用される場合、「複合リンカー」とは、複合部分をオリゴヌクレオチドに接続する少なくとも1つの結合を含む原子の単結合または群を意味する。

20

【0028】

本明細書で使用される場合、「複合部分」とは、複合リンカーを介してオリゴヌクレオチドに結合される原子の群を意味する。

【0029】

本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドの文脈における「隣接する」とは、ヌクレオシド、核酸塩基、糖部分、または互いにすぐに隣接するヌクレオシド間結合を指す。例えば、「隣接する核酸塩基」とは、配列において互いにすぐに隣接する核酸塩基を意味する。

【0030】

本明細書で使用される場合、「拘束エチル」または「cEt」または「cEt修飾された糖」とは、 β -Dリボシル二環式糖部分を意味し、二環式糖の第2の環は、4'-炭素及び β -Dリボシル糖部分の2'-炭素を接続する架橋を介して形成され、架橋は、式4'-CH(CH₃)-O-2'を有し、架橋のメチル基は、S配置にある。

30

【0031】

本明細書で使用される場合、「cEtヌクレオシド」とは、cEt修飾された糖を含むヌクレオシドを意味する。

【0032】

本明細書で使用される場合、「キラル的に濃縮された集団」とは、同一の分子式の複数の分子を意味し、特定のキラル中心で特定の立体化学的配置を含む集団内の分子の数または割合は、特定のキラル中心がステレオランダムであった場合に、集団内の同じ特定のキラル中心で同じ特定の立体化学的配置を含むと予期される分子の数または割合よりも大きい。各分子内に複数のキラル中心を有する分子のキラル的に濃縮された集団は、1つ以上のステレオランダムキラル中心を含み得る。ある特定の実施形態では、分子は、修飾されたオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、分子は、修飾されたオリゴヌクレオチドを含む化合物である。

40

【0033】

本明細書で使用される場合、「ギャップマー」とは、1つ以上のヌクレオシドを有する外部領域の間に位置するR N a s e H切断を支持する複数のヌクレオシドを有する内部領域を含む修飾されたオリゴヌクレオチドを意味し、内部領域を含むヌクレオシドは、ヌクレオシドまたは外部領域を含むヌクレオシドとは化学的に異なる。内部領域は、「ギャ

50

ップ」と称されてもよく、外部領域は、「ウイング」と称されてもよい。別段の指示がない限り、「ギャップマー」は、糖モチーフを指す。別段の指示がない限り、ギャップマーのギャップのヌクレオシドの糖部分は、修飾されていない2'-デオキシリボシルである。したがって、「MOEギャップマー」は、ウイング及び2'-デオキシヌクレオシドのギャップの両方において2'-MOEヌクレオシドの糖モチーフを有するギャップマーを示す。別段の指示がない限り、MOEギャップマーは、1つ以上の修飾されたヌクレオシド間結合及び／または修飾された核酸塩基を含み得、そのような修飾は、必ずしも糖修飾のギャップマーのパターンに従うわけではない。

【0034】

本明細書で使用される場合、「ホットスポット領域」は、標的核酸の量または活性のオリゴマー化合物媒介増加に適合する標的核酸の核酸塩基の範囲である。

10

【0035】

本明細書で使用される場合、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的オリゴヌクレオチド及び／または核酸の対合またはアニーリングを意味する。特定のメカニズムに限定されないが、ハイブリダイゼーションの最も一般定なメカニズムは、相補的核酸塩基の間の、Watson-Crick、Hoogsteenまたは逆Hoogsteen水素結合であり得る水素結合に関与する。

【0036】

本明細書で使用される場合、「量または活性を増加させる」は、治療されていないまたは対照試料における転写発現または活性に対するより多くの転写発現または活性を指す。

20

【0037】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド間結合」という用語は、オリゴヌクレオチド内の隣接するヌクレオシド間の共有結合である。本明細書で使用される場合、「修飾されたヌクレオシド間結合」とは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合以外の任意のヌクレオシド間結合を意味する。「ホスホロチオエート結合」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合の非架橋酸素原子のうちの1つが硫黄原子で置き換えられる修飾されたヌクレオシド間結合である。

【0038】

本明細書で使用される場合、「リンカーヌクレオシド」とは、オリゴヌクレオチドを複合部分に直接または間接的にいずれかで結合するヌクレオシドを意味する。リンカーヌクレオシドは、オリゴマー化合物の複合リンカー内に配置される。リンカーヌクレオシドは、たとえそれらがオリゴヌクレオチドと隣接していても、オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチド部分の一部と考えられていない。

30

【0039】

本明細書で使用される場合、「非二環式の修飾された糖部分」とは、糖の2つの原子間に架橋を形成せず第2の環を形成する、置換などの修飾を含む修飾された糖部分を意味する。

【0040】

本明細書で使用される場合、「不適合」または「非相補的」とは、第1及び第2のオリゴヌクレオチドが整列されている場合に、第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸の対応する核酸塩基と相補的でない第1のオリゴヌクレオチドの核酸塩基を意味する。

40

【0041】

本明細書で使用される場合、「MOE」とは、メトキシエチルを意味する。「2'-MOE」または「2'-MOE修飾された糖」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH₂CH₂OCH₃基を意味する。

【0042】

本明細書で使用される場合、「2'-MOEヌクレオシド」とは、2'-MOE修飾された糖を含むヌクレオシドを意味する。

【0043】

本明細書で使用される場合、「モチーフ」は、オリゴヌクレオチドにおける修飾されて

50

いない及び／または修飾された糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合のパターンを意味する。

【0044】

本明細書で使用される場合、「神経変性疾患」とは、神経細胞の死を含む構造また機能の進行性損失を特徴とする状態を意味する。ある特定の実施形態では、神経変性疾患は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、アルツハイマー病（AD）、及びレビー小体型認知症（DLB）である。

【0045】

本明細書で使用される場合、「核酸塩基」は、修飾されていない核酸塩基または修飾された核酸塩基を意味する。本明細書で使用される場合、「修飾されていない核酸塩基」は、アデニン（A）、チミン（T）、シトシン（C）、ウラシル（U）、及びグアニン（G）である。本明細書で使用される場合、「修飾された核酸塩基」は、少なくとも1つの修飾されていない核酸塩基と対合することができる修飾されていないA、T、C、U、またはG以外の原子の群である。「5-メチルシトシン」は、修飾された核酸塩基である。一般的な塩基は、5つの修飾されていない核酸塩基のうちのいずれか1つと対になることができる修飾された核酸塩基である。本明細書で使用される場合、「核酸塩基配列」は、任意の糖またはヌクレオシド間結合修飾とは無関係の核酸またはオリゴヌクレオチドにおける隣接する核酸塩基の順番を意味する。

【0046】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド」は、核酸塩基及び糖部分を含む化合物を意味する。核酸塩基及び糖部分はそれぞれ独立して、修飾されていないか、または修飾されている。本明細書で使用される場合、「修飾されたヌクレオシド」は、修飾された核酸塩基及び／または修飾された糖部分を含むヌクレオシドを意味する。修飾されたヌクレオシドは、核酸塩基を欠乏する脱塩基ヌクレオシドを含む。「結合されたヌクレオシド」は、連続する配列において接続されている（すなわち、追加のヌクレオシドが結合されているものの間に存在しない）ヌクレオシドである。

【0047】

本明細書で使用される場合、「オリゴマー化合物」とは、オリゴヌクレオチド、及び任意に、複合群または末端基などの1つ以上の追加の特徴を意味する。オリゴマー化合物は、第1のオリゴマー化合物と相補的な第2のオリゴマー化合物と対になっていてもよく、または対になっていなくてもよい。「一本鎖オリゴマー化合物」は、不對オリゴマー化合物である。用語「オリゴマー二本鎖」とは、相補的核酸塩基配列を有する2つのオリゴマー化合物によって形成される二本鎖を意味する。オリゴマー二本鎖の各オリゴマー化合物は、「二本鎖オリゴマー化合物」と称され得る。

【0048】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシド間結合を介して接続される結合されたヌクレオシドの鎖を意味し、各ヌクレオシド及びヌクレオシド間結合は、修飾されているか、または修飾されていない。特に指示がない限り、オリゴヌクレオチドは、8～50個の結合されたヌクレオシドからなる。本明細書で使用される場合、「修飾されたオリゴヌクレオチド」とは、オリゴヌクレオチドを意味し、少なくとも1つのヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合は、修飾されている。本明細書で使用される場合、「修飾されていないオリゴヌクレオチド」とは、任意のヌクレオシド修飾またはヌクレオシド間修飾を含まないオリゴヌクレオチドを意味する。

【0049】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体または希釈剤」とは、動物に投与することにおいて使用するのに好適な任意の物質を意味する。ある特定のそのような担体は、薬学的組成物が、例えば、対象による経口摂取のための錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ剤、スラリー、懸濁剤、及びトローチ剤として製剤化されることを可能にする。ある特定の実施形態では、薬学的に許容される担体または希釈剤は、滅菌水、滅菌食塩水、滅菌緩衝溶液、または滅菌人工脳脊髄液である。

【0050】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」とは、化合物の生理学的及び薬学的に許容される塩を意味する。薬学的に許容される塩は、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、所望でないそれに対する毒物学的効果を与えない。

【0051】

本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」とは、対象に投与するのに好適な物質の混合物を意味する。例えば、薬学的組成物は、オリゴマー化合物及び滅菌水溶液を含み得る。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、ある特定の細胞株において自由取り込みアッセイで活性を示す。

【0052】

本明細書で使用される場合、「リン部分」とは、リン原子を含む原子の群を意味する。ある特定の実施形態では、リン部分は、モノー、ジー、もしくはトリホスフェート、またはホスホロチオエートを含む。

【0053】

本明細書で使用される場合、「プロドラッグ」とは、動物またはその細胞内の異なる形態に変換される体外の形態である治療剤を意味する。典型的には、動物内のプロドラッグの変換は、酵素（例えば、内因性またはウイルス性酵素）または細胞もしくは組織中に存在する化学物質の作用によって及び／または生理的状态によって促進される。

【0054】

本明細書で使用される場合、「RNAi化合物」とは、少なくとも部分的に、RISCまたはAGO2を介して作用し、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するアンチセンス化合物を意味する。RNAi化合物は、これらに限定されないが、二本鎖siRNA、一本鎖RNA(ssRNA)、及びmicroRNA模倣物を含むmicroRNAを含む。ある特定の実施形態では、RNAi化合物は、標的核酸の量、活性、及び／またはスプライシングを調節する。RNAi化合物という用語は、RNaseHを介して作用するアンチセンス化合物を除外する。

【0055】

本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドに関連する「自己相補的」とは、それ自体に少なくとも部分的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを意味する。

【0056】

本明細書で使用される場合、「標準細胞アッセイ」とは、実施例1に記載されるアッセイ及びその合理的な変形を意味する。

【0057】

本明細書で使用される場合、同一の分子式の分子の集団の文脈における「ステレオランダムキラル中心」とは、ランダム立体化学的配置を有するキラル中心を意味する。例えば、ステレオランダムキラル中心を含む分子の集団において、ステレオランダムキラル中心の(S)配置を有する分子の数は、ステレオランダムキラル中心の(R)配置を有する分子の数と同じであり得るが、必ずしも同じであるとは限らない。キラル中心の立体化学的配置は、立体化学的配置を制御するように設計されていない合成方法の結果である場合に、ランダムと考えられる。ある特定の実施形態では、ステレオランダムキラル中心は、ステレオランダムホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

【0058】

本明細書で使用される場合、「糖部分」とは、修飾されていない糖部分または修飾された糖部分を意味する。本明細書で使用される場合、「修飾されていない糖部分」とは、RNA（「修飾されていないRNA糖部分」）中に見出されるような2'-OH(H)フラノシル部分、またはDNA（「修飾されていないDNA糖部分」）中に見出されるような2'-H(H)部分を意味する。修飾されていない糖部分は、1'、3'、及び4'位の各々で1つの水素、3'位で酸素、及び5'位で2つの水素を有する。本明細書で使用される場合、「修飾された糖部分」または「修飾された糖」とは、修飾されたフラノシル糖部分または糖サロゲートを意味する。

10

20

30

40

50

【0059】

本明細書で使用される場合、「糖サロゲート」とは、核酸塩基を、オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシド間結合、複合群、または末端基などの別の基に結合し得るフラノシル部分以外を有する修飾された糖部分を意味する。糖サロゲートを含む修飾されたヌクレオチドは、オリゴヌクレオチド内で1つ以上の位置に抱合され得、そのようなオリゴヌクレオチドは、相補的オリゴマー化合物または核酸にハイブリダイズすることができる。

【0060】

本明細書で使用される場合、「標的核酸」及び「標的RNA」とは、アンチセンス化合物が影響するように設計されている核酸を意味する。

【0061】

本明細書で使用される場合、「標的領域」とは、オリゴマー化合物がハイブリダイズするように設計されている標的核酸の部分を意味する。

【0062】

本明細書で使用される場合、「末端基」とは、オリゴヌクレオチドの末端に共有結合された化学基または原子の群を意味する。

【0063】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」とは、動物に治療効果を提供する薬学的剤の量を意味する。例えば、治療有効量は、疾患の症状を改善する。

【0064】

本開示は、以下の非限定的な番号付きの実施形態を提供する。

実施形態1. 12～50個の結合されたヌクレオシドからなる修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、STMN2核酸の等長部分と少なくとも90%相補的であり、前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、修飾された糖、糖サロゲート、及び修飾されたヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【0065】

実施形態2. 12～50個の結合されたヌクレオシドからなり、配列番号10～321の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、または少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物。

【0066】

実施形態3. 12～50個の結合されたヌクレオシドからなり、
配列番号1の8819～8841もしくは配列番号2の100～122、
配列番号1の8827～8851もしくは配列番号2の108～132、
配列番号1の8836～8880もしくは配列番号2の117～161、または
配列番号1の8913～8948もしくは配列番号2の194～229と相補的な少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、または少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物。

【0067】

実施形態4. 前記STMN2核酸が、配列番号1または配列番号2の核酸塩基配列を有する、実施形態1～3のいずれか1つに記載のオリゴマー化合物。

【0068】

実施形態5. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、一本鎖の修飾されたオリゴヌクレオチドである、実施形態1～4のいずれか1つに記載のオリゴマー化合物。

【0069】

実施形態6. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結

10

20

30

40

50

合が、修飾されたヌクレオシド間結合である、実施形態 1～5 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー化合物。

【0070】

実施形態 7. 前記修飾されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、実施形態 6 に記載のオリゴマー化合物。

【0071】

実施形態 8. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、修飾されたヌクレオシド間結合である、実施形態 1～5 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー化合物。

【0072】

実施形態 9. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各修飾されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、実施形態 8 に記載のオリゴマー化合物。

10

【0073】

実施形態 10. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、実施形態 1～7 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー化合物。

【0074】

実施形態 11. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合のいずれかである、実施形態 1～7 及び 10 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー化合物。

【0075】

20

実施形態 12. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つの核酸塩基が、修飾された核酸塩基を含む、実施形態 1～11 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー化合物。

【0076】

実施形態 13. 前記修飾された核酸塩基が、5-メチルシトシンである、実施形態 12 に記載のオリゴマー化合物。

【0077】

実施形態 14. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、修飾された糖部分を含む少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17、または少なくとも 18 個の修飾されたヌクレオシドを含む、実施形態 1～13 のいずれか 1 つに記載のオリゴマー化合物。

30

【0078】

実施形態 15. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、二環式糖部分を含む少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17、または少なくとも 18 個の修飾されたヌクレオシドを含む、実施形態 14 に記載のオリゴマー化合物。

【0079】

40

実施形態 16. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、2'-4' 架橋を有する二環式糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含み、前記 2'-4' 架橋が、-O-CH₂-及び-O-CH(CH₃)-から選択される、実施形態 15 に記載のオリゴマー化合物。

【0080】

実施形態 17. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、非二環式糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含む、実施形態 1～13 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0081】

実施形態 18. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、2'-MOE または 2'-OMe

50

を含む修飾された非二環式糖部分を含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含む、実施形態17に記載のオリゴマー化合物。

【0082】

実施形態19. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各修飾されたヌクレオシドが、2'-MOEまたは2'-OMeを含む修飾された非二環式糖部分を含む、実施形態18に記載のオリゴマー化合物。

【0083】

実施形態20. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含む、実施形態1~13のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0084】

実施形態21. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、モルホリノ及びPNAから選択される糖サロゲートを含む少なくとも1つの修飾されたヌクレオシドを含む、実施形態20に記載のオリゴマー化合物。

【0085】

実施形態22. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、ギャップマーである、実施形態1~18ならびに20~21のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0086】

実施形態23. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、
1~6個の結合された5'-ヌクレオシドからなる5'-領域、
6~10個の結合された中心領域ヌクレオシドからなる中心領域、及び
1~6個の結合された5'-ヌクレオシドからなる3'-領域を含む糖モチーフを有し、
前記5'-領域ヌクレオシドの各々及び前記3'-領域ヌクレオシドの各々が、修飾された糖部分を含み、前記中心領域ヌクレオシドの各々が、2'-デオキシヌクレオシド糖部分を含む、実施形態1~18及び20~21のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0087】

実施形態24. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、20個の結合されたヌクレオシドからなり、以下のヌクレオシド間モチーフ：s o o o s s s s s s s s s s s o o s sを有し、

s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、及び

o = ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、実施形態1~7または10~23に記載のオリゴマー化合物。

【0088】

実施形態25. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、12~18、12~20、14~20、16~20、または17~19個の結合されたヌクレオシドからなる、実施形態1~23のいずれか1つに記載のオリゴマー化合物。

【0089】

実施形態26. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、16、17、または18個の結合されたヌクレオシドからなる、実施形態1~23及び25のいずれか1つに記載のオリゴマー化合物。

【0090】

実施形態27. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドからなる、実施形態1~26のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0091】

実施形態28. 複合部分及び複合リンカーを含む複合群を含む、実施形態1~26のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0092】

実施形態29. 前記複合群が、1~3個のGalNAcリガンドを含むGalNAcクラスターを含む、実施形態28に記載のオリゴマー化合物。

【0093】

10

20

30

40

50

実施形態 30. 前記複合リンカーが、単結合からなる、実施形態 28 または 29 に記載のオリゴマー化合物。

【0094】

実施形態 31. 前記複合リンカーが、切断可能である、実施形態 28 に記載のオリゴマー化合物。

【0095】

実施形態 32. 前記複合リンカーが、1～3 個のリンカーヌクレオシドを含む、実施形態 28 に記載のオリゴマー化合物。

【0096】

実施形態 33. 前記複合群が、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの 5' - 末端で前記修飾されたオリゴヌクレオチドに結合されている、実施形態 28～32 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【0097】

実施形態 34. 前記複合群が、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの 3' - 末端で前記修飾されたオリゴヌクレオチドに結合されている、実施形態 28～32 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0098】

実施形態 35. 末端基を含む、実施形態 1～26 または 28～34 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0099】

20

実施形態 36. 前記オリゴマー化合物が、一本鎖オリゴマー化合物である、実施形態 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0100】

実施形態 37. 前記オリゴマー化合物が、リンカーヌクレオシドを含まない、実施形態 1～31 または 33～34 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0101】

実施形態 38. 実施形態 1～35 及び 37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二本鎖。

【0102】

実施形態 39. 実施形態 1～37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物または実施形態 38 に記載のオリゴマー二本鎖を含むか、またはそれらからなるアンチセンス化合物。

30

【0103】

実施形態 40. 12～50 個の結合されたヌクレオシドからなり、配列番号 10～321 の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17 個、または少なくとも 18 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾されたオリゴヌクレオチド。

【0104】

実施形態 41. 実施形態 1～37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態 38 に記載のオリゴマー二本鎖、実施形態 39 に記載のアンチセンス化合物、または実施形態 40 に記載の修飾されたオリゴヌクレオチド、及び薬学的に許容される担体もしくは希釈剤のうちの少なくとも 1 つを含む薬学的組成物。

40

【0105】

実施形態 42. 前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、ナトリウム塩である、実施形態 41 に記載の薬学的組成物。

【0106】

実施形態 43. 実施形態 41～42 のいずれかに記載の薬学的組成物を動物に投与することを含む方法。

【0107】

実施形態 44. 前記動物が、ヒトである、実施形態 43 に記載の方法。

50

【0108】

実施形態45. STMN2に関連する疾患を治療する方法であって、STMN2に関連する疾患を有するかまたはそれを発症する危険性のある個体に、治療有効量の、実施形態41及び42に記載の薬学的組成物を投与し、それによりSTMN2に関連する前記疾患を治療することを含む、前記方法。

【0109】

実施形態46. STMN2に関連する前記疾患が、神経変性疾患である、実施形態45に記載の方法。

【0110】

実施形態47. 前記神経変性疾患が、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、前頭側頭型認知症(FTD)、アルツハイマー病(AD)、及びレビー小体型認知症(DLB)である、実施形態46に記載の方法。

【0111】

実施形態48. 前記神経変性疾患の少なくとも1つの症状が、改善される、実施形態47に記載の方法。

【0112】

実施形態49. 前記症状が、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、及び寿命減少である、実施形態48に記載の方法。

【0113】

I. ある特定のオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、結合されたヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドが本明細書に提供される。オリゴヌクレオチドは、修飾されていないオリゴヌクレオチド(RNAまたはDNA)であり得るか、または修飾されたオリゴヌクレオチドであり得る。修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾されていないRNAまたはDNAに対して少なくとも1つの修飾を含む。すなわち、修飾されたオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾されたヌクレオシド(修飾された糖部分及び/または修飾された核酸塩基を含む)及び/または少なくとも1つの修飾されたヌクレオシド間結合を含む。

【0114】

A. ある特定の修飾されたヌクレオシド

修飾されたヌクレオシドは、修飾された糖部分または修飾された核酸塩基または修飾された糖部分及び修飾された核酸塩基の両方を含む。

【0115】

1. ある特定の糖部分

ある特定の実施形態では、修飾された糖部分は、非二環式の修飾された糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾された糖部分は、二環式または三環式糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾された糖部分は、糖サロゲートである。そのような糖サロゲートは、修飾された糖部分の他の種類のものに対応する1つ以上の置換を含み得る。

【0116】

ある特定の実施形態では、修飾された糖部分は、そのいずれもフラノシル環の2つの原子を架橋して二環式構造を形成しない1つ以上の置換基を有するフラノシル環を含む非二環式の修飾された糖部分である。そのような非架橋置換基は、これらに限定されないが、2'、4'、及び/または5'位を含むフラノシルの任意の位置にあり得る。ある特定の実施形態では、非二環式の修飾された糖部分の1つ以上の非架橋置換基は、分岐である。非二環式の修飾された糖部分に好適な2'-置換基群の例には、これらに限定されないが、2'-F、2'-OCH₃(「OMe」または「O-メチル」)、及び2'-O(CH₂)₂OCH₃(「MOE」)が挙げられる。ある特定の実施形態では、2'-置換基は、ハロ、アリル、アミノ、アジド、SH、CN、OCN、CF₃、OCF₃、O-C₁-C₁₀アルコキシ、O-C₁-C₁₀置換アルコキシ、O-C₁-C₁₀アルキル、O-C₁-C₁₀置換アルキル、S-アルキル、N(R_m)-アルキル、O-アルケニル、S-アルケニル、N(R_m)-アルケニル、O-アルキニル、S-アルキニル、N(R_m)-アルキニル、O

10

20

30

40

50

ーアルキレニルーOーアルキル、アルキニル、アルカリール、アラルキル、Oーアルカリール、Oーアラルキル、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(R_m)(R_n)$ 、または $OCH_2C(=O)-N(R_m)(R_n)$ の中から選択され、各 R_m 及び R_n は独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換 C_1-C_{10} アルキルであり、2'-置換基は、Cook et al., U. S. 6, 531, 584、Cook et al., U. S. 5, 859, 221、及びCook et al., U. S. 6, 005, 087に記載されている。これらの2'-置換基のある特定の実施形態は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ(NO_2)、チオール、チオアルコキシ、チオアルキル、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルの中から独立して選択される1つ以上の置換基でさらに置換され得る。非二環式の修飾された糖部分に好適な4'-置換基の例には、これらに限定されないが、アルコキシ(例えば、メトキシ)、アルキル、及びManoharan et al., WO2015/106128に記載されるものが挙げられる。非二環式の修飾された糖部分に好適な5'-置換基の例には、これらに限定されないが、5'-メチル(R または S)、5'-ビニル、及び5'-メトキシが挙げられる。ある特定の実施形態では、非二環式の修飾された糖部分は、2つ以上の非架橋糖置換基、例えば、2'-F-5'-メチル糖部分、ならびにMigawa et al., WO2008/101157及びRajeev et al., US2013/0203836に記載される修飾された糖部分及び修飾されたヌクレオシドを含む。

10

【0117】

20

ある特定の実施形態では、2'-置換非二環式の修飾されたヌクレオシドは、F、 NH_2 、 N_3 、 OCF_3 、 OCH_3 、 $O(CH_2)_3NH_2$ 、 $CH_2CH=CH_2$ 、 $OCH_2CH=CH_2$ 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(R_m)(R_n)$ 、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 、及びN-置換アセトアミド($OCH_2C(=O)-N(R_m)(R_n)$)から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含み、各 R_m 及び R_n は独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換 C_1-C_{10} アルキルである。

【0118】

ある特定の実施形態では、2'-置換ヌクレオシド非二環式の修飾されたヌクレオシドは、F、 OCF_3 、 OCH_3 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 、 $O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 、及び $OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$ (「NMA」)から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

30

【0119】

ある特定の実施形態では、2'-置換非二環式の修飾されたヌクレオシドは、F、 OCH_3 、及び $OCH_2CH_2OCH_3$ から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

【0120】

ある特定の修飾された糖部分は、フラノシル環の2つの原子を架橋して第2の環を形成する置換基を含み、二環式糖部分をもたらす。ある特定のそのような実施形態では、二環式糖部分は、4'及び2'フラノース環原子の間に架橋を含む。そのような4'~2'架橋糖置換基の例には、これらに限定されないが、4'- CH_2-2' 、4'- $(CH_2)_2-2'$ 、4'- $(CH_2)_3-2'$ 、4'- C_2H_4O-2' (「LNA」)、4'- C_2H_4S-2' 、4'- $(CH_2)_2O-2'$ (「ENA」)、4'- $CH(C_2H_5)O-2'$ (「拘束エチル」または「cEt」と称される)、4'- CH_2OCH_2-2' 、4'- $C_2H_4N(R)-2'$ 、4'- $CH(C_2H_5)OCH_3-2'$ (「拘束MOE」または「cMOE」と称される)及びその類似体(例えば、Seth et al., U. S. 7, 399, 845、Bhat et al., U. S. 7, 569, 686、Swayze et al., U. S. 7, 741, 457、及びSwayze et al., U. S. 8, 022, 193を参照のこと)、4'- $C(CH_3)(CH_3)O-2'$ 及びその類似体(例えば、Seth et al., U. S. 8, 278, 283を参照のこと)、4'- $CH_2-N(OCH$

50

3) -2' 及びその類似体 (例えば、Prakash et al., U. S. 8, 278, 425 を参照のこと)、4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (例えば、Allerson et al., U. S. 7, 696, 345 及び Allerson et al., U. S. 8, 124, 745 を参照のこと)、4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (例えば、Zhou, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134 を参照のこと)、4'-CH₂-C(=CH₂)-2' 及びその類似体 (例えば、Seth et al., U. S. 8, 278, 426 を参照のこと)、4'-C(R_aR_b)-N(R)-O-2'、4'-C(R_aR_b)-O-N(R)-2'、4'-C₂H₄-O-N(R)-2'、ならびに 4'-C₂H₄-N(R)-O-2' が挙げられ、各 R、R_a、及び R_b は独立して、H、保護基、または C₁-C₁₂ アルキルである (例えば、Imanishi et al., U. S. 7, 427, 672 を参照のこと)。

10

【0121】

ある特定の実施形態では、そのような 4' から 2' 架橋は独立して、- [C(R_a)(R_b)]_n-, - [C(R_a)(R_b)]_n-O-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=NR_a)-, -C(=O)-, -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 1~4 個の結合された基を含み、

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、

20

各 R_a 及び R_b は独立して、H、保護基、ヒドロキシル、C₁-C₁₂ アルキル、置換 C₁-C₁₂ アルキル、C₂-C₁₂ アルケニル、置換 C₂-C₁₂ アルケニル、C₂-C₁₂ アルキニル、置換 C₂-C₁₂ アルキニル、C₅-C₂₀ アリール、置換 C₅-C₂₀ 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、C₅-C₇ 脂環式ラジカル、置換 C₅-C₇ 脂環式ラジカル、ハロゲン、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、COOJ₁、アシル (C(=O)-H)、置換アシル、CN、スルホニル (S(=O)₂-J₁)、またはスルホキシル (S(=O)-J₁) であり、

各 J₁ 及び J₂ は独立して、H、C₁-C₁₂ アルキル、置換 C₁-C₁₂ アルキル、C₂-C₁₂ アルケニル、置換 C₂-C₁₂ アルケニル、C₂-C₁₂ アルキニル、置換 C₂-C₁₂ アルキニル、C₅-C₂₀ アリール、置換 C₅-C₂₀ 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、C₁-C₁₂ アミノアルキル、置換 C₁-C₁₂ アミノアルキル、または保護基である。

30

【0122】

追加の二環式糖部分は、当該技術分野で既知であり、例えば、Freier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4429-4443、Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740、Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456、Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630、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, 8362-8379、Wengel et al., U. S. 7, 053, 207、Imanishi et al., U. S. 6, 268, 490、Imanishi et al. U. S. 6, 770, 748、Imanishi et al., U. S. RE44, 779、Wengel et al., U. S. 6, 794, 499、Wengel et al., U. S. 6, 670, 461、Wengel et al., U. S. 7, 034, 133、Wengel et al., U. S. 8, 080, 644、Wengel et al., U. S. 8, 034, 909、Wengel et al., U. S. 8, 153, 365、Wengel et al., U. S. 7, 572, 582、及び Ramasamy et al., U.

40

50

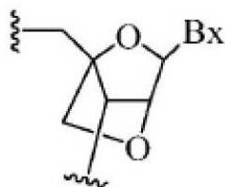
S. 6, 525, 191、Torsten et al., WO2004/106356、Wengel et al., WO1999/014226、Seth et al., WO2007/134181、Seth et al., U. S. 7, 547, 684、Seth et al., U. S. 7, 666, 854、Seth et al., U. S. 8, 088, 746、Seth et al., U. S. 7, 750, 131、Seth et al., U. S. 8, 030, 467、Seth et al., U. S. 8, 268, 980、Seth et al., U. S. 8, 546, 556、Seth et al., U. S. 8, 530, 640、Migawa et al., U. S. 9, 012, 421、Seth et al., U. S. 8, 501, 805、ならびに米国特許公開Allerson et al., 第US2008/0039618号及びMigawa et al., 同第US2015/0191727号を参照のこと。

10

【0123】

ある特定の実施形態では、二環式糖部分及びそのような二環式糖部分を抱合するヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、LNAヌクレオシド（本明細書に記載される）は、 α -L配置または β -D配置にあり得る。

【化1】



LNA (β -D-配置)
架橋 = 4'-CH₂-O-2'



α -L-LNA (α -L-配置)
架橋 = 4'-CH₂-O-2'

20

α -L-メチレンオキシ (4'-CH₂-O-2') または α -L-LNA二環式ヌクレオシドは、アンチセンス活性を示したオリゴヌクレオチドに抱合されている (Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。本明細書において、二環式ヌクレオシドの一般的な説明は、両方の異性体配置を含む。特定の二環式ヌクレオシド（例えば、LNAまたはcEt）の位置が本明細書に例示される実施形態で特定される場合、別段の定めがない限り、それらは β -D配置にある。

30

【0124】

ある特定の実施形態では、修飾された糖部分は、1つ以上の非架橋糖置換基及び1つ以上の架橋糖置換基（例えば、5'-置換及び4'-2'架橋糖）を含む。

【0125】

ある特定の実施形態では、修飾された糖部分は、糖サロゲートである。ある特定のそのような実施形態では、糖部分の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子で置き換えられる。ある特定のそのような実施形態では、そのような修飾された糖部分はまた、本明細書に記載されるように、架橋及び／または非架橋置換基を含む。例えば、ある特定の糖サロゲートは、4'-硫黄原子ならびに2'-位置（例えば、Bhat et al., U. S. 7, 875, 733及びBhat et al., U. S. 7, 939, 677を参照のこと）及び／または5'位置での置換を含む。

40

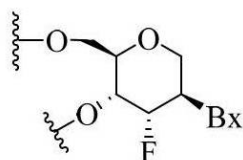
【0126】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、5個の原子以外を有する環を含む。例えば、ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、6員テトラヒドロピラン（「THP」）を含む。そのようなテトラヒドロピランは、さらに修飾されているか、または置換されていてもよい。そのような修飾されたテトラヒドロピランを含むヌクレオシドは、これらに限定されないが、ヘキシトール核酸（「HNA」）、アニトール核酸（「ANA」）、マンニトール核酸（「MNA」）（例えば、Leumann, C J. Bioorg. & Med

50

Chem. 2002, 10, 841-854を参照のこと)、フルオロHNA:

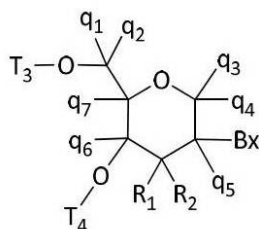
【化2】



F-HNA

「F-HNA」、例えば、Swayze et al., U. S. 8,088,904、Swayze et al., U. S. 8,440,803、Swayze et al., U. S. 8,796,437、及びSwayze et al., U. S. 9,005,906を参照；F-HNAはまた、F-THPまたは3'-フルオロテトラヒドロピランとも称され得る)、及び以下の式を有する追加の修飾されたTHP化合物を含むヌクレオシドを含み、

【化3】



式中、独立して、当該修飾されたTHPヌクレオシドの各々について、

Bxは、核酸塩基部分であり、

T3及びT4は各々独立して、修飾されたTHPヌクレオシドをオリゴヌクレオチドの残りに結合するヌクレオシド間結合基であるか、またはT3及びT4の一方は、修飾されたTHPヌクレオシドをオリゴヌクレオチドの残りに結合するヌクレオシド間結合基であり、T3及びT4の他方は、H、ヒドロキシル保護基、結合された複合群、または5'もしくは3'-末端基であり、

q1、q2、q3、q4、q5、q6、及びq7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、または置換C2-C6アルキニルであり、

R1及びR2のそれぞれは独立して、水素、ハロゲン、置換または非置換アルコキシ、NJ1J2、SJ1、N3、OC(=X)J1、OC(=X)NJ1J2、NJ3C(=X)NJ1J2、及びCNの中から選択され、Xは、O、S、またはNJ1であり、各J1、J2、及びJ3は独立して、HまたはC1-C6アルキルである。

【0127】

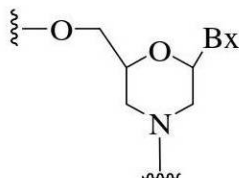
ある特定の実施形態では、修飾されたTHPヌクレオシドが提供され、q1、q2、q3、q4、q5、q6、及びq7はそれぞれ、Hである。ある特定の実施形態では、q1、q2、q3、q4、q5、q6、及びq7のうちの少なくとも1つは、H以外である。ある特定の実施形態では、q1、q2、q3、q4、q5、q6、及びq7のうちの少なくとも1つは、メチルである。ある特定の実施形態では、修飾されたTHPヌクレオシドが提供され、R1及びR2のうちの1つは、Fである。ある特定の実施形態では、R1は、Fであり、R2は、Hであり、ある特定の実施形態では、R1は、メトキシであり、R2は、Hであり、ある特定の実施形態では、R1は、メトキシエトキシであり、R2は、Hである。

【0128】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、5個を超える原子及び2個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ヌクレオ

チドにおけるそ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Summerton et al., U. S. 5, 698, 685、Summerton et al., U. S. 5, 166, 315、Summerton et al., U. S. 5, 185, 444、ならびにSummerton et al., U. S. 5, 034, 506を参照）。本明細書で使用されるように、「モルホリノ」とは、以下の構造を有する糖サロゲートを意味する。

【化4】



10

ある特定の実施形態では、モルホリノは、例えば、上記のモルホリノ構造から様々な置換基を付加または改変することによって修飾され得る。そのような糖サロゲートは、本明細書で「修飾されたモルホリノ」と称される。

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、非環式部分を含む。そのような非環式糖サロゲートを含むヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドの例には、これらに限定されないが、ペプチド核酸（「PNA」）、非環式ブチル核酸（例えば、Kumar et al., Org. Biomol. Chem., 2013, 11, 5853-5865を参照）、ならびにManoharan et al., WO2011/133876に記載されるヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドが挙げられる。

20

【0129】

多くの他の二環式及び三環式糖ならびに糖サロゲート環系は、修飾されたヌクレオシドで使用され得る当該技術分野で既知である。

【0130】

2. ある特定の修飾された核酸塩基

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾されていない核酸塩基を含む1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾された核酸塩基を含む1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、脱塩基ヌクレオシドと称される、核酸塩基を含まない1つ以上のヌクレオシドを含む。

30

【0131】

ある特定の実施形態では、修飾された核酸塩基は、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、アルキルまたはアルキニル置換ピリミジン、アルキル置換プリン、ならびにN-2、N-6、及びO-6置換プリンから選択される。ある特定の実施形態では、修飾された核酸塩基は、2-アミノプロピルアデニン、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、6-N-メチルグアニン、6-N-メチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-プロピニル（ $-C\equiv C-CH_3$ ）ウラシル、5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシン、6-アゾチミン、5-リボシルウラシル（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、8-アザ及び他の8-置換プリン、5-ハロ、特に5-ブromo、5-トリフルオロメチル、5-ハロウラシル、及び5-ハロシトシン、7-メチルグアニン、7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノアデニン、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、3-デアザグアニン、3-デアザアデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、2-N-イソブチルグアニン、4-N-ベンゾイルシトシン、4-N-ベンゾイルウラシル、5-メチル4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチル4-N-ベンゾイルウラシル、一般的な塩基、疎水性塩基、無差別塩基、サイズ拡張された塩基、ならびにフッ素

40

50

化塩基から選択される。さらに修飾された核酸塩基は、1, 3-ジアザフェノキサジン-2-オン、1, 3-ジアザフェノチアジン-2-オン、及び9-(2-アミノエトキシ)-1, 3-ジアザフェノキサジン-2-オン (Gクランプ) などの三環式ピリミジンを含む。修飾された核酸塩基はまた、プリン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-デアザグアノシン、2-アミノピリジン、及び2-ピリドンで置き換えられるものを含み得る。さらなる核酸塩基は、Merigan et al., U. S. 3, 687, 808に開示されるもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, Kroschwitz, J. I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859、Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613、Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288に開示されるもの、及び Chapters 6 and 15, Antisense Drug Technology, Crooke S. T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166 and 442-443に開示されるものを含む。

【0132】

確実な上記の修飾された核酸塩基、ならびに他の修飾された核酸塩基の調製を教示する出版物は、限定することなく、Manoharan et al., US2003/0158403、Manoharan et al., US2003/0175906、Dinh et al., U. S. 4, 845, 205、Spielvogel et al., U. S. 5, 130, 302、Rogers et al., U. S. 5, 134, 066、Bischofberger et al., U. S. 5, 175, 273、Urdea et al., U. S. 5, 367, 066、Benner et al., U. S. 5, 432, 272、Matteucci et al., U. S. 5, 434, 257、Gmeiner et al., U. S. 5, 457, 187、Cook et al., U. S. 5, 459, 255、Froehler et al., U. S. 5, 484, 908、Matteucci et al., U. S. 5, 502, 177、Hawkins et al., U. S. 5, 525, 711、Haralambidis et al., U. S. 5, 552, 540、Cook et al., U. S. 5, 587, 469、Froehler et al., U. S. 5, 594, 121、Switzer et al., U. S. 5, 596, 091、Cook et al., U. S. 5, 614, 617、Froehler et al., U. S. 5, 645, 985、Cook et al., U. S. 5, 681, 941、Cook et al., U. S. 5, 811, 534、Cook et al., U. S. 5, 750, 692、Cook et al., U. S. 5, 948, 903、Cook et al., U. S. 5, 587, 470、Cook et al., U. S. 5, 457, 191、Matteucci et al., U. S. 5, 763, 588、Froehler et al., U. S. 5, 830, 653、Cook et al., U. S. 5, 808, 027、Cook et al., 6, 166, 199、及びMatteucci et al., U. S. 6, 005, 096を含む。

【0133】

3. ある特定の修飾されたヌクレオシド間結合

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、任意のヌクレオシド間結合を使用して一緒に結合されてもよい。ヌクレオシド間結合基の2つの主な分類は、リン原子の存在または不在下によって定義される。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合は、これらに限定されないが、ホスホジエステル結合 (「P=O」) (修飾されていないまたは天然型結合とも称される) を含むホスフェート、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホルアミデート、及びホスホロチオエート (「P=S」) 、及

びホスホロチオエート（「 $\text{HS}-\text{P}=\text{S}$ 」）を含む。代表的な非リン含有ヌクレオシド間結合基には、これらに限定されないが、メチレンメチルイミノ（ $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ ）、チオジエステル、チオノカルバメート（ $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})(\text{NH})-\text{S}-$ ）、シロキサン（ $-\text{O}-\text{SiH}_2-\text{O}-$ ）、及び N, N' -ジメチルヒドラジン（ $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-$ ）が含まれる。修飾されたヌクレオシド間結合は、天然型ホスフェート結合と比較して、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ耐性を改変、典型的には増加するために使用され得る。ある特定の実施形態では、キラル原子を有するヌクレオシド間結合は、ラセミ混合物、または別個のエナンチオマーとして調製され得る。リン含有及び非リン含有ヌクレオシド間結合の調製方法は、当業者に周知である。

【0134】

キラル中心を有する代表的なヌクレオシド間結合は、これらに限定されないが、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートを含む。キラル中心を有するヌクレオシド間結合を含む修飾されたオリゴヌクレオチドは、特定の立体化学的配置において、ステレオランダムヌクレオシド間結合を含む修飾されたオリゴヌクレオチドとして、またはホスホロチオエート結合を含む修飾されたオリゴヌクレオチドの集団として調製され得る。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含み、全てのホスホロチオエートヌクレオシド間結合は、ステレオランダムである。そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、各ホスホロチオエート結合の立体化学的配置のランダム選択をもたらす合成方法を使用して生成され得る。それにもかかわらず、当業者によって十分に理解されるように、各個々のオリゴヌクレオチド分子の各個々のホスホロチオエートは、定義される立体配置を有する。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、特定の、独立して選択される立体化学的配置において1つ以上の特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾されたオリゴヌクレオチドが濃縮されている。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団中の少なくとも65%の分子に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団中の少なくとも70%の分子に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団中の少なくとも80%の分子に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団中の少なくとも90%の分子に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団中の少なくとも99%の分子に存在する。修飾されたオリゴヌクレオチドのそのようなキラル的に濃縮された集団は、当該技術分野で既知の合成方法、例えば、Oka et al., JACS 125, 8307 (2003)、Wan et al. Nuc. Acid. Res. 42, 13456 (2014)、及びWO2017/015555に記載される方法を使用して生成され得る。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、(Sp)配置において少なくとも1つの示されるホスホロチオエートを有する修飾されたオリゴヌクレオチドが濃縮されている。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、(Rp)配置において少なくとも1つのホスホロチオエートを有する修飾されたオリゴヌクレオチドについて濃縮されている。ある特定の実施形態では、(Rp)及び／または(Sp)ホスホロチオエートを含む修飾されたオリゴヌクレオチドは、それぞれ以下の式のうちの1つ以上を含み、「B」は、核酸塩基を示す。

10

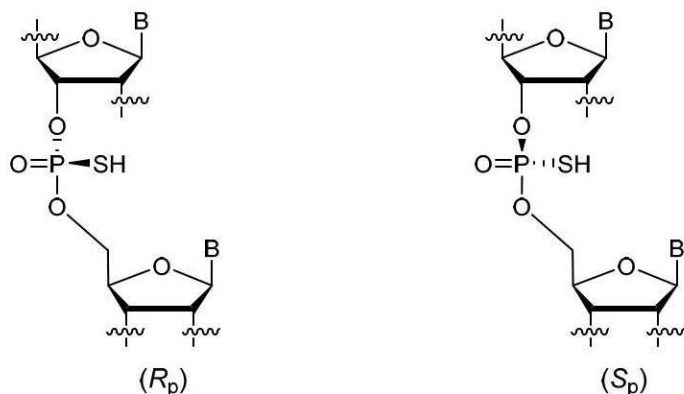
20

30

40

50

【化 5】



10

特に指示がない限り、本明細書に記載される修飾されたオリゴヌクレオチドのキラルヌクレオシド間結合は、ステレオランダムであり得るか、または特定の立体化学的配置にあり得る。

【0135】

中性ヌクレオシド間結合には、限定することなく、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI (3'-CH₂-N(CH₃)-O-5')、アミド-3 (3'-C(=O)-NH-5')、アミド-4 (3'-C(=O)-NH-5')、ホルムアセタール (3'-O-CH₂-O-5')、メトキシプロピル、及びチオホルムアセタール (3'-S-CH₂-O-5') が含まれる。さらなる中性ヌクレオシド間結合には、シロキサン (ジアルキルシロキサン)、カルボキシレートエステル、カルボキサミド、スルフィド、スルホネートエステル、及びアミドを含む非イオン結合が含まれる (例えば、Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; Chapters 3 and 4, 40-65を参照)。さらなる中性ヌクレオシド間結合は、混合N、O、S、及びCH₂構成要素部分を含む非イオン結合を含む。

20

【0136】

B. ある特定のモチーフ

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾された糖部分を含む1つ以上の修飾されたヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾された核酸塩基を含む1つ以上の修飾されたヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾されたヌクレオシド間結合を含む。そのような実施形態では、修飾された、修飾されていない、及び異なって修飾された糖部分、核酸塩基、及び／または修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、パターンまたはモチーフを定義する。ある特定の実施形態では、糖部分、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合のパターンはそれぞれ、互いに無関係である。したがって、修飾されたオリゴヌクレオチドは、その糖モチーフ、核酸塩基モチーフ、及び／またはヌクレオシド間結合モチーフによって説明され得る (本明細書で 사용되는場合、核酸塩基モチーフは、核酸塩基の配列とは無関係である核酸塩基に対する修飾を説明する)。

40

【0137】

1. ある特定の糖モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、定義されるパターンまたは糖モチーフにおいてオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配列される1つ以上の種類の修飾された糖及び／または修飾されていない糖部分を含む。ある特定の例では、そのような糖モチーフは、これらに限定されないが、本明細書に記載される糖修飾うちのいずれかを含む。

50

【0138】

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、2つの外部領域または「ウイング」及び中心もしくは内部領域または「ギャップ」によって定義されるギャップマーモチーフを有する領域を含むか、またはそれからなる。ギャップマーモチーフの3つの領域（5'-ウイング、ギャップ、及び3'-ウイング）は、ヌクレオシドの連続する配列を形成し、ウイングの各々のヌクレオシドの糖部分の少なくとも一部は、ギャップのヌクレオシドの糖部分の少なくとも一部とは異なる。具体的には、ギャップに最も隣接する各ウイングのヌクレオシドの少なくとも糖部分（5'-ウイングの最も3'側のヌクレオシド及び3'-ウイングの最も5'側のヌクレオシド）は、隣接するギャップヌクレオシドの糖部分とは異なり、したがって、ウイングとギャップとの間の境界を画定する（すなわち、ウイング／ギャップジャンクション）。ある特定の実施形態では、ギャップ内の糖部分は、互いに同じである。ある特定の実施形態では、ギャップは、ギャップの1つ以上の他のヌクレオシドの糖部分とは異なる糖部分を有する1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、2つのウイングの糖モチーフは、互いに同じである（対称ギャップマー）。ある特定の実施形態では、5'-ウイングの糖モチーフは、3'-ウイングの糖モチーフとは異なる（非対称ギャップマー）。

10

【0139】

ある特定の実施形態では、ギャップマーのウイングは、1～5個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの各ヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも2つのヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも3つのヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも4つのヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。

20

【0140】

ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップは、7～12個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの各ヌクレオシドは、修飾された2'-デオキシヌクレオシドである。

【0141】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、デオキシギャップマーである。実施形態では、各ウイング／ギャップジャンクションのギャップ側のヌクレオシドは、修飾されていない2'-デオキシヌクレオシドであり、各ウイング／ギャップジャンクションのウイング側のヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップの各ヌクレオシドは、修飾されていない2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの各ヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。

30

【0142】

本明細書において、ギャップマーの3つの領域の長さ（ヌクレオシドの数）は、表記法[5'-ウイングにおけるヌクレオシドの番号]－[ギャップにおけるヌクレオシドの番号]－[3'-ウイングにおけるヌクレオシドの番号]を使用して提供され得る。したがって、5-10-5ギャップマーは、各ウイングにおける5個の結合されたヌクレオシド及びギャップにおける10個の結合されたヌクレオシドからなる。そのような用語法の後に特定の修飾が続く場合、その修飾は、各ウイングの各糖部分における修飾であり、ギャップヌクレオシドは、修飾されていないデオキシヌクレオシド糖を含む。したがって、5-10-5MOEギャップマーは、5'-ウイングにおける5個の結合されたMOE修飾されたヌクレオシド、ギャップにおける10個のデオキシヌクレオシド、及び3'-ウイングにおける5個の結合されたMOEヌクレオシドからなる。

40

【0143】

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、5-10-5MOEギャ

50

ップマーである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、3-10-3 BNAギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、3-10-3 cEtギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、3-10-3 LNAギャップマーである。

【0144】

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、完全に修飾された糖モチーフを有する領域を含むか、またはそれからなる。そのような実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの完全に修飾された領域の各ヌクレオシドは、修飾された糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、完全に修飾された糖モチーフを有する領域を含むか、またはそれからなり、完全に修飾された領域内の各ヌクレオシドは、同じ修飾された糖部分（均一に修飾された糖モチーフ）を含む。ある特定の実施形態では、均一に修飾された糖部分は、7〜20ヌクレオシド長である。ある特定の実施形態では、均一に修飾された糖モチーフの各ヌクレオシドは、2'-置換ヌクレオシド、糖サロゲート、または二環式ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、均一に修飾された糖モチーフの各にヌクレオシドは、2'- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 基または2'- OCH_3 基のいずれかを含む。ある特定の実施形態では、少なくとも1個の完全に修飾された糖モチーフを有する修飾されたオリゴヌクレオチドはまた、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、または少なくとも4個の2'-デオキシヌクレオシドを有し得る。

【0145】

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチド全体の各ヌクレオシドは、修飾された糖部分（完全に修飾されたオリゴヌクレオチド）を含む。ある特定の実施形態では、完全に修飾されたオリゴヌクレオチドは、異なる2'-修飾を含む。ある特定の実施形態では、完全に修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、2'-置換ヌクレオシド、糖サロゲート、または二環式ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、完全に修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、2'- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 基及び少なくとも1個の2'- OCH_3 基のいずれかを含む。

【0146】

ある特定の実施形態では、完全に修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、同じ2'-修飾（均一に修飾されたオリゴヌクレオチド）を含む。ある特定の実施形態では、均一に修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、2'-置換ヌクレオシド、糖サロゲート、または二環式ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、均一に修飾されたオリゴヌクレオチドの各にヌクレオシドは、2'- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 基または2'- OCH_3 基のいずれかを含む。

【0147】

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾された糖部分を含む少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個、少なくとも19個、または少なくとも20個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、2'-置換ヌクレオシド、糖サロゲート、二環式ヌクレオシド、または2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、2'- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 基、2'-H(H)デオキシリボシル糖部分、またはcEt修飾された糖を含む。

【0148】

2. ある特定の核酸塩基モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、定義されるパターンまたはモチーフにおいてオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配列される修飾された及び／または修飾されていない核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、各核酸塩基は、修飾されている。ある特定の実施形態では、核酸塩基のうちのいずれも修飾されていない。ある特定の実施形態では、各プリンまたは各ピリミジンは、修飾されている。ある特定の実施形態では、各アデニンは、修飾されている。ある特定の実施形態では、各グアニンは、修飾さ

れている。ある特定の実施形態では、各チミンは、修飾されている。ある特定の実施形態では、各ウラシルは、修飾されている。ある特定の実施形態では、各シトシンは、修飾されている。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドにおけるシトシン核酸塩基のいくつかまたは全ては、5-メチルシトシンである。ある特定の実施形態では、シトシン核酸塩基の全ては、5-メチルシトシンであり、修飾されたオリゴヌクレオチドの他の核酸塩基の全ては、修飾されていない核酸塩基である。

【0149】

ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、修飾された核酸塩基のブロックを含む。ある特定のそのような実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'-末端にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'-末端の3ヌクレオシド以内にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの5'-末端にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの5'-末端の3ヌクレオシド以内にある。

10

【0150】

ある特定の実施形態では、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチドは、修飾された核酸塩基を含むヌクレオシドを含む。ある特定のそのような実施形態では、修飾された核酸塩基を含む1つのヌクレオシドは、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチドの中心ギャップにある。ある特定のそのような実施形態では、当該ヌクレオシドの糖部分は、2'-デオキシリボシル部分である。ある特定の実施形態では、修飾された核酸塩基は、2-チオピリミジン及び5-プロピルピリミジンから選択される。

20

【0151】

3. ある特定のヌクレオシド間結合モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、定義されるパターンまたはモチーフにおいてオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配列される修飾された及び／または修飾されていないヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシド間結合基は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合 ($P=O$) である。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合基は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合 ($P=S$) である。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は独立して、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合から選択される。ある特定の実施形態では、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合は独立して、ステレオランダムホスホロチオエート、(*S* *p*) ホスホロチオエート、及び(*R* *p*) ホスホロチオエートから選択される。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの糖モチーフは、ギャップマーであり、ギャップ内のヌクレオシド間結合は全て、修飾されている。ある特定のそのような実施形態では、ウイングにおけるヌクレオシド間結合のうちのいくつかまたは全ては、修飾されていないホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、末端ヌクレオシド間結合は、修飾されている。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの糖モチーフは、ギャップマーであり、ヌクレオシド間結合モチーフは、少なくとも1つのウイングにおいて少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合を含み、少なくとも1つのホスホジエステル結合は、末端ヌクレオシド間結合ではなく、残りのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定のそのような実施形態では、ホスホロチオエート結合の全ては、ステレオランダムである。ある特定の実施形態では、ウイングにおける全てのホスホロチオエート結合は、(*S* *p*) ホスホロチオエートであり、ギャップは、少なくとも1つの *S* *p*、*S* *p*、*R* *p* モチーフを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、そのようなヌクレオシド間結合モチーフを含む修飾されたオリゴヌクレオチドが濃縮されている。

30

40

【0152】

C. ある特定の長さ

オリゴヌクレオチドの長さを、活性を排除することなく増加または減少させることが可能である。例えば、Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci.

50

USA 89:7305-7309, 1992)において、13~25核酸塩基長の一連のオリゴヌクレオチドが、卵母細胞注射モデルにおいて標的RNAの切断を誘発するそれらの能力について試験された。オリゴヌクレオチドの末端付近に8または11個の不適合塩基を有する25核酸塩基長のオリゴヌクレオチドは、不適合を含まないオリゴヌクレオチドよりも少ない程度ではあるが、標的RNAの特異的切断を指示することができた。同様に、標的特異的切断は、1または3つの不適合を有するものを含む13個の核酸塩基オリゴヌクレオチドを使用して達成された。

【0153】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾されたオリゴヌクレオチドを含む）は、様々な長さの範囲のいずれかを有し得る。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、Xが、範囲内でヌクレオシドの最も少ない数を表し、Yが、範囲内でヌクレオシドの最も大きい数を表す、X~Yの結合されたヌクレオシドからなる。ある特定のそのような実施形態では、X及びYは各々独立して、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、及び50から選択され、但し、 $X \leq Y$ を条件とする。例えば、ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、12~13、12~14、12~15、12~16、12~17、12~18、12~19、12~20、12~21、12~22、12~23、12~24、12~25、12~26、12~27、12~28、12~29、12~30、13~14、13~15、13~16、13~17、13~18、13~19、13~20、13~21、13~22、13~23、13~24、13~25、13~26、13~27、13~28、13~29、13~30、14~15、14~16、14~17、14~18、14~19、14~20、14~21、14~22、14~23、14~24、14~25、14~26、14~27、14~28、14~29、14~30、15~16、15~17、15~18、15~19、15~20、15~21、15~22、15~23、15~24、15~25、15~26、15~27、15~28、15~29、15~30、16~17、16~18、16~19、16~20、16~21、16~22、16~23、16~24、16~25、16~26、16~27、16~28、16~29、16~30、17~18、17~19、17~20、17~21、17~22、17~23、17~24、17~25、17~26、17~27、17~28、17~29、17~30、18~19、18~20、18~21、18~22、18~23、18~24、18~25、18~26、18~27、18~28、18~29、18~30、19~20、19~21、19~22、19~23、19~24、19~25、19~26、19~27、19~28、19~29、19~30、20~21、20~22、20~23、20~24、20~25、20~26、20~27、20~28、20~29、20~30、21~22、21~23、21~24、21~25、21~26、21~27、21~28、21~29、21~30、22~23、22~24、22~25、22~26、22~27、22~28、22~29、22~30、23~24、23~25、23~26、23~27、23~28、23~29、23~30、24~25、24~26、24~27、24~28、24~29、24~30、25~26、25~27、25~28、25~29、25~30、26~27、26~28、26~29、26~30、27~28、27~29、27~30、28~29、28~30、または29~30個の結合されたヌクレオシドからなる。

【0154】

D. ある特定の修飾されたオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、上記の修飾（糖、核酸塩基、ヌクレオシド間結合）は、修飾されたオリゴヌクレオチドに抱合される。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、それらの修飾、モチーフ、及び全体の長さによって特徴付けられる。ある特定の実施形態では、そのようなパラメータはそれぞれ、互いに無関係である。したがっ

て、特に指示がない限り、ギャップマー糖モチーフを有するオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、修飾されていても修飾されていなくてもよく、糖修飾のギャップマー修飾パターンに従っていても従っていなくてもよい。例えば、糖ギャップマーのウイング領域内のヌクレオシド間結合は、互いに同じであっても異なってもよく、糖モチーフのギャップ領域のヌクレオシド間結合と同じであっても異なってもよい。同様に、そのような糖ギャップマーオリゴヌクレオチドは、糖修飾のギャップマーパターンとは無関係の1つ以上の修飾された核酸塩基を含み得る。別段の指示がない限り、全ての修飾は、核酸塩基配列とは無関係である。

【0155】

E. 修飾されたオリゴヌクレオチドのある特定の集団

集団の修飾されたオリゴヌクレオチドの全てが同じ分子式を有する修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、ステレオランダム集団またはキラル的に濃縮された集団であり得る。修飾されたオリゴヌクレオチドの全てのキラル中心の全ては、ステレオランダム集団においてステレオランダムである。キラル的に濃縮された集団において、少なくとも1つの特定のキラル中心は、集団の修飾されたオリゴヌクレオチドにおいてステレオランダムではない。ある特定の実施形態では、キラル的に濃縮された集団の修飾されたオリゴヌクレオチドは、 β -Dリボシル糖部分が濃縮されており、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合の全ては、ステレオランダムである。ある特定の実施形態では、キラル的に濃縮された集団の修飾されたオリゴヌクレオチドは、 β -Dリボシル糖部分、及び特定の立体化学的配置にある少なくとも1つの、特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の両方が濃縮されている。

【0156】

F. 核酸塩基配列

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾されていないまたは修飾されたオリゴヌクレオチド）は、それらの核酸塩基配列によってさらに説明される。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸などの同定された参照核酸と相補的な核酸塩基配列を有する。ある特定のそのような実施形態では、オリゴヌクレオチドの領域は、第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸などの同定された参照核酸と相補的な核酸塩基配列を有する。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの領域または全体の長さの核酸塩基配列は、第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸などの核酸と少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的である。

【0157】

II. ある特定のオリゴマー化合物

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾されたまたは修飾されていない）、ならびに任意に1つ以上の複合群及び／または末端基からなるオリゴマー化合物が本明細書に提供される。複合群は、1つ以上の複合部分、及び複合部分をオリゴヌクレオチドに結合する複合リンカーからなる。複合群は、オリゴヌクレオチドのいずれかまたは両方の末端に、及び／または任意の内部位置で結合され得る。ある特定の実施形態では、複合群は、修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドの2'-一位に結合され得る。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドのいずれかまたは両方の末端に結合される複合群は、末端基である。ある特定のそのような実施形態では、複合群または末端基は、オリゴヌクレオチドの3'及び／または5'-末端で結合される。ある特定のそのような実施形態では、複合群または末端基は、オリゴヌクレオチドの3'-末端で結合される。ある特定の実施形態では、複合群は、オリゴヌクレオチドの3'-末端に近接して結合される。ある特定の実施形態では、複合群または末端基は、オリゴヌクレオチドの5'-末端で結合される。ある特定の実施形態では、複合群は、オリゴヌクレオチドの5'-末端に近接して結合される。

【0158】

末端基の例には、これらに限定されないが、複合群、キャッピング基、ホスフェート部分、保護基、修飾されたまたは修飾されていないヌクレオシド、及び独立して修飾されたまたは修飾されていない2つ以上のヌクレオシドが挙げられる。

【0159】

A. ある特定の複合群

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つ以上の複合群に共有結合される。ある特定の実施形態では、複合群は、これらに限定されないが、薬力学、薬物動態学、安定性、結合、吸収、組織分布、細胞分布、細胞取り込み、電荷、及びクリアランスを含む、結合されたオリゴヌクレオチドの1つ以上の特性を修飾する。ある特定の実施形態では、複合群は、結合されたオリゴヌクレオチド、例えば、オリゴヌクレオチドの検出を可能にするフルオロフォアまたはレポーター基に新しい特性を与える。ある特定の複合群及び複合体部分は、以前に説明されており、例えば、コレステロール部分 (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309、Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドーデカンジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118、Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330、Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチル-アンモニウム1,2-ジオ-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654、Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973)、またはアダマンタン酢酸パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、オクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937)、トコフェロール基 (Nishina et al., Molecular Therapy Nucleic Acids, 2015, 4, e220、及びNishina et al., Molecular Therapy, 2008, 16, 734-740)、またはGalNAcクラスター (例えば、WO2014/179620) である。

【0160】

1. 複合部分

複合部分には、限定することなく、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、炭水化物、ビタミン部分、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸塩、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、フルオロフォア、及び色素が含まれる。

【0161】

ある特定の実施形態では、複合部分は、活性薬原薬、例えば、アスピリン、ワルファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェ

10

20

30

40

50

ン、(S) - (+) - プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、2, 3, 5 - トリヨード安息香酸、フィンゴリモド、フルフェナム酸、フォリン酸、ベンゾチアジアジド、クロロチアジアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツレート、セファロスポリン、サルファ薬、抗糖尿病薬、抗菌薬、または抗生物質を含む。

【0162】

2. 複合リンカー

複合部分は、複合リンカーによってオリゴヌクレオチドに結合される。ある特定のオリゴマー化合物では、複合リンカーは、単一の化学結合である（すなわち、複合部分は、単結合によってオリゴヌクレオチドに直接的に結合される）。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、ヒドロカルビル鎖などの鎖構造、またはエチレングリコール、ヌクレオシド、もしくはアミノ酸単位などの繰り返し単位のオリゴマーを含む。

【0163】

ある特定の実施形態では、複合リンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、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から選択される1つ以上の基を含む。ある特定のそのような実施形態では、複合リンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、アルキル及びアミド基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、アルキル及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、少なくとも1つのリン部分を含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、少なくとも1つのホスフェート基を含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、少なくとも1つの中性結合基を含む。

【0164】

ある特定の実施形態では、上に記載される複合リンカーを含む複合リンカーは、二官能性結合部分、例えば、複合群を本明細書に提供されるオリゴヌクレオチドなどの親化合物に結合するのに有用であることが当該技術分野で既知のものである。一般に、二官能性結合部分は、少なくとも2つの官能性基を含む。官能性基のうちの一方は、親化合物の特定の部位と結合するように選択され、他方は、複合群と結合するように選択される。二官能性結合部分で使用される官能性基の例には、これらに限定されないが、求核基と反応させるための求電子剤及び求電子基と反応させるための求核剤が含まれる。ある特定の実施形態では、二官能性結合部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、アルキル、アルケニル、及びアルキニルから選択される1つ以上の基を含む。

【0165】

複合リンカーの例には、これらに限定されないが、ピロリジン、8 - アミノ - 3, 6 - ジオキサオクタン酸 (ADO)、スクシンイミジル 4 - (N - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (SMCC)、及び 6 - アミノヘキサン酸 (AHEX または HHA) が含まれる。他の複合リンカーには、これらに限定されないが、置換もしくは非置換 $C_1 - C_{10}$ アルキル、置換もしくは非置換 $C_2 - C_{10}$ アルケニル、または置換もしくは非置換 $C_2 - C_{10}$ アルキニルが含まれ、好ましい置換基の非限定的一覧には、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルが含まれる。

【0166】

ある特定の実施形態では、複合リンカーは、1 ~ 10 個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、2 ~ 5 個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、正確に 3 個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、TCA モチーフを含む。ある特定の実施形態では、そのようなリンカーヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、そのようなリンカーヌクレオシドは、修飾された糖部分を含む。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、修飾されていない。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、プリン、置換されているプリン、ピリミジン、または置換さ

れているピリミジンから選択される任意に保護された複素環式塩基を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4-N-ベンゾイルシトシン、5-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ヌクレオシドである。リンカーヌクレオシドが、標的組織に到達した後にオリゴマー化合物から切断されることが典型的には望ましい。したがって、リンカーヌクレオシドは、典型的には、互いに及び切断可能な結合によってオリゴマー化合物の残りに結合される。ある特定の実施形態では、そのような切断可能な結合は、ホスホジエステル結合である。

【0167】

本明細書において、リンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの一部であるとは考えられていない。したがって、オリゴマー化合物が、特定の数または範囲の結合されたヌクレオシド及び／または参照核酸との特定のパーセントの相補性からなるオリゴヌクレオチドを含み、オリゴマー化合物もまた、リンカーヌクレオシドを含む複合リンカーを含む複合群を含む実施形態では、それらのリンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの長さに計算されず、参照核酸に対するオリゴヌクレオチドの相補性パーセントを決定することにおいて使用されない。例えば、オリゴマー化合物は、(1) 8〜30個のヌクレオシドからなる修飾されたオリゴヌクレオチドと、(2) 修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドと隣接する1〜10個のリンカーヌクレオシドを含む複合群とを含み得る。そのようなオリゴマー化合物における隣接する結合されたヌクレオシドの合計数は、30個を超える。代替的には、オリゴマー化合物は、8〜30個のヌクレオシドからなりかつ複合群は存在しない修飾されたオリゴヌクレオチドを含み得る。そのようなオリゴマー化合物における隣接する結合されたヌクレオシドの合計数は、30個以下である。特に指示がない限り、複合リンカーは、10個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、5個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、3個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、2個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、複合リンカーは、1個以下のリンカーヌクレオシドを含む。

【0168】

ある特定の実施形態では、複合群を、オリゴヌクレオチドから切断させることが望ましい。例えば、ある特定の状況では、特定の複合部分を含むオリゴマー化合物は、特定の細胞型によってよく取り込まれるが、一旦オリゴマー化合物が取り込まれると、複合群が切断されて非複合体化または親オリゴヌクレオチドを放出することが望ましい。したがって、ある特定の複合リンカーは、1つ以上の切断可能な部分を含み得る。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、切断可能な結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、少なくとも1つの切断可能な結合を含む原子の群である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1、2、3、4、または5個以上の切断可能な結合を有する原子の群を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リソソームなど細胞または細胞内コンパートメントの内側で選択的に切断される。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ヌクレアーゼなどの内因性酵素によって選択的に切断される。

【0169】

ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、アミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの一方または両方のエステル、ホスフェートエステル、カルバメート、またはジスルフィドの中から選択される。ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、ホスホジエステルの一方または両方のエステルである。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ホスフェートまたはホスホジエステルを含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、オリゴヌクレオチド及び複合部分または複合群の間のホスフェート結合である。

【0170】

ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1つ以上のリンカーヌクレオシドを含むか、またはそれからなる。ある特定のそのような実施形態では、1つ以上のリンカーヌクレオシドは、互いに及び／または切断可能な結合によってオリゴマー化合物の残りに結合

される。ある特定の実施形態では、そのような切断可能な結合は、修飾されていないホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ホスフェートヌクレオシド間結合によってオリゴヌクレオチドの3'または5'-末端ヌクレオシドのいずれかに結合され、ホスフェートまたはホスホロチオエート結合によって複合リンカーまたは複合部分の残りに共有結合される2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定のそのような実施形態では、切断可能な部分は、2'-デオキシアデノシンである。

【0171】

B. ある特定の末端基

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、1つ以上の末端基を含む。ある特定のそのような実施形態では、オリゴマー化合物は、安定化された5'-ホスフェートを含む。安定化された5'-ホスフェートには、これらに限定されないが、5'-ビニルホスホネートを含むがこれらに限定されない5'-ホスファネート(5'-phosphanate)が含まれる。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の脱塩基ヌクレオシド及び／または逆ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の2'-結合ヌクレオシドを含む。ある特定のそのような実施形態では、2'-結合ヌクレオシドは、脱塩基ヌクレオシドである。

【0172】

III. オリゴマー二本鎖

ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴマー化合物は、標的核酸の配列と相補的な核酸塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、第2のオリゴマー化合物と対合して、オリゴマー二本鎖を形成する。そのようなオリゴマー二本鎖は、標的核酸と相補的な領域を有する第1のオリゴマー化合物、及び第1のオリゴマー化合物と相補的な領域を有する第2のオリゴマー化合物を含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー二本鎖の第1のオリゴマー化合物は、(1) 修飾されたまたは修飾されていないオリゴヌクレオチド及び任意に複合群と、(2) 第2の修飾されたまたは修飾されていないオリゴヌクレオチド及び任意に複合群とを含むか、またはそれらからなる。オリゴマー二本鎖のオリゴマー化合物のいずれかまたは両方は、複合群を含み得る。オリゴマー二本鎖の各オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドは、非相補的突出ヌクレオシドを含み得る。

【0173】

IV. アンチセンス活性

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物及びオリゴマー二本鎖は、標的核酸にハイブリダイズすることができ、少なくとも1つのアンチセンス活性をもたらす。そのようなオリゴマー化合物及びオリゴマー二本鎖は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、それらが標準細胞アッセイにおいて標的核酸の量または活性を25%以上増加する場合に、アンチセンス活性を有する。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、選択的に1つ以上の標的核酸に影響を与える。そのようなアンチセンス化合物は、1つ以上の標的核酸にハイブリダイズする核酸塩基配列を含み、1つ以上の所望のアンチセンス活性をもたらす、重要な所望でないアンチセンス活性をもたらすような方法で1つ以上の非標的核酸にハイブリダイズしないか、または1つ以上の非標的核酸にハイブリダイズしない。

【0174】

ある特定のアンチセンス活性では、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は、標的核酸を切断するタンパク質の動員をもたらす。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、標的核酸のRNase H媒介切断をもたらす。RNase Hは、RNA:DNA二本鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼである。そのようなRNA:DNA二本鎖のDNAは、修飾されていないDNAである必要はない。ある特定の実施形態では、RNase H活性を誘発するのに十分に「DNA様」であるアンチセンス化合物が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップにおける1つ以上の非DNA様ヌクレオシドは、耐容される。

【0175】

ある特定のアンチセンス活性では、アンチセンス化合物またはアンチセンス化合物の部分は、RNA誘導型サイレンシング複合体(RISC)に取り込まれ、最終的に標的核酸の切断をもたらす。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、Argonauteによって標的核酸の切断をもたらす。RISCに充填されるアンチセンス化合物は、RNAi化合物である。RNAi化合物は、二本鎖(siRNA)または一本鎖(ssRNA)であり得る。

【0176】

あ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は、標的核酸を切断するタンパク質の動員をもたらさない。あ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は、標的核酸のスプライシングの改変をもたらす。あ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は、標的核酸とタンパク質または他の核酸との間の結合相互作用の阻害をもたらす。あ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は、標的核酸の翻訳の改変をもたらす。あ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は、標的核酸の量または活性の増加をもたらす。

【0177】

アンチセンス活性は、直接または間接的に観察され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性の観察または検出は、標的核酸またはそのような標的核酸によってコードされるタンパク質の量の変化、核酸もしくはタンパク質のスプライスバリエーションの比の変化、及び／または細胞もしくは動物の表現型変化の観察または検出を含む。

【0178】

V. ある特定の標的核酸

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸と相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、標的核酸は、内因性RNA分子である。ある特定の実施形態では、標的核酸は、タンパク質をコードする。ある特定のそのような実施形態では、標的核酸は、イントロン、エキソン、及び非翻訳領域を含む成熟RNA及びプレmRNAから選択される。ある特定の実施形態では、標的RNAは、成熟RNAである。ある特定の実施形態では、標的核酸は、プレmRNAである。ある特定のそのような実施形態では、標的領域は、全体的にイントロン内にある。ある特定の実施形態では、標的領域は、イントロン／エキソンジャンクションにわたる。ある特定の実施形態では、標的領域は、イントロン内で少なくとも50%である。ある特定の実施形態では、標的核酸は、レトロ遺伝子のRNA転写産物である。ある特定の実施形態では、標的核酸は、非コードRNAである。ある特定のそのような実施形態では、標的非コードRNAは、長い非コードRNA、短い非コードRNA、イントロンRNA分子から選択される。

【0179】

A. 標的核酸との相補性／不適合

不適合塩基を、活性を排除することなく導入することが可能である。例えば、Gautschiet al (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)は、bcl-2 mRNAとの100%相補性を有し、bcl-xL mRNAとの3つの不適合を有し、インビトロ及びインビボでbcl-2及びbcl-xLの両方の発現を低減するオリゴヌクレオチドの能力を示した。さらに、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を示した。Maher及びDolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988)は、一連のタンデム14核酸塩基オリゴヌクレオチドを試験し、28及び42核酸塩基オリゴヌクレオチドは、ウサギ網赤血球アッセイにおいてヒトDHFRの翻訳を停止するそれらの能力として、それぞれタンデムオリゴヌクレオチドのうちの2または3個の配列を含んだ。3個の14核酸塩基オリゴヌクレオチドの各々は単独で、28または42核酸塩基オリゴヌクレ

10

20

30

40

50

オチドよりも適度なレベルではあるが、翻訳を阻害することができた。

【0180】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの長さ全体にわたって標的核酸と相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸と99%、95%、90%、85%、または80%相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの長さ全体にわたって標的核酸と少なくとも80%相補的であり、標的核酸と100%または完全に相補的な領域を含む。ある特定の実施形態では、完全な相補性の領域は、6~20、10~18、または18~20核酸塩基長である。

【0181】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対して1つ以上の不適合核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、標的に対するアンチセンス活性は、そのような不適合によって低減されるが、非標的に対する活性は、より大きな量によって低減される。したがって、ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの選択性が改善される。ある特定の実施形態では、不適合は、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチド内に特異的に配置される。ある特定の実施形態では、不適合は、ギャップ領域の5'-末端からの1、2、3、4、5、6、7、または8位にある。ある特定の実施形態では、不適合は、ギャップ領域の3'-末端からの9、8、7、6、5、4、3、2、1位にある。ある特定の実施形態では、不適合は、ウイング領域の5'-末端からの1、2、3、または4位にある。ある特定の実施形態では、不適合は、ウイング領域の3'-末端からの4、3、2、または1位にある。

【0182】

B. STMN2

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸と相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、標的核酸は、STMN2である。ある特定の実施形態では、STMN2核酸は、配列番号1（核酸塩基79608001~79669000から切断されたGENBANK受託番号NC_000008.11の相補体）及び配列番号2に示される配列を有する。

【0183】

ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1または配列番号2と相補的なオリゴマー化合物と接触させることは、STMN2 RNAの量を増加させ、ある特定の実施形態では、スタスミン-2タンパク質の量を増加させる。ある特定の実施形態では、動物における細胞を配列番号1または配列番号2と相補的なオリゴマー化合物と接触させることは、神経変性疾患の1つ以上の症状を改善する。そのような症状には、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、及び寿命減少が含まれる。ある特定の実施形態では、動物における細胞を配列番号1または配列番号2と相補的なオリゴヌクレオチドと接触させることは、改善された運動機能、低減された神経障害、改善されたシナプス機能、改善された認知、及び生存率をもたらす。

【0184】

VI. ある特定のホットスポット領域

1. 配列番号1の核酸塩基8819~8841（配列番号2の100~122でもある）

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基8819~8841は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基8819~8841と相補的である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、18核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって結合されている。

【0185】

配列番号32、33、110、188、265、266の核酸塩基配列は、配列番号1

10

20

30

40

50

の核酸塩基 8819～8841 と相補的である。

【0186】

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8819～8841 と相補的な修飾されたオリゴヌクレオチドは、標準細胞アッセイにおいてインビトロで STMN2 RNA の少なくとも 151% の発現を達成する。

【0187】

2. 配列番号 1 の核酸塩基 8827～8851 (配列番号 2 の 108～132 でもある)

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8827～8851 は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、配列番号 1 の核酸塩基 8827～8851 と相補的である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、18 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、均一に MOE 修飾されたオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって結合されている。

【0188】

配列番号 34、35、112、113、190、191、267、及び 268 の核酸塩基配列は、配列番号 1 の核酸塩基 8819～8841 と相補的である。

【0189】

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8827～8851 と相補的な修飾されたオリゴヌクレオチドは、標準細胞アッセイにおいてインビトロで STMN2 RNA の少なくとも 146% の発現を達成する。

【0190】

3. 配列番号 1 の核酸塩基 8836～8880 (配列番号 2 の 117～161 でもある)

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8836～8880 は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、配列番号 1 の核酸塩基 8836～8880 と相補的である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、18 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、均一に MOE 修飾されたオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって結合されている。

【0191】

配列番号 36～42、114～120、192～198、及び 270～276 の核酸塩基配列は、配列番号 1 の核酸塩基 8836～8880 と相補的である。

【0192】

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8836～8880 と相補的な修飾されたオリゴヌクレオチドは、標準細胞アッセイにおいてインビトロで STMN2 RNA の少なくとも 136% の発現を達成する。

【0193】

4. 配列番号 1 の核酸塩基 8913～8948 (配列番号 2 の 194～229 でもある)

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8913～8948 は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドは、配列番号 1 の核酸塩基 8913～8948 と相補的である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、18 核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、そのような修飾されたオリゴヌクレオチドは、均一に MOE 修飾されたオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって結合されている。

【0194】

配列番号 56～59、133～137、211～215、及び 289～293 の核酸塩基配列は、配列番号 1 の核酸塩基 8913～8948 と相補的である。

【0195】

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8 9 1 3 ~ 8 9 4 8 と相補的な修飾されたオリゴヌクレオチドは、標準細胞アッセイにおいてインビトロで S T M N 2 R N A の少なくとも 1 5 0 % の発現を達成する。

【 0 1 9 6 】

C. ある特定の組織中のある特定の標的核酸

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸と相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、標的核酸は、薬理学的に関連する組織中に発現される。ある特定の実施形態では、薬理学的に関連する組織は、脊髄、皮質、小脳、及び脳橋を含む、中枢神経系 (C N S) を含む細胞及び組織である。

【 0 1 9 7 】

V I I. ある特定の薬学的組成物

ある特定の実施形態では、1 つ以上のオリゴマー化合物を含む薬学的組成物が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、1 つ以上のオリゴマー化合物はそれぞれ、修飾されたオリゴヌクレオチドからなる。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される希釈剤または担体を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、滅菌食塩水溶液及び 1 つ以上のオリゴマー化合物を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、滅菌食塩水は、薬学的等級の生理食塩水である。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、1 つ以上のオリゴマー化合物及び滅菌水を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、滅菌水は、薬学的等級の水である。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、1 つ以上のオリゴマー化合物及びリン酸緩衝食塩水 (P B S) を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、滅菌 P B S は、薬学的等級の P B S を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、1 つ以上のオリゴマー化合物及び人工脳脊髄液を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、人工脳脊髄液は、薬学的等級である。

【 0 1 9 8 】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、修飾されたオリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、修飾されたオリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液からなる。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、修飾されたオリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液から本質的になる。ある特定の実施形態では、人工脳脊髄液は、薬学的等級である。

【 0 1 9 9 】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、1 つ以上のオリゴマー化合物及び 1 つ以上の賦形剤を含む。ある特定の実施形態では、賦形剤は、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミラーゼ、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、及びポリビニルピロリドンから選択される。

【 0 2 0 0 】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、薬学的組成物または配合物の調製のために薬学的に許容される活性及び／または不活性物質と混合されてもよい。薬学的組成物の製剤化のための組成物及び方法は、これらに限定されないが、投与の経路、疾患の程度、または投与される用量を含む、いくつかの基準に依存する。

【 0 2 0 1 】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物を含む薬学的組成物は、オリゴマー化合物の任意の薬学的に許容される塩、オリゴマー化合物のエステル、またはそのようなエステルの塩を包含する。ある特定の実施形態では、1 つ以上のオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を含む薬学的組成物は、ヒトを含む動物への投与の際に、生物学的に活性な代謝産物またはその残基を提供する (直接または間接的に) ことができる。したがって、例えば、本開示はまた、オリゴマー化合物の薬学的に許容される塩、プロドラッグ、そのようなプロドラッグの薬学的に許容される塩、及び他の生物学的同等性にも注目する。好適な薬学的に許容される塩には、これらに限定されないが、ナトリウム及びカリウム塩が

10

20

30

40

50

含まれる。ある特定の実施形態では、プロドラッグは、オリゴヌクレオチドに結合された1つ以上の複合群を含み、複合群は、体内で内因性ヌクレアーゼによって切断される。

【0202】

脂質部分は、様々な方法で核酸療法において使用されている。ある特定のそのような方法では、オリゴマー化合物などの核酸は、予め形成されたリポソームまたはカチオン性脂質及び中性脂質の混合物で作成されたリポプレックスに導入される。ある特定の方法では、モノーまたはポリーカチオン性脂質とのDNA錯体は、中性脂質の存在なしで形成される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、特定の細胞または組織に対する薬学的剤の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、脂肪組織に対する薬学的剤の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、筋組織に対する薬学的剤の分布を増加させるように選択される。

10

【0203】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、送達系を含む。送達系の例には、これらに限定されないが、リポソーム及びエマルジョンが含まれる。ある特定の送達系は、疎水性化合物を含むものを含むある特定の薬学的組成物を調製するのに有用である。ある特定の実施形態では、ジメチルスルホキシドなどのある特定の有機溶媒が使用される。

【0204】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、特定の組織または細胞型に本発明の1つ以上の薬学的剤を送達するように設計された1つ以上の組織特異的送達分子を含む。例えば、ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、組織特異的抗体でコーティングされたリポソームを含む。

20

【0205】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、共溶媒系を含む。ある特定のそのような共溶媒系は、例えば、ベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性有機ポリマー、及び水性相を含む。ある特定の実施形態では、そのような共溶媒系は、疎水性化合物に使用される。そのような共溶媒系の非限定的な例は、VPD共溶媒系であり、それは、3%w/vベンジルアルコール、8%w/vの非極性界面活性剤Polysorbate 80（商標）、及び65%w/vポリエチレングリコール300を含む無水エタノールの溶液である。そのような共溶媒系の割合は、それらの溶解性及び毒性特性を著しく改変することなく、かなり変化し得る。さらに、共溶媒構成成分の同一性は、変化してもよく、例えば、他の界面活性剤は、Polysorbate 80（商標）の代わりに使用されてもよく、ポリエチレングリコールの画分サイズは変化してもよく、他の生体適合性ポリマーは、ポリエチレングリコール、例えば、ポリビニルピロリドン置き換えてもよく、他の糖または多糖類は、デキストロースを置換してもよい。

30

【0206】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、経口投与のために調製される。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、頬側投与のために調製される。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、注射（例えば、静脈内、皮下、筋肉内、髄腔内、脳室内など）による投与のために調製される。ある特定のそのような実施形態では、薬学的組成物は、担体を含み、水などの水溶液中、またはハanks溶液、リンガー溶液、もしくはは生理食塩水緩衝剤などの生理学的に適合する緩衝剤で製剤化される。ある特定の実施形態では、他の成分が含まれる（例えば、溶解性を補助するかまたは防腐剤として役立つ成分）。ある特定の実施形態では、注射可能な懸濁剤は、適切な液体担体、懸濁剤などを使用して調製される。注射のためのある特定の薬学的組成物は、単位剤形、例えば、アンプルまたは複数回投与容器内にある。注射のためのある特定の薬学的組成物は、油性または水性ビヒクルにおいて懸濁剤、溶液、またはエマルジョンであり、懸濁剤、安定化剤、及び／または分散剤などの処方剤を含み得る。注射のための薬学的組成物での使用に好適なある特定の溶媒は、これらに限定されないが、ゴマ油などの親油性溶媒及び脂肪油、オレイン酸エチルまたはトリグリセリドなどの合成脂肪酸エステル、ならびにリポソームを含む。

40

【0207】

50

参照による非限定的開示及び組み込み

本明細書に列挙される文献及び特許公開の各々は、その全体が参照により組み込まれる。

【0208】

本明細書に記載されるある特定の化合物、組成物、及び方法は、ある特定の実施形態に従って、特異性と共に説明されている一方で、以下の実施例は、本明細書に記載される化合物を説明するためだけに役立ち、それを限定することは意図されていない。本出願に列挙される参考文献の各々、GenBank受託番号などは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0209】

この出願に添付している配列表は、必要に応じて「RNA」または「DNA」のいずれかとして各配列、実際には、化学修飾の任意の組み合わせで修飾され得る配列を同定する。当業者は、修飾されたオリゴヌクレオチドを説明するための「RNA」または「DNA」としての指定は、ある特定の例では、恣意的であることを容易に理解するであろう。例えば、2'-OH糖部分及びチミン塩基を含むヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、修飾された糖（DNAの1つの2'-Hの代わりに2'-OH）を有するDNAとして、または修飾された塩基（RNAのウラシルの代わりにチミン（メチル化ウラシル））を有するRNAとして記載され得る。したがって、本明細書に提供される核酸配列は、これらに限定されないが、配列表にあるものを含め、これらに限定されないが修飾された核酸塩基を有するそのような核酸を含む、天然もしくは修飾されたRNA及び／またはDNAの任意の組み合わせを含む核酸を包含することが意図される。さらなる例として、限定することなく、核酸塩基配列「ATCGATCG」を有するオリゴマー化合物は、修飾されているかまたは修飾されていないかにかかわらず、これらに限定されないが、配列「AUCGAUCG」を有するものならびにいくつかのDNA塩基及び「AUCGATCG」などのいくつかのRNA塩基を有するものなどのRNA塩基を含むそのような化合物と、「AT^mCGAUCG」などの他の修飾された核酸塩基を有するオリゴマー化合物とを含む、そのような核酸塩基配列を有する任意のオリゴマー化合物を包含し、mCは、5-位置でメチル基を含むシトシン塩基を示す。

【0210】

本明細書に記載されるある特定の化合物（例えば、修飾されたオリゴヌクレオチド）は、1つ以上の不斉中心を有し、したがってエナンチオマー、ジアステレオマー、及び（R）または（S）として、糖アノマーなどのαもしくはβとして、またはアミノ酸などの（D）もしくは（L）として、絶対立体化学に関して定義され得る他の立体異性体配置を生じさせる。ある特定の立体異性体配置を有するとして注目または記載される本明細書に提供される化合物は、示される化合物のみを含む。定義されていない立体化学と共に注目されるかまたは記載される本明細書に記載される化合物は、別段の定めがない限り、それらのステレオランダム及び任意に純粋な形態を含む、全てのそのような可能な異性体を含んだ。同様に、本明細書の化合物の全ての互変異性型はまた、特に指示がない限り含まれる。別段の指示がない限り、本明細書に開示される化合物は、対応する塩形態を含むことが意図される。

【0211】

本明細書に記載される化合物は、1つ以上の原子が、示される要素の非放射性アイソトープまたは放射性アイソトープで置き換えられる変形を含む。例えば、水素原子を含む本明細書の化合物は、¹H水素原子の各々に対して全ての可能な重水素置換を包含する。本明細書の化合物によって包含される同位体置換は、これらに限定されないが、¹Hの代わりに²Hまたは³H、¹²Cの代わりに¹³Cまたは¹⁴C、¹⁴Nの代わりに¹⁵N、¹⁶Oの代わりに¹⁷Oまたは¹⁸O、及び³²Sの代わりに³³S、³⁴S、³⁵S、または³⁶Sを含む。ある特定の実施形態では、非放射性同位体置換は、治療または研究ツールとしての使用に有益なオリゴマー化合物に新しい特性を与え得る。ある特定の実施形態では、放射性同位体置換は、化合物を、画像化などの研究または診断目的に好適にし得る。

非限定的に、本明細書は以下の態様を含む。

〔態様 1〕

12～50個の結合されたヌクレオシドからなる修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、S T M N 2 核酸の等長部分と少なくとも90%相補的であり、前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、修飾された糖、糖サロゲート、及び修飾されたヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

〔態様 2〕

12～50個の結合されたヌクレオシドからなり、配列番号10～321の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、または少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物。

10

〔態様 3〕

12～50個の結合されたヌクレオシドからなり、
配列番号1の8819～8841もしくは配列番号2の100～122、
配列番号1の8827～8851もしくは配列番号2の108～132、
配列番号1の8836～8880もしくは配列番号2の117～161、または
配列番号1の8913～8948もしくは配列番号2の194～229と相補的な少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、または少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾されたオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物。

20

〔態様 4〕

前記S T M N 2 核酸が、配列番号1または配列番号2の核酸塩基配列を有する、態様1～3のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

〔態様 5〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、一本鎖の修飾されたオリゴヌクレオチドである、態様1～4のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

〔態様 6〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合が、修飾されたヌクレオシド間結合である、態様1～5のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

30

〔態様 7〕

前記修飾されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、態様6に記載のオリゴマー化合物。

〔態様 8〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、修飾されたヌクレオシド間結合である、態様1～5のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

〔態様 9〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各修飾されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、態様8に記載のオリゴマー化合物。

40

〔態様 10〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、態様1～7のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

〔態様 11〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合のいずれかである、態様1～7及び10のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

〔態様 12〕

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの少なくとも1つの核酸塩基が、修飾された核酸塩

50

基を含む、態様 1 ～ 11 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

[態様 13]

前記修飾された核酸塩基が、5-メチルシトシンである、態様 12 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 14]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、修飾された糖部分を含む少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17、または少なくとも 18 個の修飾されたヌクレオシドを含む、態様 1 ～ 13 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

10

[態様 15]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、二環式糖部分を含む少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17、または少なくとも 18 個の修飾されたヌクレオシドを含む、態様 14 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 16]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、2'-4' 架橋を有する二環式糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含み、前記 2'-4' 架橋が、 $-O-C_2H_4-$ 及び $-O-CH(CH_3)-$ から選択される、態様 15 に記載のオリゴマー化合物。

20

[態様 17]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、非二環式糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含む、態様 1 ～ 13 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 18]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、2'-MOE または 2'-OMe を含む修飾された非二環式糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含む、態様 17 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 19]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドの各修飾されたヌクレオシドが、2'-MOE または 2'-OMe を含む修飾された非二環式糖部分を含む、態様 18 に記載のオリゴマー化合物。

30

[態様 20]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含む、態様 1 ～ 13 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 21]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、モルホリノ及び PNA から選択される糖サロゲートを含む少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオシドを含む、態様 20 に記載のオリゴマー化合物。

40

[態様 22]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、ギャップマーである、態様 1 ～ 18 及び 20 ～ 21 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 23]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、
1 ～ 6 個の結合された 5'-ヌクレオシドからなる 5'-領域、
6 ～ 10 個の結合された中心領域ヌクレオシドからなる中心領域、及び
1 ～ 6 個の結合された 5'-ヌクレオシドからなる 3'-領域を含む糖モチーフを有し、
前記 5'-領域ヌクレオシドの各々及び前記 3'-領域ヌクレオシドの各々が、修飾された糖部分を含み、前記中心領域ヌクレオシドの各々が、2'-デオキシヌクレオシド糖部分を

50

含む、態様 1～18 及び 20～21 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 24]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、20 個の結合されたヌクレオシドからなり、以下のヌクレオシド間モチーフ：s o o o s s s s s s s s s s s o o s s を有し、

s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、及び

o = ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、態様 1～7 または 10～23 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 25]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、12～18、12～20、14～20、16～20、または 17～19 個の結合されたヌクレオシドからなる、態様 1～23 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

[態様 26]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、16、17、または 18 個の結合されたヌクレオシドからなる、態様 1～23 及び 25 のいずれか一項に記載のオリゴマー化合物。

[態様 27]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドからなる、態様 1～26 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 28]

複合部分及び複合リンカーを含む複合群を含む、態様 1～26 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 29]

前記複合群が、1～3 個の G a l N A c リガンドを含む G a l N A c クラスターを含む、態様 28 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 30]

前記複合リンカーが、単結合からなる、態様 28 または 29 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 31]

前記複合リンカーが、切断可能である、態様 28 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 32]

前記複合リンカーが、1～3 個のリンカーヌクレオシドを含む、態様 28 に記載のオリゴマー化合物。

[態様 33]

前記複合群が、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの 5' - 末端で前記修飾されたオリゴヌクレオチドに結合されている、態様 28～32 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 34]

前記複合群が、前記修飾されたオリゴヌクレオチドの 3' - 末端で前記修飾されたオリゴヌクレオチドに結合されている、態様 28～32 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 35]

末端基を含む、態様 1～26 または 28～34 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 36]

前記オリゴマー化合物が、一本鎖オリゴマー化合物である、態様 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 37]

前記オリゴマー化合物が、リンカーヌクレオシドを含まない、態様 1～31 または 33～34 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

[態様 38]

態様 1～35 及び 37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二本鎖。

[態様 39]

態様 1～37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物または態様 38 に記載のオリゴマー二本鎖を含むか、またはそれらからなるアンチセンス化合物。

[態様 40]

12～50個の結合されたヌクレオシドからなり、配列番号10～321の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、または少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾されたオリゴヌクレオチド。

[態様41]

態様1～37のいずれかに記載のオリゴマー化合物、態様38に記載のオリゴマー二本鎖、態様39に記載のアンチセンス化合物、または態様40に記載の修飾されたオリゴヌクレオチド、及び薬学的に許容される担体もしくは希釈剤のうちの少なくとも1つを含む薬学的組成物。

[態様42]

前記修飾されたオリゴヌクレオチドが、ナトリウム塩である、態様41に記載の薬学的組成物。

[態様43]

態様41～42のいずれかに記載の薬学的組成物を動物に投与することを含む方法。

[態様44]

前記動物が、ヒトである、態様43に記載の方法。

[態様45]

STMN2に関連する疾患を治療する方法であって、STMN2に関連する疾患を有するかまたはそれを発症する危険性のある個体に、治療有効量の、態様41及び42に記載の薬学的組成物を投与し、それによりSTMN2に関連する前記疾患を治療することを含む、前記方法。

[態様46]

STMN2に関連する前記疾患が、神経変性疾患である、態様45に記載の方法。

[態様47]

前記神経変性疾患が、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、前頭側頭型認知症(FTD)、アルツハイマー病(AD)、及びレビー小体型認知症(DLB)である、態様46に記載の方法。

[態様48]

前記神経変性疾患の少なくとも1つの症状が、改善される、態様47に記載の方法。

[態様49]

前記症状が、運動失調、神経障害、シナプス機能障害、認知障害、及び寿命減少である、態様48に記載の方法。

[実施例]

[0212]

以下の実施例は、本開示のある特定の実施形態を示し、限定するものではない。さらに、特定の実施形態が提供される場合、発明者らは、それらの特定の実施形態の一般的应用を企図した。例えば、特定のモチーフを有するオリゴヌクレオチドの開示は、同じまたは類似のモチーフを有する追加のオリゴヌクレオチドに対する合理的な支持を提供する。さらに、例えば、特定の高親和性修飾が特定の位置で現れる場合、同じ位置での他の高親和性修飾は、特に指示がない限り、好適であると考えられる。

[0213]

実施例1：インビトロ、単回投与でのヒトSTMN2へのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドの効果

ヒトSTMN2核酸と相補的な修飾されたオリゴヌクレオチドを設計し、STMN2 RNA培養したCRISPR編集されたSH-SY5Y細胞へのそれらの効果について試験した。SH-SY5Y細胞を、CRISPR-Cas9部位選択的ヌクレアーゼを使用して内因性TDP-43対立遺伝子の両方から家族性のALSを引き起こす変異(アミノ酸352-TDP-43N352Sでセリンに置換されたアスパラギン)を発現するように遺伝子操作した。

10

20

30

40

50

【0214】

1ウェルあたり20,000個の細胞の密度で培養したCRISPR編集されたSH-SY5Y細胞を、未処理の対照に対して7,000nM濃度の修飾されたオリゴヌクレオチドでまたは修飾されたオリゴヌクレオチドなしで電気穿孔法を使用してトランスフェクトした。約24時間後、RNAを、細胞から単離し、STMN2 RNAレベルを、定量的リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS40280（配列番号3として本明細書で指定されるフォワード配列CCACGAACCTTTAGCTTCTCCA、配列番号4として本明細書で指定されるリバース配列GCCAATTGTTTCAGCACCTG、配列番号5として本明細書で指定されるプローブ配列AC TTTCTTCTTTCTCTGCAGCCTCC）を使用してmRNAレベルを測定した。RiboGreen（登録商標）によって測定されるように、全RNA含量に従って、STMN2 mRNAレベルを調節した。処置されていない対照細胞に対するSTMN2 RNAの量の対照パーセントとして以下の表に結果を表す。

10

【0215】

以下の表の修飾されたオリゴヌクレオチドは、均一に修飾されたオリゴヌクレオチドである。オリゴヌクレオチドは、18核酸塩基長であり、各ヌクレオシドは、2'-MOE群を有する。各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。「開始部位」は、ギャップマーがヒト核酸配列で相補的である最も5'側のヌクレオシドを示す。「停止部位」は、修飾されたオリゴヌクレオチドがヒト核酸配列で相補的である最も3'側のヌクレオシドを示す。

20

【0216】

以下の表に列挙される各修飾されたオリゴヌクレオチドは、示されるように、ヒトSTMN2核酸配列の配列番号1及び配列番号2と相補的である。以下に示されるように、ヒトSTMN2と相補的な修飾されたオリゴヌクレオチドは、ヒトSTMN2 RNAの量を増加させた。

表1

ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1

ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

化合物番号	配列番号 1 開始部位	配列番号 1 停止部位	配列番号 2 開始部位	配列番号 2 停止部位	配列 (5' から 3')	STMN2 (対照%)	配列番号
1186531	8732	8749	13	30	AATAAAATCCCCAGGTAT	97	10
1186535	8736	8753	17	34	GAGTAATAAAATCCCCAG	103	11
1186539	8740	8757	21	38	CCCAGAGTAATAAAATCC	42	12
1186543	8744	8761	25	42	AATTCCTCAGAGTAATAAA	86	13
1186547	8748	8765	29	46	ACATAATTCCCAGAGTAA	81	14
1186551	8752	8769	33	50	GAACACATAATTCCCAGA	70	15
1186555	8756	8773	37	54	GGCAGAACACATAATTCC	103	16
1186559	8760	8777	41	58	ATGGGGCAGAACACATAA	91	17
1186563	8764	8781	45	62	AGTGATGGGGCAGAACAC	88	18
1186567	8768	8785	49	66	AGAGAGTGATGGGGCAGA	113	19
1186571	8772	8789	53	70	TAAGAGAGAGTGATGGGG	115	20
1186575	8776	8793	57	74	CAATTAAGAGAGAGTGAT	112	21
1186579	8780	8797	61	78	AATCCAATTAAGAGAGAG	165	22
1186583	8784	8801	65	82	TAAAAATCCAATTAAGAG	166	23
1186587	8788	8805	69	86	ATTTTAAAAATCCAATTA	116	24
1186591	8792	8809	73	90	TATAATTTTAAAAATCCA	138	25
1186595	8796	8813	77	94	TGAATATAATTTTAAAAA	109	26
1186599	8800	8817	81	98	AATATGAATATAATTTTA	103	27
1186603	8804	8821	85	102	CTGCAATATGAATATAAT	156	28
1186607	8808	8825	89	106	AGTCCTGCAATATGAATA	192	29
1186611	8812	8829	93	110	GCCGAGTCCTGCAATATG	149	30
1186615	8816	8833	97	114	TTCTGCCGAGTCCTGCAA	127	31
1186619	8820	8837	101	118	GGTCTTCTGCCGAGTCCT	173	32
1186623	8824	8841	105	122	CGAAGGTCTTCTGCCGAG	175	33
1186627	8828	8845	109	126	CTCTCGAAGGTCTTCTGC	204	34
1186631	8832	8849	113	130	CTTTCTCTCGAAGGTCTT	190	35
1186635	8836	8853	117	134	CTACCTTTCTCTCGAAGG	160	36
1186639	8840	8857	121	138	TTTTCTACCTTTCTCTCG	173	37
1186643	8844	8861	125	142	CTTATTTTCTACCTTTCT	172	38
1186647	8848	8865	129	146	AATTCTTATTTTCTACCT	153	39
1186651	8852	8869	133	150	GCCAAATTCTTATTTTCT	211	40

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

1186655	8856	8873	137	154	GAGAGCCAAATTCTTATT	222	41
1186659	8860	8877	141	158	CACAGAGAGCCAAATTCT	193	42
1186663	8864	8881	145	162	CTCACACAGAGAGCCAAA	131	43
1186667	8868	8885	149	166	CATGCTCACACAGAGAGC	132	44
1186671	8872	8889	153	170	CACACATGCTCACACAGA	205	45
1186675	8876	8893	157	174	CACGCACACATGCTCACA	156	46
1186679	8880	8897	161	178	CACACACGCACACATGCT	157	47
1186683	8884	8901	165	182	CTCGCACACACGCACACA	131	48
1186687	8888	8905	169	186	CTCTCTCGCACACACGCA	152	49
1186691	8892	8909	173	190	CTCTCTCTCTCGCACACA	182	50
1186695	8896	8913	177	194	CTGTCTCTCTCTCTCGCA	162	51
1186699	8900	8917	181	198	CTGTCTGTCTCTCTCTCT	163	52
1186703	8904	8921	185	202	CAGGCTGTCTGTCTCTCT	117	53
1186707	8908	8925	189	206	TAGGCAGGCTGTCTGTCT	96	54
1186711	8912	8929	193	210	TTCTTAGGCAGGCTGTCT	136	55
1186715	8916	8933	197	214	TTTCTTCTTAGGCAGGCT	209	56
1186719	8920	8937	201	218	TTCATTTCTTCTTAGGCA	196	57
1186723	8924	8941	205	222	CACATTCATTTCTTCTTA	199	58
1186727	8928	8945	209	226	CATTCACATTCATTTCTT	218	59
1186731	8932	8949	213	230	GCCGCATTCACATTCATT	133	60
1186735	8936	8953	217	234	ACAAGCCGCATTCACATT	182	61
1186739	8940	8957	221	238	TGCCACAAGCCGCATTCA	164	62
1186743	8944	8961	225	242	ACTGTGCCACAAGCCGCA	139	63
1186747	8948	8965	229	246	GTCAACTGTGCCACAAGC	166	64
1186751	8952	8969	233	250	CCTTGTCAACTGTGCCAC	179	65
1186755	8956	8973	237	254	TCATCCTTGTCAACTGTG	155	66
1186759	8960	8977	241	258	TTTATCATCCTTGTC AAC	123	67
1186763	8964	8981	245	262	TTGATTTATCATCCTTGT	118	68
1186767	8968	8985	249	266	ATTATTGATTTATCATCC	115	69
1186771	8972	8989	253	270	TTGCATTATTGATTTATC	67	70
1186775	8976	8993	257	274	AAGCTTGCATTATTGATT	55	71
1186779	8980	8997	261	278	TAGTAAGCTTGCATTATT	78	72
1186783	8984	9001	265	282	ATGATAGTAAGCTTGCAT	80	73
1186787	8988	9005	269	286	ATAAATGATAGTAAGCTT	74	74
1186791	8992	9009	273	290	ATTCATAAATGATAGTAA	47	75
1186795	8996	9013	277	294	TGCTATTCATAAATGATA	54	76
1186799	9000	9017	281	298	GTATTGCTATTCATAAAT	64	77
1186803	9004	9021	285	302	TTCAGTATTGCTATTCAT	69	78
1186807	9008	9025	289	306	TTTCTTCAGTATTGCTAT	99	79
1186811	9012	9029	293	310	TTAATTTCTTCAGTATTG	127	80

10

20

30

40

50

【表 1－3】

1186815	9016	9033	297	314	TGTTTTAATTTCTTCAGT	124	81
1186819	9020	9037	301	318	CTTTTGTTTTAATTTCTT	83	82
1186823	9024	9041	305	322	CAATCTTTTGTTTTAATT	111	83
1186827	9028	9045	309	326	ACAGCAATCTTTTGTTTT	116	84
1186831	9032	9049	313	330	TGAGACAGCAATCTTTTG	147	85
1186835	9036	9053	317	334	ATATTGAGACAGCAATCT	103	86
1186839	9040	9057	321	338	AGATATATTGAGACAGCA	125	87

10

表 2
ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 2

ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

化合物番号	配列番号1 開始 部位	配列番号1 停止 部位	配列番号2 開始 部位	配列番号2 停止 部位	配列(5'から3')	STMN2 (対 照%)	配列 番号
1186532	8733	8750	14	31	TAATAAAATCCCCAGGTA	72	88
1186536	8737	8754	18	35	AGAGTAATAAAATCCCCA	103	89
1186540	8741	8758	22	39	TCCCAGAGTAATAAAATC	92	90
1186544	8745	8762	26	43	TAATTTCCAGAGTAATAA	119	91
1186548	8749	8766	30	47	CACATAATTCCCAGAGTA	100	92
1186552	8753	8770	34	51	AGAACACATAATTCCCAG	54	93
1186556	8757	8774	38	55	GGGCAGAACACATAATTC	80	94
1186560	8761	8778	42	59	GATGGGGCAGAACACAT A	94	95
1186564	8765	8782	46	63	GAGTGATGGGGCAGAAC A	98	96
1186568	8769	8786	50	67	GAGAGAGTGATGGGGCA G	89	97
1186572	8773	8790	54	71	TTAAGAGAGAGTGATGGG	134	98
1186576	8777	8794	58	75	CCAATTAAGAGAGAGTGA	109	99
1186580	8781	8798	62	79	AAATCCAATTAAGAGAGA	108	100
1186584	8785	8802	66	83	TTAAAAATCCAATTAAGA	118	101
1186588	8789	8806	70	87	AATTTTAAAAATCCAATT	124	102
1186592	8793	8810	74	91	ATATAATTTTAAAAATCC	118	103
1186596	8797	8814	78	95	ATGAATATAATTTTAAAA	92	104
1186600	8801	8818	82	99	CAATATGAATATAATTTT	101	105
1186604	8805	8822	86	103	CCTGCAATATGAATATAA	177	106
1186608	8809	8826	90	107	GAGTCCTGCAATATGAAT	132	107
1186612	8813	8830	94	111	TGCCGAGTCCTGCAATAT	95	108
1186616	8817	8834	98	115	CTTCTGCCGAGTCCTGCA	127	109
1186620	8821	8838	102	119	AGGTCTTCTGCCGAGTCC	181	110
1186624	8825	8842	106	123	TCGAAGGTCTTCTGCCGA	139	111
1186628	8829	8846	110	127	TCTCTCGAAGGTCTTCTG	147	112
1186632	8833	8850	114	131	CCTTTCTCTCGAAGGTCT	162	113
1186636	8837	8854	118	135	TCTACCTTTCTCTCGAAG	170	114

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

1186640	8841	8858	122	139	ATTTTCTACCTTTCTCTC	151	115
1186644	8845	8862	126	143	TCTTATTTTCTACCTTTC	198	116
1186648	8849	8866	130	147	AAATTCTTATTTTCTACC	160	117
1186652	8853	8870	134	151	AGCCAAATTCTTATTTTC	186	118
1186656	8857	8874	138	155	AGAGAGCCAAATTCTTAT	182	119
1186660	8861	8878	142	159	ACACAGAGAGCCAAATTC	171	120
1186664	8865	8882	146	163	GCTCACACAGAGAGCCA A	120	121
1186668	8869	8886	150	167	ACATGCTCACACAGAGAG	133	122
1186672	8873	8890	154	171	GCACACATGCTCACACAG	166	123
1186676	8877	8894	158	175	ACACGCACACATGCTCAC	161	124
1186680	8881	8898	162	179	GCACACACGCACACATG C	142	125
1186684	8885	8902	166	183	TCTCGCACACACGCACAC	125	126
1186688	8889	8906	170	187	TCTCTCTCGCACACACGC	136	127
1186692	8893	8910	174	191	TCTCTCTCTCTCGCACAC	145	128
1186696	8897	8914	178	195	TCTGTCTCTCTCTCTCGC	129	129
1186700	8901	8918	182	199	GCTGTCTGTCTCTCTCTC	155	130
1186704	8905	8922	186	203	GCAGGCTGTCTGTCTCTC	138	131
1186708	8909	8926	190	207	TTAGGCAGGCTGTCTGTC	118	132
1186712	8913	8930	194	211	CTTCTTAGGCAGGCTGTC	170	133
1186716	8917	8934	198	215	ATTTCTTCTTAGGCAGGC	188	134
1186720	8921	8938	202	219	ATTCATTTCTTCTTAGGC	193	135
1186724	8925	8942	206	223	TCACATTCATTTCTTCTT	196	136
1186728	8929	8946	210	227	GCATTCACATTCATTTCT	205	137
1186732	8933	8950	214	231	AGCCGCATTCACATTCAT	120	138
1186736	8937	8954	218	235	CACAAGCCGCATTCACAT	140	139
1186740	8941	8958	222	239	GTGCCACAAGCCGCATTC	120	140
1186744	8945	8962	226	243	AACTGTGCCACAAGCCG C	112	141
1186748	8949	8966	230	247	TGTCAACTGTGCCACAAG	149	142
1186752	8953	8970	234	251	TCCTTGTCAACTGTGCCA	151	143
1186756	8957	8974	238	255	ATCATCCTTGTCAACTGT	164	144
1186760	8961	8978	242	259	ATTTATCATCCTTGTCOA	166	145
1186764	8965	8982	246	263	ATTGATTTATCATCCTTG	123	146
1186768	8969	8986	250	267	CATTATTGATTTATCATC	97	147
1186772	8973	8990	254	271	CTTGCAATTATTGATTTAT	60	148
1186776	8977	8994	258	275	TAAGCTTGCAATTATTGAT	58	149
1186780	8981	8998	262	279	ATAGTAAGCTTGCAATTAT	86	150
1186784	8985	9002	266	283	AATGATAGTAAGCTTGCA	60	151

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

1186788	8989	9006	270	287	CATAAATGATAGTAAGCT	75	152
1186792	8993	9010	274	291	TATTCATAAATGATAGTA	41	153
1186796	8997	9014	278	295	TTGCTATTCATAAATGAT	46	154
1186800	9001	9018	282	299	AGTATTGCTATTTCATAAA	42	155
1186804	9005	9022	286	303	CTTCAGTATTGCTATTCA	50	156
1186808	9009	9026	290	307	ATTTCTTCAGTATTGCTA	97	157
1186812	9013	9030	294	311	TTTAATTTCTTCAGTATT	133	158
1186816	9017	9034	298	315	TTGTTTTAATTTCTTCAG	141	159
1186820	9021	9038	302	319	TCTTTTGTTTTAATTTCT	90	160
1186824	9025	9042	306	323	GCAATCTTTTGTTTTAAT	88	161
1186828	9029	9046	310	327	GACAGCAATCTTTTGTTT	122	162
1186832	9033	9050	314	331	TTGAGACAGCAATCTTTT	128	163
1186836	9037	9054	318	335	TATATTGAGACAGCAATC	105	164
1186840	9041	9058	322	339	AAGATATATTGAGACAGC	124	165

表 3
ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3

ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

化合物番号	配列番号1 開始 部位	配列番号1 停止 部位	配列番号2 開始 部位	配列番号2 停止 部位	配列(5'から3')	STMN2 (対照%)	配列番号
1186533	8734	8751	15	32	GTAATAAAATCCCCAGGT	84	166
1186537	8738	8755	19	36	CAGAGTAATAAAATCCCC	117	167
1186541	8742	8759	23	40	TTCCCAGAGTAATAAAAT	73	168
1186545	8746	8763	27	44	ATAATTCCCAGAGTAATA	72	169
1186549	8750	8767	31	48	ACACATAATTCCCAGAGT	76	170
1186553	8754	8771	35	52	CAGAACACATAATTCCCA	78	171
1186557	8758	8775	39	56	GGGGCAGAACACATAATT	66	172
1186561	8762	8779	43	60	TGATGGGGCAGAACACAT	87	173
1186565	8766	8783	47	64	AGAGTGATGGGGCAGAA C	97	174
1186569	8770	8787	51	68	AGAGAGAGTGATGGGGC A	94	175
1186573	8774	8791	55	72	ATTAAGAGAGAGTGATGG	128	176
1186577	8778	8795	59	76	TCCAATTAAGAGAGAGTG	164	177
1186581	8782	8799	63	80	AAAATCCAATTAAGAGAG	145	178
1186585	8786	8803	67	84	TTTAAAAATCCAATTAAG	128	179
1186589	8790	8807	71	88	TAATTTTAAAAATCCAAT	117	180
1186593	8794	8811	75	92	AATATAATTTTAAAAATC	79	181
1186597	8798	8815	79	96	TATGAATATAATTTTAAA	83	182
1186601	8802	8819	83	100	GCAATATGAATATAATTT	143	183
1186605	8806	8823	87	104	TCCTGCAATATGAATATA	190	184
1186609	8810	8827	91	108	CGAGTCCTGCAATATGAA	149	185
1186613	8814	8831	95	112	CTGCCGAGTCCTGCAATA	189	186
1186617	8818	8835	99	116	TCTTCTGCCGAGTCCTGC	99	187
1186621	8822	8839	103	120	AAGGTCTTCTGCCGAGTC	168	188
1186625	8826	8843	107	124	CTCGAAGGTCTTCTGCCG	127	189
1186629	8830	8847	111	128	TTCTCTCGAAGGTCTTCT	232	190
1186633	8834	8851	115	132	ACCTTTCTCTCGAAGGTC	146	191
1186637	8838	8855	119	136	TTCTACCTTTCTCTCGAA	230	192
1186641	8842	8859	123	140	TATTTTCTACCTTTCTCT	163	193
1186645	8846	8863	127	144	TTCTTATTTTCTACCTTT	176	194

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

1186649	8850	8867	131	148	CAAATTCTTATTTTCTAC	133	195
1186653	8854	8871	135	152	GAGCCAAATTCTTATTTT	172	196
1186657	8858	8875	139	156	CAGAGAGCCAAATTCTTA	174	197
1186661	8862	8879	143	160	CACACAGAGAGCCAAATT	204	198
1186665	8866	8883	147	164	TGCTCACACAGAGAGCCA	134	199
1186669	8870	8887	151	168	CACATGCTCACACAGAGA	150	200
1186673	8874	8891	155	172	CGCACACATGCTCACACA	154	201
1186677	8878	8895	159	176	CACACGCACACATGCTCA	150	202
1186681	8882	8899	163	180	CGCACACACGCACACAT G	148	203
1186685	8886	8903	167	184	CTCTCGCACACACGCACA	142	204
1186689	8890	8907	171	188	CTCTCTCTCGCACACACG	211	205
1186693	8894	8911	175	192	GTCTCTCTCTCTCGACA	156	206
1186697	8898	8915	179	196	GTCTGTCTCTCTCTCTCG	119	207
1186701	8902	8919	183	200	GGCTGTCTGTCTCTCTCT	155	208
1186705	8906	8923	187	204	GGCAGGCTGTCTGTCTCT	112	209
1186709	8910	8927	191	208	CTTAGGCAGGCTGTCTGT	112	210
1186713	8914	8931	195	212	TCTTCTTAGGCAGGCTGT	170	211
1186717	8918	8935	199	216	CATTCTTCTTAGGCAGG	193	212
1186721	8922	8939	203	220	CATTCATTTCTTCTTAGG	157	213
1186725	8926	8943	207	224	TTCACATTCATTTCTTCT	161	214
1186729	8930	8947	211	228	CGCATTACATTCATTTTC	228	215
1186733	8934	8951	215	232	AAGCCGCATTCACATTCA	164	216
1186737	8938	8955	219	236	CCACAAGCCGCATTCACA	171	217
1186741	8942	8959	223	240	TGTGCCACAAGCCGCATT	141	218
1186745	8946	8963	227	244	CAACTGTGCCACAAGCCG	135	219
1186749	8950	8967	231	248	TTGTCAACTGTGCCACAA	144	220
1186753	8954	8971	235	252	ATCCTTGTCAACTGTGCC	127	221
1186757	8958	8975	239	256	TATCATCCTTGTCAACTG	169	222
1186761	8962	8979	243	260	GATTTATCATCCTTGTCA	157	223
1186765	8966	8983	247	264	TATTGATTTATCATCCTT	113	224
1186769	8970	8987	251	268	GCATTATTGATTTATCAT	37	225
1186773	8974	8991	255	272	GCTTGCATTATTGATTTA	68	226
1186777	8978	8995	259	276	GTAAGCTTGCATTATTGA	63	227
1186781	8982	8999	263	280	GATAGTAAGCTTGCATTA	70	228
1186785	8986	9003	267	284	AAATGATAGTAAGCTTGC	63	229
1186789	8990	9007	271	288	TCATAAATGATAGTAAGC	71	230
1186793	8994	9011	275	292	CTATTCATAAATGATAGT	65	231
1186797	8998	9015	279	296	ATTGCTATTCATAAATGA	37	232
1186801	9002	9019	283	300	CAGTATTGCTATTCATAA	71	233

10

20

30

40

50

【表 3－3】

1186805	9006	9023	287	304	TCTTCAGTATTGCTATTC	94	234
1186809	9010	9027	291	308	AATTTCTTCAGTATTGCT	96	235
1186813	9014	9031	295	312	TTTTAATTTCTTCAGTAT	98	236
1186817	9018	9035	299	316	TTTGTTTTAATTTCTTCA	99	237
1186821	9022	9039	303	320	ATCTTTTGTTTTAATTC	114	238
1186825	9026	9043	307	324	AGCAATCTTTTGTTTTAA	116	239
1186829	9030	9047	311	328	AGACAGCAATCTTTTGTT	130	240
1186833	9034	9051	315	332	ATTGAGACAGCAATCTTT	101	241
1186837	9038	9055	319	336	ATATATTGAGACAGCAAT	98	242
1186841	9042	9059	323	340	TAAGATATATTGAGACAG	95	243

表 4
ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2 RNAの対照パーセント

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4

ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドを有するヒトSTMN2
RNAの対照パーセント

化 合 物 番 号	配列番 号 1 開 始部位	配列番 号 1 停 止部位	配列番 号 2 開 始部位	配列番 号 2 停 止部位	配列 (5' から 3')	STMN 2 (対 照 %)	配 列 番 号
1186534	8735	8752	16	33	AGTAATAAAATCCCCAGG	71	244
1186538	8739	8756	20	37	CCAGAGTAATAAAATCCC	65	245
1186542	8743	8760	24	41	ATTCCCAGAGTAATAAAA	86	246
1186546	8747	8764	28	45	CATAATCCCAGAGTAAT	69	247
1186550	8751	8768	32	49	AACACATAATTCCCAGAG	76	248
1186554	8755	8772	36	53	GCAGAACACATAATTCCC	95	249
1186558	8759	8776	40	57	TGGGGCAGAACACATAAT	88	250
1186562	8763	8780	44	61	GTGATGGGGCAGAACACA	89	251
1186566	8767	8784	48	65	GAGAGTGATGGGGCAGAA	95	252
1186570	8771	8788	52	69	AAGAGAGAGTGATGGGGC	98	253
1186574	8775	8792	56	73	AATTAAGAGAGAGTGATG	121	254
1186578	8779	8796	60	77	ATCCAATTAAGAGAGAGT	164	255
1186582	8783	8800	64	81	AAAAATCCAATTAAGAGA	137	256
1186586	8787	8804	68	85	TTTTAAAAATCCAATTAA	99	257
1186590	8791	8808	72	89	ATAATTTTAAAAATCCAA	106	258
1186594	8795	8812	76	93	GAATATAATTTTAAAAAT	95	259
1186598	8799	8816	80	97	ATATGAATATAATTTTAA	81	260
1186602	8803	8820	84	101	TGCAATATGAATATAATT	154	261
1186606	8807	8824	88	105	GTCCTGCAATATGAATAT	166	262
1186610	8811	8828	92	109	CCGAGTCCTGCAATATGA	159	263
1186614	8815	8832	96	113	TCTGCCGAGTCCTGCAAT	129	264
1186618	8819	8836	100	117	GTCTTCTGCCGAGTCCTG	151	265
1186622	8823	8840	104	121	GAAGGTCTTCTGCCGAGT	208	266
1186626	8827	8844	108	125	TCTCGAAGGTCTTCTGCC	165	267
1186630	8831	8848	112	129	TTTCTCTCGAAGGTCTTC	176	268
1186634	8835	8852	116	133	TACCTTTCTCTCGAAGGT	123	269
1186638	8839	8856	120	137	TTTCTACCTTTCTCTCGA	152	270
1186642	8843	8860	124	141	TTATTTTCTACCTTTCTC	137	271
1186646	8847	8864	128	145	ATTCTTATTTTCTACCTT	191	272
1186650	8851	8868	132	149	CCAAATTCTTATTTTCTA	167	273
1186654	8855	8872	136	153	AGAGCCAAATCTTATTTT	172	274
1186658	8859	8876	140	157	ACAGAGAGCCAAATCTT	172	275

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

1186662	8863	8880	144	161	TCACACAGAGAGCCAAAT	159	276
1186666	8867	8884	148	165	ATGCTCACACAGAGAGCC	126	277
1186670	8871	8888	152	169	ACACATGCTCACACAGAG	142	278
1186674	8875	8892	156	173	ACGCACACATGCTCACAC	170	279
1186678	8879	8896	160	177	ACACACGCACACATGCTC	122	280
1186682	8883	8900	164	181	TCGCACACACGCACACAT	133	281
1186686	8887	8904	168	185	TCTCTCGCACACACGCAC	145	282
1186690	8891	8908	172	189	TCTCTCTCTCGCACACAC	134	283
1186694	8895	8912	176	193	TGTCTCTCTCTCTCGCAC	116	284
1186698	8899	8916	180	197	TGTCTGTCTCTCTCTCTC	171	285
1186702	8903	8920	184	201	AGGCTGTCTGTCTCTCTC	141	286
1186706	8907	8924	188	205	AGGCAGGCTGTCTGTCTC	139	287
1186710	8911	8928	192	209	TCTTAGGCAGGCTGTCTG	127	288
1186714	8915	8932	196	213	TTCTTCTTAGGCAGGCTG	150	289
1186718	8919	8936	200	217	TCATTTCTTCTTAGGCAG	215	290
1186722	8923	8940	204	221	ACATTCATTTCTTCTTAG	185	291
1186726	8927	8944	208	225	ATTCACATTCATTTCTTC	174	292
1186730	8931	8948	212	229	CCGCATTCACATTCATTT	161	293
1186734	8935	8952	216	233	CAAGCCGCATTCACATTC	150	294
1186738	8939	8956	220	237	GCCACAAGCCGCATTCAC	122	295
1186742	8943	8960	224	241	CTGTGCCACAAGCCGCAT	210	296
1186746	8947	8964	228	245	TCAACTGTGCCACAAGCC	181	297
1186750	8951	8968	232	249	CTTGTCAACTGTGCCACA	153	298
1186754	8955	8972	236	253	CATCCTTGTCAACTGTGC	107	299
1186758	8959	8976	240	257	TTATCATCCTTGTCAACT	164	300
1186762	8963	8980	244	261	TGATTTATCATCCTTGTC	138	301
1186766	8967	8984	248	265	TTATTGATTTATCATCCT	100	302
1186770	8971	8988	252	269	TGCATTATTGATTTATCA	53	303
1186774	8975	8992	256	273	AGCTTGCATTATTGATTT	57	304
1186778	8979	8996	260	277	AGTAAGCTTGCATTATTG	70	305
1186782	8983	9000	264	281	TGATAGTAAGCTTGCATT	72	306
1186786	8987	9004	268	285	TAAATGATAGTAAGCTTG	46	307
1186790	8991	9008	272	289	TTCATAAATGATAGTAAG	37	308
1186794	8995	9012	276	293	GCTATTCATAAATGATAG	37	309
1186798	8999	9016	280	297	TATTGCTATTCATAAATG	44	310
1186802	9003	9020	284	301	TCAGTATTGCTATTCATA	62	311
1186806	9007	9024	288	305	TTCTTCAGTATTGCTATT	55	312
1186810	9011	9028	292	309	TAATTTCTTCAGTATTGC	82	313
1186814	9015	9032	296	313	GTTTAAATTTCTTCAGTA	101	314
1186818	9019	9036	300	317	TTTTGTTTAAATTTCTTC	104	315

【表 4 - 3】

1186822	9023	9040	304	321	AATCTTTTGTTTTAATTT	97	316
1186826	9027	9044	308	325	CAGCAATCTTTTGTTTTA	157	317
1186830	9031	9048	312	329	GAGACAGCAATCTTTTGT	120	318
1186834	9035	9052	316	333	TATTGAGACAGCAATCTT	97	319
1186838	9039	9056	320	337	GATATATTGAGACAGCAA	110	320
1186842	9043	9060	324	341	ATAAGATATATTGAGACA	100	321

10

20

30

40

50

【0217】

実施例2：インビトロ、複数回投与でのヒトSTMN2へのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドの効果

上の実施例から選択された修飾されたオリゴヌクレオチドを、CRISPR編集されたSH-SY5Y細胞中様々な用量で試験した（上述の実施例1に記載される）。以下の表に指定されるように、細胞を1ウェルあたり20,000個の細胞の密度で播種し、555nM、1,666nM、5,000nM、及び15,000nM濃度の修飾されたオリゴヌクレオチドで電気穿孔法を使用してトランスフェクトした。約24時間の治療期間後、全RNAを、細胞から単離し、STMN2 RNAレベルを、定量的リアルタイムPCRによって測定した。ヒトSTMN2プライマープローブセットRTS40280（上述の実施例1に記載される）を使用してRNAレベルを測定した。RiboGreen（登録商標）によって測定されるように、全RNA含量に従って、STMN2 RNAレベルを調節した。処置されていない対照細胞に対するSTMN2 RNAの量の対照パーセントとして以下の表に結果を表す。以下の表に示されるように、STMN2 RNAレベルは、修飾されたオリゴヌクレオチド治療細胞において用量依存的様式で増加された。IC₅₀を、Prism6ソフトウェアを使用して「log（アゴニスト）対応答ー可変スロープ（4パラメータ）」式を使用して計算した（最小＝100、最大＝249）。

表5

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

10

20

30

40

50

【表 5】

表 5

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

化合物番号	STMN2(対照%)				IC ₅₀ (nM)
	555nM	1, 666nM	5, 000nM	15, 000nM	
1186604	127	146	187	206	4009
1186607	126	126	174	201	6053
1186627	103	130	176	202	5912
1186629	130	149	181	213	3814
1186644	97	154	166	194	6577
1186651	129	151	184	217	3479
1186652	139	186	198	223	1654
1186655	121	162	183	201	3956
1186656	135	188	225	239	1322
1186671	106	132	160	196	7706
1186712	136	145	171	209	4601
1186715	112	134	165	233	4889
1186716	141	174	198	212	2033
1186720	118	176	212	208	2191
1186723	135	165	203	213	2311
1186724	132	167	193	204	2858
1186727	76	171	195	230	2838
1186728	135	128	179	186	7285
1186751	113	122	140	150	未検出*

*最大用量を上回るIC₅₀が試験された

表 6

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

化合物番号	STMN2発現(対照%)				IC ₅₀ (nM)
	555nM	1, 666nM	5, 000nM	15, 000nM	
1186605	126	148	183	229	3377
1186613	111	127	174	225	4889
1186622	113	140	170	205	5637
1186637	111	134	172	221	4899
1186645	150	172	197	235	1646
1186646	131	163	202	224	2314
1186655	176	186	197	217	596
1186657	124	157	175	142	該当なし*
1186661	133	164	187	247	2330
1186670	146	152	166	193	6059
1186689	103	95	166	202	7529
1186698	122	116	154	182	11593
1186717	160	192	217	213	873
1186718	145	163	210	195	2255
1186722	123	180	193	220	2286
1186726	155	187	228	249	1024
1186729	148	171	209	231	1575
1186742	82	122	135	181	12831
1186746	132	156	166	209	4499

*最大用量を上回るIC₅₀が試験された

【0218】

実施例3：インビトロ、複数回投与でのヒトSTMN2へのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有する均一にMOE修飾されたオリゴヌクレオチドの効果

上の実施例から選択された修飾されたオリゴヌクレオチドを、CRISPR編集されたSH-SY5Y細胞中様々な用量で試験した(上述の実施例1に記載される)。以下の表に指定されるように、細胞を1ウェルあたり20,000個の細胞の密度で播種し、555nM、1,666nM、5,000nM、及び15,000nM濃度の修飾されたオリゴヌクレオチドで電気穿孔法を使用してトランスフェクトした。約24時間の治療期間後、全RNAを、細胞から単離し、STMN2 RNAレベルを、定量的リアルタイムPCRによって測定した。ヒトSTMN2プライマープローブセットRTS41911(配列番号6として本明細書で指定されるフォワード配列AAGGCAATCCTGCCCTACTAAC、配列番号7として本明細書で指定されるリバース配列GGTGGGTATCTGGTGATTCTTAG、配列番号8として本明細書で指定されるプローブ配列TCCATCTGTGAAGCTGACGCAGTT)を使用してRNAレベルを測定した。RiboGreen(登録商標)によって測定されるように、全RNA含量に従って、STMN2 RNAレベルを調節した。処置されていない対照細胞に対するSTMN2 RNAの量の対照パーセントとして以下の表に結果を表す。以下の表に示されるように、STMN2 RNAレベルは、修飾されたオリゴヌクレオチド治療細胞において用量依存的様式

で増加された。IC₅₀を、Prism6ソフトウェアを使用して「log（アゴニスト）対応答－可変スロープ（4パラメータ）」式を使用して計算した（最小＝100、最大＝249）。

表 7

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

【表 7】

表 7

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

化合物番号	STMN2(対照%)				IC ₅₀ (nM)
	555nM	1,666nM	5,000nM	15,000nM	
1186604	114	144	165	202	6077
1186607	107	109	137	187	11626
1186627	96	120	154	188	9775
1186629	125	150	177	202	4710
1186644	130	160	159	198	5939
1186651	125	139	171	205	5411
1186652	148	175	191	196	2296
1186655	128	156	220	195	2610
1186656	129	173	200	200	2587
1186671	100	116	129	166	該当なし*
1186712	121	116	159	193	8686
1186715	100	124	156	211	6931
1186716	136	148	174	189	6209
1186720	111	170	194	205	3150
1186723	118	145	161	203	6204
1186724	145	161	188	203	2924
1186727	128	162	190	212	3011
1186728	124	120	168	171	13516
1186751	112	121	146	130	未検出**

*最大用量を上回るIC₅₀が試験された

**IC₅₀は計算不可

表 8

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8

均一に修飾されたオリゴヌクレオチドによるヒトSTMN2 RNAの用量依存的増加パーセント

化合物番号	STMN2(対照%)				IC ₅₀ (nM)
	555nM	1, 666nM	5, 000nM	15, 000nM	
1186605	123	134	199	231	3304
1186613	113	124	181	228	4516
1186622	137	157	207	223	2254
1186637	111	139	192	238	3430
1186645	118	149	179	210	4313
1186646	140	177	208	238	1594
1186655	158	191	215	227	970
1186657	130	159	185	196	4042
1186661	141	182	208	238	1481
1186670	129	157	175	200	4558
1186689	108	135	180	212	4833
1186698	113	122	172	181	9174
1186717	143	190	205	214	1433
1186718	150	170	230	208	1402
1186722	119	159	192	203	3553
1186726	137	169	205	214	2087
1186729	147	180	208	215	1503
1186742	113	124	145	184	11785
1186746	135	149	179	206	4126

【配列表】

0007557378000001.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 K 47/54 (2017.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/02 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/54

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 21/00

A 6 1 P 25/02

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 43/00 1 0 5

(74)代理人 100106208
弁理士 宮前 徹

(74)代理人 100196508
弁理士 松尾 淳一

(74)代理人 100107386
弁理士 泉谷 玲子

(72)発明者 ブイ, フィン・ホア
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 クリーブランド, ドン・ダブリュー
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 9 3, ラ・ホーヤ, ギルマン・ドライブ 9 5 0 0

審査官 福間 信子

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 4 / 0 4 5 5 4 3 (WO, A 2)
中国特許出願公開第 1 0 7 7 7 9 4 3 7 (CN, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C 1 2 N
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)